

**Orijinal ara tırma (Original article)****Menemen ( zmir) ilçesi ba alanlarından toplanan *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermuller) (Lepidoptera: Tortricidae) popülasyonlarının bazı insektisitlere kar ı direnç oranlarının belirlenmesi<sup>1</sup>**

Determination of the resistance ratio to some insecticides of Menemen district *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermuller) (Lepidoptera: Tortricidae) populations collected from vineyards

evkiye BALCI<sup>2</sup> Ahmet HAT PO LU<sup>2\*</sup> Enver DURMU O LU<sup>2</sup>

**Summary**

This study was conducted in order to determine whether *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) populations collected from different vineyards of Menemen ( zmir) develop resistance against some insecticides. LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values for four different populations were detected by applying chlorpyrifos ethyl, deltamethrin, indoxacarb and spinosad with mixing insecticide to nutrient method and compared with the susceptible population. The highest resistance ratio was found in MNM3 population at approximately 6 times against chlorpyrifos ethyl. The formation of resistance observed to be started against deltamethrin and spinosad but wasn't observed against indoxacarb.

**Keywords:** European grapevine moth, vineyard, resistance, bioassay, enzyme

**Özet**

Bu çalı ma, zmir ili Menemen ilçesinde farklı ba alanlarından toplanan *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) popülasyonlarında, bazı insektisitlere kar ı direnç geli ip geli medi inin belirlenmesi amacı ile yapılmı tır. Besine ilaç kar ı tırma yöntemi ile chlorpyrifos ethyl, deltamethrin, indoxacarb ve spinosad uygulanarak dört farklı popülasyonun LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> de erleri belirlenmi ve hassas popülasyon ile kar ıla tırılmı tır. Bu çalı mada en yüksek direnç oranı; chlorpyrifos ethyle kar ı MNM3 popülasyonunda yakla ık 6 kat olarak bulunmu tur. Deltamethrin ve spinosada kar ı direnç olu umunun ba ladı da görölürken indoxacarba kar ı direnç olu umu henüz gözlenmemi tir.

**Anahtar sözcükler:** Salkım güvesi, ba , direnç, biyoassay, enzim

<sup>1</sup> Bu çalı ma Ege Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri übe Müdürlü ü tarafından desteklenen 12-ZRF-029 nolu proje ile birinci yazarın yüksek lisans tezinin bir kısmını içermektedir.

<sup>2</sup> Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 35100, zmir

\*Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: ah.hatipoglu@gmail.com

Alını (Received): 26.08.2016

Kabul edili (Accepted): 07.10.2016

## Giri

Tarımsal üretimde çe itlilik açısından oldukça zengin olan ülkemizin en önemli ürünlerinden biri toplam meyve üretiminin % 25'ini olu turan üzümdür (TÜ K, 2012). Dünya da üzüm üretimi 7,5 milyon ha alanda yakla ık 68 milyon ton olarak gerçekte tirilmektedir. Ba cılık için elveri li iklim ko ullarına sahip olan ülkemiz Dünya Gıda Örgütü 'nün 2013 yılı verilerine göre 4.296.350 ton üzüm üretimi ile de Çin, talya, A.B.D., Fransa ve spanya'dan sonra altıncı sırada yer almaktadır (FAO, 2013). Ege Bölgesi 2.024.439 tonluk üretimi ile Türkiye'nin en fazla üzüm üreten bölgesidir. zmir ili ise 121.565 da üretim alanı ile üzüm üretiminde Manisa ve Denizli'den sonra üçüncü sırada yer almaktadır. zmir ilinin Menemen ilçesinde ise toplam 8.730 da alanda üretim yapılmaktadır ve 2012 yılında toplam 11.176 ton üzüm üretilmi tir (TÜ K, 2012).

Ba alanlarında önemli zararlılardan biri Salkım güvesi *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae)'dir. Salkım güvesi, ba alanlarında do rudan ve indirekt olarak verdi i zarar nedeniyle ba larda zararlılara kar ı entegre sava programlarında anahtar zararlı olarak yer almaktadır ve ba ın ana zararlısıdır (Bovey, 1966; Kısakürek, 1972; Kaçar, 1982; Öncüer & Madanlar, 1993; Gabel & Roehrich, 1995; Göven & Güven, 2000; Stockel, 2000). Salkım güvesi, ürünü hem kalite hem de miktar yönünden etkilerken, ya üzüm ihracatında ambalajlamada sorun yaratması ve zarar görmü üzümlerden yapılan arap kalitesinin dü üklü ü nedeniyle de bu zararlıyla mücadele kaçınılmaz olmaktadır (Kaya, 1998; Cozzi et al., 2006).

Avrupa'da oldu u gibi Türkiye'de de *L. botrana* mücadelesi geni spektrumlu sinir sistemine etkili insektisitler (chlorpyrifos ethly, fenitrothion, indoxacarb ve spinosad), böcek büyüme düzenleyicilerinden kitin sentezi inhibitörleri (flufenoxuron ve lufenuron), deri de i tirmeyi hızlandırıcı ve arttırıcılar, (tebufenozide ve methoxyfenozide) ve bakteri kökenli insektisitler (*Bacillus thuringiensis*)'le yapılmaktadır (Boselli & Scannavini, 2001; Marchesini & Dalla Monta, 2004; Loriatti et al., 2008; Koul et al., 2008). Ekonomik öneme sahip bu üründe ne yazık ki üreticimiz, bitki koruma konusunda yeterli bilgiye sahip olmayıp ürünü kaybetme korkusu nedeniyle, bilinçsiz ve kontrolsüz kimyasal uygulamaları yo un bir ekilde yapmaktadırlar (Delen et al., 2004).

Bilindi i gibi, zararlılara kar ı mücadelede pestisit kullanımı bilinen avantajlarının yanında pek çok sorunu da beraberinde getirmektedir (Ecevit et al., 1999; Durmu o lu & Çelik, 2001; Durmu o lu, 2002; Delen et al., 2004, Durmu o lu et al., 2010). Son yıllarda bu sorunların ba ında birçok böcek türünün insektisitlere kar ı direnç geli tirmesi gelmektedir. IRAC (The Insecticide Resistance Action Committee); 2012 yılı sonuna kadar 574 türün, 338 bile i e toplam 10.357 çalı mada dayanıklılık gösterdi ini bildirmi tir (Whalon et. al., 2012). Geli en bu dayanıklılık, kimyasalların etkinli ini yitirmesine, dolayısıyla yo un ilaçlama sonucu ürünlerdeki pestisit kalıntılarının artmasına neden olmaktadır. Bu durum, özellikle uluslararası pazarlarda sorun olmakta ve ekonomik açıdan önemli kayıplara yol açmaktadır.

Salkım güvesi mücadelesinde her yıl yaygın ve sıkça kullanılan insektisitlere kar ı direnç durumu bilinmedi inden, hem yeterli etki alınamamakta, hem de gereksiz ilaç kullanılmaktadır ve bu da önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu çalı mada Menemen ilçesinde, ba ın ana zararlısı olan Salkım güvesi popülasyonlarının yaygın kullanılan insektisitlere kar ı direnç durumu bioassay yöntemlerle ortaya konulmaya çalı ılmı tır.

## Materyal ve Yöntem

Çalı manın ana materyalini 2012 yılında zmir ili Menemen ilçesinin yo un ilaçlama yapılan de i ik ba alanlarından toplanmı olan *L. botrana* popülasyonları olu turmu tur. Denemelerde toplam 4 popülasyon kullanılmı tır. Popülasyonların temin edildi i alanlar; MNM1 (Çavu köy), MNM2 (Musabey), MNM3 (Belen) ve MNM4 (Eski Haykiran) olarak isimlendirilmi tir. Hassas popülasyon olarak Manisa ilinde uzun yıllardır ilaçlanmadı ı bilinen bir bahçeden alınan salkım güvesi popülasyonu kullanılmı tır. Denemelere ba lamadan önce popülasyonların istenen birey sayısına ula ması için üretim çalı maları yapılmı tır.

Denemelerde kullanılan insektisit etken maddeleri olarak chlorpyrifos ethyl (CE) (Dow AgroSciences Türkiye), deltamethrin (DLT) (Bayer CropScience, Türkiye), indoxacarb (INDX) (Hekta , Türkiye) ve spinosad (SPN) (Dow AgroSciences, Türkiye) seçilmiştir. Denemelerde söz konusu insektisitlerin teknik maddeleri (%96-99 saflıkta) üretici firmalarından temin edilerek kullanılmıştır.

### Denemede kullanılan insektisit dozları

Denemelerde yaklaşık olarak %10 - %90 arasında ölüm sağlayan dozlar kullanılmıştır ve bu dozlar Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Biyoassay çalılarında kullanılan etkili madde dozları

Etkili madde	Dozlar (ppm)							
	10	30	60	100	150	200	300	600
Chlorpyrifos ethyl	10	30	60	100	150	200	300	600
Spinosad	1	3	6	10	20	30	60	-
Indoxacarb	1	5	10	50	100	500	-	-
Deltamethrin	5	10	50	100	300	500	1000	-

### 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 irmi i eklenmiştir. Daha sonra 120 °C'de 20 dk otoklavda sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Otoklavdan çıkan agar - mısır irmi i – su içeren karışım bu day özütü, bira mayası, askorbik asit ve nipagin eklenmiştir. yice karışması sağlandıktan sonra elde edilen 1 lt yapay besin donması için oda sıcaklığında bekletilmiştir.

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü iklim odasında üretimi yapılan hassas popülasyon dahil toplam 5 popülasyonda Hatipo lu et al.. (2015)'na göre "ilaçlı besine karıştırmaya yöntemi" kullanılarak biyoassay çalılarında malar yürütülmüştür.

İlaçlı besine karıştırmaya yönteminde Salkım güvesi larvalarının ilaçla homojen şekilde karışması besinle beslendiğinde doz-ölüm ilişkisi araştırılmıştır. Beher içine 9 kısım yapay besin 1 kısım ilaç solüsyonu olacak şekilde alınmıştır ve bu karışım homojenize hale gelinceye kadar iyice karıştırılmıştır. Mikrobiyal kontaminasyon olumsuzluğu için streç film kullanılarak beherlerin üzeri kapatılmıştır. Kontrol için besin hazırlanması sırasında ilaçlı solüsyon yerine besine aynı miktarda saf su karıştırılmıştır. Deneme ilaçlı besinin hazırlanmasından 24 saat sonra yapılmıştır. Bunun için beherlerden çıkarılan besin ~1 cm<sup>3</sup>'lük besin parçalarına ayrılmıştır ve 16 hücreli deneme kaplarından 2 tanesine 30 adet olacak şekilde, yerleştirilmiştir (ekil 1).



ekil 1. Deneme hücrelerine aktarılmış besinler.

Daha sonra iklim odasından 9 gün ya ında olan larvaları içinde bulunduran besinlerden çıkarılan larvalar deneme kaplarındaki hücrelere tek tek yerle tirilerek a zı hava alabilen yapı kan kapaklarla kapatılmış tır.

### **Denemenin de erlendirilmesi**

Denemelerde günlük gözlemler yapılmı olup, de erlendirmede sadece 72 saat sonundaki veriler kullanılmış tır. Canlı larvaların geli imi açısından gözlemlerine pupa oluncaya kadar devam edilmi tir. Denemelerde kontrol grubunda ölümler % 5'i geçmemi tir.

### **LC<sub>50</sub>-LC<sub>90</sub> de erlerinin ve direnç katsayılarının hesaplanması**

Biyoassay test sonuçlarında elde edilen de erler kullanılarak POLO-PLUS bilgisayar paket programında (LeOra Software 2002) probit analizi yapılmı ve popülasyonların her bir ilaç için LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> de erleri belirlenmi tir. Probit analizleri yapılırken “do al tepki parametresi” ve “dozları logaritmik çevir” seçenekleri “evet” olarak i aretlenmi tir.

### **Biyokimyasal testler**

Biyoassay çalı malar esnasında kullanılan larvalardan, biyokimyasal testlerde kullanılmak üzere, her popülasyondan en az 20 adet 9 gün ya ında larva -20°C'de derin dondurucuda saklanmı tır. Biyokimyasal testlerde 4 farklı enzim analizi için 4 farklı yöntemden yararlanılmış tır. Esteraz (EST), Glutathion S-transferaz (GST) ve P450 ile Asetilkolinesteraz (AChE) enzimleri için testler 2 farklı enzim kayna ı kullanılarak gerçekleştirilmi tir.

### **EST, GST ve P450 enzim preparasyonu ve aktivitelerinin belirlenmesi**

#### **Enzim kayna ı hazırlanması**

Salkım güvesinin detoksifikasyon enzimlerinin ölçülmesinde Qian et al. (2008)'den alınan enzim preparasyon yöntemi uyarlanarak kullanılmış tır. Buna göre, Salkım güvesi'nin 9 günlük 3 larvası 1 ml homojenasyon tamponu [0.1 M sodyum fosfat tamponu, pH 7.6 ve 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid, 1 mM 1,4-dithiothreitol, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride ve 1 mM phenylthiourea içeren] içerisinde homojenize edilmi tir. 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 yapılmı tır. Üstte kalan temiz kısım alınarak 1.5 ml tüp içine konmu ve hemen buz üzerine konularak esteraz, P 450 ve GST analizi için enzim kayna ı olarak kullanılmış tır.

#### **EST analizi**

EST enzim aktivitesinin belirlenmesi için Han et al. (1998) metodundan yararlanılmış tır. Buna göre, mikroplaka hücrelerinin herbirine substrat olarak 90 µl 0.1 M sodyum fosfat tamponu (pH 7,6) ve 200 µl solüsyon karı ımı (10 mM 1-naphthyl asetat ve 4 mM fast blue RR salt) konulmu tur. Reaksiyon, stok solüsyondan 10 µl enzim kayna ı ilave edilerek ba latılmış tır. 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 edilmi ve optik yo unluk de erleri belirlenmi tir.

#### **GST analizi**

GST enzim aktivitesinin belirlenmesi için Oppenoorth (1979) metodundan yararlanılmış tır. Buna göre, substrat olarak hem 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) hem de 1,2-dichloro-4-nitrobenzene (DCNB) kullanılmış tır. Reaksiyon, CDNB ile yapılaca ı durumda; mikroplakanın her bir hücresine stok solüsyondan 10 µl enzim kayna ı, 90 µl 0.1 M sodyum fosfat tamponu (pH 7,6), 100 µl 6 mM CDNB ve 100 µl 6 mM glutathione (GSH) konmu , DCNB ile reaksiyon ba latılmak istendi inde ise mikroplakanın her bir hücresine stok solüsyondan 100 µl enzim kayna ı, 100 µl 1.2 mM DCNB ve 100 µl 6 mM GSH konmu tur. GST enzim aktivitesinin ölçülmesi mikroplaka okuyucuda 27 °C ve 340 nm dalga boyunda 10 s aralıklarla 10 dk boyunca kinetik okuma yapılmı ve elde edilen OD de erleri belirlenmi tir.

## P450 analizi

P450 enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Hansen & Hodgson (1971) metodundan yararlanılmıştır. Buna göre, mikroplaka hücrelerinin her birine stok solüsyondan 90 µl enzim kaynağı, substrat olarak 100 µl 2mM p-nitroanisole karışımı tır. 27 °C'de 2 dk inkübe ettikten sonra 10 µl 9,6 mM nicotinamide adenine dinucleotide phosphate 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 tüpünde 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 beklendikten sonra, homojenat +4°C de 11.490 rcf'de, 25 dakika santrifüj edilerek elde edilen supernatant enzim kaynağı olarak kullanılmak üzere yine buz üzerine alınmıştır.

### AChE analizi

AChE aktivitesini ölçmek için mikroplaka hücrelerine 100 µl Acetylthiocholine iodide (ATChI), 100 µl 5.5-dithiobis (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 bovine serum albuminin standart olarak kullanıldı. Bradford (1976) yöntemi kullanılarak, popülasyonlardaki EST, GST, P450 ve AChE enzim aktivitelerinin toplam protein miktarları içindeki oranı tespit edilmiştir.

## Araştırma Sonuçları ve Tartışma

### Biyoassay test sonuçları

Menemen ilçesi bahçelerinden toplanan farklı popülasyonların chlorpyrifos ethyl, deltamethrin, indoxacarb ve spinosad için biyoassay test sonucunda hesaplanan LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> değerleri etkili maddelere göre Çizelge 2, 3, 4 ve 5'te verilmiştir.

Chlorpyrifos ethyl ile yapılan biyoassay çalışmaları sonucunda hassas popülasyona göre belirlenen direnç katsayısı ve popülasyonların LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> değerleri Çizelge 2'de görülmektedir.

Çizelge 2. Farklı salkım güvesi popülasyonlarında chlorpyrifos ethyl'e karşı belirlenen LC, heterojenite, eim ve chi kare değerleri ile direnç katsayıları

P <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	LC <sub>50</sub> (ppm)		LC <sub>90</sub> (ppm)		H <sup>3</sup>	Egim±Sh <sup>4</sup>	X <sup>2</sup> <sup>5</sup>	Direnç	Direnç
		0.95 güven aralığı		0.95 güven aralığı					katsayısı	katsayısı
									LC <sub>50</sub>	LC <sub>90</sub>
HASSAS	210	3.014 (2.384-3.673)		7.164 (5.671-10.209)		0,32	3.408±0.501	1,289	-	-
MNM1	210	9.571 (5.428-17.668)		36.265 (19.104-251.585)		2,26	2.215±0.300	9,040	3,175	5,062
MNM2	240	11.838 (9.377-14.666)		38.040 (28.374-59.970)		0,39	2.528±0.346	1,956	3,927	5,309
MNM3	270	18.463 (11.808-34.330)		89.450 (43.922-594.719)		2,34	1.870±0.246	14,088	6,125	12,486
MNM4	270	9.428 (7.812-11.027)		21.911 (18.027-29.324)		0,10	3.499±0.473	0,633	3,128	3,058

<sup>1</sup> Popülasyon

<sup>2</sup> Test edilen larva sayısı

<sup>3</sup> Heterojenite

<sup>4</sup> Standart hata

<sup>5</sup> Chi kare

Hassas popülasyonda LC<sub>50</sub> de eri 3.014 ppm, LC<sub>90</sub> de eri 7.164 ppm olarak bulunmu tur. MNM1, MNM2, MNM3, MNM4 populasyonlarında chlorpyrifos ethyl için belirlenen LC<sub>50</sub> de erlerine bakılarak hassas popülasyona en yakın de er MNM4 popülasyonunda 9.428 ppm, en yüksek de er MNM3 popülasyonunda 18.463 ppm olarak belirlenmi tir. Populasyonların chlorpyrifos ethyl için LC<sub>90</sub> de erleri ise en dü ük MNM4 popülasyonunda 21.911 ppm, en yüksek MNM3 popülasyonunda 89.450 ppm olarak tespit edilmi tir. Bu sonuçlara göre chlorpyrifos ethyle kar ı en fazla hassasiyet azalması (LC<sub>50</sub> de erlerine göre) yakla ık 6.2 kat ile MNM3 popülasyonunda görülmü tür.

Deltamethrin ile yapılan biyoassay çalı malar sonucunda hassas popülasyona göre belirlenen direnç katsayısı ve popülasyonların LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> de erleri Çizelge 3'te görülmektedir.

Çizelge 3 Farklı salkım güvesi popülasyonlarında deltamethrin'e kar ı belirlenen LC, heterojenite, e im ve chi kare de erleri ile direnç katsayıları

P <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	LC <sub>50</sub> (ppm)		LC <sub>90</sub> (ppm)		H <sup>3</sup>	Egim±sh <sup>4</sup>	X <sup>2 5</sup>	Direnç	Direnç
		0.95 güven aralı ı		0.95 güven aralı ı					katsayısı	katsayısı
									LC <sub>50</sub>	LC <sub>90</sub>
HASSAS	180	4.278 (3.040-5.992)		23.073 (14.873-43.816)		0,26	1.751±0.215	1,028	-	-
MNM1	210	14.559 (6.828-34.357)		80.431 (34.144-634.099)		2.14	1.726±0.210	8.596	3.403	3.485
MNM2	210	13.468 (8.200-23.090)		103.630 (852.030-338.141)		0.75	1.446±0.177	3.021	3.148	4,491
MNM3	210	11.264 (3.799-40.876)		112.346 (33.440-5420.34)		2.83	1.283±0.162	11.359	2,633	4.869
MNM4	210	12.399 (5.924-28.154)		87.666 (36.094-657.854)		1.82	1.509±0.185	7.298	2.898	3.799

<sup>1</sup> Popülasyon

<sup>2</sup> Test edilen larva sayısı

<sup>3</sup> Heterojenite

<sup>4</sup> Standart hata

<sup>5</sup> Chi kare

Hassas popülasyonda LC<sub>50</sub> de eri 4.278 ppm, LC<sub>90</sub> de eri 23.073 ppm olarak bulunmu tur. MNM1, MNM2, MNM3, MNM4 populasyonlarında deltamethrin için belirlenen LC<sub>50</sub> de erlerine bakılarak hassas popülasyona en yakın de er MNM3 popülasyonunda 11.264 ppm, en yüksek de er MNM1 14.559 popülasyonunda ppm olarak belirlenmi tir. Populasyonların deltamethrin için LC<sub>90</sub> de erleri ise en dü ük MNM1 popülasyonunda 80.431 ppm, en yüksek MNM3 popülasyonunda 103.630 ppm olarak tespit edilmi tir. Sonuçlardan da anla ılabilece i gibi bütün populasyonlarda deltamethrin için belirlenen LC<sub>50</sub> de erleri hassas populasyonda deltamethrin için belirlenen LC<sub>50</sub> de erinden daha büyük bulunmu tur. Bu sonuçlara göre deltamethrine kar ı en fazla hassasiyet azalması (LC<sub>50</sub> de erlerine göre) yakla ık 3.4 kat ile MNM1 popülasyonunda görülmü tür.

Indoxacarb ile yapılan biyoassay çalı malar sonucunda hassas popülasyona göre belirlenen direnç katsayısı ve popülasyonların LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> de erleri Çizelge 4'te görülmektedir.

Çizelge 4. Farklı salkım güvesi popülasyonlarında indoxacarb'a kar ı belirlenen LC, heterojenite, e im ve chi kare de erleri ile direnç katsayıları

P <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	LC <sub>50</sub> (ppm)		LC <sub>90</sub> (ppm)		H <sup>3</sup>	Egim±sh <sup>4</sup>	X <sup>2 5</sup>	Direnç	Direnç
		0.95 güven aralı ı		0.95 güven aralı ı					katsayısı	katsayısı
									LC <sub>50</sub>	LC <sub>90</sub>
HASSAS	210	2.269 (0.999-5.076)		14.077 (6.015-112.571)		2,07	1.617±0.204	8,264	-	-
MNM1	210	1.438 (1.038-1.987)		6.634 (4.380-12.233)		0.49	1.930±0.243	1.986	0.633	0.471
MNM2	210	2.022 (1.145-3.408)		11.265 (5.214-72.007)		1.68	1.718± 0.241	6.725	0.891	0.800
MNM3	210	1.775 (1.280-2.452)		8.335 (5.488-15.481)		0.19	1.908±0.242	0.785	0.782	0.592
MNM4	210	0.939 (0.671-1.299)		4.392 (2.884-8.307)		0.61	1.913±0.256	2.451	0.413	0,312

<sup>1</sup> Popülasyon

<sup>2</sup> Test edilen larva sayısı

<sup>3</sup> Heterojenite

<sup>4</sup> Standart hata

<sup>5</sup> Chi kare

Hassas popülasyonda LC<sub>50</sub> de eri 2.269 ppm, LC<sub>90</sub> de eri 14.077 ppm olarak bulunmu tur. MNM1, MNM2, MNM3 ve MNM4 popülasyonlarının LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> de erleri hassas popülasyona yakın bulunmu tur. Sonuçlardan da anlaşılabilece i gibi denemeye alınan popülasyonlarda indoxacarb için önemli bir hassasiyet kaybı gözlenmemi tir.

Spinosad ile yapılan biyoassay çalı malar sonucunda hassas popülasyona göre belirlenen direnç katsayısı ve popülasyonların LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> de erleri Çizelge 4'te görülmektedir.

Çizelge 5. Farklı salkım güvesi popülasyonlarında spinosad'a karşı belirlen LC, heterojenite, e im ve chi kare de erleri ile direnç katsayıları

P <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	LC <sub>50</sub> (ppm)	LC <sub>90</sub> (ppm)	H <sup>3</sup>	Egim±sh <sup>4</sup>	X <sup>2</sup> <sup>5</sup>	Direnç	Direnç
		0.95 güven aralı ı	0.95 güven aralı ı				katsayısı	katsayısı
						LC <sub>50</sub>		LC <sub>90</sub>
HASSAS	210	0.318 (0.180-0.469)	1.007 (0.585-5.907)	1.98	2.562±0.413	7.928	-	-
MNM1	210	0.683 (0.480-0.920)	1.784 (1.264-3.406)	1.23	3.074±0.396	4.920	2,001	1,771
MNM2	210	0.767 (0.499-1.085)	2.015 (1.372-4.366)	1.82	3.057±0.390	9.148	2,411	2,000
MNM3	210	0.573 (0.484-0.661)	0.963 (0.813-1.303)	3.63	5.691±1.066	14.525	1,801	0,956
MNM4	210	0.320 (0.119-0.598)	1.732 (0.856-13.044)	2.06	1.746±0.252	8.262	1,006	1,719

<sup>1</sup> Popülasyon

<sup>2</sup> Test edilen larva sayısı

<sup>3</sup> Heterojenite

<sup>4</sup> Standart hata

<sup>5</sup> Chi kare

Hassas popülasyonda LC<sub>50</sub> de eri 0.318 ppm, LC<sub>90</sub> de eri 1.007 ppm olarak bulunmu tur. MNM1, MNM2, MNM3, MNM4 popülasyonlarında spinosad için belirlenen LC<sub>50</sub> de erlerine bakılarak hassas popülasyona en yakın de er MNM4 popülasyonunda 0.320 ppm, en yüksek de er MNM2 popülasyonunda 0.767 ppm olarak belirlenmi tir. Popülasyonların spinosad için LC<sub>90</sub> de erleri ise en dü ük MNM3 popülasyonunda 0.963 ppm, en yüksek MNM1 popülasyonunda 1.784 ppm olarak tespit edilmi tir. Bu sonuçlara göre spinosada karşı en fazla hassasiyet azalması (LC<sub>50</sub> de erlerine göre) yaklaşık 2.4 kat ile MNM2 popülasyonunda görülmü tür.

### Biyokimyasal test sonuçları

Biyokimyasal testlerden P450 enzim kayna ının tespitinde yapılan testlere ra men bir sonuç elde edilememi tir. AChE, GST ve EST test sonuçları Çizelge 6'da verilmi tir. Ayrıca GST analizinde DCNB substrat olarak kullanıldı ında hiçbir sonuç alınamadı ı için analizler CDNB kullanılarak yapılmı tir. Popülasyonların enzim aktivite de erleri ile hassas popülasyondan elde edilen de erler karşılaştırıldı ında AChE enzim aktivitesi sonuçlarında çok yüksek olmamakla birlikte farklılıkların mevcut oldu u gözlenmi tir. Popülasyonların enzim de erlerinin hassas popülasyonun enzim de erlerine oranlanması ile elde edilen de erlere göre; popülasyonların EST ve GST enzim aktiviteleri de erlerinde hassas popülasyona göre kayda de er bir farklılık görülmemi tir.

Çizelge 6'da da görüldü ü üzere en dikkat çekici farklılıklar AChE enzim katsayılarında görülmektedir. MNM4 popülasyonu hassas popülasyona göre sırasıyla 6.02 kat daha fazla AChE enzim aktivitesi göstermi tir. Di er popülasyonlardan elde edilen AChE enzim aktivitesi de erleri ise hassas popülasyona göre yaklaşık olarak 3-3.5 kat de erler almı tır. En dü ük AChE enzim aktivitesi de eri hassas popülasyonda görülmü tür.

Çizelge 6 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarının AChE, GST ve EST enzim aktiviteleri ve hassas popülasyona göre katsayıları

Populasyon	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
MNM1	0,198	3,64	14,720	0,63	6,292	0,88
MNM2	0,157	2,89	15,433	0,66	4,756	0,67
MNM3	0,199	3,65	19,222	0,83	5,309	0,74
MNM4	0,328	6,02	18,993	0,82	8,068	1,13

Bu çalı ma sonunda Menemen'den elde edilen 4 farklı popülasyonun hassas popülasyona göre çalı mada kullanılan 4 farklı insektisit için farklı oranlarda hassasiyet azalmaları tespit edilmi tir. Hassas popülasyondan elde edilen de erler ile Menemen popülasyonlarının de erleri kıyaslanmı ço unlukla hassasiyet kayıplarının çok yüksek olmadı ı gözlenmi tir. Elde edilen direnç oranları ile bu bölgede salkım güvesinde insektisitlere kar ı ciddi bir direnç geli iminden bahsetmek mümkün de ilse de elde edilen direnç katsayıları da göz ardı edilecek kadar dü ük de ildir. Bu durum hassas popülasyonun ne kadar hassas oldu uyla da do rudan alakalıdır. ayet, yapılacak yeni çalı malarda hassas popülasyon olarak uzun süredir ilaçsız ortamda laboratuvarda üretimi yapılan ve hassasiyeti bilinen bir popülasyon kullanılması durumunda direnç katsayılarında daha yüksek rakamların tespit edilmesinin olası bir ihtimal oldu u dü ünülmektedir. Yine de kullanılan hassas popülasyonla yapılan kar ıla tırmalar pratik anlamda de erli sonuçlar içermektedir.

Ayrıca yapılan enzim testlerinde tüm enzim sonuçları direnç katsayılarına paralel bir sonuç vermese de, özellikle AChE enzim aktivitesinde hassas popülasyona göre yakla ık 3 ile 6 kat arasında bulunan de erlerin, chlorpyrifos ethyl ile yapılan denemede elde edilen direnç katsayılarına yakın de erler olması dikkat çekicidir. Biyokimyasal testlerde popülasyonlara göre miktarları belirlenen bu enzimler böceklerde insektisitlere kar ı direnç geli iminde önemli gösterge görevi olan enzimlerdir (Hatipo lu et al. 2015). Manisa ili ba alanlarında aynı insektisitlerle salkım güvesinin 10 farklı popülasyonu ile yapılan bir çalı mada 2 popülasyonun AChE enzim aktivitelerinin hassas popülasyona göre yakla ık 4 kat daha fazla aktivite gösterdi i gözlemlenmi ayrıca EST ve GST enzim aktivite de erlerinin hassas popülasyonunun enzim aktivite de erlerine yakın de erler oldu u belirlenmi tir (Hatipo lu et al. 2015). talya'da aynı yöntemle yapılan bir çalı mada, salkım güvesinin bazı insektisitlere kar ı direnci ara tırılmı ve bölge popülasyonları ile uzun yıllardır kültüre alınmı ve hassasiyeti bilinen bir hassas popülasyonun LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> de erleri kar ıla tırılmı tir. Sonuçta Ravenna bölgesinden elde edilen popülasyonlarda indoxacarb kar ı yakla ık 13 kat (LC<sub>50</sub> için) ve 73 kat (LC<sub>90</sub> için) direnç tespit edilmi tir (Civolani et.al, 2014).

Bu ara tırmanın biyoassay ve biyokimyasal test sonuçlarına bakıldı ında, Menemen ilçesindeki ba alanlarında salkım güvesi populasyonlarının yaygın kullanılan ilaçlara kar ı direnç düzeylerinin henüz yüksek düzeylere ula madı ı anla ılmı tir. Ba langıç düzeyde bile olsa chlorpyrifos ethyl, deltamethrin, indoxacarb ve spinosad etken maddeli ilaçlarda bir miktar hassasiyet kaybının saptanmı olması, bu bölgede gelecekte ortaya çıkabilecek direnç sorunlarının engellenmesi için çalı mada ele alınan ilaçların daha az sıklıkta kullanılması gerekti ini ve bu ilaçların farklı etki biçimine sahip di er etkili maddelerle rotasyona sokulması gerekti ini dü ündürmü tür.

## Te ekkür

Bu çalı mayı, 12-ZRF-029 no'lu proje kapsamında maddi olarak destekleyen Ege Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri ube Müdürlü ü'ne ve çalı mada kullanılan etkili maddelerin temini için Dow AgroSciences Türkiye, Bayer CropScience, Türkiye, Hekta , Türkiye ve Agrobrest Group'a te ekkür ederiz.



## Yararlanılan Kaynaklar

- Boselli, M. & M. Scannavini, 2001. Iotta Alla Tignoletta Della Vite in Emilia Romagna. *Informatore Agrario*, 19: 97-100.
- Bovey, P., 1966. Super famille des Tortricidae. *Entomologie Appliquée à L'agriculture, France*, 456–893 pp.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- 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: 1245-1249.
- Cozzi, G., M. Pascale, G. Perrone, A. Visconti, & A. Logrieco, 2006. Effect of *Lobesia botrana* damages on black aspergilli's rot and ochratoxin a content in grapes. *International Journal of Food Microbiology*, 111: 88-92.
- Delen, N., C. Koplay, M. Yıldız, N. Güngör, P. Kınay, F. Yıldız & A. Ço kuntu, 2004. Sensitivity in *Botrytis cinerea* Isolates to Some Fungicides with Spesific Mode of Action. XIII. Botrytis Symposium, 25-31 October 2004, Antalya, Abstracts, 131 pp.
- Durmu o lu, E. & C. Çelik, 2001. Türkiye'de pestisit kalıntıları üzerindeki ara tırmalar. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 25: 65-80.
- Durmu o lu, E., 2002. zmir'de pazara sunulan domates ve hıyarlarda bazı organik fosforlu insektisit kalıntılarının saptanması üzerinde ara tırmalar. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 26: 93-104.
- Durmu o lu, E., O. Tiryaki, & R. Canhilal, 2010. Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı Ve Dayanırlılık Sorunları, Türkiye Ziraat Mühendisli i 7. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-2, 1300 s.
- Ecevit, O., H. Mennan, M. Aksoy & . Akça, 1999. Tarımsal Mücadele laçları ve Çevreye Olan Etkileri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Samsun, 145 s.
- FAO, 2013. The Statistics Division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations, (Web sayfası: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>) (Eri im tarihi: Nisan 2013).
- Gabel, B. & R. Roehrich, 1995. Sensitivity of grapevine phenological stages to larvae of European Grapevine Moth, *Lobesia botrana* Den. & Schiff. (Lep., Tortricidae). *Journal of Applied Entomology*, 119: 127–130.
- Göven, M. A. & B. Güven, 2000. Ege Bölgesi Ba Alanlarında Bulunan Predatör Faunası ve Entegre Mücadele Açısından Önemi. *Türkiye 4. Entomoloji Kongresi*, 323-328 s.
- 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.
- Hatipo lu, A., E. Durmu o lu & M.O. Gürkan, 2015. Manisa ili ba alanlarında Salkım güvesi [*Lobesia botrana* (Denis & Schiffmüller) (Lepidoptera: Tortricidae)] popülasyonlarının insektisit direncinin belirlenmesi. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 39(1): 55-65.
- Loriatti, C., A. Lucchi, & B. Bagnoli, 2008. Grape Areawide Pest Management in Italy. *Areawide Pest Management and Implementation*, Wallingford, UK, 208–225 pp.
- Kaçar, N., 1982. Ege bölgesi ko ullarına uygun bazı üzüm çe itlerinde Salkım Güvesi, (*Lobesia botrana* Den.& Schiff.) (Lepidoptera: Tortricidae)'nin zararı üzerinde gözlemler. *Türkiye Bitki Koruma Dergisi*, 6:(2): 105-109.
- Kaya, Ü., 1998. Ege Bölgesinde Salkım Güvesi (*Lobesia botrana* Schiff.-Den.) sava nda kullanılan farklı iki ilaçlama aletinin etkinlik ve kalıntı yönünden kar ıla tırılması üzerine ara tırmalar. *Doktora Tezi*, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova- zmir.
- Kısakürek, Ö. R., 1972. Güney Anadolu Bölgesi ba larında Salkım Güvesi *Lobesia botrana* Den. & Schiff.'in yayılı ı, bula ma oranı, parazitoid ve predatörleri üzerinde ön çalı malar. *Bitki Koruma Bülteni*, 12(3): 183-186.
- Koul, O., G. W. Cuperus & N. Elliot, 2008. *Areawide Pest Management: Theory and implementation*. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- Leora Software, 2002. *Polo-pc: a User' s Guide to Probit or Logit Analysis*. Leora Software, Berkeley, CA, 28 pp.
- Marchesini, E. & L. Dalla Montà L., 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.
- Öncüer, C. & N. Madanlar, 1993. Ba larda Salkım Güvesi'ne kar ı ilaçlama programında kullanılan Deltamethrin'in *Tetranychus urticae* Koch popülasyonuna etkisi üzerinde bir ara tırma. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 17 (4): 225-233.
- 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 allevamento,o in laboratorio, della tignoletta dell'uva *Lobesia botrana* Den. e Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae) su un nuovo alimento semi sintetico. In *Bolletino dell Istituto di Entomologia 'Guido Grandi' dell Universito di Bologna*, XLIV, 57-64 pp.
- Stockel, J., 2000, *Les ravageurs de la vigne*, Féret, Bordeaux,231 p.
- 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.
- TÜ K, 2012, "Bitkisel Üretim statistikleri", Türkiye statistik Kurumu, (web sayfası: <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>), (Eri im tarihi: Nisan 2013).
- Whalon, M.E., D. Mota-Sanchez & R.M. Hollingworth, 2012. "Global Arthropod Pesticide Resistance Reporting". (Web sayfası: [http://www.ipmcenters.org/ipmsymposium12/20-1\\_Whalon.pdf](http://www.ipmcenters.org/ipmsymposium12/20-1_Whalon.pdf)),(Eri im tarihi: Nisan 2013).