

T.C.
ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DİYARBAKIR İLİ PAMUK ALANLARINDAN TOPLANAN
Tetranychus urticae (KOCH) (ACARI: TETRANYCHİDAE)
POPÜLASYONLARINDA ABAMECTİN DİRENCİ

Emine BAYRAM

Danışman
Doç. Dr. Sibel YORULMAZ SALMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2019



©2019 [Emine BAYRAM]

TEZ ONAYI

Emine BAYRAM tarafından hazırlanan "Diyarbakır İli Pamuk Alanlarından Toplanan *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) Popülasyonlarında Abamectin Direnci" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Doç. Dr. Sibel YORULMAZ SALMAN
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. İsmail KARACA
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Mehmet Faruk GÜRBÜZ
Süleyman Demirel Üniversitesi



Enstitü Müdürü Prof. Dr. Yusuf UÇAR

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Emine BAYRAM



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM	10
3.1. Kırmızıörümcek Popülasyonları.....	10
3.1.1. Kırmızıörümcek Popülasyonlarının Toplanması.....	10
3.1.2. Kırmızıörümcek Popülasyonlarının Üretimi	11
3.2. Denemede Kullanılan Akarisit.....	11
3.3. Biyoassay Çalışmalar	12
3.3.1. Toksikite Testi.....	12
3.4. Biyokimyasal Çalışmalar	13
3.4.1. Poliakrilamid Jel Elektroforez (PAGE) ile Esteraz Enziminin İncelenmesi	13
3.4.2. Mikroplakaassay İle Toplam Esteraz Enzimi Aktivitesinin İncelenmesi	13
3.4.3. Glutathion S-Transferaz (GST) Enziminin Kinetik Olarak Belirlenmesi	14
3.5. İstatistik Analiz.....	14
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	16
4.1. Bioassay Test Sonuçları.....	16
4.2. Biyokimyasal Test Sonuçları	17
4.2.1. GST Enzim Aktivitesi Sonuçları.....	17
4.2.2. Esteraz Enzim Aktivitesi Sonuçları.....	18
4.2.3. Jel Elektroforez (PAGE) Sonuçları	19
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	22
KAYNAKLAR	23
ÖZGEÇMİŞ.....	26

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DİYARBAKIR İLİ PAMUK ALANLARINDAN TOPLANAN *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) POPÜLASYONLARINDA ABAMECTİN DİRENCİ

Emine BAYRAM

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sibel YORULMAZ SALMAN

Bu çalışmada, 2017 yılı pamuk üretim sezonu boyunca Diyarbakır ili ve ilçelerinden toplanan *T. urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) popülasyonlarında abamectin direnç gelişimi bioassay ve biyokimyasal yöntemlerle araştırılmıştır. Diyarbakır ilinde yoğun olarak pamuk üretimi yapılan Bismil ilçesinden 3, Çınar ilçesinden 3, Yenişehir ilçesinden 3, Sur ilçesinden 2, Kayapınar ilçesinden 2, Ergani ve Eğil ilçelerinden 1 olmak üzere 15 adet *T. urticae* popülasyonu toplanmıştır.

Çalışma sonucunda abamectin için Bismil 1, Bismil 2, Bismil 3, Çınar 1, Çınar 2, Çınar 3, Kayapınar 1, Kayapınar 2, Ergani, Eğil, Sur 1, Sur 2, Yenişehir 1, Yenişehir 2 ve Yenişehir 3 popülasyonları için direnç oranları sırasıyla 289, 267, 342, 190, 269, 206, 132, 97, 116, 57, 204, 75, 204, 164 ve 135 kat olarak belirlenmiştir. Ayrıca aynı popülasyonlar için esteraz enzim ektiviteleri sırasıyla; 25.25, 24.11, 26.78, 23.12, 25.65, 22.15, 20.12, 18.18, 20.14, 16.15, 23.25, 19.14, 25.13, 24.98, 22.16 mOD min⁻¹ mg⁻¹; GST enzim aktiviteleri ise 6.12, 7.14, 7.78, 6.18, 7.15, 8.45, 7.25, 4.15, 5.25, 5.56, 7.28, 4.78, 6.56, 5.45, 5.35 mOD min⁻¹ mg⁻¹ olarak belirlenmiştir. Hassas popülasyonda ise esteraz ve GST enzim aktiviteleri sırasıyla 9.48 ve 3.11 mOD min⁻¹ mg⁻¹ olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Tetranychus urticae*, direnç, abamectin.

2019, 26 sayfa

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

ABAMECTIN RESISTANCE IN *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) POPULATIONS COLLECTED FROM COTTON PRODUCTION AREAS IN DIYARBAKIR PROVINCE

Emine BAYRAM

Isparta University of Applied Sciences
The Institute of Graduate Education
Department of Plant Protection

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sibel YORULMAZ SALMAN

In this study, the development of abamectin resistance in *T. urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) populations collected from Diyarbakır province and districts during 2017 cotton production season was investigated by bioassay and biochemical methods. In Diyarbakır province total 15 populations of *T. urticae* were collected; 3 populations from Bismil district, 3 populations from Çınar district, 3 populations from Yenişehir district, 2 populations from Sur district, 2 populations from Kayapınar district, 1 population from Ergani district and 1 population from Eğil district.

The resistance ratios for Bismil 1, Bismil 2, Bismil 3, Cınar 1, Cınar 2, Cınar 3, Kayapınar 1, Kayapınar 2, Ergani, Eğil, Sur 1, Sur 2, Yenişehir 1, Yenişehir 2 ve Yenişehir 3 was found to be 289, 267, 342, 190, 269, 206, 132, 97, 116, 57, 204, 75, 204, 164 and 135-fold, respectively. Also esterase and GST enzyme activities for the same populations was found to be 25.25, 24.11, 26.78, 23.12, 25.65, 22.15, 20.12, 18.18, 20.14, 16.15, 23.25, 19.14, 25.13, 24.98, 22.16 and 6.12, 7.14, 7.78, 6.18, 7.15, 8.45, 7.25, 4.15, 5.25, 5.56, 7.28, 4.78, 6.56, 5.45, 5.35 mOD min⁻¹ mg⁻¹, respectively. The esterase and GST enzyme activities of the susceptible population was found to be 9.48 ve 3.11 mOD min⁻¹ mg⁻¹, respectively.

Keywords: *Tetranychus urticae*, resistance, abamectin.

2019, 26 pages

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Hocam Doç. Dr. Sibel YORULMAZ SALMAN'a teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca laboratuvar çalışmalarım boyunca katkı sağlayan Ziraat Mühendisi Cenk KESKİN'e ve tüm toksikoloji laboratuvar ekibine teşekkür ederim. Ayrıca kırmızıörümcek teőhislerini yapan Prof. Dr. Sultan ÇOBANOĞLU'na teşekkür ederim.

FYL-2018-6056'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Emine Bayram
ISPARTA, 2019



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. <i>Tetranychus urticae</i> dişileri ve yumurtası	3
Şekil 1.2. <i>Tetranychus urticae</i> zararı	4
Şekil 4.1. Esteraz jel görüntüsü 1	19
Şekil 4.2. Esteraz jel görüntüsü 2	19



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Ülkelere göre pamuk ekim alanları.....	1
Çizelge 1.2. Ülkelere göre lif pamuk üretim miktarları.....	2
Çizelge 1.3. Türkiye'deki pamuk alanları ve üretim miktarları	2
Çizelge 1.4. Bölgeler itibariyle Türkiye pamuk alanları.....	3
Çizelge 1.5. Türkiye'de yıllara göre tarımsal ilaç kullanım miktarı	4
Çizelge 3.1. Diyarbakır ilçeleri pamuk üretim alanları ve üretim miktarları	10
Çizelge 4.1. Pamuk alanlarından toplanan <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarında abamectine karşı belirlenen LC ₅₀ değerleri ve LC ₅₀ değerine göre direnç oranları	16
Çizelge 4.2. Hassas ve pamuk tarlalarından toplanan <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarının GST enzim aktiviteleri	17
Çizelge 4.3. Hassas ve pamuk tarlalarından toplanan <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarının esteraz enzim aktiviteleri	18

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μ l	: Miktolitre
dNTP	: Deoksi-nükleotidtrifosfat
GST	: Glutathione-S-Transferase
LC ₅₀	: Lethal Konsantrasyon 50
M	: molar
mL	: mililitre
mM	: milimolar
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotid Phospate
ng	: nanogram
P450	: Cytochtome P450

1. GİRİŞ

Pamuk; lifi ile kumaş yapımı, tohumu ile bitkisel yağ üretimi arta kalan küspesi ile ise hayvan yemi olarak çeşitli alanlarda kullanılabilen stratejik olarak çok değerli bir endüstriyel üründür (Telatar vd., 2002). Pamuk üretimi Türkiye topraklarında, M.Ö. 330 yılına dayanan tarihe sahiptir. Pamuk tarımındaki önemli gelişmelerin ilki 11. yüzyılda, Selçuklu Türkleri döneminde gerçekleşmiştir. Osmanlı imparatorluğu döneminde ise 13. ve 14. yüzyılda Balkanlar, Suriye, Irak ve Mısır'a dek pamuk tarımı genişlemiş; sonrasında pamuk tohumları bugünkü Çukurova ve Ege Bölgelerinin olduğu topraklarda çiftçilere ücretsiz dağıtılarak üreticiler teşvik edilmiş ve büyük gelişmeler sağlanmıştır. Ancak pamuk tarımında büyük atılım dokuma fabrikaları, üretim istasyonları, araştırma enstitüleri ve devlet üretme çiftlikleri kurularak Cumhuriyet Dönemi'nde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu dönemde pamuk alanında yetiştirilmek üzere yurtdışına teknik eleman gönderilmiş, ülkemize uzmanlar davet edilmiş, ıslah üzerine çalışmalar yapılmıştır. Tüm bu çalışmalarla 1925'ten günümüze kadar ciddi verim artışları sağlanmıştır (Gençer vd., 2005).

Türkiye, dünyada pamuk ekim alanlarına göre 9. sırada (Çizelge 1.1), lif pamuk üretim miktarına göre 7. sırada (Çizelge1.2) bulunmaktadır.

Çizelge 1.1. Ülkelere göre pamuk ekim alanları (bin Ha) (ICAC, 2019)

Sıra	Ülkeler	2013-2014	2014-2015	2015-2016	2016-2017	2017-2018*
1	Hindistan	11 650	12 846	11 638	10 845	12 235
2	ABD	3 053	3 783	3 291	3 848	4 616
3	Çin	4 700	4 310	3 793	2 923	3 157
4	Pakistan	2 914	2 958	2 670	2 496	3 097
5	Özbekistan	1 275	1298	1 272	1 250	1 208
6	Brezilya	1 010	976	1 007	939	1 155
7	Burkina Faso	644	661	631	740	770
8	Türkmenistan	545	545	534	545	534
9	Türkiye	451	460	440	420	462
10	Arjantin	506	456	447	247	305

Çizelge 1.2. Ülkelere göre lif pamuk üretim miktarları (bin ton) (ICAC, 2019)

Sıra	Ülkeler	2013- 2014	2014- 2015	2015- 2016	2016- 2017	2017- 2018*
1	Hindistan	6 770	6 562	6 240	5 865	6 296
2	Çin	6 929	6 500	5 260	4 900	5 345
3	ABD	2 811	3 553	2 820	3 738	4 266
4	Pakistan	2 076	2 305	1 610	1 663	2 094
5	Brezilya	1 705	1 563	1 550	1 530	1 703
6	Avustralya	890	528	470	931	968
7	Türkiye	760	724	640	703	852

Çizelge 1.3'te yıllara göre Türkiye'deki pamuk üretim alanları ve üretim miktarları verilmiştir. 2001 yılında 6 846 650 dekar alandan 2 357 892 ton ürün alınırken bu miktar 2017 yılında 5 018 534 dekar alandan 2 450 000 ton olarak değişmiştir. Yıllar içinde gelişen üretim tekniklerine bağlı olarak toplam pamuk üretim alanı azalırken toplam üretimin arttığı görülmektedir.

Çizelge1.3. Türkiye'deki pamuk alanları ve üretim miktarları (TÜİK, 2019)

Pamuk (Kütlü)		
Yıl	Ekilen Alan (Dekar)	Üretim (Ton)
2001	6 846 650	2 357 892
2002	7 210 770	2 541 832
2003	6 373 290	2 345 734
2015	4 340 134	2 050 000
2016	4 160 098	2 100 000
2017	5 018 534	2 450 000

Türkiye'de bölgelere göre pamuk ekim alanları Çizelge 1.4'te verilmiştir. Güneydoğu Anadolu Bölgesi 2000 yılından itibaren en fazla pamuk ekim alanlarına sahip bölgedir.

Çizelge 1.4. Bölgeler itibariyle Türkiye pamuk alanları (Bin dekar) (TÜİK, 2019)

Yıl	Güneydoğu Anadolu	Ege	Çukurova	Antalya Yöresi
1995	2 042	2 499	2 725	300
2000	3 168	2 017	1 230	126
2005	2 950	1 378	1 086	54
2010	2 878	826	1 061	41
2015	2 645	917	716	62
2017	2 931	1 073	876	58

T. urticae yumurtaları oval şekilde saydamdır ve genellikle yaprağın alt yüzeyine bırakılmaktadır. Yumurtalar 2-9 günde açılmaktadır. Yumurtadan yeni çıkan larva 6 bacaklı olmasına rağmen protonimf ve deutonimf dönemleri ile ergin dönemde 8 çift bacağı sahiptir. Erkek bireylerin vücut sonu 'V' şeklini almıştır ve dişi bireylerden daha küçüktür. Dişilerin vücut sonları daha kavisli yapıda bulunmaktadır (Çağatay, 2016; Anonim, 2019a) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. *Tetranychus urticae* dişileri ve yumurtası (Anonim, 2019b)

İki noktalı kırmızıörümcek (*T. urticae*) 1200'den fazla bitki üzerinde beslenebilmektedir ve bunlardan 150'den fazlasında ekonomik zarara neden olmaktadır (Jeppson vd., 1975; Zhang, 2003). *T. urticae*, konukçusu olduğu bitkilerde klorofil azalmasına bağlı olarak yapraklarda sararma, ağ örme, yaprak dökülmesi, yapraklarda ve saplarda nekroz ve hatta bitki ölümüne kadar gidebilen doğrudan zararlarının yanı sıra, beslenme faaliyetleri sonucu fotosentezin ve terlemenin azalması gibi dolaylı zararlanmalara da neden olmaktadır (Badawy vd., 2010) (Şekil 1.2.). *T. urticae*'nin pamuk bitkisindeki

zararı stomaların iletkenliğini ve transprasyonunu büyük ölçüde düşürerek fotosentezin azalmasına neden olması olarak bildirilmektedir (Bondada vd., 1995).



Şekil 1.2. *Tetranychus urticae* zararı (Anonim, 2019c)

Kısa sürede etki göstermesi ve kullanımının kolay olması nedenleriyle tarımsal zararlılarla savaşmada en fazla kullanılan mücadele yöntemi kimyasal mücadeledir (Tiryaki vd., 2010). Türkiye’de en fazla kullanılan pestisitler fungusitler insektisitlere ve herbisitler olarak sıralanmaktadır (Çizelge 1.5). Özellikle tarımsal zararlılarla kimyasal mücadeleyi sınırlayan etmenlerden biri direnç problemidir. Direnç bir insektisit; önerilen dozunun uygulanmasına rağmen zararlı popülasyonunda meydana gelen kalıtsal bir değişikliğe bağlı olarak duyarlılığın azalması sonucu, zararlıyı kontrolde başarısız olması olarak tanımlanmaktadır (IRAC).

Çizelge 1.5. Türkiye’de yıllara göre tarımsal ilaç kullanım miktarı (TÜİK, 2019)

Yıl	İnsektisitler	Fungusitler	Herbisitler	Akarisitler	Rodentisitler	Diğer	Toplam
2015	8 117	15 984	7 825	1 576	197	5 327	39 026
2016	10 425	20 485	10 025	2 025	259	6 835	50 054
2017	11 436	22 006	11 759	2 452	236	6 209	54 098

Kimyasal m¼cadelede kullanılan sentetik pestisitlerin direnç gelişimi, doğal d¼řmanlar ¼zerinde yan etkileri, doğal dengeye çevre sağlığına ve insan sağlığına olumsuz etkileri bulunmaktadır (Tsagkarakou vd., 2002). Zararlılarda direnç gelişimi sonucu da yapılan ilaçlama sayısı artmakta veya uygulanan dozun yükseltilmektedir. *T. urticae*; çok sayıda d¼l vermesi, yaşam d¼ng¼s¼n¼n kısa olması, ¼reme g¼c¼n¼n y¼ksek olması ve eşeysiz olarak ¼reyebilmesi nedenleriyle pestisitlere çok hızlı bir şekilde direnç geliştirebilmektedir (Ay vd., 2005). B¼ceklerde pestisitlere karşı morfolojik, fizyolojik, davranışsal, çapraz ve çoklu direnç olmak ¼zere 5 çeşit direnç ortaya çıkmaktadır (Turan, 2016).

Bu çalışmada Diyarbakır ili pamuk ¼retim alanlarında zarar yapan *T. urticae* pop¼lasyonlarında abamectin direncinin incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca biyokimyasal testlerle direncin esteraz vs GST enzimleriyle olan ilişkisi ortaya koyulmuştur.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Akgünlü (2005) Adana, Isparta, Diyarbakır, Mardin ve Urfa' dan farklı kültür bitkileri üzerinden toplanan 11 farklı *T. urticae* popülasyonlarının bazı sentetik piretroidlere (bifenthrin, fenpropathrin, lamda-cyhalothrin) karşı meydana getirdiği direnci bioassay methodlarıyla incelemiştir. Direnç oranlarının dağılımı bifenthrin, fenpropathrin, lamda-cyhalothrin için sırasıyla 1.396-7.957, 1.055-8.698, 2.293-48.952 kat düzeylerinde bulunmuştur. Biyokimyasal analizlerde *T. urticae*'nin direnç mekanizması elektroforetik yöntemle ve kinetik microplateassay yöntemleri ile incelenmiştir. En yüksek esteraz aktivitesi 7.875 mOD/min/ μ g protein olarak bulunmuştur.

Ay (2005) Türkiye'de Antalya ve Isparta illerindeki seralardan toplanan *T. urticae* (Koch) popülasyonlarının chlorpyrifos' a karşı hassasiyet seviyelerini araştırmıştır. Çalışmanın birinci aşamasında, popülasyonların chlorpyrifos' a karşı direnç geliştirip geliştirmedikleri incelenmiştir. Popülasyonların direnç oranları LC₅₀ değerlerinin hassas popülasyonun LC₅₀ değerine bölünmesiyle hesaplanmıştır. Sonuç olarak Isparta ilinden toplanan üç kırmızıörümcek popülasyonundan ikisinde ve Antalya ilinden toplanan popülasyonların tamamında chlorpyrifos' a karşı direnç gelişimi saptanmıştır.

Ay ve Gürkan (2005) Adana, Antalya, İzmir ve Şanlıurfa'dan pamuk üzerinden toplanan 9 farklı *T. urticae* popülasyonunun iki selektif akarısit (dicofol ve bromopropylate) karşı duyarlılığı biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle incelemiştir. Petri kabı-ilaçlama kulesi yöntemi ile dicofol ve bromopropylate uygulanarak tüm popülasyonlarda LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri belirlenmiştir. LC₅₀'ye göre hassas popülasyon (GSS) ile karşılaştırılarak bulunan direnç oranlarının dağılımı dicofol ve bromopropylate için sırasıyla 1.112-2.497 ve <1.0-1.106 kat olmuştur. Biyokimyasal analizlerde *T. urticae*'nin esteraz enzimi elektroforetik yöntemle incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda Adana'dan toplanan iki popülasyonda ve Şanlıurfa'dan toplanan bir popülasyonda belirgin Est-4 bantı bulunmuştur. Ancak *T. urticae*

popülasyonlarının duyarlılık düzeyleri ile esteraz enzimi yoğunluğu arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Ay vd. (2005) iki noktalı kırmızıörümcek, *Tetranychus urticae*'nin bazı akarisitlere (propargite (Omite) 570 g l⁻¹, amitraz (Kortraz) 200g l⁻¹ ve abamectin (Agrimec) 18 g l⁻¹) e karşı duyarlılığını belirlemişlerdir. Isparta'da bulunan beş farklı sebze üretim serasından toplanan *T. urticae* popülasyonlarının bu akarisitlere karşı duyarlılıkları yaprak daldırma yöntemi ile saptanmıştır ve standart hassas popülasyon (GSS) ile karşılaştırılmıştır. Standart hassas popülasyon ile karşılaştırılarak bulunan direnç oranlarının dağılımı propargite, amitraz ve abamectin için sırasıyla <1.0-2.5 1.2-2.1 ve <1.0-2.9 kat olarak belirlenmiştir. Isparta ve çevresindeki sebze seralarının birçoğu yeni kurulduğu için denemeye alınan popülasyonların çalışmada kullanılan akarisitlere karşı önemli düzeyde bir duyarlılık kaybı olmadığı tespit edilmiştir.

Sato vd. (2005), abamectin ile selekte edilmiş *T. urticae* popülasyonunda çapraz direnç gelişimi ve direncin stabilitesini incelemişlerdir. Abamectin ile 5 seleksiyondan sonra dirençli ve hassas ırklar elde edilmiştir. Abamectin' e karşı en yüksek direnç oranı (R/S) 342 kat olarak bulunmuştur.

Kim vd. (2007) dicofol ile 20 kez seleksiyon yaptıkları bir *T. urticae* arazi popülasyonunda, dicofol'e karşı 465, acrinathrin'e karşı 373, benzoximate'e karşı 197, bromopropylate'e karşı 136, fenbutatin oxide'e karşı 65, fenpropathrin'e karşı 70, fenpyroximate'e karşı 68 ve pyridaben'e karşı 63 kat direnç geliştiğini tespit etmişlerdir.

van Pottelberge vd. (2009) *T. urticae*'nin arazi popülasyonunda tebufenpyrad, fenpyroximate, pyridaben ve fenazaquin'e karşı sırasıyla 184, 1547, 5971 ve 35 kat direnç tespit etmişlerdir.

Mahdavi Moghadam vd. (2012) İran'da yaptıkları çalışmada Isfahan, Yazd ve Rasht bölgelerinden topladıkları *T. urticae* popülasyonlarında fenazaquin'e karşı sırasıyla 3109-, 439.5- ve 10.53-kat direnç tespit etmişlerdir. Aynı

popülasyonlar için hassas popülasyona kıyasla sırasıyla esteraz enzim aktivitesi 3.9-, 1.8- ve 1.5-kat; GST aktivitesi ise 2.3-, 2.4- ve 1.4-kat daha yüksek bulunmuştur.

Tirello vd. (2012) yaptıkları çalışmada İtalya'da gül bitkilerinden topladıkları 2 farklı *T. urticae* popülasyonunda (SAN ve PSE) ergin dişileri kullanarak yaptıkları bioassay denemelerde LC50 değerlerine göre tebufenpyrad için sırasıyla 48.4 ve 163.6, fenpyroximate için sırasıyla 74.1 ve 25.9 kat direnç tespit etmişlerdir.

Vassiliou ve Kitsis (2013) Kıbrıs adasında yaptıkları çalışmada *T. urticae*'nin 5 arazi popülasyonunda abamectin, acrinathrin, fenazaquin, pirimiphos methyl ve bifenazate direncini araştırmışlardır. Abamectin, acrinathrin ve fenazaquin için en yüksek direnç değerleri sırasıyla 3822 kat, 903 kat ve 310 kat olarak bulunmuştur. Pirimiphos methyl ve bifenazate için ise direnç oranları sırasıyla $13.3 < RR < 77.4$ ve $2.7 < RR < 24.4$ arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir.

Yorulmaz ve Kaplan (2014) Isparta ili domates seralarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarında abamectine'e karşı 8.36-25.26 kat; spiromesifen'e karşı 8.16-22.82 kat ve hexythiazox'a karşı 8.85- 11.76 kat arasında direnç düzeyleri belirlemişlerdir. Ayrıca biyokiyasal çalışmalarla esteraz, GST ve P450 seviyeleri sırasıyla 10.80-22.60, 2.56-2.78 ve 0.0020-0.0040 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Yorulmaz ve Kocaman (2017) Isparta ili kesme çiçek seralarından topladıkları *T. urticae* popülasyonlarında abamectine karşı 43.53-246.23 kat ve spirodiclofen'e karşı 30.49-118.78 kat direnç belirlemişlerdir. Ayrıca esteraz enzim aktivitesi sonuçlarına göre abamectin ve spirodiclofen direnciyle esteraz enziminin ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Yalçın vd. (2018) yaptıkları çalışmada *T. urticae*'nin arazi ve laboratuvar popülasyonunda bioassay testler yaparak larva denemelerinde etoxazole ve spiromesifen, ergin denemelerinde abamectin ve tebufenpyrad direncini

araştırmışlardır. Ayrıca biyokimyasal çalışmalarda kinetic esteraz ve GST enzim aktivitesi microplate reader yöntemiyle araştırılmıştır. Laboratuvar popülasyonuna kıyasla LC₅₀ değerlerine göre direnç oranları abamectin, etoxazole, spiromesifen ve tebufenpyrad için sırasıyla 2.39–7.86, 6.80–15.39, 4.61–9.73, ve 5.51–12.47-kat arasında değişen oranlarda bulunmuştur. Arazi popülasyonlarının esteraz ve GST enzim aktiviteleri sırayla 7.72–10.69 mOD/min/mg protein ve 5.92–7.56 mOD/min/mg protein, hassas popülasyonun ise 3.83 ve 5.49 mOD/min/mg protein olarak tespit edilmiştir



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kırmızıörümcek Popülasyonları

3.1.1. Kırmızıörümcek Popülasyonlarının Toplanması

Tetranychus urticae popülasyonları 2017 yılı pamuk üretim sezonunda Diyarbakır ili pamuk üretim alanlarından toplanmıştır. Bismil, Çınar ve Yenişehir ilçelerinden 3'er popülasyon, Sur ve Kayapınar ilçelerinden 2'şer popülasyon, Eğil ve Ergani ilçelerinden 1'er popülasyon olmak üzere toplam 15 popülasyon toplanarak (Çizelge 3.1) Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Akaroloji Laboratuvarı bünyesinde bulunan iklim odalarına getirilerek kültüre alınmıştır. Bu çalışmalar sırasında üzerinde *Tetranychus urticae* bireyleri bulunan pamuk bitkilerinden yaprak örnekleri toplanmıştır.

Çizelge 3.1. Diyarbakır ilçeleri pamuk üretim alanları, üretim miktarları ve toplanan popülasyon sayısı (TÜİK, 2019)

İlçe	Üretim Alanı (dekar)	Üretim Miktarı (ton)	Popülasyon sayısı
Bismil	555000	171388	3
Çınar	271500	96913	3
Yenişehir	165441	58741	3
Sur	106500	36178	2
Eğil	60297	20482	1
Ergani	51000	17640	1
Kayapınar	30000	10190	2
Bağlar	18000	6115	-
Silvan	13500	4753	-
Çermik	12000	3336	-
Dicle	60	17	-

3.1.2. Kırmızıörümcek Popülasyonlarının Üretimi

Toplanan örnekler etiketlenerek poşet içerisinde, buz kutusuna konularak Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Tarım Bilimler ve Teknolojileri Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Akaroloji Laboratuvarı bünyesinde bulunan iklim odalarına getirilerek; öncelikle, akarların kaçmasını ve karışmasını engellemek amacıyla içi su dolu küvetler içerisine yerleştirilen ve tarafımızdan hazırlanan kutularda bulunan bitki parçalarına aktarılmıştır. Bu kutular üst kısmına doğru iki yan yüzeyinde (içerisinde bulunan akarların ve bitkinin hava almasını sağlayacak) dairesel pencere şeklinde açıklıklara sahiptir. Bu boşluk kısımlara akarların geçmesini engelleyecek tüller yapılandırılmıştır. Küvet içerisine yerleştirilen bitkinin canlılığını sağlamak için kutuların küvet içerisindeki suda dik ve dengede durması için boyutlarına uygun sünger parçaları kesilerek yerleştirilmiş ve içerisine de iklim odasında yetiştirdiğimiz temiz iki yapraklı bir dal barbunya bitkisi, dal kısmı sünger içerisinde kalacak şekilde yetiştirilerek hazırlanmıştır.

Bu kutularda çoğalması sağlanan akarlar daha sonra yumuşak uçlu bir fırça yardımıyla tek tek seçilerek içi su dolu küvette bulunan temiz barbunya bitkileri üzerine aktarılmış ve araziden gelen yaprak örneklerinde bulunan diğer zararlılardan arı olarak kitle üretimi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca araziden toplanan popülasyonlardan preparatlar hazırlanmıştır. Popülasyonların tamamı Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Sultan ÇOBANOĞLU tarafından teşhis edilmiştir.

3.2. Denemede Kullanılan Akarisit

Çalışmada abamectin etkili maddeye sahip bir akarisit kullanılmıştır (Algamek 1,8 EC, Agrobrest Türkiye). Bu etken maddeye sahip bir akarisitin seçilmesinin nedeni Diyarbakır ili pamuk üretiminde kırmızıörümcek mücadelesinde en yaygın kullanılan etken maddenin abamectin olmasıdır.

3.3. Biyoassay Çalışmalar

3.3.1. Toksikite Testi

Toksikite testinde Rauch ve Nauen (2002), yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Bu yöntemde seçilen akarisit saf su içinde çözdürülerek stok hazırlanmıştır ve bu stoktan uygun seyretmeler (hazırlanan ilk dozdan itibaren ilaç konsantrasyonları %50 seyreltilerek 7 doz hazırlanmıştır) yapılarak farklı dozlarda ilaç konsantrasyonları oluşturulmuştur. Tek kullanımlık, 9 cm çapındaki petrilerin tabanına pamuk yerleştirilerek, yaprakların nemini kaybetmemesi için yeterli saf su ile ıslatılmıştır. Pamuk üzerine iklim odasında yetiştirilen barbunya bitkilerinin yapraklarından hazırlanan yaprak diskler alt yüzeyi üstte olacak şekilde yerleştirilmiştir.

Denemeler 1 kontrol + 7 doz ve her dozda 3 tekkerrür olacak şekilde kurulmuştur. Denemelerde her bir petriye yaklaşık 30 adet ergin dişi birey aktarılmıştır. Hazırlanan akarisit konsantrasyonları ve kontrolde kullanılan saf su, ilaçlama kulesi (Burkard Scientific) kullanılarak 100 kPa basınç altında yaprak yüzeyine 2 mL sıvı düşecek şekilde püskürtülmüştür. Kontrole sadece saf su uygulanmıştır.

Uygulama yapılan petriler öncelikle 20-25 dk kurumaya bırakılmış ve daha sonra kapakları kapatılarak, 25 ± 2 °C sıcaklık, 60 ± 10 nem ve 16:8 saat (A/K) fotoperiyot koşullarının sağlandığı iklim odasına alınmıştır. Ölü canlı sayımları 24 saat sonra yapılmıştır.

Çalışmada, kontroldeki ölümlerin %10'u geçmesi ve en yüksek dozda %95'ten az ölüm olması en düşük dozda ise %5'ten fazla ölüm olması durumunda denemeler tekrar kurulmuştur.

3.4. Biyokimyasal Çalışmalar

3.4.1. Poliakrilamid Jel Elektroforez (PAGE) ile Esteraz Enziminin İncelenmesi

Esteraz enzimi bant haritasını belirlemek için 'mini ventricular nondenaturing poliakrilamide gel electrophoresis' yöntemi kullanılmıştır. Elektroforez çalışmalarında Ay ve Gürkan (2005)'in modifiye ettiği yöntem uyarlanarak kullanılmıştır. Jel dökme standı hazırlandıktan sonra, % 7.5'lik poliakrilamid jel dökülmüş ve ardından cam plakaların üst kısmında geniş delikli poliakrilamid jeli (%3.5'lik) dökmek için 2 cm'lik bir boşluk bırakılmıştır. Yaklaşık 30 dakika sonra hazırlanan %3.5'lik poliakrilamid jel pastör pipet ile jel standına aktarılmıştır. Taraklar yerleştirildikten sonra geniş delikli jelin polimerize olması beklenmiştir. Jel hazırlandıktan sonra elektroforez tankına yerleştirilerek alt ve üst tank elektrot buffer ile doldurulmuştur. Daha sonra bir fırça yardımıyla ependorf tüplere her popülasyondan ayrı ayrı 5 diş birey aktarılmıştır. Her bir ependorf tüpe 50 µl homojenizasyon buffer (% 0.1 Triton X-100 içeren %32 (w/v)'lik sucrose verilerek pestil ile ezilmiştir. Elektroforezde koşurma işlemi 150 V'de yaklaşık 1.5 saatte sürmüştür. Bu sürenin sonunda 0.2M fosfat buffer (pH 6.5 ve %1 aseton) ile %0.02'lik a-naphthyl asetat solüsyonu hazırlanarak jel, bu çözeltide esteraz enzimi inkübasyonu için 30 dakika bekletilmiştir. %0.02'lik alfa-naphthyl asetat solüsyonu ile %0.4 oranında Fastblue BB salt boya solüsyonu hazırlanarak, jel bu çözeltide 1 saat boyanmıştır. Boyama işlemi bittikten sonra jel %7'lik asetik asit içine alınarak ve 24 saat sonra densiometre'de fotoğrafı çekilmiştir.

3.4.2. Mikroplakaassay İle Toplam Esteraz Enzimi Aktivitesinin İncelenmesi

Kinetik esteraz aktivitesinin belirlenmesinde alfa-naphthylacetate kullanılarak 96 hücreli düz tabanlı mikroplakada Stumpf ve Nauen (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. 20 adet ergin diş % 0.1 Triton X-100 içeren 100 mikrolitre sodyum fosfat buffer (0.1M, pH 7.5) içinde ependorf tüplerde

ezilmiştir. Bu homojenat 10000 g ve +4°C'de 5 dakika santifirüj edildikten sonra supernatant enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. 10 kez seyreltilen supernatant +0.2 M, pH 6 fosfat buffer'dan 25'er mikrolitre mikropilakanın hücrelerine konulmuştur. Çalışma 200 mikrolitre substrat solüsyonunun eklenmesiyle başlatılmıştır. Substrat solüsyonu 30 mg Fastblue RR tuzunun 50 ml 0.2 M sodyum fosfat buffer da çözülmesi ve bu karışıma 500 mikrolitre 1 alfa naphylacetate'ın ilavesiyle elde edilmiştir. Enzim aktivitesi 23°C'de ve 450 nm'de 10 dakika süreyle okunmuştur. Kontrol hücreleri ise homojenatsız olarak okunmuştur.

3.4.3. Glutathion S-Transferaz (GST) Enziminin Kinetik Olarak Belirlenmesi

GST enziminin kinetik olarak belirlenmesinde de Stumpf ve Nauen (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. 30 ergin dişi 300 µL Tris HCL buffer (0.05M, pH:7.5) içinde homojenize edilmiştir. Supernatant 10000g, +4°C'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. 100 µL supernatant, 100 µL 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ve 100 µL indirgenmiş glutathion (GSH)'dan oluşan toplam hacim mikropilaka hücrelerine konulmuştur. Absorbanstaki değişim 340 nm, 25 °C'de, 5 dakika okunmuştur. Enzim okumaları en az üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Tüm enzim aktiviteleri Softmax PRO software programında analiz edilmiş ve sonuçlar mOD min-1 mg-1 olarak sunulmuştur. Örneklerin toplam protein miktarlarının belirlenmesinde Bradford (1976)'un total protein tayin yöntemi kullanılmış ve Bovine Serum Albumine (BSA) standart olarak alınmıştır. Enzim sonuçlarından elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi tekniği ile (Oneway Anova) analiz edilmiştir (Winer vd., 1991).

3.5. İstatistik Analiz

Elde edilen verilerden yararlanarak LC₅₀ değerleri POLO bilgisayar paket programında (Leora Software, 1994) hesaplanmıştır. Popülasyonların direnç oranı tarla popülasyonlarının LC₅₀ değerlerinin, hassas popülasyonun (GSS) LC₅₀ değerlerine oranlanmasıyla hesaplanmıştır.

Biyokimyasal çalışmalarda, kontrol hücreleri homojenatsız olarak okunmuştur. Enzim okumaları dört tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Tüm enzim aktiviteleri Softmax PRO software programında analiz edilerek sonuçlar mOD min¹ mg¹ protein olarak verilmiştir. Örneklerin toplam protein miktarlarının belirlenmesinde Bradford (1976)'un total protein tayin yöntemi kullanılmış ve Bovine Serum Albumine (BSA) standart olarak alınmıştır. Enzim sonuçlarından elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi tekniği ile (One-Way ANOVA) analiz edilmiş ve popülasyonlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bioassay Test Sonuçları

Diyarbakır ili pamuk üretim alanlarından toplanan popülasyonların bioassay testlerle belirlenen abamectin'e karşı LC₅₀ değerleri ve LC₅₀ değerine göre direnç oranları Çizelge 4.1'de verilmektedir. Ayrıca bioassay testler sonucu belirlenen Bismil 1, Bismil 2, Bismil 3, Çınar 1, Çınar 2, Çınar 3, Kayapınar 1, Kayapınar 2, Ergani, Eğil, Sur 1, Sur 2, Yenişehir 1, Yenişehir 2 ve Yenişehir 3 popülasyonları için LC₅₀ değerlerine göre direnç oranları sırasıyla 289.76, 267.72, 342.04, 190.42, 269.77, 206.82, 132.72, 97.64, 116.98, 57.32, 204.25, 75.83, 204.00, 164.71, 135.73 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Pamuk alanlarından toplanan *Tetranychus uticae* popülasyonlarında abamectine karşı belirlenen LC₅₀ değerleri ve LC₅₀ değerine göre direnç oranları

Popülasyon	n*	Eğim±se	LC ₅₀ (mg a.i l ⁻¹) (95% CL)	R**
Bismil 1	721	3.75±1.45	278.17 (238.37-324.81)	289.76
Bismil 2	719	3.79±0.65	257.02 (223.01-291.69)	267.72
Bismil 3	681	4.72±1.06	328.36 (287.61-372.65)	342.04
Çınar 1	720	2.99±0.36	182.81 (95.25-266.27)	190.42
Çınar 2	690	4.69±0.89	258.98 (211.77-310.38)	269.77
Çınar 3	720	4.57±0.75	198.55 (119.86-270.13)	206.82
Kayapınar 1	715	2.57±0.26	127.42 (96.77-159.58)	132.72
Kayapınar 2	716	2.63±0.25	93.74 (74.49-113.51)	97.64
Ergani	713	5.08±0.52	112.31 (84.49-140.95)	116.98
Eğil	682	2.62±0.17	55.03 (40.77-73.58)	57.32
Sur 1	710	4.46±0.86	196.08 (180.68-211.62)	204.25
Sur 2	717	4.36±0.44	72.80 (64.01-80.04)	75.83
Yenişehir 1	712	3.36±0.34	195.84 (153.77-240.64)	204.00
Yenişehir 2	720	3.68±0.34	158.13 (140.05-176.35)	164.71
Yenişehir 3	678	2.85±0.26	130.31 (110.11-165.21)	135.73
GSS	720	0.25±1.10	0.96 (0.84-1.06)	-

*: Birey sayısı

** : Direnç oranı

4.2. Biyokimyasal Test Sonuçları

4.2.1. GST Enzim Aktivitesi Sonuçları

Pamuk tarlalarından toplanan ve hassas *T. urticae* popülasyonlarında biyokimyasal testlerle elde edilen GST enzim aktivitesi sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir. En düşük enzim aktivitesi hassas popülasyonda (GSS) 3.11 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein olarak tespit edilmiştir. Buna göre arazi popülasyonlarından elde edilen sonuçlar hassas popülasyona oranla istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Arazi popülasyonlarında en yüksek GST enzim aktivitesi Çınar-3 popülasyonunda 8.45, en düşük enzim aktivitesi Kayapınar-2 popülasyonunda 4.15 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Hassas ve pamuk tarlalarından toplanan *Tetranychus urticae* popülasyonlarının GST enzim aktiviteleri

Popülasyon	n*	Spesifik aktivite mOD min ⁻¹ mg ⁻¹ protein	R/S**
Hassas popülasyon	4	3.11c	-
Bismil-1	4	6.12a	1.96
Bismil-2	4	7.14a	2.29
Bismil-3	4	7.78a	2.50
Çınar-1	4	6.18a	1.98
Çınar-2	4	7.15a	2.29
Çınar-3	4	8.45a	2.71
Kayapınar-1	4	7.25a	2.33
Kayapınar-2	4	4.15b	1.33
Ergani	4	5.25b	1.68
Eğil	4	5.56b	1.78
Sur-1	4	7.28a	2.34
Sur-2	4	4.78b	1.53
Yenişehir-1	4	6.56a	2.10
Yenişehir-2	4	5.45b	1.75
Yenişehir-3	4	5.35b	1.72

* Tekerrür sayısı

** Denenen popülasyonun enzim aktivitesi/ hassas popülasyonun enzim aktivitesi

*** Aynı harfler istatistiki olarak aynı grubu göstermektedir (P<0.05)

4.2.2. Esteraz Enzim Aktivitesi Sonuçları

Pamuk tarlalarından toplanan ve hassas *T. urticae* popülasyonlarında biyokimyasal testlerle elde edilen esteraz enzim aktivitesi sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir. En düşük enzim aktivitesi hassas popülasyonda (GSS) 9.48 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein olarak bulunmuştur. Sur-2 popülasyonu dışında arazi popülasyonlarından elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak hassas popülasyondan farklı bulunmuştur. Arazi popülasyonları içinde en yüksek esteraz enzim aktivitesi Bismil-3 popülasyonunda 26.78 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein, en düşük esteraz enzim aktivitesi ise Eğil popülasyonunda 16.15 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Hassas ve pamuk tarlalarından toplanan *Tetranychus urticae* popülasyonlarının esteraz enzim aktiviteleri

Popülasyon	n*	Spesifik aktivite mOD min ⁻¹ mg ⁻¹ protein	R/S**
Hassas popülasyon	4	9.48 c	-
Bismil-1	4	25.25a	2.66
Bismil-2	4	24.11a	2.54
Bismil-3	4	26.78a	2.82
Çınar-1	4	23.12a	2.43
Çınar-2	4	25.65a	2.70
Çınar-3	4	22.15a	2.33
Kayapınar-1	4	20.12b	2.12
Kayapınar-2	4	18.18b	1.91
Ergani	4	20.14b	2.12
Eğil	4	16.15b	1.70
Sur-1	4	23.25a	2.01
Sur-2	4	19.14c	2.01
Yenişehir-1	4	25.13a	2.65
Yenişehir-2	4	24.98a	2.63
Yenişehir-3	4	22.16a	2.33

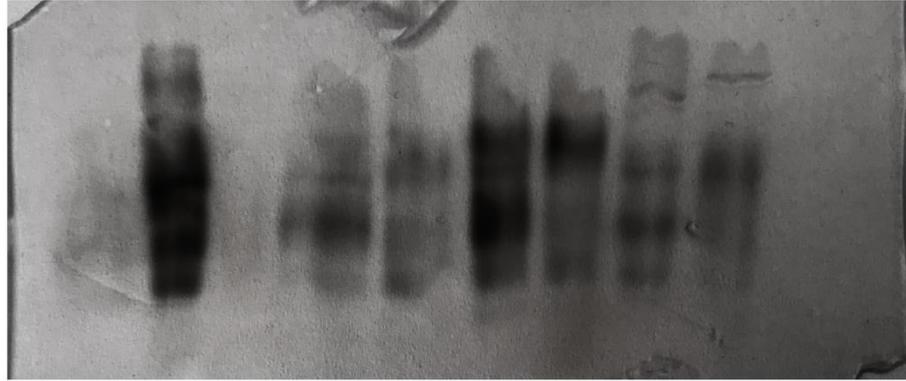
* Tekerrür sayısı

** Denenen popülasyonun enzim aktivitesi/ hassas popülasyonun enzim aktivitesi

*** Aynı harfler istatistiki olarak aynı grubu göstermektedir (P<0.05)

4.2.3. Jel Elektroforez (PAGE) Sonuçları

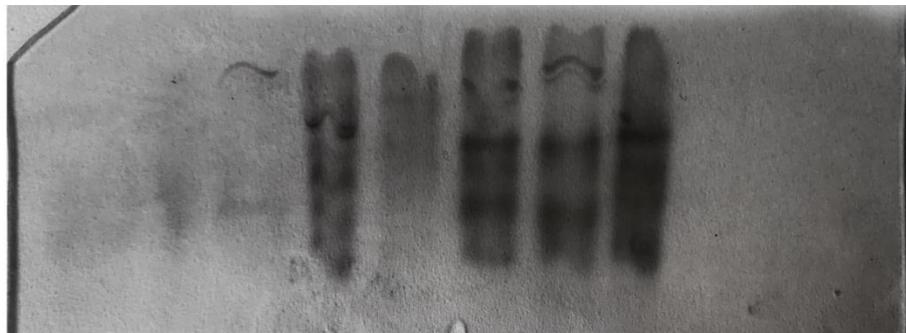
Direnç çalışmalarını destekleyici nitelikte olarak jel elektroforez yöntemi de kullanılmaktadır. Bu amaçla arazi popülasyonlarında ve hassas popülasyonda abamectin direnciyle ilişkili olduğu düşünülen esteraz enziminin Poliakrilamid Jel Elektroforez (PAGE) yöntemi ile incelendiği jel sonuçları Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de verilmiştir.



GSS
BISMİL 1
BISMİL 2
BISMİL 3
ÇINAR 1
ÇINAR 2
ÇINAR 3
KAYA 1
KAYA 2

Şekil 4.1. Esteraz jel görüntüsü 1

Şekil 4.1’de bulunan esteraz enzim bantlarına göre yalnızca Bismil 2 popülasyonuna ait bandın hassas popülasyona göre benzer olduğu, diğer pamuk tarlalarından toplanan popülasyonların bant yoğunluklarının belirgin bir şekilde hassas popülasyona kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir.



GSS
ERGANI
EĞİL
SUR 1
SUR 2
YENİ 1
YENİ 2
YENİ 3

Şekil 4.2. Esteraz jel görüntüsü 2

Şekil 4.2'de bulunan esteraz enzim bantlarına göre pamuk tarlalarından toplanan arazi popülasyonlarının bant yoğunluklarının hassas popülasyona kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu jelde yalnızca Ergani ve Eğil popülasyonlarına ait bantlar hassas popülasyona benzer yoğunlukta bulunmuştur.



5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Çalışma sonuçları kırmızıörümceklerde; ilgili yerde bulunan zirai ilaç bayileri, üreticiler ve mühendislerden alınan bilgiler doğrultusunda Diyarbakır ili pamuk üretim alanlarında en fazla kullanılan akarisit olduğu tespit edilen abamectin'e karşı yüksek oranda direnç geliştiğini göstermektedir.

Çalışmada ayrıca bioassay testlerde elde edilen sonuçların biyokimyasal testlerle desteklenmesi amaçlanmıştır. Bioassay testlerde yaprak disk-ilaçlama kulesi yöntemi kullanılarak Diyarbakır ili pamuk alanlarından toplanan kırmızıörümcek popülasyonlarında hassas popülasyona oranla 55.03-328.36 kat arasında değişen yüksek oranlarda abamectin direnci tespit edilmiştir. Biyokimyasal testlerde ise esteraz ve GST enzim aktiviteleri ile esteraz enziminin jel görüntüsü incelenerek bu enzimlerin dirençle olan ilişkileri araştırılmıştır. Arazi popülasyonlarının esteraz enzim aktiviteleri hassas popülasyona oranla 1.70-2.82 kat arasında, GST enzim aktiviteleri ise 1.33-2.71 kat arasında değişen oranlarda bulunmuştur. Esteraz enzim aktivitesi sonuçlarında yer alan Sur-2 popülasyonu dışındaki tüm arazi popülasyonlarının enzim sonuçları, hassas popülasyona göre istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Ek olarak jel sonuçlarında arazi popülasyonlarının jel yoğunluklarının Bismil-2, Ergani ve Eğil popülasyonları dışında hassas popülasyonun jel yoğunluğundan daha fazla olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre Diyarbakır ili pamuk üretim alanlarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarında esteraz ve GST enzim aktivitelerinin abamectin direnci ile ilişkili olduğu ortaya koyulmuştur.

Yorulmaz ve Ay (2009) abamectin dirençli *T. urticae* popülasyonunda yaptıkları çalışmada, seleksiyon ile direnç kazandırılan popülasyonun ilk haline oranla esteraz bant yoğunluğunun arttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca direnç kazandırılan popülasyonda GST ve P450 enzim aktivitelerinin de arttığını bildirmişlerdir. van Pottelberge vd. (2009) yaptıkları çalışmada spirodiclofen ile seleksiyon yaprak direnç kazandırdıkları bir *T. urticae* popülasyonunda 274 kat direnç tespit etmişlerdir. Bu popülasyonda yapılan biyokimyasal testler

sonucu P450, esteraz ve GST enzimlerinin spirodiclofen direncinde bir rol oynabileceğini bildirmişlerdir. Ay ve Yorulmaz (2010), iki noktalı kırmızıörümcekte chlorpyrifos direncinin esteraz enzim aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir. Ay ve Kara (2010) fenpyroximate ile 14 kes seleksiyon yaparak direnç kazandırdıkları bir *T. urticae* popülasyonunda yaptıkları çalışmada, fenpyroximate direnci ile P450 ve esteraz enzimi arasında bir ilişki olabileceğini bildirmişlerdir.

Direnç gelişimi, zararlılarla mücadelede en fazla kullanılan yöntem olan kimyasal savaşımı zorlaştırdığından istenmeyen bir olgudur. Pestisit direnci kırmızıörümcekler gibi biyolojisi kısa ve üreme gücü yüksek olan polifag zararlılarda daha hızlı gelişmektedir. Kırmızıörümceklerin birçok pestisite direnç geliştirdiği bildirilmektedir (van Leeuwen vd., 2010). Ülkemizde ve dünyada kırmızıörümceklerin akarisitlere ve insektisitlere direnç geliştirdiğine dair yapılan çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır.

Direnç yönetimi stratejilerinin kırmızıörümceklerle savaşmada entegre mücadele programına dahil edilmesi elzemdir. Doğası gereği direnç gelişimini engellemek mümkün olmayacağından, direnç gelişimini yavaşlatıcı veya var olan direncin geri dönüşümünün sağlanacağı birtakım uygulamalar tavsiye edilmektedir. Bu amaçla yapılan kullanılan pestisitlerin farklı etki mekanizmasına sahip olanlarla rotasyona sokulması, farklı pestisitlerin bir arada kullanılarak rotasyona sinerjistik etki yaratılması ve ekim nöbeti gibi uygulamalarla biyolojik savaşım yöntemlerinin mücadele programına dahil edilmesi gibi uygulamalar yapılabilmektedir (Sparks ve Nauen, 2015). Ancak bu tez çalışmasında elde edilen veriler ve literatürdeki kırmızıörümcek direnci ile ilgili yapılan çalışmalar göz önüne alındığında bu uygulamaların pratikte kullanımları yetersiz olduğu sonucuna varılmaktadır. Buradan hareketle direnç konusundaki çalışmaların yaygınlaştırılması, çeşitlendirilmesi ve özellikle üreticilerin bu konuda bilinçlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmaktadır.

KAYNAKLAR

- Akgünlü, F. Z., (2005). *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)'nin Değişik Popülasyonlarının Sentetik Piretroitli İlaçlara Karşı Meydana Getirdiği Direncin İzlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, (Basılmamış) Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 41 s.
- Anonim, (2019a). Erişim Tarihi: 01/02/2019. <https://bku.tarim.gov.tr/Zararli/KaynakDetay/609>
- Anonim, (2019b). Erişim Tarihi: 01/02/2019. <https://www.flickr.com/photos/56454811@N04/5366338449>
- Anonim, (2019c). Erişim Tarihi: 01/02/2019. <https://www.cropscience.bayer.com/en/crop-compedium/pests-diseases-weeds/pests/tetranychus-urticae>
- Ay, R. (2005). Determination of susceptibility and resistance of some greenhouse populations of *Tetranychus urticae* Koch to chlorpyrifos (Dursban 4) by the petri dish–Potter tower method. *Journal of Pest Science*, 78(3), 139-143.
- Ay, R., & Gürkan, M. O. (2005). Resistance to bifenthrin and resistance mechanisms of different strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) from Turkey. *Phytoparasitica*, 33(3), 237-244.
- Ay, R., & Kara, F. E. (2011). Toxicity, inheritance of fenpyroximate resistance, and detoxification-enzyme levels in a laboratory-selected fenpyroximate-resistant strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Crop Protection*, 30(6), 605-610.
- Ay, R., Sökeli, E. & Karaca, İ. (2005). Determination of the resistance level of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) populations in apple orchards in Isparta province against some pesticides. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 13(4), 326-330.
- Ay, R., & Yorulmaz, S. (2010). Inheritance and detoxification enzyme levels in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) strain selected with chlorpyrifos. *Journal of pest science*, 83(2), 85-93.
- Badawy, M. E., El-Arami, S. A., & Abdelgaleil, S. A. (2010). Acaricidal and quantitative structure activity relationship of monoterpenes against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Experimental and Applied Acarology*, 52(3), 261-274.
- Bondada, B. R., Oosterhuis, D. M., Tugwell, N. P., & Kim, K. S. (1995). Physiological and cytological studies of two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* K., injury in cotton. *Southwestern Entomologist*, 20(2), 171-180.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Çağatay, N., S. (2016). *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae)'de Cypermethrin Direncinin Biyokimyasal ve Moleküler Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Isparta.52s.

- Gençer, O., Özüdoğru, T., Kaynak, M. A., Yılmaz, A., & Ören, N. (2005). Türkiye'de Pamuk Üretimi ve Sorunları.
- ICAC, (2019). Erişim Tarihi: 01.02.2019. <https://icac.org/>
- IRAC. Erişim Tarihi: 01.02.2019. <https://www.irc-online.org/>
- Jeppson, L. R., Keifer, H. H., & Baker, E. W. (1975). Mites injurious to economic plants. Univ of California Press.
- Kim, Y. J., Lee, S. W., Cho, J. R., Park, H. M., & Ahn, Y. J. (2007). Multiple resistance and biochemical mechanisms of dicofol resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 10(2), 165-170.
- Leora Software. (1987). POLO-PC: a user's guide to probit or logit analysis.
- Mahdavi Moghadam, M., Ghadamyari, M., & Talebi, K. (2012). Resistance mechanisms to fenazaquin in Iranian populations of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *International journal of acarology*, 38(2), 138-145.
- Park, Y. L., & Lee, J. H. (2002). Leaf cell and tissue damage of cucumber caused by twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 95(5), 952-957.
- Rauch, N., & Nauen, R. (2002). Spirodiclofen resistance risk assessment in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): a biochemical approach. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 74(2), 91-101.
- Salman, S. Y., & Kocaman, T. (2017). *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)'nin karanfil popülasyonlarında abamectin ve spiroadiclofen'e karşı duyarlılık düzeyleri. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 7(2), 105-112.
- Salman, S. Y., & Kaplan, B. (2014). Isparta ili merkez ilçesinde domates seralarından toplanan *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) popülasyonlarının bazı akarisitlere karşı direnç düzeyleri ve detoksifikasyon enzimleri. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 4(3), 185-195.
- Sato, M. E., Silva, M. Z. D., Raga, A., & Souza Filho, M. F. D. (2005). Abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): selection, cross-resistance and stability of resistance. *Neotropical Entomology*, 34(6), 991-998.
- Sparks, T. C., & Nauen, R. (2015). IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide biochemistry and physiology*, 121, 122-128.
- Stumpf, N., & Nauen, R. (2002). Biochemical markers linked to abamectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 72(2), 111-121.
- Telatar, E., Türkmen, Ş., & Teoman, Ö. (2002). Pamuk Borsalarında Oluşan Fiyatların Etkinliği. *Dokuz Eylül Üniversitesi İktisadi Ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 17(2).

- Tirello, P., Pozzebon, A., Cassanelli, S., Van Leeuwen, T., & Duso, C. (2012). Resistance to acaricides in Italian strains of *Tetranychus urticae*: toxicological and enzymatic assays. *Experimental and applied acarology*, 57(1), 53-64.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., & Horuz, S. (2010). Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26(2), 154-169.
- Tsagkarakou, A., Pasteur, N., Cuany, A., Chevillon, C., & Navajas, M. (2002). Mechanisms of resistance to organophosphates in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from Greece. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32(4), 417-424.
- Turan, İ. (2016). Antalya İli Kumluca İlçesi Kavun Seralarından Toplanan *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) Popülasyonlarının İki Akarisite Karşı Direnç Düzeyleri ve Esteraz Enzimleri. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. 35s.
- TÜİK. (2019). Erişim Tarihi: 01.02.2019. <http://www.tuik.gov.tr/Start.do>
- van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A., Dermauw, W., & Tirry, L. (2010). Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: a review. *Insect biochemistry and molecular biology*, 40(8), 563-572.
- van Pottelberge, S., Van Leeuwen, T., Khajehali, J., & Tirry, L. (2009). Genetic and biochemical analysis of a laboratory-selected spirodiclofen-resistant strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(4), 358-366.
- van Pottelberge, S., Van Leeuwen, T., Nauen, R., & Tirry, L. (2009). Resistance mechanisms to mitochondrial electron transport inhibitors in a field-collected strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Bulletin of entomological research*, 99(1), 23-31.
- Vassiliou, V. A., & Kitsis, P. (2013). Acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) populations from Cyprus. *Journal of economic entomology*, 106(4), 1848-1854.
- Winer, B. J. (1991). *Statistical principles in experimental design* (No. 519.5 W55).
- Yalçın, K., Döker, İ., & Kazak, C. (2018). Acaricide resistance in *Tetranychus urticae* red form (Acari: Tetranychidae) collected from strawberry in southern Turkey: Bioassay and biochemical studies1. *Systematic and Applied Acarology*, 23(12), 2279-2288.
- Yorulmaz, S., & Ay, R. (2009). Multiple resistance, detoxifying enzyme activity, and inheritance of abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33(4), 393-402.
- Zhang, Z. Q. (2003). *Mites of greenhouses: identification, biology and control*. Cabi.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Emine BAYRAM
Doğum Yeri ve Yılı : Diyarbakır 23.03.1981
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : bayramemine2121@mail.com.tr

Taranmış
Fotoğraf
(3.5cm x 3cm)

Eğitim Durumu

Lise : Açık Lise
Lisans : SDÜ, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma

Mesleki Deneyim

Tarım ve Orman Bakanlığı 2017-..... (halen)

Yayınlar

Yorulmaz Salman, S. and Bayram, E. (2017). Contact toxicities of some plant extracts in Apiaceae family on different developmental stages of *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae). Turkish Journal of Entomology, 41 (2): 243-250.