

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ISPARTA İLİNDE ELMA BAHÇELERİNDE ZARARLI OLAN
ELMA İÇKURDU [*Cydia pomonella* (L.) LEP.:
TORTRICIDAE]'NUN YAYGIN OLARAK KULLANILAN BAZI
İNSEKTİSİTLERE KARŞI DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Mesut İŞÇİ

**Danışman
Prof. Dr. Recep AY**

**DOKTORA TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2014**

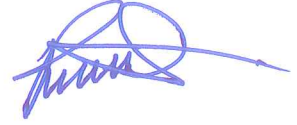
© 2014 [Mesut İŞCİ]

TEZ ONAYI

Mesut İŞCİ tarafından hazırlanan " Isparta İlinde Elma Bahçelerinde Zararlı Olan Elma İçkurdu [*Cydia Pomonella* (L.)Lep. : Tortricidae]'nın Yaygın Olarak Kullanılan Bazı İnsektisitlere Karşı Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Prof. Dr. Recep AY
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. İsmail KARACA
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Cengiz KAZAK
Çukurova Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Enver DURMUŞOĞLU
Ege Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Erhan KOÇAK
Süleyman Demirel Üniversitesi



Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Ahmet ŞAHİNER

TAAHHÜTNAME

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

Mesut İŞCİ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	10
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonları.....	21
3.1.2. İnsektisitlerin seçimi	22
3.1.3. Sinerjistler	29
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının toplanması ve yetiştirilmesi	30
3.2.2. Biyoassay çalışmalar	34
3.2.2.1. Elma içkurduna insektisitlerin uygulanması.....	34
3.2.2.2. Elma içkurduna sinerjist + insektisit uygulanması.....	35
3.2.3. Biyokimyasal çalışmalar	36
3.2.3.1. <i>Cydia pomonella</i> 'nın poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) ile esteraz enziminin belirlenmesi.....	36
3.2.3.2. <i>Cydia pomonella</i> 'nın toplam esteraz, P450, GST ve AChE enzimlerinin aktivitesinin belirlenmesi.....	37
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	40
4.1. <i>Cydia pomonella</i> 'nın Larval Biyoassay Sonuçları.....	40
4.1.1. İlaç uygulamaları.....	40
4.1.1.1. <i>Cydia pomonella</i> 'ya chlorpyrifos ethyl uygulanması sonucu elde edilen biyoassay sonuçları.....	40
4.1.1.2. <i>Cydia pomonella</i> 'ya chlorantraniliprol uygulanması sonucu elde edilen biyoassay sonuçları.....	44
4.1.1.3. <i>Cydia pomonella</i> 'ya diflubenzuron uygulanması sonucu elde edilen biyoassay sonuçları.....	47
4.1.1.4. <i>Cydia pomonella</i> 'ya thiacloprid uygulanması sonucu elde edilen biyoassay sonuçları.....	50
4.1.2. Sinerjist+ilaç uygulamaları	53
4.2. Biyokimyasal çalışmalar	56
4.2.1. <i>Cydia pomonella</i> 'nın poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) ile esteraz enziminin incelenmesi	56
4.2.2. <i>Cydia pomonella</i> 'nın toplam esteraz, GST ve P450 enzimlerinin aktivitelerinin incelenmesi	58
4.2.3. <i>Cydia pomonella</i> 'nın AChE enzim aktivitesinin fotometrik olarak incelenmesi.....	67
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	69
KAYNAKLAR	80
EKLER.....	89

EK. A.....	90
EK. B.....	92
EK. C.....	93
ÖZGEÇMİŞ	94

ÖZET

Doktora Tezi

ISPARTA İLİNDE ELMA BAHÇELERİNDE ZARARLI OLAN ELMA İÇKURDU [*Cydia pomonella* (L.) LEP. : TORTRICIDAE]'NUN YAYGIN OLARAK KULLANILAN BAZI İNSEKTİSİTLERE KARŞI DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Mesut İŞCİ

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Recep AY

Bu çalışmada Isparta ili ve ilçelerin’de elma bahçelerinde zararlı olan *Cydia pomonella*’nın thiacloprid, chlorpyrifos ethyl, diflubenzuron, ve chlorantraniliprol’e karşı, duyarlılık ve detoksifikasyon enzim düzeyleri belirlenmiştir. Bu amaçla Isparta ili ve ilçelerinden toplam 6 adet *C. pomonella* popülasyonu toplanmıştır. İlaçlar *Cydia pomonella*’ya topikal aplikasyonla uygulanmıştır. Elde edilen veriler POLO PC programı ile analiz edilmiş ve LD₅₀ değerleri elde edilmiştir. Tarla popülasyonlarının LD₅₀ değerleri hassas popülasyonun LD₅₀ değerlerine oranlanılarak direnç oranları hesaplanmıştır. *C. pomonella* popülasyonlarında chlorpyrifos (<1-2.00 kat), diflubenzuron (1.65-4.88 kat) ve chlorantraniliprole karşı önemli bir duyarlılık kaybı belirlenemezken, thiacloprid’e karşı düşük ve orta düzeyde (5.54 – 16.47) direnç belirlenmiştir. Elma içkurdu popülasyonlarında sinerjistlerle yapılan çalışmalarda, thiacloprid’e orta düzeyde direnç gösteren Gelendost ve Senirkent popülasyonlarında thiacloprid ile PBO ve DEF sinerjistleri güven aralıklarına göre önemli ölçüde sinerjistik etki göstermiştir. Detoksifikasyon enzimleri [esteraz, glutathion –S– transferaz (GST), sitokrom P450 monooxygenaz (P450) ve asetilkolinesteraz (AChE)] düzeyleri farklı substratlarla biyokimyasal olarak incelemiştir. Detoksifikasyon enzimlerinin düzeyleri popülasyona göre değişmiştir. Elde edilen sonuçlara göre elma içkurdunda thiacloprid direncinde P450 ve esteraz enziminin rol oynayabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Cydia pomonella*, elma içkurdu, elma, insektisit, direnç, sinerjist, enzim.

2014, 97 sayfa

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

DETERMINATION OF SUSCEPTIBILITY LEVELS OF SOME COMMON INSECTICIDES AGAINST CODLING MOTH (*Cydia pomonella* (L) LEP. : TORTRICIDAE) USING IN APPLE ORCHARDS OF ISPARTA

Mesut İŞÇİ

Süleyman Demirel University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Recep AY

In this study susceptibility against thiacloprid, chlorpyrifos ethyl, diflubenzuron and chlorantraniliprol of *Cydia pomonella* collected from apple orchard in Isparta province and districts and their detoxification enzyme levels were determined. For this purpose, a total 6 populations of *C. pomonella*, were collected from Isparta province and districts. Pesticides were applied to *C. pomonella* by topical application method. The data were analyzed by the program POLO PC and LD₅₀ values were calculated. The resistance ratios are calculated by comparing LD₅₀ values field populations with LD₅₀ value of the susceptible population. A significant sensitivity loss against chlorpyrifos (<1-2.00 fold), diflubenzuron (1.65-4.88 fold) and chlorantraniliprol in *C. pomonella* populations were not determined, where the low and middle levels resistance (5.54 to 16.47 fold) against thiacloprid in it were determined. In the studies with synergists in codling moth populations, thiacloprid with the PBO and DEF synergists in the thiacloprid mid-level resistance Gelendost and Senirkent populations were demonstrated the significantly synergistic effect according to the confidence interval. Detoxification enzymes [esterase, glutathione - S-transferase (GST), monooxygenase cytochrome P450 (P450) and acetylcholinesterase (AChE)] levels were examined with different substrates as biochemical. The levels of detoxification enzymes are altered according to populations. According to the results, thiacloprid resistance in Codling moth P450 and esterase enzymes, may play a role.

Keywords: *Cydia pomonella*, Codling moth, apple, insecticide, resistance, synergist, enzyme.

2014, 97 pages

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan, yakın ilgi ve desteğini gördüğüm değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Recep AY'a teşekkürlerimi sunarım. Tez İzleme Komitesinde yer alarak yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Cengiz KAZAK ve Prof. Dr. İsmail KARACA'ya teşekkür ederim. Doktora tezi savunma sınavında olmayı kabul ettikleri için Sayın Prof. Dr. Enver DURMUŞOĞLU ve Sayın Doç. Dr. Erhan KOÇAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Proje çalışmamda elma içkurdu üretiminin her safhasında yoğun gayret sarfederek özveri ile çalışan Ziraat Teknikeri Fazlı ARMAĞAN, Ziraat Yüksek Mühendisi Şeyma Reyhan ERDOĞAN ve Ziraat Yüksek Mühendisi Esra ALBAZ'a çok teşekkür ederim. Araştırmanın farklı aşamalarında yardımlarını gördüğüm Ziraat Yüksek Mühendisi Yusuf ÖZTÜRK, Ziraat Yüksek Mühendisi Hamza ŞENYURT ve stajer öğrenci olarak çalışan Fatih BAYRAK ile diğer tüm öğrenci meslektaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca SDÜ, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Toksikoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Kurumumuzda bu çalışmanın yapılmasına imkân vererek destekleyen Kurum İdarecilerimizden Dr. Suat KAYMAK, Ziraat Yüksek Mühendisi Enver Murat DOLUNAY ve Ziraat Yüksek Mühendisi İsa EREN'e teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamda destek veren TAGEM'e (Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü) teşekkür ederim. Araştırmayı mali yönden destekleyen TÜBİTAK'a ("**Isparta ili elma bahçelerinde zararlı *Cydia pomonella*, *Panonychus ulmi* ve avcı akar *Neioseilus californicus* 'un bazı insektisit ve akarisitlere duyarlılık düzeyleri ve direnç mekanizmalarının incelenmesi**" adlı, 110 O 631 nolu proje) teşekkür ederim. Çalışmamda referans olarak kullandığım hassas popülasyonu gönderen INRA (Fransa)'dan Araştırmacı Myriam Siegwart ve Araştırmacı Pierre Franck'a teşekkür ederim.

Bugünlere ulaşmamda büyük emekleri olan ve beni her koşulda destekleyen sevgili anneme ve babama sonsuz teşekkür ediyorum. Ayrıca tez çalışmam boyunca büyük bir sabır ve anlayış göstererek, beni her koşulda destekleyen sevgili eşim Gülден İŞCİ'ye, doğduklarında babalarını böcek işlerinin içinde bulan sevgili ikizlerim ile ailemizin üçüncü ferdi olarak yeni dünyaya gelen canım oğullarıma gösterdikleri fedakârlıktan dolayı teşekkür ediyorum.

Mesut İŞCİ
İSPARTA, 2014

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Dünya, 2012 yılı ülkelere göre elma üretim miktarı	1
Şekil 1.2. Dünya’da yıllara göre direnç geliştiren türlerin ve kimyasalların sayısı ile direnç raporlar.....	7
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan elma içkurdu suni yemi.....	20
Şekil 3.2. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının toplandığı ilçeler.....	22
Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan ilaçlar	22
Şekil 3.4. Chlorpyrifos ethyl’in kimyasal yapısı	23
Şekil 3.5. Chlorantraniliprol kimyasal yapısı	25
Şekil 3.6. Diflubenzuron’un kimyasal yapısı.....	26
Şekil 3.7. Thiacloprid’in kimyasal yapısı	28
Şekil 3.8. PBO sinerjistin kimyasal yapısı	29
Şekil 3.9. DEF sinerjistin kimyasal yapısı.....	30
Şekil 3.10. DEM sinerjistin kimyasal yapısı	30
Şekil 3.11. Ağaçlara oluklu mukavvaların bağlanması.....	31
Şekil 3.12. Oluklu mukavvaların kesilerek plastik kutulara konulması.....	31
Şekil 3.13. Ağaç kabuğundaki larva ve pupaların alınması	31
Şekil 3.14. <i>Cydia pomonella</i> ergin beslenme kutuları	32
Şekil 3.15. Beş gün sonra yeni kutulara aktarılmış <i>Cydia pomonella</i> erginleri.....	32
Şekil 3.16. Yumurta bırakılan şeffaf naylonların altındaki nemlendirilmiş havlu kağıtlar	32
Şekil 3.17. Larvaların yemlere aktarılması	33
Şekil 3.18. Suni yemin hazırlanması.....	33
Şekil 3.19. Elma içkurdu popülasyonlarının üretildiği iklim odaları.....	33
Şekil 3.20. <i>Cydia pomonella</i> larvalarına topikal yöntem ile insektisitlerin uygulanması.....	34
Şekil 4.1. Chlorpyrifos ethyl uygulanan farklı <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının logaritmik doz-% ölüm eğrileri	43
Şekil 4.2. Chlorantraniliprol uygulanan farklı <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının logaritmik doz-% ölüm eğrileri	46
Şekil 4.3. Diflubenzuron uygulanan farklı <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının logaritmik doz-% ölüm eğrileri	49
Şekil 4.4. Thiacloprid uygulanan farklı <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının logaritmik doz-% ölüm eğrileri	52
Şekil 4.5. Elma içkurdunun hassas ve Isparta popülasyonunun esteraz enzim bantları ve dizilişleri	56
Şekil 4.6. Elma içkurdu popülasyonunun esteraz enzim bantları ve dizilişleri	57
Şekil 4.7. Elma içkurdu popülasyonlarının esteraz enzim bantları ve dizilişleri	58
Şekil 4.8. Elma içkurdu popülasyonlarının toplam esteraz enzim aktiviteleri.....	60

Şekil 4.9. Elma içkurdu popülasyonlarının CDNB substratı ile fotometrik olarak belirlenen GST enzim aktiviteleri	62
Şekil 4.10. Elma içkurdu popülasyonlarının DCNB substratı ile fotometrik olarak belirlenen GST enzim aktiviteleri	63
Şekil 4.11. Elma içkurdu popülasyonlarının MCNB substratı ile florimetrik olarak belirlenen GST enzim aktiviteleri	64
Şekil 4.12. Elma içkurdu popülasyonlarının PNOD substratı ile fotometrik olarak belirlenen P450 enzim aktiviteleri.....	65
Şekil 4.13. Elma içkurdu popülasyonlarının 7-ECOD substratı ile florimetrik olarak belirlenen P450 enzim aktiviteleri	66
Şekil 4.14. Elma içkurdu popülasyonlarının AChE enzim aktiviteleri.....	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının toplandığı yer, tarih ve konukçu bitki	21
Çizelge 3.2. Chlorpyrifos'un ekotoksikolojik özellikleri.....	24
Çizelge 3.3. Chlorantraniliprol'ün ekotoksikolojik özellikleri	25
Çizelge 3.4. Diflubenzuron'un ekotoksikolojik özellikleri.....	27
Çizelge 3.5. Thiacloprid'in ekotoksikolojik özellikleri	28
Çizelge 4.1. <i>Cydia pomonella</i> populasyonlarında chlorpyrifos ethyl için belirlenen LD değerleri ve direnç oranları.....	41
Çizelge 4.2. <i>Cydia pomonella</i> populasyonlarında chlorantraniliprol için belirlenen LD değerleri ve direnç oranları.....	45
Çizelge 4.3. <i>Cydia pomonella</i> populasyonlarında diflubenzuron için belirlenen LD değerleri ve direnç oranları	48
Çizelge 4.4. <i>Cydia pomonella</i> populasyonlarında thiacloprid için belirlenen LD değerleri ve direnç oranları	51
Çizelge 4.5. <i>Cydia pomonella</i> 'nın Hassas, Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli Serpil ve Yalvaç populasyonlarının Thiacloprid ve Thiacloprid +sinerjist uygulamalarında belirlenen LD ₅₀ değerleri.....	55
Çizelge 4.6. Elma içkurdu popülasyonlarının toplam esteraz enzim aktiviteleri.....	59
Çizelge 4.7. Elma içkurdu popülasyonlarının CDNB substratı ile fotometrik olarak belirlenen belirlenen GST enzim aktiviteleri.....	61
Çizelge 4.8. Elma içkurdu popülasyonlarının DCNB substratı ile fotometrik olarak belirlenen GST enzim aktiviteleri.....	62
Çizelge 4.9. Elma içkurdu popülasyonlarının MCNB substratı ile florimetrik olarak belirlenen GST enzim aktiviteleri.....	63
Çizelge 4.10. Elma içkurdu popülasyonlarının PNOD substratı ile fotometrik olarak belirlenen P450 enzim aktiviteleri	65
Çizelge 4.11. Elma içkurdu popülasyonlarının 7-ECOD substratı ile florimetrik olarak belirlenen P450 enzim aktiviteleri	66
Çizelge 4.12. Elma içkurdu popülasyonlarının AChE enzim aktiviteleri.....	67

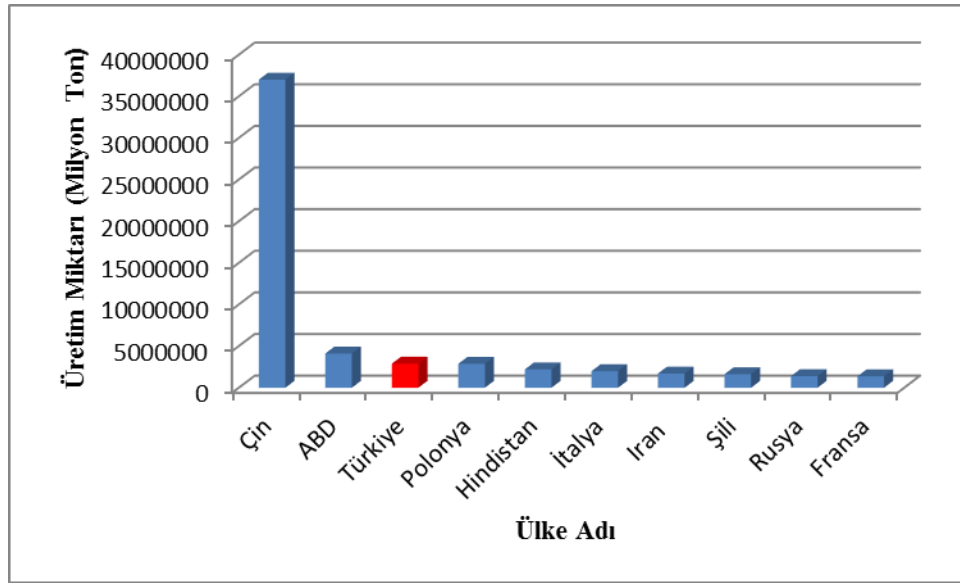
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AchE	Asetilkolinesteraz
CDNB	1-chloro-2,4-dinitrobenzene
DCNB	1,2-dichloro-4-nitrobenzene
DEF	S,S,S-tributylphosphorotrithioate
DEM	Diethyl maleate
ECOD	7-ethoxycoumarin
EST	Esteraz
GSH	Reduced glutathione
GST	Glutathione S-transferase
IGR	Böcek büyüme düzenleyicisi
LC ₅₀	Lethal konsantrasyon-50
LC ₉₀	Lethal konsantrasyon-90
M	Molar
MCNB	<i>m</i> -Chloronitrobenzene
mg	Miligram
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
MO	Monoxygenaz enzimi
mM	Milimolar
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
P-450	Monoxygenaz enzimi
PAGE	Poliakrilamid jel elektroforez
PBO	Piperonyl butoxide
PNOD	p-nitroanisole
SR	Sinerjistik etki oranı
TEMED	N,N,N,N-tetrametyyl(ethylenediamine)

1. GİRİŞ

Elma ılıman iklim meyve türleri grubu içinde yer alan ve dünyada üretimi çok olan meyvelerden biridir. Yetiştiriciliği çok geniş alanlara yayılmış olan ve kültürü milattan öncesi dönemlere dayanan elma; sofralık olarak tüketilmekle birlikte püre, cips, sirke, çay, reçel, marmelat, tıbbi bitki ve meyve suyu olarak da kullanılmaktadır.

Dünya elma üretimi 2012 yılı verilerine göre 76.372.238 tondur. Üretim miktarında 37 milyon ton ile Çin ilk sırada yer almakta, ABD 4.110.046 ton ile bu ülkeyi izlemektedir. Türkiye 2.889.000 ton ile üçüncü sırada bulunmaktadır (Anonymous, 2014 a). Ülkelere göre elma üretim miktarları Şekil 1.1' de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Dünya, 2012 yılı ülkelere göre elma üretim miktarı (Anonymous, 2014a)

Isparta ilinde üretilen elma 634.975 ton ile ülke ticaretine konu olan elmanın % 22'sini oluşturmaktadır (Anonim, 2014). Isparta ilinin genelinde kapama elma bahçelerinin oldukça fazla olması, ülke elma üretimi içindeki payını artırmaktadır. Bölgede elma yetiştiriciliği 1960'lı yıllarda başlamış ve günümüze kadar artarak devam etmiştir. Eğirdir ilçesini, sırasıyla Gelendost, Yalvaç, Senirkent, Isparta Merkez, ve diğer ilçeler takip etmektedir.

Ülkemiz elma yetiştiriciliği bakımından Dünya’da ilk sıralarda bulunmasına rağmen üretilen elmanın uluslararası piyasalarda değerlendirilmesinin ise çok düşük seviyelerde kaldığı görülmektedir. Türkiye 2012 yılında yurtdışına 87.303 ton elma ihraç etmiş, buna karşılık 5.592 ton elma ithalatında bulunmuştur (Anonymous, 2014 a). Bu durum üretilen elmanın sadece % 3’lük bir kısmının ihraç edilebildiğini göstermektedir. İhracat rakamlarında göze çarpan bu düşüklüğün sebepleri arasında; birim alandan elde edilen elma üretimi ile kaliteli elma üretiminin yeterli seviyede olmaması sayılabilir. Kaliteli elma üretimini sınırlayan faktörler arasında zararlı ve hastalıklar da önemli bir yere sahiptir. Özellikle ana hastalık (elma karalekesi) ve ana zararlının (elma içkurdu) verdiği zararı önlemek için yoğun ilaç kullanımı girdi maliyetlerinin artması sonucunda dünya piyasalarında rekabet gücümüzün azalmasına sebep olmaktadır.

Bütün tarımsal faaliyetlerde olduğu gibi meyve yetiştiriciliğinde de değişik hastalık ve zararlılarla mücadele en önemli girdi maliyetlerinden birisidir. Elma yetiştiriciliğinde meyve kalitesini etkileyen birçok hastalık ve zararlı bulunmaktadır. Bu zararlılar arasında elma içkurdu doğrudan meyvede zarar yapan ve meyvenin satılamaz hale gelmesine neden olan en önemli elma zararlısıdır.

Pedigo (2009), elma içkurdunun Japonya ve Batı Avustralya hariç dünyanın bütün ülkelerinde bulunduğunu ve elmanın en önemli zararlısı olmakla beraber, ceviz, armut ve ayvada zararlı olduğunu, yılda 1-3 döl verdiğini, zarar oranının % 20-95 arasında değiştiğini belirtmektedir.

Beers vd. (2000), elma içkurdunun Japonya, Tayvan, Kore ve Çin’in Doğu Bölgeleri hariç dünyanın bütün ülkelerinde bulunduğunu, iklime bağlı olarak yılda 1-4 döl verdiğini rapor etmişlerdir. Elma içkurdunun konukçuları arasında Avrupa ve Asya armutları, ayva, ceviz, erik, şeftali, nektarin ve kayısı olduğunu, bu meyvelerden ceviz ve erikte devamlı görülebilirken diğerlerinde bazı durumlarda zarar yaptığını belirtmişlerdir.

Larvalar meyvede beslenerek zarara sebep olurlar. İki türlü zarar şekli vardır. İlk zarar şeklinde derin giriş delikleri açarak meyvenin çekirdeğine doğru ilerler, ikinci zarar şeklinde ise meyvede yüzeysel delikler açması ve bu deliklerin ilerlememesi

şeklindedir. İlk zarar şeklinde larva meyvenin merkezine doğru delik açarak ilerler ve çekirdeklerde beslenir. Kahverengi dışkılarını giriş deliğinden ya da yeni bir delik açıp oradan meyvenin dışına çıkarır. Armutlarda bu tip zarar öncelikle çiçek çukurunda görülür. Olgun meyvelerde sıklıkla girişin etrafı kırmızı bir halka ile çevrilmiştir. İkinci tip zararda ise yüzeysel girişler olur, larva ölür ya da oradan girmekten vazgeçip başka bir yerden girmeyi dener. Larvanın meyvenin içine girdiği durumlarda buralarda oluşan bakteri ve mantarlar sebebiyle meyveyi çürütür (Beers vd., 1993). Bütün bunların sonucu olarak meyvelerin dökülmesine, dökülmeden ağaçta kalabilen meyvelerin ise nitelik ve niceliklerinin bozulmasına ve dolayısıyla elmanın piyasadaki değerinin düşmesine neden olmaktadır. Ülkemizde elma üretim bölgelerinin her yerinde bulunmaktadır (Anonim, 2008).

Elma içkurdu meyveye % 91 oranında yan kısımlarından (iki meyvenin birbirine değdiği kısımlar), % 6 oranında çiçek çukurundan, %3 oranında da sapın meyveye bağlandığı yerden girmekte ve elma çeşitlerinin hasat zamanlarına göre değişmekle birlikte % 6-77 arasında zarar oluşturabilmektedir (İşci ve Tuncer, 2009; Kaymak ve İşci, 2011).

Üretilen elmanın pazarlanabilirliği açısından hastalık ve zararlılarla mücadele içinde elma içkurdu ana zararlıdır ve mücadelesinde yoğun ilaçlama yapılmaktadır. Hastalık ve zararlılarla mücadelede farklı stratejiler olmasına rağmen yetiştiriciler genellikle kimyasal savaşım yöntemlerini benimsemektedir. Isparta ve çevresinde elma üreticileri, zararlılarla savaşımında uygulanabilirliğinin kolay olması, kısa sürede etki göstermesi gibi farklı nedenlerden dolayı kimyasal savaşımı tercih etmektedirler. Bölgede erken uyarı sistemi kurulu olmasına rağmen üreticiler bundan gereği gibi faydalanamamaktadırlar. 2005 yılında Isparta’da yapılan bir çalışmada elma bahçelerinde bir üretim sezonunda ortalama 12,43 kez ilaçlama yapıldığı belirlenmiştir. Bu çalışmada elma üretimi ekonomik açıdan analiz edilmiş, Isparta’daki işletmelerde tarımsal mücadele masraflarının üretim masrafları ve değişen masraflar içindeki paylarının sırasıyla % 21,64 ve % 29,83 olarak tespit edilmiştir.

Bu konuda yapılan başka çalışmalarda elma üretiminde tarımsal mücadele masrafının üretim ve değişen masraflar içindeki payları sırasıyla Karaman ilinde % 12,60, % 17,53, Tokat ilinde % 11,63, % 17,53, Amasya ilinde % 6,39, % 7,91 ve İçel ilinde % 7,75, % 8,81 olarak saptanmıştır (Demircan vd., 2005; Demircan ve Yılmaz 2005).

Kimyasal ilaçların yoğun olarak kullanılması zararlılar üzerinde ilaçların etkinliğinin azalması olarak tanımlayabileceğimiz “direnç” oluşumuna sebep olmaktadır. Üreticiler bu durumla karşılaştıklarında ya doz artışı ya da sık ilaçlama yöntemlerinden birini tercih etmektedir. Bunların tercih edilmesiyle direnç daha da artmakta ve sorun bir kısır döngüye dönüşerek içinden çıkılmaz bir hale gelmektedir.

Direncin farklı tanımları yapılabilir. Direnç teknik olarak tarla koşullarında pestisit seleksiyonuna maruz kalan bir organizmadaki genetik değişim olarak tanımlanmaktadır. Uygulamada ise direnç; ürün (pestisit) depolama, uygulama ve olağan üstü iklim ve evre koşulları nedeniyle oluşan başarısızlıkların bertaraf edildiği ve zararlı türler için etiket önerisine göre kullanıldığında savaşımda beklenen başarıya ulaşılamadığı ve başarısızlığın tekrarlandığı, zararlı popülasyonlarının duyarlılığındaki kalıtsal değişim olarak tanımlanmaktadır (FAO, 2012).

Başka bir tanımla direnç; pestisitinin önerildiği zararlıların popülasyonlarının baskı altına alınmasında yanlış depolama, hatalı uygulama ve uygun olmayan evre koşulları gibi problemler dışında bir hassasiyet azalması olarak tanımlanmaktadır (nal ve Gürkan, 2001).

Kimyasal mücadelede başarılı olmak için zararlıların pestisitlere karşı geliştirebileceği direnç devamlı olarak izlenmelidir. Böylece zararlılarda direnç gelişimi belirlenerek üreticiye güvenli ve dirençten en az etkilenen pestisitlerin seçilmesi konusunda yardımcı olunarak etkili bir mücadele stratejisi oluşturulacaktır.

Bir zararlı böceğe karşı insektisit veya grubunun uzun zaman devamlı olarak kullanılması halinde seleksiyon veya mutasyon yoluyla o bcekte ilaca karşı bir direnç ortaya çıkabilir. Yapılan araştırmalarla böcek, akar ve kemirgenlerden pestisitlere dirençli ırkların daha çok bir seleksiyonsonunda meydana geldiği

görülmekte ve kabul edilmektedir. Bilindiği gibi böcekler heterozigot bir genetik yapıya sahiptirler. Bu duruma göre de bir böcek türünün geniş bir popülasyonu için yapılan ilaçlamalarda sayıları başlangıçta az da olsa bazı bireyler dayanıklı genlere sahip genotip yapıları nedeniyle ilacın öldürücü dozundan etkilenmeyerek hayatta kalırlar. Aynı ilacın tekrar tekrar uygulanması halinde, dayanıklı bireylerin sayısı ileriki döllerde gittikçe artarak dayanıklı ırk popülasyon içinde böylece çoğunluk kazanır. Bu şekilde önceden var olan dayanıklı genler seleksiyona yani seçmeye tabi olarak dayanıklılık da ortaya çıkmış olur (Giray, 1977).

Direnç test teknikleri biyoassay denemeler ve biyokimyasal denemeler olmak üzere 2 kısımdan oluşmaktadır. Biyoassay yöntemler insektisitlerin uygulama yöntemlerine göre daldırma, rezidü veya yüzey teması, topikal uygulama ve besleme olmak üzere 4 grupta sınıflandırılmaktadır. Biyoassay denemeleri direncin belirlenmesinde kullanılan etkili bir yöntemdir. Biyokimyasal denemeler ise düşük frekanstaki direnç genlerini doğru olarak tanımlama ve kontrol etme yeteneğindedir (Ay ve Sökeli, 2005).

Genel olarak direnç kontrolü LC_{50} ' lerin ve LC_{90} ' ların karşılaştırılmasını veya tarla laboratuvar popülasyonları arasındaki doz-tepki grafiğini içermektedir. Zararlılarla ilgili toksisite denemelerinde her zararlının kendine özgü bir doz-ölüm eğrisi bulunmaktadır. Kullanılan ilacın dozu arttığı zaman ölüm oranı artmaktadır. İnsektisit dozu arttığında zararlı ölümünde artış oranı yavaş yavaş azalıyorsa kullanılan toksik maddeye karşı dayanıklılık başlamıştır. Kontrol düzeydeki doz ölüm-eğrisi ile karşılaştırma yapıldığında fark oluşmuşsa zararlı insektisite karşı direnç kazanmıştır (Toros vd., 2001).

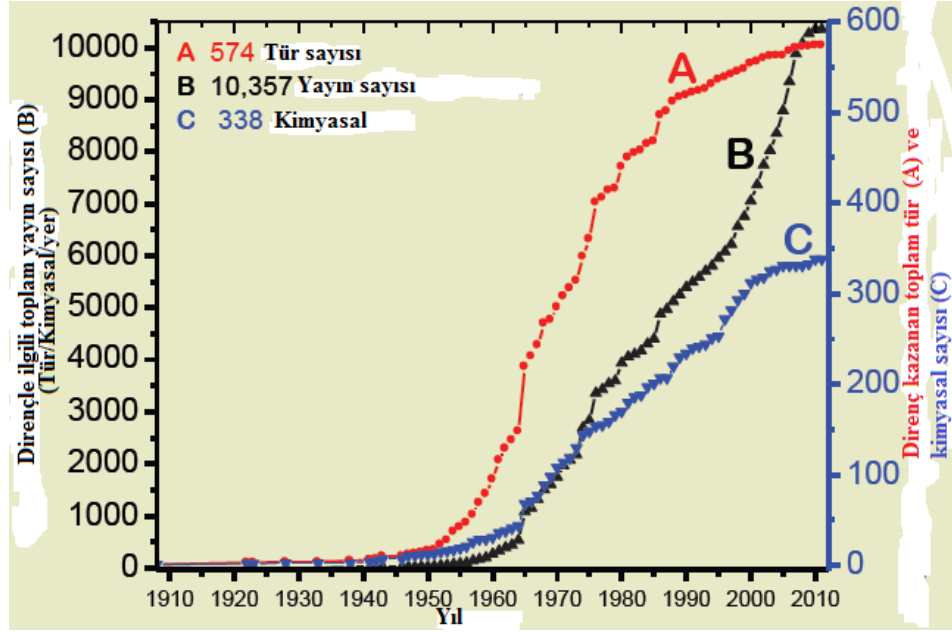
Zararlılara karşı aynı pestisit veya aynı etki mekanizmasına sahip pestisitlerin uzun süre kullanılmaları sonucunda zararlılarda davranışsal, morfolojik, fizyolojik, çok yönlü ve çapraz direnç olmak üzere 5 tip direnç gelişmektedir. Davranışsal direnç, zararlının davranışı nedeniyle ortaya çıkan dayanıklılık şeklindedir. İnsektisit uygulanması sonucunda böceklerin normal davranışlarında bir farklılık görülmektedir. Bu durumda böcek ilaçlı kısımdan uzaklaşma, ilaçlı kısımlarla beslenmeme gibi davranışlar göstererek direnç geliştirebilmektedir. Morfolojik direnç, zararlının vücut özelliklerinden kaynaklanan direnç şeklindedir. Zararlının

vücudunun sık kıllı olması veya kutikula'nın çok kalın olması gibi özellikleri nedeniyle ilacın böceğin vücuduyla temas edememesi sonucunda dayanıklılık ortaya çıkmaktadır. Fizyolojik direnç, zararlının fizyolojik faaliyetleri sonucu biyokimyasal yollarla meydana getirdikleri dayanıklılık şeklindedir. Dayanıklı bireylerdeki güçlü veya çok miktarda bulunan enzimler vücutlarına aldıkları pestisitleri parçalayarak etkisizleştirirler. Çok yönlü direnç, zararlılarda birden fazla yolla meydana gelen dayanıklılık durumudur. Çapraz direnç ise herhangi bir insektisite karşı gelişen direncin aynı gruptan farklı insektisitlere karşı da oluşması olarak tanımlanmaktadır (Öncüler, 2004; Öncüler ve Durmuşoğlu, 2008; Yu, 2008).

Bu direnç tipleri arasında fizyolojik direncin en önemli ve en yaygın görülen direnç tipi olduğu; penetrasyon azalması, detoxifikasyonun artması ve hedef yeri duyarlılığı olmak üzere üç faktörün ortaya çıkardığı, sentetik pestisitlerin yoğun kullanılması sonucu görüldüğü, genellikle kalıtsal olduğu ve mutasyonlarla ortaya çıkabildiği dolayısıyla en tehlikeli ve kırılması en güç dayanıklılık tipi olduğu bildirilmektedir (Toros vd., 2001; Çakır ve Yamanel, 2005; Öncüler ve Durmuşoğlu, 2008; Yu, 2008).

Dünyada direnç ilgili ilk bulgu 1914 yılında kükürt-kireç karışımına karşı yayınlanmıştır (Melander, 1914). Melander'in 1908 yılında San Jose kabuklu bitinde kükürt-kireç karışımına karşı oluşan duyarsızlaşmayı gözlemlemesi, insektisitlere karşı oluşan direncin gelişimiyle ilgili ilk kayıt olma özelliğindedir. 1940-1950 yılları arasında hızlı öldürücü etkisi, kullanımının kolay, üretiminin ucuz ve basit olması nedeniyle sık kullanılmaya başlanan DDT'nin ortaya çıkışından kısa bir süre sonra zararlılarda insektisit direnç gelişimi hızla artmıştır. DDT'den sonra yaygın kullanılan organik fosforlu, karbamatlı ve piretroidli insektisitlere karşı da kısa süre sonra böceklerde duyarsızlaşma tespit edilmiştir. Günümüzde 500'den fazla böcek türünün insektisitlere karşı dayanıklılık gösterdiği bilinmektedir (Soderlund, 1997).

1914 yılından 2012 yılına kadar ise direnç ile ilgili 10.357 yayın yapılmış ve toplam 574 türde 338 aktif maddeye karşı (Şekil 1.2) direnç belirlenmiştir (Anonymous, 2012).



Şekil 1.2. Dünya’da yıllara göre direnç geliştiren türlerin ve kimyasalların sayısı ile direnç raporlar (Ay vd., 2013)

Böcekler yaşam döngüleri boyunca insanlar tarafından yapay olarak üretilen pestisitler (organik fosforlular, karbamatlılar, piretroitler vb.) veya bitkiler tarafından doğal olarak üretilen allelokimyasallar gibi toksinlere (xenobiotik) maruz kalmaktadırlar. Böceklerin bu toksinlere karşı kendilerini korumak için geliştirdikleri detoksifikasyon mekanizmaları bulunmaktadır. P450, GST ve hidrolaz gibi bazı enzimler insektisitlerin böcek vücuduna girmesi sonucunda bu kimyasalların zehirliliğini giderilmesini sağlamaktadır (Yorulmaz ve Ay, 2010).

Karboksilesteraz enzimleri tarafından pestisitlerin hidrolizinin artırılması veya bloke edilmeleri organik fosforlu, karbamatlı ve piretroitli bileşiklere karşı oluşan direnç de önemli bir rol oynamaktadır. Bu tip bir detoksifikasyon ilk kez böceklerde biyokimyasal olarak karakterize edilmiştir. Böceklerde total esteraz aktivitesinin artması ya da bir veya daha fazla spesifik esteraz enziminin aktivitesinin artması bir direnç mekanizması olarak kabul edilmektedir (Susurluk, 2008). Yukarıda adı geçen insektisit grubundaki bileşikler sinir sistemindeki sinapsislerde elektriksel sinir uyarılarının iletimini bozarak böceğin ölümüne neden olmaktadır. Organik klorlular ve piretroidler sinir sistemi üzerinde etkili olmakla birlikte AChE

bağlayıcısı değildir. Sodyum kanallarındaki iyon geçişini engelleyerek sinirsel iletimi bozmakta ve böceğin ölümüne sebep olmaktadır (Uğurlu, 2001).

Böceklerde ilk P450 enzimi, 1967 yılında belirlenmiştir. Günümüze kadar 100'den fazla böcek türünde P450 monooksijenazlar bulunmuştur. Böceklerde P450 enzimi ilk kez ev sineklerinden saflaştırılmış ve karakterize edilmiştir. Saflaştırılan böcek P450 monooksijenaz enzimi memelilerde bulunan P450 monooksijenaz ile benzerlik göstermektedir. P450 enzim seviyesi böceklerin yaşam süreci boyunca ergin dönemlerinde yüksektir. Yumurta ve larva döneminde artan P450 seviyesi pupa döneminde azalmaktadır. Monooksijenazların DDT, piretroit, karbamatlılar ve organik fosforlu insektisitlerin detoksifikasyonunda rol oynadıkları bilinmektedir (Yorulmaz ve Ay, 2010). P450 enziminin insektisit direncinde etkili olduğunu belirlemek amacıyla sinerjist olarak adlandırılan enzim engelleyicileri kullanılmaktadır. Sitokrom P450 monooksijenaz enzimleri tüm organizmalarda bulunan önemli metabolik sistemlerden biridir. Olası pek çok reaksiyonda katalizör görevi gördüğünden vücuda giren yabancı maddelerin metabolizmasında, böcek hormonlarının, feromonlarının, yağ asitlerinin sentezi ve parçalanmasında, pek çok konukçu bitkinin kimyasallarına karşı böceklerin adaptasyonunda ve insektisit direncinde rol oynamaktadırlar (Susurluk, 2008).

Glutation S-transferaz (GST)'ler glutatyon (GSH)'nun konjugasyonundan sorumlu fonksiyonel enzimler olarak bilinirler. GST'ler doğada bakteriler, maya, küf, yumuşakçalar, kabuklular, solucanlar, kurbağalar, böcekler, bitkiler, balıklar, kuşlar ve memelilerde bulunmaktadır. GST'ler vücuda alınan yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli bir role sahip olan enzimlerdir. İnsektisit metabolizmasında GST'lerin önemi ilk kez organik fosforlu bileşiklerin detoksifikasyonunda belirtilmiştir (Susurluk, 2008). Günümüze kadar memelilerde, bitkilerde ve böceklerde 40'tan fazla GST enziminden sorumlu genler belirlenmiştir. Böceklerde bulunan GST enzimi faz I aşamasından sonra insektisit detoksifikasyonunu katalize etmektedir. GST'in dokularda çözünmüş ve istikrarlı halde bulunması birçok böcek türünde karakterizasyonuna ve saflaştırılmasına olanak sağlamaktadır. Böceklerde bulunan GST biyokimyası hakkında en fazla bilgi ev sinekleri üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Ev sinekleri üzerinde yapılan çalışmalarda GST1 ve GST2 olmak üzere iki farklı GST enzimi

saflaştırılmıştır. Benzer GST saflaştırma çalışmaları Diptera ve Lepidoptera takımları içerisinde bazı böcek türlerinde de yapılmıştır (Yorulmaz ve Ay, 2010).

Bu çalışmada; elma bahçelerinin ana zararlısı olan *Cydia pomonella*'nın, yaygın kullanılan ve yeni giren ilaçlara karşı duyarlılık düzeyleri biyoassay denemeleri ile ortaya konulmuş ve biyokimyasal yöntemlerle direnç mekanizmaları belirlenmiştir. Bu amaçla elma içkurdu popülasyonları Isparta ilinde bulunan elma bahçelerinden toplanmış, böcek yetiştirme odalarında yetiştirmeye alınmıştır. Popülasyonlar yeterli yoğunluğa ulaştığında LD₅₀ değerleri belirlenmiştir. Bunu takiben aynı ilaç sinerjistlerle de uygulanmış ve sinerjistlerin sinerjistik etkileri saptanmıştır. Ayrıca bölgede yaygın kullanılan ilaçlara karşı elma içkurdu'nun duyarlılığı belirlenerek bu duyarlılık düzeyleri ile değişik enzim grupları arasındaki ilişkiler biyokimyasal yöntemler kullanılmak suretiyle incelenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Elma içkurdunda ilk duyarlılık çalışması iki popülasyonda yapılmış ve zararlının kurşun arsenata karşı direnç geliştirdiği bildirilmiştir (Hough, 1928). Ülkemizde ise elma zararlılarında ilk çalışmalar İren (1966) ve Ersoy (1976) tarafından Elma iç kurdu *Cydia pomonella* (L.)’da, Erkam ve Gürkan (1983) tarafından *Panonychus ulmi* (Koch.)’de yapılmıştır.

Dindar (1992), tarafından doktora tezi olarak sunulan *Ceratitis capitata* (Wied)’nin malathiona dayanıklılık durumunu incelediği araştırmada, ülkemizde ilk defa biyoassay yöntemlerin yanında biyokimyasal yöntemlerle dayanıklılığın belirlenmesine çalışılmıştır.

Bouvier vd. (1998), 14 farklı elma bahçesinden topladıkları elma içkurdunun diyapoz larvalarında deltamethrin direnç mekanizmasının P450 enzimi ile ilişkili olduğunu, ancak ilave mekanizmalarında olabileceğini bildirmişlerdir.

Sauphanor vd. (1998), diflubenzuron ile selekte ettikleri elma içkurdu popülasyonunda yüksek oranda diflubenzuron direnci geliştiğini bildirmişlerdir.

Velioğlu (1999), Değişik bölgelerden toplanan *Myzus persicae* (Sulz.) popülasyonlarını farklı gruptan bazı insektisitlere karşı duyarlılık farklarının belirlenmesi üzerinde araştırmalar konulu doktora tezinde biyoassay ve biyokimyasal yöntemleri kullanmıştır.

Sauphanor vd. (1999), *C. pomonella*’nın hassas popülasyonunda ve diflubenzuron ya da deltamethrin ile selekte edilmiş popülasyonlarında tebufenozidin direnç durumunu araştırmışlardır.

Dunley ve Welter (2000), *C. pomonella*’nın laboratuvar ve tarla popülasyonlarında azinphos-methyl direnci ile iki organikfosfatlı (diazinon ve phosmet) bir karbamatlı (carbaryl), bir klorlandırılmış hidrokarbonlu (DDT) ve iki sentetik pretroidli (esfenvalerate ve fenpropathrin) direnci arasında pozitif çapraz direnç bulmuşlardır.

Buna karşın azinphos-methyl direnci ile iki organik fosfatlı chlorpyrifos ve methyl parathion direnci arasında negatif çapraz direnç bulmuşlardır.

Bouvier vd. (2001), elma içkurdu'nda doz-tepki ilişkisine göre deltamethrin direnç kalıtımının autosomal eksik resesif ($D=-0.199$) karakterli olduğunu göstermişlerdir.

Knight vd. (2001), elma içkurdunun laboratuvar ve organik elma bahçelerinden toplanan popülasyonlarının tebufenozide ve methoxyfenozide yaklaşık aynı tepkiyi gösterdiklerini, fakat larva yaşının toksisiteyi etkilediğini belirtmişlerdir.

Reuveny ve Cohen (2004), İsrail'de organik fosforlu ilaçlardan azinphos methyl'e elma içkurduna karşı dayanıklılık gözlendiğini, direncin seviyesinin ise zararlının savaşında yapılacak strateji değişikliği ve IPM anlayışı içinde farklı etki gruplarında yer alan ilaçların kullanılmasıyla ile kontrol altına alınabileceğini bildirmiştir.

Bazı araştırmacılar *Leptinotarsa decemlineata* (Say)'da novalurona karşı olan direncinesteraz enzimi tarafından sağlandığını ileri sürmektedirler (Cutler vd., 2005).

Cassanelli vd. (2006), *C. pomonella*'nın iki ırkını diflubenzuron (Rdfb ırkı) ve azinphos-methyl (Raz ırkı) ile selekte etmişlerdir ve bu ırklardan Rdfb ırkı azinphos-methyl'e 2.6 kat direnç, carbaryl'e ise 7.7 kat direnç göstermiştir. Buna karşın Raz ırkı azinphos-methyl'e 6.7 kat ve carbaryl'e 130 kat direnç geliştirdiğini bulmuşlardır. Raz ırkında hedef yeri direnç mekanizmasını asetilkolinesteraz aktivitesinin inhibasyonu ile açıklamışlardır.

Wang vd. (2006), *Spodoptera exigua* (Hübner)'nın spinosad direncinin biyokimyasal mekanizmaları üzerine yaptıkları çalışmaları sonucunda PBO'nun dirençli ırkta belirgin bir sinerjistik etki gösterdiğini, spinosad ile fenvalerate, phoxim, methomyl, abamectin ve cyfluthrin arasında çapraz direnç olmadığını tespit etmişlerdir.

Fuentes-Contreras vd. (2007), elma içkurdunu neonate larvalarında azinphos-methyl'e karşı hassas ve dirençli popülasyonlar arasında fark belirleyemezken diyapoz sonrası larvalarda dirençli popülasyonlarda hassas popülasyona göre ölümün azaldığını bulmuşlardır. Buna ilaveten azinphos-methyl'e dirençli diyapoz sonrası

larvada istatistiki olarak yüksek oranda GST aktivitesi belirlerken esteraz ve sitokrom P450 polysubstrate monooxygenases (PSMO) aktivitesi arasında fark belirleyememişlerdir.

Ioriatti vd. (2007), dört farklı elma bahçesinden topladıkları elma içkurdu popülasyonundan iki popülasyonun tebufenozide yüksek oranda hassasiyet azalması, yine bu popülasyonlarda hassas popülasyona göre GST ve esteraz enzimlerinde bir farklılık bulamazken iki popülasyonda önemli derecede yüksek P450 enzim aktivitesi bulmuşlardır.

Reyes vd. (2007), 10 farklı insektisite karşı 4 laboratuvar ve 5 farklı ülkeden 47 farklı popülasyonda diyopoz larvalarda direnç ve erginlerde direnç mekanizmasını incelemişlerdir. Hassas popülasyonla karşılaştırıldığında bütün popülasyonlarda en az bir insektisite karşı direnç bulmuşlardır. Azinphos-methyl'e dirençlilerde P450 enzim aktivitesine bağlı olarak diflubenzuron, spinosad, tebufenozide ve thiacloprid'e karşı çapraz direnç belirlemişlerdir. GST artışına ve esteraz azalmasına bağlı olarak da azinphos-methyl ve emamectin direncini ilişkili bulmuşlardır.

Stara ve Koucourek (2007), ticari elma bahçesinden topladıkları elma içkurdu larvalarında fenoxycarb, teflubenzuron ve phosalone arasında beşinci dönem larvalarda topikal uygulama ile çapraz direnç bulurken test ettikleri hiç bir popülasyonda diflubenzurona karşı direnç bulamamışlardır.

Huang ve Han (2007), *Spodoptera litura* (Fabricus) ile yaptıkları çalışmalarda piretroit direncinin yüksek sitokrom P450 ve esteraz aktiviteleri nedeni ile olduğunu, buna karşılık asetilkolinesterazı hedef alan insektisitlere karşı dirençten hem hedef yeri duyarsızlığı hem de yüksek MFO ve esteraz aktivitelerinin sorumlu olduklarını gözlemlemişlerdir. Bu nedenle piretroitlerle asetilkolinesterazı hedef alan insektisitlere karşı gelişen çapraz direncin yüksek MFO ve esteraz aktivitelerinden kaynaklandığını belirtmektedirler.

Kumral ve Kovancı (2007), Bursa ilindeki elma bahçelerinden topladıkları *P. ulmi*'nin LC₅₀ değerine göre amitraz, dicofol, bromopylate ve fenpyroximate karşı sırasıyla 2.2-11.9, 0.8-3.6, 1.0-22.5 ve 0.9-7.9 kat direnç bulmuşlardır.

Sökeli vd. (2007), elmanın yoğun olarak üretildiği Isparta ilindeki elma bahçelerinde, ikinci en önemli zararlı olan iki noktalı kırmızı örümcek popülasyonlarının, bazı kimyasallara (propargite, chlorpyrifos ve abamectin) karşı direnç düzeylerini incelemiştir. Çalışma sonunda popülasyonların direnç oranları propargite için $<1.0 - 1.1$ kat, chlorpyrifos için $2.3 - 40.2$ kat ve abamectin için $<1.0 - 1.4$ kat bulunmuştur. Bu sonuçlara göre elma bahçelerinden toplanan *Tetranychus urticae* (Koch.) popülasyonları chlorpyrifos'a karşı dirençli fakat propargite ve abamectin'e karşı duyarlı bulunmuştur.

Doğal alkaloid nikotinler gibi tüm neonikotinoidler seçici olarak böceklerin merkezi sinir sistemi üzerinde post sinaptik nikotinik asetilkolin reseptörlerine bağlı agonist olarak (agonistler, hücre reseptörlerine bağlanarak hücrede bir tepki oluşturan bileşiklerdir, genelde doğal olarak bulunan maddelerin davranışlarını taklit ederler) etki ederler. Sonuç olarak bu etki şekli ile neonikotinoidler, diğer insektisit sınıfları ile çapraz direnç oluşturmada için insektisit pazarında piretroitli, karbamatlı, organik fosforlu ve diğer gruplardan olan insektisitlerin yerini daha fazla almaya başlamıştır (Millar ve Denholm, 2007; Jesckhe ve Nauen, 2008; Elbert vd., 2008).

İmidacloprid'in 1991'de keşfinden bu yana neonikotinoidler yeni bir insektisit sınıfı olarak pazara girmiş ve insektisitlerin etki şekillerine göre IRAC tarafından yapılan gruplandırma da 4A grubunda yerini almıştır. Bu grup içinde yer alan aktif maddelerden imidacloprid'in halen dünyada en yaygın olarak kullanıldığını, thiacloprid ve acetamiprid'in arılara toksik olmadığı buna rağmen neonikotinoid sınıfında yer alan diğer insektisitlerin arılara zararlı olduğu bildirilmektedir. 2006 yılında neonikotinoid insektisitler grubunun dünya genelinde yıllık satış rakamının 1.56 milyar dolar olduğunu, toplam insektisit pazarı içindeki payının % 17'yi bulduğunu bildirmişlerdir (Jesckhe ve Nauen, 2008). Neonikotinoidler molekül özelliklerine göre kendi aralarında 1)-N-nitroguanidines (imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin ve dinotefuran), 2)-nitromethylenes (nitenpyram) ve 3)-N-cyano-amidines (acetamiprid ve thiacloprid) olarak 3 gruba ayrılırlar (Elbert vd., 2008).

Jesckhe ve Nauen (2008), son yıllarda neonikotinoid insektisitlerin keşfinin bir dönüm noktası olduğu ve bu grubun pestisit pazarındaki payının devamlı arttığını bunun sebepleri arasında, hedef olmayan organizmalarda ve çevrede düşük riskli olması, belirli türlere özgü kullanım alanının olması, uygulama olanaklarının çeşitliliği, bu önemli sınıfın IPM ve dayanıklılık yönetimi programı stratejileri içinde önemli bir yer sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Neonikotinoidler için ana başarı faktörlerinden biri de bitki içindeki sistematik etki şeklidir. Toprağa ya da tohuma uygulanan insektisit bitki kökleri üzerinden alınarak bitki bünyesine dağıtılır ve böylelikle emgi yapan böceklerde uzun süreli bir kontrol sağlar. Yapraklara uygulanmasının ardından, neonikotinoidler onların iyi translaminar aktivitesi sayesinde yaprağın alt tarafına doğrudan hareket ederek yaprağın içine nüfuz eder. Buna ek olarak odun dokusu içinde (ksilem) de hareket ederek yeni gelişen sürgünlerde böcek zararından korunmuş olur (Elbert vd., 2008).

Mota-Sanchez vd. (2008), yapmış oldukları çalışmada elma içkurdunun azinphos-methyl, lambda-cyhalothrin ve methoxyfenozide gibi geniş spektrumlu insektisitlere direnç geliştirdiğini bildirmişlerdir.

Soleno vd. (2008), Arjantin’de elma içkurdunda organik fosforlu ilaçlardan azinphos methyl’de yaptıkları bir çalışmada tarla popülasyonlarının çoğunda hassas popülasyondan daha yüksek esteraz enzim aktivitesi belirlediklerini bildirmişlerdir. Buna ek olarak tarla popülasyonu ile hassas popülasyon arasında esteraz enzimi ve ölüm arasında yüksek bir ilişki bulmuşlardır. Bunun aksine olarak glutathione S-transferase enzim aktivitesi ile ölüm arasında zayıf bir ilişki belirlemişlerdir. Sonuç itibarıyla esterazların insektisit direncinde temel mekanizmalardan en az biri olduğunu göstermiştir

Çin’in Shandong eyaletinden toplanan *Helicoverpa armigera* (Hübner) popülasyonu, 15 kez seleksiyona tabi tutulmuş bunun sonucunda spinosad’a 20 kattan daha fazla direnç geliştirdiği bildirilmiştir. LD₅₀ düzeyinde spinosad ile chlorpyrifos, methomyl, avermectin ve chlorfenapyr arasında önemli bir çapraz direnç saptanamazken, fenvalerate’de 2.4 kat düşük seviyede çapraz direnç bulunmuştur. Spinosad direnci enzim inhibitörleri kullanıldıktan sonra kısmen (PBO) ve (TPP) tarafından baskı

altına alınmış ancak (DEM)'in herhangi bir etkisi olmamıştır. P-nitroanisol O-demetilazının (ODM) aktivitesinde ebeveyn popülasyonu ile karşılaştırıldığında 8.26 kat artış görülmüş, ancak estera (CarE) ve glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitelerinde belirgin değişiklikler görülmemiştir. Bu sonuçlar, *H. armigera*'da spinosad direncinin sitokrom P450 monooksijenaz enzim aktivitesinin artışı ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (Wang vd., 2009).

Çapraz dayanıklılık IPM'de yer alan zararlı yönetiminde çok ciddi bir problem oluşturmaktadır (Wang vd., 2009).

Kumral vd. (2009), Bursa ili elma bahçelerinden topladıkları *P. ulmi* popülasyonlarında ise chlorpyrifos ve Lambda-cyhalothrin'e karşı 6.0-35.6 ve 0.7 - 5.7 kat direnç ve direncin estera ve GST ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Rodriguez vd. (2010), İspanya'da 11 elma bahçesinden topladıkları elma içkuru popülasyonlarında organik fosforlu ilaçlarda (chlorpyrifos-ethyl, azinphos-methyl, ve phosalone) post diyapoz larvalarda ve erginlerde topikal aplikasyon ile yaptıkları bir çalışmada, sitokrom P450 monooksijenaz (MO), glutatyon transferaz (GST) ve estera (EST) enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışmada tüm tarla popülasyonlarında chlorpyrifos-ethyl'deki etkinlik daha düşük olsa da diğer organik fosforlu ilaçlarda da etkinliğin önemli derecede düştüğü gözlenmiştir. Erginlerde cinsiyetler arasında fark olmadığı belirlenmiştir. Post diyapoz larvalarda, üç enzim aktivitesi tüm tarla popülasyonlarında hassas popülasyondan yüksek bulunmuştur. Avrupa popülasyonlarında elma içkuru dayanıklılığında estera (EST) enzim aktivitesinin sorumlu olduğu ilk kez rapor edilmiştir. Daha önceki çalışmalarda erginlerde sadece MO ve GST enzimlerinin sorumlu olduğu bildirilmektedir.

Elma içkurdunun tarla popülasyonlarında Azinphos methyl ile farklı insektisit sınıfları arasında neonicotinoidler gibi çapraz dayanıklılık olduğu bildirilmektedir (Knight, 2010).

Spinoteram ile selekte edilmiş *Choristoneura rosaceana* (Harris) popülasyonunda sitokrom 450 enzim aktivitesinin arttığı bildirilmektedir (Sial vd., 2010).

Yorulmaz vd. (2010), Isparta ili elma bahçelerinden aldıkları 13 *T. urticae* popülasyonunun propargite ve cyhexatin'e karşı duyarlılık düzeylerini incelemişler, popülasyonların cyhexatin'e karşı göstermiş olduğu direnç oranları 1.24 - 3.36, propargite karşı ise 1.23 - 3.18 kat arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Sürdürülebilir meyve üretimi için başarılı zararlı kontrolü insetisitlerde görülen çapraz direnç yoluyla riske atılabilir. Halen kullanılmakta olan insektisitlere karşı direnç kazandıran mekanizmaların tanımlanması, zararlı kontrol stratejilerinin yeniden düzenlenmesi için temel oluşturur (Sial vd., 2010).

Wang vd. (2010)'da yaptıkları çalışmada *Plutella xylostella* (L.)'da chlorantraniliprole için tarla popülasyonlarında düşük düzeyde (8.9) kat direnç olduğunu bildirmiştir.

Voudouris vd. (2011) Yunanistan'da bulunan elma bahçelerinden topladıkları 71 popülasyonun en az birisinde denemeye aldıkları 9 insektisitten (azinphos-methyl, phosalone, deltamethrin, thiacloprid, fenoxycarb, tebufenozide, methoxyfenozide ve diflubenzuron) birine karşı duyarlılık azalması belirlemişlerdir.

Rodriguez vd. (2011), İspanya'da elma bahçelerinde topladıkları içkurdu popülasyonlarının bazı insektisit gruplarına direnç gösterdiğini ve monooxygenaz enzim aktivitesinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Reyes vd. (2011) *C. pomonella*'nın 1 hassas 2 dirençli popülasyonunu kullanarak direnç mekanizması üzerinde çalışmışlardır. Dirençli popülasyonda MO aktivitesinin arttığı, Carboxylesteraz aktivitesinin ise kullanılan substrata göre değiştiği saptanmıştır. Dirençli popülasyonların birinde AChE aktivitesinde değişiklik gözlenmiş olup, clorpyrifos için Ethyl oxonun 0.7 kat, Azinphos methyl oxon'un 3.2 kat, Para-oxon methyl'in 21.2 kat zararlının hassasiyetinde azalma olduğu belirlenmiştir. DEF 2 dirençli popülasyonda da 7.8 ve 8.2 kat sinerjizm oranı ile yüksek oranda etki göstermiş olup, DEM ve PBO popülasyonlardan birinde hassasiyeti yüksek oranda artırmıştır.

Rynaxypyr ile laboratuvarında seleksiyon yapılmış *C. rosaceana* popülasyonunda seleksiyon yapılmamış popülasyon ile karşılaştırıldığında daha yüksek esterase aktivitesi görülmüştür (Sial vd., 2011).

Undorf-Spahn vd. (2012) CpGV-M biyolojik preparatı ile 1-3 yıl ilaçlanan bahçelerden toplanan elma içkürdü popülasyonlarının CpGV-M'e karşı 20 kattan fazla dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Schmitt vd. (2013) Avrupa'dan değişik ülkelerden topladıkları 35 içkürdü popülasyonun çoğunun biyolojik preparat CpGV-M'e karşı duyarlılık kaybı olduğunu bildirmişlerdir.

Çin'de sebze ve pamukta önemli bir zararlı olan *S. litura*'da farklı gruptan insektisitlere karşı direnç geliştiği bildirilmektedir. Yeni tescil edilen chlorantraniliprole, bu zararlı kontrolü için yeni bir seçenek sunmaktadır. Yapılan biyokimyasal çalışmalarda tarla popülasyonlarının çoğunda hassas popülasyona göre karışık fonksiyonlu oksidaz (MFO) enzim aktivitesinde önemli bir artış görülmüştür. Sadece birkaç popülasyonun GST ve esterase enzim aktiviteleri hassas popülasyondan daha yüksek çıkmıştır. Bu çalışmada chlorantraniliprole toksisitesiyle detoxifikasyon enzim aktiviteleri arasında hiçbir ilişki gözlenmemiş olup, *S. litura*'da görülen toleransda diğer mekanizmaların etkili olabileceği düşünülmektedir (Su vd., 2012).

Yorulmaz ve Ay (2012), Isparta ili elma bahçelerinden topladıkları 8 avcı akar, *Neoseiulus californicus* (McGregor) popülasyonunun spiromesifen, spiroticlofen ve hexythiazox'a karşı duyarlılık düzeylerini incelemişler, popülasyonlarda spiromesifen'e karşı 4.35- 7.61 kat arasında, hexythiazox'a karşı 3.75-8.01 kat arasında ve spiroticlofen'e karşı 5.07-8.60 kat arasında direnç belirlemişlerdir.

Sial vd. (2010), Sial ve Brunner (2012), yaptıkları çalışmalarda *C. rosaceana*'da chlorantraniliprole sadece bir popülasyonda yaklaşık 5 kat dayanıklılık olduğunu bildirmişlerdir.

Arjantin'in Río Negro and Neuquén vadisi en önemli elma ve armut yetiştiriciliği yapılan bölgesidir ve elma içkürdünü kontrol etmek için kullanılan insektisitler arasında azinphosmethyl (AzMe), acetamiprid (Acet), thiacloprid (Thia) ve diğer

insektisitler bulunmaktadır. Çalışmanın amacı elma içkurdunun yeni çıkan larvaları üzerinde bu üç insektisit taksitesinde sitokrom P450 monooxygenase enziminin rolünü belirlemektir. Tüm arazi popülasyonlarında AzMe ve Acet insektisitlerinin ayırıcı dozları önemli derecede düşük ölüm oranı göstermişlerdir. Buna ek olarak 14 popülasyondan 13'ünde Thia insektisinde ayırıcı dozda önemli derecede düşük ölüm oranı belirlenmiştir. Arazi popülasyonlarının çoğu (% 71) laboratuvaradaki hassas popülasyon ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde daha yüksek bir 7-O-deethylase ethoxycoumarine aktivitesi göstermiştir. Ayırıcı doz düzeyinde Thia ile AzMe ölüm oranları arasında önemli ilişki bulunurken, Acet ve Thia ile Acet ve AzMe arasındaki ilişki ise önemli bulunmamıştır. Bununla birlikte Acet ve Thia arasındaki ölüm oranları incelendiğinde, % 95 güven aralığı içinde ethoxycoumarine 7-O-deethylase aktivitesi hassas popülasyona göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum P450 ile ECOD aktivitesi arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Tarla popülasyonlarındaki yumurtadan yeni çıkan larvalarda AzMe, Acet ve Thia insektisitlerinde ölümlerin düşük oranlarda kalması ile yüksek ECOD aktivitesi arasında önemli bir ilişkinin olduğu bildirilmektedir. Bu sonuçlar insektisit seçiminde aynı grup içinde insektisitlerin kullanımının en az seviyeye indirilmesi gerektiğini göstermektedir (Cichon vd., 2013).

Uğurlu Karaağaç vd. (2013), Adana ve Mardin illerinden topladıkları *H. armigera* popülasyonlarında farklı gruplardan oluşan (sentetik piretroit, karbamatlı, oxadiazine ve organik fosforlu) 7 insektisit (lambda-cyhalothrin, esfenvalerate, beta cyfluthrin, bifenthrin, methomyl, indoxacarb, azinphos-methyl) çalışma yapmışlardır. Adana popülasyonunda sentetik piretroitli ilaçlara karşı direnç 6-67 kat arasında değişirken, azinphos-methyl'e karşı direnç 8.6 kat, methomyl'e karşı direnç 0.5 kat olurken, indoxacarb'a karşı direnç 2 kat olarak belirlenmiştir. Mardin popülasyonunda ise, sentetik piretroitli ilaçlara karşı direnç 7.5-62.6 kat arasında değişirken, azinphos-methyl'e karşı direnç 2.96 kat, methomyl'e karşı direnç 0.52 kat olurken, indoxacarb'a karşı direnç 0.45 kat olarak belirlenmiştir.

S. exigua sebzelerde kritik ekonomik kayıplara neden olmaktadır ve genellikle sebzecilik alanlarında ona karşı yoğun bir insektisit kullanımı bulunmaktadır. Ancak, insektisitlerin aşırı ve sık sık kullanımı *S.exigua*'da direnç neden olmaktadır. Zararlının Çin'in farklı bölgelerinden toplanan popülasyonlarında 12 insektisite karşı

direnç durumu araştırılmıştır. Yapılan çalışmada, lambda cyhalothrin'e oldukça yüksek (2925- 3449) kat, chlorpyrifos'a (>1786-) kat, emamectin benzoate (174- 867) kat, metaflumizone (60.3- 942) kat direnç belirlenmiştir. Tebufenozide (51.5- 75.4) kat ve chlorfluazuron'a (60.4- 63.0) kat yüksek oranda direnç bulunmuştur. Sinerjizm çalışmaları, metaflumizon ve lambda cyhalothrin'e karşı oluşan direncin sırasıyla, esterase ve mikrozomal oksidazlar ile ilişkili olduğunu ortaya çıkarmıştır. Emamectin benzoat'a karşı dirençte detoksifikasyon enzim inhibitörleri etkilenmemiş olup bunun başka mekanizmalarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Tarla popülasyonları laboratuvarında 10 jenerasyon metaflumizone ile seleksiyona tabi tutulmuş ve 6.1 kat direnç gelişmiştir. Ancak diğer insektisitlerde direnç artışı görülmemiştir. Metaflumizon seleksiyonundan sonra spinosad'a ve endosulfana duyarlılıkları değişmemekle birlikte indoxacarb, methomyl, pyridalyl, tebufenozide, chlorfluazuron, emamectin benzoate ve lambda cyhalothrin için duyarlılıkları biraz azalmıştır. Ancak seleksiyon yapılmış popülasyonla seleksiyon yapılmamış popülasyon arasında direnç seviyesi yönünden önemli bir istatistiksel fark oluşmamıştır. Sinerjistik çalışmaları, esterase ve çok fonksiyonlu oksidazların (MFO) metaflumizon ve lambda cyhalothrin detoksifikasyonunda sınırlı bir role sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu durumun diğer mekanizmalardan örneğin hedef yeri duyarsızlığı ile bağlantılı olduğu söylenebilir (Su ve Sun, 2014).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmanın materyalini Isparta ilindeki elma bahçelerinden toplanan *Cydia pomonella* popülasyonları ile hassas popülasyon, popülasyonların yetiştirilmesinde kullanılan suni yem, bal, farklı boyutlarda plastik kaplar, pamuk, şeffaf naylon, oluklu mukavva kartonlar, insektisit etkili ilaçlar ve sinerjistler oluşturmaktadır. Suni yem (Codling Moth Diet), Soutland Products Inc. Şirket'inden (ABD) temin edilerek kullanılmıştır (Şekil 3.1)



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan elma içkurdu suni yemi

Biyoassay çalışmaları sırasında; 6 cm çaplı plastik petripler, suni yem hazırlamak için mixer, ince uçlu fırçalar, 50 ve 100 ml'lik cam şişeler, 50 ve 100 ml'lik ölçü silindirleri, ilaç konsantrasyonlarını hazırlamak için saf su ve farklı hacimlere sahip mikropipetler kullanılmıştır.

Biyokimyasal çalışmalarda ise, vertikal elektroforez seti (BIO-RAD), microplate reader (Molecular devices, Versamax), florimetrik plaka okuyucu (Molecular devices, Spectramax), hassas terazi, manyetik karıştırıcı, tek ve çok kanallı mikropipetler, farklı devirlerde çalışan soğutmalı santrifüj (Hettich UNIVERSAL 32R), pH metre, buz makinesi (Scotsman AF 100), -80 °C derin dondurucu, değişik cam ve plastik malzemeler gibi materyaller kullanılmıştır.

3.1.1. *Cydia pomonella* popülasyonları

Çalışmalar; Isparta (Isparta Merkez), Gelendost, Senirkent, Yalvaç, Eğirdir (Tepeli Köyü), Eğirdir (Serpil Köyü) elma bahçelerinden toplanan 6 farklı popülasyon ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2). Hassas popülasyon Fransa'daki INRA (Institute National Research Agriculture) Araştırma Enstitüsü'nden getirilmiştir. Yıllara göre popülasyonların yetiştirilmesi ve çalışmaların yapılması ise şöyle olmuştur; 2011 yılında Hassas popülasyon ve Isparta, 2012 yılında Senirkent ve Gelendost popülasyonları, 2013 yılında Tepeli, Serpil ve Yalvaç popülasyonlarında çalışmalar tamamlanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. *Cydia pomonella* popülasyonlarının toplandığı yer, tarih ve konukçu bitki

Popülasyonun toplandığı yer	Tarih	Bitki
Hassas	Ağustos 2011	INRA (Fransa)
Isparta	Temmuz 2011	Elma
Senirkent	Temmuz 2012	Elma
Gelendost	Temmuz 2012	Elma
Tepeli (Eğirdir)	Temmuz 2013	Elma
Serpil (Eğirdir)	Temmuz 2013	Elma
Yalvaç	Temmuz 2013	Elma



Şekil 3.2. *Cydia pomonella* popülasyonlarının toplandığı ilçeler

3.1.2. İnsektisitlerin seçimi

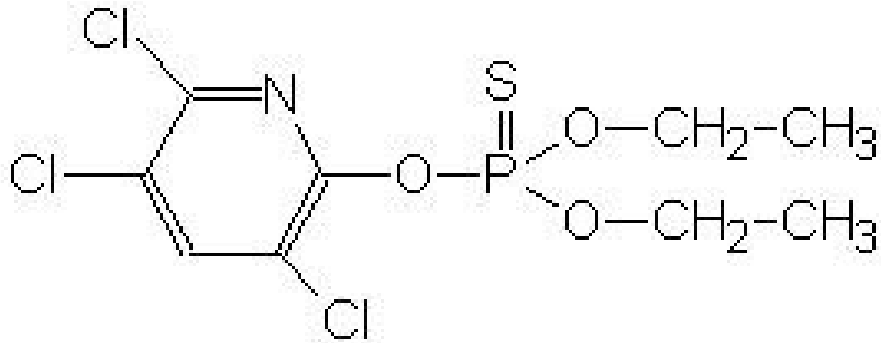
Çalışmada; chlorpyrifos ethyl (Dursban 4 EC 480 g/l), chlorantraniliprol (Coragen 20 SC 200g/l), diflubenzuron (Dimilin SC 480 g/l) ve thiacloprid (Calypso OD 240 g/l) etkili maddeye sahip ilaçlar kullanılmıştır (Şekil 3.3). Denemede kullanılan ilaçlar, üreticilerle ve tarım ilaçları bayileri ile görüşülerek, kullanım yoğunluğu dikkate alınarak belirlenmiştir.



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan ilaçlar

Chlorpyrifos-ethyl ($C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$)

Kimyasal adı *O,O*-diethyl *O*-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate olan chlorpyrifos organik fosforlu insektisitler içerisinde yer almaktadır (Yu, 2008). Etkili madde beyaz renkli ve kristal halindedir. İnsektisitler içinde organik fosforlular grubu içinde yer almaktadır. Moleküler ağırlığı 350.6 g/mol'dür. Kontakt, mide zehiri ve gaz etkili bir insektisittir. Penetrasyon yeteneği iyidir. Toprakaltı zararlılarına ve çok sayıda toprak üstü zararlısı böceklere karşı önerilmektedir. Bal arılarına ve balıklara çok zehirlidir (Öncüler, 2004; Öncüler ve Durmuşoğlu, 2008; Anonim, 2002). Organik fosforlu insektisitler, asetilkolinesteraz enzimini engelleyerek etki göstermektedirler (Uğurlu, 2001; Çakır ve Yamanel, 2005; Öncüler ve Durmuşoğlu, 2008). Kullanılan chlorpyrifos etkili maddeye sahip ticari insektisit ismi Dursban 4 EC 480 g/l' dir. Chlorpyrifos'un kimyasal yapısı Şekil 3.4'de, ekotoksikolojik özellikleri Çizelge 3.2' de verilmiştir.



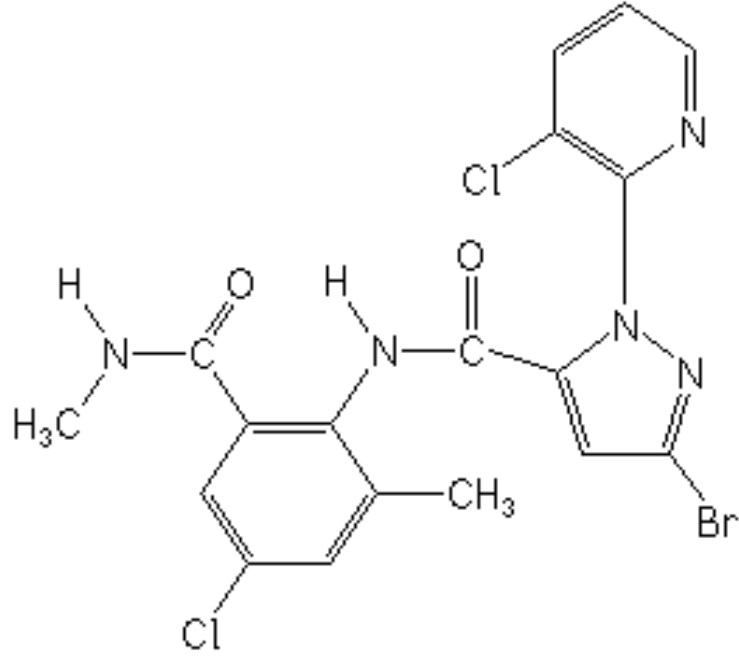
Şekil 3.4. Chlorpyrifos ethyl'in kimyasal yapısı (Anonymous, 2014 b)

Çizelge 3.2. Chlorpyrifos'un ekotoksikolojik özellikleri (Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008)

Parametre	Değer
Akut oral LD ₅₀ (mg/kg)	>300
Dermal LD ₅₀ (mg/kg)	>4768
Solunum LC ₅₀ (mg/kg)	>2.86
Balıklara LC ₅₀ (mg/l)	0.15
Kuşlara LD ₅₀ (mg/kg)	83
Arılara LD ₅₀ (µg/arı)	0.22
Solucan LD ₅₀ (mg/kg)	313
ADI (mg/kg)	0.01
Zehirlilik sınıfı (WHO)	II

Chlorantraniliprol (C₁₈H₁₄BrCl₂N₅O₂)

Kimyasal adı 3-bromo-4'-chloro-1- (3-chloro-2-pyridyl)-2'-methyl-6'-(methylcarbamoyl) pyrazole-5-carboxanilide olan chlorantraniliprol anthranilic diamide grubu insektisitler içinde yer almaktadır (EPA, 2008; Yu, 2008). Moleküler ağırlığı 483.15 g/mol'dür. Etkili madde berrak kristal toz halindedir. Zararlının sinir sisteminde ryanodine reseptörlerini güçlü ve seçici bir şekilde aktive ederek bu kanalların daha uzun süre açık kalmasına sebep olur. Kontrol edilmeyen serbest kalsiyum iyonları kalsiyum deposunu tüketmesine neden olarak ilaca maruz kalmış böceklerde beslenmenin durması, uyuşukluk, kas paralizi ile ölüm gerçekleşir. Balıklara, memelilere ve kuşlara toksisitesi düşüktür. Elma içkurdu, yeşil kurt, pamuk yaprak kurdu, patates böceği, şeftali güvesi mücadelesinde kullanılmaktadır (Anonymous, 2014 c; EPA, 2008). Kullanılan chlorantraniliprol etkili maddeye sahip ticari insektisit ismi Coragen 20 SC 200g/l' dir. Chlorantraniliprol'un kimyasal yapısı Şekil 3.5'de, ekotoksikolojik özellikleri Çizelge 3.3'de verilmiştir.



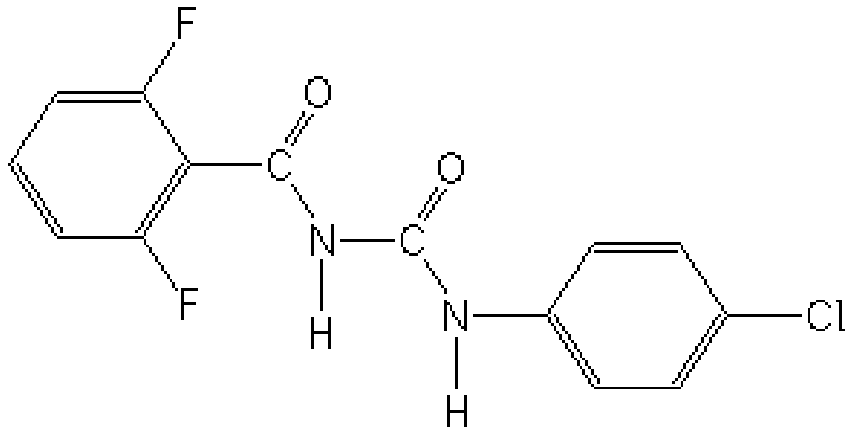
Şekil 3.5. Chlorantraniliprol kimyasal yapısı (EPA, 2008)

Çizelge 3.3. Chlorantraniliprol'ün ekotoksikolojik özellikleri (Anonymous, 2014 c; EPA, 2008)

Parametre	Değer
Akut oral LD ₅₀ (mg/kg)	>5000
Dermal LD ₅₀ (mg/kg)	>5000
Solunum LC ₅₀ (mg/kg)	>5.1
Balıklara LC ₅₀ (mg/l)	>13.8
Kuşlara LD ₅₀ (mg/kg)	>5620
Arılara LD ₅₀ (µg/arı)	4
Solucan LD ₅₀ (mg/kg)	1000
ADI (mg/kg)	0-2
Zehirlilik sınıfı (WHO)	IV

Diflubenzuron (C₁₄H₉ClF₂N₂O₂)

Kimyasal adı 1-(4-Chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea olan diflubenzuron IGR (böcek gelişim düzenleyici) insektisit grubu içinde yer almaktadır (Yu, 2008). Etkili madde beyaz renkli ve kristal halde olup, moleküler ağırlığı 310.68 g/mol'dür. Kontakt ve mide zehiri etkili bir insektisittir. Kitin sentezini etkileyerek etkili olmakta ve meyvelerde; elma içkurdu, armut pislidi, orman ağaçlarında çam kese tırtılı, zeytinde zeytin güvesi, fındıkta amerikan beyaz kelebeği mücadelesinde kullanılmaktadır. Arılara ve predatör böceklerle zehirli olmayıp, balıklara zehirlidir (Öncüler, 2004; Öncüler ve Durmuşoğlu, 2008; Anonim, 2002). Kullanılan diflubenzuron etkili maddeye sahip ticari insektisit ismi Dimilin SC 480 g/l'dir. Diflubenzuron'un kimyasal yapısı Şekil 3.6'da, ekotoksikolojik özellikleri Çizelge 3.4'de verilmiştir.



Şekil 3.6. Diflubenzuron'un kimyasal yapısı (Anonymous, 2014 d)

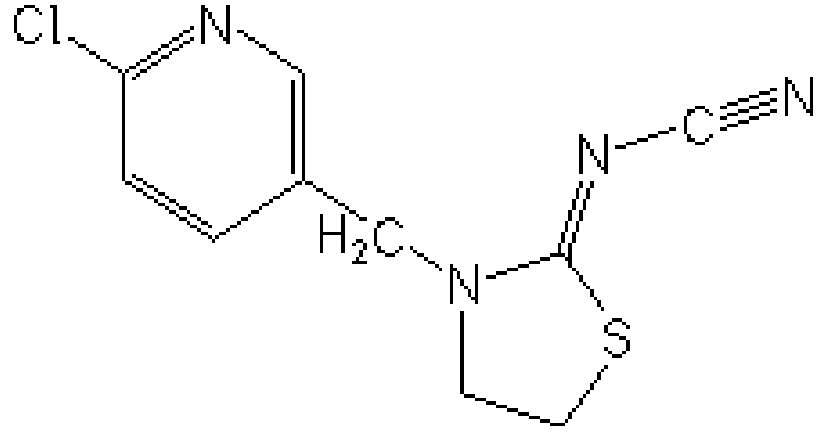
Çizelge 3.4. Diflubenzuron'un ekotoksikolojik özellikleri (Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008)

Parametre	Değer
Akut oral LD ₅₀ (mg/kg)	4640
Dermal LD ₅₀ (mg/kg)	2000
Solunum LC ₅₀ (mg/kg)	2.88
Balıklara LC ₅₀ (mg/l)	0.13
Kuşlara LD ₅₀ (mg/kg)	1206
Arılara LD ₅₀ (µg/arı)	25
Solucan LD ₅₀ (mg/kg)	500
ADI (mg/kg)	0.02
Zehirlilik sınıfı (WHO)	III

Thiacloprid (C₁₀H₉ClN₄S)

Kimyasal adı (Z)-3- (6-Chloro-3-pyridylmethyl)-1,3-thiazolidin-2-ylidenecyanamide olan thiacloprid neonikotinoid insektisit grubu içinde yer almaktadır (Yu, 2008). Etkili madde beyaz renkli ve toz halde olup, moleküler ağırlığı 252.72 g/mol'dür. Kontakt, mide zehiri ve sistemik etkili insektisittir. Meyvelerde yaprak bitleri ve pisillidlere, domateste yaprak bitine karşı etkilidir (Öncüer, 2004; Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008; Anonim, 2002). Neonikotinoidler grubunda yer alan bu etkili madde, böceğin merkezi sinir sisteminde ACh (Asetilkolin) gibi davranarak nikotinik ACh reseptörlerine bağlanmaktadır (Millar ve Denholm, 2007; Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008; Jeschke ve Nauen, 2008; Elbert vd., 2008). Kullanılan thiacloprid etkili maddeye sahip ticari insektisit ismi Calypso OD 240 g/l' dir. Bu etkili madde Neonikotinoidlerin molekül özelliklerine göre kendi aralarında yapılan sınıflandırmasında N-cyano-amidines grubu içinde yer almaktadır (Elbert vd., 2008).

Thiacloprid'in kimyasal yapısı Şekil 3.7'de, ekotoksikolojik özellikleri Çizelge 3.5'de verilmiştir.



Şekil 3.7. Thiacloprid'in kimyasal yapısı (Millar ve Denholm, 2007; Elbert vd., 2008)

Çizelge 3.5. Thiacloprid'in ekotoksikolojik özellikleri (Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008)

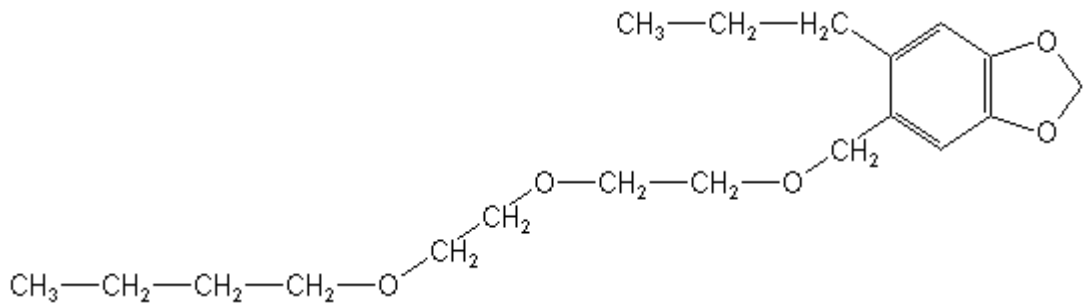
Parametre	Değer
Akut oral LD ₅₀ (mg/kg)	444
Dermal LD ₅₀ (mg/kg)	2000
Solunum LC ₅₀ (mg/kg)	2.54
Balıklara LC ₅₀ (mg/l)	30.2
Kuşlara LD ₅₀ (mg/kg)	49
Arılara LD ₅₀ (µg/arı)	17.32
Solucan LD ₅₀ (mg/kg)	105
ADI (mg/kg)	0.01
Zehirlilik sınıfı	III

3.1.3. Sinerjistler

Çalışmada 3 sinerjist; piperonyl butoxide (PBO), S,S,S, tributyl phosphorotrithioate, (DEF) ve diethyl maleate (DEM) insektisit direncinde, metabolizmada enzimlerin bir rolü olup olmadığını belirlemek için kullanılmıştır. Bu sinerjistler ile ilgili özellikler aşağıda verilmiştir.

Piperonyl butoxide (PBO) (C₁₉H₃₀O₅)

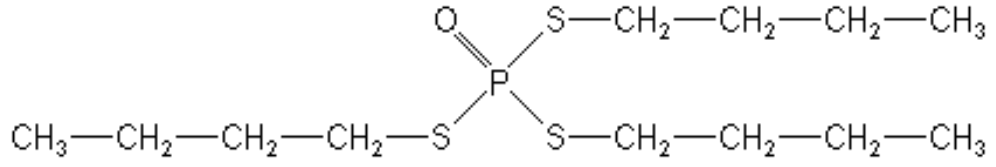
Etkili madde renksiz ve sıvı haldedir. Sentetik piretroitler ve karbamatlılar için sinerjistir. LD₅₀: ağızdan 7500 mg/kg olup kansorejen etkisi yoktur (Öncüler, 2004). PBO esteraz ve monooxygenaz enzim grubu içerisinde yer alan P-450 Cytochrome ve esteraz inhibitörüdür (Yorulmaz, 2008). Kimyasal yapısı Şekil 3.8’de verilmiştir.



Şekil 3.8. PBO sinerjisinin kimyasal yapısı (Anonymous, 2014 e)

S,S,S, tributyl phosphorotrithioate (DEF) (C₁₂H₂₇OPS₃)

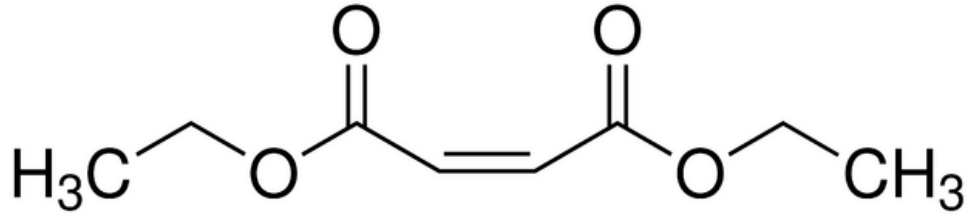
Etkili madde renksiz ve sıvı haldedir. Moleküler ağırlığı 314.5 g/mol'dür (Anonymous, 2004). Karboksilesteraz enzim inhibitörüdür (van Leeuwen ve Tirry 2007). Kimyasal yapısı Şekil 3.9'da verilmiştir.



Şekil 3.9. DEF sinerjistin kimyasal yapısı (Anonymous, 2014 f)

Diethyl maleate (DEM)(C₂H₅OCOCH)

Moleküler ağırlığı 172.18g/mol'dür. Saydam ve sıvı haldedir (Anonymous, 2014 g). GST enziminin inhibitörüdür (van Leeuwen vd., 2004). Kimyasal yapısı Şekil 3.10' da verilmiştir.



Şekil 3.10. DEM sinerjistin kimyasal yapısı (Anonymous, 2014 g).

3.2. Yöntem

3.2.1. *Cydia pomonella* populasyonlarının toplanması ve yetiştirilmesi

Elma içkurdunun yetiştirilmesi amacıyla Mayıs ayının 20'sinden itibaren Haziran ayının ilk haftasında ağaçların gövdesine yerden 40-50 cm yüksekliğe, 110-120 cm uzunluğunda ve çift kat olarak (oluklu kısımları birbirine bakacak şekilde) oluklu mukavvalar bağlanmıştır (Şekil 3.11). Oluklu mukavvaların asıldığı bahçe sahibi yetiştiriciler ile birebir görüşülmüş ve proje hakkında bilgilendirme yapılmıştır. Çalışma süresince 3 yıl içinde toplam olarak yaklaşık 6000 elma ağacının gövdesine oluklu mukavvalar bağlanmıştır.



Şekil 3.11. Ağaçlara oluklu mukavvaların bağlanması

Bu oluklu mukavvalar ağaçlardan 2. döl erginleri çıkmadan önce toplanıp, kontrol edilerek kartonların oluklu kısımlarına pupa olmak üzere giren olgunlaşmış larvalar, plastik kutulara konulmuştur (Şekil 3.12). Oluklu mukavvaların deliklerine girmeyerek ağaçların kabukları arasındaki oyuklara giren pupa veya larvalar da alınmıştır (Şekil 3.13).



Şekil 3.12. Oluklu mukavvaların kesilerek plastik kutulara konulması



Şekil 3.13. Ağaç kabuğundaki larva ve pupaların alınması

Pupalardan çıkan erginlerin yumurta bırakması amacıyla, alt kısımlarına yumurtlamalarını sağlamak için şeffaf ince naylonlarla birlikte konulmuştur. Kafesin içine bir fitile pamuk kalınca sarılarak ve % 10' luk şekerli suyla emdirilerek erginler beslenmiştir. Yine bir petri kutusuna (90 mm) pamuk konulup su ile emdirilerek bu petri kafesin tabanına erginlerin su ihtiyacını karşılamak üzere konulmuştur (Dunley ve Welter, 2000; Sanchez vd., 2008) (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. *Cydia pomonella* ergin beslenme kutuları

Her 5 günde bir yeni ergin kutuları hazırlanıp erginler bu kutulara aktarılmıştır (Şekil 3.15). Eski kutularda şeffaf naylonlara bırakılan yumurtalar ise naylonların altına havlu kağıtlar konulup nemlendirilerek (Şekil 3.16) ortamın nemli olması sağlanarak açılan yumurtalardan çıkan birinci dönem larvalar 60 mm' lik petrilere hazırlanan suni yemlere günlük olarak aktarılmıştır (Şekil 3.17).

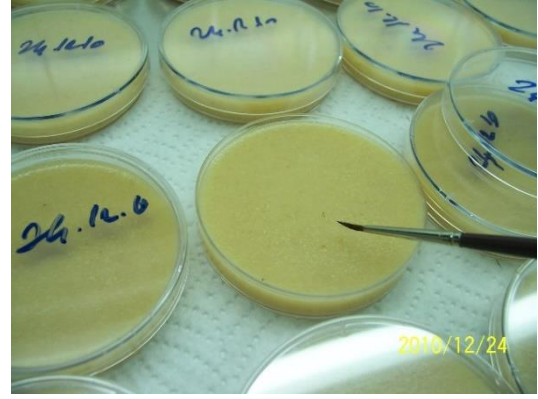


Şekil 3.15. Beş gün sonra yeni kutulara aktarılmış *Cydia pomonella* erginleri



Şekil 3.16. Yumurta bırakılan şeffaf naylonların altındaki nemlendirilmiş havlu kağıtlar

Suni yemin hazırlanışı; 162 gr yem, 930 ml saf su ile karıştırılarak hazırlanmıştır. Su kaynatılıp, mixerle 2-3 dakika karıştırılıp, hızlıca donmadan petrilere dökülmüştür. Katılaşması için yarım saat petrilere kapağı açık bırakılmıştır (Şekil 3.18). Larvalar 5. larva dönemine gelinceye kadar (genellikle 14-15 gün) beslenmiştir.



Şekil 3.17. Larvaların yemlere aktarılması



Şekil 3.18. Suni yemin hazırlanması

Tüm popülasyonlarda ergin ve larvalarda aynı üretim prosedürü uygulanmış olup, 25 ± 1 °C'de ve $\% 60 \pm 5$ nispi nemde, 16:8 aydınlık: karanlık şartlar altında elma içkurdu üretimi gerçekleştirilmiştir (Reuveny ve Cohen, 2007; Stara ve Kocourek, 2007) (Şekil 3.19).



Şekil 3.19. Elma içkurdu popülasyonlarının üretildiği iklim odaları

3.2.2. Biyoassay alışmalar

3.2.2.1. Elma içkurduna insektisitlerin uygulanması

Cydia pomonella'ya thiacloprid, chlorpyrifos, chlorantraniliprol ve diflubenzuron ilaçlarının ve bu ilaçlar ile sinerjistlerin uygulanmasında Sauphanor vd. (1997)'den alınan metod uyarlanarak kullanılmıştır. Buna göre *C. pomonella* popülasyonlarının thiacloprid, chlorpyrifos, chlorantraniliprol ve diflubenzuron ilaçlarına karşı LD₅₀ değerleri topikal uygulama ile belirlenmiştir. Bunun için öncelikle ilaçlar saf su ile seyreltilerek farklı dozlarda konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Denemeler 1 kontrol + 6 doz, 5 tekerrür olacak şekilde kurulmuştur. Her doz da 25 larva kullanılmıştır. Thiacloprid, chlorpyrifos, chlorantraniliprol ile hazırlanan ilaç konsantrasyonları 5. dönem larvaların, diflubenzuron ile hazırlanan ilaç konsantrasyonları ise 4. dönem larvaların thorax dorsalinin ortasına mikropipet ile 1l olarak uygulanmıştır. Kontrole sadece saf su uygulanmıştır (şekil 3.20).



şekil 3.20. *Cydia pomonella* larvalarına topikal yöntem ile insektisitlerin uygulanması

Thiacloprid, chlorpyrifos, chlorantraniliprol uygulanmış larvalar petri kaplarında bulunan yapay besi ortamına beşerli gruplar halinde aktarılmış ve 72 saat sonra ölü canlı bireyler sayılmıştır. Diflubenzuron uygulanmış larvalarda aynı şekilde besi ortamına beşerli gruplar halinde aktarılmış ve 14. gün değerlendirilmiştir. Elde edilen ölüm oranları % 10 ve % 90 arasında normal bir dağılım gösterene kadar denemeler tekrarlanmıştır. Elde edilen verilerden yararlanarak hassas popülasyonun LD₅₀ değerleri POLO bilgisayar paket programında (LeOra Software, 1994) hesaplanmıştır. Direnç oranları, tarla popülasyonlarının LD₅₀ değerlerinin, hassas popülasyonun LD₅₀ değerine oranlanması ile belirlenmiştir. Direnç oranları Koh vd. (2009)'a göre sınıflandırılmıştır: düşük oranda direnç $RR \leq 10$, orta düzeyde direnç $10 < RR \leq 40$, yüksek oranda direnç $40 < RR \leq 160$, çok yüksek dirençli $160 < RR$.

3.2.2.2. Elma içkurduna sinerjist + insektisit uygulanması

Çalışmada 3 sinerjist; piperonyl butoxide (PBO), S,S,S, tributyl phosphorotrithioate, (DEF) ve diethyl maleate (DEM) insektisit direncinde, metabolizmada enzimlerin bir rolü olup olmadığını belirlemek için kullanılmıştır. Sinerjistlerden monooxygenaz enzim inhibitörü olan PBO (2000 µl/l) (van Leeuwen vd., 2004; Wang vd., 2009), GST enzim inhibitörü olan DEM (1000 µl/l) (van Leeuwen vd., 2004; Wang vd., 2009), esterase enzim inhibitörü olan DEF (1000 µl/l) (van Leeuwen ve Tirry, 2007; Wang vd., 2009) hazırlanarak kullanılmıştır. Hazırlanan sinerjist çözeltileri mikropipet ile ilaç uygulamalarından 1 saat önce 5. dönem larvalarının thorax dorsaline PBO 2 µl, DEF 1 µl, ve DEM 1 µl olacak şekilde uygulanmıştır. Sinerjistler aseton içerisinde çözülmüştür. Sinerjistlerin uygulanmasından 1 saat sonra hazırlanan ilaç konsantrasyonları daha önce açıklanan ilaç uygulama yöntemlerine göre uygulanmıştır. İlaç denemeleri 1 kontrol + 6 doz 5 tekrür olacak şekilde kurulmuştur. Kontrole ise sadece sinerjist uygulanmıştır. Ölü canlı değerlendirmesi 72 saat sonra yapılmıştır. Tarla popülasyonunda direnç 5 katın altında olduğunda sinejist uygulaması yapılmamıştır. Sinerjistik etki oranı= Sinerjistsiz LD₅₀ / Sinerjistli LD₅₀ formülü ile hesaplanmıştır (Kim vd., 2004).

3.2.3. Biyokimyasal çalışmalar

3.2.3.1. *Cydia pomonella*'nın poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) ile esteraz enziminin belirlenmesi

Esteraz enzimi bant haritasını belirlemek için “mini vertical nondenaturing poliakrilamide gel electrophoresis” yöntemi kullanılmıştır. Elektroforez çalışmalarında elma içkurdu için Gunning vd. (1999) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Elektroforez işleminde farklı yoğunlukta iki poliakrilamid jel kullanılmıştır. Jel dökme standı hazırlandıktan sonra % 7.5'lik poliakrilamid jel dökülmüş ve cam plakaların üst kısmında geniş delikli poliakrilamid jeli (% 3.5'lik) dökmek için 2 cm'lik bir boşluk bırakılmıştır. Yaklaşık 30 dk. sonra hazırlanan %3.5'lik poliakrilamid jel Pasteur 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 (Glycine buffer pH 8.3) ile doldurulmuştur. Ependorf tüpler içerisine 5 adet *Cydia pomonella* larvası üzerine 2.500 ml homojenizasyon buffer (%0.1 Triton X-100 içeren % 10 (w/v) lik sucrose) verilerek plastik pestle yardımı ile ezilmiştir.

Jelde oluşan kuyucuklara 10 µl veya 5 µl supernatant eklenmiştir. Elektroforezde koşturma işlemi 150 V de yaklaşık 1.5 saatte tamamlanmıştır. Bu sürenin sonunda 0.2 M fosfat buffer (pH 6.5 ve % 1 aseton içermektedir) ile % 0.02 lik α -naphthyl asetat solüsyonu hazırlanmıştır. Daha sonra % 0.02'lik α -naphthyl asetat solüsyonu ile % 0.4 oranında Fast blue BB salt boya solüsyonu hazırlanarak, jel bu çözeltide 1 saat boyanmıştır. Boyama işlemi bittikten sonra jel % 7'lik asetik asit içine alınmış ve 24 saat sonra densiometrede fotoğrafı çekilmiştir.

3.2.3.2. *Cydia pomonella*'nın toplam esteraz, P450, GST ve AChE enzimlerinin aktivitesinin belirlenmesi

Enzim okumaları için *Cydia pomonella*'ın enzim preparasyonu

Elma içkurdunun detoksifikasyon enzimlerinin mikrolaka okumasında Qian vd. (2008)'den alınan yöntem uyarlanarak kullanılmıştır. Elma içkurdunun 5. dönemine ait 10 larvası 2 ml homojenasyon buffer (0.1 M sodium phosphate buffer, pH: 7.6 ve 1 mM Editic acid (EDTA), 1 mM 1,4-dithiothreitol (DTT), 1 mM phenylmethyl sulfonylfluoride (PMSF) ve 1 mM phenylthiourea (PTU) içeren) içerisinde homojenize edilmiştir. Önce 15.000 g' de 20 dk. santrifüj yapıldıktan sonra 20.000 g' de 20 dakika daha santrifüj yapılmıştır. Supernatant kısmı alınarak esteraz, GST ve P450 analizi için enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

Toplam esteraz, GST ve P450 enzimlerinin aktivitelerinin fotometrik okunması

Esteraz enzimi aktivitesinin belirlemek için mikrolaka hücrelerinin herbirine 90 µl 0.1 M sodium fosfat buffer (pH: 7.6) ve 200 µl 10 mM 1-naphthyl asetat solüsyonu ve 4 mM fast bluee RR salt konmuştur. Reaksiyon stok solüsyondan 10 µl enzim kaynağı ilave edilerek başlatılmıştır. Enzim okuması 27 °C'de 450 nm 10 dakikada yapılmıştır. Kontrol homojenatsız okunmuştur. Denemeler 3-4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

GST'nin mikrolaka reader belirlenmesinde substrat olarak hem 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) hemde 1,2-dichloro-4-nitrobenzene (DCNB) kullanılmıştır. CDNB aktivitesini belirlemede mikrolakanın herbir hücresine stok solüsyondan 10 µl enzim kaynağı, 90 µl Tris HCL buffer (0.05M, pH: 7.5), 100 µl, 1.2 mM CDNB ve 100 µl, 6 mM glutathione (GSH) konarak okuma yapılmıştır. DCNB aktivitesini belirlemede stok solüsyondan 100 µl enzim kaynağı, 100 µl 1.2 mM DCNB ve 100 µl, 6 mM GSH konmuş ve okunmuştur. GST'nin okunması mikrolaka reader de 27 °C ve 340 nm'de 10 dakika okunmuştur. Kontrol homojenatsız okunmuştur. Denemeler 3-4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

Sitokrom P450 monooksijenaz enziminin belirlenmesinde substrat olarak *p*-nitroanisol (PNOD) kullanılmıştır. Bu enzimin belirlenmesinde Qian vd. (2008) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. PNOD (*p*-nitroanisol) denemesi için mikropalkanın her kuyucuğuna 90 µL enzim kaynağı + 100 µL 2mM *p*-nitroanisol eklenerek karışım 27 °C’de 5 dk. inkübe edilmiştir. Reaksiyon 10 µL 9.6 mM NADPH eklenerek başlatılmıştır. Kontrol hücreleri ise homojenatsız olarak okunmuştur. Enzim aktivitesi 405 nm’de 10 dk 25 sn aralıklarla okunmuştur. P450 enzim okumaları en az üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

Enzim okumaları en az üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Toplam protein miktarının belirlenmesinde Bradford (1976) yöntemi kullanılmıştır.

***Cydia pomonella*’da asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesinin fotometrik olarak belirlenmesi**

Asetilkolinesteraz belirlenmesinde Stumpf vd. (2001) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. *C. pomonella*’nın 10 adet 5. dönem larvası eppendorf tüp içinde bulunan % 0.1 Triton X-100 içeren 0.1 M fosfat buffer (2 ml, pH:7.5) içinde plastik pestle ile homojenize edilmiştir. Buz içinde 25 dakika dokuların çözülmesi beklendikten sonra, homojenat 4 °C de 11.000 rpm’de, 25 dakika santrifüj edilerek elde edilen supernant enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. AChE aktivitesini ölçmek için mikropalka hücrelerine 100 µl Acetylcholine iodide (ATChI), 100 µl 5.5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) ve 50 µl fosfat buffer içinde 50 µl enzim solüsyonu konulmuştur. 300 µl’lik final konsantrasyonunda herbir maddenin miktarı 0.5 mM olmuştur. AChE aktivitesi mikropalka okuyucuda 23 °C ve 405 nm’ de 20 dakika okunmuştur. Kontrol hücreleri ise homojenatsız olarak okunmuştur. AChE enzim okumaları en az üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Toplam protein miktarının belirlenmesinde Bradford (1976) yöntemi kullanılmıştır.

***Cydia pomonella*'da GST enzim aktivitesinin florimetrik olarak belirlenmesi**

GST enzim aktivitesinin florimetrik belirlenmesinde Ioriatti vd. (2007) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Bunun için 5 adet 5. dönem larva ependorf tüpe alınarak 1 ml Hepes Buffer (50 mM, pH: 7) içinde plastik pestille ile ezilerek, 4 °C'de 15.000 g'de 15 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. GST enzim aktivitesini ölçmek için siyah mikroparka hücrelerine 30 µl süpernatant, 168 µl 100 mM GSH (Hepes Buffer içinde), 2 µl 30 mM MCNB (methanol'de çözülmüştür) eklenmiştir. 22 °C'de 20 dk. inkübe edildikten sonra, 380 nm'de excititation ve 450 nm'de emission olarak okunmuştur.

***Cydia pomonella*'da P450 enziminin florimetrik olarak belirlenmesi**

Elma içkurdunun P450 enziminin florimetrik belirlenmesinde elma içkurdu larvaları 3.2.3.2. başlığında belirtildiği gibi homjenize edilmiştir. 0.5 mM 7-etoxy coumarin hazırlamak için, önce 20 mM 7-etoxy coumarin hazırlanır. Bunun için; 1.902 mg 7-etoxy coumarin % 100'lük 500 µl ethanolde çözülür. Daha sonra bu çözeltiden 10 µl alınarak 390 µl 0.1 M sodyum fosfat buffer (pH: 7.8) içine konarak 0.5 mM 7-etoxy coumarin hazırlanır. 9.6 mM NADPH hazırlanması; 4 mg NADPH 500 µl sodyum fosfat buffer (0.1 M, pH: 7.8)'da çözülmüştür. Daha sonra siyah 96 lık plate hücrelerine 80 µl 0.5 mM 7-etoxy coumarin+50 µl homojenat ve 10 µl 9.6 mM NADPH konmuştur. Plate 30 °C de 30 dk santrifüjde 44 g çalkalanarak inkübe edilmiştir. NADP'nin uzaklaştırılması için plate hücrelerine 10 µl 100 mM oxidase glutation ve 13 µl glutation reductase (1.3U) eklenmiş ve 10 dk inkübe edilmiştir. Reaksiyonu durdurmak için 125 µl % 50 acetonitrile (Trizma base buffer içinde (0.05 M, pH: 10)) eklenmiştir. Okumalar endpoint olarak 390 nm exiting 465 nm emissingde okunmuştur. Sonuçlar standart 7-hydroxy coumarin ile standart eğim çizilerek standardize edilmiş ve toplam protein miktarının belirlenmesinde Bradford (1976) yöntemi kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışma 2011-2014 yılları arasında, Meyvecilik Araştırma İstasyonu ile SDÜ, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde yürütülmüştür. Çalışmalar; Isparta (Merkez), Gelendost, Senirkent, Yalvaç, Eğirdir (Tepeli Köyü), Eğirdir (Serpil Köyü) popülasyonları ile karşılaştırma popülasyonu olarak kullanılan Hassas popülasyon (INRA, Institute National Research Agriculture-Fransa) olmak üzere toplam 7 popülasyonda yapılmıştır.

4.1. *Cydia pomonella*'nın Larval Biyoassay Sonuçları

4.1.1. İlaç uygulamaları

Çalışmada elde edilen toksisite test sonuçları etkili madde esas alınarak çizelgeler halinde verilmiştir. Buna göre sırasıyla; chlorpyrifos ethyl (Dursban 4 EC 480 g/l), chlorantraniliprol (Coragen 20 SC 200g/l), diflubenzuron (Dimilin SC 480 g/l) ve thiacloprid (Calypso OD 240 g/l) ilaçlarının sonuçları çizelgeler halinde verilmektedir.

4.1.1.1. *Cydia pomonella*'ya chlorpyrifos ethyl uygulanması sonucu elde edilen biyoassay sonuçları

Cydia pomonella'nın hassas, Isparta (Merkez), Gelendost, Senirkent, Yalvaç, Eğirdir (Tepeli Köyü), Eğirdir (Serpil Köyü) popülasyonlarının chlorpyrifos ethyl, etkili maddeye sahip ilaca karşı göstermiş olduğu LD değerleri ve direnç oranları topikal uygulama ile belirlenmiştir, bulgular Çizelge 4.1' de verilmiştir.

Elma bahçelerinden toplanarak laboratuvar da yetiştirilen Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil, Yalvaç *C. pomonella* popülasyonlarının LD₅₀ değerleri sırasıyla 404.29, 247.34, 218.39, 247.36, 352.77, 279.23 µl/100ml olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1). LD₅₀ değerlerinin hassas popülasyonun LD₅₀ değeri ile karşılaştırılması sonucunda chlorpyrifos ethyl'e karşı Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil, Yalvaç popülasyonlarından sadece Isparta popülasyonunda 1.10 kat direnç belirlenirken, diğer popülasyonlarda direnç oranı 1'den daha küçük olmuştur.

Bahçelerden toplanarak laboratuvar da yetiştirilen Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil, Yalvaç *C. pomonella* popülasyonlarının LD₉₀ değerleri incelendiğinde ise bu değerler sırasıyla 2953.60, 1891.14, 1026.16, 1480.86, 2304.99, 2095.69 µl/100 ml olarak bulunmuştur. LD₉₀ değerlerinin hassas popülasyonun LD₉₀ değeri ile karşılaştırılması sonucunda chlorpyrifos ethyl'e karşı Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil, Yalvaç popülasyonlarının direnç oranları sırasıyla 2.00, 1.28, < 1, 1.00, 1.56, 1.42 kat olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. *Cydia pomonella* populasyonlarında chlorpyrifos ethyl için belirlenen LD değerleri ve direnç oranları

Populasyon	n*	Eğim±se	LD ₅₀ (µl/100 ml) (%95 güven aralığı)	Direnç oranı	LD ₉₀ (µl/100ml) (%95 güven aralığı)	Direnç oranı
Hassas	175	2.13±0.32	367.96 (148.46-636.52)		1469.68 (820.18-6106.89)	
Isparta	200	1.48±0.20	404.29 (284.03-565.93)	1.10	2953.60 (1801.06-6442.63)	2.00
Gelendost	200	1.45±0.22	247.34 (152.17- 363.24)	<1	1891.14 (1159.86-4138.82)	1.28
Senirkent	175	1.90±0.27	218.39 (157.37-291.46)	<1	1026.16 (694.04-1912.27)	<1
Tepeli	200	1.64±0.24	247.36 (157.92-353.69)	<1	1480.86 (955.50-2940.06)	1.00
Serpil	200	1.52±0.24	352.77 (217.33-517.96)	<1	2304.99 (1429.93-4990.84)	1.56
Yalvaç	200	1.46±0.20	279.23 (188.87-391.34)	<1	2095.69 (1299.04-4493.36)	1.42

*n: Denemede kullanılan birey sayısı

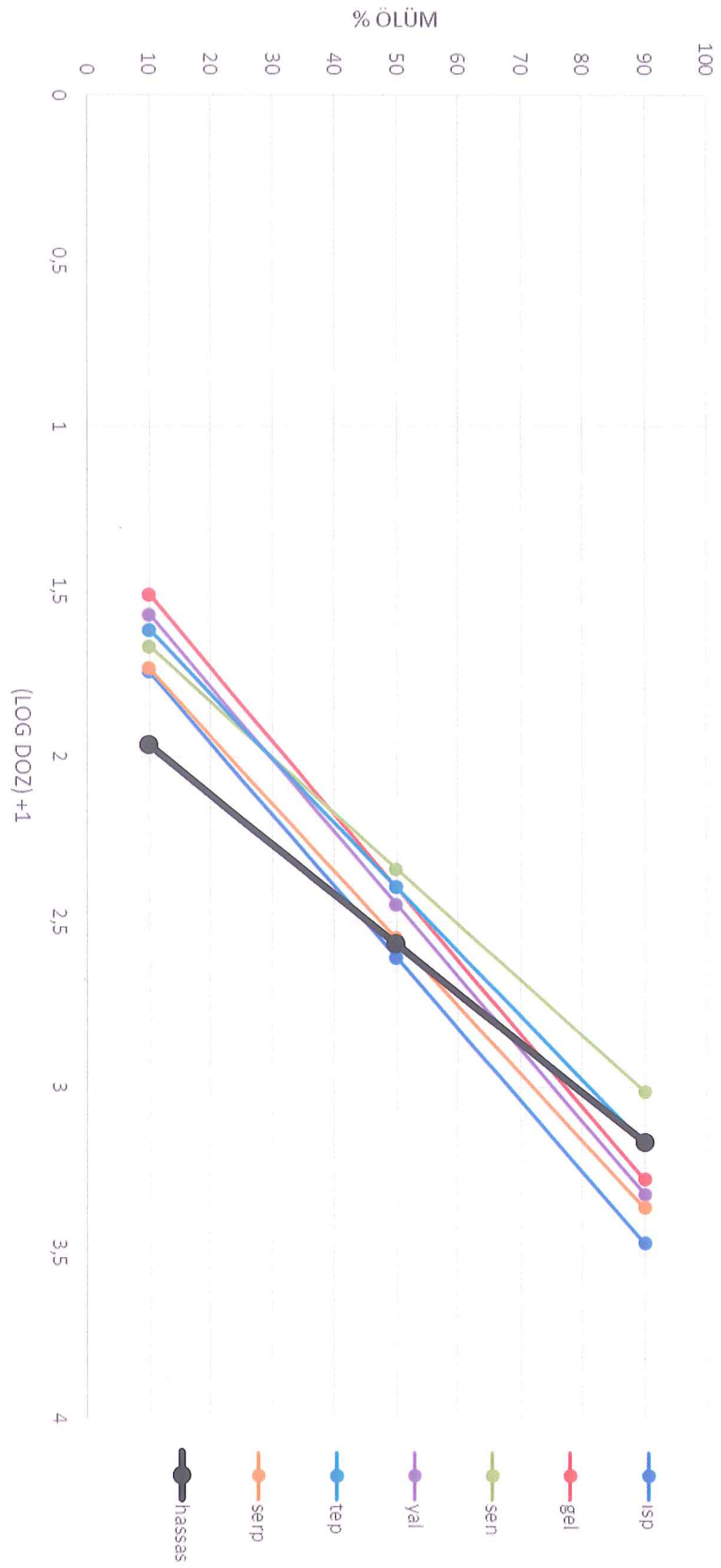
Elma bahçelerinden toplanan 6 farklı *C. pomonella* ve hassas popülasyonun chlorpyrifos ethyl'e ait logaritmik doz-% ölüm eğrisi çizilerek Şekil 4.1'de verilmiştir.

Logaritmik doz-% ölüm eğrisinin eğimi, zehirli maddeye karşı ölümün değişimini göstermektedir (Hoskins 1960). Eğim dik ise, dozdaki hafif bir değişme ölümde büyük bir değişmeye sebep olurken, bu eğimin yatık olması bireyler arasındaki

farklılığın fazla olduğunu, daha fazla ölüm oranı elde edebilmek için yüksek dozlara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (Ay ve Gürkan, 2005).

Eğimdeki belli bir azalma dayanıklılığın görüldüğünün işareti olarak kabul edilmektedir. Seleksiyon devam ettikçe ilk önce eğim azalmakta ve daha sonra popülasyon dayanıklılık bakımından baskın hale geldiğinde eğim tekrar artmaktadır. Popülasyondaki bireylerin duyarlılık yönünden homojen olması durumunda, oldukça dik bir logaritmik doz-probit doğrusu oluşmakta, popülasyonda heterojenliğin artması durumunda ise eğim yatıklaşmaktadır (Velioğlu ve Toros, 2002). Belli bir türün bir ilaca karşı dirençli hale gelmesi, mücadele yapılacak bölgedeki orijinal popülasyonun hassasiyetindeki varyasyon ile geniş ölçüde ilgilidir (Ay ve Gürkan, 2005). Seleksiyon baskısının artması eğimin düşmesi ve grafiğin sağına doğru kayması anlamına gelmektedir.

Probit analizi, kimyasalların herhangi bir organizmaya karşı farklı konsantrasyonlarının etkinliğini (tepkisini) belirlemek için kullanılır. Genelde ilişkiler sigmoiddir. Probit analizi ilişkileri sigmoidden, lineere (çizgisel) dönüştürür. Bu analizlerden belirlenen eğim değerleri popülasyonların heterojenlikleri veya homojenlikleri ile ilgili bilgi vermektedir. Düşük eğim değerleri ($eğim < 1$) popülasyonun heterojen olduğunu, yüksek eğim değerleri ise ($eğim > 2$) popülasyonun homojen olduğunu göstermektedir (Yu, 2008).



Şekil 4.1. Chlorpyrifos etyl uygulanan farklı *Cydia pomonella* popülasyonlarının logaritmik doz-% ölüm eğrileri

Şekil 4.1’de *C. pomonella* popülasyonlarının chlorpyrifos ethyl’e karşı belirlenen logaritmik doz-% ölüm eğrileri verilmiştir. Şekil 4.1’de de görüldüğü gibi doz artışına göre popülasyonların ölüm oranlarındaki artış Hassas popülasyon hariç birbirine yakın olmuştur. Ancak Hassas popülasyonun ölüm oranındaki artış daha hızlı olmuştur. Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi hassas popülasyonun eğimi diğerlerinden daha büyük olmuştur. Şekil 4.1 ve Çizelge 4.1 birlikte incelendiğinde chlorpyrifos’a karşı hassas popülasyon daha homojen bir yapı gösterirken diğerleri hassas popülasyona göre heterojen bir yapı göstermiştir.

4.1.1.2. *Cydia pomonella*’ya chlorantraniliprol uygulanması sonucu elde edilen biyoassay sonuçları

Cydia pomonella’nın hassas, Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil popülasyonlarının chlorantraniliprol, etkili maddeye sahip ilaca karşı göstermiş olduğu LD değerleri ve direnç oranları belirlenmiştir, bulgular Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Elma bahçelerinden toplanarak laboratuvar da yetiştirilen Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil *C. pomonella* popülasyonlarının LD₅₀ değerleri sırasıyla 73.82, 84.31, 47.01, 36.82, 47.57 µl/100 ml olarak bulunmuştur. LD₅₀ değerlerinin hassas popülasyonun LD₅₀değeri ile karşılaştırılması sonucunda chlorantraniliprol’e karşı Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil, popülasyonlarının tamamında direnç oranı 1’den daha küçük olmuştur. Isparta popülasyonunun eğim seviyesinin 2’den büyük olması bu popülasyonların diğer popülasyonlara göre homojen bir yapıda olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.2).

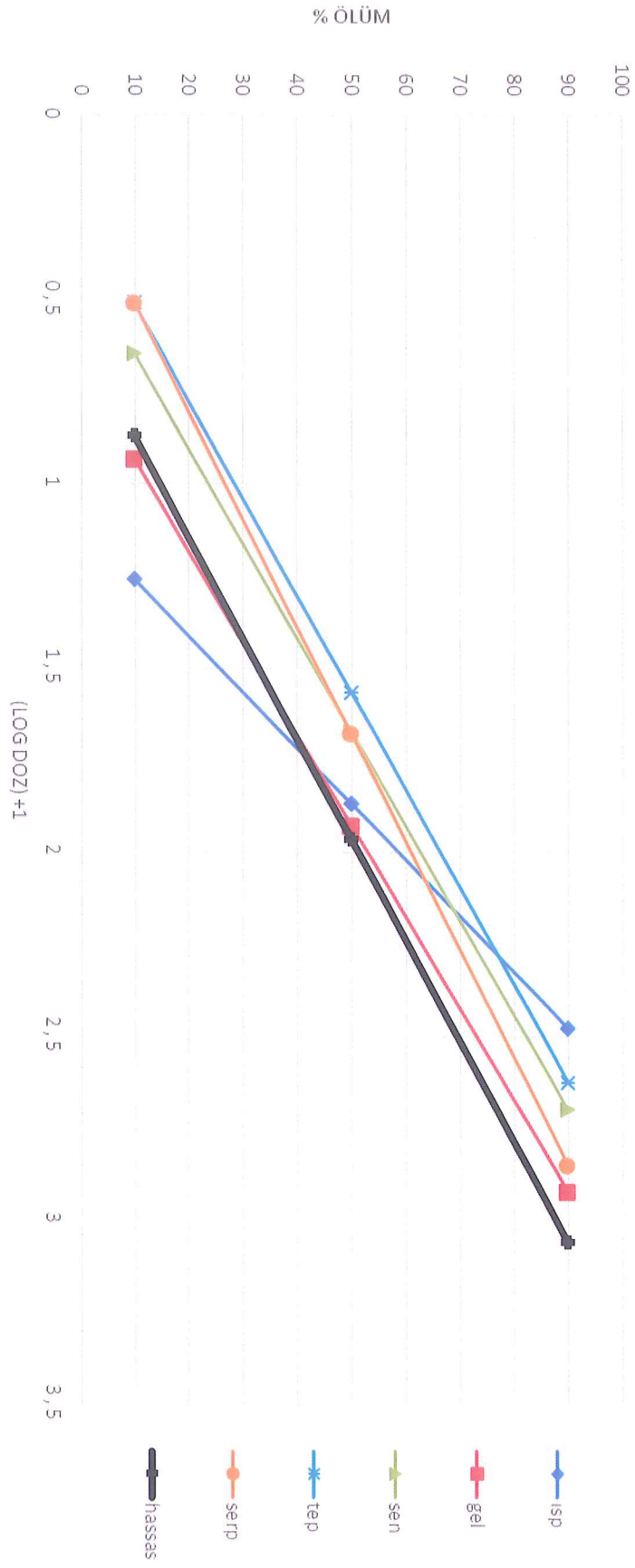
Bahçelerden toplanarak laboratuvar da yetiştirilen Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil *C. pomonella* popülasyonlarının LD₉₀ değerleri ise sırasıyla 300.25, 831.577, 499.45, 420.36, 704.09 µl/100 ml olarak bulunmuştur. LD₉₀ değerlerinin hassas popülasyonun LD₉₀ değeri ile karşılaştırılması sonucunda chlorantraniliprol’e karşı Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil, popülasyonlarının tamamında direnç oranı 1’den daha küçük olmuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. *Cydia pomonella* populasyonlarında chlorantraniliprol için belirlenen LD değerleri ve direnç oranları

Populasyon	n*	Eğim±se	LD ₅₀ (µl/100 ml) (% 95 güven aralığı)	Direnç oranı	LD ₉₀ (µl/100ml) (% 95 güven aralığı)	Direnç oranı
Hassas	225	1.17±0.33	92.17 (39.28-169.22)		1147.44 (446.39-25435.02)	
Isparta	175	2.10±0.33	73.82 (49.65-100.71)	<1	300.25 (207.59-541.50)	<1
Gelendost	225	1.28±0.21	84.31 (48.44-132.315)	<1	831.577 (456.76 -2299.34)	<1
Senirkent	225	1.24±0.17	47.01 (28.71-71.38)	<1	499.45 (284.94-1204.78)	<1
Tepeli	225	1.21±0.16	36.82 (23.88-53.64)	<1	420.36 (242.17-1000.31)	<1
Serpil	225	1.09±0.16	47.57 (26.79-76.37)	<1	704.09 (362.88-2128.17)	<1

*n: Denemede kullanılan birey sayısı

Elma bahçelerinden toplanan 5 farklı *C. pomonella* ve hassas popülasyonun chlorantraniliprol'e ait logaritmik doz-% ölüm eğrisi çizilerek Şekil 4.2'de verilmiştir. Populasyonların chlorantraniliprol'ün doz artışına göre ölüm oranındaki artış Isparta populasyonu hariç birbirine benzer olmuştur. Isparta populasyonunda ise daha hızlı bir artış olmuştur. Bu sonuçlara göre chlorantraniliprol'e karşı Isparta populasyonu homojen bir yapı göstermekte, diğer populasyonlar ise Isparta populasyonuna göre daha heterojen bir yapı göstermektedir (Şekil 4.2 ve Çizelge 4.2).



Şekil 4.2. Chlorantraniliprol uygulanan farklı *Cydia pomonella* popülasyonlarının logaritmik doz-% ölüm eğrileri

4.1.1.3. *Cydia pomonella*'ya diflubenzuron uygulanması sonucu elde edilen biyoassay sonuçları

Cydia pomonella'nın Hassas, Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli popülasyonlarının diflubenzuron etkili maddeye sahip ilaca karşı göstermiş olduğu LD değerleri ve direnç oranları belirlenmiş, bulgular Çizelge 4.3' de verilmiştir.

Elma bahçelerinden toplanarak laboratuvar da yetiştirilen Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli *C. pomonella* popülasyonlarının LD₅₀ değerleri sırasıyla 505.39, 344.96, 500.03, 1020.45 µl/100 ml olarak bulunmuştur. LD₅₀ değerlerinin hassas popülasyonun LD₅₀ değeri ile karşılaştırılması sonucunda diflubenzuron'a karşı direnç oranları Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli popülasyonlarında sırasıyla 2.42, 1.65, 2.39, 4.88 kat olarak belirlenmiştir. En yüksek direnç oranı 4.88 kat olarak Tepeli popülasyonunda en düşük direnç oranı 1.65 kat olarak Gelendost popülasyonunda bulunmuştur. Popülasyonların LD₅₀ değerlerinin güven aralık sınırları hassas popülasyonun güven aralık sınırları içinde bulunmadığı için 4 farklı popülasyonun diflubenzuron'a karşı düşük seviyede dirençli olduğu belirlenmiştir. Populasyonların tümünde eğim seviyeleri 1'den küçük olduğu için popülasyonlar heterojen özellik göstermektedir (Çizelge 4.3).

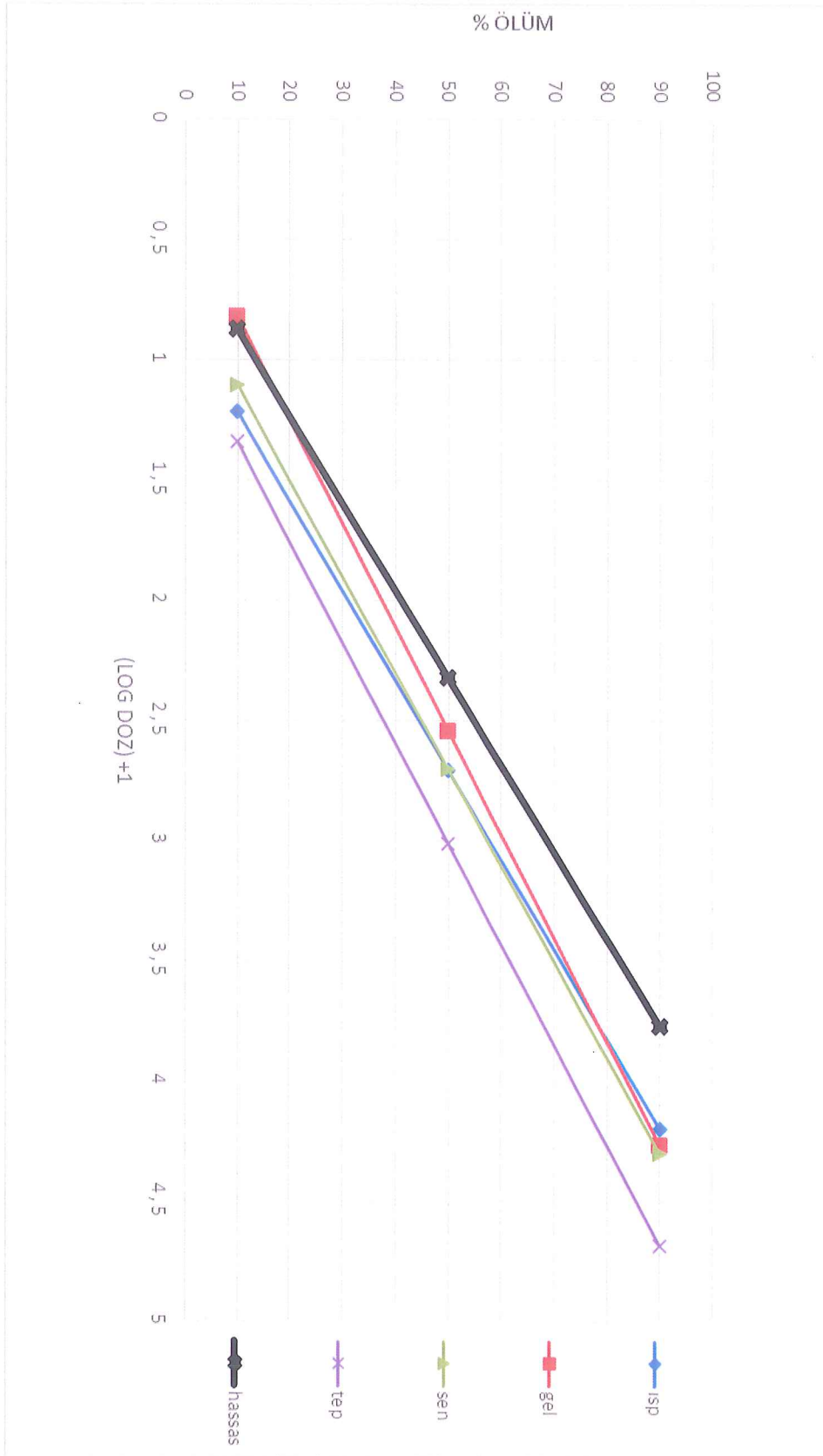
Laboratuvar da yetiştirilen Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli *C. pomonella* popülasyonlarının LD₉₀ değerleri incelendiğinde ise bu değerler sırasıyla 15614.06, 18194.00, 19838.99, 47820.49 µl/100 ml olarak bulunmuştur. LD₉₀ değerlerinin hassas popülasyonun LD₉₀ değeri ile karşılaştırılması sonucunda diflubenzuron'a karşı direnç oranları Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli popülasyonlarında sırasıyla 2.65, 3.09, 3.37, 8.14 kat olarak belirlenmiştir. Böylece en yüksek direnç oranı 8.14 kat olarak Tepeli popülasyonunda en düşük direnç oranı ise 2.65 kat olarak Isparta popülasyonunda bulunmuştur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. *Cydia pomonella* populasyonlarında diflubenzuron için belirlenen LD değerleri ve direnç oranları

Populasyon	n*	Eğim±se	LD ₅₀ (µl/100ml) (%95 güven aralığı)	Direnç oranı	LD ₉₀ (µl/100ml) (%95 güven aralığı)	Direnç oranı
Hassas	225	0.885±0.17	208.91 (85.44-403.64)		5872.44 (2285.47-39353.45)	
Isparta	225	0.860±0.14	505.39 (251.48-841.25)	2.42	15614.06 (6933.76-70337.12)	2.65
Gelendost	300	0.74±0.10	344.96 (142.29-677.06)	1.65	18194.00 (7712.21-70515.35)	3.09
Senirkent	300	0.80±0.10	500.03 (247.25-890.23)	2.39	19838.99 (9007.87-67156.81)	3.37
Tepeli	300	0.76± 0.09	1020.45 (621.33-692.58)	4.88	47820.49 (19688.02-191397.72)	8.14

n: Denemede kullanılan birey sayısı

Elma bahçelerinden toplanan 4 farklı *C. pomonella* ve hassas populasyonun diflubenzuron'a ait logaritmik doz-% ölüm eğrisi çizilerek Şekil 4.3'de verilmiştir. Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3 birlikte incelendiğinde bütün populasyonlar diflubenzuron'a karşı heterojen bir yapı göstermektedir. Bütün populasyonların eğimi 1'in altında çıkmıştır (Yu, 2008). Bütün populasyonlarda olmakla birlikte, özellikle en düşük eğime sahip Gelendost ve Tepeli populasyonların diflubenzuron'a karşı direnç geliştirme riski vardır. Tepeli populasyonu LD₉₀ değerine göre düşük durumda da direnç geliştirmiş durumdadır.



Şekil 4.3. Diflubenzuron uygulanan farklı *Cydia pomonella* popülasyonlarının logaritmik doz-% ölüm eğrileri

4.1.1.4. *Cydia pomonella*'ya thiacloprid uygulanması sonucu elde edilen biyoassay sonuçları

Cydia pomonella'nın hassas, Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil, Yalvaç popülasyonlarının thiacloprid, etkili maddeye sahip ilaca karşı göstermiş olduğu LD değerleri ve direnç oranları belirlenmiş, bulgular Çizelge 4.4' de verilmiştir.

Elma bahçelerinden toplanarak laboratuvarında yetiştirilen Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil, Yalvaç *C. pomonella* popülasyonlarının LD₅₀ değerleri sırasıyla 7279.97, 12217.61, 17984.84, 6800.20, 6656.11, 6051.97 µl/100 ml olarak bulunmuştur. LD₅₀ değerlerinin hassas popülasyonun LD₅₀ değeri ile karşılaştırılması sonucunda thiacloprid'e karşı direnç oranları Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil, Yalvaç popülasyonlarında sırasıyla 6.66, 11.18, 16.47, 6.22, 6.09, 5.54 kat olarak belirlenmiştir. En yüksek direnç oranı 16.47 kat olarak Senirkent popülasyonunda, en düşük direnç oranı 5.54 kat olarak Yalvaç popülasyonunda bulunmuştur. Popülasyonların LD₅₀ değerlerinin güven aralık sınırları hassas popülasyonun güven aralık sınırları içinde bulunmadığı için thiacloprid'e karşı elma bahçelerinden toplanan bütün popülasyonlar hassas popülasyona göre daha dirençli bulunmuştur. Thiacloprid'e karşı bütün popülasyonlarda düşük ve orta düzeyde bir direnç belirlenmiştir. Isparta popülasyonunun eğim seviyesi 2'nin üzerinde olduğu için bu popülasyon diğer popülasyonlara göre homojen bir özellik göstermektedir (Çizelge 4.4).

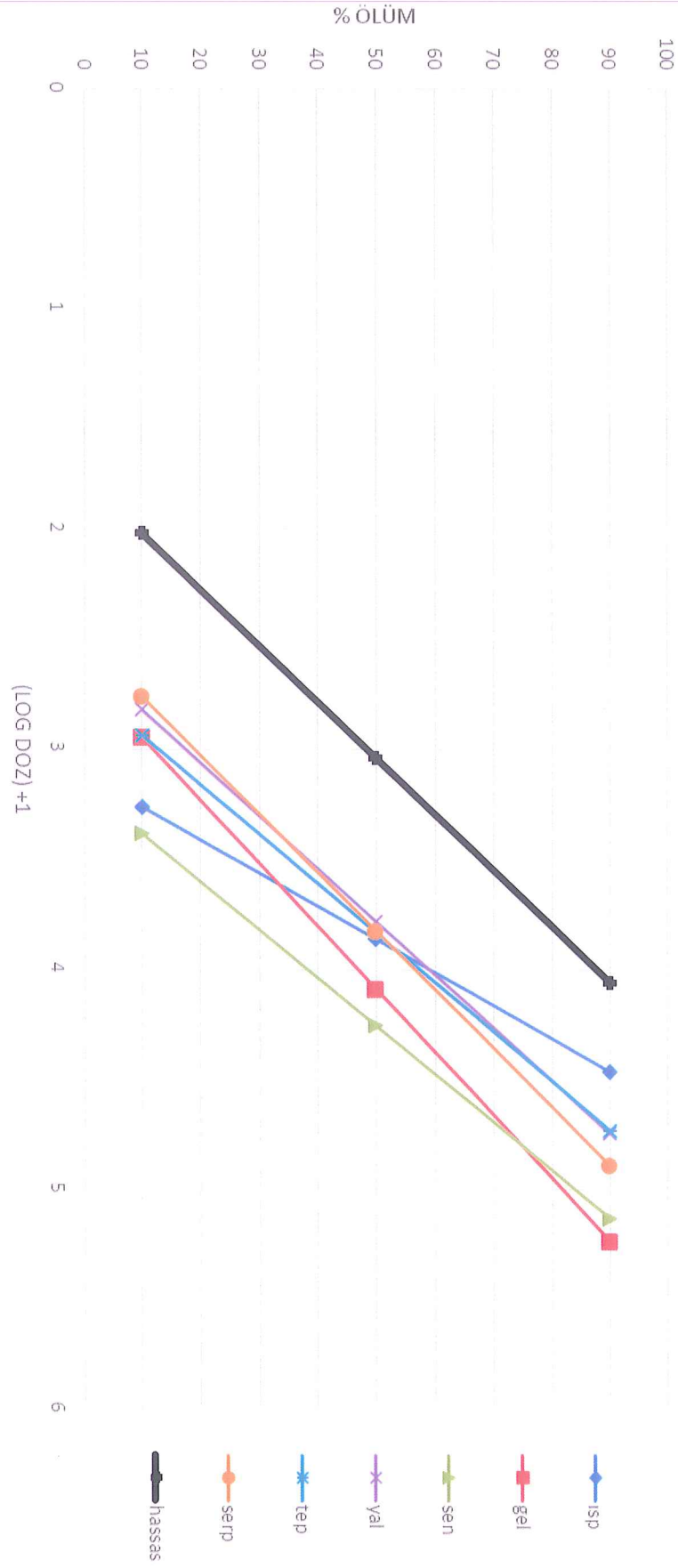
Bahçelerden toplanarak laboratuvarında yetiştirilen Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil, Yalvaç *C. pomonella* popülasyonlarının LD₉₀ değerleri incelendiğinde ise sırasıyla 29136.01, 170866.49, 134723.16, 53804.64, 77607.64, 55721.17 µl/100 ml olarak bulunmuştur. LD₉₀ değerlerinin hassas popülasyonun LD₉₀ değeri ile karşılaştırılması sonucunda thiacloprid'e karşı direnç oranları Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil, Yalvaç popülasyonlarında sırasıyla 2.53, 14.89, 11.74, 4.69, 6.76, 4.85 kat olarak belirlenmiştir. En yüksek direnç oranı 14.89 kat olarak Gelendost popülasyonunda, en düşük direnç oranı 2.53 kat olarak Isparta popülasyonunda bulunmuştur (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. *Cydia pomonella* populasyonlarında thiacloprid için belirlenen LD değerleri ve direnç oranları

Populasyon	n*	Eğim±se	LD ₅₀ (µl/100 ml) (%95 güven aralığı)	Direnç oranı	LD ₉₀ (µl/100ml) (%95 güven aralığı)	Direnç oranı
Hassas	175	1.25±0.22	1092.33 (727.70-1719.93)		11470.93 (5441.98-50374.62)	
Isparta	200	2.13±0.28	7279.97 (5634.82-9606.33)	6.66	29136.01 (19708.86-53772.14)	2.53
Gelendost	200	1.11±0.28	12217.61 (7988.88-21458.52)	11.18	170866.49 (71248.05-887347.32)	14.89
Senirkent	225	1.46±0.19	17984.84 (10547.01-36705.40)	16.47	134723.16 (57434.89-922095.46)	11.74
Tepeli	200	1.42±0.25	6800.20 (3750.07-10743.49)	6.22	53804.64 (30503.36-143533.40)	4.69
Serpil	225	1.20±0.16	6656.11 (4493.09-9696.61)	6.09	77607.64 (42638.34-203892.06)	6.76
Yalvaç	225	1.32±0.17	6051.97 (4206.96-8554.80)	5.54	55721.17 (32991.77-125423.63)	4.85

*n: Denemede kullanılan birey sayısı

Elma bahçelerinden toplanan 6 farklı *C. pomonella* ve hassas populasyonun thiacloprid'e ait logaritmik doz-% ölüm eğrisi çizilerek Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.4. Thiocloprid uygulanan farklı *Cydia pomonella* popülasyonlarının logaritmik doz-% ölüm eğrileri

Şekil 4.4’de verilen *C. pomonella* popülasyonlarının thiacloprid’e karşı belirlenen logaritmik doz-% ölüm eğrilerinde en duyarlı olan hassas popülasyon grafiğın en solunda yer alırken, direnç belirlenen bütün popülasyonların eğrileri grafiğın sağında bulunmakta, en yüksek dirençli Senirkent popülasyonun eğrisi ise grafiğın en sağında yer almaktadır. Isparta popülasyonu hariç diğeri popülasyonların doz artışına karşı ölüm oranındaki artış birbirine yakın olmuştur, ancak Isparta popülasyonun ölüm oranındaki artış daha hızlı olmuştur (Şekil 4.3, Çizelge 4.4).

4.1.2. Sinerjist+ilaç uygulamaları

Sinerjistler, kendi başlarına zehirli olmamalarına rağmen bir insektisitın zehirliliğini arttıran bileşikler olarak tanımlanır. Başka bir deyişle zehirli olmayan bileşikler, böcek öldürücü ilaçların zehirliliğini arttırmaya katkıda bulunduğunda sinerjist olarak adlandırılırlar. Bazı enzim inhibitörleri de özellikle dirençli ırklarda, insektisitleri detoksifiye eden enzimleri bloke ederek iyi birer sinerjist olarak davranırlar. Dirençli böcek ırklarında bazı insektisitlerin toksisitesini artırmak için enzim inhibitörleri kullanılmaktadır. Bu durumda sinerjistler direncin metabolik mekanizmalarının faydalı göstergeleri olarak görev yapmaktadırlar. Sinerjistik çalışmalar olası metabolik direnç mekanizmalarının belirlenmesinde ilk basamak olarak düşünölmektedir (Susurluk, 2008).

Sinerjist çalışmaları, toplanan popülasyonlarda direnç tespit edilmesi olasılığına karşı ilk olarak hassas popülasyonda yapılmıştır. Hassas popülasyonda chlorpyrifos ethyl, chlorantraniliprole etkili maddelerine sahip ilaçlarda sinerjist+ilaç çalışmaları belirlenmiştir. Ancak arazi popülasyonlarında 5 kat ve 5 katın üzerinde direnç oranları bulunan popülasyonlarda sinerjist çalışmaları yapılmıştır. Bu nedenle yukarıdaki iki etkili maddeye ait hassas popülasyonun bilgileri verilmemiştir.

Çalışmada thiacloprid ilacının sineristini belirlemek için DEF, PBO, DEM ile sinerjist çalışmaları yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.5’de verilmiştir. Esteraz enzimini inhibe eden DEF sinerjisti ile yapılan çalışmalar sonucunda, Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, Serpil popülasyonları için elde edilen sinerjistik etki oranları sırasıyla 1.33, 3.85, 6.045, 1.50, 1.39 kat olarak belirlenmiştir. MO enzimini inhibe eden PBO sinerjisti ile yapılan çalışmalar sonucunda, Isparta, Gelendost, Senirkent,

Tepeli, popülasyonlarından elde edilen sinerjistik etki oranları sırasıyla 1.51, 2.85, 5.28, 1.71 kat olarak belirlenmiştir. GST enzimini inhibe eden DEM sinerjisti ile yapılan çalışmalar sonucunda, Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli, popülasyonları için elde edilen sinerjistik etki oranları sırasıyla 1.53, 1.66, 5.19, 2.13 kat olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.5 incelendiğinde sinerjistik etki oranları popülasyonların direnç oranına göre değişmiştir. Genel olarak incelendiğinde thiacloprid ilacı ile sinerjistler düşük direnç oranı gösteren popülasyonlarda Isparta, Tepeli ve Serpil’de güven aralıklarına göre önemli bir sinerjistik etki göstermemişlerdir. Buna karşın orta düzeyde direnç gösteren Gelendost popülasyonunda PBO ve DEF, Senirkent popülasyonunda ise her üç sinerjiste güven aralıklarına göre önemli ölçüde sinerjistik etki göstermiştir.

Çizelge 4.5. *Cydia pomonella*'nın Hassas, Isparta, Gelendost, Senirkent, Tepeli Serpil ve Yalvaç populasyonlarının Thiacloprid ve Thiacloprid +sinerjistik uygulamalarında belirlenen LD₅₀ değerleri

Populasyon	İlaç	n*	Eğim±se	LD ₅₀ (µl/100 ml) (%95güven aralığı)	Sinerjistik oran (SR)
Hassas	Thiacloprid	175	1.25±0.22	1092.3 (727.7-1719.9)	
	Thiacloprid +DEF	175	0.99±0.17	832.0 (524.0-1454.5)	1.31
	Thiacloprid +PBO	175	0.91±0.18	870.0 (475.9-1733.8)	1.25
	Thiacloprid +DEM	175	2.27±0.19	1210.9 (821.5-1992.6)	<1
Isparta	Thiacloprid	200	2.13±0.28	7279.9 (5634.8-9606.3)	
	Thiacloprid +DEF	200	1.53±0.215	5474.8 (3970.9-7789.8)	1.33
	Thiacloprid +PBO	175	1.35±0.23	4810.8 (3300.9-7755.8)	1.51
	Thiacloprid +DEM	175	1.48±0.27	4745.0 (3077.8-7477.5)	1.53
Gelendost	Thiacloprid	200	1.11±0.28	12217.61 (7988.88-21458.52)	
	Thiacloprid +DEF	225	1.05±0.17	3173.16 (1386.04-6093.12)	3.85**
	Thiacloprid +PBO	225	1.19±0.16	4278.14 (2919.46-6380.84)	2.85**
	Thiacloprid +DEM		1.25±0.39	7339.37 (1660.76-12845.59)	1.66
Senirkent	Thiacloprid	225	1.46 ± 0.19	17984.84 (10547.01-36705.40)	
	Thiacloprid +DEF	225	1.13± 0.15	2975.19 (1961.09-4444.92)	6.045**
	Thiacloprid +PBO	225	1.17±0.18	3406.66 (1959.26-5435.55)	5.28**
	Thiacloprid +DEM	225	1.36± 0.24	3464.95 (1761.49-5529.42)	5.19**
Tepeli	Thiacloprid	200	1.42±0.25	6800.20 (3750.07-10743.49)	
	Thiacloprid +DEF	225	1.43±0.31	4510.20 (1962.46-7248.24)	1.50
	Thiacloprid +PBO	200	1.19±0.18	3971.85 (2677.54-6303.41)	1.71
	Thiacloprid +DEM	200	1.36±0.19	3192.29 (2231.72-4679.72)	2.13
Serpil	Thiacloprid	225	1.20±0.16	6656.11 (4493.09-9696.61)	
	Thiacloprid +DEF	200	0.99±0.18	4786.48 (3007.06-8810.01)	1.39

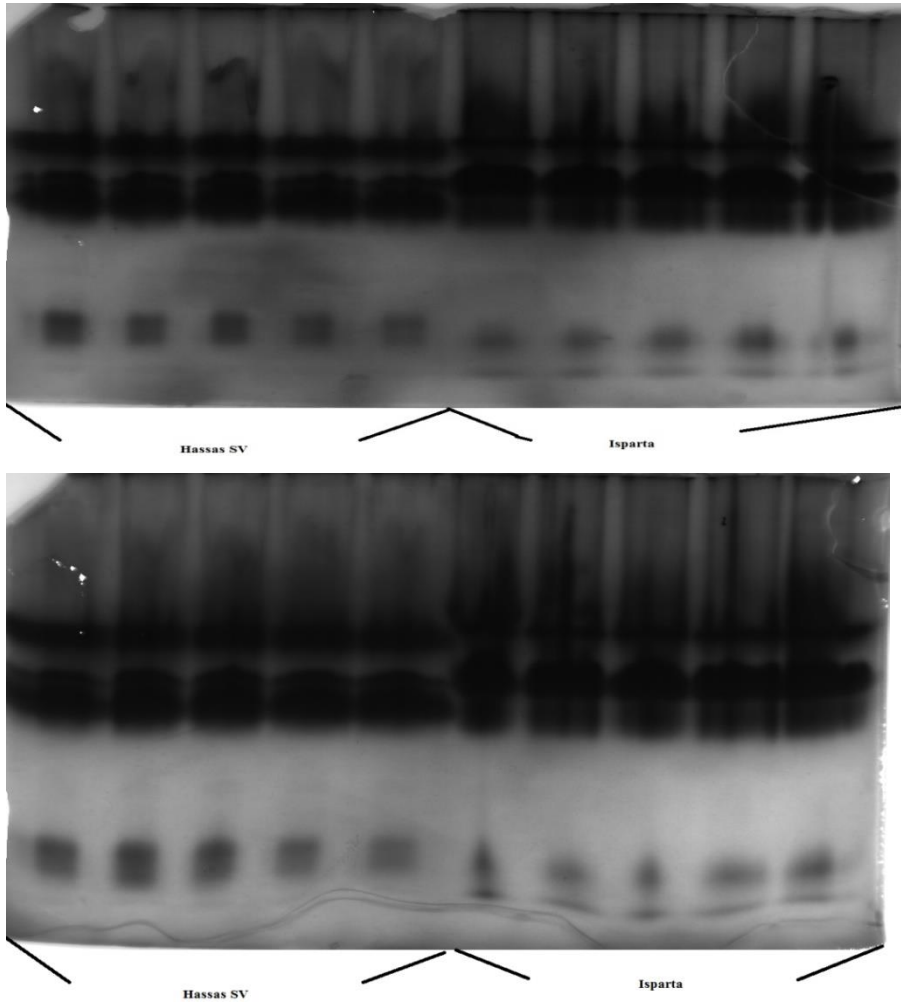
*Denemelerde kullanılan birey sayısı, ** Güven aralıklarına göre sinerjistik etkileri önemli olanlar

4.2. Biyokimyasal alışmalar

4.2.1. *Cydia pomonella*'nın poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) ile esteraz enziminin incelenmesi

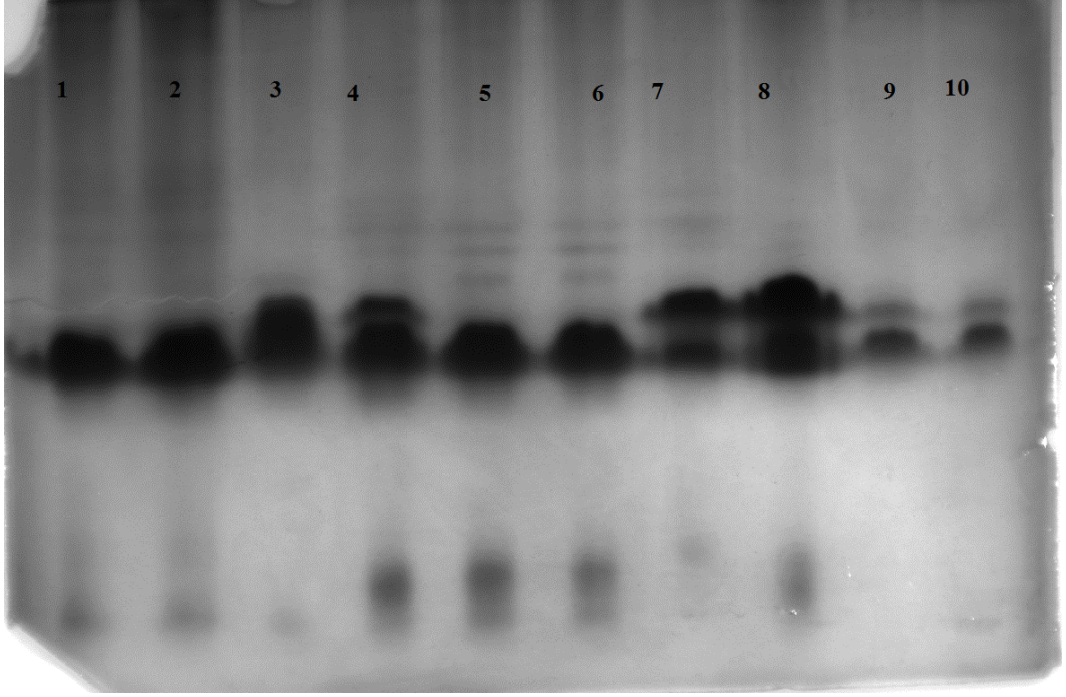
Böceklerde insektisitlere karşı oluşan direncin belirlenmesinde bioassay yöntemlerin yanında elektroforetik yöntemlerde kullanılmaktadır. Bu yöntemlerle böceklerin insektisitlere karşı göstermiş olduğu düşünülen bazı enzimler incelenerek, direnç düzeyi ile bu enzimler arasında ilişki kurulmaktadır (Tsagkarakou vd., 2002).

Cydia pomonella hassas ve Isparta popülasyonunda esteraz enzimi elektroforetik olarak incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7' de verilmiştir.

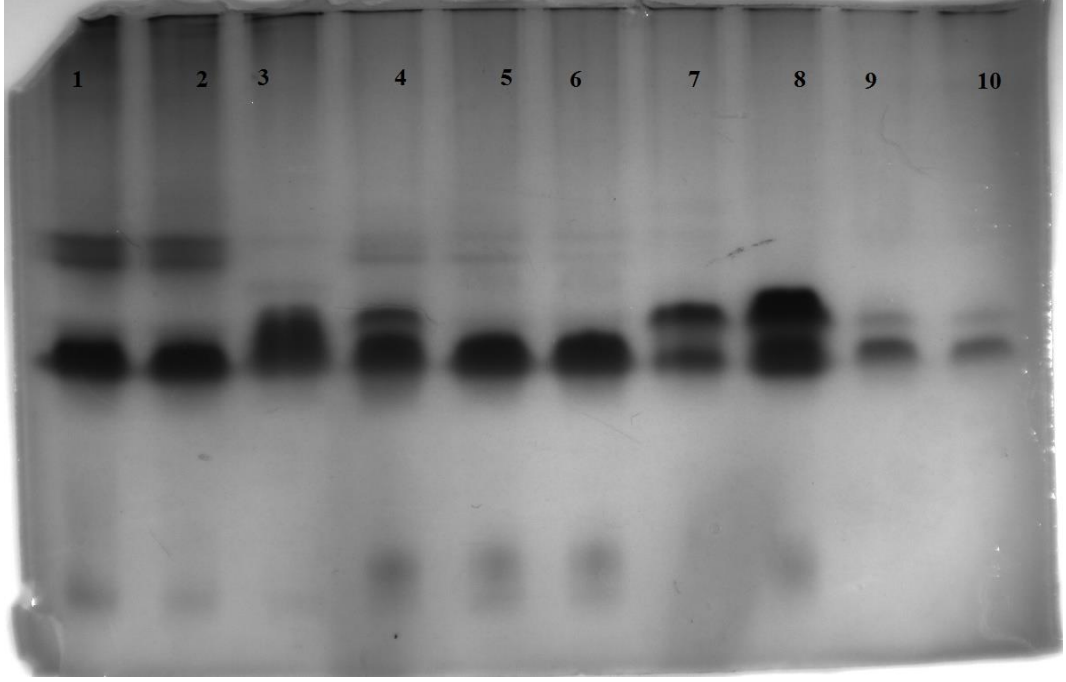


Şekil 4.5. Elma içkurdunun hassas ve Isparta popülasyonunun esteraz enzim bantları ve dizilişleri (her bir jel hücresine 5µl homojenat konmuştur)

Şekil 4.5’ de görüldüğü gibi her iki jelde Isparta populasyonunun esteraz enzim aktivitesi hassas popülasyona göre daha yoğun bulunmuştur. Ayrıca bantların dizilişleride farklı olmuştur.



Şekil 4.6. Elma içkurdu populasyonunun esteraz enzim bantları ve dizilişleri (her bir jel hücreğine 10 µl homojenat konmuştur) (1 ve 2 Isparta, 3 Serpil, 4 Gelendost, 5 ve 6 Hassas, 7 Senirkent, 8 Yalvaç, 9 ve 10 Tepeli)



Şekil 4.7. Elma içkurdu populasyonlarının esteraz enzim bantları ve dizilişleri (her bir jel hücreğine 5 µl homojenat konmuştur) (1 ve 2 Isparta, 3 Serpil, 4 Gelendost, 5 ve 6 Hassas, 7 Senirkent, 8 Yalvaç, 9 ve 10 Tepeli)

Şekil 4.6 ve 4.7’de bütün içkurdu populasyonlarının esteraz enzimleri karşılaştırmanın kolay yapılması için aynı jel de koşturulmuştur. Şekil 4.6’ da kuyucuklara 10 µl homojenat, Şekil 4.7’de ise 5 µl homojenat yüklenmiştir. Şekiller incelendiğinde populasyonların bant yoğunlukları ve bant dizilişleri birbirinden farklı olmuştur. En az bant sayısı hassas populasyonda belirlenmiştir. Tepeli populasyonu hariç diğer populasyonların bant yoğunlukları da hassas populasyona göre daha yoğun olmuştur.

4.2.2. *Cydia pomonella*’nın toplam esteraz, GST ve P450 enzimlerinin aktivitelerinin incelenmesi

Esteraz, GST ve P450 enzimlerin kinetik aktiviteleri mikropilaka okuyucularda okunmuştur. Esteraz enzimi için 1-naphthyl asetat, ve GST için CDNB, DCNB ve MCNB substratları kullanılmıştır. P450 enziminin belirlenmesinde ise PNOD ve 7-ECOD substratları kullanılmıştır.

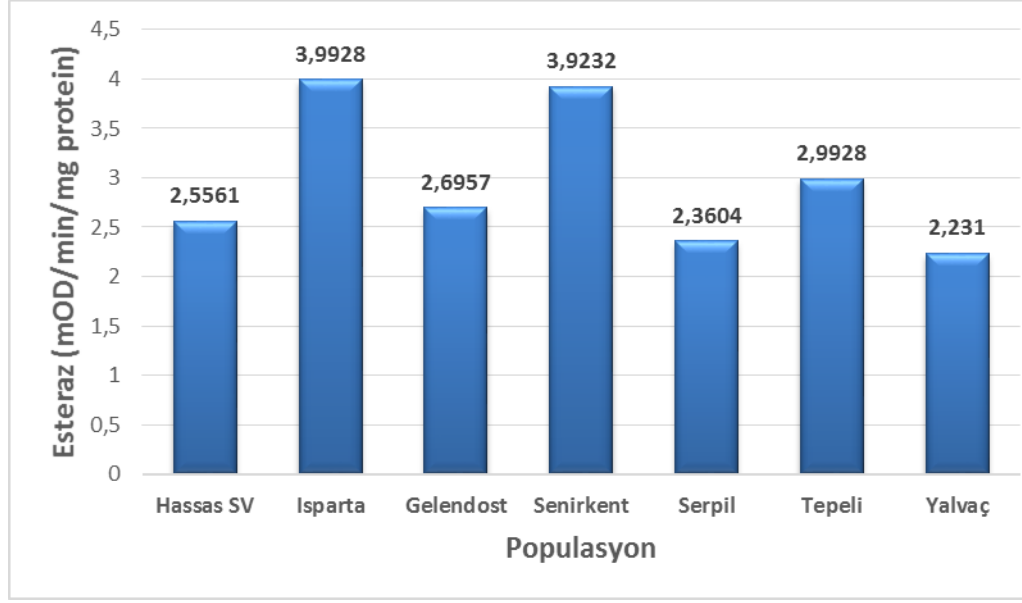
Elma içkurdu populasyonlarının esteraz enzim aktiviteleri populasyonlara göre değişmiştir (Çizelge 4.6). En yüksek esteraz enzim aktivitesi Senirkent

populasyonunda belirlenmiştir ve istatistiki olarak diğer populasyonlardan daha yüksek bulunmuştur. İkinci en yüksek esteraz enzim aktivitesi ise Isparta populasyonunda belirlenmiştir. Isparta populasyonun aktivitesi de diğerlerinden istatistiki olarak farklı bulunmuştur. Üçüncü istatistik farklı grubu ise Tepeli populasyonu oluşturmuştur. Bundan sonraki grubu ise Hassas, Gelendost ve Serpil populasyonları oluşturmuşlardır. En az esteraz enzim aktivitesi ise Yalvaç populasyonunda belirlenmiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.6; Şekil 4.8).

Çizelge 4.6. Elma içkurdu populasyonlarının toplam esteraz enzim aktiviteleri

Populasyon	N [*]	mOD/min/mg protein	Enzim oranı
Hassas SV	4	2.5561 ± 0.073 ED	-
Isparta	4	3.9928 ± 0.073 B	1.56
Gelendost	4	2.6957 ± 0.073 D	1.05
Senirkent	4	3.9232 ± 0.073 A	1.53
Serpil	4	2.3604 ± 0.073 EF	<1
Tepeli	4	2.9928 ± 0.073 C	1.17
Yalvaç	4	2.2310 ± 0.0732 F	<1

*N: tekerrür sayısı



Şekil 4.8. Elma içkurdu populasyonlarının toplam esteraz enzim aktiviteleri

Elma içkurdu populasyonlarının GST enzim aktiviteleri üç farklı substratla iki farklı mikropilaka okuyucu (fotometrik okuyucu ve florimetrik okuyucu)'da belirlenmiştir. Genel hatları ile sonuçlar birbirine benzerlik gösterebilir birbirinden farklılıklarda vardır. Her üç substratlarda en yüksek GST enzim aktivitesi Gelendost populasyonunda belirlenmiştir ve her üç substratlarda en az GST aktivitesi ise Yalvaç populasyonunda görülmüştür.

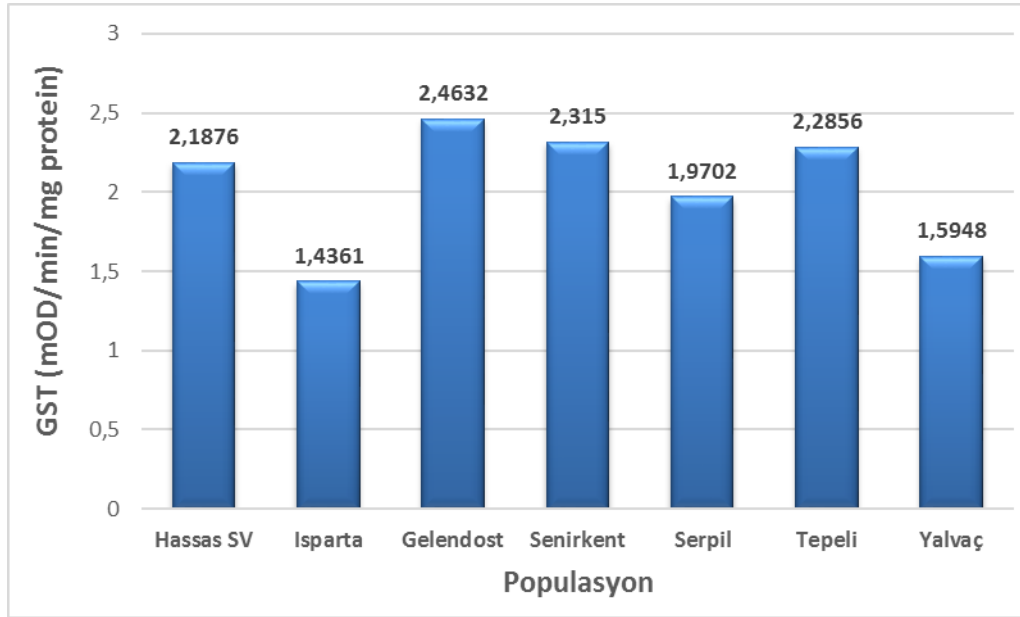
Ancak en yüksek ve en az GST aktivitesinin görüldüğü populasyonlara benzerlik gösteren populasyonlar her üç substratta da aynı olmamıştır. Bu farklılıklarda substrat ve cihazların hassasiyetinden kaynaklanabileceği gibi enzim aktivitesinin okunduğu larvaların bireysel farklılıklardan da kaynaklanabilir (Çizelge 4.7, 4.8, 4.9 ile Şekil 4.9, 4.10, 4.11). CDNB substratına göre en yüksek GST aktivitesi Gelendost populasyonunda belirlenmiştir. Tepeli, Serpil, Senirkent ve hassas populasyonun GST aktivitesi aynı olmuştur. Ancak Senirkent ve Tepeli populasyonun GST aktivitesi Gelendost populasyonunki ile de aynı olmuştur. Yalvaç populasyonun ise GST aktivitesi en az olmuştur. DCNB substratına göre yine en yüksek GST aktivitesi Gelendost populasyonunda belirlenmiştir ve bu populasyon Senirkent ve Serpil populasyonları ile de istatistiki olarak benzerlik göstermiştir. DCNB substratına göre en az GST aktivitesini ise Hassas, Isparta ve Yalvaç populasyonlarında belirlenmiştir, ayrıca hassas populasyonun GST aktivitesi istatistiki olarak Senirkent ve Tepeli populasyonları ile de aynı seviyede olmuştur.

Florimetrik olarak MCNB substratı ile belirlenen GST aktivitesi populasyonlara göre değişmiştir. En yüksek GST aktivitesi yine Gelendost populasyonunda belirlenmiş fakat burada en az GST aktivitesi Yalvaç populasyonunda başka Tepeli populasyonunda da belirlenmiştir. Ayrıca bu populasyonların (Yalvaç ve Tepeli) GST aktivitesi Hasas populasyonun GST aktivitesi ile de benzerlik göstermiştir, istatistiki olarak da aynı grup içerisinde yer almışlardır ($P<0.05$) (Çizelge 4.9 ile Şekil 4.11).

Çizelge 4.7. Elma içkurdu popülasyonlarının CDNB substratı ile fotometrik olarak belirlenen belirlenen GST enzim aktiviteleri

Populasyon	N [*]	mOD/min/mg protein	Enzim oranı
Hassas SV	4	2.1876 $\pm$ 0.083 BC	-
Isparta	4	1.4361 $\pm$ 0.083 D	<1
Gelendost	4	2.4632 $\pm$ 0.083 A	1.12
Senirkent	4	2.3150 $\pm$ 0.083 AB	1.05
Serpil	4	1.9702 $\pm$ 0.083 C	<1
Tepeli	4	2.2856 $\pm$ 0.083 AB	1.04
Yalvaç	4	1.5948 $\pm$ 0.083 D	<1

*N: tekrerrür sayısı

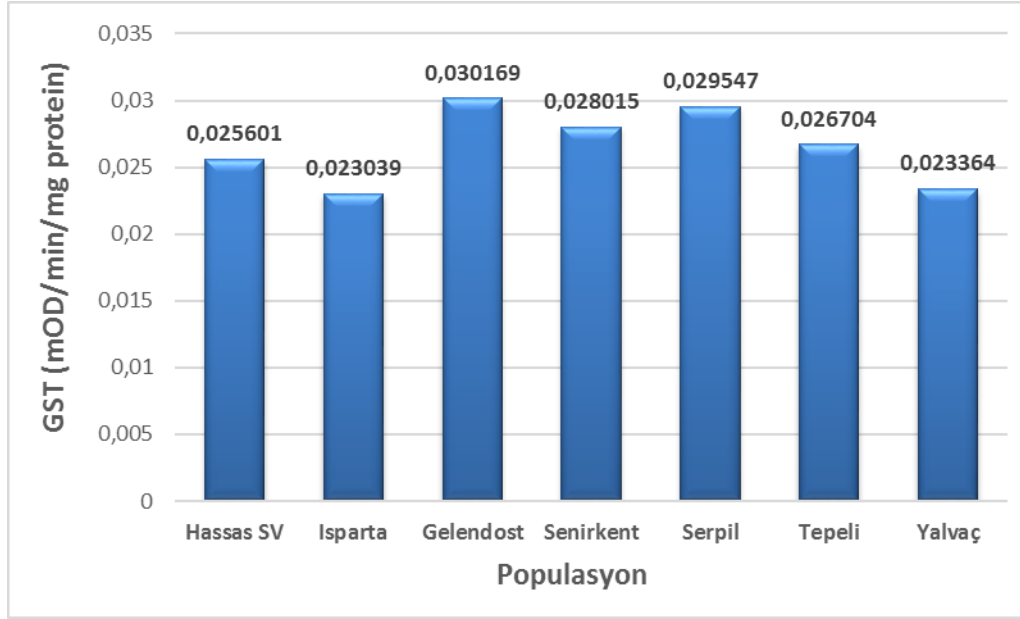


Şekil 4.9. Elma içkurdu popülasyonlarının CDNB substratı ile fotometrik olarak belirlenen GST enzim aktiviteleri

Çizelge 4.8. Elma içkurdu popülasyonlarının DCNB substratı ile fotometrik olarak belirlenen GST enzim aktiviteleri

Populasyon	N*	mOD/min/mg protein	Enzim oranı
Hassas SV	4	0.025601 ± 0.001 CD	-
Isparta	4	0.023039 ± 0.001 D	<1
Gelendost	4	0.030169 ± 0.001 A	1.17
Senirkent	4	0.028015 ± 0.001 ABC	1.09
Serpil	4	0.029547 ± 0.001 AB	1.15
Tepeli	4	0.026704 ± 0.001 BC	1.04
Yalvaç	4	0.023364 ± 0.001 D	<1

*N: tekerrür sayısı

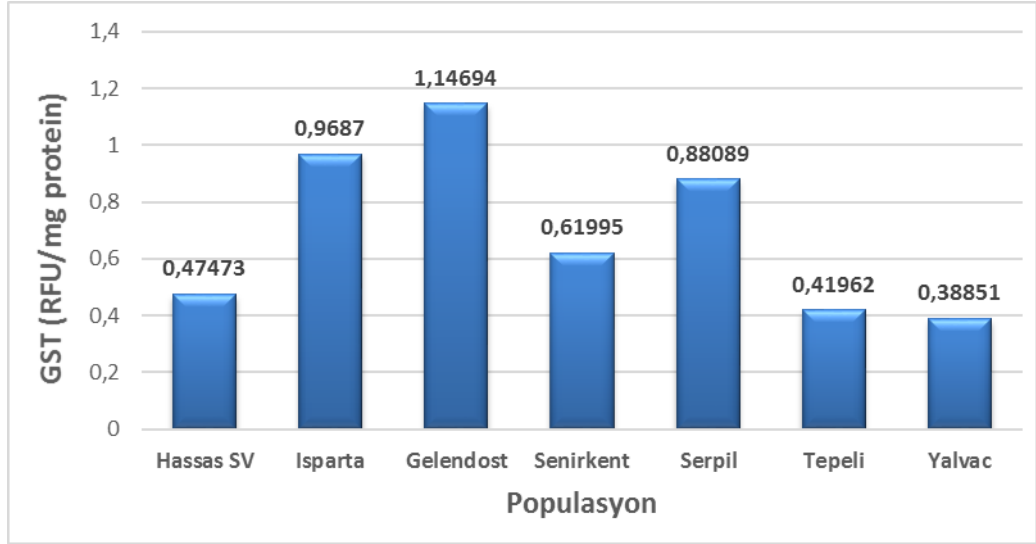


Şekil 4.10. Elma içkurdu popülasyonlarının DCNB substratı ile fotometrik olarak belirlenen GST enzim aktiviteleri

Çizelge 4.9. Elma içkurdu popülasyonlarının MCNB substratı ile florimetrik olarak belirlenen GST enzim aktiviteleri

Populasyon	N*	RFU/mg protein	Enzim oranı
Hassas SV	3	0.47473 ± 0.050 CD	-
Isparta	3	0.96870 ± 0.050 B	2.04
Gelendost	3	1.14694 ± 0.050 A	2.41
Senirkent	3	0.61995 ± 0.050 C	1.30
Serpil	3	0.88089 ± 0.050 B	1.85
Tepeli	4	0.41962 ± 0.050 D	<1
Yalvac	3	0.38851 ± 0.050 D	<1

*N: tekerrür sayısı



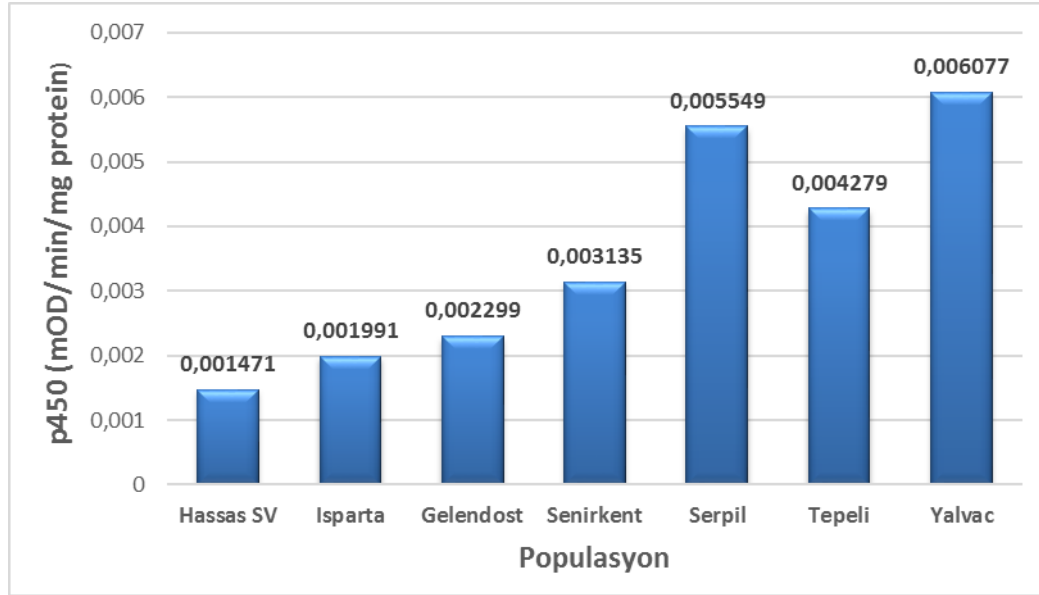
Şekil 4.11. Elma içkurdu populasyonlarının MCNB substratı ile florimetrik olarak belirlenen GST enzim aktiviteleri

Elma içkurdu populasyonlarının P450 enzimleri iki farklı substratla (PNOD ve 7-ECOD) iki farklı mikropilaya okuyucuda (Fotometrik ve Florimetrik) belirlenmiştir. Her iki substratta P450 enzim aktivitesi populasyonlara göre değişmiştir. PNOD substratına göre en yüksek P450 enzim aktivitesi Yalvac populasyonunda en az P450 aktivitesi de hassas populasyon da belirlenmiştir. Bu populasyonlar farklı grupları oluşturmuşlardır. Isparta, Gelendost ve Senirkent populasyonları hassas populasyonla, Serpil ve Tepeli populasyonları ise Yalvac populasyonu ile istatistiki olarak benzerlik göstermiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.10; Şekil 4.12). 7-ECOD substratı ile florimetrik olarak belirlenen P450 enzim aktivitelerine göre en yüksek P450 enzim aktivitesi Senirkentte belirlenmiştir ve istatistiki olarakda farklı bir grup oluşturmuştur. En az P450 enzim aktivitesi ise Yalvac populasyonunda belirlenmiştir. Yalvac populasyonunda sonra ikinci grubu hassas populasyon ve Serpil oluşturmuştur. İkinci en yüksek grubunda Tepeli populasyonu oluşturmuştur. Gelendost populasyonu ise hem Tepeli, hemde hassas populasyon grubu ile benzerlik göstermiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.11; Şekil 4.13).

Çizelge 4.10. Elma içkurdu popülasyonlarının PNOD substratı ile fotometrik olarak belirlenen P450 enzim aktiviteleri

Populasyon	N*	mOD/min/mg protein	Enzim oranı
Hassas SV	3	0.001471 ±0.0009 D	-
Isparta	4	0.001991 ±0.0009 CD	1.35
Gelendost	3	0.002299 ±0.0009 CD	1.56
Senirkent	3	0.003135±0.0009 BCD	2.13
Serpil	4	0.005549 ± 0.0007 AB	3.77
Tepeli	4	0.004279 ±0.0007 ABC	2.90
Yalvac	4	0.006077 ±0.0007 A	4.13

*N: tekerrür sayısı

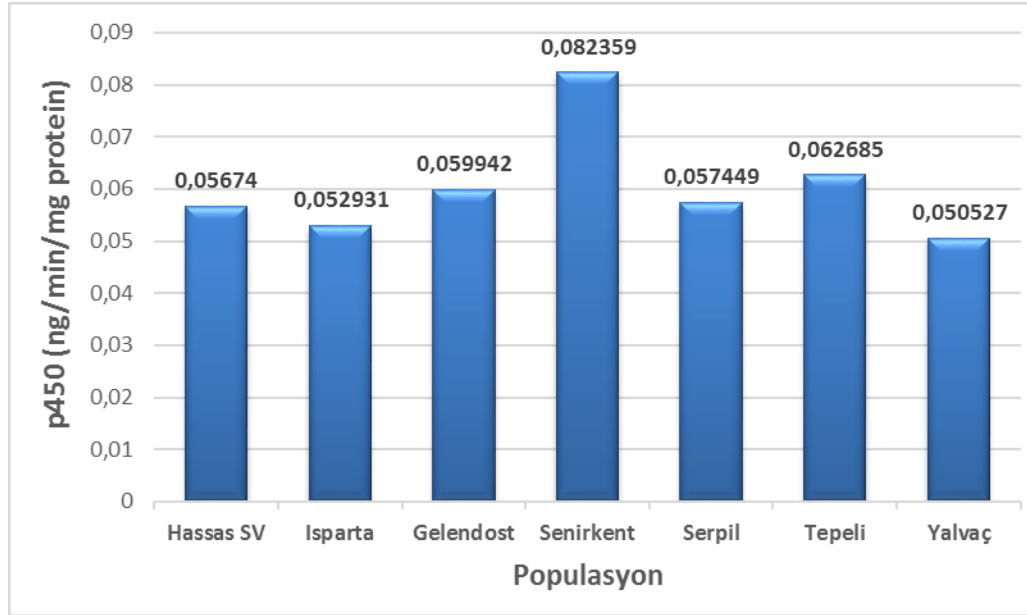


Şekil 4.12. Elma içkurdu popülasyonlarının PNOD substratı ile fotometrik olarak belirlenen P450 enzim aktiviteleri

Çizelge 4.11. Elma içkurdu popülasyonlarının 7-ECOD substratı ile florimetrik olarak belirlenen P450 enzim aktiviteleri

Populasyon	N*	ng/30 min/mg protein	Enzim oranı
Hassas SV	3	0.056740 ± 0.0012 C	-
Isparta	4	0.052931 ± 0.0011 D	<1
Gelendost	3	0.059942 ± 0.0012 CB	1.05
Senirkent	4	0,082359 ± 0.0011 A	1.45
Serpil	4	0.057449 ± 0.0011 C	1.01
Tepeli	4	0.062685 ± 0.0011 B	1.10
Yalvaç	4	0.050527 ± 0.0011 D	<1

*N: tekerrür sayısı



Şekil 4.13. Elma içkurdu popülasyonlarının 7-ECOD substratı ile florimetrik olarak belirlenen P450 enzim aktiviteleri

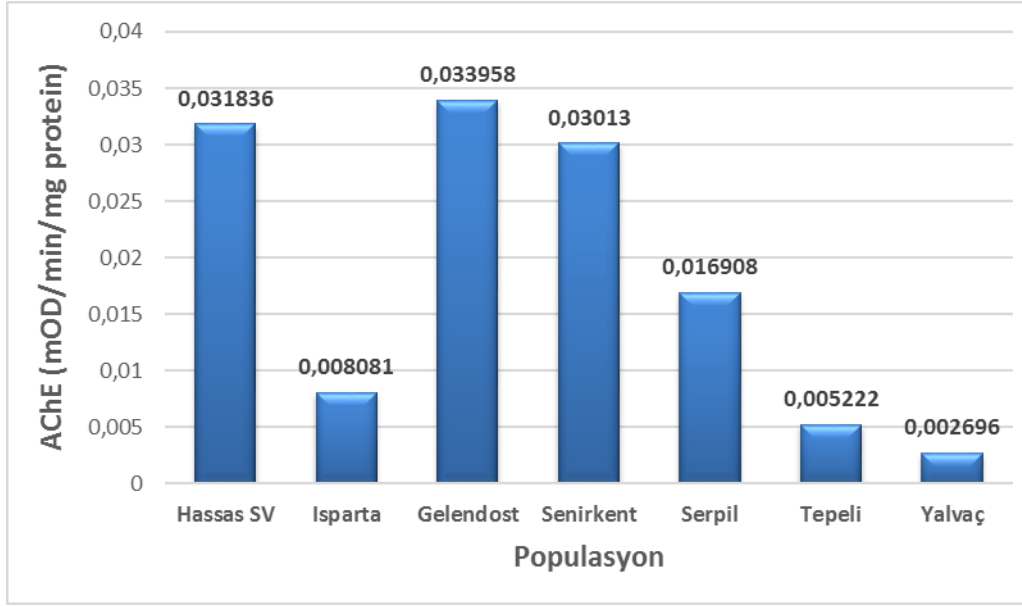
4.2.3. *Cydia pomonella*'nın AChE enzim aktivitesinin fotometrik olarak incelenmesi

Isparta ili elma bahçelerinden toplanan elma içkurdu populasyonlarında AChE enzim aktivitesi de incelenmiştir ve sonuçlar Çizelge 4.12'de verilmiştir. Çizelge 4.12 incelendiğinde AChE enzim aktivite düzeyi populasyonlara göre değişmiştir. En yüksek AChE aktivitesi hassas populasyon, Gelendost ve Senirkent populasyonunda belirlenmiştir. Bu populasyonların AChE enzim aktiviteleri diğer populasyonlara göre önemli derecede yüksek çıkmıştır. En az AChE enzim aktivitesi ise Yalvaç populasyonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.12; Şekil 4.14).

Çizelge 4.12. Elma içkurdu popülasyonlarının AChE enzim aktiviteleri

Populasyon	N*	mOD/min/mg protein	Enzim oranı
Hassas SV	4	0.031836 ±0.0015 A	-
Isparta	4	0.008081 ±0.0017 C	<1
Gelendost	4	0.033958 ±0.0015 A	1.06
Senirkent	4	0.03013 ±0.0015 A	<1
Serpil	4	0.016908 ±0.0015 B	<1
Tepeli	4	0.005222±0.0015 CD	<1
Yalvaç	4	0.002696 ±0.0015 D	<1

*N: tekerrür sayısı



Şekil 4.14. Elma içkurdu popülasyonlarının AChE enzim aktiviteleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Isparta ili elma bahçelerinden toplanan 6 elma içkurdu populasyonunun bazı insektisitlere (chlorpyrifos ethyl, diflubenzuron, thiacloprid ve chlorantraniliprole) direnç geliştirip geliştirmediği ve direnç gelişen ilaçların direnç mekanizmaları incelenmiştir. Çalışmada referans popülasyon olarak kullanılan Hassas (Sv) popülasyon, Fransa'nın güneydoğu bölgelerindeki bahçelerden toplanan ve 1995 yılından bu yana laboratuvarında üretimi devam ettirilen bir popülasyondur (Bouvier vd., 2001; Berling vd., 2009).

Bu çalışmada kullanılan insektisitlerden chlorpyrifos ethyl, diflubenzuron ve thiacloprid etkil maddeye sahip ilaçlar bölgede uzun yıllardır kullanılmaktadır, ancak chlorantraniliprole kullanıma yeni girmiştir. Bu ilaçlardan chlorpyrifos ethyl ve chlorantraniliprole karşı Isparta ili elma bahçelerinden toplanan elma içkurdu populasyonlarında, hassas popülasyona (Sv) göre kıyaslandığında direnç belirlenememiştir. Elma içkurdu populasyonlarında diflubenzuron karşı ise düşük düzeyde duyarlılık kaybı (1.65-4.88 kat) belirlenmiştir. Thiacloprid karşı ise düşük ve orta düzeyde direnç (5.54-16.47 kat) belirlenmiştir.

Chlorantraniliprole etkili maddeye sahip insektisit bölgemizde kullanıma yeni girmesi sebebiyle herhangi bir direnç belirlenememesi bu ilaca karşı çapraz direnç gelişmediğinin bir göstergesidir. Mevcut sonuçlar göstermektedir ki daha önce kullanılan insektisitler ile bu etkili madde arasında çapraz direnç yoktur. Bu etkili maddeyle ilgili elma içkurdu dışında diğer lepidopterlerde farklı çalışmalar yapılmıştır. Sial vd. (2010), Sial ve Brunner (2012), yaptığı çalışmalarda *C. rosaceana*'da chlorantraniliprole sadece bir popülasyonda yaklaşık 5 kat dayanıklılık olduğunu bildirmiştir. Lai ve Su., (2011)'de yaptıkları çalışmada *S. exigua*'da chlorantraniliprole için tarla populasyonlarında orta düzeyde (17.1) kat direnç olduğunu bildirmiştir. Wang vd. (2010)'da yaptıkları çalışmada *P. xylostella*'da chlorantraniliprole için tarla populasyonlarında düşük düzeyde (8.9) kat direnç olduğunu bildirmiştir.

Çin’de sebze ve pamukta önemli bir zararlı olan *S. litura*’da farklı gruptan insektisitlere karşı direnç geliştiği bildirilmektedir. Yeni tescil edilen chlorantraniliprole, bu zararlı kontrolü için yeni bir seçenek sunmaktadır. Yapılan biyokimyasal çalışmalarda tarla popülasyonlarının çoğunda hassas popülasyona göre P450 enzim aktivitesinde önemli bir artış görülmüştür. Sadece birkaç popülasyonun GST ve esteraz enzim aktiviteleri hassas popülasyondan daha yüksek çıkmıştır. Bu çalışmada chlorantraniliprole toksisitesiyle detoxifikasyon enzim aktiviteleri arasında hiçbir ilişki gözlenmemiş olup, *S. litura*’da görülen toleransda diğer mekanizmaların olabileceğini düşündürmektedir (Su vd., 2012).

Bölgede uzun yıllardır kullanılan chlorpyrifos ethyl’e karşı herhangi bir direnç belirlenemezken yaklaşık 10 yıllık bir kullanım uzunluğuna sahip olan thiacloprid’e karşı direnç belirlenmesi bu insektisitler arasında negatif çapraz direnç olabileceği kanısını uyandırmaktadır. Çapraz direnç herhangi bir insektisite karşı gelişen direncin aynı gruptan farklı insektisitlere karşı da oluşması olarak tanımlanmaktadır (Öncüer,2004; Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008; Yu, 2008). Çapraz direnç yaygın olarak ve genellikle aynı etki şekline sahip insektisit grupları arasında görülmesine rağmen bazen de kimyasal özelliği farklı gruptan insektisitler arasında da görülebilir (FAO, 2012). Çapraz direnç IPM’de yer alan zararlı yönetiminde çok ciddi bir problem oluşturmaktadır (Wang vd., 2009). Herhangi bir insektisite direnç görülürken farklı gruptan başka bir insektisite hassasiyet görülmesi ise negatif çapraz direnç olarak tanımlanır (FAO, 2012).

Rodriguez vd. (2010), İspanya’da 11 elma bahçesinden topladıkları elma içkurdu popülasyonlarında organik fosforlu ilaçlarda (chlorpyrifos-ethyl, azinphos-methyl ve phosalone) post diyapoz larvalarda ve erginlerde topikal aplikasyon ile yaptıkları bir çalışmada, sitokrom P450 monooksijenaz (MO), glutation transferaz (GST) ve esteraz (EST) enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışmada tüm tarla popülasyonlarında chlorpyrifos-ethyl’deki etkinlik daha düşük olsa da diğer organik fosforlu ilaçlarda da etkinliğin önemli derecede düştüğü gözlenmiştir. Erginlerde cinsiyetler arasında fark olmadığı belirlenmiştir. Post diyapoz larvalarda, üç enzim aktivitesi tüm tarla popülasyonlarında hassas popülasyondan yüksek bulunmuştur. Avrupa popülasyonlarında elma içkurdu dayanıklılığında esteraz (EST) enzim

aktivitesinin sorumlu olduğu ilk kez rapor edilmiştir. Daha önceki çalışmalarda erginlerde sadece MO ve GST enzimlerinin sorumlu olduğu bildirilmektedir.

Dunley ve Welter (2000), *C. pomonella*'nın laboratuvar ve tarla popölasyonlarında azinphos-methyl direnci ile iki organik fosfatlı (diazinon ve phosmet) bir karbamatlı (carbaryl), bir klorlandırılmış hidrokarbonlu (DDT) ve iki sentetik pretroidli (esfenvalerate ve fenprothrin) direnci arasında pozitif çapraz direnç bulmuşlardır. Buna karşın azinphos-methyl direnci ile iki organikfosfatlı chlorpyrifos ve methyl parathion direnci arasında negatif çapraz direnç bulmuşlardır.

S. exigua sebzelerde kritik ekonomik kayıplara neden olmaktadır ve genellikle sebzeçilik alanlarında ona karşı yoğun bir insektisit kullanımı bulunmaktadır. Zararlının Çin'in farklı bölgelerinden toplanan popölasyonlarında 12 insektisite karşı direnç durumu araştırılmıştır. Yapılan çalışmada, lambda cyhalothrin'e oldukça yüksek (2925-3449) kat, chlorpyrifos'a (>1786-) kat, emamectin benzoate (174-867) kat, metaflumizone (60.3-942) kat direnç belirlenmiştir. Tebufenozide (51.5-75.4) kat ve chlorfluazuron'a (60.4- 63.0) kat yüksek oranda direnç bulunmuştur. Sinerjizm çalışmalarında, metaflumizon ve lambda cyhalothrin'e karşı oluşan direncin sırasıyla, esteraz ve mikrozomal oksidazlar ile ilişkili olduğunu ortaya çıkarmıştır. Emamectin benzoat'a karşı dirençte detoksifikasyon enzim inhibitörleri etkilanmemiştir ve başka mekanizmalarla ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Tarla popölasyonları laboratuvarında 10 jenerasyon metaflumizone ile seleksiyona tabi tutulmuş ve 6.1 kat direnç gelişmiştir. Ancak diğer insektisitlerde direnç artışı görülmemiştir. Metaflumizon seleksiyonundan sonra spinosad'a ve endosulfan'a duyarlılıkları değişmemekle birlikte indoxacarb, methomyl, pyridalyl, tebufenozide, chlorfluazuron, emamectin benzoate ve lambda cyhalothrin için duyarlılıkları biraz azalmıştır. Ancak seleksiyon yapılmış popölasyonla seleksiyon yapılmamış popölasyon arasında direnç seviyesi yönünden önemli bir istatistiki fark oluşmamıştır. Bu durum metaflumizon ile diğer insektisitler arasında negatif çapraz direnç olabileceğini göstermektedir (Su ve Sun, 2014).

Sinerjist çalışmaları, esteraz ve çok fonksiyonlu oksidazların (MFO) metaflumizon ve lambda cyhalothrin detoksifikasyonunda sınırlı bir role sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu durumun diğer mekanizmalardan örneğin hedef yeri

duyarsızlığı ile bağlantılı olduğu söylenebilir (Su ve Sun, 2014). Nitekim Khakame vd. (2013), *P. xylostella*' da metaflumizone ile indoxacarb arasında negatif çapraz direnç olduğunu bildirmişlerdir.

Martin vd. (2002), 1996 yılı ve onu takip eden yıllarda *H. armigera*'da sentetik piretroitli insektisitlere karşı direnç tespit edildiğini, yaptıkları çalışmada 22 insektisiti piretroitlilerde çapraz dayanıklılık için incelediklerini, bunlardan organik fosforlu olan triazophos ve acephate ile piretroitli insektisitler arasında negatif çapraz dayanıklılık tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Çin'in Shandong eyaletinden toplanan *H. armigera* popülasyonu, 15 kez seleksiyona tabi tutulmuş bunun sonucunda spinosad'a 20 kattan daha fazla direnç geliştiği bildirilmiştir. LD₅₀ düzeyinde spinosad ile chlorpyrifos, methomyl, avermectin ve chlorfenapyr önemli bir çapraz direnç saptanamazken, fenvalerate'e 2.4 kat düşük seviyede çapraz direnç bulunmuştur. Spinosad direnci enzim inhibitörleri kullanıldıktan sonra kısmen (PBO) ve (TPP) tarafından baskı altına alınmış ancak (DEM)'in herhangi bir etkisi olmamıştır. P-nitroanisol O-demetilazının (ODM) aktivitesinde ebeveyn popülasyonu ile karşılaştırıldığında 8.26 kat artış görülmüş, ancak estera (CarE) ve glutathion-S-transferaz (GST) aktivitelerinde belirgin değişiklikler görülmemiştir. Bu sonuçlar, *H. armigera*'da spinosad direncinin sitokrom P450 monooksijenaz enzim aktivitesinin artışı ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (Wang vd., 2009).

Elma içkurdunun tarla popülasyonlarında azinphos methyl ile farklı insektisit sınıfları arasında neonicotinoidler gibi çapraz dayanıklılık olduğu (Knight, 2010), yine IGR grubu insektisitlerden kitin sentezi inhibitörleri, juvenil hormon analogları ve ecdysone agonistler arasında çapraz dayanıklılık olduğu bildirilmektedir (Reuveny ve Cohen, 2004; Stara ve Kocaurek, 2007).

Diflubenzuron etkili maddeye sahip insektisitin bölgede uzun zamandır kullanıldığı bilinmektedir. Her ne kadar bu etkili maddeye sahip insektisitte düşük seviyede bir duyarlılık artışı belirlenmiş olsa da, diflubenzuron'a ait logoritmik doz ölüm eğrisinin incelenmesinden anlaşılabacağı gibi Tepeli popülasyonunun grafiğinin en

sağında yer alması gelecekte bu popülasyonda diflubenzuron'a karşı direncin artma ihtimali olabileceğini göstermektedir.

Stará and Kocourek (2007) 2003-2005 yıllarında kimyasal savaşım uygulanan farklı iki bahçeden topladıkları içkurdu popülasyonlarında diflubenzuron'a karşı duyarlılık kaybı olmadığını bildirmişlerdir. Sauphanor vd. (1998) diflubenzuron ile selekte ettikleri elma içkurdu popülasyonunda yüksek oranda diflubenzuron direnci geliştiğini bildirmişlerdir. Voudouris vd. (2011), Yunanistan'da farklı elma bahçelerinden topladıkları 33 adet 5. dönem larva 38 diyapoz larva popülasyonunda azinphos-methyl, phosalone, deltamethrin, thiacloprid, fenoxycarb, tebufenozide, methoxyfenozide diflubenzuron karşı direnç gelişip gelişmediğini incelemişlerdir ve bütün popülasyonların en az bir insektisite ve yaklaşık popülasyonların yarısının denemeye alınan bütün insektistlere direnç geliştirdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca dirençli popülasyonlarda yüksek oranda P450, GST ve estera z enzimi aktivitesi belirlediklerini rapor etmişlerdir.

Thiacloprid etkili maddesine sahip insektisitte ise kullanımının çok eski tarihlere dayanmamasına rağmen düşük ve orta düzeyde direnç belirlenmesi gelecekte direncin artması göz önüne alınarak kullanımında dikkatli olunması gereken bir özellikte olması nedeniyle önemlidir.

İmidacloprid'in 1991'de keşfinden bu yana neonikotinoidler yeni bir insektisit sınıfı olarak pazara girmiş ve insektisitlerin etki şekillerine göre IRAC tarafından yapılan gruplandırma da 4A grubunda yerini almıştır. Bu grup içinde yer alan aktif maddelerden imidacloprid'in halen dünyada en yaygın olarak kullanıldığını, thiacloprid ve acetamiprid'in arılara toksik olmadığı buna rağmen neonikotinoid sınıfında yer alan diğer insektisitlerin arılara zararlı olduğu bildirilmektedir (Jesckhe ve Nauen, 2008). Neonikotinoidler molekül özelliklerine göre kendi aralarında 1)-N-nitroguanidines (imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin ve dinotefuran), 2)-nitromethylenes (nitenpyram) ve 3)- N-cyano-amidines (acetamiprid ve thiacloprid) olarak 3 gruba ayrılırlar (Elbert vd., 2008). Jesckhe ve Nauen (2008), son yıllarda neonikotinoid insektisitlerin keşfinin bir dönüm noktası olduğu ve bu grubun pestisit pazarındaki payının devamlı arttığını bunun sebepleri arasında, hedef olmayan organizmalarda ve çevrede düşük riskli olması, belirli türlere özgü kullanım alanının

olması, uygulama olanaklarının çeşitliliği, bu önemli sınıfın IPM ve dayanıklılık yönetimi programı stratejileri içinde önemli bir yere sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Doğal alkoloid nikotinler gibi tüm neonikotinoidler seçici olarak böceklerin merkezi sinir sistemi üzerinde post sinaptik nikotinik asetilkolin reseptörlerine bağlı agonist olarak (agonistler, hücre reseptörlerine bağlanarak hücrede bir tepki oluşturan bileşiklerdir, genelde doğal olarak bulunan maddelerin davranışlarını taklit ederler) etki ederler. Sonuç olarak bu etki şekli ile neonikotinoidler, diğer insektisit sınıfları ile çapraz direnç oluşturmada için insektisit pazarında piretroitli, karbamatlı, organik fosforlu ve diğer gruplarda yer alan insektisitlerin yerini daha fazla almaya başlamıştır (Millar ve Denholm, 2007; Jesckhe ve Nauen, 2008; Elbert vd., 2008). 2006 yılında neonikotinoid insektisitler grubunun dünya genelinde yıllık satış rakamının 1.56 milyar dolar olduğu, toplam insektisit pazarı içindeki payının % 17'yi bulduğu bildirilmiştir (Jesckhe ve Nauen, 2008).

Reyes vd. (2007) Avrupa'dan 5 farklı ülkeden toplamış oldukları 47 elma içkurdunu popülasyonlarının incelemeye aldıkları 10 insektisitten en az birine direnç geliştirdiğini bildirmişlerdir. Azinphos-methyl, diflubenzuron, spinosad, tebufenozide ve thiacloprid ilaçlarına dirençli popülasyonlarda P450 enzim aktivitesinin yüksek olduğunu da bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar chlorpyrifos-ethyl duyarlılık kaybı belirlediklerini ancak direnç mekanizması hakkında yeterli veri sağlayamadıklarını rapor etmişlerdir.

Arjantin'in Río Negro and Neuquén vadisi en önemli elma ve armut yetiştiriciliği yapılan bölgesidir ve elma içkurdunu kontrol etmek için kullanılan insektisitler arasında azinphosmethyl (AzMe), acetamiprid (Acet), thiacloprid (Thia) ve diğer insektisitler bulunmaktadır. Çalışmanın amacının elma içkurdunun yeni çıkan larvaları üzerinde bu üç insektisitin toksisitesinde sitokrom P450 monooxygenaz enziminin rolünü belirlemek olduğu bildirilmiştir. Çalışmada tüm arazi popülasyonlarında AzMe ve Acet insektisitlerinin ayırıcı dozları önemli derecede düşük ölüm oranı göstermişlerdir. Buna ek olarak 14 popülasyondan 13'ünde Thia insektisinde ayırıcı dozda önemli derecede düşük ölüm oranı belirlenmiştir. Arazi popülasyonlarının çoğu (% 71) laboratuvardaki hassas popülasyon ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde daha yüksek bir 7-O-deethylase

ethoxycoumarine aktivitesi göstermiştir. Ayırıcı doz düzeyinde Thia ile AzMe ölüm oranları arasında önemli ilişki bulunurken, Acet ve Thia ile Acet ve AzMe arasındaki ilişki ise önemli bulunmamıştır. Bununla birlikte Acet ve Thia arasındaki ölüm oranları incelendiğinde, % 95 güven aralığı içinde ethoxycoumarine 7-O-deethylase aktivitesi hassas popülasyona göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum P450 ile ECOD aktivitesi arasında önemli bir ilişkinin olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar insektisit seçiminde aynı grup içinde insektisitlerin kullanımının en az seviyeye indirilmesi gerektiğini göstermekte olup, bu bölgede elma içkurdu mücadele stratejisinde bundan böyle novaluron ve rynaxypyr gibi farklı etki mekanizmaları olan insektisitlere yer verilebileceği bildirilmiştir (Cichon vd., 2013).

Elma içkurdunun bütün popülasyonları thiacloprid'e karşı 5 kat ve üzerinde direnç geliştirdiği için üç önemli detoksifikasyon enzimi (P450, GST ve estera) inhibitörü olan PBO, DEM ve DEF sinerjistlerinin sinerjistik oranları da incelenmiştir. Thiacloprid insektisiti ile sinerjistlerin sinerjistik oranları popülasyonlara göre değişmiştir. Ancak en yüksek ve istatistiki olarak önemi olan sinerjistik etkiler nispeten thiacloprid'e yüksek dirençli popülasyonlar Senirkent ve Gelendost popülasyonlarında belirlenmiştir. Senirkent popülasyonunda thiacloprid ile estera inhibitörü olan DEF 6.045 kat, P450 ve estera inhibitörü olan PBO 5.28 ve GST inhibitörü olan DEM de 5.19 kat sinerjistik oran göstermiştir. Senirkent popülasyonuna göre biraz daha az dirençli olan Gelendost popülasyonunda ise thiacloprid ile sadece DEF ve PBO önemli derecede sinerjistik etki göstermiştir.

Elma içkurdu popülasyonlarında yapılan biyokimyasal çalışmalara göre en yüksek estera enzimi Senirkent popülasyonunda belirlenmiştir. En az estera aktivitesi ise Yalvaç popülasyonunda belirlenmiştir. GST enzim aktivitesi popülasyonlara ve substratlara göre değişmekle birlikte, üç substrata görede en yüksek GST enzim aktivitesi Gelendost popülasyonunda, en az GST aktiviteside Yalvaç popülasyonunda belirlenmiştir. P450 enzim aktiviteside popülasyon ve substrata göre değişmiştir. PNOD substratına göre en yüksek Yalvaç en az ise hassas popülasyonda belirlenmiştir. 7-ECOD'a göre ise en yüksek Senirkent, en az ise Isparta ve Yalvaç popülasyonlarında belirlenmiştir.

Elma içkurdu populasyonlarının AChE enzim aktiviteleri ise ya hassas populasyonla aynı olmuştur, yada ondan daha az olmuştur. Chlorpyrifos ethyl, diflubenzuron ve chlorantraniliprole ilaçlarına karşı elma içkurdu populasyonlarında direnç belirlenemediği için bunların direnç mekanizması irdelenmemiştir. Ancak thiacloprid ilacına karşı düşük (Yalvaç, Serpil, Isparta ve Tepeli) ve orta düzeyde (Senirkent ve Gelendost) direnç mekanizması irdelenmiştir. Thiacloprid ilacının düşük oranda dirençli populasyonları ile sinerjistik çalışmaları ve biyokimyasal sonuçlar uyumlu bulunmamıştır. Bu nedenle düşük oranlı dirençli populasyonlardaki direnç başka ilaçlara maruz kalan populasyonlarda, başka ilaçlara direnç geliştirmiş olabileceği gibi düşük orandaki dirençlerde biyokimyasal mekanizmaların dışında da mekanizmaların olabileceğini işaret etmektedir. Ancak orta düzeyde dirençli populasyonlara hem sinerjistikler etkili olmuş, hemde biyokimyasal sonuçlar uyumlu olmuştur.

Özellikle thiacloprid ilacına en yüksek direnç gösteren Senirkent populasyonunda thiacloprid ilacı ile DEF 5.28, PBO 6.04 ve DEM 5.19 kat sinerjistik etki göstermiştir. Bu populasyonun bu sinerjistiklerin inhibe ettiği enzim miktarlarında hassas populasyondan yüksek çıkmıştır. Özellikle DEF'in inhibe ettiği esteraz enzimi bütün populasyonlar arasında en yüksek Senirkent populasyonunda belirlenmiştir. Ancak orta düzeyin alt sınırına yakın olarak orta düzeyde direnç gösteren Gelendost populasyonunda DEF ve PBO ile thiacloprid ilacı önemli oranda sinerjistik etki göstermesine karşın esteraz enzimi hassas populasyona göre yüksek çıkmasına rağmen istatistiki olarak önemli olmamıştır.

Sinerjistik etkinin yüksek olduğu diğer bir sinerjistik PBO'nun inhibe ettiği enzimi P450 enzimi 7-ECOD substratına göre en yüksek ve önemli derece de Senirkent populasyonunda belirlenmiştir. Burada da Gelendost populasyonun P450 enzim aktivitesi hassas populasyondan yüksek olmasına rağmen istatistiki olarak hassas populasyonla aynı gruptadır. Senirkent populasyonunda thiacloprid ilacı ile DEM'de önemli derecede sinerjistik etki göstermiştir. DEM'in inhibe ettiği GST enzimi Senirkent populasyonunda her üç substratlada hassas populasyona göre yüksek çıkmasına rağmen hassas populasyonla aynı grup içerisinde yer almıştır. Buna karşın Gelendost populasyonunda hassas populasyona göre DEM'in sinerjistik etkisi önemli olmamasına rağmen her üç substratla da GST enzimi önemli derecede yüksek

çıkılmıştır. Elde edilen bu verilere göre elma içkurdu'nda thiacloprid'in orta düzey ve üzerinde direcinde sırasıyla Esteraz, P450 ve GST enzimleri değişen oranlarda rol oynayabilir.

Sürdürülebilir meyve üretimi için başarılı zararlı kontrolü insektisitlerde görülen çapraz direnç yoluyla riske atılabilir. Halen kullanılmakta olan insektisitlere karşı direnç kazandıran mekanizmaların tanımlanması, zararlı kontrol stratejilerinin yeniden düzenlenmesi için temel oluşturur. Çalışmanın sonuçları dikkate alındığında sözkonusu pestisitler (thicloripid, acetamiprid, aziphos methyl) üzerinde özellikle P450 enzim aktivitesi etkin olduğu için elma içkurdu mücadelesi etkisiz olabilir. Örneğin spinoteram ile selekte edilmiş *C. rosaceana* popülasyonunda P450 enzim aktivitesinin arttığı bildirilmektedir (Sial vd., 2010).

Bununla birlikte, elma içkurdunda daha önceki çalışmalarda (Solano vd., 2008) birkaç arazi popülasyonunda hassas popülasyona göre esteraz enzim aktivitesinde artış görülmüştür. Bazı araştırmacılar *L. decemlineata*'da novalurona karşı olan direncin esteraz enzimi tarafından sağlandığını ileri sürmektedirler (Cutler vd., 2005). Ayrıca, rynaxypyr ile laboratuvarında seleksiyon yapılmış *C.rosaceana* popülasyonunda seleksiyon yapılmamış popülasyon ile karşılaştırıldığında daha yüksek esteraz aktivitesi görülmüştür (Sial vd., 2011).

Rodriguez vd. (2011), İspanya'da elma bahçelerinden topladıkları içkurdu popülasyonlarının bazı insektisit gruplarına direnç gösterdiğini ve monooxygenaz enzim aktivitesinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Reyes vd. (2011) *C. pomonella*'nın 1 hassas 2 dirençli popülasyonunu kullanarak direnç mekanizması üzerinde çalışmışlardır. Dirençli popülasyonda MO aktivitesinin arttığı, carboxylesteraz aktivitesinin ise kullanılan substrata göre değiştiği saptanmıştır. Dirençli popülasyonların birinde AChE aktivitesinde değişiklik gözlenmiş olup, chlorpyrifos için ethyl oxonun 0.7 kat, azinphos methyl oxon'nun 3.2 kat, para-oxon methyl'in 21.2 kat zararlının hassasiyetinde azalma olduğu belirlenmiştir. DEF 2 dirençli popülasyonda da 7.8 ve 8.2 kat sinerjizm oranı ile yüksek oranda etki göstermiş olup, DEM ve PBO popülasyonlardan birinde hassasiyeti yüksek oranda artırmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada *C. pomonella*'nın Isparta ili ve ilçelerinden toplanan 6 farklı popülasyonunda 4 farklı insektisite karşı direnç gelişimi incelenmiştir. Bu popülasyonlarda chlorantraniliprole ve chlorpyrifos ethyl'e karşı direnç belirlenemezken, diflubenzurona karşı düşük düzeyde (1.65-4.88 kat) duyarlılık kaybı belirlenirken, thiaclopride karşı (5.54-16.47 kat) direnç belirlenmiştir.

Chlorantraniliprole etkili maddeye sahip insektisit bölgemizde kullanıma yeni girmesi sebebiyle herhangi bir direnç belirlenememiştir. Mevcut sonuçlar göstermektedir ki daha önce kullanılan insektisitler ile bu etkili madde arasında çapraz direnç yoktur.

Ancak bölgede uzun yıllardır kullanılan chlorpyrifos ethyl'e karşı herhangi bir direnç belirlenemezken yaklaşık 10 yıllık bir kullanım uzunluğuna sahip olan thiacloprid'e karşı direnç belirlenmesi bu insektisitler arasında negatif çapraz direnç olabileceğini düşündürmektedir.

Diflubenzuron etkili maddeye sahip insektisit bölgede uzun zamandır kullanıldığı bilinmektedir. Her ne kadar bu etkili maddeye sahip insektisitte düşük seviyede bir duyarlılık artışı belirlenmiş olsa da, diflubenzuron'a ait logoritmik doz ölüm eğrisinin incelenmesinden anlaşılabacağı gibi Tepeli popülasyonunun grafiğinin en sağında yer alması gelecekte bu popülasyonda diflubenzuron'a karşı direncin artma ihtimali olabileceğini göstermektedir.

Thiacloprid etkili maddesine sahip insektisitte ise kullanımının çok eski tarihlere dayanmamasına rağmen düşük ve orta düzeyde direnç belirlenmesi gelecekte direncin artması göz önüne alınarak kullanımında dikkatli olunması gereken bir özellikte olması nedeniyle önemlidir.

Tarım ürünlerinde ekonomik kayıplara neden zararlı türlerle doğru savaşım yapmak son derece önemlidir. Günümüzde hala ülkemizde ve dünyada zararlılarla savaşımında en etkili ve en çok kullanılan savaşım yöntemi kimyasal savaşım yöntemidir. Bu savaşım yönteminin birçok olumlu yönü olduğu gibi birçok olumsuz yönü de vardır. Olumsuz yönlerin başında da zararlı türlerin kullanılan ilaçlara direnç geliştirmesidir.

Zararlı türlerin ilaçlara direnç geliştirmesi hem savaşımda başarısızlığa neden olacaktır, hemde diğer olumsuz yönlerin (çevre kirliliği, kalıntı, faydalı türlere yan etki vb.) şiddetini artıracaktır. Aynı zamanda elma üretim maliyetini artırarak üreticiye ve tüketiciye negatif yansımaları olacaktır. Diğer taraftan zararlılarda istenmeyen bu durum faydalı böcek ve akarlarda istenen bir durumdur. Bu nedenle zararlı ve faydalı türlerde direnç yönetimi önemlidir ve bu durumun Entegre Savaşım Yöntemleri içerisinde yer almasında yarar vardır. Direnç yönetiminde başarılı olmak için zararlı ve faydalılarda uygun direnç belirleme yöntemlerinin ve direnç mekanizmalarının bilinmesi önemlidir.

Bu çalışmanın; elmanın ana zararlısı olan elma içkurdunda, Ülkemiz elma üretiminin % 22'sini karşılayan ve yoğun ilaç kullanımı olan Isparta'da, 1970'li yıllardan bu yana ilk kez yapılması oldukça önemlidir. Çalışmada ortaya çıkan bilgiler doğrultusunda; elma içkurdu mücadelesinde, farklı etki mekanizmalarına sahip insektisitlerin dönüşümlü olarak kullanılması, insektisitlerin zamanında ve önerilen dozları dışında kullanılmaması, Entegre mücadele anlayışı içinde farklı savaş metotlarına da yer verilmesi gerekmektedir. Bu tür çalışmalar elma içkurdun da daha sonra yapılacak direnç çalışmalarına da altyapı hazırlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Anonim, 2002. Bitki Koruma Ürünleri. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 336 s. Ankara.
- Anonymous, 2004. S,S,S-Tributyl Phosphorotrithioate (Tribufos) Risk Characterization Document (Revision No. 1). Medical Toxicology and Worker Health and Safety Branches Department of Pesticide Regulation California Environmental Protection Agency.
- Anonim, 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları, 4. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara. 154 s.
- Anonymous, 2012. Erişim tarihi: 10.05.2013. <http://www.irac-online.org/content/uploads/S3IRAC-US.pdf>.
- Anonim, 2014. Türkiye İstatistik Kurumu Bitkisel Üretim İstatistikleri. Erişim tarihi: 02.03.2014. <http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?altid=1001>. 2012 Isparta Elma Üretimi.
- Anonymous, 2014 a. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT) Erişim tarihi: 02.03.2014. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567anchor>.
- Anonymous, 2014 b. Compendium of Pesticide Common Names. Erişim Tarihi: 19.06.2014. <http://www.alanwood.net/pesticides/chlorpyrifos.html>
- Anonymous, 2014 c. Technical Bulletin. Erişim Tarihi: 04.08.2014. http://www2.dupont.com/Production_Agriculture/en_US/assets/downloads/pdfs/Rynaxypyr_Tech_Bulletin.pdf.
- Anonymous, 2014 d. Compendium of Pesticide Common Names. Erişim Tarihi: 04.08.2014. <http://www.alanwood.net/pesticides/diflubenzuron.html>.
- Anonymous, 2014 e. Compendium of Pesticide Common Names. Erişim Tarihi: 04.08.2014. <http://www.alanwood.net/pesticides/piperonyl%20butoxide.html>.
- Anonymous, 2014 f. Compendium of Pesticide Common Names. Erişim Tarihi: 15.07.2014. <http://www.alanwood.net/pesticides/tribufos.html>.
- Anonymous, 2014 g. Erişim Tarihi: 16.07.2014. <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w505005?lang=en®ion=TR>.
- Ay, R. ve Gürkan, M., O., 2005. *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae)'nin Değişik Populasyonlarının İki Selektif Akarisite Karşı Duyarlılıkları ve Duyarlılık Mekanizmaları Üzerinde Araştırmalar. Tarım Bilimleri Dergisi. 11 (2), 217-223.

- Ay, R. ve Sökeli, E., 2005. Böceklerde Direnç Yönetimi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 9-1, 1-4.
- Ay, R., Yorulmaz Salman, S., İşci, M., Yaman, Y., 2013. Böceklerde İnsektisit Direnç Yönetimi. Bitki Koruma Ürünleri ve Makineleri Kongresi. 1, 269-281 s.
- Beers, E.H., Brunner, J.F., Willet, M.J., Warner, G.M., 1993. Orchard Pest Management. Washington, Washington. 276 p.
- Beers, E. H., Suckling, D. M., Prokopy, R. J., Avilla, J., 2000. Apple. Chapter 19: Ecology and Management of Apple Arthropod Pests in Apples Botany, Production and Uses Book. Cabi Publishing ISBN: 0851995926 USA. 489-519 p.
- Berling, M., Lopez, C. B., Soubabere, O., Lery, X., Bonhomme, A., Sauphanor, B., Ferber, M., 2009. *Cydia pomonella granulovirus* Genotypes Overcome Virus Resistance in the Codling Moth and Improve Virus Efficiency by Selection against Resistant Hosts. Applied and Environmental Microbiology. 75(4), 925.
- Bouvier, J., C., Cuany, A., Monier, C., Brosse, V., Sauphanor, B., 1998. Enzymatic Diagnosis of Resistance to Deltamethrin in Diapausing Larvae of the Codling Moth, *Cydia pomonella* (L.). Archives. Insect Biochemistry and Physiology. 39, 55–64.
- Bouvier, J., C., Buei S, R., Boivin, T., Boudinhon, L., Beslay, D., Sauphanor, B., 2001. Deltamethrin Resistance in the Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae): Inheritance and Number of Genes Involved Heredity. 87, 456–462.
- Bradford, M., M., 1976. A Rapid, Sensitiv Method for the Quantitation of Microgramm Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein – dye Binding. Analytical Biochemistry. 72, 248-254.
- Cassanelli, S., Reyes, M., Rault, M., Manicardi, G.C., Sauphanor, B., 2006. Acetylcholinesterase Mutation in an Insecticide-resistant Population of the Codling Moth *Cydia pomonella* (L.). Insect Biochemistry and Molecular Biology. 36, 642–653.
- Cichon, L. B., Soleno, J., Anguiano, O. L., Garrido, S.A.S., Montagna, C. M., 2013. Evaluation of Cytochrome P450 Activity in Field Populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) Resistant to Azinphosmethyl, Acetamiprid, and Thiacloprid. Journal of Economic Entomology. 106 (2), 939-944
- Cutler, C. G., C. D. Scott–Dupree, J. H. Tolman, C. Ronald Harris., 2005. Acute and Sublethal Toxicity of Novaluron, a Novel Chitin Synthesis Inhibitor, to *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). Pest Management Science. 61, 1060-1068.

- Çakır, Ş. ve Ş. Yamanel, 2005. Böceklerde İnsektisitlere Direnç. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi. 6(1), 21-29.
- Demircan, V. ve Yılmaz, H., 2005. Isparta İli Elma Üretiminde Tarımsal İlaç Kullanımının Çevresel Duyarlılık ve Ekonomik Açından Analizi. Ekoloji, 15-25.
- Demircan, V., Yılmaz, H., Binici, T., 2005. Isparta İlinde Elma Üretim Maliyeti ve Gelirinin Belirlenmesi. Tarım Ekonomisi Dergisi. 11 (2),71-80.
- Dindar, Ö.N., 1992. *Ceratitis capitata* (Wied.)'nın Değişik Populasyonlarında Malathon'a Karşı Direncin Bazı Yöntemlerle Saptanması Üzerinde Araştırmalar. Doktora tezi (basılmamış). Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Dunley, J., E. ve Welter, S., C., 2000. Correlated Insecticide Cross-resistance in Azinphosmethyl Resistant Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae). Journal of Economic Entomology. 93(3), 955–962.
- Elbert, A., Haas, M., Springer, B., Thielert, W., Nauen, R., 2008. Mini-review Applied Aspects of Neonicotinoid Uses in Crop Protection. Pest Management Science. 64, 1099–1105.
- Epa, 2008. Pesticide Fact Sheet (Chlorantraniliprole). United States Environmental Protection Agency Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, 77p. Erişim Tarihi: 04.08.2014. http://www.epa.gov/opp00001/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-090100_01-Apr-08.pdf.
- Erkam, B. ve Gürkan, S., 1983. Marmara Bölgesi Meyve Ağaçlarında Zararlı Avrupa Kırmızı Örümceği (*Panonychus Ulmi* Koch.)'in Akarisitlere Karşı Direnci Üzerinde Ön Çalışmalar. Bitki Koruma Bülteni, 23(3), 115-123.
- Ersoy, G., 1976. Elma içkurdu (*Laspesia pomonella* L.)'nun İnsektisitlere Karşı Direnci Üzerinde Araştırmalar. Ankara Ziraî Mücadele İlaç ve Alet Enstitüsü Çalışmalarından (basılmamış).
- Fao, 2012. Guidelines on Prevention and Management of Pesticide Resistance. 55pp.
- Fuentes-Contreras, E., Reyes, M., Barros, W. , Sauphanor, B., 2007. Evaluation of Azinphos-methyl Resistance and Activity of Detoxifyingenzymes in Codling Moth (Lepidoptera:Tortricidae) from Central Chile. Journal of Economic Entomology. 100 (2), 551-556.
- Giray, H., 1977. Böceklerin İnsektisitlere Karşı Dayanıklılığı. Türkiye Bitki Koruma Dergisi. 1 (1), 29-38.
- Gunning, R.V., Moores, G.D., Devonshire, A.L., 1999. Esterase Inhibitors Synergise the Toxicity of Prethroids in Australian *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). Pesticide Biochemistry and Physiology. 63, 50-62.

- Hoskins, W. M., 1960. Use of the Dosage-mortality Curve in Quantitative Estimation of Insecticide Resistance. Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America. 2 (1), 85-91.
- Hough, W. S., 1928. Relative Resistance to Arsenical Poisoning of Two Codling Moth Strains. Journal of Economic Entomology. 21, 325-329.
- Huang S. ve Han Z., 2007. Mechanisms for Multiple Resistances in Field Populations of Common Cutworm, *Spodoptera litura* (Fabricus) in China. Pesticide Biochemistry and Physiology. 87 (1), 14-22.
- Ioriatti, C., Tasin, M., Charmillot, P., J., Reyes, M., Sauphanor B., 2007. Early Detection of Resistance to Tebufenozide in Field Populations of *Cydia pomonella* l. Methods and Mechanisms. Journal of Applied Entomology. 131(7), 453-459.
- İren, Z. 1966. Bazı İllerimizde Elma İç Kurdu (*Carpocapsa pomonella* L.)'na Karşı Mücadele, DDT'ye Mukavemet Konusu ve Sevin'in Meyva Seyreltmesini Tetkik Bakımından Yapılan Çalışmalar. Bitki Koruma Bülteni, 6,49-66.
- İşci, M., Tuncer, C., 2009. Elma İçkurdu [*Cydia pomonella* (L.) Lep.: Tortricidae]'nın Farklı Elma Çeşitlerindeki Zarar Oranlarının Belirlenmesi. Türkiye 3. Bitki Koruma Kongresi, S, 12.Van.
- Jeschke, P. ve Nauen, R., 2008. Review Neonicotinoids – from Zero to Hero in Insecticide Chemistry. Pest Management Science. 64, 1084-1098.
- Kaymak, S. ve İşci, M., 2011. Bitki Koruma (Bölüm:14, Elma Zararlıları). Elma Kültürü, Akgül, H., Kaçal, E., Öztürk, P., Ozongun, Ş., Atasay, A., Öztürk, G. (Ed.). Eğirdir Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü, Yayın no: 37, 313-393 s., Kitap Bölümü. Isparta.
- Khakame, S.K., Wang, X., Wu, Y., 2013. Baseline Toxicity of Metaflumizone and Lack of Cross Resistance between Indoxacarb and Metaflumizone in Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Economic Entomology. 106, 1423-1429.
- Kim, Y., J., Lee, S., H., Lee, S., W., Ahn, Y., J., 2004. Fenpyroximate Resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): Cross-resistance and Biochemical Resistance Mechanisms. Pest Management Science. 60 (10), 1001-1006.
- Knight, A., L., Dunley, J., E , Jansson R., K., 2001. Baseline Monitoring of Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae) Larval Response to Benzoylhydrazine Insecticides. Journal of Economic Entomology. 94 (1), 264-270.
- Knight, A. L., 2010. Cross-resistance Between Azinphosmethyl and Acetamiprid in Populations of Codling Moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), from Washington State. Pest Management Science. 66, 865-874.

- Koh, S. H., Ahn, J., Im, J. S., Jung, C., Lee, S. H., Lee, J. H. 2009. "Monitoring of Acaricide Resistance of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from Korean Apple Orchards". Journal of Asia-Pacific Entomology. 12(1), 15-21.
- Kumral, A., Kovanci B. 2007. Susceptibility of Female Populations of *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae) to Some Acaricides in Apple Orchards, Journal of Pest Science. 80, 131-137.
- Kumral, N.A., Susurluk, H., Gençer, N.S., Gürkan, M.O., 2009. Resistance to Chlorpyrifos and Lambda-cyhalothrin along with Detoxifying Enzyme Activities in Field-collected Female Populations of European Red Mite, Phytoparasitica. 37, 7-15.
- Lai, T., Su, J., 2011. Assessment of Resistance Risk in *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to Chlorantraniliprole. Pest Management Science. 67, 1468-1472.
- LeOra Software, 1994. Polo-pc: A User' s Guide to Probit or Logit Analysis Leora Software, 28 p. Berkeley.
- Martin, T., Ochou, O.G., Vaissayre, M., Fournier, D., 2002. Positive and Negative Cross-resistance to Pyrethroids in *Helicoverpa armigera* from West Africa. Resistance Pest Management Newsletter. 12 (1), 16-19.
- Melander, A.L., 1914. Can Insect Become Resistant to Sprays? Journal of Economic Entomology. 7, 167-173.
- Millar, N.S. ve Denholm, I., 2007. Nicotinic Acetylcholine Receptors: Targets for Commercially Important Insecticides. Invertebrate Neuroscience. 7, 53-66.
- Mota-Sanchez, D., Wise, J., C., Poppen, R., V., Gut, L., J. , Hollingworth, R., W., 2008. Resistance of Codling Moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), Larvae in Michigan to Insecticides with different Modes of Action and the Impact on Field Residual Activity. Pest Management Science. 6 (9), 881-890.
- Öncüer, C., 2004. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, No: 19, 424 s. Aydın.
- Öncüer, C. ve Durmuşoğlu, E., 2008. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, No: 28, 472 s. Aydın.
- Qian L., Cao, G., Song, J., Yin, Q. , Han, Z., 2008. Biochemical Mechanisms Conferring Cross-resistance Between Tebufenozide and Abamectin in *Plutella xylostella*. Pesticide Biochemistry and Physiology. 91, 175-179
- Pedigo, L. P., Rice, M. E., 2009. Entomology and Pest Management (Sixth Edition). Pearson Prentice Hall, New Jersey. 784 p.

- Reuveny, H. ve Cohen, E., 2004. Evaluation of Mechanisms of Azinphos-methyl Resistance in the Codling Moth *Cydia pomonella* (L.). Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 57, 92–100.
- Reuveny, H. ve Cohen, E., 2007. Toxicity of Azinphos-methyl to Various Development Stages of the Codling Moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). Pest Management Science. 63, 129–133.
- Reyes, M., Franck, P., Charmillot, P., J., Ioriatti, C., Olivares, J., Edison Pasqualini, E., Sauphanor, B., 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., Collange, B., Rault, M., Casanelli, S., Sauphanor, B. 2011. Combined Detoxification Mechanisms and Target Mutation Fail to Confer a High Level of Resistance to Organophosphates in *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). Pesticide Biochemistry and Physiology. 99, 25-32.
- Rodríguez, M. A., Marques, T., Bosch, D., Avilla, J. 2010. Susceptibility to Organophosphate Insecticides and Activity of Detoxifying Enzymes in Spanish Populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). Journal of Economic Entomology. 103 (2), 482-491.
- Rodríguez, M. A., Marques, T., Bosch, D., Avilla, J., 2011. “Assessment of Insecticide Resistance in Eggs and Neonate Larvae of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae)”. Pesticide Biochemistry and Physiology. 100(2), 151-159.
- Sauphanor, B., Cuany, A., Bouvier, J., C., Brosse, V., Amichot, M., Berge, J., B., 1997. Mechanism of Resistance to Deltamethrin in *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). Pesticide Biochemistry and Physiology. 58, 109–117.
- Sauphanor, B., Brosse, V., Monier, C., Bouvier, J.C., 1998. Differential Ovicidal and Larvicidal Resistance to Benzoylureas in the Codling Moth. *Cydia pomonella*, Entomologia Experimentalis et Applicata. 88, 247–253.
- Sauphanor, B., Bouvier, J., C. , Brosse, V., 1999. Effect of an Ecdysteroid Agonist, Tebufenozide, on the Completion of Diapause in Susceptible and Resistant Strains of the Codling Moth, *Cydia pomonella*. Entomologia Experimentalis et Applicata. 90, 157–165.
- Sanchez, D., M., Wise, J., C., Poppen, R., V., Gut, L., J. , Hollingworth, R., M., 2008. Resistance of Codling Moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), Larvae in Michigan to Insecticides with Different Modes of Action and the Impact on Field Residual Activity. Pest Management Science. 64, 881–890
- Schmitt, A., Bisutti, I. L., Ladurner, E., Benuzzi, M., Sauphanor, B., Kienzle, J., Zingg, D., Undorf-Spahn, K., Fritsch, E., Huber, J., Jehle, J. A., 2013. “The

- Occurrence and Distribution of Resistance of Codling Moth to *Cydia pomonella* Granulovirus in Europe”. Journal of Applied Entomology. 137 (9), 641-649.
- Sial, A.A., Brunner, J.F., Doerr, M.D., 2010. Susceptibility of *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) to Two New Reduced-risk Insecticides. Journal of Economic Entomology. 103, 140-146.
- Sial, A. A., J. F. Brunner, S. F. Garczynski. 2011. Biochemical Characterization of Chlorantraniliprole and Spinetoram Resistance in Laboratory-selected Obliquebanded Leafroller, *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae). Pesticide Biochemistry and Physiology. 99, 274-279.
- Sial, A.A., Brunner, J.F., 2012. Baseline Toxicity and Stage Specificity of Recently Developed Reduced-risk Insecticides Chlorantraniliprole and Spinetoram to Obliquebanded Leafroller, *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae). Pest Management Science. 68, 469-475.
- Soderlund, D. M. 1997. “Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance. (Molecular Mechanisms of Resistance to Agrochemicals, Volume Ed: Sjut, V., Chemistry of Plant Protection, Ed: Ebing, V.)”. Springer Germany, 13, 21-73.
- Soleno, J., Anguiano, L., D’Angelo, A., P., Cicho, L., Fernandez, D., Montagna, C., 2008. Toxicological and Biochemical Responseto Azinphos-methyl in *Cydia pomonella* l.(Lepidoptera: Tortricidae) among Orchardsfrom the Argentinian Patagonia. Pest Management Science. 64, 964–970.
- Sökeli, E., Ay, R., Karaca, İ., 2007. Determination of the Resistance Level of Two-Spotted Spider Mite (*Tetranychus urticae* Koch) Populations in Apple Orchards in Isparta Province Against Some Pesticide, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi. Tarım Bilimleri Dergisi. 13 (4), 326-330.
- Stara, J., Kocourek, F., 2007. Insecticidal Resistance and Cross-resistance in Populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) in Central Europe. Journal of Economic Entomology. 100 (5), 1587-1592.
- Stumpf, N., Zebitz, C. P. W., Kraus, W., Moores, G. D., Nauen, R., 2001. “Resistance to Organophosphates and Biochemical Genotyping of Acetylcholinesterases in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)”. Pesticide Biochemistry and Physiology. 69, 131-142.
- Su, J., Lai, T., Li, J., 2012. Susceptibility of Field Populations of *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) in China to Chlorantraniliprole and the Activities of Detoxification Enzymes. Crop Protection 42, 217-222.
- Su, J. ve Sun, X-X., 2014. High Level of Metaflumizone Resistance and Multiple Insecticide Resistance in Field Populations of *Spodoptera exigua*

(Lepidoptera:Noctuidae) in Guangdong Province, China. Crop Protection. 61, 58-63

- Susurluk, H., 2008. İki benekli Kırmızıörümcek *Tetranychus urticae* Koch (Acarina:Tetranychidae)'de Piretroid İnsektisitler Karşı Oluşan Direncin Moleküler Karekterizasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi,153 s, Ankara.
- Toros, S., Maden, S., Sözeri, S., 2001. Tarımsal Savasım Yöntem ve İlaçları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1520, 417s. Ankara.
- 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, 417-427.
- Uğurlu, S., 2001. *Heliothis armigera* (HUBN.) (Lepidoptera: Noctuidae)' nin Değişik Populasyonlarının Bazı İnsektisitlere Karşı Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Doktora Tezi, 86 s, Ankara.
- Uğurlu Karaağaç, S., Konuş, M., Büyük, M., 2013. Determination of Susceptibility Levels of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Noctuidae: Lepidoptera) Strains Collected from Different Regions to Some Insecticides in Turkey. Journal of . Entomological Research Society. 15 (1), 37-45.
- Undorf-Spahn, K., Fritsch, E., Huber, J., Kienzle, J., Zebitz, C. P., Jehle, J. A., 2012. “ High Stability and No Fitness Costs of The Resistance of Codling Moth to *Cydia pomonella* Granulovirus (CpGV-M)” Journal of Invertebrate Pathology. 111 (2), 136-142.
- Ünal, G., Gürkan , M. O., 2001. İnsektisitler Kimyasal Yapıları, Toksikolojileri ve Ekotoksikolojileri , 1. Baskı, Ankara, 159 s.
- Van Leeuwen, T., Stillatus, V., Tirry, L., 2004. Genetic Analysis and Cross-Resistance Spectrum of a Laboratory-Selected Chlorfenapry Resistant Strain of Two-spotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae). Experimental & Applied Acarology. 32, 249-261.
- Van Leeuwen, T. ve Tirry, L., 2007. Esterase-mediated Bifenthrin Resistance in a Multiresistant Strain of the Two-spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae*. Pest Management Science. 63 (2), 150-156.
- Velioğlu, A.S., 1999. Değişik Bölgelerden Toplanan *Myzus persicae* (Sulz.) Populasyonlarının Farklı Gruptan Bazı İnsektisitlere Karşı Duyarlılık Farklarının Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar. Doktora tezi (Basılmamış). Ankara Üniversitesi, Ankara.

- Velioğlu, A. S., Toros, S., 2002. Değişik Bölgelerden Toplanan *Myzus persicae* (Sulz.) (Hom.:Aphididae) Popülasyonlarının Bazı İnsektisitlere Karşı Dayanıklılık Düzeylerinin Araştırılması. Bitki Koruma Bülteni, 42 (1-4), 67-79.
- Voudouris, C. C., Sauphanor, B., Franck, P., Reyes, M., Mamuris, Z., Tsitsipis, J. A., Vontas, J., Margaritopoulos, J. T., 2011. "Insecticide Resistance Status of The Bodling Moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) from Greece", Pesticide Biochemistry and Physiology, 100 (3), 229-238.
- Wang, W., Mo, J., Cheng, J., Zhuang, P., Thang, Z., 2006. Selection and Characterization of Spinosad Resistance in *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Pesticide Biochemistry and Physiology, 84,180-187
- Wang, D., Qiu, X., Ren, X., Niu, F., Wang, K., 2009. Resistance Selection and Biochemical Characterization of Spinosad Resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera:Noctuidae). Pesticide Biochemistry and Physiology. 95, 90-94.
- Wang, X.L., Li, X.Y., Shen, A.D., Wu, Y.D., 2010. Baseline Susceptibility of Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae) to Chlorantraniliprole in China. Journal of Economic Entomology. 103, 843-848.
- Yorulmaz, S., 2008. "Tetranychus urticae Koch. (Acarine:Tetranychidae)'nin Üç Farklı İnsektisit-Akarisit ile Seleksiyonundan Sonra Çoklu Direnç ve Bazı Enzim Düzeylerinin İncelenmesi "Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 96 s, Isparta.
- Yorulmaz, S. ve Ay, R., 2010. Akar ve Böceklerde Pestisitlerin Detoksifikasyonunda Rol Oynayan Enzimler. Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi 24, (2), 137-148.
- Yorulmaz, S., Kaplan, P., Boztürk, D., Çobanoğlu, S., Ay, R., 2010. Isparta Elma Bahçelerinden Toplanan *Tetranychus urticae* Koch. (Acarina: Tetranychidae) Popülasyonlarının Propargite ve Cyhexatin'e Karşı Duyarlılıklarının Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 5 (1), 17-23
- Yorulmaz ve Ay, 2012. Isparta İli Elma Bahçelerinden Toplanan Avcı Akar *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) Popülasyonlarının Bazı Akarisitlere Karşı Direnç Düzeyleri ve Direnç Mekanizmaları. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 16-2, 122-132.
- Yu S.J., 2008. The Toxicology and Biochemistry of Insecticides. CRC Press. 276 p.

EKLER

EK A. Elektroforez yönteminde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

EK B. Microplate reader’da esteraz enziminin kinetik olarak okunmasında kullanılan çözeltilerin hazırlanması

EK C. Microplate reader’da GST enziminin kinetik olarak okunmasında kullanılan çözeltilerin hazırlanması

EK. A.

Elektroforez yönteminde kullanılan çözeltilerin hazırlanması

A1. % 7.5' lik poliakrilamid jel' in hazırlanması

1. Stok akrilamid solüsyonu, 30 g akrilamid ve 0.8 g bis-akrilamid tartılır, saf su ile hacmi 100 ml'ye tamamlanır. Whatman 1 nolu filtreden süzildükten sonra koyu renkli bir şişeye konarak +4 °C saklanabilir.

2. Yoğun jel buffer: 1.5 M Tris-HCL, Ph: 8

18.5 g Tris base yaklaşık 80 ml saf su' da çözündürülür ve pH 8.8'e HCL ile ayarlandıktan sonra hacim 100 ml'ye tamamlanır ve +4 °C' de saklanır.

3. Seyreltik jel buffer: 0.5 M Tris-HCL Ph: 6.8

6 g Tris base yaklaşık 80 ml saf suda çözündürülür ve pH 6.8' e HCL ile ayarlandıktan sonra hacim 100 ml' ye tamamlanır ve +4 °C' de saklanır.

4. % 10 Amonyum persulfate çözeltisi

10 g Amonyum persulfate 100 ml saf su'da çözündürülür ve +4 °C' de en fazla 7 gün saklanabilir.

Yukarıda açıklanan çözeltiler hazırlandıktan sonra, aşağıda açıklanan miktarlarda karıştırılarak % 7.5' lik poliakrilamid jel hazırlanır.

7.5 ml stok akrilamid

7.5 ml Yoğun jel buffer

14.85 ml saf su

150 µl % 10 amonyum persulfate

15 µl TEMED

Taze olarak hazırlanan bu çözelti, el oluşturmak için hemen kullanılmalıdır.

% 3.5'lik poliakriamid jelin hazırlanması:

1.5 ml stok akrilamid

3 ml seyreltik jel buffer

7.4 ml saf su

100 µl % 10' luk amonyumpersulfate

15 µl TEMED karıştırılarak % 3.5' lik poliakrilamid jel hazırlanır. Bu çözelti taze hazırlanmalı ve hemen kullanılmalıdır.

A2. Elektrot Buffer (Glycine buffer, pH: 8.3)

3 g Tris base ve 14.4 glycine saf suda çözündürülür ve hacim 1 l' ye tamamlanır. Son hacmin pH'sı 8.3'e ayarlanmalıdır.

A3. Boya Solusyonu

Bunun için önce % 1 aseton içeren 0.2 M fosfat buffer hazırlanmalıdır.

1) 0.2 M fosfat buffer (pH: 6.5)

Fosfat buffer için öncelikle A ve B şeklinde iki çözelti hazırlanmalıdır.

a) 0.2 M NaH_2PO_4 için 31.21 g NaH_2PO_4 tartılır, 1 l' ye % 1 aseton içeren saf su ile tamamlanır.

b) 0.2 M Na_2HPO_4 için, 71.64 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ tartılır, 1 l' ye % 1 aseton içeren saf su ile tamamlanır.

c) 62.5 ml A çözeltisi 37.5 B çözeltisi ile karıştırılır ve pH kontrol edilir ve son hacim % 1 aseton içeren saf su ile 200 ml' ye tamamlanır.

2) % 0.02 (w/v) α -naphthylacetat çözeltisi:

% 0.04g α -naphthylacetat tartılarak 200 ml 0.2 M fosfat buffer içerisinde çözündürülür ve whatman kağıdı ile süzülür.

3) % 0.4 (w/v) Fast blue BB salt çözeltisi:

0.4 g fast blue salt tartılır ve 2 nolu çözeltinin 100ml' si içerisinde çözündürülür. Bu çözelti hazırlanınca whatman kağıdın da süzülür ve taze olarak kullanılır.

A.4. Fikzasyon sıvısı

70 ml' lik asetik asit 1 l saf su ile tamamlanır.

EK. B.

Microplate reader' da esteraz enziminin kinetik olarak okunmasında kullanılan çözeltilerin hazırlanması

B.1. 0.1 M sodium fosfat buffer (pH: 7.5)

Sodium fosfat buffer hazırlamak için öncelikle A ve B şeklinde iki çözelti hazırlanmalıdır.

a) 13.9 gr NaH_2PO_4 tartılır ve 500 ml destile suda çözülerek A çözeltisi hazırlanır.

b) 53.65 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılır ve 1 lt destile suda çözülerek B çözeltisi hazırlanır.

0.248 ml A çözeltisi ve 252 ml B çözeltisi karıştırılarak 0.1 M pH: 7.5' a ayarlanır ve hacim saf su ile 600 ml' ye tamamlanır.

B.2. 0.2 M sodium fosfat buffer (pH: 6)

Öncelikle A ve B şeklinde iki çözelti hazırlanmalıdır.

a) 27.8 gr NaH_2PO_4 tartılır ve 1 lt destile suda çözülerek A çözeltisi hazırlanır.

b) 71.7 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılır ve 1 lt destile suda çözülerek B çözeltisi hazırlanır.

87.7 ml A çözeltisi ve 12.3 ml B çözeltisi karıştırılır ve son hacim destile su ile 200 ml' ye tamamlanır.

EK. C

Microplate reader' da GST enziminin kinetik olarak okunmasında kullanılan çözeltilerin hazırlanması

C.1. 0.05 M Tris HCL Buffer (pH: 7.5)

0.5 g Tris base ve 3.175 g Tris hidroximetil tartılır. Karışım 500 ml destile suda eritilerek pH HCL ile 7.5' e ayarlanır.

C.2. GSH

0.0368 gr glutathion tartılır 10 ml Tris HCl buffer da çözülür.

C.3. CDNB

0.242 gr CDNB tartılır ve 10 ml ethanol' de çözülür. Bu çözeltiden 10 µl alınarak 990 µl Tris HCL buffer içerisinde çözülür.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: :Mesut İŞCİ
Doğum Yeri ve Yılı :Seydişehir, 1973
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta :misci2@hotmail.com.tr



Eğitim ve Akademik Durumu

Lise :1988-1992 Manisa Beydere Ziraat Meslek Lisesi
Lisans :1994-1998 YYÜ, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü
Yüksek Lisans :2004-2008 Selçuk Ü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı

Mesleki Deneyim

Ağrı Tarım İl Müd. :1992-1994 Ziraat Teknisyeni
Van Tarım İl Müd :1994-2002 Ziraat Teknisyeni-Ziraat Mühendisi
Batman Tarım İl Müd :2002-2003 Bitki Koruma Şube Müdürü
Meyvecilik Araştırma İst. :2003- (devam ediyor). Bitki Sağlığı Bölüm Başkanı

Yayınları

İşci, M., 2008. Meyvecilikte Hastalık ve Zararlılar. Bodur Meyve Yetiştiriciliği Eğitimi Projesi, s.67-122. AB Aktif İstihdam Tedbirleri Hibe Planı, Zonguldak.

Kaymak, S., Boyraz, N., **İşci, M.**, Dolunay, E.M., Özongun, Ş., 2008. MM 106 Anaçlı Bazı Elma Çeşitlerinin Elma Kara Lekesi Hastalığı (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.)'na Karşı Dayanıklılık Reaksiyonlarının Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 22 (46), 59-66 Issn:1300-5774.

- İşci, M.,** Tuncer, C., 2009. Elma İçkurdu [*Cydia pomonella* (L.) Lep.:Tortricidae]'nın Farklı Elma Çeşitlerindeki Zarar Oranlarının Belirlenmesi, S: 12. Türkiye 3. Bitki Koruma Kongresi.
- İşci, M.,** Kaymak, S., Atasay, A., Pektaş, M., Şenyurt, H., Öztürk, Y., Aksu, M., 2009. Eğirdir (Isparta) Koşullarında Elma İçkurdu [*Cydia pomonella*(L.) Lep.: Tortricidae] Mücadelesinde Çiftleşmeyi Engelleme Yönteminin Etkinliğinin Belirlenmesi, S: 57. Türkiye 3. Bitki Koruma Kongresi.
- Kaymak, S., Pektaş, M., **İşci, M.,** Öztürk, Y., Şenyurt, H., 2009. Qa (Qince A) Ve Çöğür Anaçlarına Aşılı Bazı Armut Çeşitlerinde Memeli Pas Hastalığı (*Gymnosporangium fuscum* D.C.)'na Karşı Reaksiyonların Belirlenmesi, S:229,Türkiye 3. Bitki Koruma Kongresi.
- Atasay,A., **İşci, M.,** Uçgun, K., Kaymak, S., Özyiğit, S., Özdem, A., Zeki, C., 2009. Organik Kiraz Yetiştiriciliğinde Farklı Klon Anaçlarının Çiçeklenme, Meyve Verim ve Kalitesi Üzerine Etkileri 1.Gap Organik Tarım Kongresi.
- Kaymak, S., **İşci, M.,** Karakuş, A., Özgönen, H., 2009. MM 106 Anaçlı Elma Genetik Kaynaklarının Elma Kara Lekesi Hastalığı (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint.) na Karşı Dayanıklılık Reaksiyonlarının Belirlenmesi, S: 160, Türkiye 3. Bitki Koruma Kongresi.
- Aydar, A., Sabahoğlu, Y., Zeki, C., **İşci, M.,** 2010. Elma Bahçelerinde Elma İçkurdu *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) Mücadelesinde Yardımcı Hava Akımlı Hidrolik Bahçe Pülverizatörünün Biyolojik Performansının Belirlenmesi, Bitki Koruma Bülteni. 50(2), 51-63.
- Atasay, A., **İşci, M.,** Uçgun, K., Öztürk, G., Kaymak, S., Akgül, H., 2010. Organik ve Konvansiyonel Olarak Yetiştirilen M9 Anaçlı Bazı Elma Çeşitlerinde Farklı Besin Uygulamaların Bitkinin Morfolojik Gelişimi Üzerine Etkileri. S.D.Ü.Ziraat Fakültesi Dergisi.
- İşci, M.,** 2010. Sert ve Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarında Toprakaltı Zararlıları ve Mücadelesi,Tarım Türk. 25, 88-93
- Atasay, A., **İşci, M.,** Uçgun,K., Öztürk, G., Kaymak, S., Akgül,H., 2011. Organik ve Konvansiyonel Olarak Yetiştirilen M9 Anaçlı Bazı Elma Çeşitlerinde Farklı Besin Uygulamaların Bitkinin Morfolojik Gelişimi Üzerine Etkileri. S.D.Ü.Ziraat Fak. Dergisi, s.1-6.
- Kaymak, S., **İşci, M.,** 2011. Bitki Koruma (Bölüm:14, Elma Zararlıları). Elma Kültürü, Akgül, H., Kaçal, E., Öztürk, P., Ozongun, Ş., Atasay, A., Öztürk,

G. (Ed.). Eğirdir Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü, Yayın no: 37, 313-393 s. ISBN 978-975-407-307-2, Kitap Bölümü.Isparta.

İşci, M., Kaymak, S., Öztürk, Y., şenyurt, H., 2011. Meyve Ağaçlarında İlaçlama Programları. Meyvecilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Yayınları, Yayın No:46.

İşci, M., Kaymak, S., şenyurt, H., Öztürk, Y.,Atasay, A.,Pektaş, M., Özongun,Ş., 2011. Eğirdir (Isparta) Koşullarında Elma İçkurdu [*Cydia pomonella* (L.) Lepidoptera: Tortricidae] Mücadelesinde Çiftleşmeyi Engelleme Yönteminin İnsektisitlerle Kombine Uygulanması Üzerine Bir Araştırma, S: 33, Türkiye 4. Bitki Koruma Kongresi.

İşci, M., Ay,R., şenyurt, H., 2011. Eğirdir Koşullarında Elma İçkurdu (*Cydia pomonella* (L.) Lepidoptera: Tortricidae) Mücadelesinde Bazı İnsektisit ve Mikrobiyal İnsektisitlerin Etkinliğinin Belirlenmesi, S: 241, Türkiye 4. Bitki Koruma Kongresi.

Kaymak, S., Özgönen, H., Boyraz, N., **İşci, M.**, Öztürk., Y., şenyurt, H.,2011. Elma Kara Lekesi Hastalığı (*Venturia inaequalis* (Cke) Wint.)'a Karşı Bazı Fungusitlerin In vitro ve In vivo'da Antifungal Etkilerinin Belirlenmesi, S:339, Türkiye 4. Bitki Koruma Kongresi.

İşci, M., Atasay, A., Kaymak, S., 2012. Determining the Efficiency of Mating Disruption Against Codling Moth [*Cydia pomonella* (L.) Lep.: Tortricidae] under Conditions in Isparta. Semio-chemicals: The Essence of Green Pest Control. IOBC/WPRS Working Group: "Pheromones and Other Semio-Chemicals in Integrated Production" 1-5 October, Bursa/Turkey.

İşci, M., Ay, R., 2012. Resistance of *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) to Thiacloprid and Activities of Some Detoxification Enzymes Collected from an Apple Orchard in Isparta. 8th International Conference on Integrated Fruit Production Iobc/Wprs Working Group: Kuşadası, 07-12 October.

İşci, M., Ay, R., 2013. Resistance of *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) to Thiacloprid and Activities of Some Detoxification Enzymes Collected from an Apple Orchard in Isparta. Integrated Protection of Fruit Crops. IOBC-WPRS Bulletin. 91, 191-192.

Ay, R., Salman Yorulmaz,S., **İşci, M.**, Yaman, Y., 2013. Böceklerde İnsektisit Direnç Yönetimi. 1. Bitki Koruma Ürünleri ve Makineleri Kongresi, Antalya.

İşci, M., Ay, Recep., 2014. Isparta İli (Gelendost, Senirkent) Elma Bahçelerinden Toplanan Elma İçkurdu *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera:Tortricidae) Populasyonlarının Thiacloprid'e Karşı Duyarlılık Durumunun İncelenmesi, S:13, Antalya.

Öztürk, Y., Kaymak S, Çevik B, **İşci, M.**, Şenyurt H, Atay, E., 2014. Virüs Hastalıklarının Granny Smith Elma Çeşidinde Verime ve Kaliteye Etkisi. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, S:261, Antalya.