

Türkiye Entomoloji Dergisi
(Turkish Journal of Entomology)

Cilt (Vol.) 39

Sayı (No.) 1

Mart (March) 2015

İnceleme ve Değerlendirmede Bilimsel Olarak Katkıda Bulunanlar
(Scientific Advisory Board)

AKBULUT, Mikail, Kayseri
AKBULUT, Süleyman, Düzce
AKYAZI, Faruk, Ordu
AMBROZIAK, A. K., Poland
ARMENGAUD, C., France
ASSING, V., Germany
ATLIHAN, Remzi, Van
AVCI, Mustafa, Isparta
AYDIN, Gökhan, Isparta
AZİZOĞLU, Uğur, Erciyes
BAŞHAN, Mehmet, Diyarbakır
BAŞIBÜYÜK, Hasan H., Sivas
BORDERA, S., Spain
BÜYÜKGÜZEL, Ender, Zonguldak
BÜYÜKGÜZEL, Kemal, Zonguldak
CAN, Feza, Hatay
CANHİLAL, Ramazan, Erciyes
ÇİVELEK, Hasan Sungur, Muğla
ÇAKMAK, İbrahim, Aydın
ÇALMAŞUR, Önder, Erzurum
ÇETİNTAŞ, Ramazan, Kahramanmaraş
DAĞLI, Fatih, Antalya
DOĞAN, Salih, Erzincan
DEMİRÖZER, Ozan, Isparta
DURMUŞOĞLU, Enver, İzmir
ELMA Fatmanur, Konya
ELMALI, Meryem, Konya
ER, Mehmet Kubilay, Kahramanmaraş
ERDEM, Meltem, Zonguldak
ERLER, Fedai, Antalya
EROĞLU, Mahmut, Trabzon
FERİZLİ, Ahmet Güray, Ankara
FRIEDBERG, A., Israel
GAUGLER, R., USA
GARONNA, A. P., Italy
GÖZEL, Uğur, Çanakkale
GÖKÇE, Ayhan, Niğde
GÜRBÜZ, Mehmet Faruk, Isparta
HYRŠL, P., Czech Republic
IŞIKBER, Ali Arda, Kahramanmaraş
JUSSILA, R., Finland
KAPLAN, Cevdet, Bitlis
KARACA, İsmail, Isparta
KARAKOÇ, Ömer Cem, Çankırı
KARUT, Kamil, Adana
KAŞKAVALCI, Galip, İzmir
KAYDAN, Bora, Adana

KAZAK, Cengiz, Adana
KEPENEKÇİ, İlker, Ankara
KESKİN, Bekir, İzmir
KHANJANI, M., Iran
KIVAN, Müjgan, Tekirdağ
KORNEYEV, V. Ukraine
KUBIC, S., Czech Republic
KUMRAL, Nabi Alper, Bursa
LEGALOV, A. A., Russia
MENNAN, Sevilhan, Samsun
MERTLIK, J., USA
MORAVVEJ, G. Iran
OOSTERBROEK, P., Holland
OPERMAN, C. H., USA
ÖZBEK, Hikmet, Erzurum
ÖZDER, Nihal, Tekirdağ
ÖZGÖKÇE, Salih, Van
ÖZKAN, Cem, Ankara
ÖZSEMERÇİ, Fatma, İzmir
PELLIZZARI, G., Italy
PLATIA, G., Italy
SÁNCHEZ-MARTINEZ, G., USA
SATAR, Serdar, Adana
SERTKAYA, Erdal, Hatay
SOLODOVNIKOV, A., Denmark
SÖĞÜT, Mehmet Ali, Isparta
SULLIVAN, Sebahat, Samsun
TEZCAN, Serdar, İzmir
TOKTAY, Halil, Niğde
TOMONOVIC, Z., Serbia
TOPRAK, Umut, Ankara
TOZLU, Göksel, Erzurum
TUNAZ, Hasan, Kahramanmaraş
TUNCA, Hilal, Ankara
TUNÇ, İrfan, Antalya
TUNÇBİLEK, Aydin Şüzü, Kayseri
ÜLGENTÜRK, Selma, Ankara
ÜNLÜ, Levent, Konya
VARLI, Sakin Vural, Balıkesir
VAVRE, F., France
VELİOĞLU, Sibel, Ankara
YANAR Dürdane, Tokat
YEFREMOVA, Z., Israel
YURTCAN, Murat, Edirne
ZCHORI-FEIN, E., Israel
ZHANG, Y., Z., China
ZHAO, S., China

İçindekiler (Contents)

Orijinal araştırmalar (Original articles)

Aphids (Hemiptera: Aphididae) and their parasitoids on ornamental trees and shrubs in Erzurum, Turkey

Erzurum'da ağaç ve çalı formundaki süs bitkilerinde bulunan yaprakbiti türleri (Hemiptera: Aphididae) ve parazitoitleri
Şaban GÜÇLÜ, Handan KAVAZ, Coşkun GÜÇLÜ, İlşil ÖZDEMİR 3-9

Effects of pyriproxyfen on bioenergetic resources of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)

Pyriproxyfenin *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)'nın biyoenerji kaynakları
üzerine etkileri
Kobra FOTOUHI, Morteza Movahedi FAZEL, Aurang KAVOUSI 11-22

UV radiation-induced oxidative stress and DNA damage on Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) larvae

UV radyasyonun, Un güvesi, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), larvalarında meydana
getirdiği oksidatif stres ve DNA hasarının belirlenmesi
Esra GÜVEN, Dilek PANDIR, Hatice BAS 23-33

Stigmaeus ceylani, a new species of the genus *Stigmaeus* Koch (Acari: Stigmaeidae) from Turkey

Türkiye'den *Stigmaeus* Koch (Acari: Stigmaeidae) cinsine bağlı yeni bir tür, *Stigmaeus ceylani*
İsmail ULUÇAY 35-46

The Tipulidae (Diptera) fauna of the Marmara region, with nine new records and one new genus record (*Tanyptera Latreille, 1804*) for Turkey

Türkiye için dokuz kayıt ve bir cins (*Tanyptera Latreille, 1804*) kaydı ile birlikte Marmara Bölgesi'nin
Tipulidae (Diptera) faunası
Hasan KOÇ, Okan ÖZGÜL, Abdullah HASBENLİ 47-53

Manisa ili bağ alanlarında Salkım güvesi [*Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller)] (Lepidoptera: Tortricidae) popülasyonlarının insektisit direncinin belirlenmesi

Determination of insecticide resistance of European grapevine moth [*Lobesia botrana*
(Denis & Schiffermüller)] (Lepidoptera: Tortricidae) populations in vineyards of Manisa province
Ahmet HATİPOĞLU, Enver DURMUŞOĞLU, M.Oktay GÜRKAN 55-65

Aphis fabae Scopoli (Hemiptera: Aphididae)'nin bakla üstünde üreme ve gelişmesine anne yaşının etkileri

Maternal age effects on fecundity and survival of *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) on bean
Güler YÜZTAŞ, İsmail KARACA, Mehmet Salih ÖZGÖKÇE 67-77

Bazı böcek büyümeye düzenleyicilerinin ve bioinsektisitlerin avcı akarlar *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) ve *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae)'a toksik etkileri

The toxic effects of some insect growth regulators and bioinsecticides on predators mites
Phytoseiulus persimilis Athias-Henriot ve *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae)
Derya KURUBAL, Recep AY 79-89

Köpek üzümü bitkilerinin (Solanaceae) zararlı veya avcı akarlar için barınak bitki olma potansiyelleri

The potential of the nightshade plants (Solanaceae) as reservoir plants for pest and predatory mites
Nabi Alper KUMRAL, Sultan ÇOBANOĞLU 91-108

Bazı bitki uçucu yağlarının *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) üzerindeki fumigant toksisiteleri

Fumigant toxicity of some plant essential oils to *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae)
Tuğba SELIMOĞLU, Ayhan GÖKÇE, Dürdane YANAR 109-118

Orijinal araştırma (Original article)

Aphids (Hemiptera: Aphididae) and their parasitoids on ornamental trees and shrubs in Erzurum, Turkey¹

Erzurum'da ağaç ve çalı formundaki süs bitkilerinde bulunan yaprakbiti türleri (Hemiptera: Aphididae) ve parazitoitleri

Şaban GÜÇLÜ^{2*} Handan KAVAZ³ Coşkun GÜÇLÜ⁴ İŞİL ÖZDEMİR⁵

Summary

This study was carried out to determine the aphid species and their parasitoids on trees and shrubs collected in the center of Erzurum every week between May and October during 2004 and 2005. In this study 17 aphid species (Hemiptera: Aphididae) and 8 parasitoid species (Hymenoptera: Aphidiidae) were recorded on 11 different host plants. The Aphididae, *Chaitophorus nigritus* Hille Ris Lambers 1966, *Loniceraphis paradoxa* Narzikulov 1962, *Chaitophorus vitellinae vitellinae* (Schrank 1801) and the Aphidiidae *Aphidius aquilus* Mackauer 1961, *Aphidius schimitscheki* (Starý, 1960), *Binodoxys heraclei* (Haliday, 1833), *Lipolexis gracilis* Foester 1862, *Pauesia unilachni* (Gahan, 1927) and *Trioxys humuli* Mackauer, 1960 are new records for the Turkish fauna. New hosts to four parasitoid species were also listed.

Key words: Aphididae, Aphidiidae, ornamental plants, hosts of parasitoids

Özet

Erzurum Merkezde ağaç ve çalı formundaki süs bitkilerde bulunan yaprakbiti türleri ve bu türlerin parazitoitlerini belirlemek amacıyla 2004 ve 2005 yılları Mayıs-Ekim aylarında yürütülen bu çalışmada örnekler her hafta toplanmıştır. Çalışmada 11 farklı konukçu bitki üzerinde 17 yaprakbiti (Hemiptera: Aphididae) ve 8 parazitoit (Hemiptera: Aphidiidae) türü belirlenmiştir. Afitlerden *Chaitophorus nigritus* Hille Ris Lambers 1966, *Loniceraphis paradoxa* Narzikulov 1962 *Chaitophorus vitellinae vitellinae* (Schrank 1801), aphidiidlerden *Aphidius aquilus* Mackauer 1961, *Aphidius schimitscheki* (Starý, 1960), *Binodoxys heraclei* (Haliday, 1833), *Lipolexis gracilis* Foester 1862, *Pauesia unilachni* (Gahan, 1927) ve *Trioxys humuli* Mackauer, 1960 Türkiye faunası için yeni kayıttır. Ayrıca dört parazitoit tür için yeni konukçu kaydı verilmiştir.

Anahtar sözcükler: Aphididae, Aphidiidae, süs bitkileri, parazitoit konukçuları

¹ This study was supported by Scientific Research Unit of Ataturk University (BAP: 2004/60), and some data were received from M.Sc. Thesis of H.Kavaz

² Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Science, Bozok University, 66200 Yozgat, Turkey

³ Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ataturk University, 25240 Erzurum, Turkey

⁴ Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Eskişehir Osmangazi University 26160 Eskişehir, Turkey

⁵ Plant Protection Central Research Institute, Ankara, Turkey

* Corresponding author e-mail: saban.guclu@bozok.edu.tr

Alınış (Received): 29.04.2014 Kabul ediliş (Accepted): 09.02.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 22.04.2015

Introduction

Aphids are very important pests, which cause great damages in agricultural, ornamental and forest areas worldwide. Diagnosis of aphids is complicate due to their characteristic seasonal polymorphism, with the presence of parthenogenetic apterous or alate viviparae, sexuparae, males and egg-laying sexual females. Most deciduous tree-dwelling aphids have up to 8 different morphs depending on biotic and abiotic factors (Blackman & Eastop, 2000).

Till now 4700 aphid species are known worldwide, mainly distributed in temperate regions. Among these aphid species, 1758 species, belonging to 270 genera, are tree-dwelling aphids, spending all or part of their life cycles on woody hosts (Blackman & Eastop 1994, 2006; Remaudière & Remaudière, 1997).

The knowledge of aphids from Turkey is still limited (Kaygin et al., 2010; Şenol et al., 2014) and major data on aphid species were given by Düzgüneş et al. (1982), Toros et al. (2002), Aslan et al. (2004), Görür (2002, 2004a,b), Aslan & Uygun (2005), Özdemir et al. (2005), Remaudière et al. (2006), Çıraklı et al. (2008), Görür et al. (2009, 2011a,b, 2012) and Akyürek et al. (2010, 2011). Based on the results of these studies, till now a total of 466 species and 12 subspecies have been reported in Turkey.

Aphids have several natural enemies such as Aphidiidae (Hymenoptera) which play a significant role in the control of aphid populations. All Aphidiidae are solitary koinobiont parasitoids of ovoviviparous aphids. But there is no available information about their relationships with the oviparous groups of Aphidoidea (Adelgidae and Phylloxeridae). Several species have been manipulated successfully in biological control programs (Hagen & van den Bosch, 1968; Clausen, 1978) and the potential importance of Aphidiidae in the population dynamics of harmful agricultural pests is well known.

Aphidiidae are small and weakly sclerotised wasps, often having more or less profoundly reduced forewing venation, although in some genera the venation remains essentially complete. More than 400 species of these kinds of aphid parasitoids are described worldwide (Starý, 1988; Dolphine & Quicke, 2001). In the past decades, many new aphidiid species were recorded/described from Southeastern Europe (Starý et al., 1998; Kavallieratos & Lykouressis, 2000; Tomanović & Starý, 2001; Tomanović & Kavallieratos, 2002; Tomanović et al., 2002, 2003a,b; Kavallieratos et al., 2003; Kavallieratos & Tomanović, 2003).

Material and Methods

Aphids and their parasitoids were collected from ornamental trees and shrubs every week between May and October during 2004 and 2005 in Erzurum center. Leafs and shoots infested with aphids were put in polyethylene bags and were brought to the laboratory. The aphid specimens, both alata and apterous forms, were put into tubes containing 85% alcohol and labeled. Mummified aphids were brought to the laboratory in polyethylene bags and adult parasitoids were obtained under laboratory conditions ($24\pm2^{\circ}\text{C}$ and 60% RH).

Aphid specimens were identified by Dr. İşıl ÖZDEMİR and Dr. Georges REMAUDIERE (INRA, France). Parasitoid specimens were identified by Dr. Coşkun GÜCLÜ and Elena DAVIDIAN (Biological Research Institute, St. Petersburg, Russia). Distribution of aphidiid species was checked from Taxapad (Yu et al., 2012).

Results

In the center of Erzurum, 17 aphid species belonging to Aphididae and 8 parasitoid species belonging to Aphidiidae have been collected on ornamental trees and shrubs and identified during 2004 and 2005. Among these, two species and one subspecies of Aphididae, *Chaitophorus nigritus* Hille Ris Lambers 1966, *Loniceraphis paradoxa* Narzikulov 1962, *Chaitophorus vitellinae vitellinae* (Schrank 1801) and six species of Aphidiidae, *Aphidius aquilus* Mackauer 1961, *Aphidius schimitscheki* (Starý, 1960), *Binodoxys heraclei* (Haliday, 1833), *Lipolexis gracilis* Foester 1862, *Pavesia unilachni* (Gahan, 1927) and *Trioxys humuli* Mackauer, 1960, resulted new for the Turkish fauna. Moreover new host records related to four parasitoid species were also observed and are listed.

Hemiptera: Aphidinae

***Aphis craccivora* (Koch, 1854)**

Material examined: Specimens were collected from *Robinia pseudoacacia* L. in Erzurum center.

Distributions: Worldwide (Nieto Nafria, 2014).

***Aphis* (s. str.) *spiraephaga* F.P. Müller, 1961**

Material examined: Specimens were collected from *Spiraea vanhouttei* (Briot) Zabel in Erzurum center.

Distributions: Most European countries, East Palaearctic and Near East regions (Nieto Nafria, 2014).

***Aphis* (s. str.) *?sambuci* Linnaeus, 1758**

Material examined: Specimens were collected from *Syringa vulgaris* L. in Erzurum center.

Distributions: Worldwide except Afro-tropical and Australian regions (Nieto Nafria, 2014).

***Cavariella* (s. str.) *aquatica* (Gillette & Bragg, 1916)**

Material examined: Specimens were collected from *Salix* sp. in Erzurum center.

Distributions: Austria, Britain Is. (Incl. Shetlands, Orkneys, Hebrides and Man Is.), Finland, French mainland, Italian mainland, Norwegian mainland, Spanish mainland (Incl. Alboran Is.), Sweden (Incl. Gotland Is.), East Palaearctic, Near East, Nearctic and Oriental regions (Nieto Nafria, 2014).

***Cavariella* (s. str.) *theobaldi* (Gillette & Bragg, 1918)**

Material examined: Specimens were collected from *Salix* sp. in Erzurum center.

Distributions: Palaearctic, Near East and Nearctic regions (Nieto Nafria, 2014).

***Chaetosiphon* (*Pentatrichopus*) *tetrarhodum* (Walker, 1849)**

Material examined: Specimens were collected from *Rosa canina* L. in Erzurum center.

Distributions: Worldwide (Nieto Nafria, 2014).

***Chaitophorus nigritus* Hille Ris Lambers, 1966**

Material examined: Specimens were collected from *Salix* sp. in Erzurum center.

C. nigritus is new for the Turkish aphid fauna.

Distributions: India, Pakistan, Iran and Iraq (Blackman & Eastop 1994).

***Chaitophorus populeti* (Panzer, 1801)**

Material examined: Specimens were collected from *Populus alba* L. and *Salix* sp. in Erzurum center.

Distributions: Palaearctic, Near East and Oriental regions (Nieto Nafria, 2014).

***Chaitophorus vitellinae vitellinae* (Schrank, 1802)**

Material examined: Specimens were collected from *Salix* sp. in Erzurum center.

C. vitellinae vitellinae is new for the Turkish aphid fauna.

Distributions: Austria, Britain Is., Czech Republic, Finland, French mainland, Netherlands, Poland, Romania, Slovakia, Sweden, Ukraine, East Palaearctic and Nearctic regions (Nieto Nafria, 2014).

***Cryptomyzus (s. str.) ribis* (Linnaeus, 1758)**

Material examined: Specimens were collected from *Ribes* sp. in Erzurum center.

Distributions: Palaearctic (except North Africa), Near East, Nearctic and Oriental regions (Nieto Nafria, 2014).

***Euceraphis punctipennis* (Zetterstedt, 1828)**

Material examined: Specimens were collected from *Betula* sp. in Erzurum center.

Distributions: Palaearctic (except North Africa), Australian, Nearctic and Oriental regions (Nieto Nafria, 2014).

***Loniceraphis paradoxa* Narzikulov, 1962**

Material examined: Specimens were collected from *Lonicera* sp. in Erzurum center.

L. paradoxa is new for the Turkish aphid fauna.

Distributions: Central Asia (Blackman & Eastop, 2006).

***Longicaudus trirhodus* (Walker, 1849)**

Material examined: Specimens were collected from *Rosa canina* L. in Erzurum center.

Distributions: Palaearctic (except North Africa), Near East, Nearctic and Oriental regions (Nieto Nafria, 2014).

***Myzaphis rosarum* (Kaltenbach, 1843)**

Material examined: Specimens were collected from *Rosa canina* L. in Erzurum center.

Distributions: Worldwide except some European countries (Nieto Nafria, 2014).

***Pterocomma pilosum* (Buckton, 1879)**

Material examined: Specimens were collected from *Salix* sp. in Erzurum center.

Distributions: Most European countries, East Palaearctic, Near East, Nearctic and Oriental regions (Nieto Nafria, 2014).

***Sitobion avenae* (Fabricius, 1775)**

Material examined: Specimens were collected from *Rubus* sp. in Erzurum center.

Distributions: Worldwide except some European countries (Nieto Nafria, 2014).

Hemiptera: Lachninae

***Eulachnus rileyi* (Williams, 1911)**

Material examined: Specimens were collected from *Pinus sylvestris* L. in Erzurum center.

Distributions: Andorra, Austria, Azores, Belarus, Belgium, Britain Is., Bulgaria, Canary Is., Corsica, Czech Republic, Danish mainland, Finland, French mainland, Germany, Hungary, Italian mainland, Macedonia, Madeira, Moldova, Norwegian mainland, Poland, Portuguese mainland, Romania, Sicily, Slovakia, Spanish mainland, Sweden, Switzerland, Turkey, Ukraine, Yugoslavia, North Africa, Afro-tropical, Near East, Nearctic, Neotropical and Oriental regions (Nieto Nafria, 2014).

Hymenoptera: Aphidiidae

***Adalytus salicaphis* (Fitch, 1855)**

Material examined: ex *Chaitophorus populeti*, Erzurum center; 10.xii.2004, 2♂♂1♀.

Known hosts: *Aphis craccivora* (Koch), *A. farinose* J.F. Gmelin, *A. illinoiensis* Shimer, *Chaitophorus capraeae* (Mosley), *C. euphraticus* Hodjat, *C. kapuri* Hille Ris Lambers, *C. leucomelas* Koch, *C. matsumurai* Hille Ris Lambers, *C. melanosiphon* Pintera, *C. nassonowi* Mordvilko, *C. pakistanicus* Hille Ris Lambers, *C. populeti* (Panzer), *C. populialbae* (Boyer de Fonscolombe), *C. populicola* Thomas, *C. populifolii* (Essig), *C. remaudieri* Pintera, *C. saliciti* (Schrank), *C. salijaponicus* Essig & Kuwana, *C. saliniger* Shinji, *C. tremulae* Koch, *C. truncates* (Hausmann), *C. utahensis* (Knowlton), *C. viminalis* Monell ex Riley & Monell, *C. vitellinae* (Schrank), *Cryptomyzus ribis* (Linnaeus) (Hemiptera: Aphididae) (Yu et al., 2012).

Distributions: Palaearctic, Nearctic, Neotropical and Oriental regions (Yu et al., 2012).

***Aphidius aquilus* Mackauer, 1961**

Material examined: ex *Euceraphis punctipennis*, Erzurum center; 21.vii.2005, 1♂.

A. aquilus is new for the Turkish parasitoid fauna.

Known hosts: *Aphis pomi* De Geer, *Betulaphis brevipilosa* Börner, *B. quadrituberculata* (Kaltenbach), *Calaphis betulincola* (Kaltenbach), *C. flava* Mordvilko, *Callipterinella calliptera* (Hartig), *C. tuberculate* (von Heyden), *Cavariella aegopodii* (Scopoli), *Euceraphis punctipennis* (Zetterstedt), *Monaphis antennata* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae) (Yu et al., 2012).

Distributions: Bulgaria, Finland, France, Georgia, Germany, Hungary, Italy, Japan, Latvia, Lithuania, Mongolia, Netherlands, Poland, Russia, Slovakia, Spain, United Kingdom and Serbia (Yu et al., 2012).

***Aphidius schimitscheki* (Starý, 1960)**

Material examined: ex *Cryptomyzus ribis* new host record, Erzurum center; 05.vii.2004, 4♂♂2♀♀, 07.vii.2004, 1♂2♀♀, 09.vii.2004, 5♀♀, 26.vii.2004, 2♂♂, 26.vii.2004, 9♂♂, 30.vii.2004, 2♀♀, 02.vi.2005, 1♂2♀♀, 07.vi.2005, 1♀, 13.vi.2005, 1♂2♀♀, 17.vi.2005, 1♂, 06.vii.2005, 2♀♀.

A. schimitscheki is new for the Turkish parasitoid fauna.

Known Hosts: *Aphis gossypii* Glover, *Elatobium abietinum* (Walker) (Hemiptera: Aphididae) (Yu et al., 2012).

Distributions: Germany, Hungary, India, Slovakia and United Kingdom (Yu et al., 2012).

***Binodoxys heraclei* (Haliday, 1833)**

Material examined: ex *Cavariella aquatica* new host record, Erzurum center; 02.vi.2005, 5♂♂9♀♀.

B. heraclei is new for the Turkish parasitoid fauna.

Known Hosts: *Aphis fabae* Scopoli, *A. rumicis* Linnaeus, *Capitophorus hippophaes* Walker, *Cavariella aegopodii* (Scopoli), *C. aquatica* (Gillette & Bragg), *C. theobaldi* (Gillette & Bragg), *Cryptomyzus galeopsisidis* Kaltenbach, *Pterocomma salicis* (Linnaeus), *Uroleucon sonchi* (Linnaeus) (Hemiptera: Aphididae), *Anacampsis populella* Clerck (Lepidoptera: Gelechiidae), *Bostrichus binodulus* Ratzeburg (Coleoptera: Bostrichoidea), *Trypophloeus asperatus* (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae), *Rabdophaga rosaria* Loew, *R. salicis* (Schrank) (Diptera: Cecidomyiidae) (Yu et al., 2012).

Distributions: Andorra, Belgium, France, Georgia, Germany, Hungary, Ireland, Italy, Netherlands, Poland, Spain, Tajikistan, United Kingdom and Serbia (Yu et al., 2012).

***Lipolexis gracilis* Foester, 1862**

Material examined: ex *Aphis craccivora*, Erzurum center; 07.vii.2004, 1♀.

L. gracilis is new for the Turkish parasitoid fauna.

Known Hosts: *L. gracilis* has got to 280 host species in world (Yu et al., 2012).

Distributions: Palaearctic and Oriental regions (Yu et al., 2012).

***Paeusia unilachni* (Gahan, 1927)**

Material examined: ex *Eulachnus rileyi* new host record, Erzurum center; 07.vi.2005, 1♀.

P. unilachni is new for the Turkish parasitoid fauna.

Known Hosts: *Cinara formosana* (Takahashi), *C. pini* (Linnaeus), *C. pinea* (Mordvilko), *Cranaphis formosanus* (Takahashi), *Eulachnus agilis* (Kaltenbach), *Mindarus abietinus* Koch, *Schizolachnus obscurus* Börner, *S. orientalis* (Takahashi), *S. pineti* (Fabricius), (Hemiptera: Aphididae) (Yu et al., 2012).

Distributions: Andorra, Bulgaria, Burundi, China, Taiwan, Finland, France, Germany, Hungary, Italy, Japan, Korea, Latvia, Lithuania, Moldova, Netherlands, Poland, Russia, Slovakia, Spain, Sweden and Serbia (Yu et al., 2012).

***Praon volucre* (Haliday, 1833)**

Material examined: ex *Cryptomyzus ribis*, Erzurum center; 10.vi.2005, 1♀; 17.vi.2005, 1♀.

Known Hosts: *P. volucre* has got to 240 host species in world (Yu et al., 2012).

Distributions: Entirely Palearctic (Yu et al., 2012).

***Trioxys humuli* Mackauer, 1960**

Material examined: ex *Chaetosiphon tetraphodum* new host record, Erzurum center; 23vii.2005, 2♂♂.

T. humuli is new for the Turkish parasitoid fauna.

Known Hosts: *Phorodon cannabis* Passerini, *P. humuli* (Schrank), (Hemiptera: Aphididae) (Yu et al., 2012).

Distributions: France, Georgia, Germany, Hungary, India, Serbia and Slovakia (Yu et al., 2012).

References

- Akyürek, B., Ü. Zeybekoğlu & G. Görür, 2010. New records of aphid species (Hemiptera: Aphidoidea) for the Turkish fauna from Samsun province. Turkish Journal of Zoology., 34: 421-424.
- Akyürek, B., Ü. Zeybekoğlu & G. Görür, 2011. Further contributions to the Turkey Aphid (Hemiptera: Aphidoidea) Journal of the Entomological Research Society, 13: 101-106.
- Aslan, M. M. & N. Uygun, 2005. Aphids (Homoptera: Aphididae) of Kahramanmaraş province, Turkey. Turkish Journal of Zoology, 29: 201-209.
- Aslan, M. M., N. Uygun & P. Starý, 2004. A survey of aphid parasitoids in Kahramanmaraş, Turkey (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae; and Hymenoptera: Aphelinidae). Phytoparasitica 32(3):255–263.
- Blackman, R. L. & V. F. Eastop, 1994. Aphids on the World's Trees. An Identification and Information Guide. CAB International, 1012 p.
- Blackman, R. L. & V. F. Eastop, 2000. Aphids on the World's Crops, John Wiley & Sons Ltd. Baffins Lane Chichester. Second Eddition, 474 p.
- Blackman, R. L. & V. F. Eastop, 2006. Aphid's on The World's Herbaceous Plants and Shrubs: An Identification and Information Guide. Wiley, Chichester, 1460 p.
- Çıraklı, A., G. Görür & M. İşık, 2008. Aphid species determined from Denizli. Selçuk University Agriculture Faculty Journal 22: 12-18.
- Clausen, C. P., 1978. Introduced Parasites and Predators of Arthropod Pests and Weeds: A World Review. United States Department of Agriculture, Agriculture Research Service, Agriculture Handbook No. 480.
- Dolphin, K. & D. L. J. Quicke, 2001. Estimating the global species richness of an incompletely described taxon: an example using parasitoid wasps (Hymenoptera: Braconidae). Biological Journal of the Linnean Society, 73: 279–286.
- Düzgüneş, Z., S. Toros, N. Kılınçer & B. Kovancı, 1982. Ankara ilinde bulunan Aphidoidea türlerinin parazit ve predatörleri. T.C Tarım Orman Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü, 251 s.
- Görür, G., 2002. New records for the Turkish aphid fauna (Hemiptera: Aphididae). Zoology in the Middle East, 25, 5–8.
- Görür, G., 2004a. Aphid (Hemiptera: Aphididae) species on pome fruit trees in Niğde province of Turkey. Turkish Journal of Entomology, 28 (1): 21–26.

- Görür, G., 2004b. Niğde Bölgesinin Afit Türleri (Insecta: Hemiptera: Aphidoidea). Niğde Üniv. Yay. No:17, 140 s, Niğde.
- Görür, G., B. Akyürek, Ü. Zeybekoğlu, H. Akyıldırım & İ. Tepecik, 2009. Türkiye afit (Hemiptera: Aphidoidea) faunasına Doğu Karadeniz Bölgesinden Yeni Katkılar. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, Van.
- Görür, G., İ. Tepecik, H. Akyıldırım & G. Olcabey, 2011a. Additions to the Turkish aphid fauna (Hemiptera: Aphidoidea: Aphididae) North-Western Journal of Zoology 7(2): 318-321.
- Görür, G., H. Akyıldırım, B. Akyürek & G. Olcabey, 2011b. A contribution to the knowledge of the Turkish aphid (Hemiptera: Aphidoidea) fauna. EPPO Bulletin, 41:185-188.
- Görür, G., H. Akyıldırım, G. Olcabey & B. Akyurek, 2012. The aphid fauna of Turkey: an updated checklist. Arch. Biol. Sci., Belgrade, 64 (2): 675-692.
- Hagen, K. S. & R. van den Bosch, 1968. Impact of pathogens, parasites, and predators on aphids. Annual Review of Entomology, 13: 325-84.
- Kavallieratos, N. G., C. G. Athanassiou & Z. Tomanović, 2003. A new species and a key to Greek *Praon* Haliday (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). Deutsche Entomologische Zeitschrift, 50: 13–22.
- Kavallieratos, N. G. & D.P. Lykouressis, 2000. Two new species of *Praon* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae) from Greece Entomology. Hell. 13: 5–12.
- Kavallieratos, N. G. & Z. Tomanović, 2003. Some rare and endemic aphid parasitoid species (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) from the Balkan Peninsula. Acta Entomologica Serbica, 6: 121–129.
- Kaygin A. T., G. Görür & F. Cota, 2010. New records of aphid fauna in Turkey. Journal of Insect Science 10 (5): 1-4.
- Nieto Nafria, J. M., 2014. Fauna Europaea: Hemiptera: Aphidoidea. Fauna Europaea version 2.6, (Web page: <http://www.faunaeur.org.>), (Date accessed: Feb. 2014)
- Özdemir, I., G. Remaudiere, S.Toros & N. Kılıncer, 2005. New aphid records from Turkey including the description of a new *Lachnus* Species Hemiptera: Aphididae. Revue française de Entomologie (N.S.), 27 (3): 97-102.
- Remaudiére, G. & M. Remaudiére, 1997. Catalogue des Aphididae du Monde (Catalogue of the World's Aphididae), INRA, Paris, 473 p.
- Remaudiére, G., S. Toros & I. Özdemir, 2006. New contribution to the Turkish aphid fauna (Hemiptera:Aphidoidea). Revue française d'Entomologie (N.S.), 28 (2): 75–96.
- Şenol, Ö., H. Akyıldırım, G. Görür & E. Demirtaş, 2014. New records for the aphid fauna (Hemiptera: Aphidoidea) of Turkey. Acta Zoologica Bulgaria, 66 (1): 133-136.
- Starý, P., 1988. "Aphidiidae, 171-184". In: Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control (Eds: A.K. Minks & P. Harrewijn,), Vol 2B. Elsevier, Amsterdam, 1988 p.
- Starý, P., Z. Tomanović & O. Petrović, 1998. A new parasitoid of root-feeding aphids from the Balkan mountains (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). Deutsche Entomologische Zeitschrift, 45: 175–179.
- Tomanović, Z. & N. G. Kavallieratos, 2002. Two new aphidiine wasps (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) from the southeastern Europe. Reichenbachia, 34: 341–345.
- Tomanović, Z. & P. Starý, 2001. *Aphidius linosiphonis* sp. n. (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae), a new member of the aphid parasitoid guild associated with Galium. Zootaxa, 6: 1–4.
- Tomanović, Z., P. Starý & O. Petrović, 2002. *Monoctonus leclanti* sp. n. (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) from highmontane areas of the southeastern Europe and key to related species. Entomologica Fennica, 13: 159–162.
- Tomanović, Z., N. G. Kavallieratos, C. G. Athanassiou & Lj. Z. Stanisavljević, 2003a. A review of the West Palaearctic Aphidiine (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) parasitic on *Uroleucon* spp. with a description of a new species. Annales- Societe Entomologique de France, 39: 343–353.
- Tomanović, Z., N. G. Kavallieratos, C. G. Athanassiou & O. Petrović, 2003b. A new Praon species (Hymenoptera:Braconidae: Aphidiinae) of the Uroleucon parasitoid complex from the Mediterranean area. Phytoparasitica, 31: 19–26.
- Toros, S., N. Uygun, R. Ulusoy, S. Satar & I. Özdemir, 2002. Doğu Akdeniz Bölgesi Aphidoidea Türleri. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarimsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, 108 s.
- Yu, D. S., C. van Achterberg, & K. Horstmann, 2012. Taxapad 2012, Ichneumonoidea 2011. Database on flash-drive. www.taxapad.com, Ottawa, Ontario, Canada.

Orijinal araştırma (Original article)

Effects of pyriproxyfen on bioenergetic resources of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)

Pyriproxyfenin *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)'nın biyoenerji kaynakları üzerine etkileri

Kobra FOTOUHI^{1*}

Morteza Movahedi FAZEL¹

Aurang KAVOUSI¹

Summary

Colorado potato beetles (CPB) overwinters as adults in the soil, thus, their survival is related with their energy reserves. The present study examined the biochemical changes in adults treated with sub-lethal concentrations ($\leq LC_{30}$) of pyriproxyfen. First, both the plants and overwintered adults were sprayed with different levels of pyriproxyfen (0, 250, 500 and 750 $\mu l/l$) under field conditions and were tested at 3, 6 and 12 days after treatment. Next, the adults from the first experiments were re-sprayed 1 week later with pyriproxyfen at the same concentrations and were re-sampled at 3, 6 and 12 days after the second treatment. The lipid, sugar, glycogen and protein levels of 4 males and 4 females were determined (mg/g; w/w). Results revealed a significant decline in lipid (87.7%), glycogen (50%) and caloric contents (75%) levels with respect to controls. Sugar and protein levels increased 7.89 and 5.79 times with respect to the controls. The best results were obtained at 250 $\mu l/l$ of pyriproxyfen. The second round of testing demonstrated the additive effects of pyriproxyfen on bioenergetic reserves. Only the protein level showed a significant difference by sex.

Keywords: Colorado potato beetle, lipids, carbohydrates, proteins, admiral, pyriproxyfen

Özet

Patates böceği, toprakta ergin olarak kışlamaktadır. Bu nedenle, onların hayatı kalmaları enerji rezervleri ile ilişkilidir. Bu çalışmada pyriproxyfenin alt öldürücü konsantrasyonları ($\leq LC_{30}$) uygulanmış erginlerdeki biyokimyasal değişiklikler incelenmiştir. İlk olarak, bitki ve kışlaktaki erginlere tarla şartlarında pyriproxyfen (0, 250, 500 ve 750 $\mu l/l$) farklı düzeylerde püskürtülmüş ve uygulamadan 3, 6 ve 12 gün sonra test edilmiştir. Birinci deneyden alınan erginlere 1 hafta sonra tekrar aynı konsantrasyonlarda pyriproxyfen uygulanmış ve 3, 6 ve 12 gün sonunda yeniden örneklenmiştir. 4 erkek ve 4 dişi bireyde lipit, şeker, glikojen ve protein düzeyleri (mg/g; a/a) tespit edilmiştir. Sonuçlar, kontrole göre lipid (% 87.7), glikojen (% 50) ve kalori içeriği (% 75) düzeylerinde önemli bir düşüş göstermiştir. Şeker ve protein düzeyleri kontrole göre 7.89 ve 5.79 kat artmıştır. En iyi sonuçlar, pyriproxyfenin 250 $\mu l/l$ dozunda elde edilmiştir. Testin ikinci turu pyriproxyfenin biyoenerjik rezervler üzerindeki ilave etkilerini göstermiştir. Sadece protein düzeyi cinsiyete göre anlamlı bir farklılık göstermiştir.

Anahtar sözcükler: Patates böceği, karbonhidratlar, proteinler, admiral, pyriproxyfen

¹ Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: k.fotoahi@yahoo.com

Alınış (Received): 07.10.2014

Kabul ediliş (Accepted): 09.02.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 22.04.2015

Introduction

The Colorado potato beetle (CPB) (*Leptinotarsa decemlineata* Say) is native to the United States and was introduced to Iran in 1984 (Nouri-Ghanbalani, 1989). CPB is the most widespread and most serious defoliator insect that attacks potatoes. Heavy defoliation by overwintering adults and later by spring larvae and by second generation of summer adults prior to tuber formation can cause total loss of products (Hare, 1990). Because potato crops are highly susceptible to beetle damage during the early stages of growth and in blooming, management of spring colonization by overwintering adults is critical to minimize crop losses (Shields & Wyman, 1984).

Under natural conditions in Zanjan, Iran, CPB adults enter diapause in mid-August and emerge from the soil in spring (mid-May; unpublished data). They can, thus, tolerate sub-zero temperatures and lack of food by overwintering. It appears that CPB, like many insects, is anautogenous in the adult stage and requires carbohydrates, proteins and lipids to perform the biological activities necessary for survival and reproduction (Chapman, 1982). During pre-diapause, most insects accumulate enough of reserves to fulfill their needs during diapause. Therefore, period for the total body content of energy reserves (i.e., lipids, proteins and carbohydrates) increases during the pre-diapause period (Lefever et al., 1989 and references cited in). Energy reserves decline during a dormancy and the energy depletion during winter can cause mortality (Hahn & Denlinger, 2011).

Energy reserves correlate positively with the adult size (Lease & Wolf, 2011) and increased size leads to increased overwintering survival (Bosch & Kemp, 2004). It has been reported that some insecticides cause sublethal effects, such as alterations in fecundity and development and changes in sex ratio, diapause, morphology and physiology (Takada et al., 2001; Willrich & Boethel, 2001; Krishna et al., 2007). Some pesticide treatments can affect utilization and storage of carbohydrates, proteins and lipids (Saleem et al., 1998). Juvenile hormones (JH) and analogues (JHA) increase the accumulation of lipids and carbohydrates in fat bodies at low levels and decrease by high titers (Roseler & Roseler, 1988; Cotton, 1989).

Pyriproxyfen (2-[1-methyl-2-(4-phenoxyphenoxy) -ethoxy] pyridine) is a juvenile hormone agonist that interferes with hormonal regulation in susceptible insects and results in disruption of embryogenesis, metamorphosis, and adult formation (Itaya, 1987; Ascher & Eliyahu, 1988; Kawada, 1988; Langley, 1990; Koehler & Patterson, 1991; Dhadialla et al., 1998). It has shown persistent activity against several important agricultural pests (Ishaaya & Horowitz, 1995; Ishaaya et al., 1993), including the CPB (Koopmanschap et al., 1989; De Kort et al., 1997 and references cited in; Vermunt et al., 1999; Yi & Adams, 2000). The analogue of JH has a low toxicity on invertebrates and was first registered in Japan in 1991 for control of public health pests (Etebari et al., 2007).

Studies have examined the effects of pyriproxyfen on CPB larvae and adults. Previous studies have shown that treating diapausing CPB adults with pyriproxyfen terminates diapause (Koopmanschap et al., 1989; De Kort & Koopmanschap, 1990; De Kort et al., 1997). In females kept under limited light durations, pyriproxyfen prevents the expression of diapause protein 1 gene in the fat body, but induces the occurrence of vitellogenin in the hemolymph (De Kort et al., 1997). This has no direct lethal effect, but induces severe morphological malformations resulting in the inability to emerge as an adult; the insects ultimately die from starvation (Koopmanschap et al., 1989). Since this pest overwinters in soil as an adult, it appears that survival rate correlates with resistance to cold and its level of energy reserves. The present study examined the effects of pyriproxyfen on the bioenergetics resources in adult CPBs.

Materials and Methods

Insect rearing

The fourth instar larvae of second generation CPBs were collected from potato fields in the vicinity of the city of Zanjan in Iran. The larvae were kept on potato plants under natural conditions until the overwintering adults emerged.

Treatments

The commercial compound pyriproxyfen (2-[1-methyl-2-(4-phenoxyphenoxy)-ethoxy] pyridine) used in this study was 10% emulsifiable concentrate (Sumitomo Chemical, Japan). This formulation was considered closest to existing application conditions to produce results comparable to those in the field. Preliminary testing obtained three concentrations that produced less than 30% mortality (250, 500 and 750 µl/l) at 2 weeks after treatment.

Distilled water was used as a control group. The first experiment tested 20 newly-emerged adults (10 males: 10 females); each sex were of approximately the same weight and of the second generation (overwintered adults). They were placed in plastic containers (1 litre) and sprayed using a hand sprayer with sub-lethal concentrations of pyriproxyfen (250, 500, 750 µl/l) in the laboratory. Treated individuals were then transferred into cheese cloth sleeves on field of potato plants sprayed with the same concentrations of pyriproxyfen. The insects were sampled at 3, 6 and 12 days after spraying.

In the second experiment, insects were again sprayed at the previous concentration, 7 days after the first treatment. Sampling was done at 3, 6 and 12 d after the second treatment. Sampled adults after 5 hours (to ensure that gut is empty) were transferred to a deep freezer (-80°C) to be preserved for biochemical analysis. Before analysis, the wings were removed and the wet weights of adults were recorded using a microbalance (0.00).

Biochemical assays

Glycogen, sugar and lipid contents were assessed using the method suggested by Van Handel (1988) and modified by Kaufmann & Brown (2008). Four adult beetles from each sex were chosen, the wings were removed and their wet weights recorded on a microbalance (0.00). De-winged adults were placed in a test tube containing 200 µl of 2% Na₂SO₄, the tube was placed in an ice bath and the insects were crushed using an electrical homogenizer (2600 rpm). A solution of 3 ml chloroform and methanol (1:1) was added to the homogenate, which was mixed and centrifuged at 3000 rpm for 1 min in a cooled centrifuge (MIKRO 220R), to separate sugars and lipids from glycogen and protein which were precipitated out in a pellet.

Calculation of lipid and sugar contents

The supernatant produced in previous stage was removed for lipids and sugars measurement. The supernatant was diluted with 2 ml distilled water and centrifuged at 3000 rpm for 1 min to separate the sugars and lipids. The new supernatant was then removed and used to test for lipid content. This fraction was dried, dissolved in H₂SO₄, heated to 100°C for 10 min and mixed with vanillin reagent. The optical densities were read at 530 nm using a single beam spectrophotometer (WPA S2000UV/vis).

To test for sugars, anthrone reagent was added to the remaining fraction, which was then heated to 100°C for 17 min. Samples were placed into a single beam spectrophotometer and the optical densities were read at 625 nm. The amount of average total sugar and lipid content was estimated as mg/g of fresh weight. Glucose was used as the standard by which to quantify the sugar (and glycogen) and soybean oil was used to quantify the lipids.

Estimation of glycogen and protein

The pellet that contain glycogen and protein was immersed in 4 ml distilled water and mixed using a vortex. For glycogen, a portion of the mixture was removed, the anthrone reagent was added and the resulting mixture was heated at 100°C for 17 min. The optical densities were read at 625 nm.

Protein was measured using Bradford's method (Kruger, 1994) with bovine serum albumin as the standard. The optical densities were read at 595 nm. The average total protein and glycogen were estimated as mg/g of fresh weight. Variations in lipid, sugar, protein and glycogen content between treatments and the control were calculated as:

$$[(\text{mean of item in treatment} - \text{mean of it in control}) / \text{mean of it in control}] \times 100\%.$$

Evaluation of caloric content

The caloric content per individual was estimated using the following control values: 4.19 cal/mg for protein, 4.2 cal/mg for carbohydrates and 9.5 cal/mg for lipids (Judd et al., 2010).

Statistical analysis

The general linear model (Statistix 8.0) was used to determine the effects of pyriproxyfen concentration on energy reserves. The experiments were carried out in a completely randomized four level factorial design. The four factors were pyriproxyfen dose (0, 250, 500 and 750 µl/l), sex (2), sampling time (3) and number of treatments (2). The experiments were repeated four times. Multiple comparisons were made using Tukey-Kramer tests.

Results

Total lipid content

The physiological effects of pyriproxyfen on the CPB were estimated and were shown to cause considerable biochemical changes. Table 1 indicates that there was a significant 3-way interaction between pyriproxyfen dose (D), sampling time (S) and treatment time (T) ($p < 0.01$). The highest lipid content was observed for the control at 12 day after the second application (mean: 92.34 mg/g) and the lowest was at a dose of 250 µl/l at 6 day after the first spraying (mean: 11.340.65 mg/g). The table also shows 4 significant two-way interactions that affected lipid content: sex/S, S/D, S/T and D/T ($p < 0.01$).

Pyriproxyfen dose, sampling time and treatment time strongly effected lipid content, as demonstrated by the significant main effects (Table 1). Table 2 shows that the lowest lipid content (20.99 ± 2.25 mg/g) was observed for the first treatment at 250 µl/l measured at 6 day after treatment (29.75 ± 1.89). Table 2 also indicates that lipid content increased more after the second treatment than that after the first (Table 2). Decreases for doses of 250, 500 and 750 µl/l over the control were observed to be 59.74%, 28.69% and 26.24%, respectively.

Total carbohydrates level as a function of pyriproxyfen dose

As shown in Table 1, the carbohydrate content (glycogen and sugar) was strongly affected by pyriproxyfen ($p < 0.01$). There were 2 significant three-way interactions: D/S/T and D/S/sex ($p < 0.05$). The highest glycogen content was observed for 750 µl/l at 12 day after the second spraying in males (mean: 65.475.5mg/g) and the highest sugar content was observed for 500 µl/l at 12 day after the second spraying (mean: 25.45 mg/g). The lowest glycogen content was observed for 250 µl/l at 6 day after the first spraying in males (mean: 3.91.64 mg/g) and lowest sugar content was observed for the control (0 µl/l) at 6 day after the first spraying (mean: 2.86 0.6 mg/g).

Table 1 indicates that pyriproxyfen dose, sampling time and spraying times had strong effects on carbohydrate content as demonstrated by its significant main effects. This JH analogue decreased glycogen content and increased sugar content (Table 2). Low doses of pyriproxyfen significantly decreased the sugar content (Table 2). For doses of 250, 500 and 750 µl, the sugar content increased 43.24%, 160.47%, 37.33% over the control, respectively. At doses of 500 and 750 µl/l, the glycogen content increased 40.78% and 45.97% over the control; by contrast, at 250 µl/l, it decreased 47.99%.

Total protein level as a function of pyriproxyfen dose

Table 1 indicates that protein content was strongly affected by pyriproxyfen dose ($p < 0.01$). A 4-way interaction was significant for D, S, T and sex ($p < 0.05$). The highest protein content were observed for 250 µl at 6 day after first spraying in males (mean: 12.520.54 mg/g). The lowest protein content was observed for the control at 3 day after first spraying in females (mean: 2.160.54 mg/g).

Significant 3-way interactions for protein content (Table 1) were observed for D/S/repeat and D/S/sex ($p < 0.05$) and for the individual effects for D, sex, S and repeat. In all cases, as the pyriproxyfen level decreased, the protein content increased (Table 2). Although high concentrations of pyriproxyfen significantly decreased the protein content, it increased the lipid and glycogen contents, important energy sources for CPBs. The decrease in protein content for 500 and 750 µl/l over the control were 20.74% and 22.64%, respectively; by contrast, for 250 µl/l, protein content increased 10.9%.

Total caloric content

Table 1 indicates that caloric content was strongly affected by D, S and repeat. The highest amount caloric content was observed for the control (0 µl/l) at 12 day in males (mean: 0.96 cal/mg) and the lowest amount for 250 µl/l at 3 day in females (mean: 0.240.06 cal/mg). The decreased in caloric content for 250, 500, and 750 µl/l over the control, was 50.79%, 11.11% and 12.7%, respectively.

Table1. Effects of different pyriproxyfen concentrations on bioenergetic resources variations in adults of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Mean of square)

Source	df	Lipid	Glycogen	Sugar	Protein	Caloric content
Sex	1	0.065 ^{n.s}	0.0004 ^{n.s}	0.007 ^{n.s}	0.271 ^{**}	0.034 [*]
Days	2	1.11 ^{**}	9.091 ^{**}	0.933 ^{**}	0.063 ^{**}	0.54 ^{**}
Dose	3	1.06 ^{**}	45.08 ^{**}	1.513 ^{**}	0.195 ^{**}	0.455 ^{**}
Repeat	1	3.26 ^{**}	78.75 ^{**}	0.758 ^{**}	0.106 ^{**}	1.563 ^{**}
sex*days	2	0.095 ^{**}	0.299 ^{n.s}	0.08 ^{n.s}	0.014 ^{n.s}	0.016 ^{n.s}
sex*dose	3	0.0005 ^{n.s}	1.003 ^{n.s}	0.035 ^{n.s}	0.015 ^{n.s}	0.0006 ^{n.s}
sex*repeat	1	0.002 ^{n.s}	0.371 ^{n.s}	0.022 ^{n.s}	0.026 ^{n.s}	0.019 ^{n.s}
days*dose	6	0.072 ^{**}	1.017 ^{n.s}	0.087 ^{**}	0.079 ^{**}	0.02 [*]
days*repeat	2	0.635 ^{**}	3.033 [*]	0.446 ^{**}	0.069 ^{**}	0.089 ^{**}
dose*repeat	3	0.249 ^{**}	12.18 ^{**}	0.053 ^{n.s}	0.27 ^{**}	0.131 ^{**}
sex*days*dose	6	0.038 ^{n.s}	3.037 ^{**}	0.068 [*]	0.02 [*]	0.022 [*]
sex*days*repeat	2	0.027 ^{n.s}	1.399 ^{n.s}	0.028 ^{n.s}	0.018 ^{n.s}	0.027 [*]
sex*dose*repeat	3	0.01 ^{n.s}	1.065 ^{n.s}	0.035 ^{n.s}	0.006 ^{n.s}	0.004 ^{n.s}
days*dose*repeat	6	0.089 ^{**}	2.499 ^{**}	0.126 ^{**}	0.022 [*]	0.016 ^{n.s}
sex*days*dose*repeat	6	0.028 ^{n.s}	1.637 [*]	0.026 ^{n.s}	0.031 ^{**}	0.006 ^{n.s}
Error	138	0.019	0.744	0.027	0.009	0.008
CV %		9.34	18.89	18.52	13.39	13.26

n.s: Non significant, **and* significantly different at $P<0.01$ and $P<0.05$, respectively.

1. Lipid, sugar and protein data transformed to (Log base 10), glycogen and caloric content to and then were analysed.

Table 2. Effects of different concentrations of pyriproxyfen compound on bioenergetic resources variations in adults of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say)

Mean of caloric content (cal/g)	Mean of protein (mg/g)	Mean of sugar (mg/g)	Mean of glycogen (mg/g)	Mean of lipid (mg/g)*	Source levels	Source
490.0±15.97 ^b	4.76±0.11 ^b	9.41±0.49 ^{ns}	22.88±0.97 ^{ns}	35.20±1.53 ^{ns}	Female	Sex
535.6±16.73 ^a	5.7±0.11 ^a	9.56±0.52 ^{ns}	23.64±1.02 ^{ns}	39.18±1.60 ^{ns}		
378.9±16.08 ^b	5.04±0.11 ^b	8.61±0.50 ^b	16.52±0.98 ^b	26.55±1.54 ^b	1	Time spraying
646.7±16.62 ^a	5.42±0.11 ^a	10.37±0.51 ^a	30.0±1.01 ^a	47.84±1.59 ^a		
440.2±19.96 ^b	4.9±0.14 ^b	9.0±0.62 ^b	22.26±1.21 ^b	30.35±1.91 ^b	3	Sampling time intervals
420.5±19.76 ^b	5.7±0.14 ^a	6.92±0.61 ^c	20.22±1.20 ^b	29.75±1.89 ^b		
677.8±20.35 ^a	5.09±0.14 ^b	12.54±0.63 ^a	27.30±1.24 ^a	51.48±1.95 ^a		
633.1±22.58 ^a	5.69±0.16 ^b	5.92±0.70 ^c	21.21±1.37 ^b	52.14±2.16 ^a	0	Concentrations (μ l/l)
307.8±23.50 ^c	6.31±0.16 ^a	8.48±0.72 ^b	11.03±1.43 ^c	20.99±2.25 ^c		
562.3±22.89 ^{ab}	4.51±0.16 ^c	15.42±0.71 ^a	29.86±1.39 ^a	37.18±2.19 ^b		
548.0±23.50 ^b	4.40±0.16 ^c	8.13±0.72 ^{bc}	30.96±1.43 ^a	38.46±2.25 ^b		

* Means within columns followed by the same lower-case letter are not significantly different at the 5% level by Tukey multiple range. n.s.: non significant.

Discussion

The effects of juvenile hormone analogues (JHAs) on metabolic homeostasis and energy metabolism in insects are poorly understood. The most common effect of JHAs treatment is the disruption at the levels of hemolymph and fat body (or whole body) metabolites. The metabolic effects of JHAs might be the result of morphogenetic effects of the compound on the insect. It has been suggested that JHAs may overwhelm the homeostatic mechanisms in insect (Hamock & Quistad, 1981). Little information is available concerning the nature of the physiological and biochemical effects of JHAs on insects.

Lipids

Pyriproxyfen, sampling time, spraying time and their interactions decreased the lipid content of CPBs. Numerous studies have shown that excessive accumulations of lipids in the fat body of allatectomized insects (Bailey et al., 1975; Steele, 1985; Downer, 1985; Beenakkers et al., 1981; Cymborowski, 1992) and that corpus allatum (CA) hormone accelerates lipid release from tissue. Morohoshi hypothesized that increasing the secretion of corpus allatum hormone increased active energy metabolism and lipid release from the fat body and other tissues in response to the accelerated metabolism (cited in Mandal, 1982).

Locusts, at 10 day after emergence adults, undergo an extended period of somatic growth and lipid accumulation that allows for storage of fuel for migratory flight. During this period, the CA remains inactive (Johnson & Hill, 1975). Upon activation of the CA, lipid accumulation ceases and vitellogenesis begins (Hill & Izatt, 1974). Contrarily, lipids accumulate in the response to high titers of JH in the larval stage of some insects. Decreased JH titers trigger pupation and decrease utilization of stored lipids (Nijhout & Williams, 1974). In the mosquito (*Aedes taeniorhynchus*) removing of the CA does not cause lipids to accumulate (Van Handel & Lea, 1970).

These results are contrary to what should be expected for allatectomized insects. The mechanism how JH effects lipid accumulation, is not clear (Stanley-Samuelson & Nelson, 1993). Allatectomy increases the activity of a number of fat body enzymes involved in lipogenesis (Walker & Bailey, 1971). Patel (2005) reported that when in the aquatic, invertebrate, *Hydropsyche contubernalis* L. (Trichoptera) were under stress, adipokinetic hormones were activated which in turn increased lypolysis activity in fat body adipocytes.

The results of the present study are similar to those reported for different insects for various JH mimics. Pyriproxyfen decreased lipid content in *Corypha cephalonica* (Mandal & Chaudhuri, 1992), *Spodoptera littoralis* (cited in Hamadah et al., 2012), *Plodia interpunctella* larvae (Ghasemi et al., 2010), *Eurygaster integriceps* nymphs (Zibaee et al., 2011), *Bombyx mori* larvae (Etebari et al., 2007), *Schistocerca gregaria* (Hamadah et al., 2012) and *Brachynema germari* Kol (Bagheri et al., 2010). Lipid levels in the sixth instar larvae of *Choristoneura fumiferana* were depleted as a result of fenoxy carb treatment (Mulye & Gordon, 1993). This JHA impairs lipid synthesis in the fat body, suppress both the synthesis of fatty acids and their subsequent esterification into complex lipids (Mulye & Gordon, 1993).

The lipid content in the pupae of *Spodoptera littoralis* was decreased after larval treatment with mevalonic acid as a JH precursor (Ghoneim, 1994). It should be mentioned that, in some insect species, instead of inhibiting lipid content, JH activates this metabolite (Amer, 1990; Ghoneim, 1994). In some cases, the increase or decrease lipid content was dose-dependent; carbohydrates content in the fat body are increased with a decrease in JH level or from high titers (Cotton, 1989); this is the opposite of the results for *Schistocerca gregaria* (Hamadah et al., 2012).

Other probable functions of JHA is to decrease AKH release from the central nervous system (CNS) resulting in the increase in the AKH content of the CNS upon the accumulation rather than stimulation of AKH synthesis (Kodrik et al., 2010). The most important function of AKHs is the control of energy metabolism and mobilization of different kinds of energy reserves (lipids, carbohydrates and/or certain amino acids) (Gade et al., 1997). The decrease in total lipid content is duration dependent. It may be a result of the activation of alternate metabolic pathways to energy from the fat body during insecticidal stress (Kalimuthu & Pandian, 2010). Pyriproxyfen could affect the lipid reserves at all concentrations.

Carbohydrates

Results showed significant differences between carbohydrate content, sampling time and repeat spraying. Total body glycogen content increased, except in CPBs treated with the 250 µl/l (low) pyriproxyfen concentration. Total sugar content also increased over that of the control. It appears that the increase or decrease in total sugar content may be in response to the hormonal effects of pyriproxyfen and interference with energy cycles and energy consumption. This is especially significant for the effects of concentration and lag phase effects (sampling interval), which was confirmed by the hormonal effects of pyriproxyfen on CPBs.

The depletion of carbohydrates in whole body tissue may a response to insect hyperactivity caused by pesticide treatment (Singh, 1986). Insecticides may affect the utilization of carbohydrates, proteins and lipids (Saleem et al., 1998). It has been suggested that the decrease in carbohydrates, may be the result of the production of extra energy to combat insecticidal stress (El-Sheikh et al., 2005). Several reports confirm a fall in carbohydrate levels in insects in response to toxicity stress (Bais et al., 1995). A decrease in carbohydrate content after treatment with IGRs can be attributed to their anti-feeding action (Salem, 1994), to a decrease in trehalose activity (El-Sheikh, 2002 cited in Tanani et al., 2012), or to their effects on carboxylase activity (Mukherjee & Sharma, 1996). Pyriproxyfen strongly decreased the carbohydrate content in the hemolymph of 1-day old adults of *Schistocerca gregaria* (Forsk.), but the low concentration prompted an increase in 4-day old adults (Tanani et al., 2012). Pyriproxyfen prevented *S. gregaria* nymphs from attaining a normal carbohydrate content in the hemolymph.

Proteins

Pyriproxyfen and interacted factors such as sampling time, spraying times and sex affected the total protein content. The results indicated that the total protein content decreased at all levels except those treated at the 250 µl/l (low) concentrations. Interaction effects between all factors were significant. A previous study found that CPB adults treated with pyriproxyfen showed a gradual increase in total free amino acid concentration in the hemolymph up to 20 d of adult life when induced vitellogenin synthesis and cessation of diapause protein synthesis occurred when insects were held for short-day conditions after treatment (Yi & Adams, 2000). Another study (De Kort et al., 1997) reported that pyriproxyfen had a little effect on total protein concentration of the hemolymph, but did affect protein composition.

It appears that the increase for 250 µl/l and decrease at other levels, is in response to the effects of pyriproxyfen on hormones; changes in total protein content may be related to the synthesis, uptake and degradation of major proteins. For example, in *Locusta migratoria migratorioides*, increased ploidy levels in methoprene-treated trophocytes appeared to be in response to stimulation of protein synthesis (Cotton, 1989).

Numerous studies have shown that allatectomy of adult female *Periplaneta americana* (Thomas & Nation, 1966), of male and female of *Gryllotalpa gryllotalpa* (Mandal, 1982) and inactivation of the CA (by the application of precocene) in adult *Locusta* (Gellissen & Wyatt, 1981) and *Drosophila melanogaster* (Landers & Happ 1980; Wilson et al., 1983) decreased whole body protein levels and that methoprene-treated *L. migratoria migratorioides* (Cotton, 1989) increased production of larval proteins. Pyriproxyfen decreased total protein content in *E. integriceps* (Zibaee et al., 2011).

In *E. integriceps*, JHs at very low concentrations, may regulate the manufacture of larval proteins by the fat body and vitellogenin in adult females (Cotton, 1989). In contrast to the results of allatectomy, the application of JHA inhibited protein synthesis in the fat body of *Aedes aegypti* larvae and pupae (Gordon and Burford, 1984), *Culex tarsalis* larvae (Himeno et al., 1979) and *D. melanogaster* (Breccia et al., 1976). The results of the present study support those of several previous studies on JHAs.

This study confirmed that pyriproxyfen could be effective on the major biomolecules of carbohydrates, proteins and lipids in the whole body of overwintered adult CPBs. Although it is known the calories available through that the survival of other species overwinter is associated with the level of stored energy, the next step is to examine the effects of pyriproxyfen on the fitness of overwintered adults and the relationship between energy reserves and dormant adult vitality.

Caloric contents

This approach adds up the bioenergetics sources like proteins, carbohydrates and lipids. Caloric contents related to the quantity changes of lipids, carbohydrates and proteins regardless of their physiological roles . So, the variation of bioenergetics in treated CPB tend to change of caloric contents in this research. In the other word, the most reduction of caloric contents, nearly 50%, observed in 250 µl/l level of pyriproxyfen, because of the reduction effects of this analogue on carbohydrates and lipids.

In animal species, changes in this measurement are often associated with contents of constitutive items, which varies seasonally with food supply, reproductive condition and the extent of storage for overwintering. Large caloric reserves could provide greater potential energy for egg production, oviposition, survival, and flight capacity (Magna-relli & Modi 1988; Harre et al., 2001).

References

- Amer, M.S., 1990. Effects of the anti-JH synthesis (Mevalonic acid) on the main metabolites of *Spodoptera littoralis*. Egyptian Journal of Applied Science. 5: 82-91.
- Ascher, K.R.S. & M. Eliyahu, 1988. The ovicidal properties of the juvenile hormone mimic sumitomo S-31183 (SK-591) to insects. Phytoparasitica. 16: 15-21.
- Bagheri, F., K.H.Talebi & V. Hosseiniinaveh, 2010. Cellular energy allocation of pistachio green stink bug, *Brachynema germari* Kol. (Hemiptera.: Pentatomidae) in relation to juvenoid pyriproxyfen. African Journal of Biotechnology. 9: 5746-5753.
- Bailey, E., J.A. Horne, M.E.G. Izatt & L. Hill, 1975. the effects of allatectomy on the lipid composition of the fat body and hemolymph of adult *Locusta*. Comparative Biochemistry and Physiology. 52B: 525-528.
- Bais, V.S. & T. Arasta, 1995. Effect of sublethal concentration of alrex on protein, lipid and glycogen level in the liver and muscle of catfish, *Mystus vittatus*. Journal of Freshwater Biology. 7: 151-154.
- Beenakkers, A.M.T.H., D.J. Van Der Horst & W.J. Van Marrewijk, 1981. "Role of Lipids in Energy Metabolism, 53-100". In: Energy Metabolism in Insects (Ed: R. G. H. Downer), Plenum Press, New York, 244 p.
- Bosch, J. & W.P. Kemp, 2004. Effect of pre-wintering and wintering temperature regimes on weight loss, survival, and emergence time in the mason bee *Osmia cornuta* (Hymenoptera: Megachilidae). Apidologie. 35: 469-479.
- Breccia, A., E. Gattavecchia, G. Albonetti & A.M. Dipietra, 1976. Radiobiochemistry of phytodrugs: I. role of juvenile hormones and analogs in the biosynthesis of proteins and RNA in *Drosophila* larvae. Journal of Environmental Science and Health. 11: 1-7.
- Chapman, R.F., 1982. The Insects, Structure and Function. Harvard University Press, Cambridge, MA, USA.
- Cotton, G., 1989. A study of the effects of the juvenile hormone analogue methoprene on the intermediary metabolism of the African migratory locust, Durham theses, Durham University. Available at Durham E-Theses Online: <http://etheses.dur.ac.uk/6432/>.
- Cymborowski, B., 1992. Insect Endocrinology. Polish Scientific Publisher. 234 p.
- De Kort, C.A.D. & A.B. Koopmanschap, 1990. "Effects of a Juvenile Hormone Analogue on Development, Metamorphosis and Diapause Induction of the Colorado potato beetle, 383-386". In: Advances in Invertebrate Reproduction 5, (Eds.: M.Hoshi & O.Yamashita) Elsevier, Amsterdam, 583 p.
- De Kort, C.A.D., A.B. Koopmanschap & A.M.W. Vermunt, 1997. Influence of pyriproxyfen on the expression of hemolymph protein genes in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. Journal of Insect Physiology. 43: 363-371.
- Dhadialla, T.S., G.R. Carlson & D.P. Le, 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. Annual Review of Entomology. 43: 545-569.
- Downer, R.G.H., 1985. "Lipid Metabolism, 75-114". In: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology. (Eds.: G.A. Kerkut & L.I. Gilbert). Pergamon Press, Oxford. 646 p.
- El-Sheikh, T.A.A., A.A. Hassanein, E.M.M. Radwan & H.M. Abo-Yousef, 2005. Biochemical effects of certain plant oils on the Lesser grain borer, *Rhizopertha dominica*. Annual Agriculture Science (Cairo). 50: 729-737.
- Etebari, K., A.R. Bizhannia, R. Sorati & L. Matindoost, 2007. Biochemical changes in hemolymph of silkworm larvae due to pyriproxyfen residue. Pesticide Biochemistry and Physiology. 88: 14-19.
- Gade, G., K.H. Hoffmann & J.H. Spring, 1997. Hormonal regulation in insects: facts, gaps, and future directions. Physiological Reviews. 77: 963-1032.
- Gellissen G. & G.R. Wyatt, 1981. Production of lipophorin in the fat body of adult *Locusta migratoria*: comparison with vitellogenin. Canadian Journal of Biochemistry. 59: 648-654.
- Ghasemi, A., J.J. Sendi & M. Ghadamyari, 2010. Physiological and biochemical effect of pyriproxyfen on Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Plant Protection Research. 50: 416- 422.
- Ghoneim, K.S., 1994. Synergistic and antagonistic action of Chlorfluazuron and mevalonic acid against the main body metabolism of the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* Boisd. (Lepidoptera: Noctuidae). Journal-Egyptian German Society of Zoology. 14(D): 89-115.

- Gordon, R. & I.R.Burford, 1984. Effects of methoprene, a juvenile hormone analog, on the larval and pupal stager of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology*. 30: 279-286.
- Hahn, D.A. & D.L. Denlinger, 2011. Energetics of insect diapause. *Annual Review of Entomology*, 56: 103-121.
- Hamadah, Kh.Sh., K.S. Ghoneim & M.A. Tanani, 2012. Effect of certain insect growth regulators on the lipid content of some tissues of the desert locust *Schistocerca gregaria*. *African Journal of Biochemistry Research*. 6: 121-128.
- Hamock, B.D. & G.B. Quistad, 1981. "Metabolism and Mode of Action or Juvenile Hormone, Juvenoids, and Other Insect Growth Regulators, 1-83". In: *Progress in Pesticide Biochemistry*, 1. (Eds.: D.H. Hutsan & T.R. Roberts). John Wiley and Sons, New York. 346 p.
- Hare, J.D., 1990. Ecology and management of the Colorado potato beetle. *Annual Review of Entomology*, 35: 81–100.
- Harre, J.G. K.M. Dorsey, K.L. Armstrong, J.R. Burge & K.E. Kinnamon, 2001. Comparative fecundity and survival rates of *Phlebotomus papatasi* sandflies membrane fed on blood from eight mammal species. *Medical and Veterinary Entomology*, 15 (2): 189-196.
- Hill, L. & M.E.G. Izatt, 1974. The relationship between corpora allata and fat body and hemolymph lipids in the adult female desert locust. *Journal of Insect Physiology*. 20: 2143-2156.
- Himeno, M., J. Takahashi & T. Komono, 1979. Effect of juvenile hormone on macromolecular synthesis of an insect cell line. *Agricultural and Biological Chemistry*, 43: 1285-1292.
- Ishaaya, I. & A.R. Horowitz, 1995. Pyriproxyfen, a novel insect growth regulator for controlling whiteflies: mechanism and resistance management. *Journal of Pesticide Science*, 43: 227-232.
- Ishaaya, I., Z. Mendelson & A.R. Horowitz, 1993. Toxicity and growth-suppression exerted by diafenthriuron in the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Phytoparasitica*, 21: 199-204.
- Itaya, N., 1987. Insect juvenile hormone analogue as an insect growth regulator. *Sumitomo Pyrethroid World*, 8: 2-4.
- Johnson, R.A. & L. Hill, 1975. Activity of the corpora allata in the adult female migratory locust. *Journal of Insect Physiology*, 21: 1517-1519.
- Judd, T.M., R.M. Magnus & M.P. Fasnacht, 2010. A nutritional profile of the social wasp *Polistes metricus*: Differences in nutrient levels between castes and changes within castes during the annual life cycle. *Journal of Insect Physiology*, 56: 42-56.
- Kalimuthu, M. & R.S. Pandian, 2010. Toxicological effect of an insecticide that contains organochlorine and pyrethroid on the biochemical constituents of aquatic insect, *Diplonychus rusticus* (Fabr.). *Current Biotica*, 4: 10-22.
- Kaufman, C. & M.R. Brown, 2008. Regulation of carbohydrate metabolism and flight performance by a hypertrehalosaemic hormone in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Insect Physiology*, 54: 367-377.
- Kawada, H., 1988. An insect growth regulator against cockroaches. *Sumitomo Pyrethroid World*, 11: 2-4.
- Kodrik, D., G. Alquicer & R. Socha, 2010. Methoprene modifies adipokinetic hormone characteristics in the firebug *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera: Pyrrhocoridae). *European Journal of Entomology*. 107: 33-39.
- Koehler, P.G. & R.J. Patterson, 1991. Incorporation of pyriproxyfen in a German cockroach management program. *Journal of Economic Entomology*, 84: 917-921.
- Koopmanschap, A.B., H. Oouchi & C.A.D. De Kort, 1989. Effects of a juvenile hormone analogue on the eggs, post-embryonic development, metamorphosis and diapause induction of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineta*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 50: 255-263.
- Krishna, T., K. Bhasara Reddy, M. Narst Reddy & G. Maruthi Ram, 2007. Effect of fenvalerate, a synthetic pyrethroid on the pupal and adult females of Sweet potato weevil, *Cylas formicarius* F (Coleoptera:Curculionidae). *Pestology*. 31: 26-29.
- Kruger, N.J., 1994. The Bradford method for protein quantitation. *Methods in Molecular Biology*. 32: 9-15.
- Landers, M.H. & G.M. Happ, 1980. Precocene inhibition of vitellogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Experientia*. 36: 619-620.
- Langley, P., 1990. Control of the tsetse fly using a juvenile hormone mimic, pyriproxyfen. *Sumitomo Pyrethroid World*. 15: 2-5.

- Lease, H.M. & B.O. Wolf, 2011. Lipid content of terrestrial arthropods in relation to body size, phylogeny, ontogeny and sex. *Physiological Entomology*. 36: 29-38.
- Lefever, K.S., A.B. Koopmanschap & C.A.D. De Kort, 1989. Changes in the concentrations of metabolites in hemolymph during and after diapauses in female Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Insect Physiology*. 35: 121-128.
- Magnarelli, L.A. & G.B. Modi, 1988. Caloric determinations of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*. 25(2): 127-130.
- Mandal, D., 1982. Effect of juvenoid and allatectomy on the biochemical components of gonads in *Gryllotalpa gryllotalpa* (Gryllotalpidae: Orthoptera: Insecta). *Proceedings of the Indian National Science Academy*. B48: 486-492.
- Mandal, D. & D.R. Chaudhuri, 1992. Studies on carbohydrate, protein and lipid levels in normal and stress conditions in fat body and integument as compared to whole body during development of moth *Coryza cephalonica*. *Insect Science and Its Application*. 13, 121-128.
- Mukherjee, S.N. & R.N. Sharma, 1996. Azadirachtin induced changes in feeding, dietary utilization and midgut carboxylesterase activity of the final instar larvae of *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Environmental Science and Health*. 31: 1307-1319.
- Mulye, H. & R. Gordon, 1993. Effects of two juvenile hormone analogs on hemolymph and fat-body metabolites of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. J. Zool.* 71: 1169-1174.
- Nijhout, H.F. & C.M. Williams, 1974. Control of moulting and metamorphosis in the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (L.): cessation of juvenile hormone secretion as a trigger for pupation. *Journal of Experimental Biology*. 61: 493-501.
- Nouri-Ganbalani, G., 1989. Seasonal biology of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col. Chrysomelidae), in Ardabil, Iran. *Journal of Agriculture Science*. 29: 1-9.
- Patel, R.T., J.L. Soulages, B. Hariharasundaram & E.L. Arrese, 2005. Activation of the lipid droplet controls the rate of lipolysis of triglycerides in the insect fat body. *Journal of Biological Chemistry*, 280: 22624-22631.
- Roseler, P.F. & I. Roseler, 1988. Influence of juvenile hormone on fat body metabolism in ovariolectomized queens of the bumblebee, *Bombus terrestris*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 18: 557-563.
- Saleem, M.A., A.R. Shakoori & D. Mantle, 1998. Macromolecular and enzymatic abnormalities induced by a synthetic pyrethroid, Ripcord (cypermethrin) in adult beetles of stored grain pests, *Tribolium castaneum*(Herbst.) (Col. Tenebrionidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 39: 144-154.
- Salem, N.Y., 1994. Physiological effects of *Melia azedarach* on the black cutworm, *Agrotis ipsilon*. *Bulletin of the Entomological Society of Egypt*. 72: 25-30.
- Shields, E.J. & J.A. Wyman, 1984. Effect of defoliation at specific growth stages on potato yields. *Journal of Economic Entomology*. 77: 1194-1199.
- Singh, G.J.P., 1986. Hemolymph carbohydrate and lipid mobilization in *Locusta migratoria* in relation to progress of poisoning following bioresmethrin in treatment. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 25: 264-269.
- Stanley-Samuelson, D.W. & D.R. Nelson, 1993. *Insect Lipids, Chemistry, Biochemistry and Biology*. University of Nebraska press, 449 p.
- Steele, J.E., 1985. "Control of Metabolic Processes, 99-145". In: *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. (Eds.: G. A. Kerkut & L. I. Gilbert). Pergamon Press, Oxford. 646 p.
- Takada, Y., S. Kawamura & T. Tanaka, 2001. Effect of various insecticides on the development of the egg parasitoid *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Economic Entomology*. 94: 1340-1343.
- Tanani, M.A., K.S. Ghoneim & KH.SH. Hamadah, 2012. Comparative effects of certain IGRs on the carbohydrates of hemolymph and fat body of the Desert locust, *Schistocerca gregaria* (Orthoptera:Acrididae). *Florida Entomological Society*. 95: 928-935.
- Thomas, K.K. & J.L. Nation, 1966. Control of a sex-limited haemolymph protein by corpora allata during ovarian development in *Periplaneta americana*. *Biology Bulletin*. 130: 254-264.
- Van handel, E. & J.F. Day, 1988. Assay of lipids, glycogen and sugars in individual mosquitoes: correlations with wing length in field-collected *Aedes vexans*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 4: 549-550.

- Van Handel, E. & A.O. Lea, 1970. Control of glycogen and fat metabolism in the mosquito. General and Comparative Endocrinology, 14: 381-384.
- Vermunt, A.M.W., A.B. Koopmanschap, J.M. Vlak & C.A.D. De Kort, 1999. Expression of the juvenile hormone esterase gene in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*: photoperiodic and juvenile hormone analog response. Journal of Insect Physiology, 45: 135-142.
- Walker, P.R. & E. Bailey, 1971. Effect of allatectomy on fat body lipid metabolism of the male desert locust during adult development. Journal of Insect Physiology, 17: 813-821.
- Willrich, M.M. & D.J. Boethel, 2001. Effect of diflubenzuron on *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoid *Copidosoma floridanum* (Hymenoptera: Encyrtidae). Environmental Entomology, 30: 794-797.
- Wilson, T.G., M.H. Landers & G.M. Happ, 1983. Precocene I and II inhibition of vitellogenesis oocyte development in *Drosophila melanogaster*. Journal of Insect Physiology, 29: 249-254.
- Yi, S-X. & T.S. Adams, 2000. Effect of pyriproxyfen and photoperiod on free amino acid concentrations and proteins in the hemolymph of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Journal of Insect Physiology, 46: 1341-1353.
- Zibaee, A., I. Zibaee & J.J. Sendi, 2011. A juvenile hormone analog, pyriproxyfen, affects some biochemical components in the hemolymph and fat bodies of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). Pesticide Biochemistry and Physiology, 100: 289-298.

Orijinal araştırma (Original article)

UV radiation-induced oxidative stress and DNA damage on Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) larvae

UV radyasyonun, Un güvesi, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), larvalarında meydana getirdiği oksidatif stres ve DNA hasarının belirlenmesi

Esra GÜVEN¹

Dilek PANDIR^{2*}

Hatice BAS²

Summary

Exposure to ultraviolet (UV) radiation is hazardous for all organisms. UV shows numerous effects on insects. In this study, mortality effect of UV on *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) larvae was studied. The larvae were exposed to UV radiation (254 and 365 nm) at different time periods (15, 30, 45 and 60 min). After exposure, mortality rate, comet assay studies, antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, GST and GPx), and MDA levels were investigated on the larvae. The mortality rate of *E. kuehniella* larvae increased with increasing exposure times. It was determined that 254 nm was more effective than 365 nm compared to the effects of short (254 nm) and long-wave (365 nm) radiations on mortality rate of *E. kuehniella* larvae. Likewise mortality rate, 254 nm had more potency than 365 nm on antioxidant enzyme activities and levels of MDA. According to the comet assay results, the tail DNA% and comet tail length significantly increased in all exposure times at 254 nm, but these changes were seen only 45 min and 60 min at 365 nm of UV radiation. Therefore, tail DNA% and tail lengths of 254 nm radiation could be greater than the tail lengths of 365 nm UV radiation. As a result, the UV radiation could be effectively as a safe pest control method and as an alternative to environmentally hazardous chemical pesticides.

Key words: *Ephestia kuehniella*, UV radiation, mortality, antioxidant enzymes, comet assay

Özet

Ultraviyole (UV) radyasyona maruz kalmak tüm canlılar için tehliklidir. UV böcekler üzerinde birçok etki göstermektedir. Bu çalışmada, *Ephestia kuehniella* 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) larvaları üzerine UV'nin öldürücü etkisi çalışıldı. Larvalar UV radyasyonuna (254 ve 365 nm) farklı zaman peryotlarında (15, 30, 45 ve 60 dk.) maruz bırakıldı. Çalışma sonunda larvaların ölüm oranları, komet değerleri ve antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GST ve GPx) ve MDA seviyeleri araştırıldı. İşınlama süresi arttıkça *E. kuehniella* larvalarının ölüm oranları artmıştır. Kısa (254 nm) ve uzun (365 nm) dalga boyalarını ölüm oranları üzerindeki etkilerini karşılaştırdığımızda 254 nm dalga boyunun 365 nm dalga boyundan daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu durum, ölüm oranı, antioksidan enzim aktivitesi ve MDA seviyesinde de tespit edilmiştir. Komet değerlendirme sonuçlarına göre kuyruk % DNA'sı ve komet kuyruk uzunluğu 254 nm dalga boyutunun tüm uygulama zamanlarında istatistiksel olarak artarken bu değişimler 365 nm UV radyasyonun yalnızca 45. ve 60. dk.larında tespit edilmiştir. Bundan dolayı, kuyruk % DNA'sı ve kuyruk uzunluğu 254 nm dalga boyunda 365 nm dalga boyuna göre daha fazladır. Sonuç olarak, UV radyasyon depo zararlarının kontrolünde güvenilir bir metod ve çevreye zararlı kimyasal pestisitlere bir alternatif olarak kullanılabilir.

Anahtar sözcükler: *Ephestia kuehniella*, UV radyasyon, ölüm oranı, antioksidan enzimler, komet değerlendirme

¹ Bozok University, Institute of Science, Department of Biology, 66100 Divanliyolu/Yozgat, Turkey

² Bozok University, Faculty of Arts and Science, Department of Biology, 66100 Divanliyolu/Yozgat, Turkey,

* Corresponding author e-mail:durak77@gmail.com

Alınış (Received): 24.06.2014

Kabul ediliş (Accepted): 19.02.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 22.04.2015

Introduction

Cereals are the main source of food because they include lots of nutritious substances such as minerals, vitamins, carbohydrates, and proteins for people (Schöller et al., 1997). However, stored product pests cause critical losses to both the cereal's quantity and quality. *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) is a serious and common pest in cereals around the world (Lynn & Ferchovic, 2004). Thus, it can cause economic losses (Hansen and Jensen, 2002). Principally, the control of major pests is carried out with insecticides (Arthur, 1996). However, insecticides have a lot of environmental problems (Hansen & Jensen, 2002). Also, they have showed a development towards a resistance in insects causing toxicity in the mammalian and failure of the food chain (Azizoglu et al., 2011). Because of all of these undesired effects of insecticides, alternative control methods are needed (Ayvaz & Karabörklü, 2008).

Radiation technique is one of the alternative control methods for stored product pests (Ayvaz et al., 2008; Azizoglu et al., 2010; Hallman, 2013). For many years, UV radiation has been recognized as a potential stress for organisms and is known to have a wide range of hazardous effects (Mora et al., 2000). UV is a very prominent environmental toxic agent. Due to UV radiation, genes are easily damaged and mutations can subsequently occur (Gruijl et al., 2001). The major damage produced in DNA by UV consists of pyrimidine dimers (Tornaletti & Pfeifer, 1995; Myllyperkiö et al., 2000; Mone et al., 2001). UV can negatively affect phytoplankton, and the eggs and larval stages of fish and other aquatic animals (Häder et al., 2007). Also, it has numerous effects on insects (Halverson et al., 1999). There are studies which determined the efficiency of UV radiation on stored product pests. UV is used both as an insect attractant, and for the disinfection of insects' eggs (Faruki et al., 2007).

UV radiation has the ability to produce reactive oxygen species (ROS) (Gruijl et al., 2001); thus, it is proved that it generates DNA damage both directly and indirectly via oxidative stress (Ichihashi et al., 2003). ROS conduces to DNA and enzyme oxidation, changes in scavenging enzymes and lipid peroxidation (LPO) in insect tissues. Malondialdehyde (MDA) end the product of LPO, is the most studied marker in oxidative stress and can cause biomolecular damage. Detoxification and antioxidant systems play a major role in the defense of cells (Büyükgüzel et al., 2010). ROS are eliminated by a group of antioxidant enzymes in insects. The antioxidant enzymes contain superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), and glutathione S-transferase (GST) in insects (Büyükgüzel & Kalender, 2009). They form a protector complex against endogenously produced ROS (Büyükgüzel et al., 2010).

To determine the genotoxic effects induced by physical and chemical agents, there are several test systems and different types of cells such as bacteria, mammalian cells, and plant cells can be used (Mamur et al., 2010). Single cell gel electrophoresis (SCGE) or "Comet" assay is used to determine the potential genotoxicity (Rencuzogullari et al., 2004; Yilmaz et al., 2008). It is a marker of the early biological effects of carcinogen exposure (Liou et al., 2002). Comet assay has been proved to be a good indicator of DNA damage (Mpountoukas et al., 2008; Mamur et al., 2010). It is a reliable, sensitive, and rapid method for assessing DNA damage in cells (Zengin et al., 2011).

This study is conducted to develop a safer pest control method in order to decrease the use of chemical pesticides. For this, UV radiation was tested on *E. kuehniella* larvae and the effects of UV via comet assay, observing mortality rates and measuring of antioxidant enzyme (SOD, CAT, GST and GPx) activities and levels of MDA were examined.

2. Materials and Methods

2.1. Chemicals

All the chemicals used to measure the MDA level, antioxidant enzyme activities, and comet assay were obtained from Sigma–Aldrich (Germany).

2.2 *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) culture

The insect stock culture was procured from the Adana Plant Protection Research Institute. After a period of around 2 months, the adults that emerged from the culture medium were placed into new glass jars, and their eggs were collected in one day, and used for the new cultures (Azizoglu et al., 2011). The larvae were reared on a mixture comprising of 1 kg wheat flour, 55 g yeast, and 30 g germs of wheat (Tuncbilek et al., 2009). The normal rearing states were 27 ± 1 °C and 70 ± 5 % r.h. The cultures were kept under a light regime of 14 hour light followed by 10 hour of darkness.

2.3. UV radiation treatments

1 to 2 days-old, six number of *E. kuehniella* larvae were collected from the culture and then transferred into Petri plates. The larvae were exposed to UV radiation to test the effects of both the short (254 nm) and long wave (365 nm) UV radiation at different time periods (15, 30, 45 and 60 min). 254 nm and 365 nm waves (Camag UV Lamps, 254/365 nm) were chosen according to Azizoglu et al. (2011). All the treatments were replicated six times.

2.4. Preparation of single-cell suspension

About 1.0 g of very thin slices of six larvae were cut with a scalpel from the total body, transferred to a small beaker with 5 mL of ice-cold phosphate-buffered saline (PBS), and stirred for 5 min at about 500 cycles. The suspensions were filtered first through 500 µm and then through 200 µm cloth sieves, and left to settle on ice for about 5 min. The supernatant was used as a cell suspension. The cell suspension (100 µL) was mixed with 1 mL of low-melting agarose (0.8 % in PBS). A 100 µL of this mixture was spread onto precoated slides (Erel et al., 2009).

2.5. DNA comet assay

The coated slides were immersed in the lysis buffer (0.045 M TBE, pH 8.4, containing 2.5 % SDS) for 2–9 min. Using the same buffer, but devoid of SDS, the electrophoresis was performed at 2 V/cm for 2 min (Erel et al., 2009). Ethidium bromide staining was employed in order to visualize the DNA. The slides were examined using a microscope (BS 200 ProP, BAB Imaging System with fluorescence, Ankara, Turkey) at a magnification 20 x 10 with a digital color video camera.

Approximately 100 cells per slide were selected randomly and examined using an image analysis system (200 ProP with software). The parameters selected for the quantification of DNA damage were tail DNA percentages and tail length.

2.6. Tissue collection

Ten larvae were used to specify the MDA content and antioxidant enzyme activities. They were frosted on ice for 5 min and sterilized with ethanol. Then, they were cut and placed into eppendorf tubes filled with a cold homogenization buffer (pH 7.4) and stored at -80°C. Before using, the tubes were kept at room temperature until the tissue began to thaw.

2.7. Sample preparation

The extracts of larvae were prepared at 4°C with a homogenizer (Ika T-18 Basic Ultra Turrax Homogenizer) and subsequent centrifuged (NUVE NF800R) for 15 min at 4°C. Then the supernatants were collected for analysis. The supernatants were centrifuged at 1000g at 4°C for SOD and CAT assays, 16,000g for GST and GPx and 2000g for MDA. The antioxidant enzyme activities and MDA levels were specified by measuring the absorbance of the samples using a spectrophotometer (Shimadzu UV 1800, Kyoto, Japan). The protein concentrations were determined according to Lowry et al. (1951).

2.7.1. Measurement of malondialdehyde (MDA)

The MDA level was assayed using the thiobarbituric acid (TBA) test as described by Ohkawa et al. (1979). The absorbance was measured at 532 nm. The level of MDA was defined as nmol/mg protein.

2.7.2. Measurement of antioxidant enzyme activities

The SOD activity was determined according to the method described by Marklund & Marklund (1974) at 440 nm. The activity was defined as U/mg protein. The CAT enzyme activity was measured according to the method described by Aebi (1984) by assaying the hydrolysis of H₂O₂. The absorbance was measured at 240 nm. The activity was defined as mmol/mg protein. The activity of the GST was analyzed by measuring the formation of the GSH (Glutathione) and the 1-chloro 2, 4-dinitrobenzene (CDNB) conjugate (Habig et al., 1974). The absorbance was recorded at 340 nm. The specific activity of the GST was expressed as μmol/mg protein. The GPx activity was measured according to the method described by Paglia & Valentine (1987). The reaction was monitored at 340 nm. The enzyme activity was expressed as nmol/mg protein.

2.8. Statistical analysis

The data were subjected to analysis of the variance (ANOVA) using SPSS (2001) for Windows, followed by Tukey's procedure for multiple comparisons. The P < 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Mortality ratio result

The *E. kuehniella* larvae were exposed to 254 and 365 nm UV radiation for time periods of 15, 30, 45 and 60 min, and the mortality ratio was observed. It was seen that depending on the increasing time periods, the mortality was increased (For 254 nm, F = 558.25; df = 4; P < 0.05 and for 365 nm, F = 368.99; df = 4; P < 0.05) (Figure 1). The increased exposure times that were dependent on the mortality ratios of *E. kuehniella* larvae were evident after 254 nm of UV radiation, e.g. 9.17 % mortality ratios at the control (untreated larvae) reached 95.5 % after the 60 min exposure. Otherwise, the mortality ratios of the larvae at 365 nm UV did not change significantly up to the 30 min exposure. With 365 nm UV, only the 83.83% mortality was determined at the longest exposure time period (Figure 1).

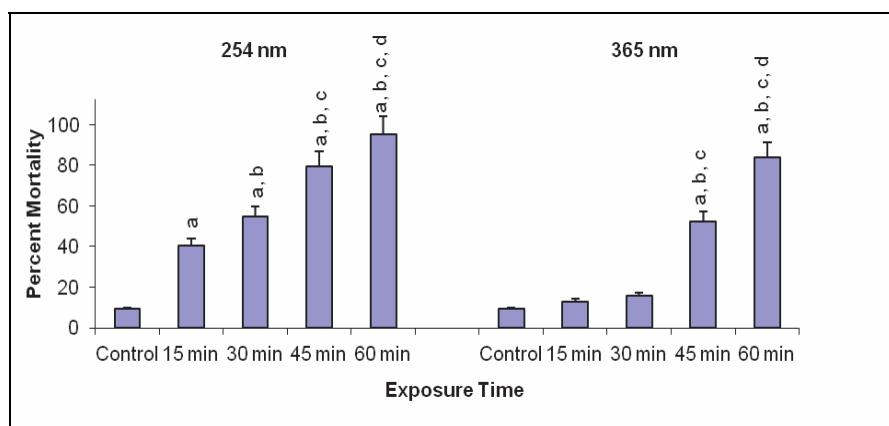


Figure 1. Effect of 254 and 365 nm UV radiation on mortality ratio of *E. kuehniella* larvae. ^aComparison of control and other groups. ^bComparison of 15 min and other groups. ^cComparison of 30 min and other groups. ^dComparison of 45 min and other groups. Data represents the means ± SD of samples. Significance at P < 0.05.

3.2. MDA level and antioxidant enzymes activities results

At a 254 nm radiation, the MDA level was significantly increased with the increasing exposure time. However, the content of the MDA at 365 nm UV radiation did not alter up to the 30 min exposure (Figure 2).

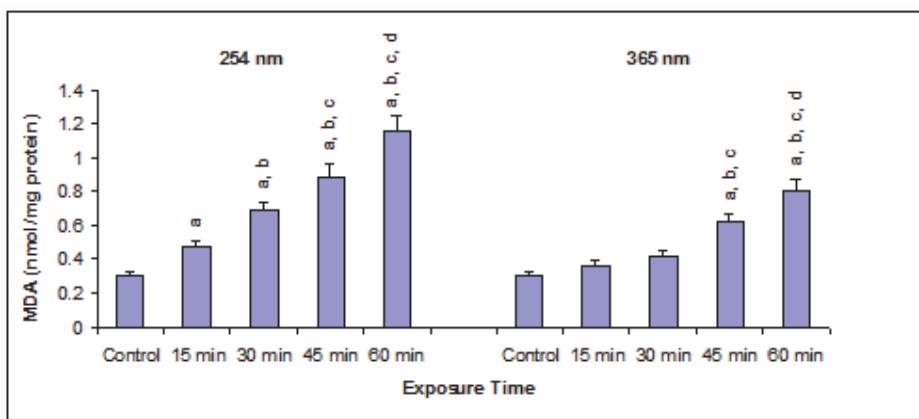


Figure 2. Effect of 254 and 365 nm UV radiation on MDA level of *E. kuehniella* larvae. ^aComparison of control and other groups. ^bComparison of 15 min and other groups. ^cComparison of 30 min and other groups. ^dComparison of 45 min and other groups. Data represents the means \pm SD of samples. Significance at $P < 0.05$.

The SOD, CAT, GST and GPx activities were significantly decreased with exposure to 254 nm UV radiation depending on the increasing time periods, but a significant decrease on these antioxidant enzyme activities was seen at 45 min and 60 min exposure times at 365 nm UV radiation (Figures 3,4,5,6).

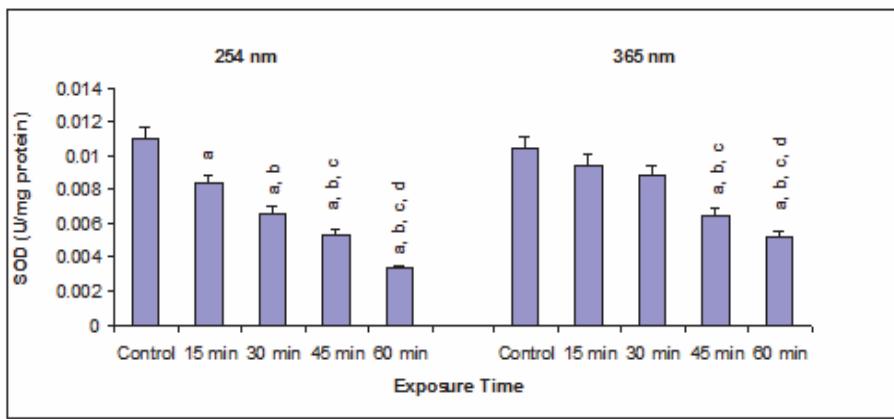


Figure 3. Effect of 254 and 365 nm UV radiation on SOD activity of *E. kuehniella* larvae. ^aComparison of control and other groups. ^bComparison of 15 min and other groups. ^cComparison of 30 min and other groups. ^dComparison of 45 min and other groups. Data represents the means \pm SD of samples. Significance at $P < 0.05$.

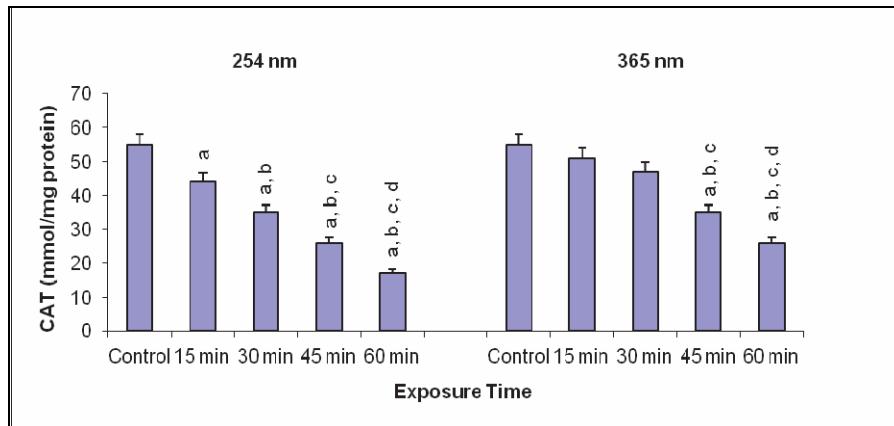


Figure 4. Effect of 254 and 365 nm UV radiation on CAT activity of *E. kuehniella* larvae. ^aComparison of control and other groups. ^bComparison of 15 min and other groups. ^cComparison of 30 min and other groups. ^dComparison of 45 min and other groups. Data represents the means \pm SD of samples. Significance at $P < 0.05$.

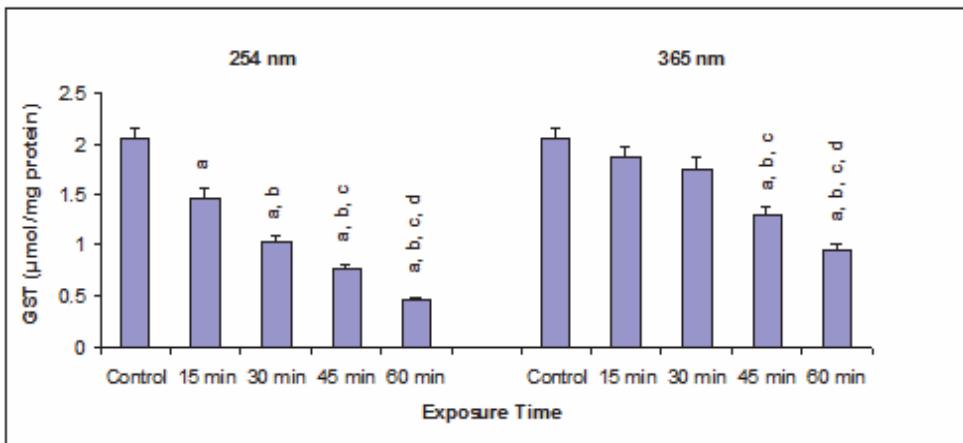


Figure 5. Effect of 254 and 365 nm UV radiation on GST activity of *E. kuehniella* larvae. ^aComparison of control and other groups. ^bComparison of 15 min and other groups. ^cComparison of 30 min and other groups. ^dComparison of 45 min and other groups. Data represents the means \pm SD of samples. Significance at $P < 0.05$.

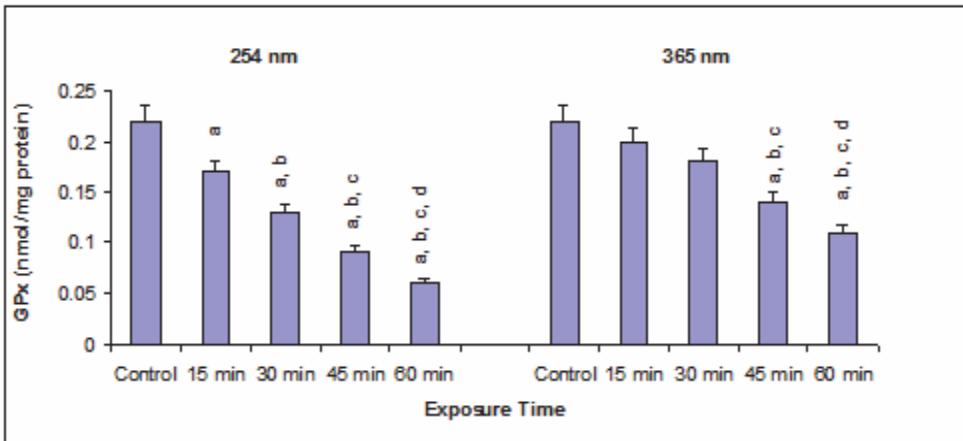


Figure 6. Effect of 254 and 365 nm UV radiation on GPx activity of *E. kuehniella* larvae. ^aComparison of control and other groups. ^bComparison of 15 min and other groups. ^cComparison of 30 min and other groups. ^dComparison of 45 min and other groups. Data represents the means \pm SD of samples. Significance at $P < 0.05$.

3.3. Commet assay results

According to the comet assay results, the tail DNA %, mean tail length, and tail moment, significantly increased with the increasing exposure times at 254 nm UV radiation (Figure 7, Table 1). The significantly ($p < 0.05$) high tail DNA % (94.55 ± 3.28) induced by 60 min of 254 nm UV. However, the increasing tail DNA % was seen at only 45 and 60 min at 365 nm as 82.72 ± 4.01 and 93.30 ± 3.03 , respectively.

When the damage was evaluated in terms of the tail length, the value was higher for the 60 min 254 and 365 nm UV-treatment compared with the other treatment groups (Figure 7, Table 1).

Table 1. Estimated mean values of tail DNA%, tail length and tail moment of comets by image analysis on different wavelengths of UV.

Different exposure times and wavelenghts of UV	Tail DNA%	Tail lenght	Tail moment
	Mean±SE	Mean±SE	Mean±SE
Control	51.90 ± 0.28	11 ± 0.70	5.71 ± 1.17
254 nm	15 min	69.0 ± 0.38 ^a	16.00 ± 1.20
	30 min	80.13 ± 1.95 ^{ab}	21.84 ± 2.35 ^{ab}
	45 min	84.91 ± 1.93 ^{abc}	31.55 ± 1.75 ^{abc}
	60 min	94.55 ± 3.28 ^{abcd}	91.75 ± 1.68 ^{abcd}
365 nm	15 min	64.86 ± 1.08	11.65 ± 2.74
	30 min	64.95 ± 0.75	19.61 ± 2.35
	45 min	82.72 ± 4.01 ^{abc}	26.7 ± 1.12 ^{abc}
	60 min	93.30 ± 3.03 ^{abcd}	80.46 ± 8.05 ^{abcd}

Superscript letters indicate significant differences among exposed to different times and wavelenghts of UV larvae stages of *E. kuehniella*. Significance at $p < 0.05$.

The highest tail length of the larvae was observed at the 60 min-treatment of 254 nm of UV radiation (Figure 7).

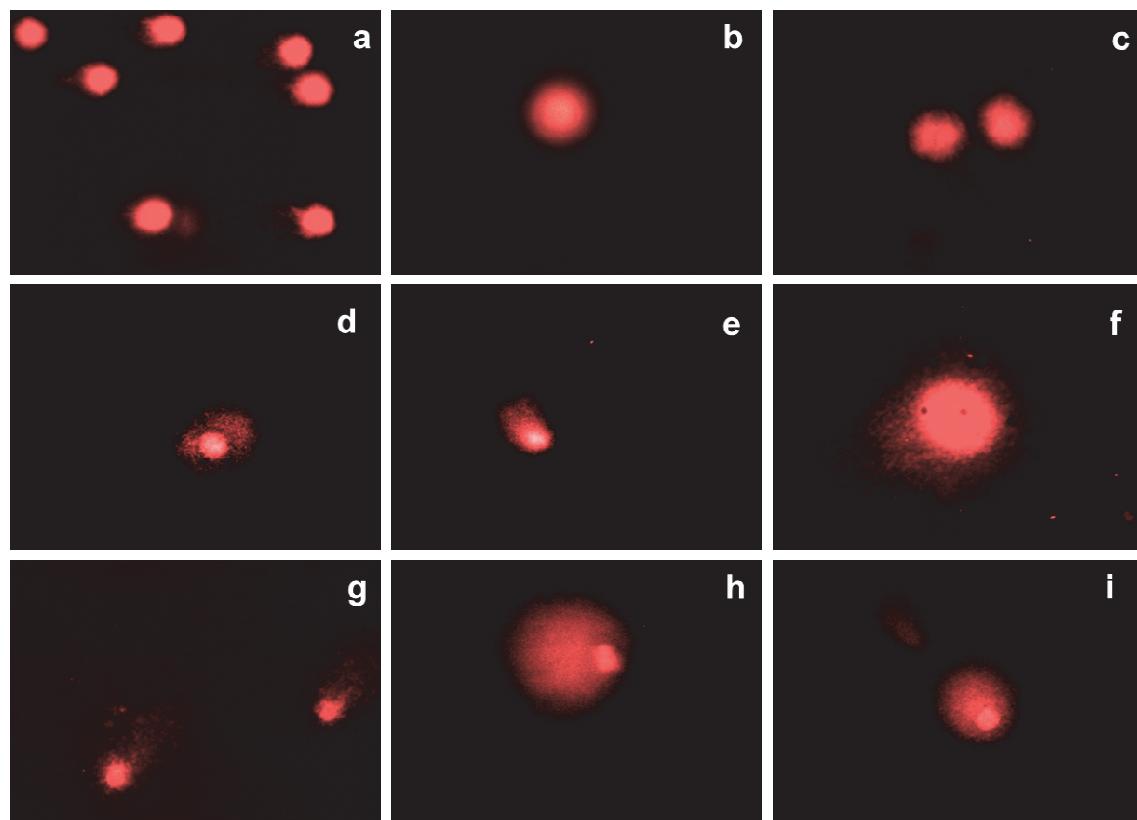


Figure 7. Comet appearances of the UV treated larvae and control group in *E. kuehniella* (a) control, (b-c) 15 min-, (d-e) 30 min-, (f-g) 45 min-, (h-i) 60 min-exposure for short-wave (254 nm) and long wave (365 nm) of UV in larvae DNA damage, respectively.

4. Discussion

UV radiation can cause damage to DNA indirectly via the action of photosensitizers and it also induces cytotoxic and mutagenic effects (Patton et al., 1999). There are advantages to UV radiation when used as a pest control. The advantages include the absence of unwanted residues in foods, only a little alteration in the chemical properties or the nutritive value of foods, and no resistance development by the pest insects (Zhao et al., 2007). Ghanem & Sharma (2007) showed that UV radiation causes damage to egg chorion and induces the leakage of egg fluid. Guerra et al. (1968) exposed the *Heliothis virescens* (Fabricius), 1777 and *Heliothis zea* (Boddie), 1850 (Lepidoptera: Noctuidae) eggs to 254 nm UV radiation and specified that increasing the time period increased the mortality ratio significantly. Furthermore, supporting results were procured from the eggs of *Tribolium castaneum* (Herbst), *T. confusum* Jacquelin du Val, 1863 (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Cadra cautella* (Walker), 1863 (Lepidoptera: Pyralidae) when they were exposed to short-wave UV radiation (Faruki et al., 2007). This study showed that the mortality rate of the larvae treated at 254 nm of UV radiation for 60 min was 95.5 %, but 83.83 % at 365 nm UV radiation. Our results indicate that the mortality effect of the 254 nm UV radiation was more effective than the 365 nm UV treatment. When the UV wavelengths were shortened, the harmful effect on the insects significantly increased (Cohen et al., 1975). In addition, it was observed in this study that, depending on the increasing time periods, the mortality rates were increased. The enhanced mortality ratio in the insects with increased exposure times treated with UV radiation was also reported by Azizoglu et al. (2011).

UV radiation can produce free radicals, including oxygen-derived species, which are known to cause LPO (Patton et al., 1999) and oxidative damage to DNA bases (Gruijl et al., 2001). LPO has been suggested as a possible mechanism for the phototoxic effects (Patton et al., 1999). MDA is a main oxidation product of peroxidized polyunsaturated fatty acids. It has been used to specify both the LPO level, and as a marker of oxidative stress (Büyükgüzel et al., 2010). MDA, the quantitatively predominant aldehyde, forms Schiff bases with amines of proteins, phospholipids, and nucleic acids leading to damaged cellular biomolecules (Büyükgüzel & Kalender, 2010). In this study, enhanced oxidative stress, as evidenced by the elevated level of MDA, may be associated with a reduction in antioxidant enzyme activities. Antioxidant enzymes are important protectors of cells against oxidative damage (Messerah et al., 2012). SOD and CAT are responsible for the dismutation of superoxide radicals into oxygen and hydrogen peroxide (H_2O_2), and catalyse H_2O_2 conversion respectively, in tissues (Büyükgüzel & Kalender, 2009). The GPx enzyme can prevent oxidative damage of the cell membranes via the catalyses H_2O_2 conversion to H_2O (Messerah et al., 2012). GST is one of the main detoxification enzymes that play a major role in the obstruction of oxidative damage by detoxifying LPO products (Büyükgüzel & Kalender, 2009). There are studies that have examined the MDA level and antioxidant enzyme activities for investigating the oxidative stress degree in insect tissues (Büyükgüzel & Kalender, 2009; Büyükgüzel et al., 2010). Our study demonstrates a significant increase in the MDA level and a decrease in SOD, CAT, GST, and GPx activities in *E. kuehniella* larvae. The changes in antioxidant enzyme activities may be due to the generation of ROS, and this ROS can cause oxidative stress, and lead to uncontrolled lipid peroxidation, protein, enzyme, and DNA oxidation in the insect tissues (Ahmad, 1995; Krishnan & Kodrik, 2006). A portion of ROS is scavenged by non-enzymatic antioxidants such as ascorbate, glutathione, tocopherols, and carotenoids (Felton & Summers, 1995), but most are eliminated by a suite of antioxidant enzymes in insects. The elevated enzyme activities under increasing exposure times of MFs probably result from a decreased transcription and/or translation. Therefore, the suppressed activities of the antioxidant enzymes and simultaneous increase in lipid peroxidation in the larvae tissue were attributed to the oxidative stress arising from the insufficient neutralization of the reactive species (Modesto & Martinez, 2010).

In cells, DNA is known to be a target for UV radiation damage. During recent years, the investigation into DNA damage induced by agents such as radiation and environmental toxins has been performed via comet assay (Rapp et al., 2000). Thus, in this study, the comet assay was used to examine the DNA damage of the *E. kuehniella* larvae as being exposed to UV radiation. In this rapid and sensitive method, a damaged cell takes the shape of the appearance of a comet in head and tail regions. The tail length and density indicates the number of single-strand breaks in the DNA. Also, the percentage of DNA in the tail procures quantitative data of the damaged DNA (Patton et al., 1999). In previous studies, Myllyperkiö et al. (2000), Rapp et al. (2000) and Patton et al. (1999) showed the effects of UV radiation via comet assay. In this study, it was observed that the tail lengths were elongated with the increasing exposure time at 254 nm of UV radiation. However, at 365 nm this elongation was seen only at 45 min and 60 min. It is clear that 254 nm is more effective on *E. kuehniella* larvae tissue than 365 nm radiation.

With this study, it was shown that mortality rates, MDA levels, and comet tail lengths were increased; and SOD, CAT, GST and GPx activities were decreased depending on the exposed time of the UV radiation on the *E. kuehniella* larvae. The data presented in this study supports our hypothesis that UV radiation causes oxidative stress and induces DNA damage. As a result, it is possible to say that UV radiation (especially short-wave) has insecticidal activity on *E. kuehniella* larvae. UV radiation may be used as an alternative to chemical control. The use of UV radiation may be a more reliable and a healthy method for controlling insects.

Acknowledgements

The authors would like to thank to Mrs. Sevcan Oztemiz (Biological Control Research Station in Adana) for supplying the *Ephestia kuehniella* used in the experiments.

References

- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126.
- Ahmad, S., 1995. Oxidative stress from environmental pollutants. Arch. Insect Biochem. Physiol. 29: 135–157.
- Azizoglu, U., S. Yilmaz, S. Karaborklu & A. Ayvaz, 2011. Ovicidal Activity of Microwave and UV Radiations on Mediterranean Flour Moth *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae). Türkiye Entomoloji Dergisi, 35: 437-446.
- Arthur, F. H., 1996. Grain protectants: current status and prospects for the future. Journal of Stored Product Research, 32: 293-302.
- Ayvaz, A. & S. Karaborklu, 2008. Effect of cold storage and different diets on *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep: Pyralidae). Journal of Pest Science, 81: 57–62.
- Ayvaz, A., S. Albayrak & S. Karaborklu, 2008. Gamma Radiation Sensitivity of the Eggs, Larvae and Pupae of Indian Meal Moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). Pest Management Science, 64: 505-512.
- Azizoglu, U., S. Karaborklu, S. Yilmaz, A. Ayvaz & R. Temizgul, 2010. Insecticidal activity of microwave radiation on *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. EU J Institute Scie Tech 26: 323-327.
- Buyukguzel, E. & Y. Kalender, 2009. Exposure to streptomycin alters oxidative and antioxidative response in larval midgut tissues of *Galleria mellonella*. Pesticide Biochemistry Physiology, 94: 112–118.
- Buyukguzel, E., P. Hyrsł & K. Buyukguzel, 2010. Eicosanoids mediate hemolymph oxidative and antioxidative response in larvae of *Galleria mellonella* L. Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 156: 176–183.
- Cohen, S. H., J. A. Saousa, J. F. Roach & J. B. Gingrich, 1975. Effects of UV irradiation on nymphs of *Blattella germanica* and *Periplaneta americana*. Journal of Economic Entomology, 68: 687-693.
- Erel, Y., N. Yazıcı, S. Ozvatan, D. Ercin & N. Cetinkaya, 2009. Detection of irradiated quail meat by using DNA comet assay and evaluation of comets by image analysis. Radiation Physics Chemistry, 78: 776–781.

- Faruki, S. I., D. R. Das, A. R. Khan & M. Khatu, 2007. Effects of ultraviolet (254nm) irradiation on egg hatching and adult emergence of the flour beetles *Tribolium castaneum*, *T. confusum* and the almond moth *Cadra cautella*. *Journal of Insect Science*, 7: 1-6.
- Felton, G. W., & C. B. Summers, 1995. Antioxidant systems in insects, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 29: 187–197.
- Ghanem, I. & M. Sharma, 2007. Effect of non-ionizing radiation (UVC) on the development of *Trogoderma granarium everts*. *Journal of Stored Product Research*, 43: 362–366.
- Gruijl, F. R., H. J. Kranen & L. H. Mullenders, 2001. UV-induced DNA damage, repair, mutations and oncogenic pathways in skin cancer. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 63: 19–27.
- Guerra, A. A., M.T. Ouye & H. R. Bullock, 1968. Effect of ultraviolet irradiation on egg hatch, subsequent larval development, and adult longevity of the tobacco budworm and the bollworm. *Journal of Economic Entomology*, 61: 541-542.
- Häder, D. P., H. D. Kumar, R. C. Smith & R. C. Worrest, 2007. Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical and Photobiology Science*, 6: 267–285.
- Halverson, S. L., T. W. Phillips, T. S. Bigelow, G. N. Mbata & M. E. Payton, 1999. The control of various species of stored product insects with EHF energy. In: Proceeding of the Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions. Published Abstract, pp 1-4.
- Habig, W. H., M. J. Pabst & W. B. Jakoby, 1974. Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biochemistry*, 249: 7130-7139.
- Hallman, G. J., 2013. Control of stored products pests by ionizing radiation. *Journal of Stored Product Research*, 52: 36-41.
- Hansen, L. S. & K. M. V. Jensen, 2002. Effect of temperature on parasitism and host-feeding of *Trichogramma turkestanica* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, 95: 50–56.
- Ichihashi, M., M. Ueda, A. Budiyanto, T. Bito, M. Oka, M. Fukunaga, K. Tsuru & T. Horikawa, 2003. UV-induced skin damage. *Toxicology*, 189: 21-39.
- Krishnan, N.. & D. Kodrik, 2006. Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress. *Journal of Insect Physiology*, 52: 11–20.
- Liou, S. H., Y. H. Chen, C. H. Loh, T. Yang, T. N. Wu, C. J. Chen & L.L. Hsieh, 2002. The association between frequencies of mitomycin C-induced sister chromatid exchange and cancer risk in arseniasis. *Toxicology Letters*, 129: 237–243.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr & R. J. Randall, 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265-75.
- Lynn, D. E. & S. M. Ferkovich, 2004. New cell lines from *Ephestia kuehniella*: characterization and susceptibility to baculoviruses. *Journal of Insect Science*, 4: 1-5.
- Mamur, S., D. Yuzbasioglu, F. Unal & S. Yilmaz, 2010. Does potassium sorbate induce genotoxic or mutagenic effects in lymphocytes? *Toxicology In Vitro* 24: 790–794.
- Marklund, S. & G. Marklund, 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47: 469-474.
- Messarah, M., F. Klibet, A. Boumendjel, C. Abdennour, N. Bouzerna, M.S Boulakoud & A. E. Feki, 2012. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of selenium on arsenic-induced liver injury in rats. *Experimental Toxicology and Pathology*, 64: 167–174.
- Modesto, K. A. & C. B. Martinez, 2010. Effects of roundup transorb on fish: hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, 81:781–787.
- Mone, M. J., M. Volker, O. Nikaido, L. H. F. Mullenders, A. A. van Zeeland, P. J. Verschure, E. M. M. Manders & R. van Driel, 2001. Local UV-induced DNA damage in cell nuclei results in local transcription inhibition. *EMBO Reports* 21: 1013-1017.
- Mora, S., S. Demers & M. Vernet, 2000. The effects of UV radiation in the marine environment. Cambridge University Press, Cambridge.

- Mpountoukas, P., A. Vantarakis, E. Sivridis & T. Lialiatis, 2008. Cytogenetic study in cultured human lymphocytes treated with three commonly used preservatives. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2390–2393.
- Myllyperkiö, M. H., T. R. Koski, L. M. Vilpo & J. A. Vilpo, 2000. Kinetics of excision repair of UV-induced DNA damage, measured using the comet assay. *Mutation Research*, 448: 1–9.
- Ohkawa, H., N. Ohishi & K. Yagi, 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid rection. *Analytical Biochemistry*, 95: 351–358.
- Paglia, D. E. & W. N. Valentine, 1987. Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70: 158–165.
- Patton, W. P., U. R. Chakravarthy, J. H. Davies & D. B. Archer, 1999. Comet assay of UV-induced DNA damage in retinal pigment epithelial cells. *Investigate Ophthalmology and Visual Science*, 40: 3268–3275.
- Rapp, A., C. Bock, H. Dittmar & K.O. Greulich, 2000. UV-A breakage sensitivity of human chromosomes as measured by COMET-FISH depends on gene density and not on the chromosome size. *Journal of Photochemical Photobiology B: Biology*, 56: 109–117.
- Rencuzogulları, E., B. A. Tuylu, M. Topaktas, H. B. Ila, A. Kayralız, M. Arslan & S. Diler, 2004. Genotoxicity of Aspartame. *Drug and Chemical Toxicology*, 27: 257–268.
- Schöller, M. S., A. G. Prozell, A. Kirshi & C. Reichmuth, 1997. Towards biological control as a major component of integrated pest management in stored product protection. *Journal of Stored Product Research*, 33: 81–97.
- Tornaletti, S. & G. P. Pfeifer, 1995. UV light as a footprinting agent: Modulation of UV-induced DNA damage by transcription factors bound at the promoters of three human genes. *Journal of Molecular Biology*, 249: 714–728.
- Tuncbilek A. S., U. Canpolat & F. Sumer, 2009. Suitability of irradiated and cold-stored eggs of *Ephestia kuehniella* (Pyralidae:Lepidoptera) and *Sitotroga cerealella* (Gelechiidae:Lepidoptera) for stockpiling the egg-parasitoid *Trichogramma evanescens* (Trichogrammatidae:Hymenoptera) in diapause. *Biocontrol Science and Technology*, 19: 127–138.
- Yılmaz, S., F. Ünal, D. Yuzbaşıoğlu & H. Aksoy, 2008. Clastogenic effects of food additive citric acid in human peripheral lymphocytes. *Cytotechnology*, 56: 137–144.
- Zengin, N., D. Yuzbaşıoğlu, F. Ünal, S. Yılmaz & H. Aksoy, 2011. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: Sodium benzoate and potassium benzoate. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 763–769.
- Zhao, S., C. Qiu, S. Xiong & X. Cheng, 2007. A thermal lethal model of rice weevils subjected to microwave irradiation. *Journal of Stored Product Research*, 43: 430–434.

Orijinal araştırma (Original article)

***Stigmaeus ceylani*, a new species of the genus *Stigmaeus* Koch (Acari: Stigmeidae) from Turkey**

Türkiye'den *Stigmaeus* Koch (Acari: Stigmeidae) cinsine bağlı yeni bir tür,
Stigmaeus ceylani

İsmail ULUÇAY^{1*}

Summary

In this study a new species of *Stigmaeus* Koch (Acari: Stigmeidae), *Stigmaeus ceylani* sp. nov., is described and illustrated. Specimens have been collected from the soil and litter under *Punica granatum*, 2014, İskenderun, Hatay, Turkey. Besides, the male, female, deutonymph, protonymph and larva of the species are illustrated in this article.

Key words: Raphignathoidea, Stigmeidae, *Stigmaeus ceylani* sp. nov., new species, Turkey

Özet

Bu çalışmada *Stigmaeus* Koch (Acari: Stigmeidae) cinsine ait yeni bir türün *Stigmaeus ceylani* sp. nov. şekilleri çizilerek tanımlanmıştır. Örnekler 2014 yılında Hatay'ın İskenderun ilçesinde nar ağacının (*Punica granatum*) altından alınan döküntü ve topraktan elde edilmişlerdir. Ayrıca, bu türe ait erkek, deutonimf, protonimf ve larvanın da şekilleri çizilerek verilmiştir.

Anahtar sözcükler: Raphignathoidea, Stigmeidae, *Stigmaeus ceylani* sp. nov., yeni tür, Türkiye

¹ Çölemerik Meslek Yüksekokulu, Hakkari Üniversitesi, Hakkari, Turkey

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: iulucay@gmail.com

Alınış (Received): 17.11.2014 Kabul ediliş (Accepted): 20.02.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 22.04.2015

Introduction

Stigmaeidae is a family within the superfamily Raphignathoidea. These mites live in or on soil, grass, leaf, mulch, lichen, bark, beetle frass, crevices in rock and leaf cavities, and a few of them are parasitic on phlebotomine flies (Ueckermann & Meyer, 1987; Doğan & Ayyıldız, 2003a,b; Akyol & Koç, 2007, 2010; Noei et al., 2007; Dönel & Doğan, 2011; Uluçay & Koç, 2014). Currently this family consists of 32 valid genera and about 500 species (Doğan et al., 2011; Bagheri et al., 2012; Nazari et al., 2012). Up to now *Agistemus* Summers, *Cheylostigmaeus* Willmann, *Eustigmaeus* Berlese, *Ledermuelleriopsis* Willmann, *Mediolata* Canestrini, *Stigmaeus* Koch, *Prostigmaeus* Kuznetsov, *Storchia* Oudemans, *Villersia* Oudemans, *Zetzellia* Oudemans and *Eryngiopus* Summers have been reported from Turkey (Doğan 2007; Dönel & Doğan 2011; Yeşilayer & Cobanoğlu, 2013). The genus *Stigmaeus* has a worldwide distribution with more than 100 described species. To date, 25 species are reported from Turkey (Doğan, 2007; Akyol & Koç, 2007; Dönel & Doğan, 2011; Özçelik & Doğan, 2011). In this article, *Stigmaeus ceylani* sp. nov. is described as new species. The male, female, deutonymph, protonymph and larva of the species are illustrated.

Materials and Methods

The soil and litter samples taken from mixed habitats in Hatay Province (Turkey), 2014 were brought to the laboratory in nylon bags, and extracted in Berlese funnels for five to seven days. Mites were collected in 70% ethanol. Stigmaeid mites were picked from the samples under a stereomicroscope and mounted on slides in Hoyer's medium. The mite figures were drawn and measured by means of a Leica DM 4000 B research microscope which has a special software (Leica Application Suite Version 3.6.0 – Build:488) in order to get exact measures. The setal nomenclature follows that of Kethley (1990) and Grandjean (1944). The holotype female and paratypes are preserved as slide mounted specimens and deposited in the Acari Collection of Hakkari University, Hakkari, Turkey. All measurements are given in micrometers (μm). Holotype measurements have been used for all body parts and minimum and maximum values of paratypes are given in parenthesis. Measurements of legs have been taken from base of femur to tip of tarsal claw.

Family: Stigmaeidae Oudemans, 1931

Type genus: *Stigmaeus* Koch, 1836

Type species: *Stigmaeus cruentus* Koch, 1836.

Stigmaeus ceylani sp. nov.

Diagnosis

This new species is distinguished in that it has additional shield without setae; no eyes and postocular bodies; its dorsal setae are faintly spinulate; its propodosomal shield with centrally, faintly reticulate; $h_2 > ve = c_2$ and n/m 1.9-2.2; aggenital area with four pairs of setae, ag_1 and ag_2 on the same platelet and ag_3 and ag_4 on the same platelet; ratio $1a:3a:4a$ 1:1.1-1.2:1 and $c_1-c_1:d_1-d_1:e_1-e_1:f_1-f_1$ 1-1.1:1.2-1.4:1.3-1.6.

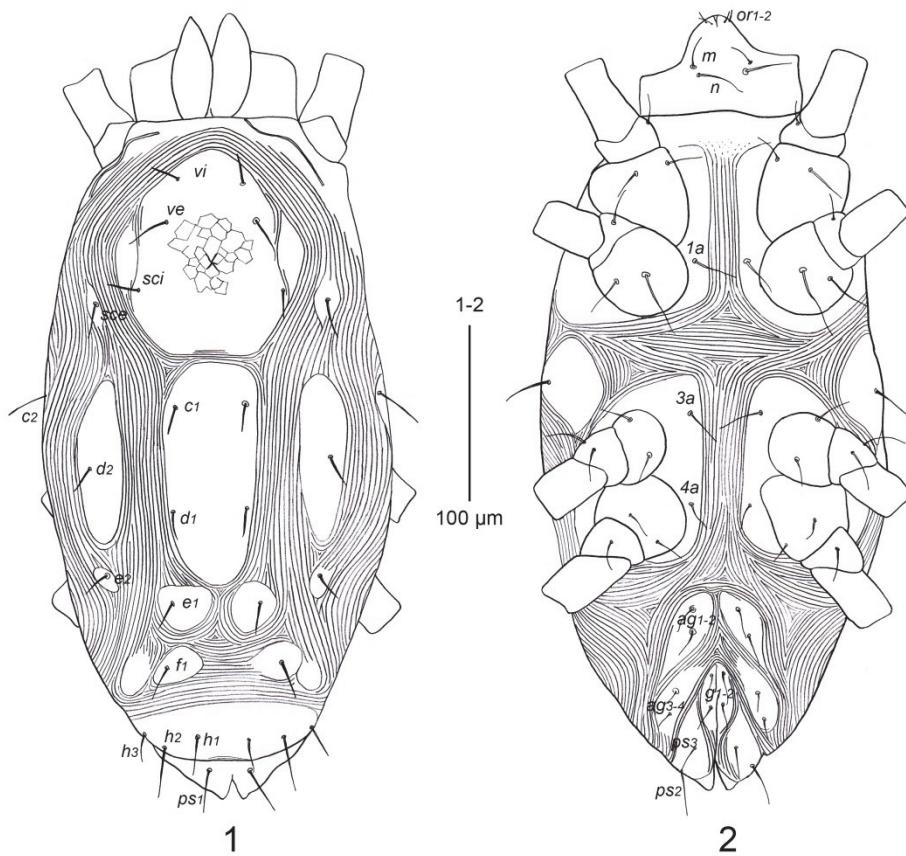
Female (n 9) (Figures 1-8)

Holotype (range of paratypes): Length of body (including gnathosoma) 451 (440-460); width of body 198 (204-231).

Gnathosoma - Length of gnathosoma 64 (61-66); subcapitulum with two pairs of subcapitular setae (m and n), m 21 (21-24), n 40 (41-46) and two pairs of adoral setae, or_1 and or_2 ; distances $m - m$ 32 (30-33), $n - n$ 26 (29-30); ratio $n:m$ 1.9 (1.9-2.2); palp tarsus with 5 simple setae + 1 tridentale eupathidium + 1 solenidion; palp tibia with 2 setae + 1 accessory claw + 1 well-developed claw; palp genu with 1 setae; palp femora with 3 setae; palp trochanter without setae (Figure 7).

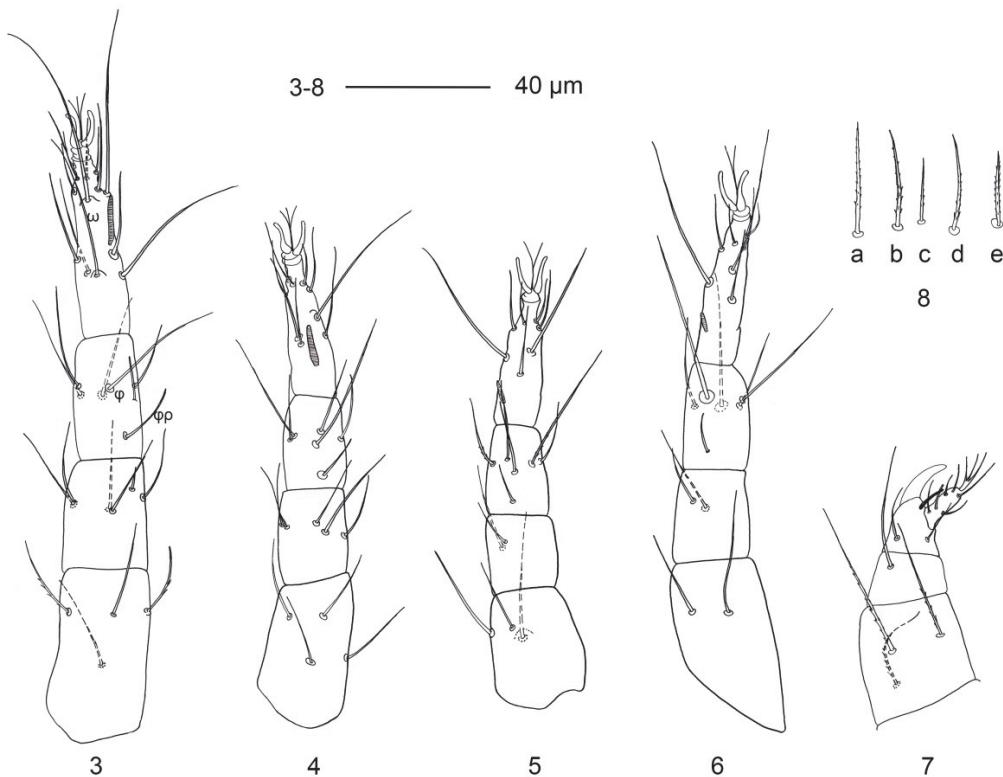
Dorsum (Figure 1) – Propodosomal shield centrally, faintly reticulate with three pairs of setae (*vi*, *ve* and *sci*), eyes and post-ocular bodies absent. Setae *sce* located on small auxiliary shields. Additional a pair of shield without setae next to propodosomal shield. Central shield with two pairs of setae *c*₁ and *d*₁. Setae *c*₂ on humeral shield ventrolaterally. Median zonal shields with one pair of setae *e*₁. Marginal shields with setae *d*₂. Lateral zonal shields with setae *e*₂, Intercalary shields divided, with setae *f*₁. A pair of additional small shield without setae next to intercalary shield. Suranal shield entire, with three pairs of setae *h*₁, *h*₂ and *h*₃. Dorsal body setae faintly spinulate (Figure 8). *h*₂ is the longest dorsal seta, ratio *h*₂>*ve*=*c*₂. Dimensions of setae as follows: *vi* 18 (18-21), *ve* 28 (28-30), *sci* 20 (19-23), *sce* 23 (20-24), *c*₁ 18 (18-21), *c*₂ 28 (25-30), *d*₁ 19 (17-21), *d*₂ 19 (18-21), *e*₁ 18 (18-21), *e*₂ 18 (18-20), *f*₁ 21 (20-25), *h*₁ 22 (22-26), *h*₂ 32 (31-36), *h*₃ 20 (20-23); distances between dorsal setae: *vi*-*vi* 36 (33-41), *ve*-*ve* 50 (48-51), *vi*-*ve* 21 (20-23), *sci*-*sci* 82 (81-88), *sce*-*sce* 131 (139-151), *ve*-*sci* 41 (37-43), *sci*-*sce* 23 (25-32), *c*₁-*c*₁ 39 (43-47), *c*₁-*c*₂ 74 (83-94), *c*₂-*c*₂ 188 (177-219) *c*₁-*d*₁ 59 (57-67), *d*₁-*d*₁ 39 (38-45), *d*₁-*d*₂ 53 (53-67), *d*₁-*e*₁ 51 (49-60), *d*₂-*d*₂ 138 (136-167), *d*₂-*e*₂ 66 (68-78), *e*₁-*e*₁ 49 (47-59), *e*₂-*e*₂ 118 (120-140), *e*₁-*e*₂ 37 (36-55), *e*₁-*f*₁ 33 (30-35), *f*₁-*f*₁ 63 (55-61), *f*₁-*h*₁ 42 (38-42), *h*₁-*h*₁ 26 (24-27), *h*₂-*h*₂ 64 (61-67), *h*₃-*h*₃ 92 (90-97); ratio: *ve*:*sci* 1.4 (1.3-1.5), *c*₂:*c*₁ 1.6 (1.4-1.5). *vi*: *vi*-*vi* 0.5 (0.5), *c*₁: *c*₁-*c*₁ 0.5 (0.4-0.5), *d*₁: *d*₁-*d*₁ 0.5 (0.4-0.5), *e*₁: *e*₁-*e*₁ 0.4 (0.3-0.4), *f*₁: *f*₁-*f*₁ 0.3 (0.4), *h*₁: *h*₁-*h*₁ 0.8 (0.9-1.1), *h*₂: *h*₂-*h*₂ 0.5 (0.5), *h*₁: *h*₂ 0.7 (0.7), *c*₁-*c*₁:*d*₁-*d*₁:*e*₁-*e*₁:*f*₁-*f*₁ 1-1.1:1.2-1.4:1.3-1.6.

Venter (Figure 2) - Ventral cuticle transversely striae between coxisternal shields II-III; coxisternal regions I-II and III-IV are surrounded by longitudinal striae (Figure 2). Lengths of setae: *1a* 26 (25-27), *3a* 31 (29-36), and *4a* 25 (26-28) and ratio *1a*:*3a*:*4a* 1:1.1-1.2:1. Aggenital area with four pairs of setae, *ag*₁ and *ag*₂ on same platelet *ag*₃ and *ag*₄ on other same platelet, *ag*₁ 21 (20-22), *ag*₂ 19 (19-23), *ag*₃ 19 (18-24) and *ag*₄ 20 (19-25); anogenital valves with two pairs of genital setae and three pairs of pseudanal setae. Measurements of setae *g*₁ 25 (20-28), *g*₂ 23 (22-28), *ps*₁ 27 (24-29), *ps*₂ 26 (23-28) and *ps*₃ 25 (20-24).



Figures 1-2. *Stigmaeus ceylani* sp. nov. (female) - 1. dorsal view, 2. ventral view.

Legs (Figures 3-6) - Length of legs: leg I 172 (154-175), leg II 137 (117-138), leg III 132 (115-135), leg IV 153 (138-162). Setal formulae of leg segments as follows: coxae 2+1a-2-2+3a-2+4a, trochanters 1-1-2-1, femora 4-4-3-2, genua 6 κ -5-2-2, tibiae 5+ φ + $\varphi\varphi$ -5+ $\varphi\varphi$ -5+ $\varphi\varphi$ -5+ $\varphi\varphi$, tarsi 13+ ω -9+ ω -7+ ω -7+ ω . Lengths of solenidia: I ω >II ω >III ω >IV ω .



Figures 3-8. *Stigmaeus ceylani* sp. nov. (female) - 3. leg I, 4. leg II, 5. leg III, 6. leg IV, 7. Palp, 8. a) setae h_2 , b) setae c_2 , c) setae vi , d) setae ve e) setae f_1 .

Male (n 7) (Figures 9-15)

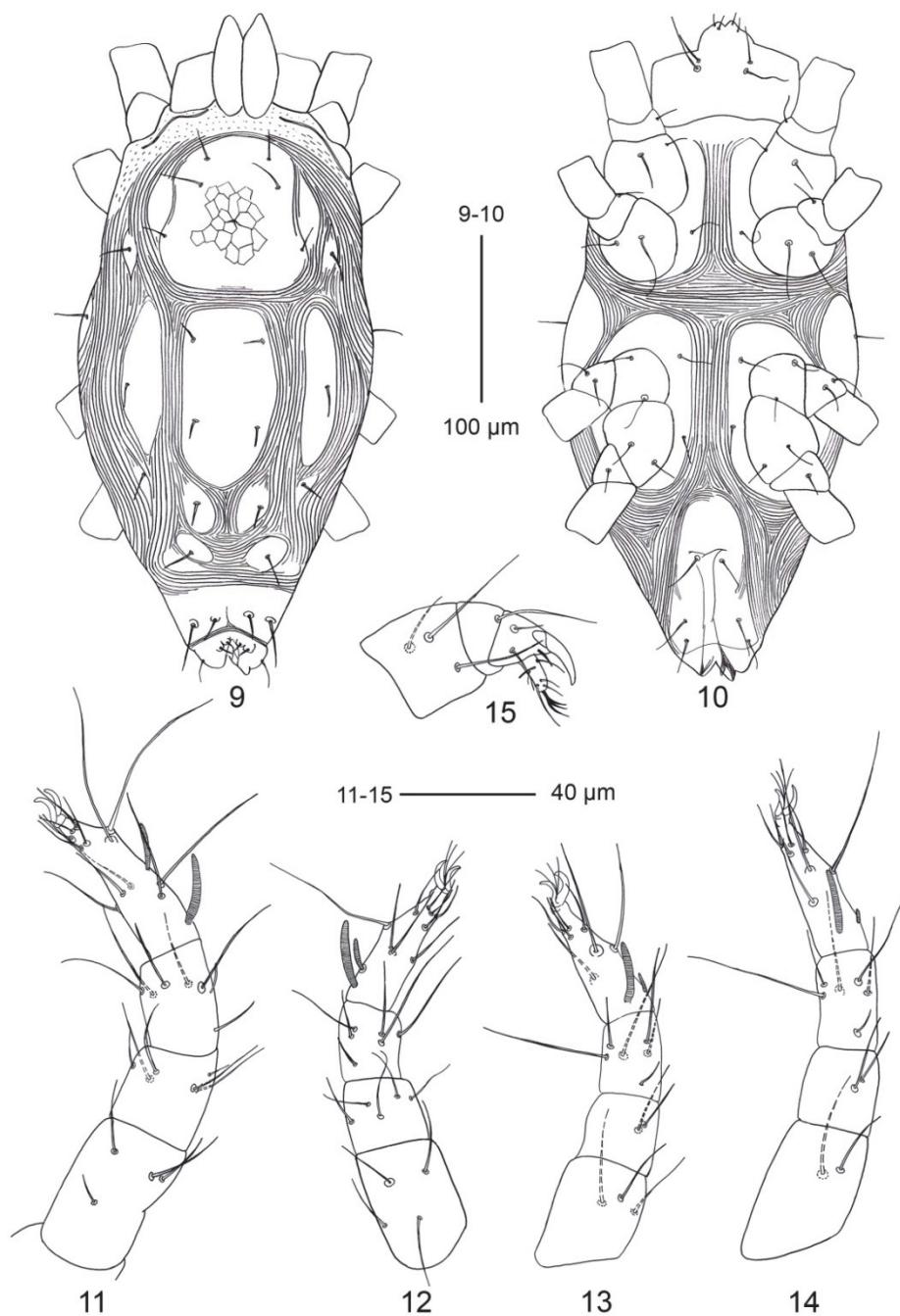
Length of body (including gnathosoma) 375-407; width of body 157-180.

Gnathosoma - Length of gnathosoma 54-59; subcapitulum with two pairs of subcapitular setae (m and n), m 22-24, n 30-37 and two pairs of adoral setae, or_1 and or_2 ; distances $m-m$ 27-32, $n-n$ 22-27; $n:m$ 1.3-1.7; palpal chaetotaxy as in female (Figure 15).

Dorsum (Figure 9) – Propodosomal shield faintly reticulate centrally with three pairs of setae (vi , ve and sci), eyes and post-ocular bodies absent. Setae sce located on small auxiliary shields. Additional a pair of shield without setae next to propodosomal shield. Central shield with two pairs of setae c_1 and d_1 , Setae c_2 on humeral shield ventrolaterally. Median zonal shields with one pair of setae e_1 . Marginal shields with setae d_2 . Lateral zonal shields with setae e_2 , Intercalary shields divided, with setae f_1 . A pair of additional small shield without setae next to intercalary shield. Suranal shield entire, with two pairs of setae h_1 and h_2 . Dorsal body setae faintly spinulate. h_2 is the longest dorsal seta, ratio ve/sci 1.3-1.6. Dimensions of setae as follows: vi 15-18, ve 21-27, sci 16-17, sce 17-19, c_1 13-15, c_2 20-24, d_1 12-13, d_2 14-15, e_1 13-16, e_2 14-15, f_1 15-18, h_1 14-18, h_2 28-31; distances between dorsal setae: $vi-vi$ 31-38, $ve-ve$ 43-47, $vi-ve$ 14-18, $sci-sci$ 72-77, $sce-sce$ 105-121, $ve-sci$ 35-38, $sci-sce$ 17-24, c_1-c_1 34-41, c_1-c_2 62-69, c_2-c_2 143-170, c_1-d_1 49-56, d_1-d_1 32-36, d_1-d_2 41-47, d_1-e_1 37-47, d_2-d_2 105-120, d_2-e_2 49-64, e_1-e_1 30-35, e_2-e_2 84-98, e_1-e_2 28-34, e_1-f_1 25-29, f_1-f_1 40-44, f_1-h_1 33-38, h_1-h_1 17-20, h_2-h_2 39-46; ratio: $vi: vi-vi$ 0.4-0.5, $c_1: c_1-c_1$ 0.4, $d_1: d_1-d_1$ 0.4, $e_1: e_1-e_1$ 0.4-0.5, $f_1: f_1-f_1$ 0.4, $h_1: h_1-h_1$ 0.8-0.9, $h_2: h_2-h_2$ 0.6-0.8, $h_1: h_2$ 0.5-0.6, $c_1-c_1: d_1-d_1$ 1-1.1:1:0.9-1:1.2-1.3.

Venter (Figure 10) – Ventral view similar to that of the female. Lengths of setae: $1a$ 24-26, $3a$ 25-30, and $4a$ 22-25 and ratio $1a:3a:4a$ 1-1.1:1.1-1.3:1. Aggenital area with two pairs of setae, ag_1 20-24, ag_2 18-22 and ag_3 19-20; anogenital valves with three pairs of pseudanal setae. Measurements of setae ps_1 7-8, ps_2 9-10 and ps_3 19-22.

Legs (Figures 11-14) - Length of legs: leg I 151-164, leg II 120-128, leg III 115-129, leg IV 126-149. Setal formulae of leg segments as in female, but tarsi I-IV with two solenidion each.

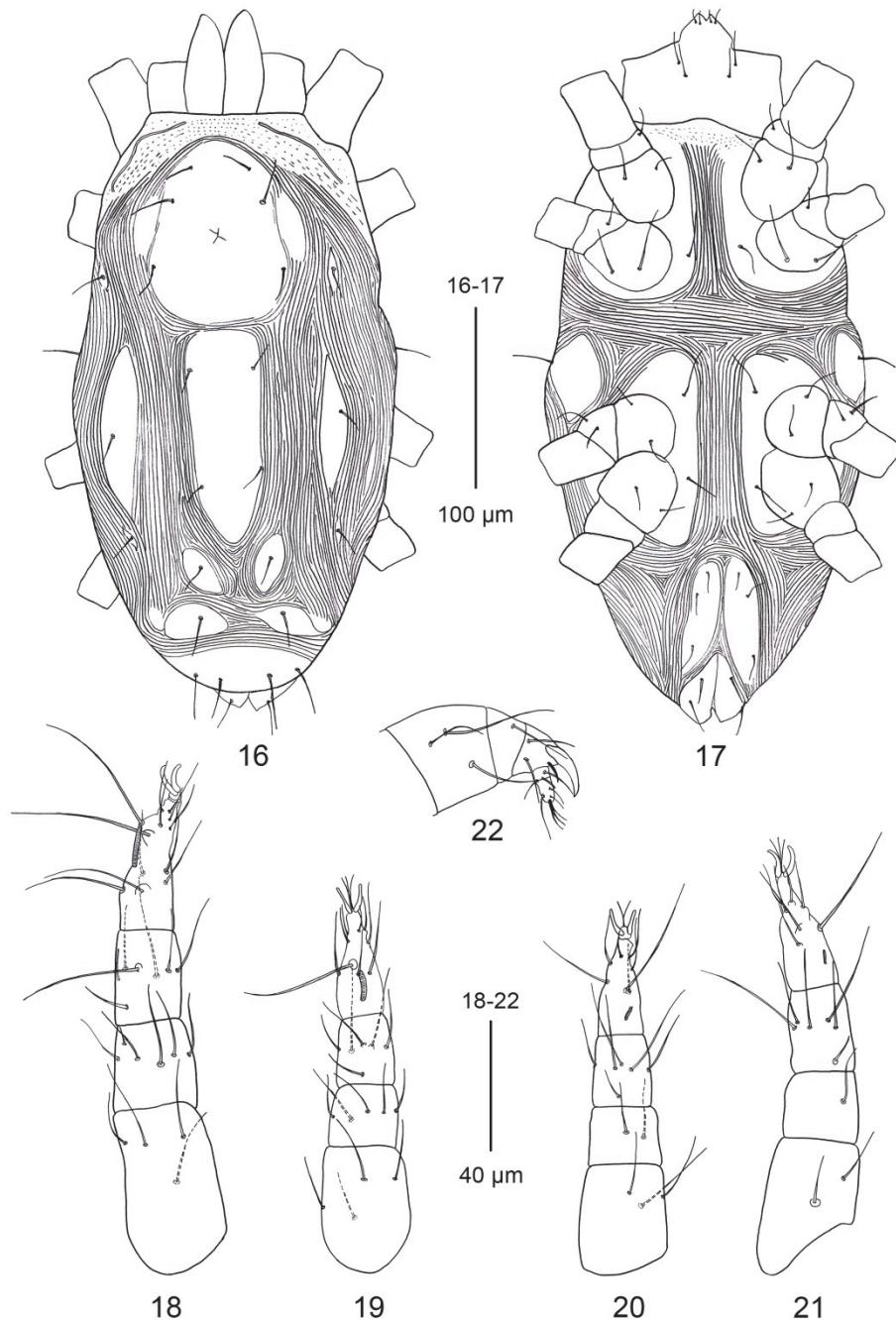


Figures 9-15. *Stigmaeus ceylani* sp. nov. (male) - 9. dorsal view, 10. ventral view, 11. leg I, 12. leg II, 13. leg III, 14. leg IV, 15. Palp.

Deutonymph (n 4) (Figures 16-22)

Length of body (including gnathosoma) 375-405; width of body 173-217.

Gnathosoma - Length of gnathosoma 54-55; subcapitulum with two pairs of subcapitular setae (*m* and *n*), *m* 17-21, *n* 27-30 and two pairs of adoral setae, *or₁* and *or₂*; distances *m-m* 27-29, *n-n* 22-26; palpal chaetotaxy as in female (Figure 22).



Figures 16-22. *Stigmaeus ceylani* sp. nov. (deutonymph) - 16. dorsal view, 17. ventral view, 18. leg I, 19. leg II, 20. leg III, 21. leg IV, 22. Palp.

Dorsum (Figure 16) – Propodosomal shield faintly reticulate centrally with three pairs of setae (*vi*, *ve* and *sci*), eyes and post-ocular bodies absent. Setae *sce* located on small auxiliary shields. Additional a pair of shield without setae next to propodosomal shield. Central shield with two pairs of setae *c₁* and *d₁*, Setae *c₂* on humeral shield ventrolaterally. Median zonal shields with one pair of setae *e₁*. Marginal shields with setae *d₂*. Lateral zonal shields with setae *e₂*, Intercalary shields divided, with setae *f₁*. A pair of additional small shield without setae next to intercalary shield. Suranal shield entire, with three pairs of setae *h₁* and *h₂*. No *h₃* setae. Dorsal body setae faintly spinulate and dorsal setae of deutonymph shorter than those of adult female. Dimensions of setae as follows: *vi* 16-17, *ve* 24-26, *sci* 16-18, *sce* 18-19, *c₁* 14-15, *c₂* 23-24, *d₁* 14-15, *d₂* 14-16, *e₁* 15-16, *e₂* 16-17, *f₁* 19-21, *h₁* 21-23, *h₂* 27-28; distances between dorsal setae: *vi*-*vi* 32-38, *ve*-*ve* 46-49, *vi*-*ve* 17-19, *sci*-*sci* 70-75, *sce*-*sce* 120-136, *sci*-*sce* 23-30, *c₁*-*c₁* 34-40, *c₁*-*c₂* 69-93, *c₂*-*c₂* 167-196, *c₁*-*d₁* 53-58, *d₁*-*d₁* 33-37, *d₁*-*d₂* 55-59, *d₁*-*e₁* 42-49, *d₂*-*d₂* 117-146, *d₂*-*e₂* 62-71, *e₁*-*e₁* 36-46, *e₂*-*e₂* 99-134, *e₁*-*e₂* 30-43, *e₁*-*f₁* 28-29, *f₁*-*f₁* 41-46, *f₁*-*h₁* 29-38, *h₁*-*h₁* 22-24, *h₂*-*h₂* 51-54, *h₁*-*h₂* 13-14.

Venter (Figure 17) - Ventral view similar to that of the female. Lengths of setae: *1a* 20-21, *3a* 23-26, and *4a* 18-22. Aggenital area with three pairs of setae, *ag₁* and *ag₂* on same platelet, *ag₁* 15-17, *ag₂* 15-16 and *ag₃* 15-16; anogenital valves with three pairs of pseudanal setae. Measurements of setae *ps₁* 19-21, *ps₂* 19-21 and *ps₃* 18-19.

Legs (Figures 18-21) - Length of legs: leg I 143-150, leg II 110-115, leg III 107-109, leg IV 120-124. Setal formulae of leg segments as follows: coxae 2+1a-2-2+3a-2+4a, trochanters 1-1-2-0, femora 4-4-3-2, genua 5+k-5-2-1, tibiae 5+φ+φφ-5+φφ-5+φφ-5+φφ, tarsi 13+ω-9+ω-7+ω-7+ω.

Protonymph (n 6) (Figures 23-29)

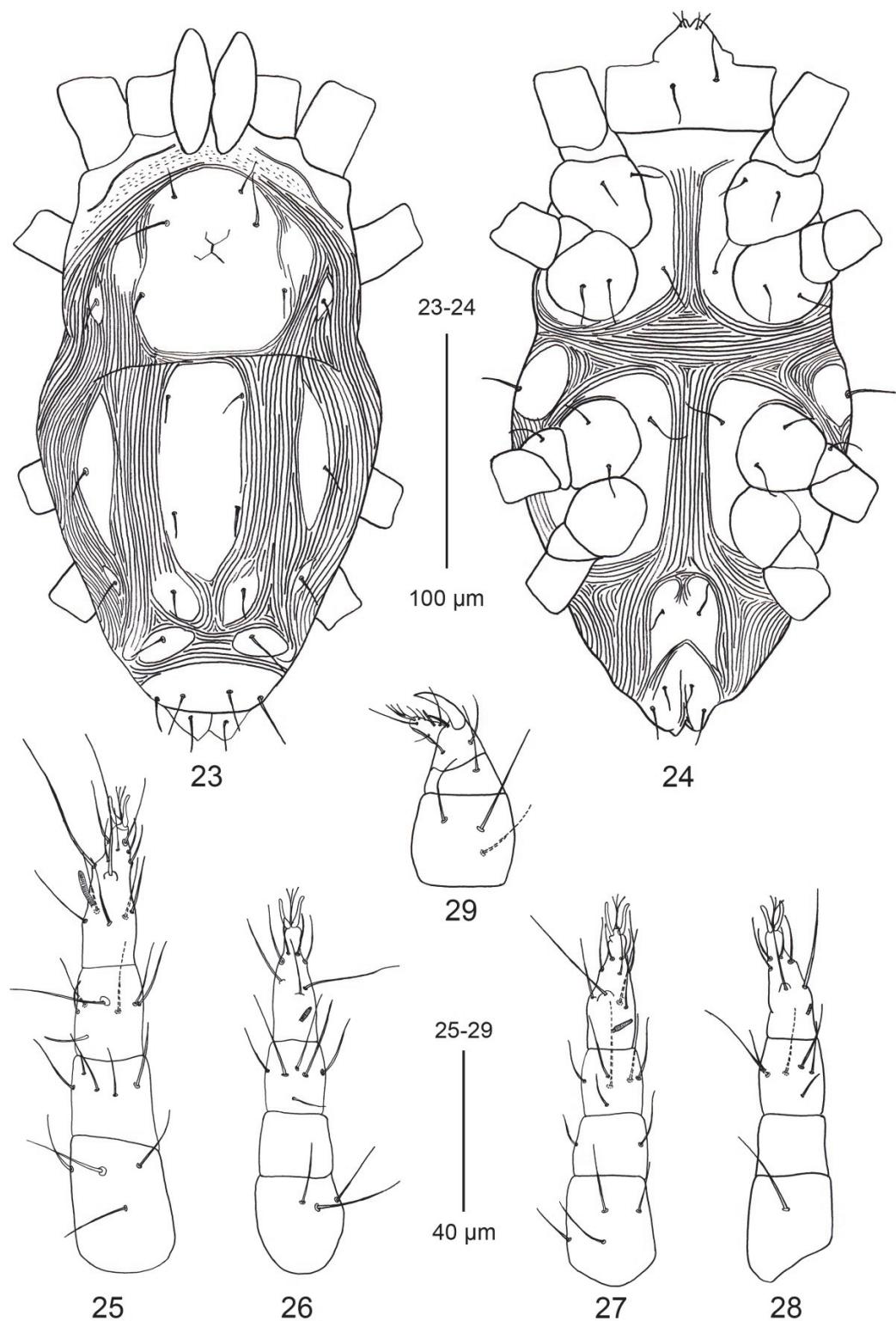
Length of body (including gnathosoma) 271-320; width of body 125-166.

Gnathosoma - Length of gnathosoma 47-49; subcapitulum with one pairs of subcapitular setae *n* 15-18 and two pairs of adoral setae, *or₁* and *or₂*; distances *n*-*n* 18-22; palpal chaetotaxy as in female (Figure 29).

Dorsum (Figure 23) – Propodosomal shield faintly reticulate centrally with three pairs of setae (*vi*, *ve* and *sci*), eyes and post-ocular bodies absent. Setae *sce* located on small auxiliary shields. Additional a pair of shield without setae next to propodosomal shield. Central shield with two pairs of setae *c₁* and *d₁*, Setae *c₂* on humeral shield ventrolaterally. Median zonal shields with one pair of setae *e₁*. Marginal shields with setae *d₂*. Lateral zonal shields with setae *e₂*, Intercalary shields divided, with setae *f₁*. Suranal shield entire, with two pairs of setae *h₁* and *h₂*. No *h₃* setae. Dorsal body setae spinulate and dorsal setae of protonymph shorter than those of deutonymph and adult female. Dimensions of setae as follows: *vi* 11-14, *ve* 18-24, *sci* 13-16, *sce* 12-16, *c₁* 12-14, *c₂* 17-22, *d₁* 10-13, *d₂* 11-14, *e₁* 13-15, *e₂* 13-16, *f₁* 16-20, *h₁* 17-21, *h₂* 17-24; distances between dorsal setae: *vi*-*vi* 22-28, *ve*-*ve* 34-42, *vi*-*ve* 11-14, *sci*-*sci* 56-64, *sce*-*sce* 93-109, *ve*-*sci* 29-33, *sci*-*sce* 17-22, *c₁*-*c₁* 28-32, *c₁*-*c₂* 54-61, *c₂*-*c₂* 117-151 *c₁*-*d₁* 44-50, *d₁*-*d₁* 23-30, *d₁*-*d₂* 35-47, *d₁*-*e₁* 32-38, *d₂*-*d₂* 84-114, *d₂*-*e₂* 48-56, *e₁*-*e₁* 23-35, *e₂*-*e₂* 60-92, *e₁*-*e₂* 18-28, *e₁*-*f₁* 17-22, *f₁*-*f₁* 31-39, *f₁*-*h₁* 16-25, *h₁*-*h₁* 17-18, *h₂*-*h₂* 37-43, *h₁*-*h₂* 10-11.

Venter (Figure 24) - Ventral view similar to that of the female. Lengths of setae: *1a* 17-19 and *3a* 20-21. No *4a* setae. Aggenital area with one pairs of setae, *ag₁* 11-13; anogenital valves with three pairs of pseudanal setae. Measurements of setae *ps₁* 12-16, *ps₂* 12-16 and *ps₃* 11-15.

Legs (Figures 25-28) - Length of legs: leg I 113-125, leg II 88-98, leg III 87-95, leg IV 91-106. Setal formulae of leg segments as follows: coxae 2+1a-2-2+3a-0, trochanters 0-0-1-0, femora 4-4-3-1, genua 4+k-2-0-0, tibiae 5+φ+φφ-5+φφ-5+φφ-5+φφ, tarsi 13+ω-9+ω-7+ω-6+ω.

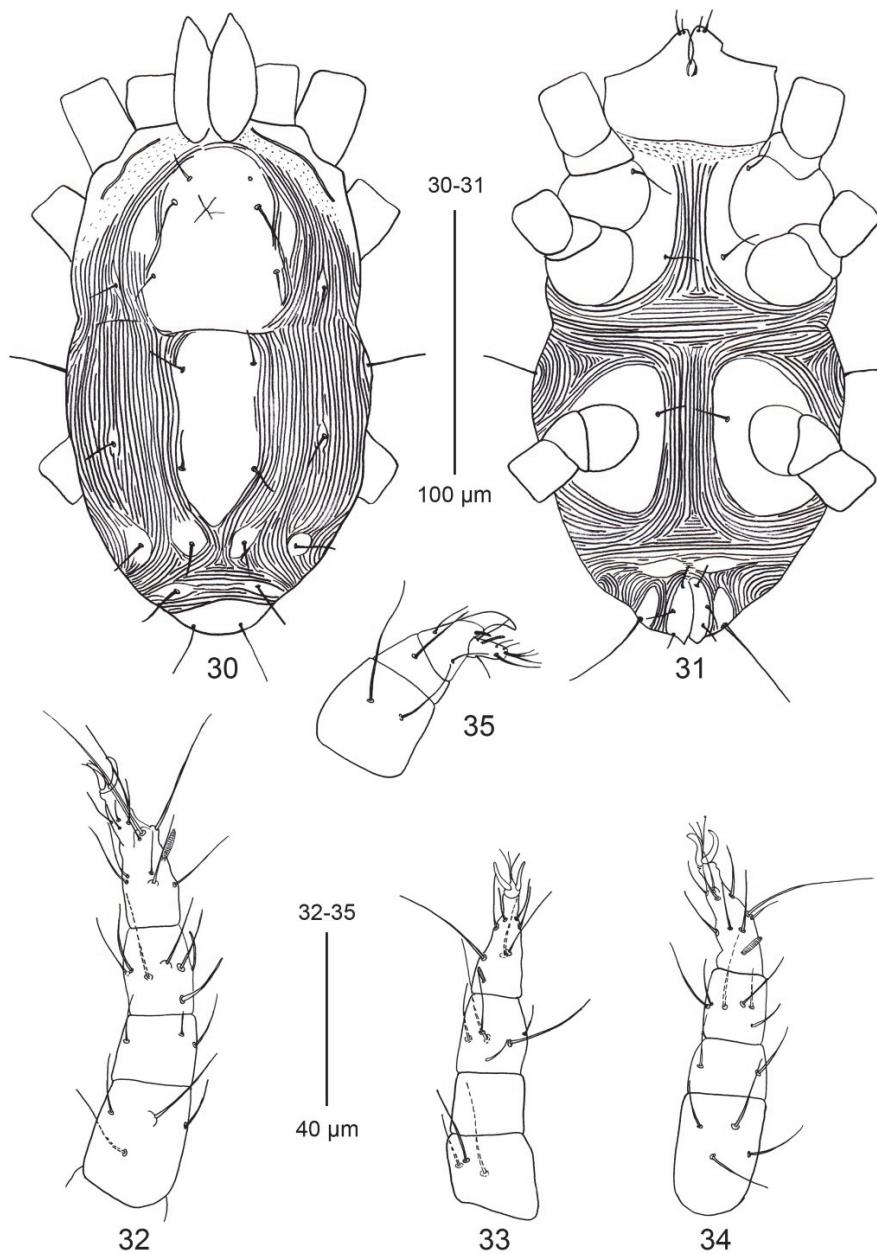


Figures 23-29. *Stigmaeus ceylani* sp. nov. (protonymph) - 23. dorsal view, 24. ventral view, 25. leg I, 26. leg II, 27. leg III, 28. leg IV, 29. Palp.

Larvae (n 5) (Figures 30-35)

Length of body (including gnathosoma) 202-370; width of body 110-155.

Gnathosoma - Length of gnathosoma 43-45; subcapitulum without subcapitular setae *n* and *m* and with two pairs of adoral setae, *or₁* and *or₂*; palp tarsus with 5 simple setae + 1 tridentale eupathidium + 1 solenidion; palp tibia with 2 setae + 1 accessory claw + 1 well-developed claw; palp genu with 1 setae; palp femora with 2 setae; palp trochanter without setae (Figure 35).



Figures 30-35. *Stigmaeus ceylani* sp. nov. (larva) - 30. dorsal view, 31. ventral view, 32. leg I, 33. leg II, 34. leg III, 35. Palp.

Dorsum (Figure 30) – Propodosomal shield faintly reticulate centrally with three pairs of setae (*vi*, *ve* and *sci*), eyes and post-ocular bodies absent. Setae *sce* located on small auxiliary shields. Additional a pair of shield without setae next to propodosomal shield. Central shield with two pairs of setae *c₁* and *d₁*. Setae *c₂* ventrolaterally. Median zonal shields with one pair of setae *e₁*. Marginal shields with setae *d₂*. Lateral zonal shields with setae *e₂*. Intercalary shields divided, with setae *f₁*. Suranal shield entire, with two pairs of setae *h₁* and *h₂*. No *h₃* setae. Dimensions of setae as follows: *vi* 13-14, *ve* 23-27, *sci* 14-16, *sce* 14-17, *c₁* 13-15, *c₂* 18-24, *d₁* 13-14, *d₂* 13-14, *e₁* 13-15, *e₂* 13-15, *f₁* 21-23, *h₁* 25-30, *h₂* 46-56; distances between dorsal setae: *vi*-*vi* 22-28, *ve*-*ve* 29-36, *vi*-*ve* 8-10, *sci*-*sci* 46-51, *sce*-*sce* 80-106, *ve*-*sci* 26-29, *sci*-*sce* 17-27, *c₁*-*c₁* 25-27, *c₁*-*c₂* 39-66, *c₂*-*c₂* 104-144, *c₁*-*d₁* 38-42, *d₁*-*d₁* 22-26, *d₁*-*e₁* 26-35, *d₂*-*d₂* 76-121, *d₂*-*e₂* 42-52, *e₁*-*e₁* 19-37, *e₁*-*f₁* 13-23, *f₁*-*h₁* 10-22, *h₁*-*h₁* 15-20, *h₂*-*h₂* 24-37.

Venter (Figure 31) - Ventral view similar to that of the female. Lengths of setae: *1a* 18-23, and *3a* 19-25. No *4a* setae. Aggenital area without setae and with anogenital valves with three pairs of pseudanal setae. Measurements of setae *ps₁* 7-10, *ps₂* 11-12 and *ps₃* 8-10.

Legs (Figures 32-34) – Three pairs of legs. Length of legs: leg I 96-111, leg II 77-88, leg III 83-93. Setal formulae of leg segments as follows: coxae 1+1a-0-0+3a, trochanters 0-0-0, femora 4-4-3, genua 2+k-2-0, tibiae 5+φ+φρ-5+φρ-5+φρ, tarsi 13+ω-9+ω-7+ω.

Type Materials

Hatay: İskenderun, 9m, 36° 33' 649" N, 36° 07' 777" E, 30.V.2014, holotype female, from litter and soil under *Punica granatum*. 9 ♀♀, 7 ♂♂, 4 deutonymphs, 6 protonymphs and 5 larvae with the same data.

Etymology

The species is named after Prof. Dr. Ebubekir Ceylan, rector of Hakkari University, Hakkari, Turkey.

Remarks

This new species resembles to *S. shabestariensis* in that it has additional a pair of shield without setae next to propodosomal shield; without eyes; faintly spinulate dorsal seta and similar leg setae chaetotaxy (Haddad Irani-Nejat et al., 2010). But *S. ceylani* can be easily distinguished in that its dorsal setae are longer than those of *S. shabestariensis* (Table 1); propodosomal shield with centrally, faintly reticulate and other dorsal shields smooth (*S. shabestariensis* with all dorsal shields distinctively reticulate); *h₂*>*ve*=*c₂* (in *S. shabestariensis* *h₂*>*ve*>*c₂*); ratio *n/m* 1.9-2.2, *c₂*/*c₁* 1.4-1.6, *c₁*/*c₁*-*c₁* 0.4-0.5, *d₁*/*d₁*-*d₁* 0.4-0.5 and *1a*:*3a*:*4a* 1:1.1-1.2:1 (in *S. shabestariensis* *n/m* 1.5, *c₂*/*c₁* 1, *c₁*/*c₁*-*c₁* 0.2-0.4, *d₁*/*d₁*-*d₁* 0.3 and *1a*:*3a*:*4a* 1.2-1.3:1.3-1.6:1.2-1.9) (Haddad Irani-Nejat et al., 2010).

Stigmaeus ceylani sp. nov. resembles *S. cariae* but it can be distinguished from it in that its suranal shield entire (in *S. cariae* suranal shield is divided); with a pair of additional small shield without setae next to propodosomal shield (*S. cariae* is without additional small shield); aggenital shield is divided, *ag₁* and *ag₂* on the same platelet and *ag₃* and *ag₄* on the same platelet (in *S. cariae* aggenital shield entire and *ag₁*, *ag₂*, *ag₃* and *ag₄* on the same platelet); genua 6k-5-2-2, tarsi II 9+ω (in *S. cariae* genua 6k-2-0-1, tarsi II 8+ω); its dorsal setae are different from that of *S. cariae* (Table 1); *h₂*>*ve*=*c₂* (in *S. cariae* *c₂*>*ve*>*h₂*); ratio *c₂*/*c₁* 1.4-1.6, *ve*/*vi* 1.4-1.6, *ve*/*sci* 1.3-1.5 and *sce*/*sci* 1-1.2 (in *S. cariae* ratio *c₂*/*c₁* 3.2-3.3, *ve*/*vi* 3.1-3.5, *ve*/*sci* 2.4-2.7 and *sce*/*sci* 2.4) (Khanjani et. al., 2012).

Stigmaeus ceylani sp. nov. resembles *S. kermanshahiensis* but it can be distinguished from it in that its suranal shield is entire (in *S. kermanshahiensis* suranal shield divided); aggenital shield is divided, *ag₁* and *ag₂* are on the same platelet and *ag₃* and *ag₄* on the same platelet (in *S. kermanshahiensis* *ag₁* and *ag₂* on the same platelet and *ag₃* and *ag₄* on the same platelet); ratio *c₂*/*c₁* 1.4-1.6, *ve*/*vi* 1.4-1.6, *ve*/*sci* 1.3-1.5 and *sce*/*sci* 1-1.2 (in *S. kermanshahiensis* ratio *c₂*/*c₁* 3.2-3.3, *ve*/*vi* 3.1-3.5, *ve*/*sci* 2.4-2.7 and *sce*/*sci* 2.4) (Khanjani et. al., 2012).

kermanshahiensis aggenital shield entire and ag_1 , ag_2 , ag_3 and ag_4 on the same platelet); genua 6k-5-2-2, tarsi II 9+ ω (in *S. kermanshahiensis* genua 6k-3-0-2, tarsi II 8+ ω); its dorsal setae are different from that of *S. kermanshahiensis* (Table 1); $h_2 > ve = c_2$ (in *S. kermanshahiensis* $c_2 > sce > ve$); ratio c_2/c_1 1.4-1.6, ve/vi 1.4-1.6, ve/sci 1.3-1.5, sce/sci 1-1.2, h_1/h_2 0.7, $c_1: c_1-c_1$ 0.4-0.5, $d_1: d_1-d_1$ 0.4-0.5, $e_1: e_1-e_1$ 0.3-0.4, $f_1: f_1-f_1$ 0.3-0.4, (in *S. kermanshahiensis* ratio c_2/c_1 2.2, ve/vi 3.3-3.6, ve/sci 2.7-2.9 and sce/sci 2.9-3.0, h_1/h_2 1-1.1, $c_1: c_1-c_1$ 0.9-1.1, $d_1: d_1-d_1$ 0.9-1.1, $e_1: e_1-e_1$ 0.6-0.7, $f_1: f_1-f_1$ 0.9-1.2) (Khanjani et al., 2012).

Stigmaeus ceylani sp. nov. also resembles *S. additicus* but it can be distinguished in that it is without eyes (in *S. additicus* a pair of eyes located between setae ve and sci); its dorsal setae different from that of *S. additicus* (Table 1); length of body (including gnathosoma) 440-460 (in *S. additicus* length of body 350-388); propodosomal shield faintly reticulate and other dorsal shields smooth (*S. additicus* with reticulate on dorsal and ventral shields); in *S. additicus* suranal shield recessed anteriorly; aggenital shield divided, ag_1 and ag_2 on the same platelet and ag_3 and ag_4 on the same platelet (in *S. additicus* aggenital shield entire and ag_1 , ag_2 , ag_3 and ag_4 on the same platelet); ratio n/m 1.9-2.2 (in *S. additicus* ratio n/m 1.3); setae sce located on the auxiliary shields and setae e_2 located on the lateral zonal shields (in *S. additicus* setae sce and e_2 located on the striated integument) (Dönel & Doğan, 2011).

Table 1. Dorsal setal length variations in three species: *S. shabestariensis* (A), *S. cariae* (B), *S. kermanshahiensis* (C), *S. additicus* (D) and *S. ceylani* (E)

	vi	ve	sci	sce	c_1	c_2	d_1	d_2	e_1	e_2	f_1	h_1	h_2	h_3
A	17-19	19-20	17-19	19-22	10-15	16-21	12-14	13-15	14-16	10-14	16-19.	19-23	28-31	18-21
B	13-14	44-45	18	44-49	17	54-56	16-18	31-36	20-21	18-19	33	24-26	24-28	13-15
C	17-18	60-62	21-23	62-67	30-32	67-70	28-33	53-55	30-32	27-32	44-50	36	33-35	19
D	13-15	18-20	15-18	13-15	13-15	18-20	13-15	13-15	13-15	13-18	13-18	13-15	23-28	15-18
E	18-21	28-30	19-23	20-24	18-21	25-30	17-21	18-21	18-21	18-20	20-25	22-25	31-36	20-23

References

- Akyol, M. & K. Koç, 2007. Four new species of the genus *Stigmaeus* (Acari: Stigmeidae) from Turkey. Archives des Sciences, 60: 41-50.
- Akyol, M. & K. Koç, 2010. Contributions to the raphignathoid fauna of Turkey, with a description of a new species of *Cryptognathus* Kramer (Acari: Actinedida: Raphignathoidea). Turkish Journal of Zoology, 34(2): 159-167.
- Bagheri, M., H. Ghorbani, E. A. Ueckermann, R. N. Bonab, S. Saber & A. Mehrvar, 2012. *Stigmaeus maraghehiensis*, a new species of the genus *Stigmaeus* Koch (Acari: Stigmeidae) from northwest Iran. International Journal of Acarology, 38(1): 35-39.
- Doğan, S., 2007. Checklist of raphignathoid mites (Acari: Raphignathoidea) of Turkey. Zootaxa, 1454: 1-26.
- Doğan, S. & N. Ayyıldız, 2003a. New species of *Eustigmaeus* Berlese, 1910 (Acari: Stigmeidae) from Turkey. Journal of Natural History, 37 (17): 2113-2117.
- Doğan, S. & N. Ayyıldız, 2003b. *Stigmaeus kamili*, a new species of the genus *Stigmaeus* (Acari: Stigmeidae) from Turkey with new data of other stigmeid mites. Archives des Sciences, 56: 1-10.
- Doğan, S., G. Dönel & S. Özçelik, 2011. A new eyeless mite species of the genus *Eustigmaeus* Berlese (Acari: Stigmeidae) from Turkey. Turkish Journal of Zoology, 35: 175-181.
- Dönel, G. & S. Doğan, 2011. The stigmeid mites (Acari: Stigmeidae) of Kelkit Valley (Turkey). Zootaxa, 2942: 1-56.
- Grandjean, F., 1944. Observations sur les Acariens de la famille des Stigmeidae. Archives des Sciences physiques et naturelles, 26: 103-131.
- Haddad Irani-Nejad, K., P. Lotfollahi, A. Akbari, M. Bagheri & E. A. Ueckermann, 2010. A new species of stigmeid mites from east Azerbaijan, Iran (Acari: Prostigmata: Stigmeidae). Munis Entomology & Zoology, 5 (2): 369-373.

- Kethley, J., 1990. "Acarina: Prostigmata (Actinedida), 667-756". In: Soil Biology Guide (Ed.: D.L. Dindal). John Wiley and Sons, New York.
- Khanjani, M., S. Pishehvar, A. N. Mirmoayedi & M. Khanjani, 2012. Two new eyeless mite species of the genus *Stigmaeus* Koch (Acarı: Stigmeidae) from western provinces of Iran and description of the male *Stigmaeus pilatus* Kuznetsov. International Journal of Acarology, 38 (6): 504-513.
- Nazari, A., M. Khanjani & K. Kamali, 2012. Two new eyeless mite species from the western provinces of Iran: *Stigmaeus ladanae* n. sp. and *Stigmaeus nasrinae* n.sp. (Acarı: Stigmeidae). Acarologia, 52 (2): 173-182.
- Noei, J., J. Hajizadeh, L. Salehi, H. Ostovan & F. Faraji, 2007. Stigmeid mites associated with stored rice in northern Iran (Acarı: Stigmeidae). International Journal of Acarology, 33 (2): 153-156.
- Oudemans, A.C., 1931. Acarologische aanteekeningen CVIII. Entomologische Berichten Amsterdam, 8(179): 251-263.
- Özçelik, S. & S. Doğan, 2011. A systematic investigation on stigmeid mites (Acarı: Stigmeidae) of Uzunoluk forest (Erzurum, Turkey). Turk. Entomol. Derg. 35(4): 699-719 (in Turkish with English abstract).
- Ueckermann, E.A. & M. K. P. Meyer, 1987. Afrotropical Stigmeidae (Acarı: Prostigmata). Phytophylactica, 19: 371-397.
- Uluçay, İ. & K. Koç, 2014. A new record for the Turkish fauna: *Eustigmaeus dogani* (Acarı: Stigmeidae). Persian Journal of Acarology, 3 (2): 137-143.
- Yeşilayer, A. & S. Çobanoğlu, 2013. Determination of Raphignathoid mites (Acarı: Prostigmata: Raphignathoidea) ornamental plants of Istanbul (Turkey). Turkish Journal of Entomology, 37(1): 93-103 (in Turkish with English abstract).

Orijinal araştırma (Original article)

The Tipulidae (Diptera) fauna of the Marmara region, with nine new records and one new genus record (*Tanyptera Latreille, 1804*) for Turkey

Türkiye için dokuz kayıt ve bir cins (*Tanyptera Latreille, 1804*) kaydı ile birlikte Marmara Bölgesi'nin Tipulidae (Diptera) faunası¹

Hasan KOÇ^{2*}

Okan ÖZGÜL³

Abdullah HASBENLİ⁴

Summary

The study was conducted in the Marmara region, which forms a passage between the Balkan peninsula and Anatolia from June 2008 to April 2011. In this study, a total of 64 taxa belong to Tipulidae were detected. Among these, *Tanyptera* (s.str.) *atrata atrata* (Linnaeus, 1758), *Tipula* (*Acutipula*) *balcanica* Vermoolen, 1983, *Tipula* (*A.*) *vittata* Meigen, 1804, *Tipula* (*Lunatipula*) *caudatula* Loew, 1872, *Tipula* (*L.*) *hera* Theischinger, 1979, *Tipula* (*L.*) *pannonia jordansi* Mannheims, 1954, *Tipula* (*L.*) *selene* Meigen, 1830, *Tipula* (*Pterelachisus*) *pseudovariipennis* Czizek, 1912 and *Tipula* (*Savtshenkia*) *benesignata* Mannheims, 1954 were recorded for the first time from the Turkish fauna. The genus *Tanyptera* Latreille, 1804 was also recorded for the first time in Turkey.

Key words: Diptera, Tipulidae, Marmara Region, fauna, new records.

Özet

Balkan Yarımadası ve Anadolu arasında geçit özelliğine sahip olan Marmara Bölgesi'nde Haziran 2008 ve Nisan 2011 arasında yapılan bu çalışmada Tipulidae'ye ait toplam 64 takson tespit edilmiştir. Bunlardan, *Tanyptera* (s.str.) *atrata atrata* (Linnaeus, 1758), *Tipula* (*Acutipula*) *balcanica* Vermoolen, 1983, *Tipula* (*A.*) *vittata* Meigen, 1804, *Tipula* (*Lunatipula*) *caudatula* Loew, 1872, *Tipula* (*L.*) *hera* Theischinger, 1979, *Tipula* (*L.*) *pannonia jordansi* Mannheims, 1954, *Tipula* (*L.*) *selene* Meigen, 1830, *Tipula* (*Pterelachisus*) *pseudovariipennis* Czizek, 1912 ve *Tipula* (*Savtshenkia*) *benesignata* Mannheims, 1954 Türkiye faunası için ilk kez kaydedilmektedir. Bunlara ek olarak, *Tanyptera* Latreille, 1804 cinsi de Türkiye için ilk kayıttır.

Anahtar sözcükler: Diptera, Tipulidae, Marmara Bölgesi, fauna, yeni kayıtlar.

¹ A part of this study was presented as a poster presentation at the 20th National Biology Congress of Turkey (21-25 June 2010, Denizli, Turkey). This study is a part of a project funded by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) (Project No: 107T678)

² Muğla Sıtkı Koçman University, Science Faculty, Biology Department, Muğla, Turkey

³ Muğla Sıtkı Koçman University, Ula Ali Kocman Vocational High School, Ula, Muğla, Turkey

⁴ Gazi University, Science Faculty, Biology Department, Teknikokullar, Ankara, Turkey

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: khasan@mu.edu.tr

Alınış (Received): 19.12.2014 Kabul ediliş (Accepted): 06.03.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 22.04.2015

Introduction

Tipulid larvae have a life-span of one year or longer and generally live in semi-aquatic or terrestrial environments. Their adults have a short life span and are located in the moist and shady parts of forests, where they feed on plant sap and nectar. Adults are easily distinguished from the other families of Tipuloidea with their long and fragile legs, wing vascularity, elongated final palp segment and missing ocell eyes. Its medium-sized body varies from 10 mm to 30 mm (Mannheims & Theowald, 1980; Oosterbroek & Theowald, 1992).

Tipulidae is one of the largest families of Diptera with 4283 recognized taxa. In the Palearctic region, 1332 taxa belonging to 17 genera and 33 subgenera are recognized (Oosterbroek, 2015). 10 genera and approximately 470 taxa are known in Europe (Oosterbroek, 2006).

In recent years, important changes have occurred in the number of known Tipulidae taxa in Turkey and its neighbors. The most significant increase has occurred in Turkey, with 22 taxa having been added to the fauna list since 2001. The number of known taxa in Turkey has increased from 130 (Koç & Oosterbroek, 2001) to 152 (Oosterbroek, 2015) (Table 1).

Table 1. Number of Tipulid taxa in Turkey and neighbouring countries in 2001 and 2015

Tipulidae	TURKEY	COUNTRIES								
		Greek	Bulgaria	Azerbaijan	Armenia	Georgia	Iran	Iraq	Syria	
Taxa numbers	2001	130	163	56	52	59	67	28	-	8
	2015	152	169	74	62	57	76	30	-	10

Material and Methods

The Marmara region consists of 11 provinces including Balıkesir (Ba), Bilecik (Bi), Bursa (Bu), Çanakkale (Ça), Edirne (Ed), İstanbul (İs), Kırklareli (Kİ), Kocaeli (Ko), Sakarya (Sa), Tekirdağ (Te) and Yalova (Ya) (Fig. 1). The Marmara region is between the continents of Europe and Asia and serves as a passage between the Balkan Peninsula and Anatolia.

Adult Tipulidae samples were collected from aquatic and semi-aquatic areas, forests, sandy areas, meadows, shrubbery steppes and unnatural habitats located in the research area as classified by Pollet (2000).

Adult samples were generally collected using a 40 cm diameter hand net with sweeping method and rarely by light trap. Genital preparations of some samples were performed in the laboratory. Genitals were placed in small capsules filled with glycerin and attached to pinned the specimens. All specimens were preserved by drying and deposited in the Collection of the Zoological Laboratory of the Department of Biology, Muğla Sıtkı Koçman University, Muğla, Turkey (ZMMU).



Figure. 1. Study areas in Turkey.

Results

A total of 183 days field study was performed in the Marmara region with the purpose of collecting adult Tipulidae samples. A total of 5721 samples, including 3870 males, were collected. According to the identification results, a total of 64 taxa were determined (Table 2).

Table 2. The distribution and number of Tipulidae samples collection of the Marmara region during June 2008 to April 2011

Species and Subspecies	Notes	Provinces
1. <i>Tanyptera</i> (s.str.) <i>atrata</i> <i>atrata</i> (Linnaeus, 1758)	NT, e, W, E	Kı
2. <i>Dolichopeza</i> (s.str.) <i>graeca</i> Mannheims, 1954	NM, a, W	Bu, Ça, Ko
3. <i>Nephrotoma</i> <i>analís</i> Schummel, 1833	NM, a, W, E	Bi, Bu, Ça, İs, Kı, Ko, Sa
4. <i>N. appendiculata</i> <i>appendiculata</i> (Pierre, 1919)	NM, a, e, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Ed, İs, Kı, Ko, Sa, Te
5. <i>N. cornicina</i> <i>cornicina</i> Linnaeus, 1758	NM, a, W, E	Ba, Bi, Bu, Ça, Kı, Ko, Sa, Ya
6. <i>N. croceiventris</i> <i>lindneri</i> (Mannheims, 1951)	NM, a, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Ed, Kı, Te
7. <i>N. guestfalica</i> <i>guestfalica</i> (Westhoff, 1879)	a, e, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Sa, Ya
8. <i>N. nasuta</i> Oosterbroek, 1975	en, t, a, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Kı
9. <i>N. quadrifaria</i> <i>quadrifaria</i> (Meigen, 1804)	a, e, W	Bi, Bu, Ça, Kı, Ko, Sa, Ya
10. <i>N. scalaris</i> scalaris Meigen, 1818	a, e, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Ed, İs, Kı, Ko, Sa, Te, Ya
11. <i>N. theowaldi</i> Oosterbroek, 1978	NM, t, a, e, W	Ba, Bu, Ça, Ed, Kı, Ko, Sa, Te
12. <i>Tipula</i> (<i>Acutipula</i>) <i>aktashi</i> Koc, Hasbenli & de Jong, 1998	t, e, W	Bu, Kı
13. <i>T. (A.) balcanica</i> Vermoolen, 1983	NT, a, e, W	Kı, Sa
14. <i>T. (A.) fulvipennis</i> De Geer, 1776	a, W, E	Ba, Bu, Ça, Kı, Ko
15. <i>T. (A.) latifurca</i> Vermoolen, 1983	a, e, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Kı, Ko, Sa
16. <i>T. (A.) vittata</i> Meigen, 1804	NT, e, W	Kı
17. <i>T. (Dentrotipula) flavolineata</i> Meigen, 1804	NM, a, W, E	Bu
18. <i>T. (Lunatipula) adapazariensis</i> Theischinger, 1987	en, t, a, W	Sa

Table 2. (Continued)

<i>Species and Subspecies</i>	Notes	Provinces
19. <i>T. (L.) borysthenica</i> Savchenko, 1954	NM, a, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Ed, Kır, Sa
20. <i>T. (L.) canakkalensis</i> Theischinger, 1987	en, t, a, W	Ba, Ça
21. <i>T. (L.) caudatula</i> Loew, 1872	NT, e, W	Ed, Kır
22. <i>T. (L.) decolor</i> Mannheims, 1963	a, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Ed, İş, Kır, Ko, Sa, Te
23. <i>T. (L.) dedecor</i> Loew, 1873	NM, a, W	Ba
24. <i>T. (L.) dracula</i> Theischinger, 1977	NM, a, W	Ça
25. <i>T. (L.) furcula</i> Mannheims, 1954	a, e, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Ed, İş, Kır, Ko, Sa
26. <i>T. (L.) gebze</i> Koc, Hasbenli & Vogtenhuber, 2007	en, t, a, W	İş, Sa
27. <i>T. (L.) helvola</i> Loew, 1873	a, e, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Ed, İş, Kır, Ko, Sa, Te, Ya
28. <i>T. (L.) hera</i> Theischinger, 1979	NT, e, W	Kır
29. <i>T. (L.) istriana</i> Erhan and Theowald, 1961	a, e, W	Ba, Bi, Bu, Ça, İş, Kır, Ko, Sa, Ya
30. <i>T. (L.) kerkis</i> Theischinger, 1977	NM, t, a, W	Ba, Ça
31. <i>T. (L.) mendli</i> Martinovsky, 1976	t, a, e, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Ko, Sa, Ya
32. <i>T. (L.) pannonia jordansi</i> Mannheims, 1954	NT, e, W	Kır
33. <i>T. (L.) peliostigma peliostigma</i> Schummel, 1833	a, e, W, E	Ba, Bi, Bu, Ça, Kır, Ko, Sa, Ya
34. <i>T. (L.) peteri</i> Theischinger, 1979	en, t, a, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Kır, Ko, Sa, Ya
35. <i>T. (L.) pseudowolfi</i> Theischinger, 1979	NM, t, a, W	Ba, Bi, Sa
36. <i>T. (L.) quinquespinis</i> Theischinger, 1980	NM, t, a, W	Ça
37. <i>T. (L.) selene</i> Meigen, 1830	NT, a, e, W	Bu, Kır, Sa
38. <i>T. (L.) soosi izmirensis</i> Theischinger, 1987	NM, t, a, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Ed, İş, Kır, Ko, Sa, Ya
39. <i>T. (L.) soosi soosi</i> Mannheims, 1954	a, e, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Ed, Kır, Ko, Sa
40. <i>T. (L.) tibonella</i> Theischinger, 1977	a, W	Ba, Bi, Bu, Ça, Kır, Ko, Sa
41. <i>T. (L.) transmarmarensis</i> Koc, Aktas & Oosterbroek, 1995	en, t, a, W	Bi, Bu, İş, Kır, Sa
42. <i>T. (L.) truncata truncata</i> Loew, 1873	e, W	Kır
43. <i>T. (L.) turca</i> Mannheims, 1963	en, t, a, W	Bu, Ko
44. <i>T. (L.) turcolivida</i> Mannheims, 1968	en, t, a, W	Ça, Kır, Ko, Sa
45. <i>T. (L.) vermooleni</i> Theischinger, 1987	NM, a, W	Ba, Bu
46. <i>T. (L.) verrucosa sinedente</i> Theischinger, 1980	NM, t, a, W	Bu, Ça, Ed, Kır
47. <i>T. (L.) vogtenhuberi</i> Theischinger, 1979	NM, a, W	Ça
48. <i>T. (L.) vulpecula</i> Theischinger, 1979	NM, en, t, a, W	Bu, Ko, Sa
49. <i>T. (Mediotipula) anatoliensis</i> Theowald, 1978	NM, en, t, a,	Ba
50. <i>T. (M.) stigmatella</i> Schummel, 1833	a, W	Bi, Bu, İş, Ko, Sa
51. <i>T. (Pterelachisus) aspoecki</i> Vogtenhuber, 2004	NM, en, t, a, W	Bu
52. <i>T. (P.) luteobasalis luteobasalis</i> Savchenko, 1964	NM, a, W	Bu
53. <i>T. (P.) pseudovariipennis</i> Czizek, 1912	NT, e, W	Kır
54. <i>T. (Savtshenkia) benesignata</i> Mannheims, 1954	NT, a, W, E	Bu, Ça
55. <i>T. (S.) odontostyla</i> Savchenko, 1961	NM, a, W	Ba, Ça, Kır
56. <i>T. (S.) serrulifera</i> Alexander, 1942	NM, a, W	Bu
57. <i>T. (Schummelia) variicornis variicornis</i> Schummel, 1833	NM, a, W, E	Bu, Ça, Kır, Ko
58. <i>T. (s.str.) italicica errans</i> Theowald, 1984	a, e, W	Ba, Ça, Ed, Kır, Sa
59. <i>T. (s.str.) orientalis</i> Lackschewitz, 1930	a, e, W, E	Ba, Bi, Bu, Ça, Ed, İş, Kır, Ko, Sa, Te
60. <i>T. (Vestiplex) kosswigi</i> Mannheims, 1953	en, t, a, W	Bu, Ça, Ko
61. <i>T. (V.) semivittata semivittata</i> Savchenko, 1960	NM, a, W	Kır
62. <i>T. (Yamatotipula) caesia</i> Schummel, 1833	NM, a, e, W	Bi, Bu, Ko, Sa
63. <i>T. (Y.) lateralis</i> Meigen, 1804	a, e, W, E	Ba, Bi, Bu, Ça, Ed, İş, Kır, Ko, Sa, Te, Ya
64. <i>T. (Y.) submontium</i> Theowald & Oosterbroek, 1981	a, W	Ba, Bu, Ça, Ed, Kır, Ko

NM: New for the Marmara Region,

NT: New for Turkey,

en: endemic to Turkey,

t: type-locality in Turkey,

a: known from the Asiatic part of Turkey,

e: known from the European part of Turkey,

W: known from the West Palearctic,

E: known from the East Palearctic.

1. *Tanyptera* (s.str.) *atrata atrata* (Linnaeus, 1758)

Material examined: Kırklareli: *Pınarhisar*, Yenice, The Magnetic Field ($41^{\circ} 44' N / 27^{\circ} 39' E$), 565 m, 11.V.2009, 1 male.

Ecological remarks: The material was collected from moist mixed forests.

2. *Tipula* (*Acutipula*) *balcanica* Vermoolen, 1983

Material examined: Kırklareli: *Demirköy*, *Pınarhisar* ($41^{\circ} 46' N / 27^{\circ} 41' E$), 618 m, 11.V.2009, 1 male; *Bıçkı* stream ($41^{\circ} 48' N / 27^{\circ} 48' E$), 198 m, 12.V.2009, 6 males, 2 females. Sakarya: *Adapazarı*, Geyve, *Fındıksuyu* ($40^{\circ} 35' N / 30^{\circ} 20' E$) 230 m, 09.VII.2010, 2 males, 1 female.

Ecological remarks: The species is recorded for the first time from Turkey and materials were collected from moist mixed forests.

3. *Tipula* (*Acutipula*) *vittata* Meigen, 1804

Material examined: Kırklareli: *Demirköy*, *Velika* bridge ($41^{\circ} 47' N / 27^{\circ} 42' E$), 520 m, 11.V.2009, 1 male. *Pınarhisar*, Yenice ($41^{\circ} 44' N / 27^{\circ} 38' E$), 490 m, 20.IV.2009, 1 male; The Magnetic Field ($41^{\circ} 44' N / 27^{\circ} 39' E$), 565 m, 20.IV.2009, 6 male; 11.V.2009, 1 male, 1 female; 12.V.2009, 1 male, 1 female.

Ecological remarks: Materials were collected from moist mixed forests.

4. *Tipula* (*Lunatipula*) *caudatula* Loew, 1862

Material examined: Edirne: *Lalapaşa*, *Sinanköy* ($41^{\circ} 49' N / 26^{\circ} 43' E$), 143 m, 10.V.2009, 1 male. *Merkez*, *Küçükdüllük* ($41^{\circ} 45' N / 26^{\circ} 40' E$), 85 m, 10.V.2009, 1 female. Kırklareli: *Pınarhisar*, *Kaynarca*, *Manastır* stream ($41^{\circ} 39' N / 27^{\circ} 26' E$), 185 m, 11.V.2009, 1 male.

Ecological remarks: Materials were collected from river sides and mixed forests.

5. *Tipula* (*Lunatipula*) *hera* Theischinger, 1979

Material examined: Kırklareli: *Demirköy*, *İğneada*, *Sislioba* ($41^{\circ} 58' N / 27^{\circ} 56' E$), 115 m, 20.VI.2009, 1 male; ($41^{\circ} 54' N / 27^{\circ} 57' E$), 55 m, 20.VI.2009, 1 male.

Ecological remarks: Materials were collected from moist mixed forests.

6. *Tipula* (*Lunatipula*) *pannonia jordansi* Mannheims, 1954

Material examined: Kırklareli: *Demirköy*, *Dupnisa* cave ($41^{\circ} 50' N / 27^{\circ} 33' E$), 350 m, 11.V.2009, 3 males, 2 females; *Sarpdere* ($41^{\circ} 51' N / 27^{\circ} 34' E$), 370 m, 11.V.2009, 1 female; *Velika* bridge ($41^{\circ} 47' N / 27^{\circ} 42' E$), 520 m, 11.V.2009, 4 males. *Pınarhisar*, Yenice, The Magnetic Field ($41^{\circ} 44' N / 27^{\circ} 39' E$), 565 m, 11.V.2009, 1 male.

Ecological remarks: Materials were collected from moist mixed forests.

7. *Tipula* (*Lunatipula*) *selene* Meigen, 1830

Material examined: Bursa: *Osmangazi*, *Uludağ* ($40^{\circ} 09' N / 29^{\circ} 01' E$), 780 m, 09.VII.2008, 1 male; ($40^{\circ} 08' N / 29^{\circ} 02' E$), 1060 m, 03.VI.2009, 1 male; *Yığitalı* ($40^{\circ} 13' N / 29^{\circ} 01' E$), 270 m, 03.VI.2009, 2 males. Kırklareli: *Dereköy* stream ($41^{\circ} 55' N / 27^{\circ} 22' E$), 452 m, 21.VI.2009, 1 male. *Demirköy*, *Pınarhisar* ($41^{\circ} 47' N / 27^{\circ} 43' E$), 643 m, 20.VI.2009, 1 male. Sakarya: *Adapazarı*, Geyve, Geyve valley, *Osmaniye* ($40^{\circ} 36' N / 30^{\circ} 19' E$), 55 m, 16.V.2010, 1 male.

Ecological remarks: Materials were collected from river side, partially moist mixed forests and moist heaths.

8. *Tipula (Pterelachisus) pseudovariipennis* Czizek, 1912

Material examined: Kırklareli: Demirköy, Bıçkı stream ($41^{\circ} 48' N / 27^{\circ} 48' E$), 198 m, 12.V.2009, 1 male; Velika bridge ($41^{\circ} 47' N / 27^{\circ} 42' E$), 520 m, 11.V.2009, 2 males. Pınarhisar, Yenice, The Magnetic Field ($41^{\circ} 44' N / 27^{\circ} 39' E$), 565 m, 11.V.2009, 2 males, 4 females; 12.V.2009, 2 males; Jandarma Tepe ($41^{\circ} 45' N / 27^{\circ} 41' E$), 780 m, 12.V.2009, 1 male.

Ecological remarks: Materials were collected from river side within deciduous forests and moist forests.

9. *Tipula (Savtshenkia) benesignata* Mannheims, 1954

Material examined: Bursa: Osmangazi, Çaybaşı ($40^{\circ} 02' N / 29^{\circ} 04' E$), 970 m, 10.X.2009, 1 male. Çanakkale: Biga, Çelikgürü ($40^{\circ} 21' N / 26^{\circ} 59' E$), 52 m, 30.X.2009, 1 male. Yenice, Çakır, Atatürk fountain ($39^{\circ} 56' N / 27^{\circ} 21' E$), 350 m, 25.X.2009, 1 male.

Ecological remarks: Materials were collected from river side within moist forests.

Discussion

29 taxa are known in the Marmara region (Koç et al., 1998, 2007; Koç & Oosterbroek, 2001; Mannheims & Theowald, 1980; Oosterbroek, 1978, 2009; Theischinger, 1979, 1987; Vogtenhuber, 2004). However, two of these *Ctenophora (Cnemoncois) ornata* Meigen, 1818 and *Tipula (Lunatipula) cedrophila* Mannheims, 1963 that were previously recorded in Kırklareli and Bilecik were not detected in this study.

This study provides an important contribution to the tipulid fauna of Turkey, particularly in the Marmara region. Nine taxa were recorded from Turkey and 26 taxa were recorded from the Marmara region for the first time. Consequently, the number of tipulid species known in the Marmara region increases to 66 and in Turkey to 161. These results suggest that many more species and subspecies can yet be found in our country, which has a wide variety of geographical and climatic properties.

Ten of these taxa found in the research area were from both the West Palearctic and East Palearctic regions; 54 of them were only found in the West Palearctic. There was been no encounter with a species distributed only in the East Palaearctic. 12 of the detected taxa are endemic and also type localities of 20 taxa of them are in Turkey (Table 2).

When the distribution and numbers of taxa known in the provinces of the Marmara region was examined, Bursa (42), Kırklareli (39) and Çanakkale (38) have the highest taxa numbers while Tekirdağ (8), Yalova (11) and İstanbul (13) have the lowest taxa numbers. Less field study was done than that was expected due to excessive urbanization and destruction of natural areas.

These provinces with the most taxa, Bursa, Kırklareli and Çanakkale, are close to Uludağ, Yıldız Mountain and Kaz Mountain regions, all of which have significant biological diversity. The rich biological diversity in terms of other animal groups of these areas has already been acknowledged. This study also characterizes the rich biological Tipulidae diversity of these areas.

In the research area, adult Tipulidae samples were mostly found in May-June. The majority of the samples collected in September and October were bivoltine species. Considering a study performed in Southwest Anatolia by Koç et al. (2013), the taxa of the Marmara region fly a few weeks later than Southwest Anatolian taxa due to the fact that Southwest Anatolia is warmer than the Marmara region. The phonologies of most of Marmarian tipulids are similar to their relatives in Central Europe when this study was compared with Mannheims (1950), Hollander (1975) and Brinkmann (1991).

Acknowledgements

Authors would like to thank to TUBITAK (The Scientific and Technological Research Council of Turkey) for financial support (Research Project no. 107T678).

References

- Brinkmann, R., 1991. Zur habitatpräferenz und phänologie der Limoniidae, Tipulidae und Cylindrotomidae (Diptera) im Bereich eines norddeutschen Tieflandbaches. *Faun.-Ökol. Mitt. Suppl.*, 11: 1-156.
- Hollander, J., 1975. The phenology and habitat of the species of the subgenus *Tipula* Linnaeus in the Netherlands. *Tijdschr. Ent.*, 118: 83-97.
- Koç, H. & P. Oosterbroek, 2001. Checklist of the Turkish Tipulidae (Diptera), with new records. *Studia dipterologica*, 8 (Heft 2): 463-468.
- Koç, H., A. Hasbenli & H. de Jong, 1998. *Tipula (Acutipula) bosnica* group, with the description of a new species from Turkey (Diptera: Tipulidae). *Ent. Scand.*, 29: 267-274.
- Koç, H., A. Hasbenli & P. Vogtenhuber, 2007. Eine neue türkische *Tipula (Lunatipula)* Art aus der *mellea* Gruppe (Diptera: Tipulidae). *Linzer biol. Beitr.*, 39 (2): 983-986.
- Koç, H., A. Tonguç, O. Özgül, Y. Molla & S. Canbulat, 2013. Güneybatı Anadolu Bölgesi Tipulidae (Diptera) türlerinin fenolojisi. *Manas Journal of Agriculture and Life Sciences*, 3 (1): 1-6.
- Mannheims, B., 1950. Über Sammeln, Vorkommen und flugzeiten mitteleuropäischer Tipulidae (Dipt.). *Bonn. zool. Beitr.*, 1: 92-95.
- Mannheims, B. & B. Theowald, 1980. "15. Tipuliden, 1-538" (Ed: Lindner, E.) In: *Die Fliegen Der Palaearktischen Region*, E. Schweizerbartische Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 538 pp.
- Oosterbroek, P., 1978. The western palaearctic species of *Nephrotoma* Meigen, 1803 (Diptera, Tipulidae), part 1. *Beaufortia*, 27 (337): 1-137.
- Oosterbroek, P., 2006. The European Families of the Diptera, Identification, Diagnosis, Biology, KNNV-Uitgeverij, Utrecht, 205 pp.
- Oosterbroek, P., 2009. New distributional records for Palaearctic Limoniidae and Tipulidae (Diptera: Craneflies), mainly from the collection of the Zoological Museum, Amsterdam. *Zoosymposia*, 3: 179-197.
- Oosterbroek, P., 2015. Catalogue of the craneflies of the World (Insecta, Diptera, Nematocera, Tipuloidea) available from: <http://ip30.eti.uva.nl/ccw> (Date accessed: 3 Jan 2015).
- Oosterbroek, P. & B. Theowald, 1992. "Family Tipulidae, 56-178". In: *Catalogue of Palaearctic Diptera* (Eds: Soos A., L. Papp, & P. Oosterbroek) Vol: 1, Hungarian Natural History Museum, Budapest 520 pp.
- Pollet, M., 2000. Een Gedocumenteerde Rode Lijst Van de Slankpootvliegen Van Vlaanderen Mededelingen Van Het Instituut Voor Natuurbehoud 8. Brussel, 190 pp.
- Theischinger, G., 1979. Neue taxa von *Lunatipula* Edwards aus der Mediterranean subregion der Palaearktis (Diptera, Tipulidae, *Tipula* Linnaeus), II. Fortsetzung, *Beaufortia*, 29: 275-308.
- Theischinger, G., 1987. Neue taxa von *Lunatipula* Edwards aus der Mediterranean subregion der Palaearktis (Diptera, Tipulidae, *Tipula* Linnaeus), V. Fortsetzung, *Beaufortia*, 37: 99-120.
- Vogtenhuber, P., 2004. Neue taxa von Pterelachisus aus der Turkei (Diptera, Tipulidae). *Denisia* 13: 347-350.

Orijinal araştırma (Original article)

Manisa ili bağ alanlarında Salkım güvesi [*Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae)] popülasyonlarının insektisit direncinin belirlenmesi¹

Determination of insecticide resistance of European grapevine moth [*Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae)] populations in vineyards of Manisa province

Ahmet HATİPOĞLU^{2*}

Enver DURMUŞOĞLU²

M.Oktay GÜRKAN³

Summary

This study was carried out to determine the resistance to insecticides of European Grapevine Moth, the main pest of vineyards between 2011-2014. Using the diet method, Lethal Concentration (LC) values of four different insecticides were determined in 10 different European Grapevine Moth populations and then the resistance coefficients were calculated comparing these values with susceptible population. LC₅₀ values were about 6 fold for chlorpyrifos-ethyl in Sarıgöl-2 population, about 5 fold for deltamethrin in Salihli population, about 6 fold for indoxacarb in Ahmetli population, about 6.5 fold for spinosad in Sarıbey population. These results suggest that these populations have developed resistance against the used insecticides. Enzyme activities of AChE, EST and GST were determined in 10 populations. No significant difference was detected in GST enzyme activities of the populations. In Sarıgöl-2 population, AChE enzyme activity was 5 fold while EST enzyme activity was 1.5 fold higher than the susceptible population.

Key words: European Grapevine Moth, insecticide resistance, bioassay, enzyme

Özet

Bu çalışmada 2011-2014 yılları arasında bağın ana zararlısı olan Salkım güvesinin yaygın kullanılan insektisitlere karşı direnç durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Besine karıştırma yöntemi kullanılarak iklim odalarında kültürü geliştirilebilen 10 farklı Salkım güvesi popülasyonunda dört farklı insektisitin öldürücü konsantrasyon (LC) değerleri belirlenmiş ve bu değerler hassas popülasyonla kıyaslanarak popülasyonların direnç katsayıları hesaplanmıştır. Biyoassay çalışmalar sonucunda hesaplanan LC₅₀ değerleri hassas popülasyona göre chlorpyrifos-ethyl için Sarıgöl-2 popülasyonunda yaklaşık 6 kat, deltamethrin için Salihli popülasyonunda yaklaşık 5 kat, indoxacarb için Ahmetli popülasyonunda yaklaşık 6 kat, spinosad için Sarıbey popülasyonunda yaklaşık 6.5 kat daha fazla bulunmuş ve söz konusu popülasyonların bahsi geçen ilaçlara karşı direnç geliştirmeye başladığı tespit edilmiştir. Biyokimyasal testler sonucunda ise 10 popülasyondaki AChE, EST ve GST enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Popülasyonların GST enzim aktivitelerinde önemli bir farklılık görülmemiştir. Sarıgöl-2 popülasyonunda, AChE enzim aktivitesi hassas popülasyona göre yaklaşık 5 kat, EST enzim aktivitesi ise yaklaşık 1.5 kat oranla fazla bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Salkım güvesi, insektisit direnci, biyoassay, enzim

¹ Bu çalışma TÜBİTAK-TOVAG tarafından desteklenen 110O637 nolu, EBİLTEM tarafından desteklenen 2011-BİL-031 nolu projeler ile birinci yazarın doktora tezinin bir kısmını içermektedir.

² Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 35100, İzmir

³ Ankara İleri Teknoloji Yatırımları A.Ş., Ankara Teknoloji Geliştirme Bölgesi, Ankara

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: ahmet.hatipoglu@ege.edu.tr

Alınış (Received): 02.10.2014

Kabul ediliş (Accepted): 21.01.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 22.04.2015

Giriş

Dünyada 7,5 milyon ha gibi geniş bir alanda yetiştirilen ve ekonomik olarak önemli meyvelerin başında gelen üzüm birçok şekilde tüketilmektedir. Taze meyve, kuru üzüm, şarap, meyve suyu, reçel, konsantre ve tohum yağları bunların başında gelmektedir. Dünya toplam üretim miktarı yılda yaklaşık 69 milyon ton olan üzümün 4 milyon tondan fazla üretimi Türkiye'deki bağ alanlarında gerçekleştirilmektedir. Çin dünya üzüm üretiminde ilk sırada yer alırken, 6. sırada yer alan Türkiye dünya üzüm üretimini % 6'sını karşılamaktadır (FAOSTAT, 2013).

Türkiye'de yoğun olarak Ege bölgesinde yetiştirilen üzümde, Salkım güvesi [*Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae)], Avrupa ülkelerinde olduğu gibi bağın ana zararlısı konumundadır. Salkım güvesi; ürünü, kalite ve kantite yönünden etkilerken, yaş üzüm ambalajlanmasında ve şarap kalitesinde sebep olduğu sorunlar neticesinde mücadelesi kaçınılmaz olan bir zararlı konumundadır.

Avrupa, Afrika, Güney Amerika ve son yıllarda Amerika'da da bulunduğu tespit edilen bu zararlı, mücadele edilmediği takdirde önemli zarar seviyelerine ulaşmaktadır. Türkiye'de de birçok üzüm yetiştiricisi ülkede olduğu gibi *L. botrana* mücadeleşi geniş spektrumlu insektisitler, böcek büyümeye düzenleyicileri ve biyolojik mücadele ajanları ile yapılmaktadır (Boselli & Scannavini, 2001; Marchesini & Dalla Monta, 2004; Ioriatti et al., 2008). Ekonomik olarak önemli olan bu ürünlerde üreticiler, çoğu zaman ürünü kaybetme korkusu nedeniyle, bilincsiz ve kontrollsüz ya da gereğinden fazla sayıda kimyasal uygulamaları yoğun bir şekilde yapmaktadır (Delen et al., 2004).

Salkım güvesi ile yapılan kimyasal mücadelede, Salkım güvesi ve diğer lepidopterlere karşı etkili olan birçok insektisit karşımıza çıkmaktadır. Birden fazla etkili madde ile planlanan ilaçlama programları *L. botrana* kontrolünde direnç gelişimini önlemeye yardımcı olabilmektedir. Direnç, pestisitin önerildiği zararlıların popülasyonlarının baskı altına alınmasında yanlış depolama, hatalı uygulama ve uygun olmayan çevre koşulları gibi problemler dışında bir hassasiyet azalması olarak tanımlanmaktadır (Ünal & Gürkan, 2001). Farklı bir ifade şekli ise şöyledir; bir zararlıya karşı aynı pestisitin veya etki mekanizması aynı olan pestisitlerin ard arda uzun süre kullanılması sonucunda, bu zararlı popülasyonunda pestisit(ler)e karşı önce hassasiyet azalışı görülür sonra da hassasiyeti az olan bireylerin popülasyonda artışı ile dayanıklı bireyler çoğalır. Daha sonra bu pestisitlere karşı dayanıklı ırk meydana gelir (Öncüler & Durmuşoğlu, 2008). Böceklerde ineksitlere karşı görülen direnç problemi, tarımsal üretimde verimliliği etkileyen önemli sorunların başlarında gelmektedir. Günümüzde 600'e yakın böcek ve akar türünün çeşitli ilaçlara karşı direnç geliştirmiş olduğu kaydedilmektedir (IRAC, 2014).

Salkım güvesi mücadeleinde her yıl yaygın ve sıkça kullanılan insektisitlere karşı direnç durumu bilinmediğinden, hem yeterli etki alınamamakta, hem de gereksiz ilaçlama yapılmaktadır. Bu da önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Diğer yandan bu ilaçlamaların neden olduğu kalıntı sorunu ihracatımız açısından da sıkıntılara neden olmaktadır. İşte bu nedenlerle, bu çalışmada, Türkiye'nin en önemli bağ alanlarına sahip Manisa ilinde, bağın ana zararlısı olan Salkım güvesi popülasyonlarının yaygın kullanılan insektisitlere karşı direnç durumu biyoassay yöntemlerle araştırılmış, direnç ile ilişkili mekanizmalar biyokimyasal yöntemlerle incelenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Salkım güvesi popülasyonları Manisa ilinin çeşitli ilçelerinden 2011-2012 yıllarında toplanmıştır. Denemelere başlamadan önce popülasyonların istenen birey sayısına ulaşması için üretim çalışmaları yapılmıştır. Denemelerde toplam 10 popülasyon kullanılmış ve Merkez 1 popülasyonu ilaçlama yapılmayan bir ev bahçesinden toplandığı için hassas popülasyon olarak değerlendirilmiş ve isimlendirilmiştir (Çizelge 1)

Çizelge 1. Manisa ili bağ alanlarından toplanan popülasyonlar ve kısaltma isimleri

Bağ bölgesi	Popülasyona verilen isim
Merkez1 (Hassas)	HAS
Merkez 2	MER
Ahmetli	AHM
Alaşehir	ALS
Saruhanlı	SAR
Salihli	SLH
Sarıbey	SRBY
Sarıgöl 1	SAR 1
Sarıgöl 2	SAR 2
Yeşilyurt	YY

Denemelerde kullanılan insektisit etken maddeleri olarak Chlorpyrifos ethyl (CE) (Dow AgroSciences Türkiye), Deltamethrin (DLT) (Bayer CropScience, Türkiye), Indoxacarb (INDX) (Hektaş, Türkiye) ve Spinosad (SPN) (Dow AgroSciences, Türkiye) seçilmiştir. Denemelerde söz konusu insektisitlerin teknik maddeleri üretici firmalarından temin edilerek kullanılmıştır.

Denemede kullanılan insektisit dozları

Denemelerde daha önce kullanılan dozlar dikkate alınarak %10 - %90 arasında ölüm sağlayacağı öngörülen aşağıdaki dozlar belirlenmiştir. (Çizelge 2).

Çizelge 2 Biyoassay çalışmalarında kullanılan etkili madde dozları

Etkili madde	Dozlar (ppm)					
	1	3	6	10	30	60
CE	1	3	6	10	30	60
SPN	0,1	0,3	0,6	1	3	6
INDX	0,1	0,5	1	5	10	50
DLT	0,5	1	5	10	50	100

Biyoassay testler

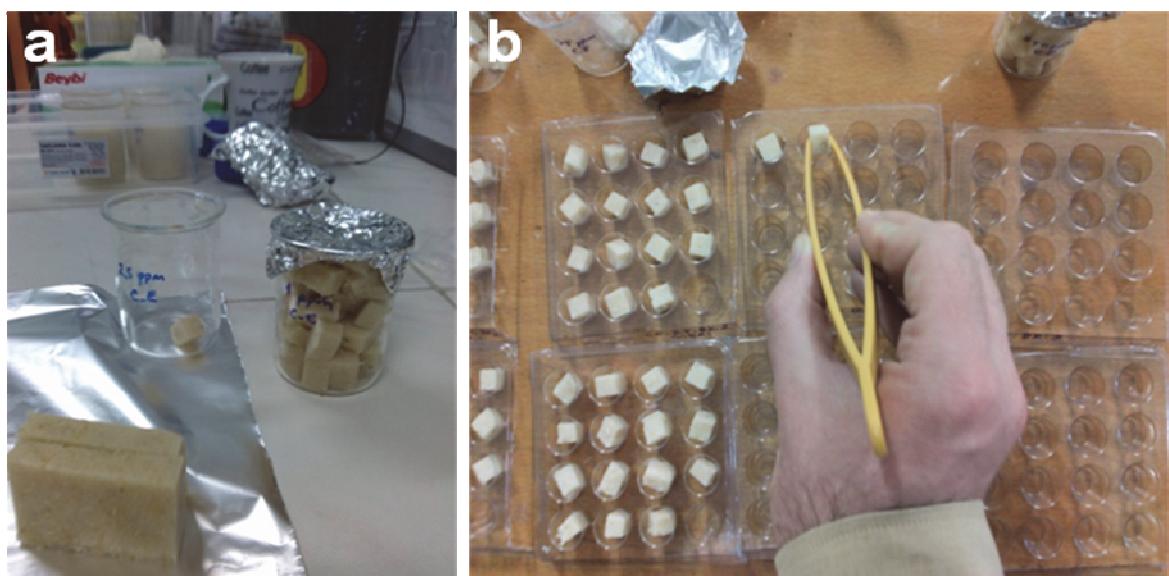
Üretimde ve denemelerde kullanılan hazır besin, Rapagnani et al. (1990)'ye göre hazırlanmıştır. Yapay besin hazırlamak için 1 lt suya agar ve mısır irmiği eklenmiştir. Daha sonra 120 °C'de 20 dk otoklavda sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Otoklavdan çıkan agar - mısır irmiği – su içeren şişe karıştırıcı alete boşaltılmış, karışımın sıcaklığı 70 °C'ye düşüktken sonra buğday özü ve bira mayası, sıcaklığın 60°C'ye düşmesinden sonra ise askorbik asit ve nipagin karışımı eklenmiştir. İyice karışması sağlanıktan sonra elde edilen 1 lt yapay besin donması için oda sıcaklığında bekletilmiştir.

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü iklim odasında üretimi yapılan toplam 10 popülasyonda “ilacı besine karıştırma yöntemi” kullanılarak biyoassay çalışmalar yürütmüştür.

İlacın besine karıştırılması yönteminde Salkım güvesi larvalarının ilaçla homojen şekilde karışmış besinle beslendiğinde doz-ölüm ilişkisi araştırılmıştır. Besin tamamen hazır olmadan, yani hem sterilizasyon işleminden ilacin etkilenmemesi hem de ilacin besine homojen olarak karıştırılabilmesi için besin donmadan kısa bir süre önce yani besin kaplara dökülmeden önce, ilacin bozunmayacağı ve besinin akıcılığını da kaybetmeyeceği en düşük sıcaklık olan 40 °C uygun bir sıcaklık olarak belirlenmiştir. Bu sıcaklığı kadar besin devamlı karıştırılmış ve uygun miktarda hazırlanan ilaçlı suyun behere eklerek karıştırılmasıyla ilaçlı besinler elde edilmiştir.

Bu uygulama denemededen 24 saat önce yapılmış ve besinin istenen olgunluğa ulaşması için gerekli süre elde edilmiştir. Bu şekilde tüm dozlar için bu işlem ayrı beherler ve karıştırıcılar yardımıyla yapılmış, üzerlerine ilacın adı ve dozu yazılarak ilaçlı besinler hazırlanmıştır. Kontrol için ise aynı oranda distile su karıştırılmıştır.

Deneme mutlaka ilaçlı besinin hazırlanmasından 24 saat sonra yapılmıştır. Bunun için beherlerden çıkarılan besin ~1 cm³ lük besin parçalarına ayrılmış ve 16 hücreli deneme kaplarından 2 tanesine 30 adet olacak şekilde, yerleştirilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. a-İlaç karıştırılmış besin, b- Besinlerin deneme hücrelerine aktarımı.

Daha sonra iklim odasından 9 gün yaşında olan larvaları içinde bulunduran besinlerden çıkarılan larvalar deneme kaplarındaki hücrelere tek tek yerleştirilerek ağızı hava alabilen yapışkan kapaklarla kapatılmıştır.

Denemenin değerlendirilmesi

Denemelerde günlük gözlemler yapılmış olup, değerlendirmede sadece 72 saat sonundaki veriler kullanılmıştır. Canlı larvaların gelişimi açısından gözlemlere pupa oluncaya kadar devam edilmiştir.

LC₅₀-LC₉₀ değerlerinin ve direnç katsayılarının hesaplanması

Biyoassay test sonuçlarında elde edilen değerler PoloPlus (Leora Software, 1987) programı kullanılarak LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri hesaplanmıştır. Direnç katsayısının hesaplanması için her etkili madde için popülasyonların LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri hassas popülasyondan elde edilenler ile kıyaslanmıştır.

Biyokimyasal testler

Tüm popülasyonlar için yapılan biyoassay çalışmalarında kullanılan larvalardan biyokimyasal testlerde kullanılmak üzere her popülasyondan en az 20 adet 9 gün yaşında larva -20°C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

Biyokimyasal testler enzim analizlerine yönelik olduğu ve enzim kaynağının sıcakta bozunmaması için çalışmalar klimalı bir ortamda ve 18 °C'de ve örnekler daima buz üzerinde bekletilerek çalışılmıştır.

Salkım güvesi ile daha önce yapılmış biyokimyasal test çalışması bulunmadığı için Salkım güvesi ile aynı familyada (Tortricidae) yer alan Elma iç kurdu (*Cydia pomonella* L.) ile yapılan çalışmalarдан faydalانılmıştır (Reyes et al., 2007; Qian et al., 2008; Rodríguez et al., 2011a.; 2011b). O çalışmalarдан hareketle, biyokimyasal testlerde 4 farklı enzim analizi için 4 farklı yöntemden yararlanılmıştır. Esteraz (EST), Glutathion S-transferaz (GST) ve P450 enzimleri ile Asetilkolinesteraz (AChE) testi için 2 enzim kaynağı kullanılmıştır.

EST, GST ve P450 enzim preparasyonu ve aktivitelerinin belirlenmesi

Enzim kaynağı hazırlanması

Salkım güvesi'nin detoksifikasyon enzimlerinin ölçülmesinde Qian et al. (2008)'den alınan enzim preparasyon yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Buna göre, Salkım güvesi'nin 9 günlük 3 larvası 1 ml homojenasyon tamponu [0,1 M sodium phosphate buffer, pH 7,6 ve 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 1 mM 1,4-dithiothreitol (DTT), 1 mM phenylmethyl sulfonylfluoride (PMSF) ve 1 mM phenylthiourea (PTU) içeren] içerisinde homojenize edilmiştir. Önce 21.380 rcf'de 20 dk +4°C'de santrifüj yapıldıktan sonra üstte kalan kısım alınıp daha sonra 30.790 rcf'de 20 dk daha +4°C'de santrifüj yapılmıştır. Üstte kalan temiz kısım alınarak 1.5 ml tüp içine konmuş ve hemen buz üzerine konularak esteraz, P 450 ve GST analizi için enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

EST analizi

EST enzim aktivitesinin belirlenmesi için Han et al. (1998) metodundan yararlanılmıştır. Buna göre, mikroplaka hücrelerinin herbirine substrat olarak 90 µl 0,1 M sodyum fosfat tamponu (pH 7,6) ve 200 µl solüsyon karışımı (10 mM 1-naphthyl asetat ve 4 mM fast blue RR salt) konulmuştur. Reaksiyon, stok solüsyondan 10 µl enzim kaynağı ilave edilerek başlatılmıştır. EST enzim aktivitesi, "Versamaxmikroplaka okuyucu" (Molecular Devices, USA)'da 27 °C ve 450 nm dalga boyunda 10 s aralıklarla 10 dk boyunca kinetik okuma yapılarak elde edilmiş ve optical density (OD) değerleri belirlenmiştir.

GST analizi

GST enzim aktivitesinin belirlenmesi için Oppenoorth (1979) metodundan yararlanılmıştır. Buna göre, substrat olarak hem 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) hem de 1,2-dichloro-4-nitrobenzene (DCNB) kullanılmıştır. Reaksiyon, CDNB ile yapılacak durumda; mikroplakanın her bir hücresine stok solüsyondan 10 µl enzim kaynağı, 90 µl 0,1 M sodyum fosfat tamponu (pH 7,6), 100 µl 6 mM CDNB ve 100 µl 6 mM glutathione (GSH) konmuş, DCNB ile reaksiyon başlatılmak istendiğinde ise mikroplakanın her bir hücresine stok solüsyondan 100 µl enzim kaynağı, 100 µl 1,2 mM DCNB ve 100 µl 6 mM GSH konmuştur. GST enzim aktivitesinin ölçülmesi mikroplaka okuyucuda 27 °C ve 340 nm dalga boyunda 10 s aralıklarla 10 dk boyunca kinetik okuma yapılmış ve elde edilen OD değerleri belirlenmiştir.

P450 analizi

P450 enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Hansen & Hodgson (1971) metodundan yararlanılmıştır. Buna göre, mikroplaka hücrelerinin herbirine stok solüsyondan 90 µl enzim kaynağı, substrat olarak 100 µl 2mM p-nitroanisole (PNOD) karıştırılmıştır. 27 °C'de 2 dk inkübe ettikten sonra 10 µl 9,6 mM nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. P450 enzim aktivitesinin ölçülmesi mikroplaka okuyucuda 27 °C ve 405 nm dalga boyunda 10 s aralıklarla 10 dk boyunca kinetik okuma yapılarak elde edilmesi amaçlanmıştır.

AChE enzim preparasyonu ve aktivitesinin belirlenmesi

Enzim kaynağı hazırlanması

Asetilkolinesteraz aktivitesinin belirlenmesinde Stumpf et al. (2001) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Salkım güvesinin 9 günlük 3 adet larvası eppendorf tüp içinde bulunan % 0,1 Triton X-100 içeren 0,1 M fosfat tamponu (1ml, pH:7,5) içinde plastik ezici çubuklarla homojenize edilmiştir. Buz içinde 25 dakika dokuların çözülmesi beklenikten sonra, homojenat +4°C de 11.490 rcf'de, 25 dakika santrifüp edilerek elde edilen supernatant enzim kaynağı olarak kullanılmak üzere buz içine alınmıştır.

AChE analizi

AChE aktivitesini ölçmek için mikroplaka hücrelerine 100 µl Acetylthiocholine iodide (ATChI), 100 µl 5,5-dithiobiis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) ve 50 µl fosfat buffer ve 50 µl enzim solüsyonu konulmuştur. 300 µl'lik final konsantrasyonunda herbir maddenin miktarı 0,5 mM olmuştur. AChE aktivitesi mikroplaka okuyucuda 23 °C ve 405 nm' de 20 dakika okunmuştur.

Enzimlerin toplam protein miktarı içindeki oranının tespiti

Tüm enzim analizleri sonucunda, herbir enzim kaynağı BSA'nın standart olarak kullanıldığı Bradford (1976) yöntemi kullanılarak, popülasyonlardaki EST, GST, P450 ve AChE enzim aktivitelerinin toplam protein miktarları içindeki oranı tespit edilmiştir.

Araştırma Bulguları

Biyoassay test sonuçları

Manisa ili bağ alanlarından toplanan farklı Salkım güvesi popülasyonlarında 4 etkili madde kullanılarak besine karşıtarma yöntemi ile yapılan biyoassay test sonucunda hesaplanan LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri etkili maddelere göre Çizelge 3,4, 5 ve 6'da verilmiştir.

Chlorpyrifos ethyl ile yapılan biyoassay çalışmalar sonucunda hassas popülasyona göre belirlenen direnç katsayıısı ve popülasyonların LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri Çizelge 3'te görülmektedir.

Çizelge 3. Farklı salkım güvesi popülasyonlarında chlorpyrifos ethyl ile besine karşıtarma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve chi kare değerleri ile direnç katsayıları

P ¹	N ²	LC50(ppm) 0,95 Güven Aralığı	LC90(ppm) 0,95 Güven Aralığı	H ³	Eğim±sh ⁴	X ² ⁵	Direnç Katsayısı LC50	Direnç Katsayısı LC90
HAS	180	3,014 (2,384-3,673)	7,164 (5,671-10,209)	0,32	3,408±0,501	1,289	1,00	1,00
AHM	180	5,607 (3,497-8,966)	17,232 (10,370-58,149)	1,73	2,628±0,353	6,904	1,86	2,41
ALŞ	180	9,758 (7,566-12,741)	39,321 (27,094-69,137)	0,89	2,117±0,266	3,567	3,24	5,49
MER	180	4,044 (3,093-5,152)	14,311 (10,400-23,367)	0,90	2,335±0,320	3,588	1,34	2,00
SAR	180	8,620 (5,012-15,687)	33,465 (17,742-156,657)	2,00	2,175±0,271	7,993	2,86	4,67
SLH	180	8,056 (6,308-10,076)	19,259 (14,474-32,546)	0,69	3,385±0,622	2,753	2,67	2,69
SRBY	180	12,397 (6,771-25,314)	69,594 (31,709-508,630)	1,86	1,710±0,222	7,432	4,11	9,71
SRG1	180	10,953 (8,552-14,008)	33,466 (24,363-54,417)	0,62	2,642±0,359	2,464	3,63	4,67
SRG2	180	17,963 (10,992-30,660)	40,500 (25,162-141,258)	2,27	3,630±0,483	9,075	5,96	5,65
YY	180	16,277 (12,589-21,627)	65,145 (43,939-119,241)	0,52	2,128±0,270	2,081	5,40	9,09

¹ Popülasyon

² Larva sayısı

³ Heterojenite

⁴ Standart hata

⁵ chi kare

Hassas popülasyon için LC₅₀ değeri 3,014 ppm iken en yakın değer MER popülasyonunda 4,044 ppm, en yüksek değer de SRG2 popülasyonunda 17,963 ppm olarak bulunmuştur. Hassas popülasyon dışındaki popülasyonların Chlorpyrifos ethyl için elde edilen LC₅₀ ve LC₉₀ değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayılarına göre duyarlılık kayıpları en yüksek 3 popülasyon; LC₅₀ değerlerine göre sırasıyla SRG2 5,96; YY 5,40; SRBY 4,11 kat; LC₉₀ değerleri için ise SRBY 9,71; YY 9,09; SRG2 5,65 kat olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre Chlorpyrifos ethyl'e karşı en fazla hassasiyet azalması (LC₅₀ değerlerine göre) yaklaşık 6 kat ile SRG2 popülasyonunda görülmüştür (Çizelge 3)

Deltamethrin ile yapılan biyoassay çalışmalar sonucunda hassas popülasyona göre belirlenen direnç katsayısı ve popülasyonların LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri Çizelge 4'de görülmektedir.

Çizelge 4 Farklı salkım güvesi popülasyonlarında deltamethrin ile besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve chi kare değerleri ile direnç katsayıları

P	n	LC50(ppm) 0,95 Güven Aralığı	LC90(ppm) 0,95 Güven Aralığı	H	Eğim±sh	X ²	Direnç Katsayısı LC50	Direnç Katsayısı LC90
HAS	180	4,278 (3,040-5,992)	23,073 (14,873-43,816)	0,26	1,751±0,215	1,028	1,00	1,00
AHM	180	16,172 (8,843-32,669)	157,527 (66,015-848,806)	1,10	1,296±0,164	4,391	3,78	6,83
ALŞ	180	11,347 (6,561-18,629)	49,993 (28,361-146,086)	1,06	1,99±0,277	4,227	2,65	2,17
MER	180	6,593 (4,567-9,490)	45,768 (28,135-92,736)	0,25	1,523±0,181	1,002	1,54	1,98
SAR	180	18,067 (11,596-28,683)	68,847 (40,591-181,083)	1,03	2,206±0,288	4,134	4,22	2,98
SLH	180	21,071 (13,287-36,697)	321,040 (141,736-1227,683)	0,95	1,083±0,150	3,799	4,93	13,91
SRBY	180	16,979 (8,067-39,668)	103,099 (43,057-887,645)	1,97	1,636±0,208	7,881	3,97	4,47
SRG1	180	19,139 (5,380-155,757)	201,945 (47,100±204155,079)	3,68	1,252±0,166	14,70	4,47	8,75
SRG2	180	14,062 (9,651-21,027)	111,220 (63,647-257,184)	0,39	1,427±0,175	1,566	3,29	4,82
YY	180	12,002 (8,340-17,539)	84,459 (50,475-180,201)	0,41	1,512±0,181	1,653	2,81	3,66

Hassas popülasyon dışındaki popülasyonların deltamethrin için elde edilen LC₅₀ ve LC₉₀ değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayılarına göre duyarlılık kayıpları en yüksek 3 popülasyon; LC₅₀ değerlerine göre sırasıyla SLH 4,93; SAR 4,22; SRG1 4,47 kat; LC₉₀ değerleri için ise SLH 13,91; SRG1 8,75; AHM 6,83 kat olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre deltamethrine karşı en fazla hassasiyet azalması (LC₅₀ değerlerine göre) yaklaşık 5 kat ile SLH popülasyonunda görülmüştür (Çizelge 4).

Indoxacarb ile yapılan biyoassay çalışmalar sonucunda hassas popülasyona göre belirlenen direnç katsayısı ve popülasyonların LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri Çizelge 5'de görülmektedir.

Çizelge 5. Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında indoxacarb ile besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve chi kare değerleri ile direnç katsayıları

P	n	LC50(ppm) 0,95 Güven Aralığı	LC90(ppm) 0,95 Güven Aralığı	H	Eğim±sh	X ²	Direnç Katsayısı LC50	Direnç Katsayısı LC90
HAS	180	2,269 (0,999-5,076)	14,077 (6,015-112,571)	2,07	1,617±0,204	8,264	1,00	1,00
AHM	180	13,495 (9,382-21,012)	77,494 (43,071-208,088)	0,64	1,688±0,250	2,579	5,95	5,51
ALŞ	180	7,768 (3,641-21,720)	38,629 (15,705-633,848)	2,25	1,840±0,257	8,982	3,42	2,74
MER	180	2,815 (1,272-6,746)	21,220 (8,346-186,630)	1,94	1,461±0,178	7,779	1,24	1,51
SAR	180	2,298 (1,566-3,221)	9,303 (6,214-17,376)	0,85	2,110±0,318	3,393	1,01	0,66
SLH	180	2,471 (1,291-4,816)	14,065 (6,698-65,306)	1,55	1,697±0,209	6,210	1,09	1,00
SRBY	180	6,767 (3,271-17,551)	42,264 (16,610-507,547)	1,90	1,611±0,217	7,606	2,98	3,00
SRG1	180	5,684 (2,980-11,917)	23,313 (11,305-153,569)	1,86	2,091±0,289	7,426	2,51	1,66
SRG2	180	2,594 (0,783-9,556)	28,040 (8,115-2025,002)	2,87	1,240±0,163	11,494	1,14	1,99
YY	180	2,400 (1,002-5,909)	25,477 (9,144-308,823)	1,81	1,249±0,162	7,241	1,06	1,81

Hassas popülasyon dışındaki popülasyonların Indoxacarb için elde edilen LC₅₀ ve LC₉₀ değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayılarına göre duyarlılık kayıpları en yüksek 3 popülasyon; LC₅₀ değerlerine göre sırasıyla AHM 5,95; ALŞ 3,42; SRBY 2,98 kat; LC₉₀ değerleri için ise AHM 5,51; SRBY 3,00; ALŞ 2,74 kat olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre Indoxacarba karşı en fazla hassasiyet azalması (LC₅₀ değerlerine göre) yaklaşık 6 kat ile AHM popülasyonunda görülmüştür (Çizelge 5).

Spinosad ile yapılan biyoassay çalışmalar sonucunda hassas popülasyona göre belirlenen direnç katsayıları ve popülasyonların LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri Çizelge 6'de görülmektedir.

Çizelge 6. Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında spinosad ile besine karşılaştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve chi kare değerleri ile direnç katsayıları

P	n	LC50(ppm) 0.95 Güven Aralığı	LC90(ppm) 0.95 Güven Aralığı	H	Eğim±sh	x ²	Direnç Katsayısı LC50	Direnç Katsayısı LC90
HAS	180	0,589 (0,470-0,735)	1,740 (1,295-2,2743)	0,48	2,723±0,368	1,908	1,00	1,00
AHM	180	1,665 (0,972-3,327)	5,721 (2,977-34,057)	2,24	2,391±0,306	8,963	2,83	3,29
ALŞ	180	0,796 (0,469-1,417)	2,806 (1,539-12,298)	2,04	2,342±0,294	8,146	1,35	1,61
MER	180	0,797 (0,654-0,988)	2,030 (1,524-3,237)	0,96	3,157±0,457	3,853	1,35	1,17
SAR	180	1,693 (1,287-2,301)	7,850 (5,063-15,689)	0,81	1,924±0,255	3,221	2,87	4,51
SLH	180	0,868 (0,707-1,079)	2,303 (1,722-3,642)	0,59	3,023±0,417	2,374	1,47	1,32
SRBY	180	3,773 (3,082-4,569)	7,368 (5,785-12,085)	0,83	4,409±0,913	3,325	6,41	4,23
SRG1	180	0,665 (0,527-0,838)	2,123 (1,552-3,429)	0,46	2,541±0,335	1,847	1,13	1,22
SRG2	180	0,812 (0,392-1,659)	4,065 (1,903-36,585)	2,35	1,832±0,240	9,401	1,38	2,34
YY	180	0,727 (0,410-1,277)	4,004 (2,032-18,278)	1,55	1,730±0,224	6,181	1,23	2,30

Hassas popülasyon dışındaki popülasyonların spinosad için elde edilen LC₅₀ ve LC₉₀ değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayılarına göre duyarılık kayıpları en yüksek 3 popülasyon; LC₅₀ değerlerine göre sırasıyla SRBY 6,41, SAR 2,87, AHM 2,83 kat; LC₉₀ değerleri için ise SAR 4,51, SRBY 4,23, AHM 3,29 kat olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre Spinosada karşı en fazla hassasiyet azalması (LC₅₀ değerlerine göre) yaklaşık 7 kat ile SRBY popülasyonunda görülmüştür (Çizelge 6).

Bu çalışma sonucunda direnç katsayıları hassas popülasyon olarak seçilen HAS popülasyonundan elde edilen değerler ile kıyaslanarak elde edilmiş ve test edilen popülasyonların direnç düzeyleri çok yüksek olmadığı saptanmıştır. Bu durumun hassas popülasyon olarak seçilen Merkez 1 den kaynaklanabileceğinin düşünülmektedir. Gelecekte yapılacak yeni çalışmalarda hassas popülasyon olarak uzun süredir ilaçsız ortamda laboratuvara üretimi yapılan ve hassasiyeti bilinen bir popülasyon kullanılması durumunda direnç katsayılarında daha yüksek rakamların tespit edilmesinin yüksek ihtimal olduğu düşünülmektedir. Örneğin, Charmillot et al. (2003) İsviçre Cenevre Gölü yakınlarından topladıkları Salkım güvesi popülasyonlarında indoxacarb için LC₅₀ değerini 0,3 ppm olarak, yani bu projedeki hassas popülasyonun LC₅₀ değerinden yaklaşık 8 kat daha düşük bulmuştur. Bu durum kullanılan hassas popülasyonun hassasiyet durumu hakkında bize bazı fikirler vermektedir. Bizim çalışmamızda kullanılan besine karşılaştırma yöntemi ile İtalya'da yapılan başka bir çalışmada elde edilen sonuçlar ise bu konuda daha iyi fikir vermektedir. Civolani et al. (2014) İtalya'da bulunan uzun yıllardır üretimi devam eden bir hassas popülasyonda indoxacarb için LC₅₀ değerini 0,177 ppm olarak, yani bu projedeki hassas popülasyonun LC₅₀ değerinden yaklaşık 13 kat daha düşük bulmuştur.

Biyokimyasal test sonuçları

Biyokimyasal testlerin 3 tanesinde olumlu sonuçlar elde edilmiş olmasına rağmen P450 enzim kaynağının tespitinde yapılan birçok teste rağmen değerlendirebilecek hiçbir bir sonuç elde edilememiştir. Ayrıca GST analizinde DCNB substrat olarak kullanıldığından hiçbir sonuç alınamamıştır. GST analizleri CDNB kullanılarak yapılmıştır. P450 dışında diğer 3 enzim ölçümlerinde elde edilen sonuçlar ve elde edilen enzim aktivitesi sonuçları hassas popülasyona göre oranlanarak katsayı değerleri de Çizelge 7'de verilmiştir. Popülasyonların enzim aktiviteleri değerleri ile hassas popülasyondan elde edilen değerler arasında kayda değer bir farklılık görülmemiştir. Hassas popülasyona göre diğer popülasyonların enzim değerlerinin oranlanmasıyla elde edilen veriler bu durumu açıklamaktadır (Çizelge 7).

Çizelge 7. Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında AChE, GST ve EST enzim aktiviteleri ile bunların hassas popülasyona göre katsayıları

Popülasyon	AChE		GST		EST	
	mOD/min/mg	Katsayı	mOD/min/mg	Katsayı	mOD/min/mg	Katsayı
HASSAS	0,054	1,00	23,284	1,00	7,138	1,00
AHM	0,094	1,73	21,170	0,91	7,872	1,10
ALS	0,120	2,21	16,825	0,72	7,708	1,08
MER	0,130	2,40	25,000	1,07	10,044	1,41
SAR	0,112	2,05	24,971	1,07	8,683	1,22
SLH	0,098	1,80	20,413	0,88	7,301	1,02
SRBY	0,133	2,44	23,012	0,99	7,187	1,01
SRG1	0,125	2,30	20,224	0,87	7,023	0,98
SRG2	0,264	4,85	23,285	1,00	10,729	1,50
YY	0,174	3,19	23,600	1,01	10,101	1,41

Çizelge 7'de görülmektedir ki en dikkat çekici farklılıklar AChE enzim katsayılarında görülmektedir. SRG2 ve YY popülasyonları hassas popülasyona göre sırasıyla 4,85 ve 3,19 kat daha fazla AChE enzim aktivitesi göstermiştir. Diğer popülasyonlardan elde edilen AChE enzim aktivitesi değerleri ise hassas popülasyona göre 1,73 kat ile 2,44 kat arasında değişen değerler almıştır. En düşük AChE enzim aktivitesi değeri hassas popülasyonda görülmüştür.

EST enzim aktivitesi açısından ise, SRG1 ve hassas popülasyonun en düşük değerleri gösterdiğini söylemek mümkündür. En yüksek değerler ise hassas popülasyona göre 1,50 ve 1,41 kat ile sırasıyla SRG2 ve YY popülasyonlarında görülmüştür.

SRG2 ve YY popülasyonlarının hem AChE enzim değerleri açısından hem de EST enzim değerleri açısından en yüksek ilk 2 popülasyon olması ve diğer popülasyonlardan yüksek direnç katsayılarına sahip olması ile dikkat çekicidir.

Çizelge 3'te chlorpyrifos-ethyl için elde edilen LC₅₀ değerlerine bakıldığından ise AChE enzim aktivitesi değerleri ile paralellik gösterdiği görülmektedir. Hassas popülasyon ile oranlandığında yaklaşık 6 kat daha fazla LC₅₀ değerine sahip olan SRG2 ve YY popülasyonları, Çizelge 8'de görüldüğü gibi, AChE enzim aktivitesi değerlerinde de hassas popülasyona göre sırasıyla 4,85 ve 3,19 kat daha fazla enzim aktivitesine sahip olduğu görülmektedir. AChE enzim aktivitesi ile chlorpyrifos-ethyl için elde edilen LC₅₀ değerlerinin korelasyon analizi sonucunda $r=0,85$ rakamı elde edilmiştir ki bu rakam da enzim miktarı ile LC₅₀ değerleri arasında kuvvetli bir pozitif ilişki olduğunu göstermektedir. Diğer yandan EST enzim aktivitesi sonuçlarında da; biyoassay test sonuçlarında chlorpyrifos-ethyl için elde edilen LC₅₀ değerleri ile paralellik görülmektedir. En yüksek değeri alan iki popülasyon olarak yine karşımıza SRG2 ve YY popülasyonları çıkmaktadır. Hassas popülasyona göre katsayı oranları 1,5 kat civarında olmasına rağmen diğer popülasyonlardan, değerlerine bakıldığından farklılık göstermeleri sonucunda ayrılmaktadırlar (Çizelge 7).

Literatürde, Salkım güvesi ile yapılmış enzim aktivitesi tespiti çalışması olmamasına rağmen aynı familyadan olan Elma içkurdu ile yapılmış çalışmalar enzimler ve direnç ilişkileri hakkında fikir vermektedir.

Rodríguez et al. (2011a) İspanya elma bahçelerinden topladığı Elma iç kurdu popülasyonlarında insektisitlere karşı direnç gelişmini araştırdığı çalışmada; insektisitlerin etkinliğinin enzim aktivitesine önemli ölçüde bağımlı olduğunu bildirmiş ve İspanya'dan toplanan popülasyonlarda yapılan çalışmalar sonucunda bölgede en çok kullanılan üç insektisit için (azinphos-methyl, fenoxy carb ve fosalon) EST ve GST aktivitesine bağımlı olarak insektisit direncine sahip popülasyonların olduğu sonucuna varmışlardır.

Ayrıca yapılan diğer iki çalışmada da İspanya'da Elma iç kurdu popülasyonlarında tespit edilen yüksek AChE seviyesinin organikfosforlu ve karbamatlı insektisitlere karşı böceklerde duyarlılığını azalttığını bildirilmiştir (Reyes et al., 2007;. Reyes & Sauphanor, 2008).

Elma içkurdu için yapılan diğer çalışmalarında da insektisitlerin, detoksifikasyon enzimi olan EST aktivitesi ile yakından ilgili olduğu görülmektedir. Arjantin'de (Soleno et al., 2003, 2004, 2008) ve İspanya'da (Rodriguez et al., 2011b) yapılan çalışmalarla elde edilen yüksek seviyelerdeki EST enzim aktivitesinin organikfosforlulara karşı direnç ile ilgili olduğunu bildirilmiştir.

GST enzim aktivitesi sonuçlarına bakıldığından ise en düşük değer ALS popülasyonunda görülmüştür. Bunun dışında 4 popülasyonda da hassas popülasyona göre daha düşük değerler görülürken diğer 4 popülasyonun da hemen hemen hassas popülasyon ile aynı değere sahip oldukları görülmektedir (Çizelge 7). GST enzim analizleri sonuç olarak herhangi bir katsayı ile dikkat çekmemektedir.

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen direnç oranlarının çok yüksek düzeyde olmadığı tespit edilmiştir. Ancak biyoassay test sonuçlarında ve biyokimyasal test sonuçlarında elde edilen verilerin paralellik göstermesi önemli bir bulgu olmuştur. Hassas popülasyonun seçimi ile değişimle sonuçlar elde edilmiş olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak Manisa İli bağ alanlarında salkım güvesi popülasyonlarında yaygın kullanılan insektisitlere karşı bir direnç gelişimi başladığını söylemek mümkündür.

Teşekkür

Bu çalışmayı, 110O637 nolu proje kapsamında maddi olarak destekleyen TÜBİTAK-TOVAG kurumuna ve 2011-BİL-031 nolu proje kapsamında destekleyen EBİLTEM'e teşekkür ederiz.

Yararlanılan Kaynaklar

- Boselli, M. & M. Scannavini, 2001. Iotta alla tignoletta della vite in emilia romagna. *Informatore Agrario*, 19: 97–100.
- Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Charmillot, P.J., D. Pasquier & S. Verneau, 2003. Effectiveness of different insecticides incorporated into artificial diets on larvae of the grapevine moth *Lobesia botrana* and the grape berry moth *Eupoecilia ambiguella*. *Integrated Protection and Production in Viticulture (Appendix)* IOBC/wprs Bulletin, 26 (8-1) 1-5.
- Civolani, S., M. Boselli, A. Butturini, M. Chicca, E.A. Fano & S. Cassanelli, 2014. Assessment of insecticide resistance of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in Emilia-Romagna Region. *Journal of Economic Entomology*, 107 (3):1245-1249.
- Delen, N., C. Koplay, M. Yıldız, N. Güngör, P. Kınay, F. Yıldız & A. Çoşkuntuna, 2004. Sensitivity in *Botrytis cinerea* isolates to some fungicides with specific mode of action. XIII. *Botrytis Symposium*, 25-31 October 2004, Antalya. Abstracts, 131.
- FAOSTAT, 2013. Grape production of the world. (Web sayfası: <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E>) (Erişim tarihi: 18 Nisan 2013).
- Han, Z.J., G.D. Moores, A.L. Devonshire & I. Denholm, 1998. Association between biochemical markers and insecticide resistance in the cotton aphid, *Aphis gossypii*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 62: 164–171.
- Hansen, L. & G.E. Hodgson, 1971. Biochemical characteristics of insect microsomes N-and O-demethylation, *Biochemical Pharmacology*, 20: 1569–1573.
- Ioriatti, C., A. Lucchi, & B. Bagnoli, 2008. "Grape Areawide Pest Management in Italy, 208–225". In: *Areawide Pest Management: Theory and Implementation*, (Eds: O. Koul, G. Cuperus & N. Elliot) CABI, Wallingford, UK, 590p.
- IRAC, 2014. Resistance Definition, Backround, Development. (Web sayfası: <http://www.irac-online.org/about/resistance/>) (Erişim tarihi: 14 Şubat, 2014)
- LeOra Software, 1987. POLO-PC Probit and logic analysis. LeOra, Berkeley, CA.
- Marchesini, E. & L. Dalla Montà, 2004. Nel veneto quattro generazioni di tignoletta della vite. *L'Informatore Agrario*, 60 (4): 75-78.

- Oppenoorth, F.J., 1979. Glutathione-S-transferase and hydrolytic activity in a tetrachlorvinphos-resistant strain of house fly and their influence on resistance, *Pesticide Biochemical Physiology*, 11: 176–178.
- Öncür, C. & E. Durmuşoğlu, 2008. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, Aydın, No:28, 472 s.
- Qian, G.C., J. Song, Q. Yin, & Z. Han, 2008. Biochemical mechanisms conferring cross resistance between tebufenozide and abamectin in *Plutella xylostella*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 91:175–179.
- Rapagnani, M. R., V. Cafferelli, M. Barlettoni & F. Mineli, 1990. Descrizione di un alleuamento in laboratorio, delle tignolotta dell'ura *Lobesia botrana* Den.-Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae) su un nuovo alimento semi-sintetica, *Bulletino dell'Istituto di Entomologia 'Guido Grandi' dell'Università di Bologna*, XLIV: 57-64.
- Reyes, M., P. Frank, J.P. Charmillot, C. Ioriatti & J. Olivares, 2007. Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European populations of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Pest Management Science*, 63: 890–902.
- Reyes, M. & B. Sauphanor, 2008. Resistance monitoring in codling moth: a need for standardization. *Pest Management Science*, 64: 945–953.
- Rodriguez Garcia, M., T. Marques, A.D. Bosch Serra & J.T. Avilla Hernandez, 2011a. Assessment of insecticide resistance in eggs and neonate larvae of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae), *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100 (2): 151-159.
- Rodríguez, M.A., D. Bosch & J. Avilla, 2011b. Resistance of Spanish codling moth (*Cydia pomonella*) populations to insecticides and activity of detoxifying enzymatic systems. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 138 (3): 184–192.
- Soleno, J., C. Montagna, L. Anguiano, L. Cicho'n, D. Fernandez & A. Pechen-D'Angelo, 2003. Toxicidad de esfenvalerato y metil azinfos en poblaciones de larvas post-diapausantes de *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) del alto valle de Río Negro y Neuquén. Resúmenes XXV Congreso Nacional de Entomología, (November, 26–28), Chile, 60p.
- Soleno, J., L. Anguiano, A. Pechen-D'Angelo & C. Montagna, 2004. Tolerancia a metil azinfos en una población de larvas postdiapausantes de *Cydia pomonella* en el alto valle de Río Negro y Neuquén. Resúmenes XXVI Congreso Nacional de Entomología, Chile, (December, 1–3), p. 8
- Soleno, J., L. Anguiano, A. Pechen de D'Angelo, L. Chicho'n, D. Fernandez, & C. Montagna, 2008. Toxicological and biochemical response to azinphos-methyl in *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) among orchards from the Argentinian Patagonia. *Pest Management Science*, 64: 964–970.
- Stumpf, N., C. 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: 131-142.
- Ünal, G. & M.O. Gürkan, 2001. İnsektisitler Kimyasal Yapıları, Toksikolojileri ve Ekotoksikolojileri, 1. Baskı, Ethemoğlu Ofset Matbaacılık, Ankara, 159 s.

Orijinal araştırma (Original article)

***Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae)'nin bakla üzerinde üreme ve gelişmesine anne yaşıının etkileri**

Maternal age effects on fecundity and survival of *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) on bean

Güler YÜZTAŞ¹ İsmail KARACA¹ Mehmet Salih ÖZGÖKÇE^{2*}

Summary

In this study, the effects of maternal age on development, fecundity, longevity, generation time, preoviposition, oviposition and postoviposition times and survival rate of bean aphid, *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) were investigated. At the experiments, four different populations generated by 1, 6, 11, and 16 days old mother were used. For each experiment group, 45 replicates were used and bean leaves were used as host plant for aphid population. Experiments were carried out at $27 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ r.h. and 16:8 L:D photoperiod in a climate chamber. Data obtained for each populations were evaluated according to the age-dependent life tables. Calculation of life table parameters were made by using Euler-Lotka equation. Values obtained for intrinsic rate of increase (r_m), net reproductive rates (R_0), mean generation time (T_0), gross reproductive rate (GRR) and finite rate of increase (λ) were 0.369, 0.389, 0.349 and 0.149 females/female/day; 16.466, 14.535, 7.802 and 2.233 females/female, 7.599, 6.873, 5.893 and 5.388 days, 37.611, 28.126, 20.265 and 16.000 females/female, 1.446, 1.476, 1.417 and 1.161 females/days respectively for *Aphis fabae* populations formed by 1, 6, 11 and 16 days old mothers. Preoviposition period values for all experiment groups were zero. Values obtained for adult life times, oviposition period, postoviposition period and generation time were 6.4, 6.8, 2.6 and 0.4 days, 6.2, 8.3, 2.4 and 0.4 days, 0.2, 0.2, 0.1 and 0 days, 7.0, 7.2, 5.9 and 4.8 days respectively, for the aphid populations generated by 1, 6, 11 and 16 days aged mothers. Best fit curves were obtained by using Weibull distribution for age dependent survivals (I_x) of each populations, and their parameters were calculated. According to parameters calculated in Weibull distribution, it was found that 1. and 2. age group populations were suitable to Holling's type 1 life curve and 3. and 4. age group populations were suitable to type 3 life curve.

Key words: *Aphis fabae*, maternal age, bean, age dependent life table, Weibull distribution

Özet

Bu çalışmada baklayaprakbiti, *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae)'nın gelişme, üreme, ömrü, döl süresi, preovipozisyon, ovipozisyon ve post ovipozisyon süreleri ve canlı kalma oranları üzerinde anne yaşıının etkileri araştırılmıştır. Denemelerde 1, 6, 11. ve 16. yaşlarda annelerden alınan bireylerden oluşturulan dört farklı popülasyon incelenmiştir. Her bir deneme grubu 45 tekerrürden oluşturulmuş ve yaprakbiti için konukçu bitki olarak bakla bitkisi kullanılmıştır. Denemeler $27.5 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ orantılı nem ve 16:8 saat aydınlık koşullarının sağlandığı iklim kabinlerinde sürdürülmüştür. Her bir popülasyon için elde edilen veriler yaşa bağlı yaşam çizelgesine göre değerlendirilmiştir. Yaşam çizelgesi parametrelerinin hesaplanması Euler-Lotka eşitliğinden yararlanılmıştır. *Aphis fabae*'nin 1, 6, 11 ve 16 gün yaşılı dişilerinden elde edilen popülasyonlarının hesaplanan yaşam çizelgesi parametreleri, sırasıyla; kalitsal üreme yeteneği (r_m) 0.369, 0.389, 0.349 ve 0.149 kişi/kİŞİ/gün, net üreme gücü (R_0) 16.466, 14.535, 7.802 ve 2.233 kişi/kİŞİ, ortalama döl süresi (T_0) 7.599, 6.873, 5.893 ve 5.388 gün, toplam üreme oranı (GRR) 37.611, 28.126, 20.265 ve 16.000 kişi/kİŞİ, artış oranı sınırı (λ) 1.446, 1.476, 1.417 ve 1.161 kişi/gün olarak bulunmuştur. Ergin ömrü sırasıyla 6.4, 6.8, 2.6 ve 0.4 gün, preovipozisyon 4 deneme grubu için de 0 gün, ovipozisyon süresi sırasıyla 6.2, 8.3, 2.4 ve 0.4 gün, postovipozisyon sırasıyla 0.2, 0.2, 0.1 ve 0.0 gün ve döl süresi sırasıyla 7.0, 7.2, 5.9 ve 4.8 gün olarak belirlenmiştir. Her bir popülasyonun yaşa-bağılı canlı kalma oranları (I_x) için Weibull dağılımı kullanılarak en uygun eğri denklemleri elde edilmiş ve fonksiyonun parametreleri hesaplanmıştır. Weibull dağılımında hesaplanan parametrelere göre 1. ve 2. yaş grubu popülasyonların Holling'in 1. tip hayat eğrisine benzendiği, 3. ve 4. yaş grubu popülasyonların ise 3. tip hayat eğrisine uygun olduğu bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: *Aphis fabae*, anne yaşı, bakla, yaşa bağlı yaşam çizelgesi, Weibull dağılımı

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta, Türkiye

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Van, Türkiye

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: msozgokce@gmail.com

Alınış (Received): 12.11.2014

Kabul ediliş (Accepted): 04.02.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 22.04.2015

Giriş

Bir çok böcek türünde anne yaşıının yavrular üzerinde çeşitli etkileri olduğu bilinmektedir (Parsons, 1964; Pianka, 1978; Mousseau & Dingle, 1991; Mcintyre & Gooding, 2000; Dixon et al., 1993; Yanagi & Miyatake, 2002; Al-Lawati & Bienefeld, 2009). Yaşlı annelerden meydana gelen yavruların, genç annelerden meydana gelen yavrulara göre daha yüksek ölüm oranı gösterdikleri, daha geç sürede gelişikleri, bunlardan oluşan erginlerin daha küçük birey veya yumurta oluşturdukları ve daha düşük kalitede üreme performansı gösterdikleri bildirilmektedir (Jones et al., 1982; Wiklund & Persson, 1983; Mousseau & Dingle, 1991; Mcintyre & Gooding, 2000; Al-Lawati & Bienefeld 2009, Mahyoub et al., 2014). Yanagi & Miyatake (2002), bir çok böcek türünde artan anne yaşı ile yumurtaların büyülüğü ve sayısının ve üreme çabalarının azaldığını, bu yüzden anne yaşına bağlı olarak üremenin tam miktarını öğrenmek için yumurta sayısı ve büyülüğünün gözünden bulundurulması gerektiğini bildirmektedir.

Ancak bazı türlerde, örneğin *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae)'da genetik olarak bazı hatlara özgü olarak genellikle yaşlı annelerin daha iri ve daha yüksek canlılık oranına sahip larvalar ürettiği ve bunların gelişmelerinin daha yavaş olduğu saptanmıştır (McIntyre & Gooding, 2000). Al-Lawati & Bienefeld (2009), balarlarında embriyo ölümlerinin anne yaşı ile arttığını ve yumurta büyülüğünün kralice yaşı ile azaldığını, ancak anne yaşıının erken yaşlarda larva büyülüğünü etkilediğini ve bu dönemde daha küçük larvalar olduğunu, ancak daha sonraki yaşlarda etkilemediğini açıklamaktadır. Bazı yaprakbitlerinde dişi ömrünün sonuna doğru doğuran daha büyük yavruların genç dişinin doğurduğu küçük yavrulardan daha büyük ergin ağırlığına, ortalama oransal gelişme oranına ve potansiyel kalıtsal üreme yeteneklerine ulaşlığı bildirilmekte, bu durum anne yaşı ile birlikte gonadların sayısının azalmasına bağlı olarak yavru sayısının artmasıyla ilişkilendirilmektedir (Dixon et al., 1993). Yinede yumurta büyülüğü üstündeki anne yaşıının etkisi ve dolayısıyla bu yavrulardan meydana gelen bireylerin performansı ile yaşlı annenin doğurduğu daha büyük yavruların annenin beslenme durumundan dolayı olabileceği açıklanmaktadır (Dixon et al., 1993; Fox, 1993).

Yaşlı anneler tarafından bırakılan yumurtaların çikan yavruların daha yüksek ölüm oranına sahip oldukları ve daha yavaş gelişikleri bildirilmektedir (Fox & Dingle, 1994). Bu yüzden yavruların sağlığı üzerinde anne yaşıının pek çok etkisi doğrudan yumurta büyülüğü ile ilişkilendirilebilir (Yanagi & Miyataki, 2002). Yumurta büyülüklükleri üzerinde anne yaşıının etkileri genel olarak dişinin vücutu içindeki üreme kaynaklarının azalmasına dayırılabilir. Fox (1993) *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae)'ta besinli ve besinsiz şartlarda dişilerin bırakıkları yumurtaların büyülüğünü karşılaştırmış, besin varlığında daha yaşlı dişilerin daha büyük yumurtalar bıraktığını bildirmiştir. Stres altındaki koşullarda yumurta büyülüğünün azalması dişi kaynaklarının tüketilmesinden dolayı olduğu düşünülebilir (Yanagi & Miyataki, 2002).

Bir çok böcek en avantajlı yaşlarında yaşama gücü daha az olan küçük yumurtalar bırakmakta ve dolayısıyla farklı anne yaşlarında meydana gelmiş erginler genellikle ayırtedilememektedir (Mcintyre & Gooding, 2000). Bir çok türde yaşlı dişiler tarafından bırakılan küçük yumurtalar ile genç dişiler tarafından bırakılmış büyük yumurtalar arasında önemli farklar olup olmadığı bilinmemektedir. Bunun gibi farklılıkların belirlemenin en iyi yolu, farklı yaşlarda annelerden doğuran yavruları üretmek ve karşılaştırmaktır (Mcintyre & Gooding, 2000).

Organizmalar yaşamalarının sonuna doğru üreme çabalarını artırmaktadırlar (Pianka, 1978; Dixon et al., 1993). Bir çok araştırcı, yaşamının sonuna yaklaşan bir hayvanın azalan üreme değerini yansıtma için üreme çabalarını artırdığı yönündeki hipotezi araştırmaktadırlar. Bu araştırmaların çoğu memeliler ile ilgili olup böcekler üzerinde yapılan araştırmalar yaşam çizelgesi teorisi ile daha az ilişkilendirilmiş, çalışmalar üreme çabalarının ölçülmesinden ziyade yavru büyülüğünün ölçülmesi yönünde olmuştur (Dixon et al., 1993).

Aynı taksondan gelen türlerde görülebilen anne yaşlarının yavrular üzerindeki değişik etkileri bir türün gerçek üreme ve canlı kalma performansının belirlenmesi çalışmalarında anne yaşının en verimli ve uygun dönemini tespit etme girişimlerini zorunlu kılmaktadır. Taksonlar arasında değişiklik gösterebilen anne yaşının etkilerinin doğru tespit edilmesi zararlı yönetimi çalışmaları için önemli avantajlar ve temel bilgiler sağlamaktadır. Bu avantajlardan bazıları; yaşam çizelgesi çalışmalarında denemeye alınan bir organizmanın en iyi gelişme, üreme ve en yüksek canlı kalma performanslarının saptanması için en uygun bireylerin seçilmesi gereklidir. Doğru sonuçlara en uygun ve en verimli anne yaşıdan elde edilmiş yavrular veya yumurtalarının seçimi ile erişilebilir. Zararlı veya yararlı türlerin farklı konukcular üzerinde veya farklı çevresel şartlar altında tutulmalarıyla elde edilen yaşam çizelgesi parametreleri zararlı yönetimi çalışmaları için önemli bilgiler sağlar. Anne yaşının etkilerinin bilinmesinin faydalı böcekler için sağlayabileceği bir avantajı kitle üretimi çalışmalarında üretilen organizmaların en etkili yaş aralığının belirlenmesi zararlı yönetimi ve kontrol çalışmalarında en uygun salım ve kontrol zamanlarının bilinmesi açısından fayda sağlayabilir. Buna ilaveten, üretilen organizmaların en etkisiz ve düşük performans gösterdikleri dönemlerde gereksiz işgücü ve masrafların önlenmesi bakımından önemli tasarruflar sağlayabilir. Bu çalışmada ele alınan *Aphis fabae* bir çok otsu ve odunsu bitki üzerinde beslenen ve otuzdan fazla bitki virus hastalığını taşıyan önemli bir zararlıdır. Zararının bakla üzerinde en iyi üreme, gelişme ve canlı kalma performansını hangi anne yaşında doğuran yavrularından elde edilen popülasyonlarından olduğunu saptamak için bu çalışma ele alınmıştır. Bu amaçla zararının ilk ergin olduğu günden yaşamının sonuna doğru dört farklı yaşlarda doğuran yavrularından oluşturulmuş grupların üreme, canlı kalma ve yaşam çizelgesi parametreleri hesaplanarak anne yaşının etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bitki üretimi

Yaprakbiti stok kültürü ve denemeye alınan popülasyonlar selvi bakla çeşidi üzerinde üretilmiştir. Bitki ve stok kültür sürekliliği için haftalık periyotlarla bakla üretimi yapılmıştır.

Yaprakbiti üretimi

Aphis fabae üretimi 25 ± 1 °C ve % 60-70 orantılı nem koşullarının sağlandığı iklim kabinlerinde yapılmıştır. Koloninin sürekliliğini sağlamak için haftalık periyotlarla üretilen temiz bitkiler yaşlanmış ve çökmeye başlamış bitkilerle değiştirilerek üretim kabininde popülasyon sürekliliği sağlanmıştır. Denemelerde kullanılan yaprakbiti, Süleyman Demirel Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Biyolojik Mücadele Laboratuvarı'ndaki iklim odalarında üretilen kültürden alınmıştır.

Farklı yaş gruplarının oluşturulması

Denemelerde *A. fabae*'nın denemeye alınan bireyleri için 9 cm plastik petri kapları kullanılmıştır. Petri kaplarına konulan orta boy yapraklar iki günde bir üretim stoklarından aktarılmış, yaprakların canlılığını korumak için petri kaplarının zeminine sıvı formda agar jel (0.5-1 g/l) konulmuştur. Petri kabının tabanına sıvı agar döküldükten sonra üstüne kurutma kağıdı ve yaprak konulmuştur. Deneme için en az 10 nesil üretilmiş stok kültürden 3. ve 4. dönem nimfler petri kaplarına aktarılmıştır. Gelişmesini tamamlayan dişilerin bırakıkları nimfler ayrı ayrı deneme kaplarına aktarılırak ilk deneme popülasyonu elde edilmiştir. Bu popülasyondan elde edilen erginlerin 1., 6., 11. ve 16. gün verdikleri yavrulardan 4 ayrı deneme grubu oluşturulmuştur. Yaprakbitlerinin yaşam süresi kısa olduğundan dolayı 5 gün arayla deneme grupları oluşturulmuştur. Herbir deneme grubuna ait bireyler doğdukları ilk günden ölünceye kadar gözlenmiş, bu süre boyunca herbir gelişme dönemleri ve günde verdikleri yavru sayıları kaydedilmiştir. Her bir deneme grubu için en az 30 tekerrür kullanılmıştır. Denemeler 27.5 ± 1 °C ve % 60 ± 5 orantılı nem ve 16:8 saat aydınlatık koşullarının sağlandığı iklim dolaplarında sürdürülümüştür.

Yaşam çizelgesi, Weibull dağılımı ve analizler

Elde edilen veriler her bir popülasyon için yaşa bağlı yaşam çizelgesi ile değerlendirilmiştir. Euler-Lotka eşitliğine (Birch, 1948) göre hazırlanan yaşam çizelgesinde tüm parametreler RmStat-3 programı (Özgökçe & Karaca, 2010) yardımıyla hesaplanmıştır.

Bu parametreler:

Yaşa bağlı canlılık oranı (l_x) ve üreme oranı (m_x), (Birch, 1948),

Net üreme oranı, $R_0 = \sum l_x \cdot m_x$ (Birch, 1948),

Kalitsal üreme yeteneği (r_m), $\sum e^{(-r_m \cdot x)} l_x \cdot m_x = 1$ (Birch, 1948),

Ortalama döl süresi, $T_0 = \frac{\ln R_0}{r_m}$ (Birch, 1948),

Brüt üreme oranı, $GRR = \sum m_x$ (Birch, 1948),

Artış oranı sınırı, $\lambda = e^{r_m}$ (Birch, 1948),

Popülasyonu ikiye katlama süresi, $T_2 = \frac{\ln 2}{r_m}$ (Kairo & Murphy, 1995)

Üreme değeri, $V_x = \frac{\sum_{y=x}^{\infty} (e^{r_m \cdot y} \cdot l_y \cdot m_y)}{l_x \cdot e^{-r_m \cdot x}}$ (Imura, 1987),

Beklenen yaşam uzunluğu, $E_x = \frac{\sum_{y=x}^{\infty} \frac{l_y + l_{y+1}}{2}}{l_x}$ (Southwood, 1978; Carey, 1993),

Sabit yaş dağılımı, $C_x = \frac{l_x \cdot e^{-r_m \cdot x}}{\sum_{x=0}^{\infty} (l_x \cdot e^{-r_m \cdot x})}$ (Birch, 1948),

Farklı anne yaşılarından meydana gelen popülasyonlardan hesaplanan kalitsal üreme yeteneği değerlerinin karşılaştırma testlerinde kullanılabilmesini sağlamak amacıyla Jackknife yöntemine (Meyer et al., 1986; Özgökçe & Atlıhan, 2004) göre yapay- r_m değerleri elde edilmiştir. Hesaplanan parametreler çeşitli transformasyonlara rağmen normal dağılış göstermedikleri için, çoklu karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis ve ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney testleri (SPSS, ver. 17) kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan farklı popülasyonların yaşa bağlı canlı kalma eğrileri Weibull dağılımı ile elde edilmiştir (Pinder et al., 1978):

$$S_p(t) = e^{-\left(\frac{t}{b}\right)^c} \quad t, b, c > 0 \quad (\text{Deevey, 1947})$$

$S_p(t)$; canlı kalma ihtimalini, b ; eğimin ölçüsünü, c ; eğimin biçimini ve t ise zamanı ifade etmektedir.

Eğimin biçimini açıklayan c parametresinin aldığı değerler $c > 1$, $c = 1$ ve $c < 1$ olabilir ve bu değerlere göre canlı kalma eğrisinin Holling'in belirlediği üç tip yaşam eğrilerine benzerlikleriyle ilişkilendirilir (Deevey, 1947; Pinder et al., 1978). Bu eğrilere göre $c > 1$ gelişen popülasyonları, $c = 1$ durağan popülasyonları ve $c < 1$ gerileyen popülasyonları izah etmektedir. Ekolojik bir ortam için Weibull dağılımı

oldukça esnek olması, istatistiksel olarak bir taslak gösterebilmesi ve model parametrelerinden ekolojik olarak anlamlı sonuçlar çıkarılabilmesi açısından büyük avantajlar sağlamaktadır (Hogg & Nordheim, 1983). Parametreler, CurveExpert pro (ver. 1.6.7), SPSS (ver. 17), MS Excel (ver. 2003) paket programları yardımıyla hesaplanmıştır.

Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Aphis fabae'nin dört farklı anne yaşında oluşturulan gruplarının her bir nimf dönemleri ve toplam gelişme süreleri Çizelge 1'de verilmiştir. Tüm gruptarda farklı oranlarda olmak üzere hem kanatlı ve hem de kanatsız formlar meydana gelmiştir. Kanatlı formların oranı 1. (birinci grup), 6. (ikinci grup), 11. (üçüncü grup), ve 16. (dördüncü grup) gün yaşlı anneler için ilk gruptan itibaren sırasıyla: %70.3, 40.5, 63.2 ve 50.0 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada yapılan analizlerde kanatlı ve kanatsız formlar birlikte değerlendirilmiştir.

İlk dört nimf döneminin hem her bir yaş grubunda ve hem de farklı yaş grupları arasında benzer sürede gelişmeleri görülmüştür ($P<0.05$) (Çizelge 1). Sadece ilk iki genç gruptaki popülasyonların beşinci nimf dönemleri grup içi karşılaştırmalarda, 2.grubun ise tüm gruptar arası karşılaştırmalarda daha uzun sürede gelişmeleri bulunmaktadır ($P<0.05$). En yaşlı grupta ergin öncesinde görülen yüksek ölüm oranından dolayı 5. nimf dönemine sadece 2 birey ulaşabilmiş ve böylece bu dönemden sonraki istatistiksel değerlendirmelerin dışında tutulmuştur. Toplam gelişme sürelerini tamamlayan kanatlı ve kanatsız bireyler arasında yapılan karşılaştırmalarda kanatlıların toplam gelişme süreleri daha uzun bulunurken yaş grupları arasında en uzun gelişme süresi 2. yaş grubunda görülmüştür ($P<0.05$).

Çizelge 1. *Aphis fabae*'nin farklı anne yaşlarında elde edilen popülasyonlarının gelişme süreleri ($\text{gün} \pm \text{SH}$)

Dönemler	Anne yaşları							
	n	1 Yaş grubu	n	6 Yaş grubu	n	11 Yaş grubu	n	16 Yaş grubu
N1	45	1.49±0.082aA	45	1.73±0.133aA	45	1.76±0.111aA	45	1.78±0.095aA
N2	45	1.56±0.093aA	45	1.71±0.154aA	40	1.53±0.088aA	33	1.45±0.088aA
N3	44	1.55±0.095aA	43	1.56±0.112aA	29	1.48±0.094aA	13	1.38±0.140aA
N4	39	1.41±0.088aA	39	1.49±0.115aA	23	1.39±0.104aA	8	1.38±0.183aA
N5	26	1.73±0.204bA	15	2.40±0.289bB	12	1.33±0.142aA	2*	2.00
Toplam gelişme süresi								
Kanatlı	26	7.58±0.343bA	15	9.60±0.533bB	12	7.67±0.284bA	2*	10.00
Kanatsız	11	6.36±0.310aA	22	6.05±0.351aA	7	5.86±0.459aA	2*	4.00

Her bir sütunda aynı küçük harf ile her bir satırda aynı büyük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P<0.05$). Karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney testleri kullanılmıştır.

* Tekrar sayısı azaldığı için karşılaştırmalara dahil edilmemiştir.

Ergin döneme geçebilen grupların canlılık oranlarının anne yaşı arttıkça dramatik bir şekilde düşüğü görülmektedir. Birinci ve 2. grupta canlılık oranı %82.2 iken 3. grupta %42.2 ve 4. grupta sadece %8.9 olmuştur. Grupların üreme, nesil süresi ve ömrülerine ilişkin bulgular Çizelge 2'de verilmiştir. Tüm gruptarda preovipozisyon süresi 0 olarak kaydedilirken ovipozisyon periyotları 4.50 gün ile 9.22 gün arasında değişmiş, istatistiksel olarak en uzun süre 2. yaş grubunda kaydedilmiştir ($P<0.05$). Postovipozisyon periyodları arasında fark önemsiz bulunmuş ve bu süre gruptarda 0 ile 0.32 arasında değişmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 2. *Aphis fabae*'nın farklı anne yaşlarında elde edilen popülasyonlarının, ovipozisyon periyotları, döl ve ömür süreleri ile günlük ve toplam yavru sayıları (gün±SH).

Biyolojik parametreler	Anne yaşları							
	n	1 Yaş grubu	n	6 Yaş grubu	n	11 Yaş grubu	n	16 Yaş grubu
Preovipozisyon	37	0	37	0	19	0	4	0
Ovipozisyon	37	7.62±0.822a*	37	9.22±0.589b	19	5.89±0.666a	4	4.5±0.645a
Postovipozisyon	37	0.24±0.081a	37	0.32±0.11a	19	0.26±0.104a	4	0.00±0.00a
Ömür	37	7.86±0.819ab	37	9.54±0.604b	19	6.16±0.681a	4	4.5±0.645a
Günlük yavru s.	37	1.85±0.144b	37	2.02±0.067c	19	1.364±0.058a	4	1.61±0.039b
Toplam yavru s.	37	14.14±1.729a	37	19.59±1.718b	19	8.68±1.19a	4	7.25±1.109a

* Her bir satırda aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P<0.05$). Karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır.

Gruplarda günlük yavru doğurma sayısı farklı olarak bulunmuş, en yüksek olarak 2.02, 1.85 ve 1.61 birey ile sırasıyla 2., 1. ve 4. grupta kaydedilirken 1.36 birey ile en düşük olarak 3. grupta kaydedilmiştir ($P<0.05$). Toplam yavru verme sayıları arasında da fark önemli bulunmuş ve en yüksek yavru verimi 19.59 birey ile 2. grupta bulunmuş, diğer gruplarda 7.52-14.14 birey aralığında kaydedilmiştir ($P<0.05$).

Gruplara göre hesaplanan yaşam çizelgesi parametreleri Çizelge 3'te verilmiştir. Yapılan karşılaştırmalarda kalıtsal üreme yeteneği parametresinin ilk üç grupta 0.349-0.389 dişi/dışı/gün aralığında ve istatistiksel olarak yaş grupları arasında farksız bulunurken 4. grupta 0.149 dişi/dışı/gün ile oldukça düşük değerde hesaplanmıştır ($P<0.05$). Hesapla elde edilen diğer yaşam çizelgesi parametrelerinden net üreme gücü, ortalama döl süresi, brüt üreme oranı ve artış oranı sınırı parametrelerinin anne yaşı arttıkça gruplarda hızla düşüğü görülmüştür. Popülasyonu ikiye katlama süresi bunun aksine 1.780 gün ile en düşük 2. yaş grubunda görülmüş, diğerlerinde yaşa bağlı olarak 1.880, 1.988 ve 4.648 gün olarak artmıştır.

Çizelge 3. *Aphis fabae*'nın farklı anne yaşlarındaki popülasyonlarının yaşam çizelgesi parametreleri

Yaşam çizelgesi parametreleri	Anne yaşları			
	1 Yaş grubu	6 Yaş grubu	11 Yaş grubu	16 Yaş grubu
Euler-Lotka (Birch, 1948)				
Kalıtsal üreme yeteneği, r_m	0.369±0.048a*	0.389±0.029a	0.349±0.128a	0.149±0.049b
Net üreme oranı, R_o	16.466	14.535	7.802	2.233
Ortalama döl süresi, T_o	7.599	6.873	5.893	5.388
Brüt üreme oranı, GRR	37.611	28.126	20.265	16.000
Popülasyonu ikiye katlama, T_2	1.880	1.780	1.988	4.648
Artış oranı sınırı, λ	1.446	1.476	1.417	1.161
n	45	45	45	45

* Her bir satırda aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P<0.05$). Karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır.

Grupların canlılık ve üreme oranları, yaş dağılımı ve beklenen yaşam süreleri grafiklerde yansıtılmıştır (Şekil 1). Canlılık oranlarının (I_x) yaşa bağlı olarak özellikle ergin öncesi dönemde dramatik bir şekilde azaldığı, ergin dönemde ise nispeten sabit kaldığı, beklenen yaşam süresinin de benzer bir seyir gösterdiği görülmüştür. Beklenen yaşam süreleri nimf dönemi başlangıcında yaş gruplarına göre sırasıyla, 12.97, 13.59, 8.06 ve 4.70 gün iken bireylerin 26, 27, 18 ve 16 gün yaşadıkları görülmüştür. Özellikle bu değişimin nedeni ergin dönemde yaş dağılımının büyük ölçüde stabil olmasından kaynaklanmaktadır.

Üreme oranları (m_x) anne yaşına bağlı olarak deneme gruplarına göre azalırken üreme değerinin (V_x) en yüksek değerleri ve bu değerlere ulaştığı tarihler yaşa bağlı olmamıştır. En yüksek ve en geç maksimuma ulaştığı grup en yaşlı annelerden oluşan grup iken, bunu sırasıyla 1. 3. ve 2. grup izlemiştir.

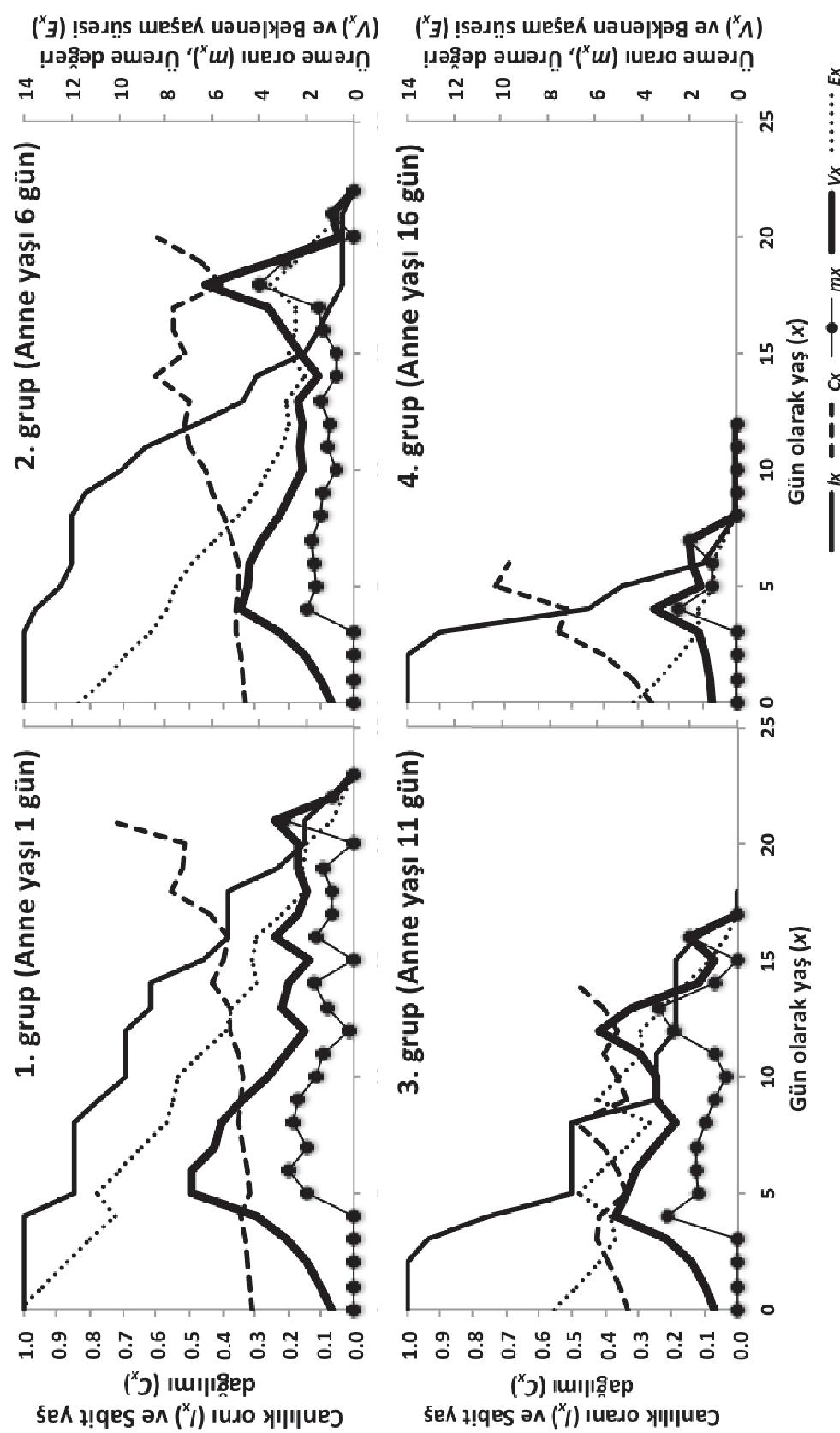
Gruplarda ergin bireylerin canlılık oranı Şekil 2'de yansıtılmıştır. Weibul dağılımı tüm gruplar için en uygun eğri eğimini vermiş (Çizelge 4). Eğimin biçimini belirleyen c parametresine göre 1 ve 6 yaşında annelerden oluşan popülasyonlar Holling'in tip 1 hayat eğrisine uygun eğim verirken ($c > 1$), 11 ve 16 yaşında annelerden oluşan popülasyonlar tip 3 eğimine ($c < 1$) uymaktadır. Bu sonuçlara göre, anne yaşı arttıkça oluşan popülasyonlardan genç olanlar artan ve yaşlı popülasyonlar azalan yönde bir eğilim içinde bulunmuşlardır.

Çizelge 4. *Aphis fabae*'nin farklı anne yaşlarındaki popülasyonlarının Weibull dağılımı parametreleri

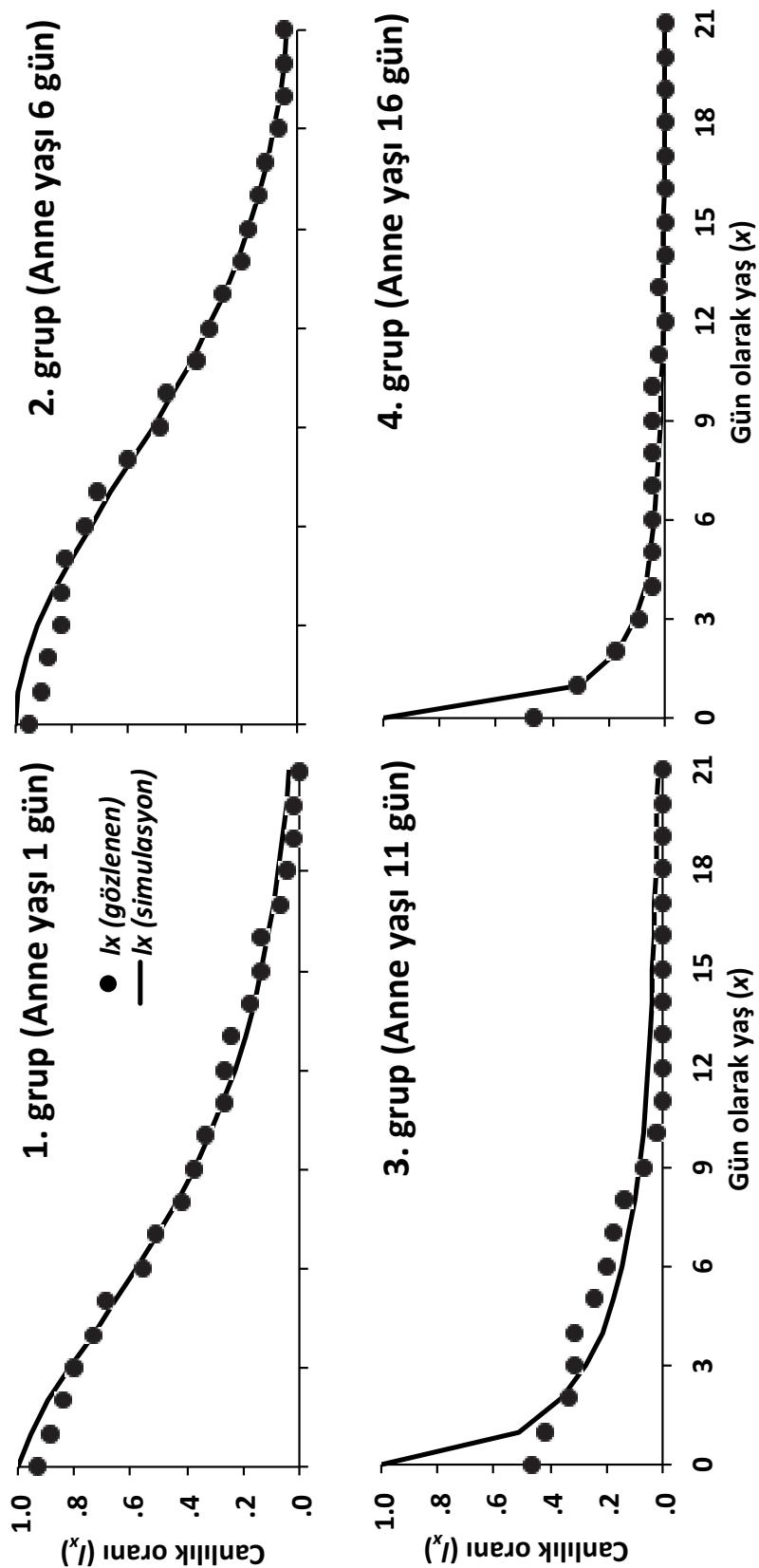
Parametreler	Anne yaşları			
	1 Yaş grubu	6 Yaş grubu	11 Yaş grubu	16 Yaş grubu
Beta (veya eğimin biçimi, c)	1.416±0.078	1.912±0.086	0.592±0.149	0.575±0.265
Alpha (veya eğimin ölçüsü, b)	9.163±0.176	11.155±0.182	1.941±0.566	0.739±0.439
RSS	0.005	0.011	0.367	0.829
R^2	0.995	0.989	0.633	0.171

Anne yaşıının üreme, canlı kalma ve yaşam çizelgesi parametreleri üstünde yaptığı çarpıcı etkiler çalışma sonucunda açık olarak görülmüştür. Ergin öncesi dönemlerde anne yaşına bağlı olarak artan ölüm oranları yaşam çizelgesi parametrelerini önemli oranda etkilemiş, özellikle en yaşlı anneden oluşan grubun yaşam çizelgesi parametreleri oldukça düşük bulunmuştur. Anne yaşına bağlı olarak artan ölüm oranı bir çok böcek türünde sık rastlanan bir olaydır. Fox et al. (2003) ve Mahyuob et al. (2014) *Callosobruchus bimaculatus*'un artan anne yaşıının ölüm oranını artttırdığını bildirmektedir. Al-Lawati & Bienefeld (2009), bal aralarında artan kralice yaşıının embryo ve larvalarda ölüm oranını önemli ölçüde artttırdığını açıklamaktadırlar.

Birçok böcek türünde kaydedilen artan anne yaşına bağlı olarak gelişme süresinde görülen yavaşlama (Jones et al., 1982; Wiklund & Persson, 1983; Mousseau & Dingle, 1991; Mcintyre & Gooding, 2000; Al-Lawati & Bienefeld, 2009, Mahyuob et al., 2014) bu çalışmada en genç ve yaşlı annelerden oluşan nimflerde önemli görülmezken sadece 2. yaş grubunda istatiksel olarak önemli bulunmuştur. Bu grupta kanatlı birey oranı en düşük seviyede olmasına karşın özellikle az sayıdaki kanatlıların yavaş gelişmeleri kanatlı-kanatsız formların analizlerde birlikte değerlendirilmelerinden ötürü bu grubun diğerlerinden daha uzun gelişmesi şeklinde yansımıştır. Ancak kanatsız formlara göre değerlendirmelerde tüm grupların aynı sürede gelişikleri gözlenmiştir.



Şekil 1. *Aphis fabae*'nın farklı anne yaşlarındaki popülasyonlarının canlılık oranı (I_x), sabit yaş dağılımı (C_x), üreme oranı (m_x), üreme değeri (V_x) ve beklenen yaşam süresi (E_x).



Şekil 2. *Aphelinus fabae*'nin farklı anne yaşlarındaki popülasyonlarının canlılık olasılığını Weibull fonksiyonu yardımıyla gösteren en uygun eğri eğimleri.

Farklı anne yaşılarının kanatlı ergin birey oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir. Özellikle 2. yaş grubunda kanatsız formların, 1. ve 3. yaş grubunda ise kanatlı formların daha fazla olduğu görülmüştür. Afitler yaşam döngülerinde daha çok partenogenetik çoğalılar (Dixon, 1998). Düşük sıcaklık (Nunes & Hardie, 1999), bitki kalitesinde düşüş (Wiktelius, 1992), fotoperiyot değişikliği (Hardie & Lees, 1983) veya doğal düşman varlığı (Dixon & Agarwala, 1999) kanatlı afit üretimine yol açar. Bu çalışmada tüm deneme grupları aynı kontrollü koşullarda tutulduğundan gruplardaki kanatlanma oranlarının farklılığını anne yaşıının etkisinde kalmış olabileceği düşünülmektedir.

Dixon et al. (1993), *Cavariella aegopodi*'nın üreme değerinin artan anne yaşına bağlı olarak azaldığını, ancak kalıtsal üreme yeteneği parametresinin bu çalışmada sonuçların aksine arttığını bildirmektedir. Bu çalışmada özellikle yaşa bağlı olarak artan yüksek ölüm oranlarına rağmen ilk üç yaş grubunda kalıtsal üreme yeteneği parametreleri arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmazken, son grupta ergin öncesi dönemde kaydedilen %96 oranındaki aşırı yüksek ölüm oranından dolayı analizlerde farklılık yaratmış olabilir.

Kanatsız formların baskın olduğu 2. yaş grubu popülasyonların günlük ve toplam üreme oranları diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur. Bu grubun yaşam çizelgesi parametrelerinin de genel olarak diğer gruplardan daha iyi olduğu, tüm popülasyonların ergin dönemlerinin en uygun canlı kalma eğrileri incelendiğinde eğimin biçimini işaret eden c parametresine göre diğer gruplar gerileyen ve durağana yakın gelişmekte olan popülasyonları temsil ederken 2. popülasyon daha yüksek c parametresiyle gelişmekte olan popülasyonlara daha yakın eğime sahip bulunmuştur. Tüm bu sonuçlardan genç annelerden, bilhassa ikinci yaş grubunda olan annelerden meydana gelen popülasyonların yaşı annelerden meydana gelen popülasyonlardan daha yüksek canlı kalma oranı, daha düşük kanatsız formda dışı birey oluşturma, daha iyi yaşam çizelgesi parametreleri değerlerine sahip olma ve daha stabil yaşta bir popülasyon oluşturma gibi iyi niteliklere sahip olduğu sonucu çıkarılabilir. Bir organizmanın tüm biyolojik özelliklerinin bir özeti yansitan yaşam çizelgelerini ve popülasyon dinamiklerini bilhassa hangi yaş gruppında annelerden oluşan popülasyonların hangi ölçülerde etkileyebildiği bu tür temel çalışmalarla daha iyi anlaşılmaktadır. Elde edilen sonuçlardan *A. fabae*'nın en gerçekçi yaşam çizelgesi parametrelerinin ilk hafta doğuran yavrularından oluşturulan denemelerden saptanabildiği anlaşılmaktadır. Benzer çalışmalarla farklı taksonların anne yaşılarının yavrular üzerindeki etkilerinin farklı olabileceği gözönünde bulundurularak denemeler kurulmalıdır. Bu çalışmada ayrıca *A. fabae*'nın ilk iki haftalık popülasyonlarının en yüksek zarar oluşturma potansiyeline sahip oldukları anlaşılmaktadır. Bu durum zararının parthenogenetik olarak çoğamasından başka, üremenin ilk iki haftasında popülasyona dahil olan bireylerin yüksek üreme ve canlı kalma performansına sahip olmalarının da etkisiyle kısa sürede büyük popülasyonlar oluşturarak meydana getirdikleri büyük zararları daha iyi açıklamaktadır.

Yararlanılan Kaynaklar

- Al-Lawati, H. & K. Bienefeld, 2009. Maternal age effects on embryo mortality and juvenile development of offspring in the honeybee (Hymenoptera: Apidae). Annals of Entomological Society America, 102: 881-888.
- Birch, L. C., 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. Journal of Animal Ecology, 17: 15-26.
- Carey, J. R., 1993. Applied Demography for Biologists with Special Emphasis on Insects. Oxford University Press, Oxford, UK, 206 pp.
- Deevey, E. S., 1947. Life tables for natural populations. Quarterly Review of Biology, 22: 283-314.
- Dixon, A. F. G., R. Kundu & P. Kindlmann, 1993. Reproductive effort and maternal age in iteroparous insects using aphids as a model group. Functional Ecology, 7 (3): 267-272.
- Dixon, A. F. G., 1998. Aphid Ecology: An Optimization Approach, 2nd edn. Chapman & Hall, London, 290 pp.
- Dixon, A. F. G., & B. K. Agarwala, 1999. "Ladybird-Induced Life-History Changes in Aphids". Proceedings Of The Royal Society Of London Series B-Biological Sciences, 266: 1549-1553.

- Fox, C. W., 1993. The influence of maternal age and mating frequency on egg size and offspring performance in *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Oecologia*, 96 (1): 139-146.
- Fox C. W. & H. Dingle, 1994. Dietary mediation of maternal age effects on offspring performance in a seed beetle (Coleoptera: Bruchidae). *Functional Ecology*, 8: 600-606.
- Fox, C. W., M. L. Bush & W. G. Wallin, 2003. Maternal age affects offspring lifespan of the seedbeetle, *Callosobruchus maculatus*. *Functional Ecology*, 17: 811-820.
- Hardie, J. & A. D. Lees, 1983. Photoperiodic regulation of the development of winged gynoparae in the aphid, *Aphis fabae*. *Physiological Entomology*, 8: 385-391.
- Hogg, D. B. & E. V. Nordheim, 1983. Age-specific survivorship analysis of *Heliothis* spp. populations on cotton. *Researches on Population Ecology*, 25: 280-297.
- Imura, O., 1987. Demographic attributes of *Tribolium freemani* Hinton (Coleoptera: Tenebrionidae). *The journal Applied Entomology and Zoology*, 22 (4): 449-455.
- Jones, R. E., J. R. Hart & G. D. Bull, 1982. Temperature, size and egg production in the cabbage butterfly, *Pieris rapae* L. *Australian Journal of Zoology*, 30 (2): 223-231.
- Kairo, M. T. K. & S. T., Murphy, 1995. The life history of *Rodolia iceryae* Janson (Coleoptera:Coccinellidae) and the potential for use in innoculative releases against *Icerya pattersoni* Newstead (Homoptera: Margarodidae) on coffee. *Journal of Applied Entomology*, 119, 487-491.
- Mahyoub J. A., Y. N. Aldryhim, A. K. EL. Sayed, Al T. Aziz & A. Khalil, 2014. Combination effect of maternal age and temperature on the rate of increase of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 7 (1): 23-30.
- Meyer J. S., C. G. Ingersoll, L. L. McDonald & M. S. Boyce, 1986. Estimating uncertainty in population growth rates: jackknife vs. bootstrap techniques. *Ecology*, 67, 1156-1166.
- Mcintyre, G. S. & R. H. Gooding, 2000. Effects of maternal age on larval competitiveness in house flies. *Heredity*, 85: 480-489.
- Meyer, J. S., C. G., Ingersoll, L. L., McDonald & M. S., Boyce, 1986. Estimating uncertainty inpopulation growth rates, jackknife vs. bootstrap techniques. *Ecology*, 67: 1156-1166.
- Mousseau, T. A. & H. Dingle, 1991. "Maternal effects in insects: Examples, constraints, and geographic variation, 745-761". In: *The Unity of Evolutionary Biology*, (Ed. E.C. Dudley), Dioscorides Press, Portland, OR., 800 pp.
- Nunes, M. V. & J. Hardie, 1999. The effect of temperature on the photoperiodic 'counters' for female morph and sex determination in two clones of the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Physiological Entomology*, 24: 339-345.
- Özgökçe, M. S. & R. Atlıhan, 2004. Biological features and life table parameters of mealyplum aphid, *Hyalopterus pruni* on different apricot cultivars. *Phytoparasitica*, 33 (1): 7-14.
- Özgökçe, M. S. & İ. Karaca, 2010. Yaşam Çizelgesi: Temel Prensipler ve Uygulamalar. Türkiye Entomoloji Derneği 1. Çalıştayı, Ekoloji Çalışma Grubu, 11-12 Haziran 2010, Isparta.
- Parsons, P. A., 1964. Parental age and the offspring. *Quarterly Review of Biology*, 39: 258-275.
- Pianka, E. R., 1978. *Evolutionary Ecology*, 2nd edn. Harper & Row, New York, 397 pp.
- Pinder, J. E. III, J. G. Wiener, & M. H. Smith, 1978. The Weibull distribution: a new method of summarizing survivorship data. *Ecology*, 59: 175-179.
- Southwood, T. R. E., 1978. *Ecological methods*. Halsted Press, Chapman and Hall. London, 524 pp.
- Wiklund, C. & A. Persson, 1983. Fecundity and the relation of egg weight variation to offspring fitness in the speckled wood butterfly *Pararge aegeria*, or why don't butterfly females lay more eggs? *Oikos*, 40 (1): 53-63.
- Wiktelius, S., 1992. The induction of alatae in *Rhopalosiphum padi* (L) (Homoptera: Aphididae) in relation to crowding and plant-growth stage in spring sown barley. *Journal of Applied Entomology*, 114: 491-496.
- Yanagi, S-I. & T. Miyatake, 2002. Effects of maternal age on reproductive traits and fitness components of the offspring in the bruchid beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *Physiological Entomology*, 27 (4): 261-266.

Orijinal araştırma (Original article)

Bazı böcek büyümeye düzenleyicilerinin ve bioinsektisitlerin avcı akarlar *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) ve *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae)'a toksik etkileri^{1,2}

The toxic effects of some insect growth regulators and bioinsecticides on predators mites *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot ve *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae)

Derya KURUBAL³ Recep AY^{4*}

Summary

In this study, the side effects of some insect growth regulators, microbial and bioinsecticides against predator mites *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot and *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) were studied. Three microbial insecticides (*Metarrhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* ve *Cydia pomonella granulovirus* (CpGV), one botanical insecticide (azadirachtin), and ten insect growth regulators (methoxyfenozide, diflubenzuron, novaluron, buprofezin, pyriproxyfen, chlorfluazuron, lufenuron, lufenuron+fenoxycarb, flufenoxuron, hexythiazox) were used. Direct and residual assays were used to determine acute effects and mortality ratio was determined after 72 hours. In addition, the lifespan, pre-oviposition and oviposition periods, the mean number of eggs of predatory mite females which were grown from larvae exposed to direct pesticides application and the hatching ratio of their eggs were determined. The acute effect of all used pesticides on both predatory mites is below 30 %. Regarding the long-term effects, CpGV and azadirachtin did not affect lifespan of *N. californicus*. Also all of the other pesticides were significantly decreased the lifespan of *N. californicus*. All used pesticides have significantly decreased the lifespan of *P. persimilis* compared to control group. The fecundity of individuals of *N. californicus* and of *P. persimilis* decreased to varying degrees according to used pesticide. Oviposition period of *N. californicus* was not affected by CpGV and azadirachtin. The other pesticides decreased the oviposition period of *N. californicus*. All pesticides affected the oviposition period of *P. persimilis* equally and resulted in decreased oviposition period of *P. persimilis*.

Key words: *Neoseiulus californicus*, *Phytoseiulus persimilis*, bioinsecticides, microbial insecticides, insect growth regulators

Özet

Bu çalışmada bazı böcek büyümeye düzenleyicilerin, mikrobiyal ve bioinsektisitlerin avcı akar *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot ve *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae)'a yan etkileri belirlenmiştir. Bu amaçla denemelerde mikrobiyal insektisitlerden *Metarrhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* ve *Cydia pomonella granül virüsü* (CpGV); bitkisel insektisitlerden azadirachtin ve böcek büyümeye düzenleyicilerden methoxyfenozide, diflubenzuron, novaluron, buprofezin, pyriproxyfen, chlorfluazuron, lufenuron, lufenuron+fenoxycarb, flufenoxuron hexythiazox kullanılmıştır. Akut etkileri belirlemek için direkt püskürme ve kuru rezidü yöntemleri kullanılmıştır ve 72 saat sonra ölü-canlı sayıları yapılarak % ölüm oranları belirlenmiştir. Buna ilaveten direkt uygulama yapılan avcı akar larvalarının yaşam süreleri, pre-ovipozisyon, ovipozisyon ve bırakılan ortalama yumurta sayıları ve yumurtalarının açılma oranları belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan bütün pestisitlerin her iki avcı akara'da akut etkisi % 30'dan az olmuştur. Yaşam sürelerine etkisi incelendiğinde, CpGV ve azadirachtin *N. californicus*'un yaşam süresini etkilememiştir. Diğer pestisitlerin ise tamamı *N. californicus*'un yaşam süresini önemli derecede kısaltmıştır. Kullanılan tüm pestisitler *P. persimilis* yaşam süresini kontrole göre önemli derecede azaltmıştır. *N. californicus* ve *P. persimilis*'in bireylerinin yumurta verimi uygulanan pestisitlere göre farklı derecelerde azaltmıştır. *N. californicus*'un ovipozisyon süresi CpGV ve azadirachtin etkili pestisitlerden etkilenmemiştir. Diğer tüm pestisitler *N. californicus*'un ovipozisyon süresini azaltmıştır. *P. persimilis*'in ovipozisyon süresini ise bütün pestisitler aynı ölçüde etkileyerek azalmasına neden olmuştur.

Anahtar sözcükler: *Neoseiulus californicus*, *Phytoseiulus persimilis*, bioinsektisit, mikrobiyal insektisit, böcek büyümeye düzenleyici

¹ Bu çalışma birinci yazarın Yüksek Lisans Tezinin bir bölümündür.

² Bu çalışmanın bir bölümü Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuş ve özet olarak basılmıştır.

³ Lances Link Kimya ve İlaç San. Tic. A.Ş. Fenerbahçe-İstanbul, Türkiye

⁴ Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta, Türkiye

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

Alınış (Received): 05.11.2014 Kabul edilmiş (Accepted): 19.02.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 22.04.2015

Giriş

Acarı alt sınıfı içerisinde yer alan kırmızıörümcekler önemli bir zararlı grubudur ve mücadele yapılmadığı durumlarda önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Doğal dengenin korunduğu ya da geniş etkili tarımsal savaş ilaçlarının kullanılmadığı alanlarda kırmızıörümceklerin önemli bir sorun olmadığı, popülasyon yoğunluğunun düşük seviyelerde olduğu gözlenmiştir (Debach, 1974; Uygun et al., 1991). Kırmızıörümceklerin bu alanlarda kontrol altında tutulmasında en önemli etken ise avcılardır. Kırmızıörümceklerin doğada pek çok avcısı bulunmaktadır. Bu avcılar içerisinde en önemli grup ise Acarı alt sınıfına bağlı Phytoseiidae familyası üyeleridir (McMurtry & Croft, 1997). Avcı akarlar, zararlı akarlardan daha kısa gelişme süresine sahip olmaları, larva, nimf ve ergin dönemleri boyunca aktif olarak beslenmeleri ve çok geniş yaşama alanlarında bulunmaları nedeni ile biyolojik mücadelede kullanılmaktadırlar (Işık & Kazak, 2008).

Phytoseiulus persimilis A.-H. (Acarı: Phytoseiidae) seralarda kırmızıörümceklere karşı başarıyla kullanılan bir avcı akardır. Özellikle seralarda *Tetranychus urticae* (Koch) ve *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acarı: Tetranychidae)'a özelleşmiş olan bu tür, birçok Avrupa ülkesinde ticari olarak üretilip satılmaktadır (van Lenteren, 2000).

Neoseiulus californicus'un doğal popülasyonlarının kurak, yarı tropikal ve Akdeniz ülkelerinde yayıldığı bildirilmektedir (Raworth et al. 1994). Türkiye'de ise ilk kez Çakmak & Çobanoğlu (2006) tarafından Aydın'ın Kuşadası ilçesinde çilek, şeftali, fasulye ve biber bitkileri üzerinde zararlı olan *T. urticae* ve *Panonychus ulmi* (Acarı: Tetranychidae) üzerinde 2001-2003 yılları arasında saptanmıştır. Daha sonra 2008 yılında Yorulmaz Salman & Ay (2012) tarafından Isparta İli'nde elma bahçelerinde bulunmuştur. Bu tür de ülkemizde ve birçok ülkede ticari olarak üretilip satılmaktadır.

Bilindiği gibi böcek büyümeye düzenleyicilerin, mikrobiyal insektisitlerin ve bitkisel insektisitlerin çevre ve insan sağlığı üzerine etkisinin daha sınırlı olduğu düşünülmektedir. Ancak doğal düşmanlar üzerindeki etkileri tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada büyümeye düzenleyiciler, mikrobiyal insektisitler ve bitkisel insektisitlerin avcı akarlar *P. persimilis* ve *N. californicus*'a akut etkileri ve bu türlerin gelişme ve çoğalmasına etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Çalışmanın ana materyalini 2008 yılında Isparta Meyvecilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü organik elma bahçesinden toplanan avcı akar *Neoseiulus californicus* ve Hatay orjinli *Phytoseiulus persimilis* (2008 yılından bu yana ilaçsız ortamda üretilmektedirler); avcı akarlara av olarak üretilen *Tetranychus urticae*, konukçu bitki olarak fasulye bitkisi ve denemelerde kullanılan pestisitler oluşturulmuştur. Çalışmalar 2010-2011 yıllarında yapılmıştır.

***Neoseiulus californicus* ve *Phytoseiulus persimilis* popülasyonlarının yetiştirmesi:** *N. californicus* ve *P. persimilis* popülasyonları böcek yetişirme kabinlerinde av olarak kullanılan *T. urticae* ile bulaşık fasulye bitkileri üzerinde yetiştirilmiştir. Avcı akarlarla bulaşık olan bitkiye *T. urticae* ile bulaşık fasulye bitkisinin yaprakları düzenli olarak verilmiş ve avcılar beslenerek çoğalması sağlanmıştır. Her üç türde $26\pm1^\circ\text{C}$ sıcaklık, 16 aydınlatık: 8 karanlık foto periyot ve % 60±5 oransal nem koşullarındaki böcek yetişirme kabinlerinde üretilmiştir.

Kullanılan pestisitler ve uygulama dozları: Bu çalışmada genel olarak avcı akarlara etkisi olmadığı düşünülen ve IPM programlarında önerilen biopestisitler ve böcek büyümeye düzenleyici pestisitler tercih edilmiştir. Çalışmada kullanılan ilaçlara ait bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir.

Metod

Çalışmada bazı pestisitlerin avcı akarlara akut toksiteleri direkt püskürme ve kuru rezidü yöntemleriyle, ayrıca direk püskürmeye maruz kalan avcı akar bireylerinin gelişme süreleri ve çoğalma oranlarına etkileri belirlenmiştir. Denemelerde avcı bireylerin 0-24 saatlik larvaları kullanılmıştır.

Çizelge 1. Kullanılan pestisitler ve özellikleri

Aktif madde	Etkili madde oranı	İlacın ticari adı	Uygulama dozu
Azadirachtin	10g/L	Neemazal-T/S	500 ml/100 l su
<i>Beauveria bassiana</i>	2.3X10 ⁷ cfu/ml	Dopteril	150 ml/100 l su
<i>Metarhizium anisopliae</i>	5x10 ⁹ conidia/g	Met 52 EC	100 ml/100 l su
<i>Cydia pomonella</i> granül virüsü (CpGV)	3x10 ¹³ granül virüs/L	Madex	100ml/100 l su
Buprofezin	400 g/L	Safflaoud SC	65 ml/100 l su
Pyriproxyfen	100 g/L	Admiral 10 EC	50 ml/100 l su
Chlorfluazuron	50 g/L	Dorizon 5 EC	75 ml/100 l su
Diflubenzuron	480g/L	Dimilin SC 48	20 ml/100 l su
Lufenuron	50 g/L	Big-mech EC	30 ml/100 l su
Lufenuron+fenoxycarb	30 g/L luf.+75 g/L fenox.	Lufenox 105 EC	100 ml/100 l su
Novaluron	100 g/L	Supra 10 SC	60 ml/100 l su
Methoxyfenozide	SC 240 g/L	Prodigy 240 SC	60 m/100 l su
Flufenoxuron	50 g/L	Cascade 50 DC	150 ml/100 l su
Hexythiazox	50 g/L	Twister 5 EC	100 ml/100 l su

İlaçların uygulamaya hazırlanması ve uygulanması

İlaç denemelerinde her ilaç için 1 tarla uygulama dozu+ 1 kontrol grubu kullanılmıştır (Çizelge1). İlacın tarla dozu saf su ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Kontrol grubu saf su ile ilaçlanmıştır. Bütün uygulamalarda, ilaçlar ilaçlama kulesi (Auto-Load; Burkard Scientific) ile püskürtülmüştür İlaçlama kulesi 1 bar basınçta çalıştırılmış ve her bir Petri kabına 2 ml ilaçlı sıvı püskürtülmüştür.

Akut etki çalışmaları

Akut etki çalışmalarında direkt uygulama ve kuru rezidü olmak üzere 2 yöntem kullanılmıştır.

Direkt uygulama

Avcı akarlarının 0-24 saatlik larvaları, Petri kaplarında ıslak pamuk üzerine yerleştirilmiş yaprak diskleri üzerine her Petri kabında 15-20 birey olacak şekilde aktarılmıştır. Ele alınan ilaçlar ilaçlama kulesi ile direkt larvalar üzerine püskürtülmüştür. Kontrol grubuna sadece saf su uygulanmıştır.

Direkt ilaçla temas eden bireylerin bulunduğu Petri kaplarına 20-25 dk kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra ilaçlı bireyler temiz yaprak disklerine ince uçlu fırça yardımıyla aktarılmıştır ve yeterli av sağlanarak yetişirme odasına bırakılmıştır. Denemeler 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Uygulamadan 72 saat sonra canlı-ölü sayımı yapılmış ve elde edilen verilere Abbott (1925) uygulanarak ilaçların etkisi belirlenmiştir.

Kuru rezidü

Hazırlanan ilaç solüsyonları ilaçlama kulesi kullanılarak ıslak pamuk üzerine yerleştirilmiş boş yaprak diskleri üzerine püskürtülmüştür. Kontrol grubuna saf su uygulanmıştır.

Uygulama yapılan yaprak diskleri 20-25 dk kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra ilaçlama yapılan yaprak disklerine bir fırça yardımı ile 15-20 adet 24 saatlik avcı akar larvası aktarılmıştır ve yeterli av sağlanarak yetişirme odasına bırakılmıştır. Denemeler 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Uygulamadan 72 saat sonra canlı-ölü sayımı yapılmış ve elde edilen verilere Abbott formülü (1925) uygulanarak ilaçların etkisi belirlenmiştir.

İlaçların akut etki yöntemlerinin her ikisinde % ölüm oranları Abbott uygulanarak belirlenmiştir. $Ma = (Mt - Mc) / (100 - Mc) \times 100\%$; Ma = Abbott'a göre gerçek ölüm oranı; Mt = Uygulamadaki ölüm oranı; Mc = Kontroldeki ölüm oranı.

Akut etki çalışmalarında elde edilen % ölüm oranları IOBC (International Organisation for Biological Control) sınıf değerlerine göre değerlendirilmiştir (Hassan, 1992; Sterk et al., 1999). Buna göre % ölüm oranı <30 zararsız, 30-79 az zararlı, 80-99 orta derecede zararlı ve >99 çok zararlı olarak kabul edilmiştir.

Gelişme ve çoğalma üzerine etkilerin belirlenmesi

Petri kapları içerisinde ıslatılmış pamuk üzerine yerleştirilen yaprak diskleri üzerine (60-70 adet) 0-24 saatlik larva aktarılmıştır. Tarla dozlarında hazırlanan ilaç konsantrasyonları ilaçlama kulesi ile üzerinde larva bulunan yaprak disklerine doğrudan püskürtülmüştür. Kontrol grubu ise saf su ile muamele edilmiştir.

Direkt ilaçla temas eden bireylerin bulunduğu Petri kaplarına 20-25 dk kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra ilaçlı bireyler temiz yaprak disklerine her bir Petri kaplarına 1 tane avcı akar olacak şekilde ince uçlu fırça yardımıyla aktarılmış ve yeterli av sağlanarak yetiştirme odasına bırakılmıştır. Günlük kontroller yapılarak gerekçe *T. urticae* bireylerinin bütün dönemleri av olarak eklenmeye devam edilmiştir.

Bu sırada her yaprak diskindeki bireyler ergin döneme geçer geçmez yanlarına erkek bir birey aktarılarak her hücrede bir dişi bir erkek birey olması sağlanmıştır. Çiftleşmeden sonra (24 saat sonra) erkek birey uzaklaştırılarak dişi ergin bireyin yumurtaları günlük olarak sayılmış ve sayılan yumurtalar başka bir yaprak diskine aktarılmıştır. Stereo-binoküler mikroskop altında günlük yapılan sayı ve gözlemlerle bırakılan yumurta sayısı, yumurtaların açılma oranı, pre-ovipozisyon ve ovipozisyon süreleri, bireylerin ergin döneme geçme oranı, birey ölünceye kadar izlenerek tespit edilmiştir.

Bütün çalışmaları $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, 16:8 aydınlatma:karanlık foto periyot ve % 60 ± 5 oransal nem koşullarındaki yetiştirme odasında yürütülmüştür.

İstatistik değerlendirme

Avcı akarlarının yaşam uzunluğu, preovipozisyon süreleri, ovipozisyon süreleri ve yumurta verimlerinden elde edilen veriler 2 faktörlü faktöriyel düzende varyans analizi tekniğiyle analiz edilmiştir. Denemede tür faktörünün *N. californicus* ve *P. persimilis* olmak üzere 2 seviyesi, ilaç faktörünün ise kontrol, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* ve *Cydia pomonella* granül virüsü, azadirachtin, methoxyfenozide, diflubenziron, novaluron, buprofezin, pyriproxyfen, chlorfluazuron, lufenuron, lufenuron+fenoxycarb, flufenoxuron, hexythiazox olmak üzere 15 seviyesi mevcuttur.

Avcı akarlarında ilaçların akut etkileri % olarak elde edildiği için veriler açı transformasyonuna sayilarak elde edilen verilerde $\sqrt{(x+3/8)}$ transformasyonuna tabii tutularak analize dahil edilmiştir.

Çalışmada elde edilen veriler faktöriyel düzende varyans analizi tekniğiyle analiz edilmiştir. Denemede akut etki özelliği için 3 faktörlü faktöriyel düzende varyans analizi uygulanmıştır. Tür faktörünün *N. californicus* ve *P. persimilis* olmak üzere 2 seviyesi, ilaç faktörünün ise Kontrol, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* ve *Cydia pomonella* granül virüsü, azadirachtin, methoxyfenozide, diflubenziron, novaluron, buprofezin, pyriproxyfen, chlorfluazuron, lufenuron, lufenuron+fenoxycarb, flufenoxuron, hexythiazox olmak üzere 15 seviyesi mevcuttur. Alt gruplardaki gözlem adedi sayısı 4'tür. Grup ortalamaları arasındaki farkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır.

Araştırma Sonuçları

Çalışmada ele alınan pestisitlerin avcı akarlar *N. californicus* ve *P. persimilis*'e akut toksiteleri, yaşam sürelerine ve yumurta bırakma oranına etkileri belirlenmiştir. Ortaya çıkan sonuçlarda, kullanılan yöntemde, ilaç çeşidine ve avcı akar türlerine göre farklılıklar olduğu gözlenmiştir.

İlaçların *Neoseiulus californicus* ve *Phytoseiulus persimilis*'e akut etkileri: İlaçların türlere gösterdikleri etkiler ilaçlara göre değişmiştir ve ilaçların etkileri istatistik olarak direkt uygulamada farklı gruplar oluştururlarken, kuru rezidü yönteminde aynı grup içerisinde yer almışlardır. Pestisitlerin *N. californicus* ve *P. persimilis*'e akut etkileri Çizelge 2'de verilmiştir. Pestisitlerin direkt uygulandığı akut yöntemde *N. californicus'a* Azadirachtin'in etkisi olmamış ve *B. bassiana* ve flufenoxuron'da istatistik olarak azadiractin ile aynı grup içerisinde yer almıştır ($P<0.05$). *N. californicus'a* en yüksek etkiyi ise pyriproxyfen göstermiştir. Pestisitlerin direkt uygulandığı yöntemde *P. persimilis'e* en az etkiyi CpGV, en yüksek etkiyi ise lufenuron göstermiştir ($P<0.05$). Akut etkinin çalışıldığı diğer bir yöntem olan kuru rezidü yönteminde ise ilaçları gösterdiği etki istatistik olarak her iki türde de aynı düzeyde olmuştur ($P<0.05$). Çizelge 2'de görüldüğü gibi bütün ilaçların akut etkileri her iki türe de % 30'un altında olmuştur. Bu sonuçlara göre IOBC sınıf değerlerine göre tüm ilaçların her iki türe de zararsız olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 2. İlaçların *Neoseiulus californicus* ve *Phytoseiulus persimilis*'e akut etkileri

İlaçlar	<i>Neoseiulus californicus</i>				<i>Phytoseiulus persimilis</i>			
	n*	Direkt uyg. (% ölüm)	n*	Kuru rezidü (% ölüm)	n*	Direkt uyg. (% ölüm)	n*	Kuru rezidü (% ölüm)
Azadirachtin	65	0.00±0.00 B	62	0.00±0.00 A	59	16.88±6.20 AB	66	2.64±1.53 A
CpGV	65	6.72±2.94 AB	67	0.00±0.00 A	61	1.60±0.93 B	65	2.40±1.39 A
<i>Beauveria bassiana</i>	67	1.02±1.02 B	64	3.24±3.24 A	59	10.32±5.07 AB	57	7.29±2.94 A
<i>Metarhizium anisopliae</i>	63	2.79±0.99 AB	62	1.21±1.21 A	62	7.74±2.81 AB	65	11.52±2.54 A
Pyriproxyfen	63	16.83±4.46 A	66	8.32±1.85 A	58	18.80±2.50 A	61	17.16±3.08 A
Diflubenziron	70	7.21±3.00 AB	65	4.82±2.11 A	61	15.76±2.55 AB	60	13.24±4.92 A
Novaluron	65	5.28±2.47 AB	65	2.32±1.34 A	67	8.94±1.58 AB	57	10.39±1.40 A
Lufenuron	69	7.87±2.99 AB	59	4.81±3.10 A	56	27.27±9.46 A	62	7.69±3.23 A
Flufenoxuron	68	1.12±1.12 B	66	8.94±1.79 A	68	13.65±3.59 AB	61	11.15±4.59 A
Buprofezin	69	5.88±3.91 AB	59	6.61±2.58 A	67	19.23±1.38 A	62	6.57±3.16 A
Methoxyfenozide	65	2.61±1.53 AB	68	8.26±4.85 A	61	13.06±.52 AB	66	4.07±.70 A
Lufenuron+fenoxy carb	62	3.54±2.23 AB	63	1.31±1.31 A	60	13.86±1.64 AB	59	10.90±.46 A
Chlorfluazuron	71	3.26±2.11 AB	67	2.15±1.24 A	64	14.04±3.78 AB	62	9.65±.57 A
Hexythiazox	66	2.73±2.73 AB	65	2.30±2.30 A	65	12.21±3.93 AB	61	11.06±5.23 A

n*=kullanılan birey sayısı

**büyük harfler ilaçların ortalama % ölüm oranları arasındaki farklılığı göstermektedir.

Yapılan akut etki çalışmalarında ilaçların türler ve yöntemler arasındaki etkileri Çizelge 3'de verilmiştir. Buna göre *P. persimilis*, uygulanan tüm ilaçlardan *N. californicus'a* göre daha çok etkilenmiştir($P<0.05$). Her iki avcı türde de çalışmada kullanılan tüm ilaçlar direkt uygulama yönteminde kuru rezidü yöntemine göre daha çok etkili oldukları bulunmuştur ($P<0.05$).

Çizelge 3. İlaçların türlere ve yöntemlere göre etkileri

Uygulama	n	% ölüm
<i>Neoseiulus californicus</i>	112	8.4 B
<i>Phytoseiulus persimilis</i>	112	17.9 A
Yöntem 1(direkt uygulama)	112	14.7 A
Yöntem 2(kuru rezidü)	112	11.6 B

n=kullanılan tekerrür sayısı,*büyük harfler faktörler arasındaki farklılığı göstermektedir.

İlaçların *Neoseiulus californicus* ve *Phytoseiulus persimilis*'in gelişme sürelerine ve çoğalmalarına etkileri: Çalışmada kullanılan ilaçların avcı akarların yaşam uzunluğu, yumurta verimi, preovipozisyon ve ovipozisyon sürelerine etkileri incelenmiş ve sonuçları Çizelge 4'de gösterilmiştir.

İlaçların *Neoseiulus californicus* ve *Phytoseiulus persimilis*'in preovipozisyon sürelerine etkileri: *N. californicus* ve *P. persimilis*'in preovipozisyon süreleri istatistikî olarak incelendiğinde ilaçların avcılara etkileri arasında interaksiyon olmadığı için ilaçların etkisi her iki türe aynı bulunmuştur. Avcıların preovipozisyon süresini en çok etkileyen pyriproxyfen ve diflubenzuron olmuştu ve kontrole göre preovipozisyon süreleri uzamıştır. Diğer ilaçların ise her iki türün preovipozisyon süresine istatistikî olarak bir etkisi olmamıştır ve kontrol grubu ile aynı grup içerisinde yer almıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4).

İlaçların *Neoseiulus californicus* ve *Phytoseiulus persimilis*'in ovipozisyon sürelerine etkileri: *N. californicus* bireylerinin ovipozisyon süreleri ilaçlara göre istatistikî olarak farklılık göstermemiştir. Kontrol grubu bireylerinin ovipozisyon süresi 16.76 gün olarak bulunmuştur. CpGV ve azadirachtin ile ilaçlanmış *N. californicus* bireylerinin ovipozisyon süreleri sırası ile 14.48 ve 15.68 gün sürmüştür ve ovipozisyon süresi CpGV ve azadirachtin den etkilenmemeyip kontrol ile istatistikî olarak fark bulunmamıştır ($P<0.05$). *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, novaluron, lufenuron, flufenoxuron, buprofezin, methoxyfenozide, chlorfluazuron, lufenuron+fenoxy carb ve hexythiazox *N. californicus*'un ovipozisyon sürelerinin kontrole göre önemli derecede kısalmasına neden olmuştur. Bu ilaçlar istatistikî olarak aynı grup içerisinde yer almıştır ve *N. californicus*'un ovipozisyon süresini en çok etkileyen ilaçlar olmuşlardır ($P<0.05$) (Çizelge 4).

Denemeye alınan *P. persimilis* bireyleri incelendiğinde kontrol bireylerinin ovipozisyon süresi 15.76 gün olduğu saptanmıştır. Denemede kullanılan 14 ilaçın *P. persimilis*'in ovipozisyon süresine etkisi istatistikî olarak aynı grup içerisinde yer almış ve bütün ilaçlar *P. persimilis*'in ovipozisyon süresini aynı ölçüde etkileyerek azalmasına neden olmuştur ($P<0.05$).

İlaçların türler arasında ovipozisyon sürelerine olan etkileri karşılaştırıldığında *B. bassiana*, lufenuron, flufenoxuron, lufenuron+fenoxy carb ve hexythiazox'un *N. californicus* ve *P. persimilis*'in ovipozisyon sürelerine etkilerinde istatistikî olarak fark bulunmamıştır ve *B. bassiana*, lufenuron, flufenoxuron, lufenuron+fenoxy carb ve hexythiazox, türlerin ovipozisyon sürelerini aynı seviyede etkileyerek azaltmıştır. Diğer 9 ilaçla yapılan testlerin hepsinde *P. persimilis* daha çok etkilenmiştir ve ovipozisyon süreleri daha fazla kısaltılmıştır.

İlaçların *Neoseiulus californicus* ve *Phytoseiulus persimilis*'in yaşam uzunluğuna etkileri: Denemeye alınan ilaçlardan CpGV ve azadirachtin dışındakilerin *N. californicus* popülasyonunda yaşam uzunluğuna etkisi kontrole göre istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Buna göre CpGV ve azadirachtin *N. californicus*'un yaşam uzunluğunu etkilememiştir ve istatistikî olarak kontrol ile aynı grup içerisinde yer aldığı belirlenmiştir. Pyriproxyfen, diflubenziron ve novaluron, *N. californicus*'un yaşam uzunluğunu istatistikî olarak en az etkileyen grup içerisinde yer alırken flufenoxuron *N. californicus*'un yaşam uzunluğunu en çok etkileyen ilaç olarak saptanmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4).

P. persimilis'in ilaç uygulanmamış kontrol grubu bireyleri 23.27 gün yaşamıştır. İlaçların *P. persimilis*'in yaşam uzunluğuna etkisi bakımından aralarında istatistikî olarak fark bulunmamıştır. Kullanılan tüm ilaçlar *P. persimilis* yaşam uzunluğunu kontrole göre önemli derecede azaltmıştır ($P<0.05$) (Çizelge 4).

İlaçların yaşam uzunluğuna etkisi türler arasında karşılaştırıldığında flufenoxuron, buprofezin, Lufenuron+fenoxy carb ve hexythiazox, *N. californicus* ve *P. persimilis*'i aynı oranda etkilemiştir. Yani bu dört ilaç iki türün yaşam uzunluğunu istatistikî olarak aynı oranda azaltmıştır. Diğer ilaçların etkinliğine bakıldığına CpGV, azadirachtin, pyriproxyfen, diflubenziron, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium*

anisopliae, novaluron, lufenuron, methoxyfenozide ve chlorfluazuron uygulanmış *P. persimilis* türleri *N. californicus*'a göre daha çok etkilenmiştir ($P<0.05$).

İlaçların *Neoseiulus californicus* ve *Phytoseiulus persimilis*'in yumurta verimine etkileri:

Denemelerde ilaçların türlerin yumurta verimine olan etkisi incelendiğinde, *N. californicus*'un kontrol bireyleri ömürleri boyunca ortalama 48.02 adet yumurta bırakmışlardır. İstatistik olarak CpGV ve azadirachtin *N. californicus*'un yumurta verimini etkilememiştir. *N. californicus* bireylerinin yumurta verimini istatistik olarak *Beauveria bassiana*, flufenoxuron ve buprofezin en çok etkileyen ilaçlardır. Diğer ilaçlar *N. californicus*'un yumurta verimini istatistik olarak aynı ölçüde etkilemiştir (Çizelge 4).

P. persimilis'in kontrol grubu bireyleri ömürleri boyunca 63.46 adet yumurta bırakmışlardır ve ilaçların uygulandığı bireylere göre önemli derecede fazla sayıda yumurta bırakmışlardır. Chlorfluazuron, flufenoxuron ve lufenuron+fenoxy carb ile ilaçlanmış bireyler sırasıyla 22.46, 20.04 ve 20.08 adet yumurta bırakmışlar ve bu üç ilaç kullanılan ilaçlar arasında *P. persimilis* yumurta verimini en az etkileyen ilaçlar olmuştur. *B. bassiana* ve novaluron, *P. persimilis*'in sırasıyla 8.14 ve 7.96 adet yumurta bırakmasına neden olmuş ve ilaçlar arasında istatistik olarak en yüksek etkiye sahip grupta yer aldığı belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4).

İlaçların türler arasındaki yumurta verimine etkileri incelendiğinde *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, buprofezin, methoxyfenozide, lufenuron +fenoxy carb, chlorfluazuron ve hexythiazox *P. persimilis* ve *N. californicus* yumurta veriminde istatistik olarak aynı grup içerisinde yer almıştır ve bu ilaçlar yumurta verimini aynı oranda azaltmıştır. CpGV, azadirachtin, pyriproxyfen, diflubenziron, novaluron, lufenuron, flufenoxuron ise *P. persimilis* bireylerinin yumurta verimini *N. californicus* 'a göre daha çok etkilemiştir ($P<0.05$).

İlaçların *Neoseiulus californicus* ve *Phytoseiulus persimilis*'in yumurta açılımına etkileri

N. californicus ve *P. persimilis*'in kontrol (su) ve ilaç uygulanmış bireylerinin tümünün yumurtaları bırakıldıktan sonra 1-2 gün içerisinde açılmıştır. Bu yüzden ilaçlar arasında herhangi bir istatistik değerlendirme yapılmamıştır. Deneme kullanıılan ilaçların hiçbirini her iki türün bireylerinin bırakıkları yumurtaların açılımını etkilememiştir.

Tartışma ve Sonuç

Diğer avcı gruplarda olduğu gibi phytoseiidler de, kullanılan pestisitlerden etkilenmeye ve doğal popülasyonlarını koruyamamaktadır. Bunun sonucunda da üzerindeki avcı baskısı azalan kırmızı örümcekler hızla çoğalıp yoğun popülasyonlar oluşturarak önemli zararlara neden olmaktadır. Bütün bu sorunları göz önünde bulundurduğumuzda hastalık, zararlı ve yabancılara karşı kimyasal savaş uygulamalarında pestisit seçimi yaparken mümkün olduğunda çevreye ve doğal düşmanlara etkisi en az olan ve dar spektrumlu pestisitleri seçmeye özen göstermeliyiz. Bu çalışmada çevre ve insan sağlığı üzerine etkisi daha sınırlı olan böcek büyümeye düzenleyicileri, mikrobiyal insektisitler ve bitkisel insektisitlerin avcı akarlar *P. persimilis* ve *N. californicus*'a akut etkisi, yaşam sürelerine ve yumurta bırakma oranına etkisi incelenmiştir.

Çalışmada kullanılan ilaçlardan *Cydia pomonella* granül virüsün (CpGV) ağız yolu ile alındığında etkinlik gösterdiği için akut uygulamalarda her iki avcı akar türünü de en az etkileyen ilaçlardan birisidir. Aynı ilaç *N. californicus*'un yaşam uzunluğunu, yumurta verimini, preovipozisyon ve ovipozisyon sürelerini etkilememiştir ve kontrol ile aynı grup içerisinde yer almıştır. *P. persimilis*'in ise yaşam uzunluğunu, yumurta verimini ve ovipozisyon süresini kontrole göre önemli derecede azaltırken, preovipozisyon süresini etkilememiştir. Angeli et al. (2005), laboratuvar koşullarında 29 pestisitin avcı böcek *Orius laevigatus* (Fieber)'a yan etkilerini araştırmışlardır, granulosis virüs ürünlerinin *O. laevigatus*'un yaşaması ve üremesi üzerine önemli bir etkisinin olmadığını saptamışlardır. Çalışmamızda *N. californicus* üzerindeki test sonuçları bu çalışma ile paralellik gösterirken CpGV'den etkilenmemiştir, *P. persimilis* ise CpGV'den uzun süreli çalışmalarda etkilenmiştir.

Çizelge 4. İlaçların *Neoseiulus californicus* ve *Phytoseiulus persimilis*'in yaşam uzunluğuna, yumurta verimine, preovipozisyon ve ovipozisyon sürelerine etkileri

İlaçlar	<i>Neoseiulus californicus</i>						<i>Phytoseiulus persimilis</i>					
	n	Preov. sürt. (gün)	Ovip. sürt. (gün)	n	Yaşam sürt. (gün)	Ort. top. yum. ver./dişi.(adet)	n	Preov. sürt. (gün)	Ovip. sürt. (gün)	n	Yaşam sürt. (gün)	Ort. top. yum. ver./dişi.(adet)
Kontrol	39	4.56±0.11 C	16.76±0.25 aA	39	22.18±0.32 aA	48.26±0.69 aAB	26	4.42±0.11 C	15.76±0.65 ABC	26	23.27±0.70 aA	63.46±1.86 aA
Azadirachtin	16	4.56±0.20 ABC	15.68±0.75 aA	21	18.33±1.98 aAB	37.10±4.85 aAB	18	4.55±0.16 ABC	5.33±0.72 bB	29	8.31±1.04 bB	16.03±2.89 bBCD
CpGV	21	4.71±0.15 ABC	14.48±1.14 aAB	26	17.27±1.78 aABC	32.65±4.25 aABC	25	4.52±0.10 ABC	6.88±0.69 bB	33	10.30±0.97 bB	18.36±2.72 bBCD
<i>Beauveria bassiana</i>	18	5.05±0.18 ABC	5.78±1.01 aC	26	12.0±1.18 aC	12.65±3.03 aCDEF	11	4.45±0.15 ABC	5.81±0.95 aB	21	7.57±0.86 bB	8.14±2.64 aD
<i>Metarhizium anisopliae</i>	20	4.65±0.16 ABC	7.45±1.23 aC	24	12.79±1.68 aCDEF	18.13±3.50 aBCDE	12	4.41±0.14 ABC	5.16±0.92 bB	21	7.09±0.86 bB	10.71±2.55 aBCD
Pyriproxyfen	22	5.00±0.14 AB	12.04±0.77 aB	27	16.52±1.45 aBCD	23.22±2.60 aBCDE	21	5.00±0.23 aBCDE	4.61±0.57 bB	35	7.97±0.85 bB	11.86±2.19 bBCD
Diflubenziron	27	5.33±0.60 A	11.29±0.77 aB	31	16.42±1.26 aBCD	27.90±2.65 aBCD	23	4.82±0.19 aBCDE	5.47±0.67 A	32	7.69±1.01 bB	17.88±3.05 bBCD
Novaluron	24	5.12±0.17 ABC	7.20±0.78 aC	27	15.37±1.59 aCDEF	19.70±2.86 aBCDE	13	4.76±0.20 aBCDE	4.15±0.65 ABC	24	6.87±0.64 bB	7.96±2.16 bD
Lufenuron	30	4.96±0.14 ABC	7.10±0.67 aC	33	14.42±1.21 aBCDEF	19.24±2.25 aBCDE	10	4.90±0.31 ABC	5.10±0.82 aB	19	8.10±0.87 bB	10.41±2.82 bCD
Flufenoxuron	20	4.35±0.10 C	4.85±0.62 aC	26	9.23±0.97 aF	12.69±2.28 bDE	23	4.47±0.10 C	5.08±0.53 bB	24	9.37±0.55 aB	20.04±2.48 aBC
Buprofezin	15	4.46±0.16 ABC	7.47±1.17 aC	20	11.60±1.80 aDEF	15.60±3.22 aCDE	10	4.50±0.16 ABC	4.90±0.40 aB	14	9.28±0.59 aB	12.86±2.91 aBCD
Methoxyfenozide	26	4.73±0.18 ABC	7.00±0.63 aC	29	14.55±1.14 aBCDEF	18.83±2.31 aBCDE	15	4.53±0.13 ABC	4.60±0.57 bB	17	9.64±0.84 bB	14.53±2.97 aBCD
Lufenuron+fenoxycarb	19	4.57±0.11 BC	6.00±0.59 aC	20	11.70±1.07 aDEF	18.60±2.08 aBCDE	23	4.47±0.10 BC	5.08±0.48 aB	24	9.41±0.54 aB	20.08±2.35 aBC
Chlorfluazuron	23	4.82±0.16 ABC	7.30±0.78 aC	28	13.07±1.31 aBCDEF	18.21±2.60 aBCDE	28	4.46±0.09 ABC	4.89±0.46 bB	28	9.46±0.55 bB	22.46±2.61 aB
Hexythiazox	23	4.47±0.12 C	5.08±0.65 aC	23	10.74±0.88 aEF	18.22±2.50 aBCDE	22	4.36±0.10 aEF	3.72±0.55 C	24	8.45±0.64 ab	14.71±2.93 aBCD

n= kullanılan birey sayısı

*küçük harfler türler arasındaki farklılığı, büyük harfler ortalamaya etkileri arasındaki farklılığı göstermektedir.

Azadirachtin, akut denemelerde her iki türü de en az etkileyen ilaçlar grubunda yer almıştır. Buna bağlı olarak *N. californicus*'un yaşam uzunluğu, yumurta verimi, preovipozisyon ve ovipozisyon süresini etkilememiştir ve kontrol ile aynı grup içerisinde yer almıştır. Ancak *P. persimilis*'ın yaşam uzunluğunu, yumurta verimini ve ovipozisyon sürelerini kontrole göre önemli derecede azaltırken, preovipozisyon süresini etkilememiştir. Duchovskiene et al. (2009), avcı akar *P. persimilis*'e bazı insektisitlerin etkisini araştırdıkları çalışmada azadirachtin'in *P. persimilis*'e toksik olmadığını saptamışlardır. Mansour et al. (1997), yaptıkları çalışmada *Azadirachta indica*'dan elde edilen neem preparatı Neemgard'ın zararlı akar *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) ve avcı akar *P. persimilis* üzerindeki etkisini araştırmışlardır, sonuç olarak *P. persimilis*'e zararsız olduğunu saptamışlardır. Madanlar et al. (2000), yaptıkları çalışmada beyazsinek, kırmızı örümcek ve yaprak bitlerine Organik neem yağı ve NeemAzal doğrudan uygulandığında *P. persimilis*'e az zararlı olarak bulmuşlardır. Bu çalışmalar doğrultusunda azadirachtin akut olarak avcılara etkisiz bulunurken uzun süreli çalışmalarında *P. persimilis*'e *N. californicus*'dan daha toksik olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan *Beauveria bassiana* akut uygulamalarda *N. californicus*'u direkt ve kuru rezidü yöntemleriyle en az etkileyen ilaç grubunda yer alırken uzun süreli çalışma'da etkisi artmıştır. *B. bassiana* uygulandığı organizmalara direkt olarak kutikuladan penetrasyon zaman aldığı için akut etkisi sınırlı olmuştur. Buna karşın *N. californicus*'un yumurta verimini, ovipozisyon süresini en çok etkileyen ilaç grubunda yer almıştır. *N. californicus*'un yaşam uzunluğunu ise önemli derecede azaltmıştır. *B. bassiana* *N. californicus*'un preovipozisyon süresini ise etkilememiş kontrol ile aynı grupta yer almıştır. Akut uygulamalarda *P. persimilis*'i direkt uygulamada %10.32, kuru rezidü uygulamasında ise % 7.29 oranında etkileyen *B. bassiana* en düşük etkiye sahip ilaç grubunda yer alırken kronik çalışmalarda etkisi artmış ve yumurta verimini en çok etkileyen ilaçlardan biri olarak belirlenmiştir. *P. persimilis* bireylerinin yaşam uzunluğunu ve ovipozisyon süresini de azaltmış diğer tüm ilaçlarla aynı grup içerisinde yer almıştır. *Beauveria bassiana* *P. persimilis*'in preovipozisyon süresini ise etkilememiştir. Vergel et al. (2011), yaptıkları çalışmada *Beauveria bassiana*'nın 3 farklı dozunun *N. californicus* ve *P. persimilis*'e direkt uygulayarak etkisini incelemiştir, sonuç olarak her iki predatore de 3 dozun ölüm oranına etkisinin aynı oranda düşük olduğunu, 3 dozun da *Neoseiulus californicus*'un doğurganlığını etkilediğini belirtmişlerdir. Castognoli et al. (2005), avcı akarlardan *N. californicus* ve *Tydeus californicus* (Banks)'a karşı pyrethrins, imidacloprid, azadirachtin, pymetrozine, *Beauveria bassiana* and rotenone'un laboratuvar koşullarında direkt ve uzun süreli etkisini araştırmışlardır. Deneme sonuçlarına göre *Beauveria bassiana*'nın *T. californicus*'a toksik etki göstermediğini, *N. californicus*'un dölleri üzerinde yüksek ölüm oranı gösterdiğini belirlemiştir. Azadirachtin ise *N. californicus*'a düşük toksisite gösterirken *T. californicus*'un larva gelişimini azalttığını saptamışlardır. Yapılan diğer çalışmalarla da karşılaşıldığında *Beauveria bassiana*, avcılara akut olarak etkili olmaz iken uzun süreli çalışmalarda avcılарın yaşam sürelerini ve yumurta verimlerini etkileyen bir ilaç olduğu görülmüştür.

Akut uygulamalarda her iki türde de hexythiazox'un direkt uygulaması kuru rezidü yönteminden daha etkili olduğu görülmüştür. Genel olarak her iki türde gösterdiği etki oranı ile en az etkili ilaçlar arasında yer almıştır. Ancak uzun süreli çalışmalarla biyolojik dönemlerine etkisi araştırıldığından etkinliği artmıştır. Buna bağlı olarak hexythiazox'un *N. californicus*'un yaşam uzunluğunu ve ovipozisyon süresini en çok etkileyen ilaç grubunda yer aldığı belirlenmiştir. Yumurta verimini azaltarak etkilerken preovipozisyon süresini ise etkilememiştir. Hexythiazox *P. persimilis* bireylerinin yaşam uzunluğunu ve ovipozisyon süresini azaltarak diğer tüm ilaçlarla aynı grup içerisinde yer almıştır. *P. persimilis*'in yumurta verimini azaltırken preovipozisyon süresini etkilemediği belirlenmiştir. Akyazı & Ecevit (2008), dicofol, hexythiazox ve tetradifon'un farklı dozlarının *P. persimilis* ve *T. cinnabarinus*'a etkilerini araştırdıkları çalışmada hexythiazox'un uygulandıktan 72 saat sonra predatörlerin % 92.78'ini öldürdüğünü ve kullanılan pestisitlerin *P. persimilis* için *T. cinnabarinus*'a göre çok daha fazla zararlı olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmayı bütün olarak değerlendirdiğimizde yapılan iki akut yöntemden her iki tür için bütün ilaçlarda direkt uygulama, kuru rezidü yönteminden daha etkili olmuştur. Kullanılan iki avcı türünden *P. persimilis* tüm ilaçlardan *N. californicus*'a göre daha çok etkilenmiştir.

Denemede kullanılan tüm ilaçlar akut olarak IOBC'nin sınıflamasına göre zararsız bulunurken uzun süreli çalışmalarla etkisi artmıştır, CpGV ve azadirachtinındaki 12 ilaç her iki türün yaşam uzunluğunu ve buna bağlı olarak yumurta verimini azaltarak etkilemiştir. Kısa süreli testlerde zararsız olarak belirlenen ilaçların aslında avcıların yaşam sürelerine ve yumurtlama oranları üzerinde daha yüksek etki gösterdiği saptanmıştır. Literatür incelemelerinden anlaşıldığı kadariyla genel olarak avcılarla ilgili çalışmalarla akut denemelere yer verilmiştir. Çalışmamızdan yola çıkarak, tek başına yapılan akut uygulamanın ilaçların toksik etkilerini tam olarak belirlememizde yeterli olmadığı, faydalılara karşı yan etki çalışmalarının uzun süreli denemelerle birlikte yapılmak suretiyle ele alınan ilaçların potansiyel toksik etkilerinin tam olarak ortaya konulabileceği anlaşılmıştır.

Pestisitlerin doğal düşmanları nasıl etkilediğinin bilinmesi, mücadele programlarının oluşturulmasında büyük önem taşımaktadır. Yan etki çalışmalarından elde edilen sonuçlar, entegre mücadele programlarında faydalı organizmaların korunması için uygun pestisitlerin belirlenmesinde ve kullanılmasında yardımcı olmakta ve böylece bitki korumada biyolojik mücadele desteklenmesini sağlamaktadır. Bu doğrultuda yapılan bu çalışmada bazı böcek büyümeye düzenleyicileri ve mikrobiyal insektisitlerin *N. californicus* ve *P. persimilis*'e akut etkileri ve yaşam süreleri ile yumurta verimine etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışmanın entegre savaş programında zararlara karşı savaşta sonraki çalışmalarla ışık tutabileceği umit edilmektedir.

Teşekkür

Çalışmada kullandığımız *Phytoseiulus persimilis* popülasyonunu sağladığımız Prof. Dr. Sultan ÇOBANOĞLU (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü)'na ve istatistik analizlerini yapan Yrd. Doç. Dr. Özgür KOŞGAL (Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü) teşekkür ederiz.

Yararlanılan Kaynaklar

- Abbott, M. S., 1925. A method of computing effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Akyazi, R. & O. Ecevit, 2008. *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acarı: Phytoseiidae)'in laboratuvar koşullarında *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval (Acarı: Tetranychidae)'u tüketim kapasitesi ve bazı akarışitlerin bu iki tür üzerine etkileri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 25 (2): 7-18.
- Angeli, G., M. Baldessari, R. Maines & C. Duso, 2005. Side-effect of pesticides on the predatory bug *Orius laevigatus* (Fieber) (Heteroptera: Anthocoridae) in the laboratory. *Biocontrol Science and Technology*, 15 (7): 745-754.
- Castognoli, M., M. Liguori, S. Simoni & C. Duso, 2005. Toxicity of some insecticides to *T. urticae*, *N. californicus* and *Tydeus californicus*. *BioControl*, 50: 611-622.
- Çakmak, İ. & S. Çobanoğlu, 2006. *Amblyseius californicus* (McGregor, 1954) (Acarı: Phytoseiidae), a new record for the Turkish fauna. *Turkish Journal of Zoology*, 30: 55-58.
- Debach, P., 1974. *Biological Control by Natural Enemies*. Cambridge University press. 323 p.
- Duchovskienė, L., L. Raudonis, R. Karklelienė & R. Starkutė, 2009. Toxicity of insecticides to predatory mite *Phytoseiulus persimilis* in cucumber. *Sodininkystė ir daržininkystė*, 28 (3): 41-46.
- Hassan, S. A. 1992. Side effect tests for phytoseiids and their rearing methods. Meeting of the Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. IOBC/WPRS Bulletin, 15 (3): 61-74.
- İşik, B. & C. Kazak, 2008. Avcı akar *Typhlodromips enab* El-Badry (Acarina: Phytoseiidae)'in laboratuvar koşullarında farklı besinler üzerinde biyolojileri, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 18 (3):130-139.

- Madanlar, N., Z. Yoldaş & E. Durmuşoğlu, 2000. Laboratory investigations on some natural pesticides for use against pests in vegetable greenhouses. Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate, IOBC WPRS Bulletin, 23 (1): 281-288.
- Mansour, A. F., K. R. S. Ascher & F. Abo-Moch., 1997. Effects of neemgard on phytophagous and predacious mites and on spiders. *Phytoparasitica*, 25 (4): 333-336.
- McMurtry, J. A. & B. A. Croft, 1997. Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. *Annual Review of Entomology*, 42: 291-321.
- Raworth, D. A., G. Fauvel & P. Auger, 1994. Location, reproduction and movement of *Neoseiulus californicus* (Acarı: Phytoseiidae) during the autumn, winter and spring in orchards in the south of France. *Experimental and Applied Acarology*, 18 (10): 593-602.
- Sterk, G., S. A. Hassan, M. Baillod, F. Bakker, F. Bigler, S. Blümel, H. Bogenschutz, E. Boller, B. Bromand, J. Brun, J. N. M. Calis, J. Coremans-Pelseneer, C. Duso, A. Garrido, A. Grove, U. Heimbach, H. Hokkanen, J. Jacas, G. Lewis, L. Moreth, L. Polgar, L. Rovesti, L. Samsoe-Peterson, B. Sauphanor, L. Schaub, A. Stäubli, J. J. Tusset, A. Vainio, M. Van de Veire, G. Viggiani, E. Viñuela & H. Vogt. 1999. Result of the seventh joint pesticide testing programme carried out by the IOBC/WPRS-Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. *BioControl*, 44 (1) :99-117.
- Uygun, N., M. R. Ulusoy, İ. Karaca & E. Şekeroğlu, 1991. "Doğu Akdeniz Bölgesi turunçgil bahçelerinde zararlılara karşı biyolojik mücadele, 503-515." Çukurova I.Tarım Kongresi Bildirileri, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Adana.
- van Lenteren, J. C., 2000. A greenhouse without pesticides: fact or fantasy. *Crop Protection*, 19: 375-384.
- Vergel, S.J. N., R. A. Bustos, C. D. Rodríguez & R. F. Cantor, 2011. Laboratory and greenhouse evaluation of the entomopathogenic fungi and garlic-pepper extract on the predatory mites, *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus* and their effect on the spider mite *Tetranychus urticae*. *Biological Control*, 57: 143–149.
- Yorulmaz Salman, S. & R. Ay, 2012. Isparta ili elma bahçelerinden toplanan avcı akar *Neoseiulus californicus* (Acarı: Phytoseiidae) popülasyonlarının bazı akarisitlere karşı direnç düzeyleri ve direnç mekanizmaları. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 16 (2): 122-132.

Orijinal araştırma (Original article)

Köpek üzümü bitkilerinin (Solanaceae) zararlı veya avcı akarlar için barınak bitki olma potansiyelleri¹

The potential of the nightshade plants (Solanaceae) as reservoir plants for pest and predatory mites

Nabi Alper KUMRAL^{2*} Sultan ÇOBANOĞLU³

Summary

The abundance and species diversity of both plant parasitic and predatory mites were assessed on two nightshade plants species, *Solanum nigrum* L. around Solanaceous vegetables in Bursa, Yalova and Ankara provinces of Turkey, and *Solanum dulcamara* L. in only Ankara during 2009-2010. Fourty two and thirty-four mite species were determined from *S. nigrum* and *S. dulcamara*, respectively. The plant parasitic mites, *Tetranychus urticae* Koch and *Eotetranychus uncatus* Garman (Acari: Tetranychidae) were predominant species on both nightshade species. Besides these polyphagous species, the worldwide pests of vegetables, *Aculops lycopersici* Massee (Acari: Eriophyidae) and *T. turkestanii* Ugarov & Nycolskey (Acari: Tetranychidae) were detected as a potential pests. Because of these injouring mites are not monophagous species, the weeds take role as reservoir plants for mites and allow inceraseing populations of the mites in Solanaceous vegetable areas. However, predatory mites, *Neoseiulus marginatus* (Wainstein), *N. californicus* (McGregor), *Typhlodromus (Anthoseius) recki* Wainstein (Acari: Phytoseiidae), *Neopronematus neglectus* (Kuzn.), *Pronematus ubiquitus* (McG.) (Acari: Iolinidae) and *Zetzellia mali* (Ewing) (Acari: Stigmaeidae), were identified as common species on the nightshade species. Phytoseiids and iolinids existed in a stronger clear numerical response to spider mite populations. Despite the biodiversity increasing mite fauna was predatory mites of both nightshades in all locations, the abundances of plant parasitic mites were very higher than those of predatory species. *Aculus solani* Boczek&Davis (Eriophyidae), *Cheyletus baloghi* Volgin (Cheyletidae) and *Cheiroleius necorniger* (Oud.) (Ascidae) were found the first records for the Turkish mite fauna.

Key words: Mites, population, bio-diversity, reservoir plant, nightshade

Özet

Türkiye'de Bursa, Yalova ve Ankara illerinde Solanaceae'ye ait sebzelerin yetişirildiği tarlaların çevresinde bulunan köpek üzümü türlerinde *Solanum nigrum* L.'da ve sadece Ankara'da saptanan *Solanum dulcamara* L.'da akarların biyolojik çeşitliliği ve tür yoğunluğu 2009 ve 2010 yıllarında incelenmiştir. *S. nigrum* ve *S. dulcamara*'da sırasıyla 42 ve 34 akar türü belirlenmiştir. *Tetranychus urticae* Koch ve *Eotetranychus uncatus* Garman (Acari: Tetranychidae) her iki köpek üzümü türünde baskın türler olarak belirlenmiştir. Bu polifag türler yanında, sebzelerde yaygın bulunan *Aculops lycopersici* Massee (Acari: Eriophyidae) ve *T. turkestanii* Ugarov & Nycolskey (Acari: Tetranychidae) gibi türler potansiyel zararlılar olarak saptanmıştır. Bu zararlı türler monofag olmadıklarından, Solanaceae sebzelerinin yetişirildiği tarlalarda bu yabancı otlar barınak bitki olarak rol almaktır ve popülasyonlarını artırmaları için olanak sağlamaktadır. Diğer taraftan, *Neoseiulus marginatus* (Wainstein), *N. californicus* (McGregor), *Typhlodromus (Anthoseius) recki* Wainstein (Acari: Phytoseiidae), *Neopronematus neglectus* (Kuzn.), *Pronematus ubiquitus* (McG.) (Acari: Iolinidae) ve *Zetzellia mali* (Ewing) (Acari: Stigmaeidae) gibi avcı akarlar ise yaygın görülen türler olarak tanımlanmıştır. Avcı akar familyaları phytoseiidler ve iolinidler, kırmızıörümceklerin populasyonlarına açık bir sayısal cevap oluşturmuştur. Her iki köpek üzümü türünde ve tüm lokasyonlarda biyolojik çeşitlilik katsayısını artıran asıl etken avci akarlardan kaynaklanmasına rağmen, bitki zararlısı akarların yoğunluğu avci akarlardan çok yüksek bulunmuştur. *Aculus solani* Boczek&Davis (Eriophyidae), *Cheyletus baloghi* Volgin (Cheyletidae) ve *Cheiroleius necorniger* (Oud.) (Ascidae) Türkiye için yeni kayıt türler olarak belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Akarlar, popülasyon, biyolojik çeşitlilik, barınak bitki, köpek üzümü

¹ Bu çalışmanın bir kısmı 28-30 Haziran, 2011 tarihlerinde Kahramanmaraş'da düzenlenen Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi'nde sözlü olarak sunulmuş ve sadece özet olarak basılmıştır. Bu çalışma TÜBİTAK TOVAG 108O363 nolu projenin bir bölümündür ve kısmen FP7-IRSES 269133 nolu projeyle desteklenmiştir.

² Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 16059, Görükle, Bursa

³ Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 06110, Dişkapı, Ankara

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: akumral@uludag.edu.tr

Alınış (Received): 26.08.2014 Kabul edilis (Accepted): 02.03.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 22.04.2015

Giriş

Solanaceae familyasına ait domates, biber ve patlıcan gibi sebzeler yüksek besin değerine sahip olması yanında Türkiye'nin tarımsal üretiminde de önemli yerleri vardır. Türkiye, domates, biber ve patlıcan üretiminde dünyada sırasıyla dördüncü, üçüncü ve beşinci sıralarda yer almaktadır (FAO, 2011). Bu bitkilerin tamamında kırmızıörümcek türleri (Acari: Tetranychidae) (Öngören et al., 1975; Brar et al., 2003; Leite et al., 2003; Kumral & Kovancı, 2005; Migeon, 2005; Petanovic & Vidovic, 2009; Reddy et al., 2011; Atalay & Kumral, 2013), domates pas akarı [*Aculops lycopersici* Massee (Acari: Eriophyidae)] (Şekeroğlu & Özgür, 1984; Madanlar & Öncüler, 1994; Hıncal et al., 2002; Yanar et al., 2008; Panigrahi, 2010) ve sarı çay akarı [*Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae)] (Tunç & Göçmen, 1995; Petanovic & Vidovic, 2009) gibi zararlı akar türleri önemli ekonomik zararlar meydana getirmektedirler. Diğer taraftan, bu *Solanaceae* familyası sebzelerinin yetiştiirildiği tarla veya bahçelerin kenarlarında ve bitki sıra aralarında aynı familyaya ait köpek üzümü türleri (*Solanum nigrum* L. ve *Solanum dulcamara* L.) doğal olarak üremektedir. Üretici, bu yabanciot türlerinin kültür bitkileriyle su, ışık ve besin elementi anlamında rekabete girmesinden ve önemli ürün kaybına neden olmalarından dolayı gerek ilaçlı gerekse kültürel ve mekanik yöntemleri kullanarak mücadele etmektedirler. Aynı familyadan olduğu için yukarıda belirtilen kültür bitkilerinde bulunan zararlı akar türlerinin bu yabanciotlarda bulunma olasılığı da çok yüksektir. Bu bağlamda, köpek üzümü türlerinin zararlı türlerle barınak olma potansiyeli sınırlı sayıda çalışmada gösterilebilmiştir (Sadana et al., 1983; Mauricio et al., 2009; Murungi et al., 2010; Ferreira & Sousa, 2011; Ribeiroa et al., 2012). Özellikle, Ferreira & Sousa (2011), *S. nigrum* ve buna benzer birçok yabancı ot türünün *Tetranychus evansi* (Baker & Prit.) (Acari: Tetranychidae)'nin önemli konukçuları olduğunu kanıtlamıştır. Benzer olarak, *P. latus*'un konukçularını saptamak amacıyla kültür ve yabanciot türlerinde yapılan faunistik araştırmalarda zararının konukçuları arasında köpek üzümleri belirlenmiştir (Almaguel et al., 1986; Dhooria, 1996). Kore'de yapılan bir araştırma domates pas akarının morfolojisi, biyolojisi ve kimyasal mücadele hakkı hakkında araştırma sonuçları verilirken, konukçuları arasında *S. nigrum*'un olduğu gösterilmiştir (Kim et al., 2002). Ribeiroa et al. (2012) Amerikan köpek üzümü olarak bilinen *Solanum americanum* Mill.'un domates olmadığı durumlarda kırmızı örümcekler ve avcılar için alternatif konukçu olduğunu belirtmektedir.

Diğer taraftan, tarla veya bahçe kenarlarında yoğun bulunan ve ilaçlanmayan bu yabanciotlarda doğal düşmanların özellikle de avcı akarların bulunma potansiyeli çok iyi bilinmemektedir (James, 1989; Pereira et al., 2006; Mauricio et al., 2009). Özellikle hasattan sonra Bursa, Yalova ve Ankara illerinde bahçeler çoğu zaman kendi haline bırakılmakta ve tüm araziyi bu bitkiler kaplamaktadır. Dolayısıyla, köpek üzümü bitkileri hem zararlı hem de avcı türlerin üremeye devam etmesi ve kışlamaya hazırlanması için önemli alternatif konukçular olarak görev almaktadırlar. Biyolojik mücadeleinin önemli bir uygulanış şekli de doğada mevcut doğal düşmanların korunması ve desteklenmesi olduğu düşünüldüğünde bu bitkilerin avcı akarlar için barınak bitki olma potansiyelleri çok önemli bir konu olarak ortaya çıkmaktadır (Uygun et al., 2010). Nitekim, tarla ve bahçe kenarlarında bu yabanciotların muhafazası avcı türlerin kışlaması, üremesi ve ilaçlardan korunması açısından çok önemli bir yer tutabilir (James, 1989). Yabanciotlarda akarların saptanması ve popülasyon yoğunluğunun incelenmesi konusunda ise çok az çalışma bulunmasının yanında bunlar farklı bitki familyaları için yapılmıştır (Kreiter et al., 2000; Uygur, 2004). *Solanaceae* yabanciotlarındaki tek faunistik çalışma *Solanum mauritianum* Scopoli'nin savaşımında kullanılmak üzere biyolojik mücadele elemanı bulmak amacıyla yürütülen bir araştırmadır (Pedrosa et al., 2003). Diğer bir araştırma ikinoktalı kırmızıörümcek ve bir erhiyophilid akarına karşı aşırı hassasiyet gösteren Odunsu köpek üzümünde yapılan bir çalışmадır (Westphal et al., 1992). Bizim çalışmamıza benzer olarak, yabanciotlar üzerindeki akarların popülasyon dinamikleri konusunda buğday, kayısı, asma, limon ve elma yetiştirilen alanlarda eriophyid, kırmızıörümcek ve bunların doğal düşmanı akarlar üzerinde bazı çalışmalar yapılmış ve pratik önemi yüksek sonuçlar elde edilmiştir (Nyrop et al., 1994; Lozzia & Rigamonti, 1998; Pereira et al., 2006; Mauricio et al., 2009). Tüm bu nedenlerle bu çalışmada Bursa, Yalova ve Ankara'da domates, biber ve patlıcan yetiştirilen alanların kenarında bulunan köpek üzümü bitkileri (*S. dulcamara* sadece Ankara'da saptanmıştır) toplanarak üzerlerindeki akar biyolojik çeşitliliği ve tür yoğunlıklarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bunun yanında üç ilde de en az iki yıl boyunca domates bahçeleri kenarlarında saptanan *S. nigrum*'da zararlı ve avcı akarların popülasyon dalgalanması izlenerek, bunların popülasyon gelişimlerinin ve ilişkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Biyolojik çeşitlilik çalışmaları

Ankara, Bursa ve Yalova illerindeki domates, biber ve patlıcan bahçe, tarla ve seralarının kenarlarında doğal olarak yetişen köpek üzümü yabancıotlarında [*Solanum nigrum* L. ve *Solanum dulcamara* L. (bu tür sadece Ankara'da belirlenmiştir)] bulunan akar türlerini saptamak amacıyla 2009 ve 2010 yıllarında Mayıs-Kasım ayları arasında 7-10 gün aralıklarda örneklemler yapılmıştır. Ankara ilinde örnek alınan alanların yüksekliği Kuzucular (239 m) ve Karagöl (1408 m) hariç 650-1100 m arasında değişmiştir. Bursa ovasında yer alan ilçelerde rakım ağırlıklı 100 m olmakla birlikte, Karacabey ve Mustafakemalpaşa'da deniz seviyesine, Yenişehir ve İnegöl'de ise 300 m'ye yaklaşmıştır. Yalova ilinde ise rakım 0-80 m arasında değişmiştir. Ancak, Bayırköy ve Kirazlı köyü rakımları 170-350 m arasındadır. Tüm yıllarda Ankara'da yükseklik ve Meteroloji rasatlarından elde edilen verilere göre iklim farklılıklarından dolayı Yalova ve Bursa'ya göre köpek üzümleri en az 1 ay sonra bahçelerde görülmeye başlanmıştır (Şekil 1).

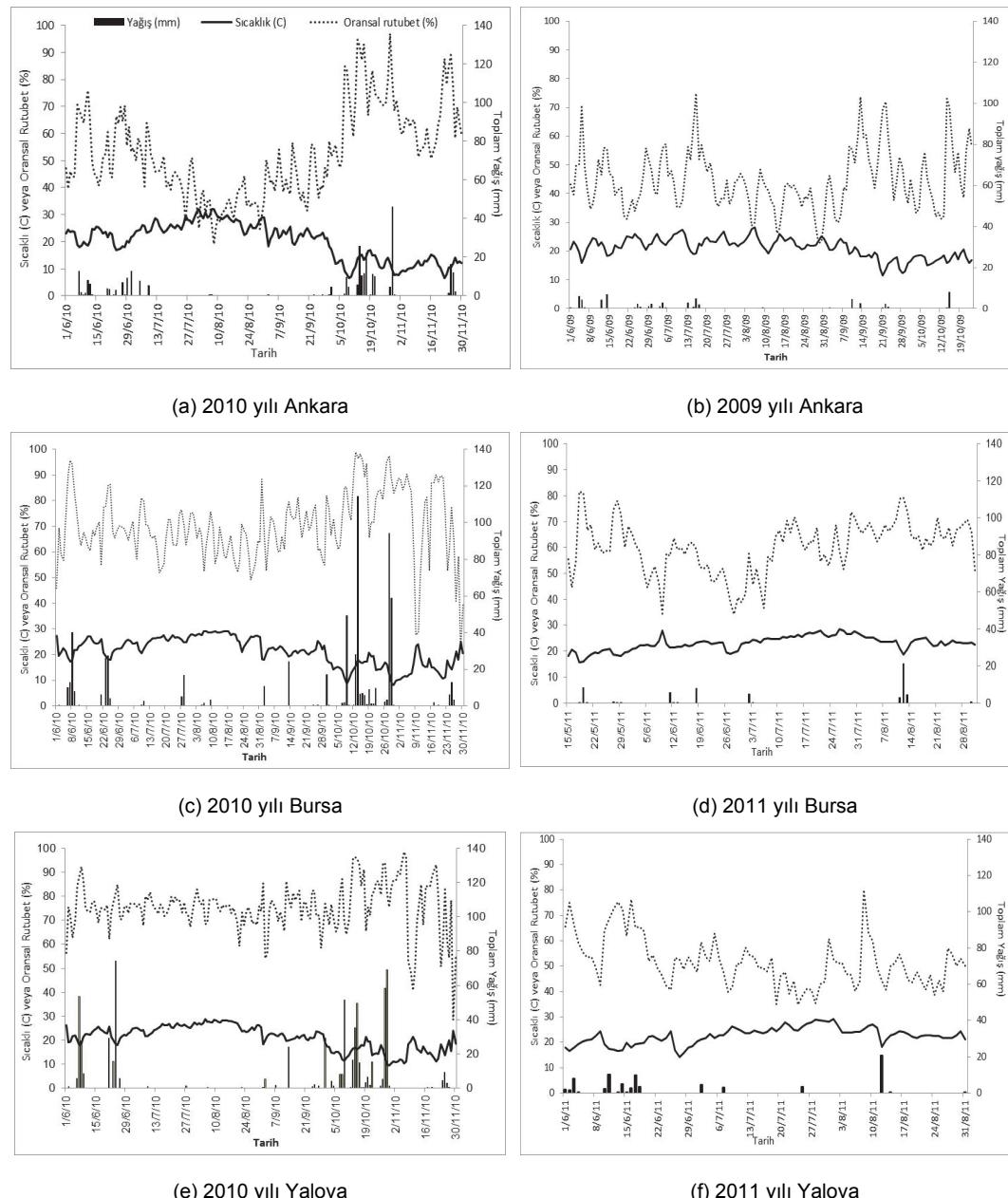
Diğer bir deyişle Bursa ve Yalova ile karşılaşıldığında Ankara'da fauna ve flora biraz daha geriden takip etmiştir. Her örneklemede aynı büyülükteki bitkilerin alt, orta ve üst yapraklarından örnekleme alanını temsil edecek sayıda 200 yaprak örneği sap kısmıyla birlikte alınmıştır. Alınan yaprak örnekleri kese kâğıtları konularak buz kutuları içinde laboratuvara getirilmiştir. Bitki örneklerindeki akarlar öncelikle steromikroskop ile gözle; daha sonra da Berlese hunisinde ayıplanarak % 70'lük alkole alınmıştır. Akarların, laktofenolde renkleri açıldıktan sonra Hoyer ortamında preperasyon işlemleri yapılmıştır. Ancak, eriophyid akarlarda örnekler alkole alınmadan gözle ayıplanıp, renkleri açılıp F-ortamında preperasyonları yapılmıştır (Faraji & Bakker, 2008). Akarların tür teşhisleri ilgili kaynaklardan yararlanılarak Sultan Çobanoğlu tarafından yapılmıştır. Teşhis tam olarak yapılamayan bazı örnekler ise yurt dışında ilgili otoritelerle birlikte çalışarak (Eddie Ueckermann, Maka Murvanidze ve Enrico De Lillo) teşhis edilmiştir. İller arasındaki akar tür benzerlikleri Sörensen Benzerlik İndeksi (*L*) kullanılarak karşılaştırılmıştır (Magurran, 2004). Bu metoda göre aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır:

$$L = 2S_{12}/S_1 + S_2$$

Burada S_1 seçilen bir alanda tür sayısını göstermektedir. Benzerlik indeksi hesaplanırken ayrıca akarların beslenme rejimlerine göre de hesaplama yapılmış olup, Tetranychidae, Tenuipalpidae ve Eriophyidae familyaları zararlı olarak (Helle & Sabelis, 1985; Lindquist et al., 1996; Zhang, 2003); Phytoseiidae, Stigmeidae, Anystidae, Bdellidae, Iolinidae, Cheyletidae, Erythraeidae, Macrochelidae, Ascidae ve Ameroseiidae familyaları avcı olarak (Gerson et al., 2003); diğer çürükçül beslenen ve bu çalışmada zararlı türleri bulunmayan Tarsonemidae, Tydeidae, Acaridae ve Oribatidae familyaları nötür fauna (Hughes, 1976; Lindquist, 1986; Kazmierski, 1998) olarak nitelendirilmiştir. Buna ek olarak, Akar yoğunlukları parametreleri Shannon Wiener Katsayısı (H') kullanılarak belirlenmiştir (Magurran, 2004):

$$H' = - \sum_{i=1}^S (p_i \ln p_i)$$

Formülde S , türlerin sayısı; p_i , belirli bir türde bulunan bireylerin oranını, \ln , doğal logaritmayı göstermektedir. Akar yoğunluğu parametresi, bir bitki türünden toplanan bir akar türü sayısının toplanan tüm akar örnek sayısına bölünmesiyle elde edilmiştir. Aynı akar türü farklı illerde de saptandığında illere göre dağılım yapılmış olup, tüm hesaplamalarda ergin akar sayısı esas alınmıştır.



Şekil 1. Ankara (a, b), Bursa (c,d) ve Yalova (e, f) illerinde 2009, 2010 ve 2011 meteoroloji istasyonlarından elde edilen iklim verileri.

Akar türlerinin popülasyon gelişmesi

Avcı ve zararlı akar türlerinin önemli olanlarının popülasyon gelişimlerinin izlenmesi amacıyla, Ankara'da 2009 ve 2010 yıllarında Kazan, Merkez ve Ayaş'da; Bursa ilinde 2010 ve 2011 yıllarında, Nilüfer ilçesi Uludağ Üniversitesi (U.Ü.) Organik bahçe, Mustafakemalpaşa ilçesi Çeltikçi ve Karacabey ilçesi Hotanlı bahçelerinde; Yalova ilinde 2010 ve 2011 yıllarında Koruköy, Kirazlı, Elmalık ve Kazimiye domates bahçelerinin kenarında bulunan *S. nigrum* bitkilerinde 7 gün (yoğun yağış olduğu zamanlarda 15 gün) ara ile akar sayıları yapılmıştır. Her bahçede örneklemeler, *S. nigrum*'un alt, orta ve üst yapraklarından 200 adedi tüm alanın çevresinden hazırlanan ayından bahçede yabancı olmamış e

kadar sürdürülmüştür. Denemede kullanılan bahçeler 2009 yılında yapılan biyolojik çeşitlilik çalışmalarında zengin tür çeşitliliği saptanan ve üreticiler tarafından az ilaçlanan bahçelerden seçilmiştir.

Tüm illerde bahçelerin ilaçlamaları konusunda üreticilerle temas kurularak izlenmiş ve ilaçlama yapıldığı dönemlerde ilaç gelme ihtimali olmayan köpek üzümü örnekleri alanların kenarlarından toplanmıştır. Akarlar daha önce biyolojik çeşitlilik çalışmalarında belirtildiği gibi hem steromikroskop altında hem de Berlese hunisinde incelenerek sayılmıştır. Bu yöntemle, gözle kontrol sırasında farkedilemeyen ek akarlar sayısal olarak eklenerken, nihai sonuçlar elde edilmiştir. Sonuçta, akar sayımları sonuçları toplam akar sayısının toplam yaprak sayısına bölünmesi ile elde edilmiştir. Sayımlar stereomikroskopla yapıldığı için ilk teşhisler familya düzeyinde yapılmıştır. Her sayımda az sayıda örneklerin tümü yoğun örneklerin ise en az % 10'u preperat haline getirilmiştir. Bunlar daha sonra ışık mikroskopunda incelenerek türleri teşhis edilmiş ve grafikler cins veya tür düzeyinde verilmiştir. İklim ile ilgili sıcaklık, yağış ve nem değerleri her ilde bulunan Meteroloji Genel Müdürlüğü'nden iklim rasat istasyonlarından elde edilmiştir (Şekil 1). Diğer bir taraftan, küpek üzümünün fenolojik gelişimi ile akar popülasyon çıkış ve tepe nokta zamanları arasında ilişkilerin belirlenmesi için 2010 yılında Ankara'da, 2010 ve 2011 yıllarında ise Bursa ve Yalova'da haftalık olarak her araziden bitki fenolojisine ait veriler not edilmiş ve her fenolojik dönem BBCH'nin Solanaceae bitkileri için oluşturduğu uluslararası kabul gören skalaya göre ifade edilmiştir: 1, Genç fide dönemi (1-3 yapraklı fide); 2, Vejatatif gelişme (5-7 yapraklı fide); 3, Çiçeklenme başlangıcı; 4, Tam çiçeklenme; 5, Çiçeklenme ve meye bağlama; 6, Çiçeklenme ve olgunlaşmamış meyve; 7, Fizyolojik olgunlaşma; 8, Yaşlanması; 9, Çürüme (Meier, 2001).

Zararlı akar türleri ile faydalı türler arasındaki ilişkiler ise Southwood (1978) tarafından arthropodlara uyarlanmış olan Sorenson'un katsayı (I_{ia}) kullanılarak incelenmiştir. Buna göre aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$I_{ia} = 2[C/(A+B)-0.5]$$

Burada C, her iki türün aynı anda bulunması durumunda toplam sayıları; A, zararlı türün popülasyon dalgalanması boyunca bulunma sayısı ve B, avcı türün popülasyon dalgalanması boyunca bulunma sayısı olarak nitelendirilmektedir. Bu katsayı $-1 < 0$ arasında çıkarsa ilişki yok, $0 < +1$ arasında çıkarsa ilişki var anlamına gelmektedir. Ayrıca katsayı $+1$ 'e yaklaşıkça ilişkinin derecesi çok yükselmektedir.

Araştırma Sonuçları

Köpek üzümü türlerindeki akar biyolojik çeşitliliği

Ankara, Bursa ve Yalova illerinde 2009 ve 2010 yılında *S. nigrum* bitkilerinde yapılan örnekleme çalışmalarında 1600 akar örneği içinde 3 farklı alt takıma, 13 familya ve 30 cinse ait 42 tür saptanmıştır (Çizelge 1). İki yıllık çalışmalar sonucunda iki bitki zararlısı familya ve 11 tür bulunmuştur. Tüm iller bir arada değerlendirildiğinde en baskın türler bitki zararlısı familya olan Tetranychidae'den tüm illerde *T. urticae* (% 55.1) ve sadece Ankara'da *Eotetranychus uncatus* Garman (% 15.3) olarak belirlenmiştir. Diğer bir zararlı familya olan Eriophyidae içinde ise % 0.4 bulunma orANIyla *Aculops lycopersici* (Massee) tarimsal anlamda önemli diğer bir türdür. Avcı türler içinde ise sırasıyla Ankara ilinde *Neoseiulus marginatus* (% 2.9) ve Bursa ve Yalova illerinde ise *Neoseiulus californicus* (% 2.6) (Acari: Phytoseiidae) türleri en yaygın örneklenen türler olarak saptanmıştır. Zararlı ve avcı türler dışındaki 9 tür içinde ise *Tarsonemus bifurcatus* Schaarschmidt (Acari: Tarsonemidae) (% 5.1) ve *Tydeus kochi* Oudemans (Acari: Tydeidae) (% 4.6) en yaygın diğer türlerdir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Ankara, Bursa ve Yalova illerinde *Solanum nigrum*'da 2009 ve 2010 yıllarında saptanın akar türlerinin illere ve türlere göre akar yoğunlukları

Takım	Familya	Tür	Akar yoğunluğu (%)			
			Ankara	Bursa	Yalova	Tüm İller
Prostigmata	Tetranychidae	<i>Tetranychus urticae</i>	24.9	23.9	6.3	55.1
		<i>Tetranychus turkestanii</i>	0.1			0.1
		<i>Tetranychus</i> sp.	1.3			1.3
		<i>Amphitetranychus viennensis</i>	2.0			2.0
		<i>Schizotetranychus</i> sp.	0.3			0.3
		<i>Eotetranychus uncatus</i>	15.3			15.3
		<i>Bryobia praetiosa</i>	0.3			0.3
		<i>Bryobia rubrioculus</i>	0.1			0.1
		<i>Oligonychus</i> sp.	0.1			0.1
		<i>Platytranychus</i> sp.	0.1			0.1
Mesostigmata	Iolinidae	<i>Pronematus ubiquitus</i>	0.7	0.3		0.9
		<i>Neopronematus neglectus</i>	1.0			1.0
	Tydeidae	<i>Tydeus kochi</i>	0.3	3.7	0.6	4.6
	Stigmeidae	<i>Zetzellia mali</i>	0.3			0.3
	Bdellidae	<i>Spinibidellinae</i> sp.		0.1		0.1
		<i>Cytinae</i> sp.		0.1		0.1
	Taronemidae	<i>Taronemus waitei</i>		0.1		0.1
		<i>Taronemus bifurcatus</i>		4.4	0.8	5.1
	Eriophyidae	<i>Aculops lycopersici</i>	0.3	0.1		0.4
	Phytoseiidae	<i>Amblyseius andersoni</i>		0.1		0.1
		<i>Neoseiulus californicus</i>		1.6	1.0	2.6
		<i>Neoseiulus bicaudus</i>		0.1	0.1	0.3
		<i>Neoseiulus alpinus</i>	0.1	0.1		0.2
		<i>Neoseiulus barkeri</i>	0.3	0.4		0.8
		<i>Neoseiulus marginatus</i>	2.9			2.9
		<i>Euseius finlandicus</i>	0.1	0.3	0.1	0.5
		<i>Phytoseius finitimus</i>	0.1	0.2	0.1	0.3
		<i>Typhlodromus (Anthoseius) recki</i>	0.3	0.6	0.2	1.0
		<i>Typhlodromus (Typhlodromus) athiasae</i>	0.2			0.2
Astigmata	Ascidae	<i>Arctoseius</i> sp.	0.3			0.3
		<i>Asca</i> sp.		0.6		0.6
		<i>Blattisocius tarsalis</i>	0.1			0.1
		<i>Cheiroseius neocorniger*</i>		0.1		0.1
	Amoreseiidae	<i>Ameroseius plumigera</i>		0.1	0.1	0.2
		<i>Ameroseius</i> sp.		0.1	0.3	0.4
	Macrochelidae	<i>Macrocheles</i> sp.			0.1	0.1
	Acaridae	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	0.1	1.6	0.1	1.9
		<i>Tyrophagus longior</i>	0.1			0.1
		<i>Tyrophagus similis</i>	0.1			0.1
		<i>Tyreophagus</i> sp.		0.1		0.1
		<i>Rhizoglyphus robini</i>		0.1		0.1
Oribatidae		<i>Cosmochthonius</i> sp.		0.1		0.1

*: Türkiye faunası için ilk kayıt.

Sadece Ankara ilinde belirlenen diğer köpek üzümü türü *S. dulcamara*'da ise 2009 ve 2010 yıllarında 3 farklı alt takım, 14 familya ve 28 cinse ait 34 tür saptanmıştır (Çizelge 2). Bu yabancılardan preperati yapılan 534 bireyin % 61.4'ü bitki paraziti Tetranychidae familyasından toplanmış olup, toplam 6 tür arasından en baskın türler *T. urticae* (% 38.8) ve *E. uncatus* (% 11.8) olmuştur. Diğer önemli bir bitki zararlısı familya olan Eriophyidae familyasından da % 1.3 oranda *A. lycopersici* ve % 0.2 oranında *Aculus solani* Boczek&Davis türleri saptanmıştır. Avcı türler arasında ise *Neopronematus neglectus* (Kuzn.) (%9.2), *Pronematus ubiquitus* (McG.) (% 6.0) (Acari: Iolinidae), *Typhlodromus (Anthoseius) recki* Wainstein (Acari: Phytoseiidae) (% 3.7) ve *Zetzellia mali* (Ewing) (Acari: Stigmeidae) (% 1.7)'nin toplanma oranları dikkat çekici düzeyde bulunmuştur. Geri kalan 7 tür içinde ise *Tyrophagus longior* (Gervais) (Acari: Acaridae) (% 2.2) ve *Tydeus spathulatus* Oudemans (% 1.1) sıkça belirlenen türler olarak saptanmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. Ankara ilinde *Solanum dulcamara*'da 2009 ve 2010 yıllarında saptanın akar türlerinin yoğunlukları

Takım	Familya	Tür	Akar yoğunluğu (%)
Prostigmata	Tetranychidae	<i>Tetranychus urticae</i>	38.8
		<i>Tetranychus turkestanii</i>	7.9
		<i>Tetranychus</i> sp.	1.9
		<i>Schizotetranychus</i> sp.	0.2
		<i>Amphitetranychus viennensis</i>	0.9
		<i>Eotetranychus uncatus</i>	11.8
	Iolinidae	<i>Pronematus ubiquitus</i>	6.0
		<i>Neopronematus neglectus</i>	9.2
		<i>Homeopronematus anconai</i>	2.4
	Tydeidae	<i>Brachytydeus</i> sp.	0.6
		<i>Tydeus spathulatus</i>	1.1
		<i>Tydeus kochi</i>	0.9
	Stigmaeidae	<i>Zetzelia mali</i>	1.7
	Anystidae	<i>Anystis</i> sp.	0.2
	Bdellidae	<i>Cytinae</i> sp.	0.2
	Tenuipalpidae	<i>Brevipalpus lewisi</i>	0.4
	Erythraeidae	<i>Erythreius ankaricus</i>	0.2
		<i>Abrolopus</i> sp.	0.2
	Cheyletidae	<i>Cheyletus baloghi</i> *	0.2
	Eriophyidae	<i>Aculops lycopersici</i>	1.3
		<i>Aculus solani</i> *	0.2
Mesostigmata	Phytoseiidae	<i>Amblyseius andersoni</i>	1.3
		<i>Neoseiulus californicus</i>	0.6
		<i>Euseius finlandicus</i>	0.4
		<i>Phytoseius finitimus</i>	0.9
		<i>Typhlodromus (Anthoseius) recki</i>	3.7
		<i>Typhlodromus (Typhlodromus) psyllasiki</i>	0.7
		<i>Typhlodromus (Typhlodromus) tubifer</i>	0.6
Astigmata	Ascidae	<i>Blattisocius tarsalis</i>	0.9
	Acaridae	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	0.7
		<i>Tyrophagus longior</i>	2.2
	Oribatidae	<i>Scheloribates laevigatus</i>	0.9
		<i>Zygoribatula frisiae</i>	0.6

*: Türkiye faunası için ilk kayıt.

Ankara, Bursa ve Yalova'da, 2009 ve 2010 yıllarında *S. nigrum*'da bulunan akar türlerinin Sörenson'un indeksine göre benzerlik katsayıları iller anlamında incelendiğinde türlerin orta düzey veya altında benzerlikler gösterdiği görülmektedir. Tüm akar türleri değerlendirildiğinde Yalova'daki tür çeşitliliği Bursa'ya (0.60); Ankara'ya göre daha fazla benzemektedir (0.32). Bursa ile Ankara arasındaki benzerlikler de aynı şekilde düşük (0.39) bulunmuştur. Akar türleri beslenme rejimlerine göre ayrıca değerlendirilmeye alındığında; Bursa'nın Yalova'ya hem zararlı hem de avcı türler açısından sırasıyla 0.67 ve 0.58 düzeyinde benzettiği saptanmıştır. Bursa'nın avcı türleri Ankara'ya yakın bulunmakla birlikte; bu benzerlik orta düzeyin altında (0.44) bulunmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Ankara, Bursa ve Yalova illerinde 2009 ve 2010 yıllarında *S. nigrum*'da bulunan akar türlerinin Sörenson'un indeksine göre illere göre benzerlik katsayıları

İl	Ankara				Yalova			
	Zararlı	Avcı	Nötür/saprofit	Tümü	Zararlı	Avcı	Nötür/saprofit	Tümü
Bursa	0.31	0.44	0.36	0.39	0.67	0.58	0.40	0.60
Yalova	0.15	0.32	0.57	0.32				

Ankara ilinde *S. nigrum* ve *S. dulcamara*'da saptanın akar türlerinin benzerliği ayrıca değerlendirilmiş olup, aynı ilden toplanan iki bitki türü arasındaki benzerlik orta düzeyde (0.53) bulunmuştur. Akarların beslenme rejimlerine göre bakıldığından zararlı türlerin (0.70) her iki yabancı ot

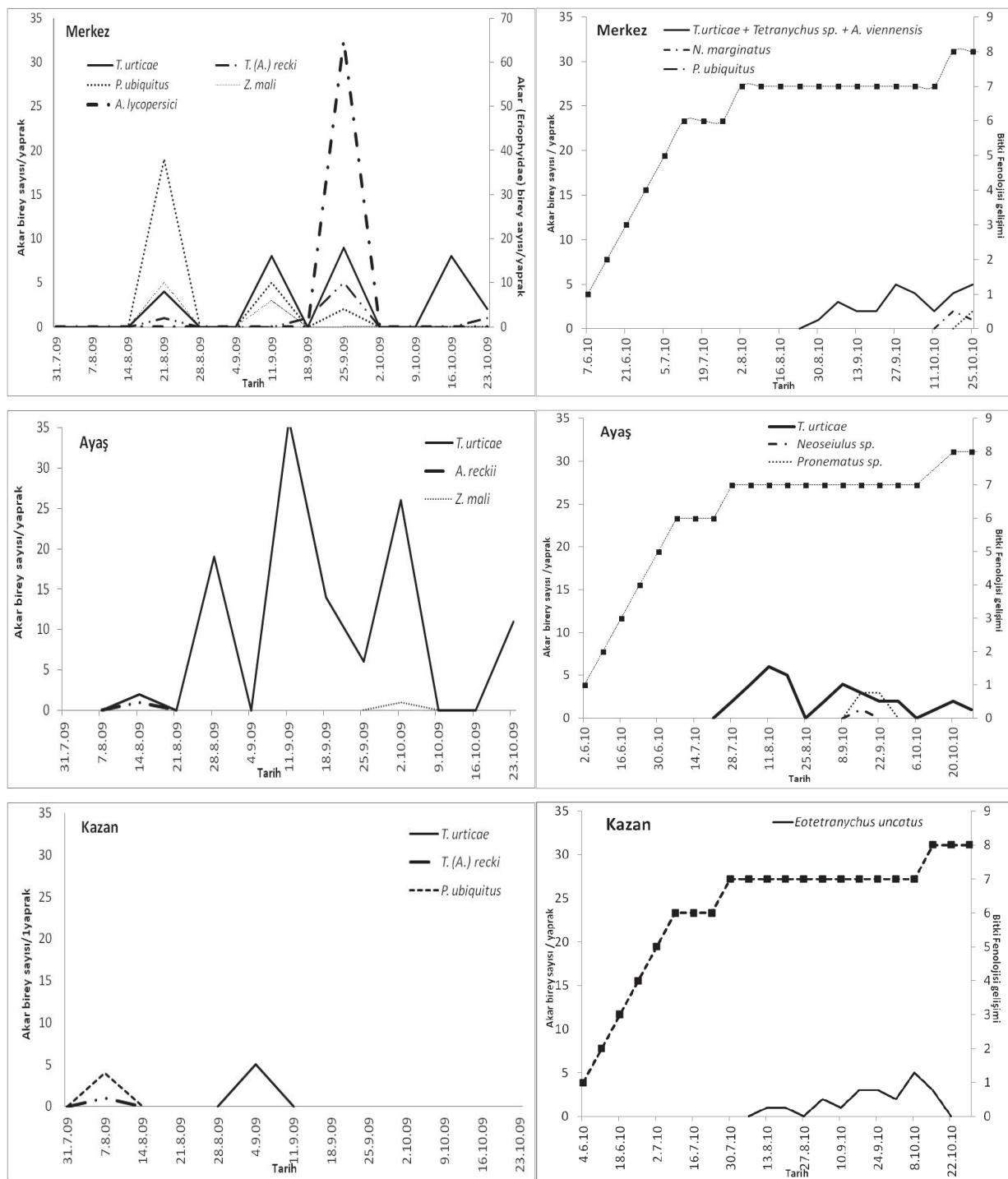
türünde oldukça birbirine benzerlik göstermesine rağmen, nötür/saprofit (0.55) ve avcı (0.48) türler açısından benzerliklerin orta düzeyde olduğu belirlenmiştir. Ankara, Bursa ve Yalova illerinde *S. nigrum* ve sadece Ankara'da *S. dulcamara*'da 2009 ve 2010 yıllarında yapılan faunistik çalışmalar ayrı ayrı değerlendirilerek, akarların beslenme rejimlerine, tür sayılarına, yoğunluklarına ve biyolojik çeşitlilik parametrelerine göre sayısal veriler Çizelge 4'de verilmiştir. Tür çeşitliliği açısından bakıldığından *S. nigrum*'da en çok tür Ankara'da belirlenmiş (26), Bursa'da 25 türle benzerlik göstermiştir. Yalova ilinde ise 12 tür belirlenmiştir. *Solanum nigrum*'da tür dağılımlarına bakıldığından Bursa, Yalova ve Ankara'da bulunan türlerin sırasıyla 16, 8 ve 11'i avcı türlerdir. Ankara hariç (11) diğer illerde zararlı tür sayısı oldukça düşük bulunmuştur. Shannon Wiener Katsayısı da biyolojik çeşitliliği artıran faktörün tüm illerde avcılardan kaynaklandığını göstermektedir. Buna karşılık, az sayıda zararlı tür bulunmasına rağmen Bursa, Yalova ve Ankara'da bulunan zararlı türlerin yoğunlukları sırasıyla % 61, % 65 ve % 87 olmuştur. Avcı türlerin yoğunlukları ise % 11.72 ile % 19.87 arasında değişmiştir (Çizelge 4). Ankara ilinde *S. dulcamara*'da tür sayısı oldukça yüksek (34) bulunmuştur. Ankara ilinde *S. dulcamara*'da benzer olarak en çok tür sayısı avcı türlerden bulunmasına ve avcı türler biyolojik çeşitliliğe çok yüksek (2.36) katkı vermesine rağmen yoğunlukları % 29.59 olmuştur. Zararlı yoğunluğu ise % 63.30 ile oldukça fazla bulunmuştur (Çizelge 4).

Çizelge 4. Ankara, Bursa ve Yalova illerinde *S. nigrum*'da ve Ankara'da *S. dulcamara*'da 2009 ve 2010 yıllarında akarların habitat tercihine göre tür yoğunlukları, tür sayıları (S) ve Shannon Wiener (H) Katsayısı

Bitki	Yer	Tür Yoğunluğu (%)			Tür Sayısı (S)				Shannon Wiener (H) Katsayısı			
		% avcı	% zararlı	% nöt	S	Savcı	Szar	Snöt	H	Havcı	Hzar	Hnöt
<i>Solanum nigrum</i>	Bursa	12.80	61.44	25.76	25	16	2	7	1.54	2.30	0.03	1.20
	Yalova	19.87	65.39	15.39	12	8	1	3	0.57	1.55	0.01	0.92
	Ankara	11.72	87.30	1.10	26	11	11	4	1.56	1.66	1.07	1.18
<i>Solanum dulcamara</i>	Ankara	29.59	63.30	7.12	34	18	9	7	2.36	2.17	1.18	1.83

Köpek üzümü türlerinde zararlı ve avcı akar türlerinin popülasyon gelişimi

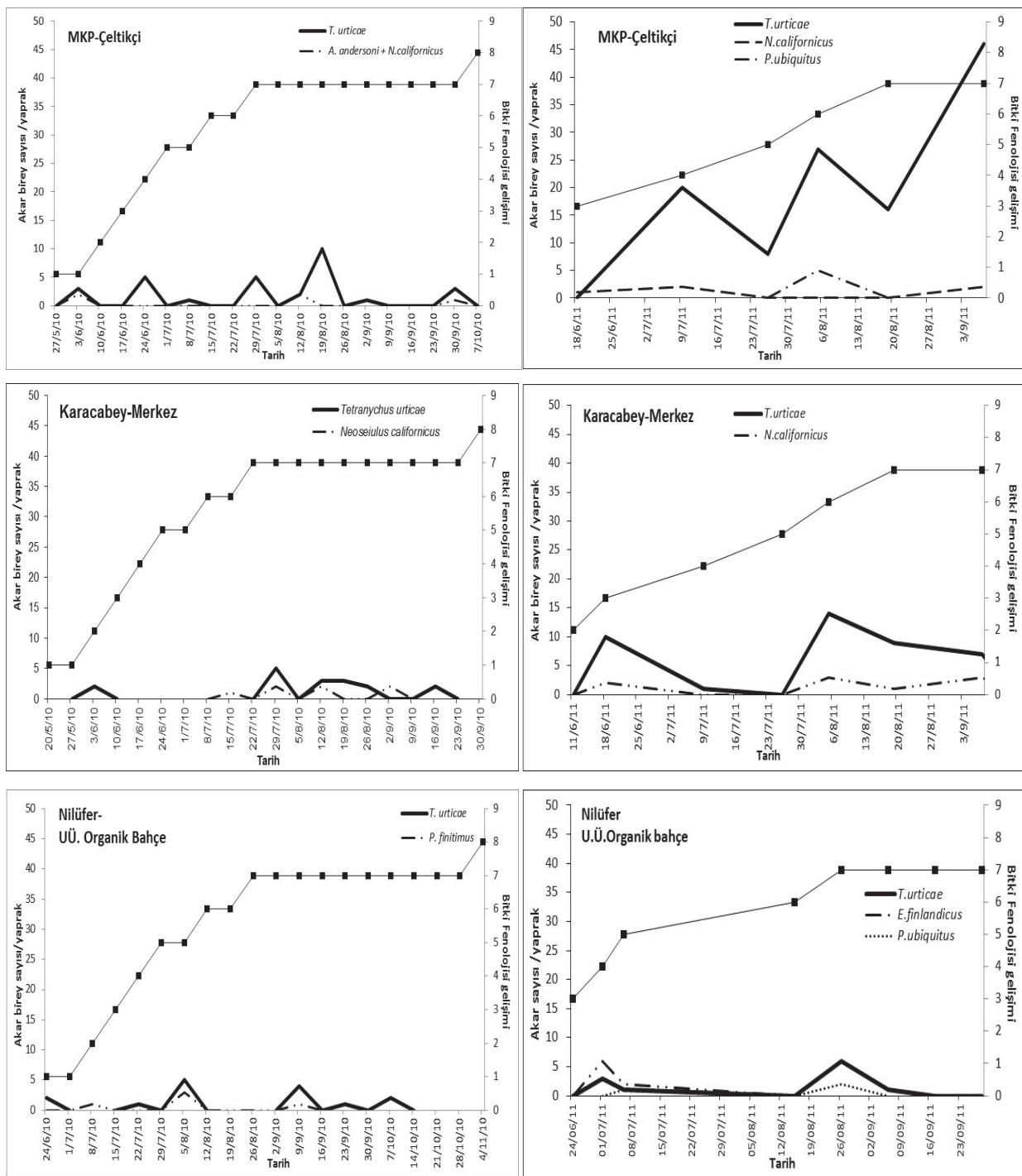
Ankara ilinde 2009 ve 2010 yıllarında Merkez, Ayaş ve Kazan ilçelerinde domates bahçelerinin kenarlarından toplanan *S. nigrum*'da akar sayımları ve bu bahçelere en yakın iklim rasatlarından elde edilen ortalama sıcaklık (°C), oransal nem (%) ve toplam yağış (mm) verileri Şekil 1 a,b ve 2'de verilmiştir. Ankara'da 2009 yılında iki önemli zararlı tür ön plana çıkmıştır (*T. urticae* ve *A. lycopersici*). Merkez ilçede *T. urticae* ağustos ayı son haftası, eylül ayı ortası ve sonu, ekim ayı ortasında 4 tepe noktası oluşturmuştur. *Aculops lycopersici* ise eylül ayı sonunda çok yüksek bir popülasyon oluşturmuştur. Bu bahçede, eriophyid ve yumurta avcısı olarak bilinen *P. ubiquitus* tetranychid ve özellikle *A. lycopersici* ile uyumlu bir şekilde dalgalandırılmıştır (Şekil 2, Çizelge 5). Benzer durum *T.(A.) recki* ile *T. urticae* bireyleri arasında saptanmıştır. Ayaş'da ağustos ayı ortasında düşük bir *T. urticae* tepe noktasından sonra ağustos ayı sonu, eylül ayı ortası ve ekim ayı başında 3 tepe noktası daha görmek mümkün olmuştur. *T.(A.) recki* ile *T. urticae* arasında ağustos ayı ortasında önemli bir ilişki saptanmıştır. Ayrıca, *Z. mali*'nin ekim başında çıkış yaptığı ve *T. urticae* ile ilişkili olduğu görülmüştür. Kazan'da ise *T. urticae* eylül başında bir tepe noktası oluşturmuştur (Şekil 2). Ankara ilinde 2010 yılında Merkez'de üç farklı tür (*T. urticae*, *Tetranychus* sp. ve *A. viennensis*) bir arada bulunmuştur. Kazan'da *E. uncatus*, Ayaş'da *T. urticae* saptanmıştır. Merkez'de kırmızıörümcek popülasyonları eylül ve ekim ayı başı ve ekim ayı sonunda 3 tepe noktası; Ayaş'da ağustos ayı ortası, eylül ayı başı ve sonu ve ekim ortası olmak üzere 4 tepe noktası; Kazan'da ağustos ayı ortası, eylül ayı başı ve sonu ve ekim ayı başında 4 tepe noktası oluşturmuşlardır (Şekil 2). Phytoseiid popülasyonları açısından Ayaş'da eylül ortasında *Neoseiulus* sp.'nın tepe noktası *T. urticae* popülasyonları ile ilişkili olmuştur. Aynı bahçelerde *Pronematus* sp.'nın popülasyon dalgalandırması da *T. urticae* ile uyumlu bulunmuştur. Merkez'de ise ekim ayı sonunda *N. marginatus*'un tetranychid popülasyonuyla uyumlu bir şekilde artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Ankara ilinde köpek üzümünün ilk olgunlaşmamış meyveleri temmuz ayında görülmeye başlanmış olup, kırmızıörümceklerin ilk defa bitki üzerinde saptanması ise köpek üzümünün bu döneminde olmuştur. Daha sonra, fizyolojik olgunlaşma döneminde kırmızıörümceklerin ilk tepe noktasına ulaştığı görülmüştür. Ancak, bu ilişkiye rağmen akarların popülasyonlarındaki tepe noktaları yüksek sıcaklık ve düşük nem ile çok bağlantılı görülmektedir. Ayrıca, ekim ayında görülen yağışlar zararının popülasyonunun düşmesinde etkili olmuştur (Şekil 1b, 2).



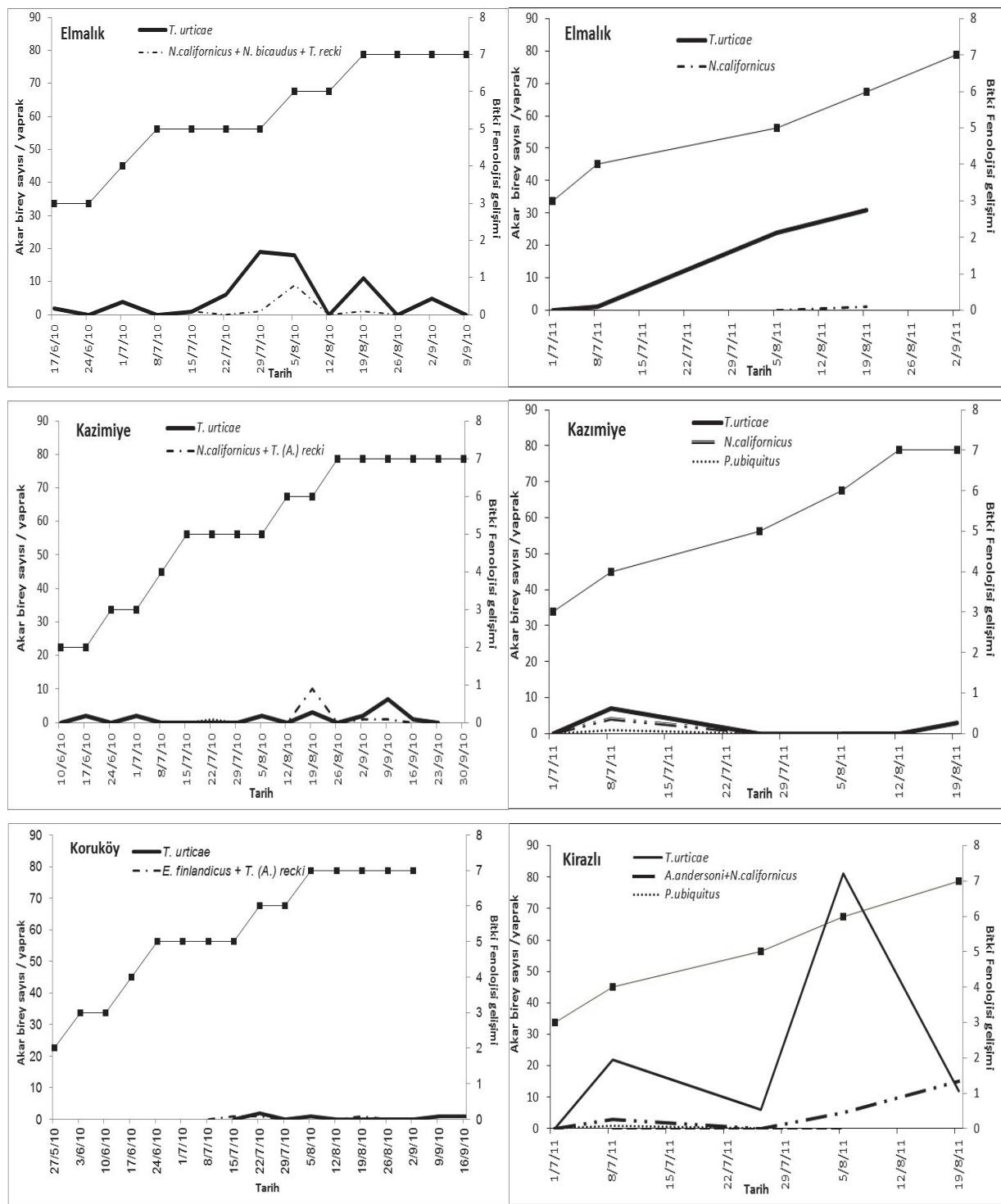
Şekil 2. Ankara ili Merkez, Ayaş, Kazan ilçelerinde 2009 ve 2010 yıllarında akarların domates bahçeleri kenarındaki *Solanum nigrum* üzerinde popülasyon gelişimi ve *Solanum nigrum*'un fenolojik gelişimi: siyah kare kutucukla (■) belirtilen [1, Genç fide dönemi (1-3 yapraklı fide); 2, Vejetatif gelişme (5-7 yapraklı fide); 3, Çiçeklenme başlangıcı; 4, Tam çiçeklenme; 5, Çiçeklenme ve meyve bağlama; 6, Çiçeklenme ve olgunlaşmamış meyve; 7, Fizyolojik olgunlaşma; 8, Yaşlanması; 9, Çürüme].

Bursa ilinde 2010 ve 2011 yıllarında Karacabey, Mustafakemalpaşa ve Nilüfer ilçelerinde köpek üzümü bitkilerinde akarların popülasyon dalgalanması sonuçları Şekil 3'de verilmiştir. Bursa ilinde kırmızıörümcek türü *T. urticae* olarak belirlenmiştir. Akar, 2010 yılında erken köpek üzümü çıkışı olan yerlerde Mayıs ayı sonundan itibaren görülmeye başlamıştır. Bundan sonra Haziran, Temmuz, Ağustos ve Eylül ayları sonrasında olmak üzere 4 belirgin tepe noktası oluşturmuştur. Bahçelerde tür çeşitliliği oldukça zengin olup, birçok bahçede tetranychid'lerle phytoseiid'ler arasındaki ilişkiler oldukça açıkta. Özellikle Çeltikçi'de *Amblyseius andersoni* Chant ve *N. californicus*'un Mayıs, Ağustos ve Eylül ayı sonunda, Karacabey Merkez'de *N. californicus*'un Temmuz ayının ikinci bölümünde, Ağustos ve Eylül ayları başında, U.U. organik bahçede ise *Phytoseius finitimus* Ribaga'un Temmuz, Ağustos ve Eylül ayları başında phytoseiid popülasyonları *T. urticae* ile uyum göstermişlerdir (Şekil 3, Çizelge 5). İlk kırmızıörümcek bireyleri köpek üzümünün genç fide döneminde görülmeye başlanmış olup, yüksek tepe noktalarının görüldüğü zamanlarda bitkinin çiçeklenme ve meyve gelişimi döneminde olduğu saptanmıştır (Şekil 3). Bursa ilinde 2011 yılında Karacabey Merkez'de Haziran ayı sonunda zayıf bir tepe noktasılarından sonra Ağustos ayı başında ikinci bir tepe noktası oluşmuştur. U.U. organik bahçede ise bu tepe noktası 15 gün sonra gerçekleşmiştir. Çeltikçi'de de izlendiği gibi zararının üçüncü bir tepe noktası Eylül başında oluşmaya başlamıştır. Bu arada *Euseius finlandicus* (Oud.) U.U. Organik bahçede *T. urticae* popülasyonlarıyla tam bir uyum göstermiştir. Benzer ilişkiler tüm bahçelerde görülmüştür. Yine *P. ubiquitus*'un U.U. Organik bahçe ve Çeltikçi'de Temmuz ve Ağustos ayı boyunca *T. urticae* popülasyonlarıyla birlikte benzer eğriler oluşturdukları belirlenmiştir. İlk tepe noktası çiçeklenme başlangıcında; asıl önemli tepe noktası çiçeklenme ve meyve bağlama döneminde saptanmıştır (Şekil 3).

Yalova ilinde Koruköy, Kazımıye ve Elmalık'da 2010 ve 2011 yıllarında *S. nigrum*'da akar sayımları Şekil 4'de verilmiştir. *T. urticae* popülasyonları Koruköy'de 3; Elmalık'da 4 tepe noktası meydana getirirken, Kazımıye'de en az 5 tepe noktası oluşturmuştur. Elmalık'da Temmuz başı ve sonu, Ağustos sonunda ve Eylül başında; Kazımıye'de Haziran ortası ve sonu, Ağustos başı ve sonu ve Eylül ortasında; Koruköy'de Temmuz ayı sonu, Ağustos ayı başı ve sonu ve Eylül ayı başında belirgin tepe noktaları görülmüştür. *Tetranychus urticae* phytoseiid'ler arasında *T. recki* tüm bahçelerde sayılmıştır. Bu türe ek olarak, Koruköy'de *E. finlandicus*, Kazımıye Sera'da *N. californicus* ve Elmalık'da *N. californicus* ve *N. bicaudus* karışık halde saptanmıştır. Kazımıye sera'da hem Ağustos ortasında hem de Eylül başında phytoseiidlerin *T. urticae* ile sekronize bir şekilde dalgalandıkları belirlenmiştir. Elmalık'da Ağustos ayı başı ve Eylül ayı sonunda benzer bir durum saptanmıştır. *T. urticae* popülasyonlarının çıkışı *S. nigrum*'un fide döneminde ve en yüksek akar popülasyonları çiçeklenme ve olgunlaşmamış meyve döneminde olmuştur. Yalova ilinde 2011 yılında Kirazlı'da Temmuz ve Ağustos ayları başında olmak üzere 2 tepe noktası saptanmıştır. Elmalık ve Kazımıye'de çok kesikli olmasına rağmen yine Ağustos ayındaki tepe noktasını görmek mümkün olmuştur. Tüm bahçelerde Temmuz ve Ağustos ayları boyunca phytoseiidler *T. urticae* popülasyonları ile uyumlu eğriler oluşturmuşlardır (Şekil 4, Çizelge 5). Kırmızıörümceklerin en yüksek sayıları çiçeklenme ve olgunlaşmamış meyve döneminde görülmüştür. Sayım çalışmaları arazilerin erken sürümü nedeniyle Eylül ayı başından sonra yapılamadığı için Eylül ve ekimde gözlenmesi beklenen pikler belirlenmemiştir. Diğer bahçelerde ve yıllarda olduğu gibi *T. urticae* ile *P. ubiquitus* ve phytoseiidler (*N. californicus* ve *A. andersoni*) arasında ilişkiler belirlenmiştir (Şekil 4, Çizelge 5).



Şekil 3. Bursa ili Mustafakemalpaşa, Karacabey ve Nilüfer ilçelerinde ve 2010 ve 2011 yıllarında domates bahçeleri kenarındaki *Solanum nigrum* üzerinde popülasyon gelişimi ve *Solanum nigrum*'un fenolojik gelişimi: siyah kare kutucukla (■) belirtilen [1, Genç fide dönemi (1-3 yapraklı fide); 2, Vejatatif gelişme (5-7 yapraklı fide); 3, Çiçeklenme başlangıcı; 4, Tam çiçeklenme; 5, Çiçeklenme ve meye bağlama; 6, Çiçeklenme ve olgunlaşmamış meye; 7, Fizyolojik olgunlaşma; 8, Yaşlanması; 9, Çürüme].



Şekil 4. Yalova ili Koruköy, Kazimiye, Kirazlı ve Elmalık'da 2010 ve 2011 yıllarında domates bahçeleri kenarındaki *Solanum nigrum* üzerinde popülasyon gelişimi ve *Solanum nigrum*'un fenolojik gelişimi: siyah kare kutucukla (■) belirtilen [1, Genç fide dönemi (1-3 yapraklı fide); 2, Vejatatif gelişme (5-7 yapraklı fide); 3, Çiçeklenme başlangıcı; 4, Tam çiçeklenme; 5, Çiçeklenme ve meyve bağlama; 6, Çiçeklenme ve olgunlaşmamış meyve; 7, Fizyolojik olgunlaşma; 8, Yaşlanma; 9, Çürüme].

Çizelge 5. Ankara, Bursa ve Yalova illerinde Sorenson'un katsayısına göre zararlı ve avcı türler arasındaki ilişkiler

Örnekleme Bahçesi	Örnekleme yılı	İlişki tipi	Sorenson'un katsayısı (I_{1a})
Ankara, Merkez	2009	<i>T. urticae-P. ubiquitus</i>	0.72
Ankara, Merkez	2009	<i>A. lycopersici- P. ubiquitus</i>	0.47
Ankara, Merkez	2009	<i>T. urticae-T. recki</i>	0.13
Ankara, Merkez	2009	<i>A. lycopersici -T. recki</i>	0.92
Bursa, Karacabey	2010	<i>T. urticae-N. californicus</i>	0.17
U.Ü. Organik Bahçe	2010	<i>T. urticae-P. finitimus</i>	0.30
Bursa, Çeltikçi	2010	<i>T. urticae-N. californicus</i>	0.15
Bursa, Karacabey	2011	<i>T. urticae-N. californicus</i>	0.99
U.Ü. Organik Bahçe	2011	<i>T. urticae-E. finlandicus</i>	0.16
U.Ü. Organik Bahçe	2011	<i>T. urticae- P. ubiquitus</i>	0.43
Yalova- Elmalık	2010	<i>T. urticae-N. californicus+N. bicaudus+T. recki</i>	0.19
Yalova-Kazimiye	2010	<i>T. urticae-N. californicus+T. recki</i>	0.70
Yalova- Koruköy	2010	<i>T. urticae-E. finlandicus+T. recki</i>	0.11
Yalova- Elmalık	2011	<i>T. urticae-N. californicus</i>	0.57
Yalova-Kazimiye	2011	<i>T. urticae-N. californicus</i>	0.57
Yalova-Kazimiye	2011	<i>T. urticae- Pronematus sp.</i>	0.45
Yalova- Kirazlı	2011	<i>T. urticae-A. andersoni+N. californicus</i>	0.96

Tartışma

Ankara, Bursa ve Yalova illerinde 2009 ve 2010 yıllarında *S. nigrum* ve sadece Ankara'da *S. dulcamara*'da yapılan survey çalışmalarında sırasıyla 42 ve 34 tür saptanmasına rağmen, tüm illerde ve bu bitkilerde örneklenen en yaygın tür *T. urticae* olmuştur. Sonuçlarımıza benzer olarak, birçok araştırmacı *T. urticae*'nin 1000'den fazla bitki türünde beslenen polifag bir tür olduğunu ve aynı zamanda Solanaceae kültür ve yabancı türlerinde bulunuşunu kaydetmektedirler (Öngören et al., 1975; Schweizer, 1992; Kumral & Kovancı, 2005; Petanovic & Vidovic, 2009). Bu çalışmaya paralel olarak gerçekleştirilen aynı arazilerde domatesler üzerinden de 34 tür toplanmış olup, yine en yaygın ve bol akar türü *T. urticae*'nin olduğu belirtilmiştir (Çobanoğlu & Kumral, 2014). Bu çalışmaya kadar *S. nigrum* üzerinde Avrupa ülkelerinde sadece 6 *Tetranychus* türü saptanmıştır (Migeon & Dorkeld, 2014). Bizim sonuçlarımıza göre *S. nigrum*'da 10 adet ve *S. dulcamara*'da 6 adet farklı tetranychid türü belirlenmiştir. Bu türlerin içinden de sadece Ankara'da hem *S. nigrum*'da hem de *S. dulcamara*'da belirlenen ikinci en bol tür *E. uncatus* olmuştur. *Eotetranychus uncatus* Türkiye'de daha önce elma ve domates bitkilerinde beslenirken saptanmıştır (Yanar, 2012; Çobanoğlu & Kumral, 2014). Bu iki türün dışında, *Tetranychus turkestanii* Ugarov & Nycolsky (Acari: Tetranychidae) de özellikle *S. dulcamara*'da ön plana çıkan diğer önemli kırmızıörümcek türüdür. Bu zararlı daha önce patlıcan üzerinde belirlenmiş olup, köpek üzümü ile ilgili bir kayıda rastlanılmamıştır (Soleimannejadian et al., 2006; Ozsisi & Cobanoglu, 2011). Diğer önemli zararlı familya olan Eriophyidae'de ise 2 tür belirlenmiştir. Bu türlerden *A. lycopersici* domates ve patlıcanda yaygın bir tür olmakla birlikte (Şekeroğlu & Özgür, 1984; Madanlar & Öncüler, 1994; Yanar et al., 2008; Panigrahi, 2010), *A. solani* daha önce Brezilya'da *S. nigrum* üzerinde belirlenmiştir (Boczek & Davis, 1984; Amrine & Stasny, 1994). Bu tür Türkiye'de ilk defa bu çalışmada *S. dulcamara*'da saptanmıştır.

Biyolojik çeşitlilik parametreleri değerlendirildiğinde her iki yabancı türünde de avcı akar türlerinin faunaya yüksek katkı verdiği ve zararlı türlere kıyasla daha fazla tür bulundurduğu belirlenmiştir. Bu bulgu köpek üzümü türlerinin biyolojik savaşının önemli bir argümanı olan doğal düşmanların korunması, barınması ve popülasyonlarının artırılması için değerli konukcular olduğunu işaret etmektedir. Doğada mevcut doğal düşmanların korunması ve desteklenmesi için tarla ve bahçe kenarlarında bunların biyolojik dönemlerinin saklanabilecekleri barınakların muhafzası, polen gibi besin üreten doğal besin kaynaklarının tahrip edilmemesi ve böylece alternatif av ve konukcularının korunmasının son derece önemli olduğu bildirilmektedir (Uygun et al., 2010). Benzer bir çalışmada, *S. americanum* zararlı akar türleri kadar faydalı akarlar için ve özellikle de phytoseiid türlerinin popülasyon gelişimi için doğada çok

önemli konukçu olduğu vurgulanmaktadır (Ribeiroa et al., 2012). Ancak, her ne kadar zararlı akarların tür sayıları az bulunmasına ve biyolojik çeşitliliğe katkısı az olmasına rağmen yoğunluk açısından avcı türlerden çok daha fazla belirlenmiştir. Köpek üzümü türüne ve toplandığı lokasyona bağlı olmak üzere % 61'den % 87'e varan oranlarda baskın bir şekilde zararlı türler saptanmıştır. Sonuçta, *T. urticae*, *T. turkestanii*, *E. uncatus* ve *A. lycopersici* gibi birçok zararlı akar türü için bu köpek üzümü türleri konukçu olmaktadır (Cabi, 2014; Migeon & Dorkeld, 2014). Bu zararlının daha önce domates, biber ve patlıcan gibi diğer Solanaceae bitki türlerinde de konukçu olduğunu belirlenmiş olması köpek üzümü türlerinden kültür bitkilerine bulaşması açısından risk oluşturmaktadır (Soleimannejad et al., 2006; Can & Çobanoğlu, 2010; Ozsisi & Cobanoglu, 2011). Sonuçlarımıza benzer olarak, Ribeiroa et al. (2012), *S. americanum* bitkisinin EPPO karantina listesinde yer alan Avrupa, Afrika ve Amerika'daki domateslerde çok önemli bir zararlı tür olarak saptanan *T. evansi*'nin doğal alternatif konukcusu olduğunu vurgulamaktadır. Biyolojik çeşitlilik çalışmalarında, kırmızıörümcek ve eriophyid avcısı phytoseiidlerden *N. californicus*, *N. marginatus* ve *T. (A.) recki* yoğunlukları dikkat çekici düzeyde yüksek çıkmıştır. *Neoseiulus californicus* daha önce birçok Solanaceae türünde belirlenmiştir (Calvitti & Tsolakis, 1992; Çobanoğlu & Kumral, 2014). *T. (A.) recki* ise Türkiye'de zeytin ve turunçgilde saptanmıştır (Çobanoğlu, 1989; 2000; Kumral et al., 2010). *Neoseiulus marginatus* Türkiye'de lale üzerinde; Fransa'da ise bağ alanlarının etrafında bulunan yabancı otlarda belirlenmiştir (Tixier et al., 2000; Faraji et al., 2011). Diğer taraftan, eriophyid ve kırmızıörümcek yumurta avcılar *N. neglectus*, *P. ubiquitus* ve *Z. mali* türleri de bu çalışmada sıkça örneklenen avcılar olarak belirlenmiştir (Gerson et al., 2003). Bu çalışmada saptanın avcı akar *Cheyletus baloghi* Volgin (Cheyletidae) kozmopolit bir tür olup (Volgin, 1969), Türkiye için ilk kayıt olarak belirlenmiştir. Diğer avcı akar *Cheiroleius necorniger* (Oud.) (Ascidae), humuslu topraklarda tespit edilen Avrupa ve Afrika'da yaygın olan bir türdür ve yine Türkiye faunası için ilk kayittır (Gwiazdowicz et al., 2008).

Bursa ve Yalova illerinde *T. urticae*; Ankara ilinde ise ağırlıklı olarak *T. urticae* olmakla beraber *E. uncatus* gibi kırmızıörümcek türlerinin *S. nigrum*'da ilk bulaşmaları genellikle köpek üzümünün fide döneminde; ilk tepe noktaları çiçeklenme ve meyeve bağlama ve en yüksek popülasyon düzeyleri ise meyeve olgunlaşma döneminde (temmuz ayı başı-sonu) meydana getirmiştir. Sonraki tepe noktaları ise ağustos, eylül ve ekim başlarında oluşmuştur. Genellikle de erken sonbahar yağmurlarından sonra kırmızıörümcek popülasyonları ani düşüşler yaşamış ancak, ekim ayında son bir tepe noktası daha oluşturmuştur. Kırmızıörümcek popülasyonların artış gösterdiği günlerde Ankara'da nem oranı oldukça düşmüş (% 20-30) ve sıcaklık en yüksek değerlerini bulmuştur (Şekil 1). Ekim-kasım ayları arasında görülen yağışlar ise popülasyonlarda düşüse neden olmuştur. Ayrıca, daha sıcak ve nemli bir iklim sahip Bursa'da nem Ankara'ya göre çok daha fazla olmuştur (% 60-80). Sıcaklık ise ortalama 25- 30 °C arasında seyretmiştir (Şekil 1). Kumral & Kovancı (2005), *T. urticae*'nin Bursa'da patlıcan üzerinde temmuz-ağustos ve eylül-ekim ayları aralığında olmak üzere iki önemli tepe noktası oluşturduğunu bildirmektedirler. Zararının popülasyon dalgalanmasında yüksek sıcaklığın ve düşük nemin etkili olduğunu, buna karşılık yüksek yağışla birlikte popülasyonların çok düşüğü yağmurun arkasından zararının ekim ayına doğru yine çıkış yaptığını belirtmektedirler. Eriophyidae familyasına ait diğer önemli bir zararlı *A. lycopersici* ise eylül ayı sonunda yüksek bir tepe noktası meydana getirmiştir. Popülasyon dalgalanması çalışmalarında, kırmızıörümcek türleri ile *T. (A.) recki*, *N. californicus*, *A. andersoni*, *P. finitimus* ve *E. finlandicus* türlerinin popülasyon dalgalanmaları arasında önemli uyumlar ve pozitif ilişkiler belirlenmiştir (Çizelge 5). *Neoseiulus californicus*'un *T. urticae* ve *Panonychus ulmi* (Koch) (Acarı: Tetranychidae) ile ilişkili olduğu bildirilmiş olup, hali hazırda ticari olarak üretimi ve salımı yapılmaktadır (Calvitti & Tsolakis, 1992; Koppert, 2014). Avcı akar *T. (A.) recki*'nin elma bahçelerinde eriophyid ve tetranychid'lerle beslendiklerine dair kayıtlar bulunmaktadır (Çobanoğlu, 1993; Kumral & Kovancı, 2005). *Amblyseius andersoni*'nın hem domates pas akarının hem de *T. urticae*'nin etkili bir avcısı olduğunu bildirmektedir (Fiedler, 2009; Lara et al., 2012). Benzer olarak, *P. finitimus* ve *E. finlandicus*'un da ikinoktalı kırmızıörümcek popülasyonları ile ilişkili olduğunu bildiren kayıtlar da bulunmaktadır.

(Papaioannou-Souliotis et al., 1999; Gerson et al., 2003). Ayrıca, *P. ubiquitus* ve kırmızıörümceklerin popülasyonlarının uyumu ve pozitif ilişkileri belirlenmiştir (Çizelge 5). Laboratuvar çalışmalarında yapılan sayımlarda da bu akarların kırmızıörümceklerin yumurtaları ile beslendikleri izlenmiştir. Kırmızıörümcek ve eriophyid'lerin popülasyonlarının azaltılmasında *P. ubiquitus*'un çok etkin rol oynadıklarını bildirmektedir (Abou-Awad et al., 1999; Gerson et al., 2003).

Sonuç olarak, köpek üzümü türlerinde faydalı tür çeşitliliği çok fazla bulunmasına rağmen, *T. urticae*, *E. uncatus* ve *A. lycopersici* gibi polifag zararlı türler için de önemli bir ara konukçu olmuştur. Köpek üzümünde zararlı akarların kompozisyonu ve popülasyon gelişimi de domatese benzerlikler göstererek, domates tarlaları çevresinde akarlar için iyi bir ara konukçu olmuştur (Çobanoğlu & Kumral, 2014). Bitki fenolojisi gözlemlerimize göre, özellikle domatesin hasat dönemi olan ağustos ayında domates tarla ve bahçelerinde köpek üzümlerinin oldukça büyündüğü hatta domates bitkilerini yer yer boğduğu görülmüştür. Bitki fenolojisi oldukça uzun olan bu bitkinin ilk olgun meyveleri temmuz ayı ortası-sonunda görülmüş olup, kasım ayına kadar çiçekli ve olgun meyveli köpek üzümü bitkilerini arazide bulmak mümkün olmuştur. Köpek üzümü türleri bu özelliklerinden ötürü, sadece domatesle, su, besin ve ışık rekabetine girmek suretiyle zarar vermemekte aynı zamanda zararlı akarların popülasyonlarının korunması, artması ve domatese bulaşmasına da olanak sağlamaktadır. Diğer taraftan, domates hasadından sonra uzun süre tarlada bu yabanciotun bulunması zararlıların kışlamaya hazırlanması açısından ayrı bir önem taşımaktadır. Tüm bu olumsuz etkilerinin dışında, birçok avcı akar türünü bünyesinde bulundurması köpek üzümünü avcı akarlar için önemli konukçular haline getirmektedir. Nitekim tarla kenarlarında köpek üzümü bitkilerinin bırakılması ve ilaçlanması ceddine gidilerek avcı akar biyolojik çeşitliliği korunabilir ve faydalıların popülasyonlarının artmasına imkan sağlanabilir.

Teşekkür

Bu araştırmaya TOVAG 108O363 nolu proje ile destek sağlayan TÜBİTAK'a ve ayrıca teşhis çalışmaları için FP7 IRSES Grant No.: 269133 nolu ve DetanMite kısa adlı projeye destekleyen European Union Research Executive Agency (ERA)'ya, teşhisde yardımcı olan Prof. Dr. Eddie Ueckermann (Agricultural Research Council, Güney Afrika), Enrico De Lillo (Department of Soil, Plant and Food Science, Section of Entomology and Zoology, University of Bari, Bari, Italy) ve Maka Murvanidze (Entomology and Biocontrol Research Centre, Ilia State University Tbilisi- Georgia) ve preperasyonda yardımcı olan bursiyerlerimiz Ayhan Öreten, Deniz Akpınar, Cem Yalçın, Pınar Hephzılı, Birtan Armağan ve Esra Atalay'a teşekkür ederiz.

Yararlanılan Kaynaklar

- Abou-Awad, B.A., B.M. El-Sawaf & A.A. Abdel Kader, 1999. Life history and life table of *Pronematus ubiquitus* (Mcgregor) as a predator of eriophyoid mites in Egypt (Acarı: Tydeidae). *Acarologia*, 40(1): 29-32.
- Almaguel L., L.R. Machado & I. Caceres, 1986. New food-plants of the mite *Polyphagotarsonemus latus*. *Ciencia e Técnica en la Agricultura, Protección de Plantas*, 7(1): 99-108.
- Amrine, J.W.J. & T.A. Stasny, 1994. Catalog of the Eriophyoidea (Acarina: Prostigmata) of the World. Indira Publishing House, West Bloomfield, Michigan, USA, 804 pp.
- Atalay, E. & N.A. Kumral, 2013. *Tetranychus urticae* (Koch) (Acarı: Tetranychidae)'nin farklı soframık domates çeşitlerinde biyolojik özellikleri ve yaşam çizelgeleri. *Türkiye Entomoloji Dergisi* 37: 329-341.
- Boczek, J. & R. Davis, 1984. New Species of Eriophyid Mites (Acarı: Eriophyoidea). *The Florida Entomologist*, 67(2): 198-213.
- Brar, B., K. Manmeet & J. Ghai, 2003. Seasonal abundance of phytophagous and predatory mites infesting brinjal in Punjab. *Annals of Biology (Hissar)*, 19(2): 231-234.
- Cabi, 2014. Invasive Species Compendium (*Aculops lycopersici*). (Web sayfası: <http://www.cabi.org/isc/datasheet/56111>), (Erişim tarihi: Ocak .2014).

- Calvitti, M. & H. Tsolakis, 1992. Phytoseiid mites collected from some herbaceous crops in Lazio (central Italy). *Redia*, 75(2): 529-535.
- Can, M. & S. Çobanoğlu, 2010. Kumluca (Antalya) ilçesinde sebze üretimi yapılan seralarda bulunan Akar (Acarı) türlerinin tanımı ve konukcuları üzerinde çalışmalar. A.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 23(2): 87-92.
- Çobanoğlu, S., 1989. Türkiye'nin bazı Turuncgil bölgelerinde tespit edilen faydalı akar (Acarı, Phytoseiidae) türleri. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 13(3): 163-178.
- Çobanoğlu S., 2000. Phytoseiid mites (Mesostigmata: Phytoseiidae) of Thrace, Turkey. *Israel Journal of Entomology*, 34: 83-107.
- Çobanoğlu, S. & N. A. Kumral, 2014. Ankara, Bursa ve Yalova illerinde domates yetişirilen alanlarda zararlı ve faydalı akar (Acarı) biyolojik çeşitliliği ve popülasyon dalgalanması. *Türkiye Entomoloji Dergisi* 38(2):197-214.
- Dhooria, M.S. 1996. Observations on host-range of leaf-curl mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acarı: Tarsonemidae) in Punjab. *Journal of Insect Science*, 9(1): 9-11.
- FAO, 2011. Domates, biber ve patlıcan üretiminde dünya sıralamasında Türkiye'nin yeri. (Web sayfası: <http://faostat.fao.org/>), (Erişim: Ekim 2011).
- Faraji, F. & F. Bakker, 2008. A modified method for clearing, staining and mounting plant-inhabiting mites. *European Journal of Entomology*, 105: 793–795.
- Faraji, F., S. Cobanoglu & I. Cakmak, 2011. A checklist and a key for the Phytoseiidae species of Turkey with two new species records (Acarı: Mesostigmata). *International Journal of Acarology*, 37(1): 221-243.
- Ferreira, M.A. & S.E. Sousa, 2011. Hosts and distribution of the spider mite *Tetranychus evansi* (Acarı: Tetranychidae) in Portugal. *Acta Horticulturae*, 917: 133-136.
- Fiedler, Z., 2009. *Amblyseius andersoni* (Chant) - new alternative for biological control of mite pests. *Progress in Plant Protection*, 49(3): 1469-1473.
- Gerson, U., R.L. Smiley & R. Ochoa, 2003. Mites (Acarı) for Pest Control. Blackwell Publishing, Oxford, UK, Pp: 539.
- Gwiazdowicz, D.J., C. Blaszak & R. Ehrnsberger, 2008. The mites of Zoologische Staatssammlung München. Part 11. Genus: *Arctoseius* Thor, 1930, *Cheiroleius* Berlese, 1916, *Melichares* Hering, 1839, *Proctolaelaps* Berlese, 1923 (Acarı, Gamasida, Ascidae). *Spixiana* 31(1): 29-33.
- Helle, W. & M.W. Sabelis, 1985. Spider Mites. Their Biology, Natural Enemies and Control. World Crop Pests, Volume 1B. Natural enemies of the Tetranychidae. Amsterdam, Elsevier, 458 pp.
- Hincal, P., N. Yaşarakıcı & İ. Çınarlı, 2002. İzmir ilinde domates pas akarı (*Aculops lycopersici* Massee) (Acarina: Eriophyidae)'nın popülasyon seyri, doğal düşmanları ve kimyasal mücadele üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 42 (1-4): 9-22.
- Hughes, A.M., 1976. The Mites of Stored Food and Houses. Cornell University, USA, 400pp.
- James, D.G., 1989. Overwintering of *Amblyseius victoriensis* Womersley (Acarina: Phytoseiidae) in southern New South Wales. *General and Applied Entomology*, 21: 51-55.
- Kazmierski, A. 1998. Tydeinae of the world: generic relationships, new and redescribed taxa and keys to all species. A revision of the subfamilies Pretydeinae and Tydeinae (Acarı: Actinedida: Tydeidae) - part IV. *Acta Zoologica Cracoviensia*.41: 283-455.
- Kim D. G., D.G. Park, S. H. Kim, I.S. Park & S. K. Choi, 2002. Morphology, biology and chemical control of tomato russet mite, *Aculops lycopersici* Massee (Acarı: Eriophyidae) in Korea. *Korean Journal of Applied Entomology*, 41(4): 255-261.
- Koppert, 2014. Koppert Biological Systems. (Web sayfası: <http://www.koppert.com/products/products-pests-diseases/products/detail/spical-1/>), (Erişim tarihi: Temmuz 2014).
- Kreiter S., M.S. Tixier, P. Auger, N. Muckensturm, G. Sentenac, B. Doublet & M. Weber, 2000. Phytoseiid mites of vineyards in France (Acarı: Phytoseiidae). *Acarologia*, 41(1-2): 77-96.
- Kumral, N.A. & B. Kovancı, 2005. Seasonal population dynamics of the Two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acarı: Tetranychidae) under acaricide constraint on eggplant in Bursa province. *Acarologia*, 45(4): 297-303.
- Kumral, N.A., H. Susurluk & S. Cobanoglu, 2010. Interactions among populations of predatory mites and insect and mite pests on olive trees in Turkey. *International Journal of Acarology*, 36(6): 463-471.

- Lara, L., M. Cano, E. Salvador & M. M. Téllez, 2012. Evaluating the effectiveness of *Amblyseius andersoni* (Chant) as biological control agent of *Aculops lycopersici* (Massee) in protected tomato crops. Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas, 38 (2): 203-211.
- Leite, G.L.D., M. Picanco, J.C. Zanuncio & F. Marquini, 2003. Factors affecting mite herbivory on eggplants in Brazil. Experimental and Applied Acarology, 31(3-4): 243-252.
- Lindquist, E.E., 1986. The world genera of Tarsonemidae (Acari: Heterostigmata): morphological, phylogenetic, and systematic revision, with a reclassification of family-group taxa in the Heterostigmata. Memoirs of the Entomological Society of Canada, 136, 1-517.
- Lindquist, E.E., M.W. Sabelis & J. Bruin, 1996. Eriophyoid Mites, Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier, Amsterdam.
- Lozzia, G.C. & I.E. Rigamonti, 1998. Effects of weeds management on phytoseiid populations in vineyards of Lombardy (Italy). Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura, 30(1): 69-78.
- Madanlar, N. & C. Öncüler, 1994. İzmir'de sera zararlısı olarak *Aculops lycopersici* (Massee) (Acarina, Eriophyidae). Türkiye Entomoloji Dergisi, 18(4): 237-240.
- Magurran, A.E., 2004. Measuring Biological Diversity. Oxford: Blackwell Publishing. ISBN 0-632-05633-9, 107 pp.
- Mauricio, M., M.A. Ferreira & M.E. Sousa, 2009. "The mite fauna of vineyards and weeds in different Ribatejo regions 35-38". XII Congresso da Sociedad Española de Malherbología (SEMh), 10-13 November, 919pp.
- Meier, U., 2001. Growth stages of mono-and dicotyledonous plants. BBCH Monograph. (Web sayfası: <http://www.bba.de/veroeff/bbch/bbcheng.pdf>), (Erişim tarihi: Aralık 2014).
- Migeon, A., 2005. Un nouvel acarien ravageur en France: *Tetranychus evansi* Baker et Pritchard. Phytoma – La défense des Végétaux, 579: 38-42.
- Migeon, A. & F. Dorkeld, 2014. Spider Mites Web: a Comprehensive Database for the Tetranychidae. (Web sayfası: <http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb>), (Erişim tarihi: Temmuz 2014).
- Murungi, L.K., A. Nyende, J. Wesonga, P. Masinde & M. Knapp, 2010. Effect of African nightshade species (Solanaceae) on developmental time and life table parameters of *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae). Experimental and Applied Acarology, 52: 19-27.
- Nyrop, J.P., J.C. Minns & C.P. Herring, 1994. Influence of ground cover on dynamics of *Amblyseius fallacis* Garman (Acari, Phytoseiidae) in New York apple orchards. Agriculture, Ecosystems and Environmental, 50(1): 61-72.
- Ozsisli, T. & S. Cobanoglu, 2011. Mite (Acari) fauna of some cultivated plants from Kahramanmaraş, Turkey. African Journal of Biotechnology, 10(11): 2149-2155.
- Öngören, K., N. Kaya & Ş. Türkmen, 1975. Ege Bölgesi sebzelerinde zarar yapan kırmızı örümcek türlerinin tespiti, halim tür olan *Tetranychus urticae* (Koch)'nın biyolojisi, mücadeleşi ve doğal düşmanları üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 15(1): 3-30.
- Panigrahi D., 2010. Phytophagous mites associated with important vegetables in Odisha. Annals of Plant Protection Sciences, 18(2): 18-519.
- Papaioannou-Souliotis P., D. Markoyiannaki-Printziou, I. Rumbos & I. Adamopoulos, 1999. Phytoseiid mites associated with vine in various provinces of Greece: a contribution to faunistics and biogeography, with reference to eco-ethological aspects of *Phytoseius finitimus* (Ribaga) (Acari: Phytoseiidae). Acarologia, 40(2): 113-125.
- Pedrosa, M., H.O. Jose, V. Terry, D.C. Marcelo & G. Marcelo, 2003. Phytophagous arthropods associated with *Solanum mauritianum* Scopoli (Solanaceae) in the First Plateau of Paraná, Brazil: A cooperative project on biological control of weeds between Brazil and South Africa. Neotropical Entomology, 32(3): 519-522.
- Pereira, N., M. D. A. Ferreira, M. E. Sousa & J. C. Franco, 2006. Mites, lemon trees and ground cover interactions in Mafra region. Bulletin OILB/SROP, 29(3): 143-150.
- Petanovic, R. & B. Vidovic, 2009. Spider mites (Tetranychoidea) pests of greenhouses. Faculty of Agriculture, Department for Environmental and Plant Protection, University of Novi Sad, 37(5): 553-562.
- Reddy, G.V.P., R. Kikuchi & J.E. Remolona, 2011. New mite species associated with certain plant species from Guam. Journal of Entomological and Acarological Research, 43(1): 41-46.

- Ribeiroa, A.E.L., G.C. Manoel, J. Gondim, W.S. Melob & I.J. Delalibera, 2012. *Solanum americanum* as a reservoir of natural enemies of the tomato red spider mite, *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae). International Journal of Acarology, (38) 8: 692–698.
- Sadana, G.L., B.K. Gupta & R. Chopra, 1983. Remove from marked records mites associated with the crops and weeds in the Punjab, India. Science and Culture, 49(6): 184-186.
- Schweizer, C. 1992. Influence of weeds on spider mites in hop gardens. Landwirtschaft Schweiz, 5(11-12): 597-599.
- Soleimannejadian, E., A. Nemati, P. Shishehbor, K. Kamali, V. Baniameri, C. Castañé & J.A. Sanchez, 2006. Biology of the two spotted spider mite, *Tetranychus turkestanii* (Acari: Tetranychidae) on four common varieties of eggplant in Iran. Bulletin OILB/SROP, 29(4): 115-119.
- Southwood, T.R.E., 1978. Ecological Methods. Chapman and Hall, London, 524 pp.
- Şekeroğlu, E. & A.F. Özgür, 1984. A new tomato pest in Çukurova, *Aculops lycopersici*. Türkiye Bitki Koruma Dergisi, 8: 211-213.
- Tixier, M.S., S. Kreiter, P. Auger, G. Sentenac, G. Salva & M. Weber, 2000. Phytoseiid mite species located in uncultivated areas surrounding vineyards in three French regions. Acarologia, 41(1/2): 127-140.
- Tunç, İ. & H. Göçmen, 1995. Antalya'da bulunan iki sera zararlısı *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acarina, Tarsonemidae) ve *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera, Thripidae) üzerinde notlar. Türkiye Entomoloji Dergisi, 19(2): 101-109.
- Uygun, N, M.R. Ulusoy & S. Satar, 2010. Biyolojik Mücadele. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 1(1): 1-14.
- Uygur, S., 2004. Density of *Centaurea solstitialis* L. and its natural enemies *Ceratapion* spp. in southern Turkey. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 28(5): 333-339.
- Volgin, V.I., 1969. Acarina of the family Cheyletidae of the World. Akademia Nauk, Leningrad, USSR. 432 pp. (In Russian)
- Westphal, E., M.J. Perrotminnot, S. Kreiter & J. Gutierrez, 1992. Hypersensitivity reaction of *Solanum dulcamara* to the gall mite *Aceria cladophthirus* causes an increased susceptibility to *Tetranychus urticae*. Experimental and Applied Acarology, 15(1): 15-26.
- Yanar D., 2012. Life-History parameters of *Eotetranychus uncatus* Garman (Acari: Tetranychidae) on red delicious apple. Pakistan Journal of Zoology, 44(1): 129-132.
- Yanar, D., O. Ecevit & İ. Kadıoğlu, 2008. Tokat Yöresinde domates ekim alanlarında zarar oluşturan Domates pas akarı [*Aculops lycopersici* (Massee) (Acari: Eriophyidae)]. GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi, 25(2): 1-5.
- Zhang, Z., 2003. Mites of Greenhouses, Identification, Biology and Control. CABI Publishing, Wallingford, UK, 244.

Orijinal araştırma (Original article)

Bazı bitki uçucu yağlarının *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) üzerindeki fumigant toksisiteleri¹

Fumigant toxicity of some plant essential oils to *Acanthoscelides obtectus* (Say)
(Coleoptera: Bruchidae)

Tuğba SELİMOĞLU² Ayhan GÖKÇE^{3*} Dürdane YANAR⁴

Summary

The fumigant toxicity of five plant essential oils (*Foeniculum vulgare* Miller, *Lavandula stoechas* L., *Thymbra spicata* L., *Teucrium polium* L. and *Heracleum platytaenium* Boiss.) were tested on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Col.: Bruchidae) under laboratory conditions. Single dose (100 µl/L) of plant essential oils were initially tested on adult stage of *A. obtectus*. The greatest fumigant toxicity against *A. obtectus* was seen with *F. vulgare* essential oil, followed by *T. spicata* and *L. stoechas* essential oils. In the dose response bioassays with *F. vulgare*, *T. spicata* and *L. stoechas*, the calculated LC₅₀ values were 22,3 µl/L, 32,4 µl/L and 46,3 µl/L respectively. The main components of plant essential oils of three plants showing high response were determined by GC-MS analysis. *F. vulgare* essential oil's main components were anisole (79%) and L-Fenchone (13%). *T. spicata* and *L. stoechas* contain L-Fenchone (55%, 57%), Camphor (24%, 24%) and Eucalyptol (13%, 13%) respectively. Main components L-Fenchone and Camphor caused about 100% mortality at 80 µl/L dose in 48 hours. The results indicate that *F. vulgare* essential oil or its components may have a potential in controlling of *A. obtectus*.

Key words: *Acanthoscelides obtectus*, *Foeniculum vulgare*, fumigant toxicity, essential oil

Özet

Bu çalışmada 5 farklı bitkiden [*Foeniculum vulgare* (Rezene), *Lavandula stoechas* (karabaşotu), *Thymbra spicata* (Karabaş Kekiği), *Teucrium polium* (adi yavşanotu), *Heracleum platytaenium*] elde edilen uçucu yağlarının *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Col.:Bruchidae) (Fasulye Tohum Böceği) üzerine olan fumigant toksisiteleri laboratuvar koşullarında test edilmiştir. Yapılan çalışmada, bitkilerden elde edilen uçucu yağlar fasulye tohum böceğiinin erginlerine karşı uygulanmıştır. Yapılan tek doz fumigant etki denemelerinde (100 µl/L) en yüksek fumigant toksisite *F. vulgare* bitkisinden elde edilen uçucu yağlarda gözlenmiş, bunu *T. spicata* ve *L. stoechas* bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar takip etmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında yürütülen doz-etki denemeleri sonucunda LC₅₀ değerleri *F.vulgare* için 22,3 µl/L, *T. spicata* için 32,4 µl/L ve *L. stoechas* için 46,3 µl/L olarak hesaplanmıştır. Yüksek etki gösteren üç bitkinin uçucu yağlarının ana bileşenleri GS-MS analizi ile belirlenmiştir. *F. vulgare* bitkisinin ana bileşenlerinin anisole (%79) ve L-Fenchone (%13), *T. spicata* ve *L. stoechas* bitkileri uçucu yağlarının ana bileşenlerinin sırasıyla L-Fenchone (%55, %57), Camphor (%24, %24) ve Eucalyptol (%13, %13) den oluştuğu belirlenmiştir. Ana bileşenlerden L-Fenchone ve Camphor 80 µl/L dozdza 48 saat sonunda %100 oranında ölüme neden olduğu saptanmıştır. Çalışma sonuçları özellikle *F. vulgare* uçucu yağı veya bileşenlerinin fasulye tohum böceğiinin mücadeleinde kullanma potansiyeline sahip olabileceğiğini göstermiştir.

Anahtar sözcükler: *Acanthoscelides obtectus*, *Foeniculum vulgare*, fumigant toksisite, uçucu yağı

¹ Bu makale birinci yazarın yüksek lisans tezinden hazırlanmıştır ve bir kısmı, 3–5 Şubat 2014 tarihinde Antalya'da düzenlenen Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi'nde poster olarak sunulmuş ve özet olarak basılmıştır.

² Bozok Üniversitesi, Tarım ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Yozgat, Türkiye

³ Niğde Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Bitkisel Üretim ve Teknolojileri Bölümü, Niğde, Türkiye

⁴ Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Tokat, Türkiye

* Sorumlu yazar (Corresponding author) email: ayhan.gokce@nigde.edu.tr

Alınış (Received): 22.07.2014 Kabul edilmiş (Accepted): 10.03.2015 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 22.04.2015

Giriş

Yemeklik tane baklagiller son derece sağlıklı bir besin grubu olup, protein kalitesi bakımından da hayvansal proteinlere yakındır (Anonymous, 2004). Dünyada insan beslenmesindeki bitkisel proteinlerin % 22'si, karbonhidratların % 7'si; hayvan beslenmesindeki proteinlerin % 38'i karbonhidratların % 5'i yemeklik tane baklagillerden sağlanmaktadır (Wery & Gricnac, 1983).

Baklagiller üreticilerin imkânlarına bağlı olarak kısa veya uzun vadeli depolanmaktadır. Ürünler, depolama süresince fungus, bakteri, böcek ve kemirgen gibi zararlı etmenlerin saldırılara maruz kalmakta ve bunun bir sonucu olarak kalite ve kantite kayıpları görülmektedir. Depolanmış ürünlerde zarar yapan etmenlerin başında böcekler gelmektedir. Bu zararlardan depolama süresi boyunca haleen yüksek oranda zarar meydana getirmektedirler (Shaaya et al., 1997).

Fasulye yetiştirciliği yapılan alanlarda ve depolanmış ürünlerde sorun olan türlerden en önemlisi fasulye tohum böceği, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae)'dır. Fasulye tohum böceği ürünün fiziksel ve biyolojik değerinde önemli kayıplara neden olabilmektedir. Tarlada taze taneye giren larvalar hasat sonrası ürünle depoya taşınmakta, ergin olana kadar kotiledon ve embriyodan beslenmektedir. Taneden çıkan erginler depoda yeni döller vererek zararını sürdürmektedir. Diğer baklagillerde zarar yapan ve depo koşullarında üreyemeyen Bruchidae türlerinden farklı olarak tanede çok sayıda delik oluşturmazı ve yılda 4-5 döl vermesi zararın şiddetini artırmaktadır (Atak, 1975).

Depolanmış ürünlerde böcek zararını azaltmak için kültürel, mekanik ve kimyasal mücadele yöntemleri kullanılmaktadır. Depo zararlardan ile mücadelede hızlı sonuç alınması sebebiyle insektisit kullanımı yaygındır (Anonymous, 2008). Organik-fosforlu ve pyretroid grubu insektisitler ile fumigantlar depo zararlı böceklerle mücadelede en çok kullanılan kimyasallardır. Bu insektisit grupları içerisinde yer alan pirimiphos methyl, malathion ve cypermethrin baklagil tohum böceklerine karşı ruhsatlı olarak kullanılan aktif maddelerdir (Anonymous, 2013). Kullanılan insektisitlerin çoğu ithal edilmekte ve ülkemiz ekonomisine önemli seviyede mali yük getirmektedir. Bununla birlikte insektisitlerin çevre ve insan sağlığı üzerinde büyük olumsuz etkileri vardır (Yıldırım et al., 2005). Bahsedilen olumsuzluklardan daha da önemli böcekler, kullanılan insektisitlere karşı zamanla dayanıklılık kazanmakta ve bunun sonucunda mücadele güçleşmektedir. Depo zararlı baklagil tohum böceklerinden olan *Callosobruchus maculatus*'un carbaryl ve lindane aktif maddelerine karşı dayanıklılık kazandığı belirlenmiştir (Whalon et al., 2012).

Ürünlerdeki zararlı popülasyonunun artması sonucunda üretici ekonomik zarar eşiğini dikkate almadan zararlı popülasyonunu azaltmak için yoğun bir şekilde ilaçlama yapmaktadır. Yoğun ilaçlama sonucunda zararlardan dayanıklılık kazanmakta ve böylece dayanıklı böcekleri kontrol altına almak da zorlaşmaktadır. Bu durumun çözümü olarak üretici, ilaçlama sayısını ve dozunu artırarak dirençli popülasyonların oluşmasına yol açmakta ve bu şekilde çevre ve insan sağlığına da zarar vermektedir.

Zararlardan dayanıklılık kazanması, kalıntı ve yüksek toksisite gibi nedenlerden dolayı, alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi ve uygulamaya aktarılması depolanmış ürün zararlardan mücadelede büyük önem taşımaktadır (Çam et al., 2012). Alternatif mücadele yöntemleri içerisinde bitkilerden elde edilen ekstraktlar ve uçucu yağlar depolanmış ürün zararlardıyla mücadelede önemli bir yer tutmaktadır.

Son yıllarda uçucu yağların depolanmış ürün zararlardan karşı böcek öldürücü aktiviteleri ile ilgili çalışmalar oldukça hız kazanmıştır (Lee et al., 2004; Karakoç et al., 2006; Rajendran & Sriranjini, 2008; Chu et al., 2010; Çam et al., 2012). Uçucu yağlar, bitki materyallerinden kolaylıkla buhar distilasyon yöntemiyle edilebilmektedir ve memeliler için düşük toksisite gösterirken, depo zararlardan için yüksek oranda toksisiteye sahiptir (Shaaya et al., 1997). Örneğin, *Chenopodium ambrosioides* L. yapraklarından elde edilen uçucu yağı *Prostephanus truncatus* (Horn), *Callosobruchus chinensis* L., *Callosobruchus*

maculatus, *Acanthoscelides obtectus*, *Sitophilus granarius*'a karşı yüksek oranda fumigant toksisite gösterdiği bildirilmiştir (Tapondjou et al., 2002). Bittner et al. (2008), *Thymus vulgaris Gomortega keule*, *Laurelia sempervirens*, *Eucalyptus globulus* ve *Origanum vulgare* bitkilerinden elde etikleri uçucu yağıların *A. obtectus* üzerinde fumigant aktiviteye sahip olduğu saptamışlardır. Bu ve benzer çalışmalar, uçucu yağılar ve bu yağıların bileşenleri, zararlılar ile mücadelede kullanılan fumigantlara alternatif olabilecek potansiyel kaynaklar olarak öne çıkartmaktadır.

Bu çalışmada laboratuvar koşullarında 5 farklı bitkiden elde edilen uçucu yağıların depolanmış baklagillerde zarar meydana getiren *A. obtectus* erginlerine karşı fumigant toksisiteleri, en etkili olan uçucu yağıların bileşenleri ve bu ana bileşiklerin fumigant toksisiteleri araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Böcek kültürlerinin yetiştirilmesi

Denemedede kullanılan *A. obtectus* erginleri Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ne ait stok kültürlerinden elde edilmiştir. *A. obtectus* erginlerinin yetiştirilmesinde 5 litrelilik cam kavanozlar kullanılmıştır. Kavanozların ağızları paket lastiği yardımıyla tül ile kapatılmıştır. Böcekler kavanozlara alınarak 27 ± 2 °C sıcaklıkta ve % 50 bağıl nem (B.N.) koşullarında inkubatorde muhafaza edilmiştir. Aynı yaşta popülasyonlar elde etmek için 5 litrelilik kavanozlar, 1/3 oranında temiz horoz tipi kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ile doldurulmuştur. Ergin dişi ve erkekler 48 saat süreyle bu kavanozlar içine alınarak yumurtlamaya bırakılmıştır. İnkubasyon süresi sonunda ergin bireyler 7 mm lik elek kullanılarak fasulye danelerinden ayrılmış ve yumurta bırakılmış fasulye taneleri tekrar kavanozlara konularak 27 ± 2 °C ve %50 B. N. inkübe edilerek ergin çıkışları beklenmiştir.

Denemedede kullanılan bitkiler

A. obtectus'a karşı uçucu yağılarının fumigant etkisi test edilen bitkilerin Latince isimleri, familyaları, çalışmada kullanılan vejetatif kısımları ve toplanma yerleri Çizelge 1' de verilmektedir. Toplanan bitkiler Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden Yrd. Doç. Dr. Bedrettin Selvi tarafından teşhis edilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan bitkilerin botanik isimleri, familyaları, kullanılan kısımları ve toplanma yerleri

Botanik İsmi	Familya	Kullanılan Kısım	Toplandığı Yer
<i>Foeniculum vulgare</i> Miller	Apiaceae	Gövde ve yaprak	Tokat
<i>Heracleum platytaenium</i> Boiss	Umbelliferae	Meyve, gövde ve yaprak	Tokat
<i>Lavandula stoechas</i> L.	Lamiaceae	Gövde ve yaprak	Denizli
<i>Thymbra spicata</i> L.	Lamiaceae	Çiçek ve yaprak	Mersin
<i>Teucrium polium</i> L.	Lamiaceae	Gövde ve yaprak	Tokat

Uçucu yağıların elde edilmesi

Denemedede kullanılmak üzere toplanan bitkilerin gövde ve yaprak kısımları birbirinden ayrılarak serin ve doğrudan güneş ışığı almayan şartlarda sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Buhar Distilasyon işlemi için Neo-Clevenger (Wise Therm™) aparatı kullanılmıştır. Kuru örneklerden 50'ser gram olarak tartılıp 500 ml'lik şilifli balonlar içerisine aktarılmış ve üzerlerine 500 ml su (1:10) ilave edilerek Neo-Clevenger cihazına yerleştirilmiştir. Uçucu yağıların distilasyon işlemi 1 saat süreyle gerçekleştirilmiştir. Elde edilen uçucu yağılar, denemedede kullanılıncaya kadar ağızı teflon kapaklı 10 ml'lik cam tüpler içerisinde buz dolabında +4°C'de saklanmıştır.

Tek doz fumigant etki çalışmaları

Denemede 10 ml hacimli ve sıkıştırmalı kapaklı cam tüpler kullanılmıştır. Bir numaralı Whatman filtre kağıdından 10 mm'lik diskler kesilerek toplu iğne yardımıyla denemede kullanılan cam tüplerin kapaklarına sabitlenmiştir. Uçucu yağlar, aseton (Sigma-Aldrich,%99,9) ile hacimce % 10'luk uçucu yağ-aseton karışımı olacak şekilde seyreltildikten sonra Gilson™ pipet yardımıyla alınarak uçucu yağ için 100 $\mu\text{l}/\text{L}$ dozda olacak şekilde filtre kâğıtlarına emdirilmiştir. Çözüğün ortamdan uzaklaşması amacıyla diskler steril kabin altında 5 dk süreyle beklandıktan sonra bir toplu iğne yardımıyla lastik kapaklara sabitlenmişlerdir. Kapaklar içlerinde 10 adet 5 günlük karışık cinsiyette ergin *A. obtectus* ve onların beslenmesi için yıkanıp kurutulmuş 3 adet horoz tipi fasulye danesi bulunan tüplerin üzerine yerleştirilmiştir. Kimyasal standart olarak Dichlorvos (Nofar 55 EC™) etkili maddeli insektisiti üretici firmانın önerdiği dozda (15 ml/m^3) kullanılmıştır. Denemeler tesadüfi blok deneme desenine göre üç tekrarlı olarak kurulmuş olup her tekrar da üç adet tekerrür bulunmaktadır. Kontrolde 100 $\mu\text{l}/\text{L}$ dozda saf aseton kullanılmış ve üç farklı tarihde tekrar edilmiş olup her tekrar 3 tekerrürden oluşmaktadır. Böcekler 24 saat boyunca 25°C 'de ve % 50 B.N. koşullarında inkübe edilmiştir. Yirmi dört saat sonunda ilk ölümcünlü sayımları yapılmış olup ikinci sayımlar böcekler 25°C sıcaklığında 24 saat bekletildikten sonra yapılarak ölüm oranları kayıt altına alınmıştır.

Doz ölüm fumigant etki çalışmaları

Tek doz fumigant etki çalışmaları sonucunda yüksek toksite gösteren *F. vulgare*, *L. stoechas* ve *T. spicata* bitkilerden elde edilen uçucu yağların *A. obtectus* erginlerine karşı fumigant doz-ölüm denemeleri yürütülmüştür. Çalışmada, ön denemelerle belirlenmiş olan 5,10, 25, 50, 75 ve 100 $\mu\text{l}/\text{L}$ 'lık dozlar kullanılmıştır. Bu dozları içeren %10'luk uçucu yağ-aseton karışımı yukarıda belirtildiği gibi filtre kâğıtlarına emdirilmiş ve bu diskler asetonun uçması için 5 dakika süreyle çeker ocak altında bekletilmiştir. Kapaklara sabitlenen diskler, daha önce 3 adet fasulye danesi ve 5 günlük karışık cinsiyette 10 adet ergin fasulye tohum böceği bulunan tüplere yerleştirilmiştir. Denemede kullanılan böcekler 25°C 'de 24 saat süreyle uçucu yağlara maruz bırakılmıştır. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre üç tekrarlı olarak kurulmuştur. Bir tekrarda her bir doz üç tekerrürlü olarak denenmiştir. Böcekler kontrolde 100 $\mu\text{l}/\text{L}$ dozda aseton ile muamele edilmiştir. Canlı-ölüm sayımları tek doz fumigant etki denemesinde olduğu gibi gerçekleştirilmiştir.

Uçucu yağların analizi

Uçucu yağın bileşenlerinin belirlenmesi için; her bir uçucu yağıdan 20 mg tartılarak 2 mL aseton içinde çözülmüş ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) (Perkin Elmer™ 500 GC, ABD) ile analiz edilmiştir. Analizde kapiler kolon (SGE BPX5, 30 m, 0.25 mm, 25 μm I.D. BPX70 apolar) kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmış olup ve akış hızı 1 mL/dakika'dır. Enjeksiyon bloğu sıcaklığı 250°C , hacmi ise 1 μL 'dir. Elektron kaynağı sıcaklığı 240°C , enerjisi ise 70 eV'dir. Kütle tarama aralığı 40-230 Da'dır. GC transfer hattı 240°C sıcaklığıdır. Fırın başlangıç sıcaklığı 50°C 'den başlanarak $5^\circ\text{C}/\text{dakika}$ ısıtma hızı ile 200°C 'ye kadar çıkartılmıştır. Toplam analiz süresi 30 dakika sürmüştür. Uçucu yağı bileşenlerinin tanımlanması NIST 2008, Wiley, Pfleger kütüphaneleri kullanılarak yapılmıştır.

Ana bileşenlerin fumigant toksisitesi

Uçucu yağı analizleri sonucunda belirlenen sonuçlara göre her bitki için en yüksek miktarda bulunan bileşenler (*F. vulgare* bitkisi için L-Fenchone ve anisole; *T. spicata* ve *L. stoechas* bitkileri için ise L-fenchone, Camphor ve Eucalyptol) ile çalışmalar yürütülmüştür. Ana bileşenlerin fumigant toksisite denemelerinde fumigant etki doz-ölüm testleri sonuçlarına göre elde edilen LC₅₀ ve LC₉₀ değerlerine bakılarak her bitki için ana bileşenlerin 2 farklı dozu uygulanmıştır. *F. vulgare* bitkisi için L-Fenchone ve anisole uçucu yağı ana bileşenlerinin 0,025 mL ve 0,06 mL'lik dozları *A. obtectus* erginleri üzerinde denenmiştir. *T. spicata* ve *L. stoechas* bitkilerinde ise yüksek miktarda bulunan uçucu yağı ana

bileşenlerinden L-fenchone, Camphor ve Eucalyptol ile iki farklı dozda denemeler kurulmuştur. *T. spicata* bitkisi uçucu yağ ana bileşenleri için 0,04 ml/L ve 0,08'lik; *L. stoechas* bitkisi uçucu yağ ana bileşenleri için ise 0,05 ml/L ve 0,09 ml/L'lik dozlar kullanılmıştır. Denemeler yukarıda belirtilen yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiş ve meydana gelen ölümler 24 saat aralıklarla 2 gün boyunca kayıt altına alınmıştır. Çalışmada kullanılan L-Fenchone (CAS numarası: 1179-95-5) (Sigma-Aldrich), Camphor (CAS numarası: 76-22-2) (Sigma-Aldrich), anisole (CAS numarası: 100-66-3) (Sigma-Aldrich) ve Eucalyptol (CAS numarası: 470-82-6) (Sigma-Aldrich) ana bileşenleri İstanbul Gül Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

İstatistiksel analizler

Denemelerde alınan tüm sonuçlar önce % ölüm değerlerine çevrilmiş olup daha sonra arcsin transformasyonuna tabi tutulmuştur. Arcsin değerleri ile varyans analizi (ANOVA) ($P \leq 0,05$) ve bunu takiben muameleler arasındaki farklılıklar belirlemek amacıyla % 5 önem seviyesinde Tukey çoklu karşılaştırma testi yürütülmüş. Tüm istatistiksel analizler MINITAB™ Release 14 paket programı yardımıyla yürütülmüştür (McKenzie & Goldman, 2005). Doz-ölüm denemelerinde elde edilen sonuçlar ise Polo-PC™ (LeOra, 1994) paket programı kullanılarak probit analizine tabi tutulmuş ve LC_{50} ve LC_{90} değerleri ile % 95 güven aralıkları belirlenmiştir.

Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Tek doz fumigant etki tarama testi sonucuna göre bitki uçucu yağılarının *A. obtectus* erginlerine değişen oranlarda fumigant toksisite gösterdiği saptanmıştır. Bitki uçucu yağılarının 24 saat sonunda meydana getirdiği ölüm oranları karşılaştırıldığında, muameleler arasında istatistik olarak önemli derecede farklılığın bulunduğu tespit edilmiştir ($F=79,43$; $sd=6,15$; $P<0,05$). Denemede kullanılan bitki uçucu yağılarından *F. vulgare* % 100, *T. spicata* % 96 ve *L. stoechas* % 91 ölüm oranları ile en yüksek etkiye sahip uçucu yağılar olup, kimyasal standart olarak kullanılan insektisit dichlorvos ile istatistik olarak aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 2). Çalışmada kullanılan bitkilerden *T. polium* % 28, *H. platytaenium* ise % 19 oranında ölümlere neden olmuştur.

Çizelge 2. Bitki uçucu yağılarının ve kimyasal standart Dichlorvos'un *Acanthoscelides obtectus* üzerinde uygulamadan 24 ve 48 saat sonra meydana getirdiği ölüm oranları

Muamele	% Ölüm ±SH*	
	24.saat	48.saat
Kontrol	0,37±1,12c ¹	1,49±1,12d
<i>Foeniculum vulgare</i>	100,00±0,00a	100,00±0,00a
<i>Lavandula stoechas</i>	90,68±1,20a	92,59±0,63b
<i>Thymbra spicata</i>	96,27±2,90a	97,82±1,79ab
<i>Teucrium polium</i>	28,20±0,62b	32,02±0,83c
<i>Heracleum platytaenium</i>	19,31±1,66b	21,68±1,48c
Dichlorvos	98,51±1,12a	100,00±0,00a

¹ Aynı süundaki ortalamları takip eden farklı küçük harfler, ortalamların istatistiksel olarak önemli derecede farklı olduğunu gösterir (Anova $P<0,05$, Tukey test).

*SH: Standart hata

Bitki uçucu yağılarının 48 saat sonunda meydana getirdiği ölüm oranlarına bakıldığından, 24 saat sonuçlarına paralel olarak muameleler arasında istatistik olarak önemli farklılığın bulunduğu tespit edilmiştir ($F=125,98$; $sd=6,15$; $P<0,05$). *T. spicata* ve *L. stoechas* bitkilerinin etkinlikleri çok az miktarda artarak sırasıyla % 98 ve % 93 olarak belirlenmiştir. *T. polium* ve *H. platytaenium* bitkileri ise 24 saat sonunda elde edilen verilere paralel olarak 48 saat sonunda da *T. polium* % 32, *H. platytaenium* % 22 ölüm oranları ile test edilen uçucu yağılar içerisinde en düşük etkiye sahip uçucu yağılar olarak belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar, bu bitkiler ile daha önce yapılan fumigant toksisite çalışmaları ile paralellik göstermektedir. Shaaya et al. (1991), çalışmamızda da etkinliğini test ettiğimiz *L. stoechas*

uçucu yağıının, depo zararlılarından *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae), *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus) (Coleoptera: Silvanidae), *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) ve *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae)'nın erginlerine karşı fumigant etki gösterdiklerini, elde edilen sonuçlara göre *R. dominica* erginlerine en yüksek etki gösterdiğini saptamışlardır. Perrucci (1995), depo zararlısı bir akar olan *Tyrophagus longior*'a karşı iki farklı tür lavanta bitkisi (*Lavandula stoechas*, *Lavandula angustifolia*), nane (*Mentha piperita*) ve ökaliptus (*Eucalyptus globulus*) bitki uçucu yağlarının fumigant ve kontakt toksisitelerini test etmiş ve en yüksek doz olan 6 μl lik dozda 2 lavanta bitkisi uçucu yağıının hem kontakt hem de fumigant toksisite sonucunda % 100 ölüme neden olduğunu tespit etmiştir. Saraç & Tunç (1995), *Pimpinella anisum*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Thymbra spicata* ve *Satureja thymbra* bitkilerinden elde edilen uçucu yağları *E. kuehniella*'nın son larva dönemine ve *T. confusum* ve *S. oryzae*'nın ergin dönemlerine karşı olan toksik etkilerini araştırmışlardır. *Thymbra spicata* uçucu yağıının *S. oryzae* erginlerine karşı biyolojik aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

A. obtectus erginleri üzerinde yapılan doz-etki denemeleri sonuçlarına göre *F. vulgare* uçucu yağıının en yüksek fumigant etkiye sahip olduğu saptanmıştır. LC₅₀ ve LC₉₀ değeri sırasıyla 22,3 $\mu\text{l/L}$ ve 50,5 $\mu\text{l/L}$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3). Çalışmada kullanılan diğer bitkilerin LC₅₀ değerlerine bakıldığından *T. spicata* için 32,4 $\mu\text{l/L}$, *L. stoechas* için 46,3 $\mu\text{l/L}$ olarak tespit edilmiştir. LC₉₀ değerleri de *T. spicata* için 68,0 $\mu\text{l/L}$, *L. stoechas* için ise 83,1 $\mu\text{l/L}$ olarak belirlenmiştir. *A. obtectus* üzerinde test edilen diğer bitki uçucu yağları için de hesaplanan LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri arasında farklılık görüldüğü diğer araştırmacılar tarafından da belirtilmektedir. Papachristos & Stamopoulos (2002a), *A. obtectus*'un larva ve pupa dönemlerine karşı *Lavandula hybrida* (lavanta), *Rosmarinus officinalis* (biberiye) ve *Eucalyptus globulus* (ökaliptus) uçucu yağlarının fumigant toksisitesini test etmiş ve LC₅₀ değerlerinin 0,6-76 $\mu\text{l/L}$ arasında olduğunu saptamışlardır. Karakoç et al. (2006), *Salvia officinalis*, *Cuminum cyminum*, *Anethum graveolens*, *Mentha spicata*, *Micromeria fruticosa* subsp. *brachycalyx* ve *Ocimum minimum* uçucu yağlarını *A. obtectus*, *S. granarius* ve *S. oryzae*'ye karşı test etmişlerdir. *C. cyminum* uçucu yağıının *A. obtectus* için LC₅₀ değerini 29,01 $\mu\text{l/L}$ olarak bulmuşlardır. Papachristos & Stamopoulos (2002b), çalışmalarında *A. obtectus* erginleri için *L. hybrida* LC₅₀ değerini 2,3 $\mu\text{l/L}$ olarak hesaplamışlardır. Bizim çalışmamızda *L. stoechas*'ın LC₅₀ değeri 46,3 $\mu\text{l/L}$ olarak bulunmuştur. Bu iki çalışma arasındaki farklılığın bitki türleri arasında farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bitkilerde bulunan sekonder metabolitler olarak adlandırılan maddelerin yapısı ve miktarı bitki çeşidine, iklim koşullarına ve toplandığı yere göre değişiklik gösterdiği bir çok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Telci et al., 2006; Sellami et al., 2009).

Çizelge 3. *Foeniculum vulgare*, *Lavandula stoechas* ve *Thymbra spicata* uçucu yağlarının *Acanthoscelides obtectus* erginleri üzerindeki toksisite (LC₅₀ ve LC₉₀) değerleri

Muamele	Test Edilen Toplam Birey Sayısı	Eğim \pm SH*	LC ₅₀ ($\mu\text{l/L}$)	LC ₉₀ ($\mu\text{l/L}$)	X ² değeri**
			(Güven aralıkları)	(Güven aralıkları)	
<i>F. vulgare</i>	630	0,454 \pm 0,045	22,3 (18,2-26,3)	50,5 (44,7-55,8)	3,06
<i>T. spicata</i>	630	0,360 \pm 0,035	32,4 (26,7-37,9)	68,0 (60,8-77,6)	3,31
<i>L. stoechas</i>	630	0,349 \pm 0,030	46,3 (41,1-51,4)	83,1 (76,1-92,1)	3,75

*SH: Standart hata

**: $\chi^2_{0,05,4} = 9,48$

A. obtectus erginlerine karşı yüksek oranda fumigant toksisite gösteren *F. vulgare* uçucu yağıının GC-MS analiz sonuçlarına göre, anisole ve L-fenchone en yüksek miktarda bulunan ana bileşenler

olarak tespit edilmiştir. *F. vulgare* uçucu yağıının içerisinde anisole % 79,23 ve L- fenchone ise % 13,30 oranında tespit edilmiştir. Diğer bileşenlerin α -Pinene, α -4-Dimethylstyrene, α -Phellandrene olup, bunların oranlarının tüm yağ oranları içerisinde düşük düzeyde ($\geq 2\%$) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. *Foeniculum vulgare*, *Lavandula stoechas* ve *Thymbra spicata* uçucu yağılarının ana bileşenleri ve oranlar

Gelme Zamanı	Bileşik İsmi	% Alan		
		<i>F. vulgare</i>	<i>L. stoechas</i>	<i>T. spicata</i>
3,629	Diacetonealcohol	-	-	0,06
4,085	Ethylbenzene	-	-	0,15
4,091	p-Xylene	-	0,06	-
4,312	Tetracyclo[3,3,1,0(2,4),0(6,8)]nonae	-	0,08	-
5,457	α -Pinene	2,13	0,33	0,24
5,812	Camphepane	-	0,59	0,39
6,528	β -Thujene	0,13	-	-
6,936	α -Myrcene	0,13	-	-
7,291	α -Phellandrene	1,04	-	-
7,874	α -4-Dimethylstyrene	1,62	0,23	0,17
8,007	Limonene	0,64	0,14	0,09
8,101	Eucalyptol	-	13,43	13,43
8,931	Terpinene	0,71	-	-
9,862	L-Fenchone	13,30	55,19	57,60
11,656	Fenchol, exo-	0,13	0,50	0,36
11,703	Camphor	-	23,67	24,03
12,399	Borneol	-	0,08	-
12,446	Santolinaalcohol	-	0,16	-
12,787	Terpinenol	-	0,07	-
13,243	p-menth-1-en-8-ol	-	0,09	-
13,39	α -Thujenal	-	0,16	-
13,443	Myrtenol	-	0,25	0,27
13,624	Anisole, p-allyl-	79,23	-	-
14,253	Fenchylacetate	0,39	0,48	0,32
14,702	Carvone	0,49	0,14	0,06
16,442	Carvacrol	-	0,35	0,25
16,436	Bornylacetate	-	-	0,44
16,998	(-)-Myrtenylacetate	-	1,45	1,28
17,755	tert-Butylindole	-	0,06	-
22,407	γ -Cadinene	-	0,06	-
23,190	Ledol	-	0,75	-
24,724	Aromadendrene	-	-	0,46
24,730	Sativene	-	0,41	0,21
24,998	Carvacrol	-	0,35	-

T. spicata ve *L. stoechas* bitkilerinden elde edilen uçucu yağıların GC-MS analiz sonuçları incelendiğinde ise her iki bitki içinde aynı ana bileşenlerin yüksek miktarda bulunduğu görülmektedir. *T. spicata* uçucu yağında L-Fenchone % 55,19; Camphor % 23,67 ve Eucalyptol % 13,43 oranında bulunmaktadır (Çizelge 4). *L. stoechas* uçucu yağında ise L-Fenchone % 57,60; Camphor % 24,03 ve Eucalyptol % 13,43 oranında bulunduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Bu çalışmada kullanılan bitkilere ait uçucu yağların ana bileşenlerine ve kompozisyonlarına benzer sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir (Perrucci, 1995; Rozman et al., 2007). Rozman et al. (2007), *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* ve *Laurus nobilis* uçucu yağlarında bulunan ana bileşenler olan 1,8-cineole, Camphor, eugenol, linalool, carvacrol, thymol, borneol, bornylacetate olarak bildirmektedirler. Perrucci (1995), *L. angustifolia*, *L. stoechas*, *Mentha piperita* ve *Eucaliptus globulus* uçucu yağlarının ana bileşenlerinin linalool, linalylacetate, fenchone, menthone, menthol, Eucalyptol'den oluştuğunu saptamıştır.

Çalışmada kullanılan *F. vulgare* bitki uçucu yağı ana bileşenlerinin uygulamadan 24 saat sonunda oluşturduğu fumigant toksisite değerleri karşılaştırıldığında 60 $\mu\text{l/L}$ 'lik dozda L-Fenchone % 92 ölüm oranına neden olmuştur. Kırk sekiz saat sonunda L-Fenchone ana bileşeninin ölüm oranı % 97'ye yükselmiştir (Çizelge 5). Bunula birlikte diğer önemli ana bilişen olan Anisole hem 25 $\mu\text{l/L}$ doz hem de 60 $\mu\text{l/L}$ dozda 24 saat sonunda %17, 48 saat sonunda %33 civarında ölüme neden olmuştur.

Çizelge 5. *Foeniculum vulgare* bitkisi uçucu yağı ana bileşenlerinin *Acanthoscelides obtectus* karşı uygulamadan 24 ve 48 saat sonraki fumigant etkileri

Muamele	% Ölüm \pm SH*	
	24.saat	48.saat
Kontrol	1,49 \pm 1,12	3,33 \pm 0,00
L-Fenchone 25 $\mu\text{l/L}$	43,29 \pm 0,45	54,49 \pm 1,05
L-Fenchone 60 $\mu\text{l/L}$	92,41 \pm 5,86	97,19 \pm 2,58
Anisole 25 $\mu\text{l/L}$	16,58 \pm 0,20	31,85 \pm 1,77
Anisole 60 $\mu\text{l/L}$	17,66 \pm 0,27	33,22 \pm 0,50

*SH: Standart hata

T. spicata uçucu yağı ana bileşen toksisite sonuçlarına göre 24 saat sonunda 80 $\mu\text{l/L}$ 'lik dozda % 99 ölüm oranı ile Camphor ana bileşeni en yüksek fumigant etki göstermiş bunu % 97 ölüm oranı ile L-Fenchone takip etmiştir (Çizelge 6). Bu dozda en düşük etki gösteren ana bileşenin ise % 37 ölüm oranı ile Eucalyptol olduğu tespit edilmiştir. Kırk sekiz saat sonunda en yüksek fumigant aktiviteyi % 100 ölüm oranı ile Camphor ve % 99 ölüm oranı ile L-fenchone ana bileşenlerinde gözlenmiştir. Eucalyptol (80 $\mu\text{l/L}$) ise 48 saat sonunda % 61 oranında ölüme neden olmuştur.

Çizelge 6. *Thymbra spicata* bitkisi uçucu yağı ana bileşenlerinin *Acanthoscelides obtectus* karşı uygulamadan 24 ve 48 saat sonraki fumigant etkileri

Muamele	% Ölüm \pm SH	
	24.saat	48.saat
Kontrol	1,49 \pm 1,12	3,33 \pm 0,00
L-Fenchone 40 $\mu\text{l/L}$	55,73 \pm 1,89	66,76 \pm 0,39
L-Fenchone 80 $\mu\text{l/L}$	97,82 \pm 1,79	99,63 \pm 1,12
Camphor 40 $\mu\text{l/L}$	83,85 \pm 6,81	96,59 \pm 3,45
Camphor 80 $\mu\text{l/L}$	99,63 \pm 1,12	100,00 \pm 0,00
Eucalyptol 40 $\mu\text{l/L}$	14,41 \pm 0,07	32,10 \pm 0,54
Eucalyptol 80 $\mu\text{l/L}$	37,75 \pm 0,16	61,12 \pm 0,04

*SH: Standart hata

Rozman et al. (2007), *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* ve *Laurus nobilis* bitki uçucu yağlarında bulunan ana bileşenler olan 1,8-cineole, Camphor, eugenol, linalool, carvacrol, thymol, borneol, bornylacetate ve linalylacetate'in üç depo zararlısı (*Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica* (F.) ve *Tribolium castaneum*) üzerindeki etkilerini incelemiştir. 1,8-cineole, borneol ve thymol ana bileşenlerinin 0,1 $\mu\text{l}/720$ ml dozda 24 saat sonunda *S. oryzae* üzerinde yüksek derecede toksisiteye sahip olduğunu bildirmiştirlerdir. Aynı koşullarda *R. dominica* üzerinde denenen

Camphor ve linalool ana bileşenlerinin % 100 oranında ölüme neden olduğu tespit edilmiştir. İlginç olarak *T. castaneum*'a karşı test edilen ana bileşenlerden hiçbirinin en yüksek doz olan 100 µl /720 ml de 24 saat sonunda % 20 civarında ölüme neden olduğunu bildirmektedirler. Ana bileşenlerin etkinliği uygulamadan 7 gün sonra 1,8-cineole % 92, Camphor % 77 ve linalool % 70 olarak tespit edilmiştir.

Lavandula stoechas uçucu yağılarının ana bileşenlerinden 24 saat sonunda en yüksek fumigant etkiyi 90 µl/L 'lik dozdaki % 100 ölüm oranı ile Camphor ve % 99 ölüm oranı ile L-Fenchone (90 µl/L) ana bileşenlerde saptanmıştır. Kırksekiz saat sonundaki her iki ana bileşen *A. obtectus* erginlerinin %100 ölümüne neden oldukları belirlenmiştir. Eucalyptol ana bileşeninin %75 ölüm oranı ile Camphor ve L-Fenchone ana bileşenlerine oranla daha az etkili olduğu tespit edilmiştir. Ana bileşenlerin 50 µl/L dozunda 24 saat Camphor %98, L-Fenchone % 62 ve Eucalyptol %35 oranında ölüme neden olmuştu. Inkübasyon süresinin 48 saatte çıkarıldığından ölüm oranları sırasıyla %76, %100 ve % 50 olarak gerçekleştiği saptanmıştır. Regnault-Roger ve Hamraoui (1995), *A. obtectus* erginlerine karşı p-cymene, α-pinene, camphor, linalool, terpineol, cuminaldehyde, cinnamaldehyde, anethole, carvacrol, thymol, estragole ve eugenol monoterpenoidlerinin toksik etkilerini test etmişlerdir. Fumigant toksisitesini tespit etmek amacıyla 24 ve 48 saat uygulama süreleri için LC₅₀ konsantrasyonlarını belirlemişler ve erginlere en fazla toksisiteyi carvacrol, thymol, eugenol, linalool ve terpineol'un gösterdiği bildirmiştir.

Çizelge 7. *Lavandula stoechas* bitkisi uçucu yağ ana bileşenlerinin *Acanthoscelides obtectus* karşı uygulamadan 24 ve 48 saat sonraki fumigant etkileri

Muamele	% Ölüm ±SH*	
	24.saat	48.saat
Kontrol	1,49±1,12	3,33±0,00
L-Fenchone 50 µl/L	62,27±0,27	76,72±0,16
L-Fenchone 90 µl/L	99,63±1,12	100,00±0,00
Camphor 50 µl/L	98,51±1,12	100,00±0,00
Camphor 90 µl/L	100,00±0,00	100,00±0,00
Eucalyptol 50 µl/L	35,27±1,70	49,97±1,47
Eucalyptol 90 µl/L	62,82±3,18	75,05±1,68

*SH: Standart hata

Bu çalışma sonucunda elde edilen verilerin bu konuda yapılacak olan çalışmalara ışık tutacağı şüphesizdir. Uçucu yağıların ve çalışmada test edilen özellikle L-Fenchone ve Camphor ana bileşenlerinin formülasyon haline getirilerek, depolanmış ürün zararlılarına karşı fumigant olarak kullanımına yönelik çalışmaların uçucu yağıların tam potansiyelinin anlaşılması faydalı olacağının düşünülmektedir.

Yararlanılan Kaynaklar

- Anonymous, 2004. Dünyada ve Türkiye'de Yemeklik Tane Baklagiller Tarımı. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası Teknik Yayınlar Dizisi No: 5, Ankara, 1-14s.
- Anonymous, 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 1c, Ankara, 208s.
- Anonymous, 2013. Baklagıl Tohum Böcekleri, (Web sayfası: http://bku.tarim.gov.tr/bku#bku_zararli_organizmalar), (Erişim Tarihi: 25.10.2013).
- Atak, E. D., 1975. Fasulye Tohum Böceği (*Acanthoscelides obtectus* (Say))'nın Biyo-ekolojisi ve Mücadelesi Üzerine Araştırmalar. T. C. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Araştırma Eserleri Serisi, Teknik Bülten 7, İstanbul, 64s.
- Bittner, M. L., M. E. Casanueva, C. C. Arbert, M. A. Aguilera, V. J. Hernández & J. V. Becerra, 2008. Effects of essential oils from five plant species against the granary weevils *Sitophilus zeamais* and *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera). Journal of the Chilean Chemical Society, 53 (1): 1455-1459.

- Chu, S. S., Q. R. Liuand & Z. L. Liu, 2010. Insecticidal activity and chemical composition of the essential oil of *Artemisia vestita* from China against *Sitophilus zeamais*. Biochemical Systematics and Ecology, 38 (4): 489-492.
- Çam, H., Ö. C Karakoç, A. Gökçe, İ. Telci & İ. Demirtaş, 2012. Farklı nane türlerine ait klonların uçucu yağılarının buğday biti [(*Sitophilus granarius* L.) (Coleoptera: Curculionidae)]'ne fumigant etkisi. Türkiye Entomoloji Dergisi, 36 (2): 255-263.
- Karakoç, Ö. C., A. Gökçe & İ. Telci, 2006. Bazı bitki uçucu yağılarının *Sitophilus oryzae* L., *Sitophilus granarius* L. (Col.: Curculionidae) ve *Acanthoscelides obtectus* Say. (Col.: Bruchidae)'a karşı fumigant etkileri. Türkiye Entomoloji Dergisi, 30 (2): 123-135.
- Lee, B. H., P. C. Annis, F. Tumaalii & W. S. Choi, 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. Journal of Stored Products Research, 40: 553-564.
- LeOra Software, 1994. Polo-PC a User's Guide to Probit or Logit Analysis, 1119, Shattuck Avenue, Berkeley, CA, 94707.
- Mckenzie, J. D. & R. Goldman, 2005. The Student Guide to MINITAB Release 14 Manual. Pearson Education, Boston, MA.
- Papachristos, D. P. & D. C. Stamopoulos, 2002a. Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 38: 365-373.
- Papachristos, D. P. & D. C. Stamopoulos, 2002b. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 38: 117-128.
- Perrucci, S., 1995. Acaricidal activity of some essential oils and their constituents against *Tyrophagus longior*, a mite of stored food. Journal of Food Protection, 58 (5): 560-563.
- Rajendran, S. & V. Sriranjini, 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. Journal of Stored Products Research, 44 (2): 126-135.
- Regnault-Roger, C. & A. Hamraoui, 1995. Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidneybean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Stored Products Research, 31 (4): 291-299.
- Rozman, V., I. Kalinovic & Z. Korunic, 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 43: 349-355.
- Saraç, A., & İ. Tunç, 1995. Toxicity of essential oil vapours to stored-product insects. Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 102: 69-74.
- Sellami, I. H., E. Maamouri, T. Chahed, W. A. Wannes, M. E. Kchouka & B. Marzouka, 2009. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). Industrial Crops and Products, 30: 395-402.
- Shaaya, E., U. Ravid, N. Paster, B. Juven, U. Zisman & V. Pissarev, 1991. Fumigant toxicity of essential oils against four major stored- product insects. Journal of Chemical Ecology, 17 (3): 499-504.
- Shaaya, E., M. Kostjucovski, J. Eilberk & C. Sukprakarn, 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored product insect. Journal of Stored Product Research, 33: 7-15.
- Tapondjou, L. A., C. Adler, H. Bouda & D. A. Fontem, 2002. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. Journal of Stored Products Research, 38: 395-402.
- Telci, İ., E. Bayram, G. Yılmaz & B. Avc, 2006. Variability in essential oil composition of Turkish basilis (*Ocimum basilicum* L.). Biochemical Systematics and Ecology, 34: 489-497
- Wery, J. & P. Grinac, 1983. Uses of Legumes and their economic importance. In Technical Handbook on Symbiotic Nitrogen Fixation. FAO, 1-8 p, Rome, Italy.
- Whalon, M. E., D. Mota-Sanchez, R. M. Hollingworth & L. Duynslage, 2012. Arthropod Pesticide Resistance Database. (Web page: <http://www.pesticideresistance.org>) (Erişim Tarihi: 20.12.2012).
- Yıldırım, E., M. Kesdek, L. Aslan, O. Calmasur & F. Şahin, 2005. The effects of essential oils from eight plant species on two pests of stored product insects. Fresenius Environmental Bulletin, 14 (1): 23-27.