

Orijinal araştırma (Original article)

**Avcı akar *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae)
popülasyonlarının üç farklı akarisitte karşı duyarlılık ve
detoksifikasyon enzim düzeylerinin belirlenmesi¹**

Determination of the susceptibility and detoxification enzyme levels of the predatory mite *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) populations against three different acaricides

Sibel YORULMAZ SALMAN^{2*}

Recep AY²

Summary

This study aimed to determine the sensitivity levels of *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) populations collected from the apple orchards in Isparta in 2011 to etoxazole, hexythiazox and spiroticlofen by using bioassay methods. LC₅₀ values of *N. californicus* populations were determined by using a spray tower with the leaf disk method. According to LC₅₀ values, compared susceptible populations, resistance of Atabey-1, Atabey-2, Ağılköy-1, Ağılköy-2, Gönen and Yalvaç populations collected from the orchard in 2011 is determined to be 10.14, 11.34, 11.75, 14.41, 9.85 and 9.66 fold to etoxazole; to be 6.35, 3.96, 9.33, 8.35, 7.34 and 9.79 fold to hexythiazox; and to be 4.61, 4.36, 5.86, 4.82, 4.10 and 7.08 fold, respectively. Moreover, the effect of the PBO, IBP and DEM synergists on pesticides was examined. Enzymes of S-transferase (GST), monooxygenases (P450) and acetylcholinesterase (AChE) in the populations were determined by using the kinetic method; and the enzyme of esterase was determined by using the electrophoresis and kinetic methods. The determined enzyme activity ranges of esterase, glutathion S-transferaz (GST), monooxygenases (P450) ve asetilkolinesteraz (AChE) were between from 7.130 to 11.788, from 2.07 to 3.47, from 0.0223 to 0.0695 and from 0.0211 to 0.0243 mOD/min/mg proteins, respectively.

Key words: *Neoseiulus californicus*, acaricide, resistance, synergist, detoxification

Özet

Bu çalışmada, Isparta ili elma bahçelerinden 2011 yılında toplanan *Neoseiulus californicus* (McGregor)(Acari: Phytoseiidae) popülasyonlarının etoxazole, hexythiazox ve spiroticlofen'e karşı duyarlılık düzeyleri biyoassay yöntemlerle belirlenmiştir. *N. californicus* popülasyonlarının LC₅₀ değeri ilaçlama kulesi kullanılarak yaprak disk metodu ile belirlenmiştir. 2011 yılında elma bahçelerinden toplanan Atabey-1, Atabey-2, Ağılköy-1, Ağılköy-2, Gönen ve Yalvaç isimli *N. californicus* popülasyonlarında etoxazole karşı sırasıyla 10.14, 11.34, 11.75, 14.41, 9.85 ve 9.66 kat; hexythiazox'a karşı 6.35, 3.96, 9.33, 8.35, 7.34 ve 9.79 kat ve spiroticlofen'e karşı 4.61, 4.36, 5.86, 4.82, 4.10 ve 7.08 kat direnç belirlenmiştir. Ayrıca *N. californicus* popülasyonlarında PBO, IBP ve DEM sinerjistlerinin ilaçlar ile sinerjistik etkileri incelenmiştir. *N. californicus* popülasyonlarında glutathion S-transferaz (GST) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimleri kinetik yöntemle, esteraz enzimi elektroforez ve kinetik yöntemlerle belirlenmiştir. Esteraz, glutathion S-transferaz (GST), monooksijenaz (P450) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktiviteleri sırasıyla 7.130-11.788, 2.07-3.47, 0.0223-0.0695 ve 0.0211-0.0243 mOD/min/mg protein olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Neoseiulus californicus*, akarisit, direnç, sinerjist, detoksifikasyon enzimleri

¹ "Bu çalışmanın bir kısmı 09–13 Temmuz 2012 tarihinde Viyana-Avusturya'da düzenlenen 7th Symposium of the European Association of Acarologists Kongresi'nde poster olarak sunulmuş ve özet olarak basılmıştır

² Süleyman Demirel üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, ISPARTA

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: sibelyorulmaz@sdu.edu.tr

Alınış (Received): 30.07.2012

Kabul ediliş (Accepted): 18.09.2012

Giriş

Phytoseiidae familyası içerisinde yer alan avcı akar türleri seralarda, bağlarda meyve ve turuncgil bahçelerinde, zararlı akar türleri üzerinde oldukça etkili olmaktadır (Sato et al., 2000). Bu familya içerisinde bulunan *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) fitofag akarların kontrolünde kullanılan etkin ve yaygın akar türlerinden bir tanesidir (Castagnoli & Simoni, 1999). İlk defa 1954 yılında, McGregor tarafından Kaliforniya'daki limon ağaçlarında *Typhlodromus californicus* (Acari: Phytoseiidae) olarak tanımlanmıştır (Rhodes & Liburd, 2005). *N. californicus*'un çeşitli ülkelerde ticari ırklarının bulunmasının yanı sıra Avrupa, Güney Afrika, Doğu Asya, Kuzey ve Güney Amerika gibi ülkelerde de doğal popülasyonları bulunmaktadır (Canlas et al., 2006). *N. californicus*' un doğal popülasyonu, Türkiye'de ilk kez Aydın'ın Kuşadası ilçesinde çilek, şeftali, fasulye ve biber üzerinden bulunmuştur (Çakmak & Çobanoğlu, 2006). Isparta'da bulunan elma bahçelerinde de *N. californicus* varlığı tespit edilmiştir (Yorulmaz & Ay, 2011).

Zararlılarla savaşta tek bir yöntem yeterli olmadığı gibi kimyasallar olmadan başarılı olmak mümkün görünmemektedir. Diğer savaşım yöntemleri ilaç kullanımı ile desteklenmediği takdirde zararlılardan dolayı verimde ve ürün kalitesinde azalmalar meydana gelmektedir. Ancak ilaçların yoğun kullanımı zararlı türlerde direnç gelişimine neden olurken faydalı türlere de olumsuz yan etkileri olmaktadır. Bunun yanı sıra yoğun pestisit kullanılan alanlarda faydalı türlerin de ilaçlara direnç geliştirdiği bilinmektedir. Sato et al. (2000), *Amblyseius womersleyi* Schicha (Acari:Phytoseiidae)'nin methidathion ile laboratuvarında 4 kez seleksiyon sonrası direncinin 311 kat arttığını belirlemişlerdir. Auger et al. (2005), mancozeb ile 10 kere seleksiyon yaptıkları *Typhlodromus pyri*'nin popülasyonunda direncin 73 kat arttığını rapor etmişlerdir. Bonafos et al. (2007), bağ alanlarından topladıkları *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari:Phytoseiidae) ve *Amblyseius andersoni* (Acari:Phytoseiidae) popülasyonlarının deltamethrin, lamda-cyhalothrin ve chlorpyrifos-ethyl'e karşı orta düzeyden yüksek düzeye kadar değişen oranlarda dirençli bulmuşlardır. Tirello et al. (2012), bağ alanları ve elma bahçelerinden toplanan dört farklı *Kampimodromus aberrans* (Oudemans) (Acari:Phytoseiidae) popülasyonlarında 1.85-6.83 arasında değişen katlarda chlorpyrifos direnci belirlemişlerdir. Bazı pestisitlere karşı direnç geliştiren doğal düşmanların entegre mücadele programları içerisinde kullanılabilecekleri belirtilmektedir. IPM'in bir bölümünü oluşturan pestisit direnç yönetim programlarında zararlı türlerde direnç gelişimi istenmezken; doğal düşmanların pestisitlere karşı dayanıklı olmaları istenmektedir (Sato et al., 2000).

Son yıllarda Isparta'da bulunan elma bahçelerinde yoğun olarak *N. californicus* varlığı tespit edilmiştir (Yorulmaz & Ay, 2012). Zararlılara karşı yoğun ilaçlama programı uygulanan bu alanlarda avcı akarın bulunma sıklığı ve popülasyon yoğunluğunun fazla olduğu survey çalışmalarında gözlenmiştir. Bu nedenle avcı akarın elma bahçelerinde yoğun kullanılan bazı ilaçlara karşı direnç geliştirebileceği düşünülmüştür. Yapılan bu çalışmada, zararlı kırmızıörümceklerin önemli bir avcısı olan *N. californicus*'un elma bahçelerinden toplanan popülasyonlarının etoxazole, spiroadiclofen, hexythiazox'a karşı duyarlılık düzeyleri bioassay ve biyokimyasal yöntemlerle incelenerek direnç mekanizmalarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

***Neoseiulus californicus* popülasyonlarının toplanması ve yetiştirilmesi**

Çalışmanın ana materyalini 2011 yılında Isparta ili Eğirdir, Atabey, Gönen ve Yalvaç ilçelerinden toplanan *N. californicus* popülasyonları oluşturmuştur (Çizelge 1). Laboratuvara getirilen popülasyonlar temiz barbunya bitkileri üzerine aktararak kültüre alınmıştır. Isparta ili Eğirdir ilçesinde bulunan Meyvecilik Araştırma İstasyon Müdürlüğündeki organik elma bahçesinden 2008 yılında toplanılarak Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde bulunan iklim odasında yetiştirilen *N. californicus* popülasyonu hassas popülasyon olarak kullanılmıştır. *N. californicus* popülasyonları 26±1 °C sıcaklıkta, %60-65 nem ve 16:8 (A:K) fotoperiyot koşullarının sağlandığı iklim odalarında ve popülasyonların birbirleriyle bulaşmalarını engellemek amacıyla içerisinde su dolu küvetler bulunan kafesler içerisinde yetiştirilmiştir.

Çizelge 1. Elma bahçelerinden toplanan *Neoseiulus californicus* popülasyonları

Örneğin toplandığı yer	Tarih
Atabey-1	14-07-2011
Atabey-2	14-07-2011
Ağılköy-1	14-07-2011
Ağılköy-2	14-07-2011
Gönen	21-07-2011
Yalvaç	20-07-2011

Pestisitler

Çalışmalarda etoxazole (Zoom 10 SC, Sumitomo, Japonya), spirodiclofen (Envidor SC 240, Bayer, Almanya), hexythiazox (Twister 5 EC, Hektaş, Türkiye) etkili maddeye sahip ticari formülasyonlar kullanılmıştır. Akarisit özelliği bulunan spirodiclofen tetronik asit yapısında, lipid sentezi engelleyici olarak kullanılan bir ilaçtır. Akarisitler grubu içerisinde yer alan hexythiazox'da lipid sentezi engelleyicisidir (Öncüler & Durmuşoğlu, 2008). Akarisitler içerisinde diğerleri grubunda yer alan etoxazole'un ise deri değiştirmeyi kısıtlayıcı ve zararlıda kitin biyosentezini engelleyici bir etkisi bulunmaktadır (Nauen & Smaghe, 2006). Üretici firmalar tarafından spirodiclofen ilacı kırmızıörümceklerde ergin ve ergin öncesi dönemlere önerilirken, etoxazole ve hexythiazox ilaçları ise yalnızca ergin öncesi dönemde önerilmektedir.

Metot

Biyosay çalışmaları

Denemede kullanılan ilaçların kırmızıörümceklerde ergin öncesi döneme etkili olmaları nedeniyle bioassay çalışmalarının tamamında 0-24 saatlik nimfler kullanılmıştır. Tabanı ıslatılmış pamukla kaplı 9 cm. çapındaki petrilere üzerinde hazırlanan barbutya yaprak diskleri üzerine 15 adet ergin avcı akar dışisi aktarılmıştır. 15 adet hazırlanan petrilere 24 saat sonra bırakılan yumurtalar temiz petrilere aktarılmıştır. Yumurtalar açıldıktan sonra aynı dönemdeki avcı akar nimfleri denemelerde kullanılmıştır. Bu yöntemde seçilen ilaçlar saf su içinde çözdürülerek uygun dozlar hazırlanmıştır. Hazırlanan ilk dozdan itibaren ilaç konsantrasyonları %50 seyreltilerek denemeler 1 kontrol + 7 doz, 3 tekerrür olacak şekilde kurulmuştur. Nem sağlamak amacıyla ıslatılmış pamukla kaplı 9 cm. çapındaki petrilere üzerinde yaprak diskler hazırlanmıştır. Yaprak disk üzerine 25 adet 0-24 saatlik avcı akar nimfleri binoküler altında yumuşak uçlu fırça yardımıyla aktarılmıştır. Petrilere ilaçlama kulesinde 1 atm basınç altında yaprak üzerine 2 ml olacak şekilde ilaç püskürtülmüştür. Kontrolde sadece saf su uygulanmıştır. Ayrıca yaprak disk üzerine av olarak kullanılmak üzere *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae) bireyleri aktarılmıştır. Ölü-canlı sayımları 7. günde yapılmıştır. Elde edilen verilerden yararlanarak farklı avcı akar popülasyonlarının LC₅₀ değerleri POLO bilgisayar paket programında (LeOra Software, 1994) hesaplanmıştır. Avcı akar popülasyonlarının belirlenen LC₅₀ değerlerinin hassas popülasyonun LC₅₀ değerine oranlanması ile direnç katları bulunmuştur.

Sinerjist + ilaç çalışmaları

Sinerjistlerin ilaçlar üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla monoksijenaz enzim inhibitörü piperonyl butoxide (PBO) (2000µl/l) (Leeuwen et al., 2004), esteraz enzim inhibitörü S-Benzyl-O,O-diisopropyl phosphorothioate (IBP) (200 µl/l) (Kim et al., 2004) ve GST enzim inhibitörü diethylmaleate (DEM) (2000µl/l) (Leeuwen et al., 2004) sinerjistleri kullanılmıştır. Sinerjist+ilaç çalışmaları avcı akarın 0-24 saatlik nimfleri kullanılmıştır. Denemeler bioassay çalışmalarda anlatıldığı gibi, 1 kontrol+7 doz ve 3 tekerrür olarak kurulmuştur. Sinerjistler 1:1 oranında aseton:saf su içerisinde çözülmüştür. Hazırlanan sinerjist çözeltileri ilaçlama kulesinde petrilere 1 atm. basınç altında 1 ml olarak püskürtülmüştür. Ayrıca yaprak disk üzerine av olarak kullanılmak üzere *T. urticae* aktarılmıştır. İçerisinde avcı akar bulunan

petriler 24 saat boyunca 26 ± 1 °C sıcaklıkta %60-65 nem ve 16:8 fotoperiyot koşullarının sağlandığı iklim odalarında bırakılmıştır. Sinerjist uygulamasından 24 saat sonra hazırlanan ilaç solüsyonları ile ilaçlama yapılmıştır. Kontrolde sadece sinerjist uygulanmıştır. Ölü-canlı sayımları 7. günde yapılmıştır. Elde edilen verilerden yararlanarak farklı akar popülasyonlarının LC_{50} değerleri POLO bilgisayar paket programında hesaplanmıştır.

Sinerjistik etki oranı= Sinerjistsiz LC_{50} / Sinerjistli LC_{50} formülü ile hesaplanmıştır (Kim et al., 2004).

Biyokimyasal çalışmalar

Poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) ile esteraz enziminin incelenmesi

Elektroforez çalışmalarında Ay & Gürkan (2005)'in yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Elektroforez işlemi mini kasetli sistemde (Bio-Rad) %7.5'lük ayırıcı ve %3.5'lük yükleyici jel içeren kesikli doğal elektroforez metodu kullanılmıştır. 5 adet ergin dişi birey 50 µl homojenizasyon tamponunda (%0.1 Triton X-100 içeren %32'lik sukroz) içerisinde plastik ezici ile homojenize edilmiştir. Polimerizasyondan sonra her bir jel hücreğine 10 µl homojenat yüklenmiştir. Elektroforezde koşturma işlemi 150 V'da yaklaşık 1.5 saat'de tamamlanmıştır. 0.2 M fosfat buffer (pH 6.5 ve %1 aseton içeriyor) ile %0.02 lik α -naphthyl asetat substrat solüsyonu hazırlanmıştır. Jel bu çözeltide esteraz enzimi inkübasyonu için 30 dk bekletilmiştir. %0.02'lik α -naphthyl asetat solüsyonu ile %0.4 oranında fast blue BB salt boya solüsyonu hazırlanmış ve jel bu çözeltide 1 saat boyanmıştır. Boyama işlemi bittikten sonra jel %7'lik asetik asit çözeltisi içerisinde alınmış ve 24 saat sonra görüntüleme cihazında fotoğrafı çekilmiştir.

***Neoseiulus californicus*'un toplam esteraz enziminin kinetik olarak belirlenmesi**

Esteraz aktivitesinin kinetik olarak belirlenmesinde substrat olarak α -naphthyl acetate ve Stumpf & Nauen (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. 20 adet ergin dişi 100 µl sodyum fosfat buffer (0.1M, pH 7.5) (%0.1 Triton X-100 içeren) içinde homojenize edilmiştir. Bu homojenat 10000 g, +4 °C'de ve 5 dk santrifüj edildikten sonra enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Enzim kaynağı olarak kullanılan supernatant 10 kez seyreltilmiştir. Mikroplakanın hücrelerine 25 µl supernatant +25 µl fosfat buffer (0.2 M, pH:6) konulmuştur. Çalışma hücrelere 200 µl substrat solüsyonunun eklenmesiyle başlatılmıştır. Substrat solüsyonu 30 mg fast blue RR tuzunun 50 ml 0.2 M sodyum fosfat buffer'da çözülmesi ve bu karışıma 500 µl 100 mM α - naphthyl acetate'in eklenmesiyle elde edilmiştir. Enzim aktivitesi 23 °C, 450 nm'de 10 dk süreyle okunmuştur. Kontrol hücreleri ise homojenatsız olarak okunmuştur. Enzim okumaları en az üç tekrarlolu olacak şekilde yapılmıştır.

***Neoseiulus californicus*'un glutathion S-transferaz (GST) enziminin kinetik olarak incelenmesi**

GST enziminin kinetik olarak belirlenmesinde Stumpf & Nauen (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. 30 ergin dişi 300 µl Tris HCL buffer (0.05M, pH:7.5) içinde homojenize edilmiştir. Supernatant 10000g, +4 °C'de 5 dk santrifüj edilmiştir. 100 µl supernatant, 100 µl 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) ve 100 µl reduced glutathione (GSH)'dan oluşan toplam hacim mikroplaka hücrelerine konulmuştur. CDNB %0.1 ethanolde hazırlanmış ve final konsantrasyonda hücrelerde 0.4 mM CDNB bulunmuştur. GSH Tris HCL tamponunda hazırlanmış ve final konsantrasyonda hücrelerde 4 mM GSH bulunmuştur. Absorvanstaki değişim 340 nm, 25 °C'de ve 5 dk'da okunmuştur. Enzim okumaları en az üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

***Neoseiulus californicus*'un asetilkolinesteraz (AChE) enziminin kinetik olarak incelenmesi**

Asetilkolinesteraz belirlenmesinde Stumpf et al. (2001) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. *N. californicus*'un 50 ergin dişisi eppendorf tüp içinde bulunan 500 µl %0.1 Triton X-100 içeren fosfat

buffer (0.1,M pH:7.5) içinde plastik ezici ile homojenize edilmiştir. Buz içinde 20 dakika dokuların çözülmesi beklendikten sonra, homojenat 10 000 g, 4 °C'de ve 5 dk santrifüj edilerek elde edilen supernant enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. AChE aktivitesini ölçmek için mikropilaka hücrelerine 100 µl acetylcholine iodide (ATChI), 100 µl 5.5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) ve 100 µl enzim solüsyonu konmuştur. 300 µL'lik final konsantrasyonunda her bir maddenin miktarı 0.5 mM olmuştur. AChE aktivitesi kinetik mikropilaka okuyucuda 23 °C de 412 nm'de 20 dakikada ölçülmüştür. Kontrol hücreleri ise homojenatsız olarak okunmuştur. Okumalar en az üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

Biyokimyasal çalışmalarda, örneklerin toplam protein miktarlarının belirlenmesinde Bradford (1976)'un total protein tayin yöntemi kullanılmış ve Bovine Serum Albumine (BSA) standart olarak alınmıştır. Enzim sonuçlarından elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi tekniği ile (One-Way ANOVA) analiz edilmiş ve popülasyonlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır (Winer et al., 1991).

Araştırma Sonuçları

Bioassay sonuçları

Isparta ili Eğirdir, Atabey, Gönen ve Yalvaç ilçelerinden toplanan *N. californicus* popülasyonlarının etoxazole, spirodiclofen ve hexythiazox'a karşı duyarlılık düzeyleri ve detoksifikasyon enzimleri belirlenmiştir. *N. californicus* popülasyonlarında etoxazole karşı 9.66-14.41 kat arasında değişen direnç oranları bulunmuştur (Çizelge 2). Etoxazole karşı en yüksek direnç oranı Ağılıköy-2 popülasyonu (14.41 kat), en az direnç oranı ise Yalvaç popülasyonunda (9.66) bulunmuştur. *N. californicus* popülasyonlarında spirodiclofen'e karşı 4.10-7.08 kat arasında direnç oranları belirlenmiştir (Çizelge 2). Spirodiclofen'e karşı ile en yüksek direnç Yalvaç popülasyonunda (7.08 kat), en az direnç ise Gönen popülasyonunda (4.10 kat) bulunmuştur. *N. californicus* popülasyonlarında hexythiazox'a karşı 3.69-9.79 kat arasında değişen oranlarda direnç belirlenmiştir (Çizelge 2). Hexythiazox'a karşı en yüksek direnç Yalvaç popülasyonunda (9.79 kat), en az direnç Atabey-2 popülasyonunda (3.69 kat) bulunmuştur.

Çizelge 2. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının etoxazole, spirodiclofen ve hexythiazox'a karşı belirlenen LC₅₀ değerleri ve direnç oranları

Popülasyon	etoxazole				spirodiclofen			hexythiazox		
	n*	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (Güven aralıkları)	R**	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (Güven aralıkları)	R	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (Güven aralıkları)	R
Atabey-1	600	1.25±0.12	12.28 7.43-19.09	10.1 4	1.34±0.12	10.52 6.63-10.07	4.61	1.43±0.13	20.92 14.14-29.28	6.35
Atabey-2	600	1.21±0.11	13.73 9.18-20.39	11.3 4	1.43±0.11	9.96 7.21-13.28	4.36	1.41±0.11	12.16 8.10-17.49	3.69
Ağılıköy-1	600	1.52±0.14	14.22 8.75-21.15	11.7 5	1.40±0.14	13.37 8.66-19.28	5.86	1.40±0.12	30.72 15.72-54.71	9.33
Ağılıköy-2	600	1.34±0.13	17.44 10.72-26.83	14.4 1	1.52±0.12	10.99 7.45-15.52	4.82	1.43±0.14	27.49 17.62-39.48	8.35
Gönen	600	1.44±0.14	11.93 7.56-17.27	9.85	1.63±0.15	9.37 5.83-13.60	4.10	1.29±0.13	24.17 19.30-30.11	7.34
Yalvaç	600	1.54±0.17	11.70 7.96-16.29	9.66	1.43±0.12	16.16 11.64-21.89	7.08	1.40±0.12	32.22 20.11-48.28	9.79
Hassas popülasyon	600	1.74±0.14	1.21 0.99-1.45	-	1.57±0.13	2.28 1.82-2.79	-	1.60±0.13	3.29 2.63-4.02	-

* n: denemede kullanılan birey sayısı.

**R: Direnç oranı.

Sinerjist + ilaç çalışma sonuçları

Etoxazole+PBO'nun birlikte uygulanması sonucunda Yalvaç popülasyonunda en az (2.31 kat) Atabey-1 popülasyonunda ise en yüksek (3.18 kat); etoxazole+IBP'nin birlikte uygulanması sonucunda Yalvaç popülasyonunda en düşük (<1) ve Ağılköy-2 popülasyonunda en yüksek (2.61 kat); etoxazole+DEM sinerjistinin birlikte uygulanması sonucunda ise Yalvaç popülasyonunda en düşük (1.08 kat) ve Gönen popülasyonunda en yüksek (1.65 kat) sinerjistik etki oranları belirlenmiştir (Çizelge 3). *N. californicus* popülasyonları içerisinde spirodiclofen'e karşı Ağılköy-1 (5.86 kat) ve Yalvaç popülasyonlarında (7.08 kat) diğer popülasyonlara göre yüksek direnç oranı belirlenmiştir. Diğer dört avcı akar popülasyonlarının spirodiclofen'e karşı direnç oranlarının düşük bulunması nedeniyle PBO, IBP ve DEM sinerjist çalışmaları yalnızca direnç oranları diğer popülasyonlara göre daha yüksek bulunan Ağılköy-1 ve Yalvaç popülasyonlarında yapılmış ve sonuçlar Çizelge 3'de verilmiştir. Atabey-2 popülasyonunun hexythiazox direncinin düşük çıkması nedeniyle (3.69 kat) sinerjist çalışmaları diğer beş popülasyonda yapılmıştır. Hexythiazox+PBO'nun birlikte uygulanması sonucunda Atabey-1 popülasyonunda en düşük (1.96 kat) Ağılköy-2 popülasyonunda ise en yüksek (3.15 kat); hexythiazox+IBP'nin birlikte uygulanması sonucunda Yalvaç popülasyonunda en düşük (1.06) ve Ağılköy-2 popülasyonunda en yüksek (1.81 kat); hexythiazox+DEM sinerjistinin birlikte uygulanması sonucunda ise Gönen popülasyonunda en düşük (1.34 kat) ve Atabey-1 popülasyonunda en yüksek (1.89 kat) sinerjistik etki oranları belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarında etoxazole ve etoxazole + sinerjistlerin LC₅₀ değerleri ve sinerjist etki oranları

Popülasyon	n*	Etoxazole			Spirodiclofen			Hexythiazox		
		Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (Güven aralıkları)	SR**	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (Güven aralıkları)	SR	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (Güven aralıkları)	SR
Atabey-1 (Sinerjistsiz)	600	1.25±0.12	12.28 7.43-19.09	-	-	-	-	1.43±0.13	20.92 14.14-29.28	-
PBO	600	1.51±0.12	3.86 2.59-5.44	3.18	-	-	-	1.57±0.15	10.63 8.10-13.46	1.96
IBP	600	1.43±0.12	7.62 5.27-10.55	1.61	-	-	-	1.44±0.13	15.45 8.85-24.42	1.35
DEM	600	1.35±0.12	8.14 5.52-11.67	1.50	-	-	-	1.43±0.12	11.05 8.16-14.57	1.89
Atabey-2 (Sinerjistsiz)	600	1.21±0.10	13.73 9.18-20.39	-	-	-	-	-	-	-
PBO	600	1.65±0.13	4.35 3.11-5.83	3.15	-	-	-	-	-	-
IBP	600	1.38±0.11	5.49 4.44-6.71	2.50	-	-	-	-	-	-
DEM	600	1.37±0.13	10.90 8.29-10.95	1.25	-	-	-	-	-	-
Ağılköy-1 (Sinerjistsiz)	600	1.52±0.13	14.22 8.75-21.15	-	1.40±0.14	13.37 8.66-19.28	-	1.40±0.12	30.72 15.72-54.71	-
PBO	600	1.61±0.14	5.83 3.83-8.28	2.42	1.60±0.13	4.91 3.51-6.61	2.72	1.43±0.12	14.48 11.32-18.31	2.12
IBP	600	1.51±0.13	11.04 8.46-13.96	1.20	1.44±0.13	8.18 4.80-12.70	1.63	1.55±0.15	25.81 13.40-45.82	1.19
DEM	600	1.40±0.11	10.84 8.85-13.24	1.31	1.31±0.11	9.42 6.20-13.92	1.41	1.37±0.11	19.95 16.17-24.44	1.53

Çizelge 3. Devamı.

Popülasyon	n*	Eğim±se	Etoxazole		Spirodiclofen			Hexythiazox		
			LC ₅₀ µl/100 ml (Güven aralıkları)	SR**	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (Güven aralıkları)	SR	Eğim±se	LC ₅₀ µl/100 ml (Güven aralıkları)	SR
Ağılköy-2 (Sinerjistsiz)	600	1.38±0.12	17.44 10.72-26.83	-	-	-	-	1.43±0.14	27.49 17.62-39.48	-
PBO	602	1.48±0.13	7.10 4.59-10.21	2.45	-	-	-	1.64±0.15	8.70 5.65-12.30	3.15
IBP	601	1.65±0.13	6.67 4.84-8.88	2.61	-	-	-	1.54±0.1	15.17 10.58-20.84	1.81
DEM	600	1.44±0.13	10.68 8.33-13.39	1.63	-	-	-	1.41±0.11	15.43 11.03-21.33	1.78
Gönen (Sinerjistsiz)	600	1.43±0.13	11.93 7.56-17.27	-	-	-	-	1.29±0.13	24.17 19.30-30.11	-
PBO	600	1.45±0.15	4.87 3.46-6.60	2.44	-	-	-	1.41±0.12	9.33 5.21-14.80	2.59
IBP	602	1.34±0.11	10.29 7.08-14.46	1.15	-	-	-	1.62±0.14	18.53 11.89-26.72	1.30
DEM	603	1.29±0.11	7.23 5.83-8.95	1.65	-	-	-	1.38±0.12	18.02 12.61-24.82	1.34
Yalvaç (Sinerjistsiz)	600	1.53±0.16	11.70 7.96-16.29	-	1.436±0.125	16.16 11.64-21.89	-	1.40±0.12	32.22 20.11-48.28	-
PBO	601	1.44±0.12	5.06 3.07-7.64	2.31	1.521±0.127	5.78 3.80-8.40	2.79	1.47±0.12	13.40 8.55-19.81	2.40
IBP	602	1.46±0.14	12.56 7.36-19.30	0.93	1.449±0.118	11.74 7.77-16.52	1.37	1.49±0.15	30.22 20.11-42.32	1.06
DEM	605	1.36±0.13	10.77 8.18-13.80	1.08	1.519±0.143	11.73 8.11-16.81	1.35	1.60±0.14	23.68 16.67-32.05	1.36

* n: denemede kullanılan birey sayısı.

**SR: Sinerjistik etki oranı.

Biyokimyasal sonuçlar

Biyokimyasal çalışmalar içerisinde *N. californicus* popülasyonlarının esteraz enzimleri hem elektroforetik hem de kinetik olarak incelenmiştir. Ayrıca *N. californicus* popülasyonlarının GST, sitokrom P450 ve AChE enzim aktiviteleri de kinetik olarak belirlenmiştir.

Esteraz, glutathion S-transferaz (GST), sitokrom P450 monoksijenaz ve asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi sonuçları

Esteraz enzimi Atabey-2 popülasyonunda 11,788 mOD/min/mg protein değeriyle en yüksek olarak belirlenmiştir. Atabey-2 popülasyonu istatistiki olarak diğer popülasyonlardan farklı bir gruba oluşturmuştur ($P<0.05$). Yalvaç popülasyonu ise 7,130 mOD/min/mg protein değeri ile en düşük esteraz enzim seviyesine sahiptir ve istatistiki olarak diğer popülasyonlardan farklı bulunmuştur (Çizelge 4). Gönen popülasyonunun 3,47 mOD/min/mg protein değeri GST enzim aktivitesini hassas ve diğer popülasyonlardan daha yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir ve istatistiki olarak farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Atabey-1, Atabey-2, Ağılköy-1, Ağılköy-2 ve Yalvaç popülasyonlarının GST enzim aktiviteleri hassas popülasyonun GST enzim aktivitesiyle benzer bulunmuş ve bu popülasyonlar istatistiki olarak aynı

grup içerisinde yer almışlardır (Çizelge 4). Ağılıköy- 1 popülasyonunda 0,0695 mOD/min/mg protein değeri ile en yüksek düzeyde sitokrom P450 monoksijenaz enzimi seviyesi belirlemiş ve istatistiki olarak diğer popülasyonlardan farklı bulunmuştur. Atabey-2, Gönen, Yalvaç ve hassas popülasyonları istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almışlardır ($P<0.05$). Atabey-1 ve Ağılıköy-2 popülasyonlarında sitokrom P450 monoksijenaz enzim seviyesi hassas popülasyona göre daha az bulunmuştur (Çizelge 4). Atabey-1 ve Ağılıköy-2 popülasyonları 0.0243 mOD/min/mg ve 0.0237 mOD/min/mg protein değerleri ile en yüksek seviyede AChE enzim aktivitesini göstermişler ve istatistiki olarak farklı bir grup oluşturmuşlardır (Çizelge 4). Diğer popülasyonların AChE enzim aktivitesi hassas popülasyonla benzerlik göstermiş ve istatistiki olarak aynı bir grup içerisinde yer almışlardır ($P<0.05$).

Çizelge 4. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının esteraz enzim aktiviteleri

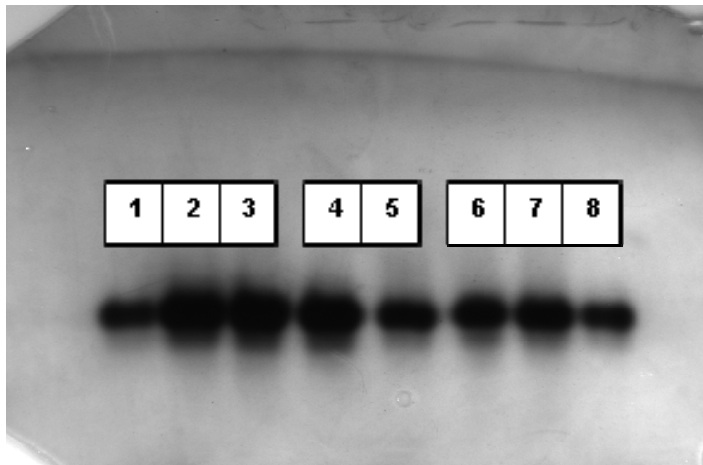
Popülasyon	Esteraz		GST		P450		AChE	
	N*	mOD/min/mg	N	mOD/min/mg	N	mOD/min/mg	N	mOD/min/mg
Atabey-1	3	8,882 C	3	2,76 B	3	0,0299 C	3	0,0243 A
Atabey-2	3	11,788 A	3	2,37 B	3	0,0494 B	3	0,0211 B
Ağılıköy-1	3	9,431 BC	3	2,48 B	3	0,0695 A	3	0,0217 B
Ağılıköy-2	3	10,030 B	3	2,25 B	3	0,0223 C	3	0,0237 A
Gönen	3	10,837 B	3	3,47 A	3	0,0445 B	3	0,0217 B
Yalvaç	3	7,130 D	3	2,89 B	3	0,0439 B	3	0,0222 B
Hassas	4	8,615 C	3	2,07 B	3	0,0398 B	3	0,0220 B

*N: tekrerrür sayısı.

Poliakrilamid jel elektroforez sonuçları

N. californicus popülasyonlarının esteraz enzimleri poliakrilamid jel elektroforez yöntemiyle belirlenmiş ve bantlar şekil 1'de verilmiştir.

N. californicus'un tüm popülasyonlarında esteraz enzimleri tek banttan oluştuğu belirlenmiştir. Hassas popülasyona ait bantlara diğer popülasyonlara ait bantlardan daha ince çıkmıştır. Özellikle Atabey-1, Atabey-2 ve Ağılıköy-1'e ait bantlar oldukça koyu çıkmıştır. Diğer tarla popülasyonlarının da hassas popülasyona göre bant kalınlıkları daha yoğun bulunmuştur.



Şekil 1. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının esteraz izozimlerinin PAGE elektroforez bant sistemleri (1,8: Hassas, 2:Atabey-1, 3: Atabey-2, 4:Ağılıköy-1, 5:Ağılıköy-2, 6:Gönen, 7:Yalvaç).

Tartışma

Bu çalışmada zararlı kırmızıörümceklerin önemli ve etkili bir avcısı olan *N. californicus*'un arazi popülasyonlarının etoxazole, spiroadiclofen ve hexythiazox'a karşı direnç geliştirme özellikleri ve direnç düzeyleri ve direnç mekanizmaları mekanizmaları belirlenmiştir.

Ettoxazole, spiroadiclofen ve hexythiazox'a karşı arazi popülasyonlarının tamamında hassas popülasyonla karşılaştırıldığında LC₅₀ değerlerine göre duyarlılık kaybı bulunmuştur. *N. californicus* popülasyonlarında ettoxazole karşı 9.66 – 14.41 kat; spiroadiclofen'e karşı 4.10 – 7.08 kat ve hexythiazox'a karşı ise 3.69 - 9.79 arasında değişen oranlarda direnç belirlenmiştir. Sökeli et al. (2007), Isparta ili ve çevresindeki elma üretimi yapılan alanlardan toplanan *T. urticae* popülasyonlarında propargite, chlorpyrifos ve abamectin için sırasıyla <1.0-1.046, 2.341-40.206 ve <1.0-1.387 kat direnç belirlemiştir. Bonafos et al. (2007) bağ alanlarından topladıkları *Typhlodromus pyri* (Acari:Phytoseiidae) ve *Amblyseius andersoni* (Acari:Phytoseiidae) popülasyonlarının deltamethrin, lamda-cyhalothrin ve chlorpyrifos-ethyl'e karşı orta düzeyden yüksek düzeye kadar değişen oranlarda dirençli bulmuşlardır. Yorulmaz vd. (2010), elma bahçelerinden topladıkları 13 adet *T. urticae* popülasyonunda cyhexatin'e karşı 1.24-3.36 kat, propargite karşı ise 1.23-3.18 kat arasında değişen direnç tespit etmişlerdir. Tirello et al. (2012), bağ alanları ve elma bahçelerinden toplanan dört farklı *Kampimodromus aberrans* popülasyonlarında 1.85-6.83 arasında değişen katlarda chlorpyrifos direnci belirlemiştir.

Avcı akarın arazi ve hassas popülasyonlarında ettoxazole +PBO, spiroadiclofen+PBO ve hexythiazox+PBO'nun birlikte uygulanması sonucunda sırasıyla 2.31- 3.18, 2.72-2.79 ve 1.96- 3.15 arasında değişen katlarda sinerjistik etki belirlenmiştir. *N. californicus* popülasyonları içerisinde ettoxazole karşı yüksek direnç katlarına sahip Atabey-1, Atabey-2 ve Ağılıköy-2 (10.14, 11.34 ve 14.41kat) popülasyonlarında en yüksek sinerjistik etki belirlenmiştir (3.18, 3.15 ve 2.45 kat). Spiroadiclofen+PBO'nun birlikte uygulanması sonucunda, spiroadiclofene'e karşı yüksek direnç belirlenen Yalvaç (7.08 kat) ve Ağılıköy-1 (5.86 kat) popülasyonlarında 2.79 ve 2.72 kat sinerjistik etki belirlenmiştir. Diğer avcı akar popülasyonlarının spiroadiclofene karşı duyarlılık düzeylerinin düşük çıkması nedeniyle sinerjistik çalışmalar yapılmamıştır. Hexythiazox+PBO ile yapılan çalışmalar sonucunda *N. californicus* popülasyonları içerisinde hexythiazox'a karşı belirlenen yüksek direnç katlarına sahip Yalvaç (9.79 kat), Ağılıköy-1 (9.33 kat) ve Ağılıköy-2 (8.35 kat) popülasyonlarında yüksek sinerjistik etki belirlenmiştir (sırasıyla 2.40, 2.12 ve 3.15 kat). Bu sonuçlar göz önüne alındığında spiromesifen, spiroadiclofen ve hexythiazox'a karşı PBO ile yüksek sinerjistik etki belirlenen popülasyonlarda yüksek direnç belirlenmiştir. PBO sinerjistinin inhibitörü olduğu sitokrom P450 monoksigenaz enzimi Ağılıköy-1 popülasyonunda en yüksek, Atabey-1 ve Yalvaç popülasyonlarında ise hassas popülasyonla aynı düzeyde bulunmuştur. P450 enzimi ve PBO sinerjisti birlikte düşünüldüğünde P450 monoksigenaz enziminin bu popülasyonlarda direnç gelişiminde etkisi olduğu söylenebilir. Ancak yüksek sinerjistik etki belirlenen Atabey-1 ve Ağılıköy-2 popülasyonlarında ise hassas popülasyona göre daha düşük seviyede bulunmuş ve farklı bir istatistik grupta ifade edilmiştir. Sato et al. (2001), monooksigenaz inhibitörleri olan piperonyl butoxide ve 2-propynyl 2,3,6-trichlorophenyl'in methidathion dirençli *A. womersleyi*'de yüksek derecede sinerjistik etki gösterdiğini ve oksidatif metabolizmasının arttığını ortaya koymuşlardır. Kim et al. (2006), 240 kat pyridaben dirençli *T. urticae*'de fenpyroximate için 373 kat, acrinathrin için 329 kat, benzoximate için 84 kat direnç tespit belirledikleri çalışmada, PBO'nun pyridaben direnci üzerinde büyük etkisi olduğu bulmuşlardır. Sato et al. (2006) 177 kat methidathion dirençli ve hassas *Amblyseius womersleyi*'de monoksigenaz aktivitesinin dirençli popülasyonda hassas popülasyona göre 3.60 kat arttığını belirlemiştir.

Ettoxazole +IBP, spiroadiclofen+IBP ve hexythiazox+IBP'nin birlikte uygulanmasıyla <1-2.61, 1.37-1.63 ve 1.06-1.81 arasında değişen katlarda sinerjistik etki bulunmuştur. *N. californicus* popülasyonları içerisinde 14.41 kat ve 11.34 kat ile ettoxazole yüksek direnç gösteren Ağılıköy-2 ve Atabey-2 popülasyonlarında IBP sinerjisti için 2.61 kat ve 2.50 kat ile yüksek etki belirlenmiştir. Buna karşılık 9.66

kat ile en düşük dirence sahip olan Yalvaç popülasyonunda ise sinerjistik etki <1 olarak bulunmuştur. Spirodiclofen'e karşı belirlenen direnç oranlarının düşük olması nedeniyle sadece Ağılıköy-1 ve Yalvaç popülasyonlarında yapılan sinerjistik çalışmalarında 1.63 ve 1.37 kat sinerjistik etki bulunmuştur. Hexythiazox+IBP sonucunda ise hexythiazox'a karşı yüksek direnç belirlenen Ağılıköy-2 (8.35 kat), Gönen (7.34 kat) ve Atabey-1 (6.35 kat) popülasyonlarında 1.81, 1.30 ve 1.35 kat sinerjistik etki belirlenmiştir. Elektroforez sonucu elde edilen bantlarda yüksek sinerjistik etki belirlenen Atabey-1, Atabey-2, Ağılıköy-1 ve Ağılıköy-2 popülasyonlarının hassas popülasyona göre bant kalınlıkları daha fazladır. Ayrıca esteraz enziminin kinetik olarak incelenmesi sonucunda Atabey-2, Ağılıköy-2 ve Ağılıköy-1 popülasyonlarının enzim miktarları hassas popülasyona göre yüksek bulunmuştur. Bu durumda bu avcı akar popülasyonlarında etoxazole, spirodiclofen ve hexythiazox'a karşı direnç gelişiminde esteraz enziminin etkisi olduğu söylenebilir. Booth et al. (2007), tarla ve laboratuvar koşullarında, lambda-cyhalothrin ve dimethoate'nin *Rhopalosiphon padi* (L.) (Hemiptera:Aphidoidea) ve afitin predatörü olan *Micromus tasmaniae* Walker (Neuroptera:Hemiptera) üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, kolinesteraz enzimi dimethoate direncini etkilerken; GST enziminin lambda-cyhalothrin ve dimethoate üzerine etkisi olmadığı belirlenmiştir. Sayyed et al. (2010), 896 kat deltamethrin dirençli *Chrysoperla carnea* (Neuroptera:Chrysopidae) popülasyonunda esteraz ve monoksigenaz enzim seviyelerinin arttığını belirlenmiştir.

Ettoxazole+DEM, spirodiclofen+DEM ve hexythiazox+DEM uygulamaları sonucunda sırasıyla 1.08-1.65, 1.35-1.41 ve 1.34-1.89 kat olarak bulunmuştur. Ettoxazole+DEM uygulaması sonucunda ettoxazole karşı yüksek direnç belirlenen Ağılıköy-2 (14.41 kat) ve Gönen (9.85 kat) popülasyonlarında en yüksek sinerjistik etkiler belirlenmiştir (1.63 ve 1.65 kat). Hexythiazox+DEM uygulaması sonucunda ise, hexythiazox'a karşı yüksek direnç belirlenen Ağılıköy-1 (9.33 kat), Ağılıköy-2 (8.35 kat) ve Gönen (7.34 kat) popülasyonlarında yüksek sinerjistik etki belirlenmiştir (1.53, 1.78 ve 1.34 kat). GST enziminin kinetik olarak belirlenmesi sonucunda ise en yüksek enzim miktarı Gönen popülasyonunda belirlenmiş ve istatistiki olarak farklı bir grupta ifade edilmiştir ($P<0.05$). Diğer avcı akar popülasyonlarının GST enzim miktarı hassas popülasyonla benzer bulunmuş ve aynı grup içerisinde yer almışlardır ($P<0.05$). DEM sinerjisti ve GST enzim sonuçları birlikte düşünüldüğünde Gönen popülasyonunda hexythiazox direnç gelişiminde GST enziminin etkisi olduğu söylenebilir. Fournier et al. (1987), *Phytoseiulus persimilis* (Acari:Phytoseiidae)'de demethidathion direnci üzerinde yalnızca GST enziminin etkili olduğunu bulmuşlardır. Pottelberge et al. (2009), 274 kat spirodiclofen dirençli *T. urticae* popülasyonunda P450 monoksigenaz, esteraz ve GST enzimlerinin direnç gelişiminde rol oynadığını belirlenmiştir.

Neoseiulus californicus popülasyonlarının AChE enzim aktiviteleri ve direnç oranları birlikte değerlendirildiğinde, AChE enzim aktivitesi Atabey-1 ve Ağılıköy-2 popülasyonlarında yüksek bulunmuş ve istatistiki olarak farklı bir grupta yer almışlardır ($P<0.05$). Hassas popülasyon ve diğer avcı akar popülasyonlarının AChE enzim aktiviteleri ise benzer bulunmuş ve aynı grup içerisinde yer almışlardır. Atabey-1 ve Ağılıköy-2 popülasyonları özellikle ettoxazole karşı yüksek direnç belirlenen popülasyonlardır. Anber & Overmeer (1988), *Amblyseius andersoni* (Garman)'de substrat olarak asetilkolinesteraz enzimi belirlemişlerdir. Kumral et al. (2011), *Panonychus ulmi* (Acari:Tetranychidae) ve avcısı *Stethorus gilvifrons* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae)'da parathion-methyl direnci, karboksilesteraz enzim seviyesi ve AChE hassasiyetini benzer bulmuşlar ve *Stethorus gilvifrons*'un tarla koşullarında ilaçlara karşı direnç geliştirebileceği belirtilmiştir. Bu durum direnç gelişiminde AChE enziminin etkisinin de olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca AChE enziminin organik fosforlu ve karbamatlı ilaçlarla ilişkisi olduğu bilinmektedir. *N. californicus*'un arazi popülasyonlarının elma bahçelerinde bu gruptan ilaçlara maruz kaldığı ve böylece AChE enziminin yükseldiği de diğer bir olasılıktır. Bu nedenle avcı akarın laboratuvarında bu ilaçlara karşı seleksiyon baskısı sonucu direnç geliştiren popülasyonlarında da AChE enziminin incelenmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada *N. californicus*'un arazi popülasyonlarının etoxazole, spirodiclofen ve hexythiazox'a karşı direnç gelişimleri biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle incelenerek direnç mekanizmaları belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada kullanılan ilaçlara karşı direnç gelişiminden tek bir enzim aktivitesinin sorumlu olmadığı, esteraz, P450 monooksijenaz, GST ve AChE enzimlerinin değişik oranlarda direnç gelişimine katıldığı düşünülmektedir. İlaçların doğal düşmanlar üzerindeki yan etkilerinin yanı sıra predatör ve parazitoidlerin bazı kimyasallara karşı direnç kazandığı bilinmektedir. Çünkü yoğun ilaç uygulanan alanlarda bulunan doğal düşmanlar hedef olmamalarına rağmen uygulanan kimyasallardan dolayı olarak etkilenmektedir. Bir şekilde ilaçlara karşı direnç kazanan doğal düşmanların özellikle direnç yönetim programları içerisinde kullanılabileceği düşünülmektedir. Ayrıca yapılan bu çalışma, *N. californicus*'da direnç mekanizmasının belirlenmesi adına dünyada ve ülkemizde yapılan ilk çalışma olması yönünden de önem kazanmaktadır. Bu tür çalışmalar *N. californicus*'da ileride yapılacak olan diğer çalışmalara da altyapı hazırlaması yönünden fayda sağlayabilir.

Teşekkür

Bu çalışmada elma bahçelerinden toplanan kırmızıörümceklerin teşhisini yapan Prof. Dr. Sultan ÇOBANOĞLU'na teşekkür ederiz. 110-O-631 No'lu proje ile çalışmayı maddi olarak destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırmalar Kurumu (TÜBİTAK-TOVAG)'a teşekkür ederiz.

Yararlanılan Kaynaklar

- Anber, H. A. I. & W. P. J. Overmeer, 1988. Resistance to organophosphates and carbamates in the predacious mite *Amblyseius potentillae* (Garman) due to insensitive acetylcholinesterase. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 31(1): 91-98.
- Ay, R. & M. O. Gürkan, 2005. *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae)'nin değişik popülasyonlarının iki selektif akarite karşı duyarlılıkları ve duyarlılık mekanizmaları üzerinde araştırmalar. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 11(2): 217-223.
- Auger, P., R. Bonafos, S. Kreiter & R. Delorme, 2005. A genetic analysis of moncozeb resistance in *Typhlodromus pyri* (Acari:Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, 37: 83-91.
- Bonafos, R., E. Serrano, P. Auger & S. Kreiter, 2007. Resistance to deltamethrin, lambda-cyhalothrin and chlorpyrifos-ethyl in some populations of *Typhlodromus pyri* Scheuten and *Amblyseius andersoni* (Chant) (Acari:Phytoseiidae) from vineyards in the south-west of france. *Crop Protection*, 26(2): 169-172.
- Booth, L. H., S. D. Wratten & P. Kehrli, 2007. Effects of reduced rates of two insecticides on enzyme activity and mortality of an aphid and its lacewing predator. *Journal of Economic Entomology*, 100(1): 11-19.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitiv method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Canlas, L. J., H. Amano, N. Ochiai & M. Takeda, 2006. Biology and predation of the japanese strain of *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari:Phytoseiidae). *Systematic & Applied Acarology*, 11(3) 141-157.
- Castagnoli, M. & S. Simoni, 1999. Effect of long-term feeding history on functional and numerical response of *Neoseiulus californicus* (Acari:Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, 23: 217-234.
- Çakmak, İ. & S. Çobanoğlu, 2006. *Amblyseius californicus* (McGregor, 1954) (Acari: Phytoseiidae), a new record for the turkish fauna. *Turkish Journal of Zoology*, 30(1): 55-58.
- Fournier, D., A. Cuany, M. Pralavorio, J.M. Bride & J. B. Berge, 1987. Analysis of methidathion resistance mechanisms in *Phytoseiulus persimilis* A.H. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 28(2): 271-278.
- Kim, Y. J., S. H. Lee, S. W. Lee & Y. J. Ahn, 2004. Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. *Pest Management Science*, 60(10): 1001-1006.
- Kim, Y. J., H. M. Park, J. R. Cho & Y. J. Ahn, 2006. Multiple resistance and biochemical mechanisms of pyridaben resistance in *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 99(3): 954-958.
- Kumral, N. A., N. S. Gencer, H. Susurluk & C. Yalcin, 2011. A comparative evaluation of the susceptibility to insecticides and detoxifying enzyme activities in *Stethorus gilvifrons* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Panonychus ulmi* (Acarina:Tetranychidae). *International Journal of Acarology*, 37(3): 255-268.

- Leeuwen, T. V., V. Stillatus & L. Tirry, 2004. Genetic analysis and cross-resistance spectrum of a laboratory-selected chlorfenapyr resistant strain of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology*, 32: 249–261.
- LeOra Software, 1994. Polo-pc: a user's guide to probit or logit analysis leora software, 28 p., Berkeley.
- Nauen, R. & G. Smagghe, 2006. Rapid report mode of action of etoxazole. *Pesticide Management Science*, 62(5): 379–382.
- Öncüer, C. & E. Durmuşoğlu, 2008. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları,, Aydın, 464s.
- Pottelberge, S.V., T.V. Leeuwen, J. Khajeali & L. Tirry, 2009. Genetic and biochemical analysis of a laboratory-selected spiroadicofen-resistant strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae). *Pest Management Science*, 65: 358–366.
- Rhodes, E. M. & O. E. Liburd, 2005. Predatory Mite, *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Arachnida: Acari: Phytoseiidae). Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 359 pp.
- Sato, E. M., T. Miyata, A. Kawai & O. Nakano, 2000. Selection for resistance and susceptibility to methidathion and cross resistance in *Amblyseius wormersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). *Applied Entomology and Zoology*, 35(3): 393-399.
- Sato, E. M., T. Miyata, A. Kawai & O. Nakano, 2001. Methidathion resistance mechanisms in *Amblyseius womersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 69(1): 1–12.
- Sato, E. M., T. Tanaka & T. Miyata, 2006. Monooxygenase activity in methidathion resistant and susceptible populations of *Amblyseius wormersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, 39(1): 13-24.
- Sayyed, A. H., A. K. Pahtan & U. Faheem, 2010. Cross-resistance, genetics and stability of resistance to deltamethrin in a population of *Chrysoperla carnea* from Multan, Pakistan. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98(3) : 325–332.
- Sökeli, E., R. Ay & İ. Karaca, 2007. Determination of the resistance level of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) populations in apple orchards in Isparta province against some pesticides. *Journal of Agricultural Science*, 13(4): 326-330.
- Stumpf, N. & R. Nauen, 2002. Biochemical markers linked to abamectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 72(2): 111-121.
- Stumpf, N., P. W. Zebitz, W. Kraus, G. D. Moores & R. Nauen, 2001. Resistance to organophosphates and biochemical genotyping of acetylcholinesterases in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 69(2): 131-142.
- Tirello, P., A. Pozzebon & C. Duso, 2012. Resistance to chlorpyrifos in the predatory mite *Kampimodromus aberrans*. *Experimental and Applied Acarology*, 56: 1–8.
- Yorulmaz, S. & R. Ay, 2011. "Isparta ili elma bahçelerinden toplanan avcı akar *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) popülasyonlarının spiromesifen'e karşı duyarlılık düzeylerinin ve sinerjistlerinin belirlenmesi, 129". Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi (28-30 Haziran 2011, Kahramanmaraş) Bildirileri, 496 s.,
- Yorulmaz, S. & R. Ay, 2012. Isparta ili elma bahçelerinden toplanan avcı akar *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) popülasyonlarının bazı akar sitelere karşı direnç düzeyleri ve direnç mekanizmaları. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 16(2): 122-132.
- Yorulmaz, S., P. Kaplan, D. Boztürk, S. Çobanoğlu & R. Ay, 2010. Isparta ili elma bahçelerinden toplanan *Tetranychus urticae* Koch. (Acarina: Tetranychidae) popülasyonlarının cyhexatin ve propargite karşı duyarlılıklarının belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 5 (1): 17-23.
- Winer, B. J., D. R. Brown & K.M. Michels, 1991. *Statistical Principles in Experimental Design*. New York Edition, New York, USA, ,552 pp.