



**EGE ÜNİVERSİTESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**MANİSA İLİ BAĞ ALANLARINDA SALKIM GÜVESİ**

**[*Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller)**

**(Lepidoptera: Tortricidae)]**

**POPULASYONLARININ**

**İNSEKTİSİT DİRENCİNİN BELİRLENMESİ**

**Ahmet HATİPOĞLU**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Enver DURMUŞOĞLU**

**Bitki Koruma Anabilim Dalı**

**Bilim Dalı Kodu: 501.02.01**

**Sunuş Tarihi: 07.07.2014**

**Bornova-İZMİR**

**2014**

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(DOKTORA TEZİ)**

**MANİSA İLİ BAĞ ALANLARINDA SALKIM GÜVESİ**

**[*Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller)**

**(Lepidoptera: Tortricidae)]**

**POPULASYONLARININ**

**İNSEKTİSİT DİRENCİNİN BELİRLENMESİ**

**Ahmet HATİPOĞLU**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Enver DURMUŞOĞLU**

**Bitki Koruma Anabilim Dalı**

**Bilim Dalı Kodu : 501.02.01**

**Sunuş Tarihi : 07.07.2014**

**Bornova-İZMİR**

**2014**



Ahmet HATİPOĞLU tarafından doktora tezi olarak sunulan “Manisa ili Bağ Alanlarında Salkım güvesi [*Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae)] Populasyonlarının İnsektisit Direncinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 07/07/2014 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Enver DURMUŞOĞLU .....

Raportör Üye : Prof. Dr. M. Oktay GÜRKAN .....

Üye : Prof. Dr. Serdar TEZCAN .....

Üye : Prof. Dr. Recep AY .....

Üye : Prof. Dr. Ferit TURANLI .....



## EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Manisa ili Bağ Alanlarında Salkım güvesi [*Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae)] Populasyonlarının İsektisit Direncinin Belirlenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

07/ 07/2014

Ahmet HATİPOĞLU



**ÖZET****MANİSA İLİ BAĞ ALANLARINDA SALKIM GÜVESİ [*Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae)]  
POPULASYONLARININ İNSEKTİSİT DİRENCİNİN BELİRLENMESİ**

HATİPOĞLU, Ahmet

Doktora Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Enver DURMUŞOĞLU

Temmuz 2014, 127 sayfa

Bu çalışma, 2011-2014 yılları arasında bağın ana zararlısı olan Salkım güvesinin yaygın kullanılan insektisitlere karşı direnç durumunun belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 2011-2012 yılları arasında Manisa ili bağ alanlarından farklı popülasyonlardan örnekler toplanmış ve Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü iklim odalarında kültüre alınmıştır.

Daha önce Salkım güvesi için uygun bir biyoassay yöntemi bulunmadığı için, bu çalışma ile ilk kez 3 farklı biyoassay yöntemi kullanılarak Salkım güvesi için en uygun biyoassay yöntemi belirlenmeye çalışılmıştır. 4 farklı ilacın; larvaya topikal aplikasyonu, besin üzerine püskürtülmesi ve besine karıştırma yöntemleri ile 3 farklı populasyon üzerinde etkilerine bakılarak Salkım güvesi için en uygun biyoassay yöntemi, ilaçların besine karıştırılması yöntemi olarak belirlenmiştir. Bu yöntem kullanılarak iklim odalarında kültürü geliştirilebilen 10 farklı Salkım güvesi populasyonunda LC değerleri belirlenmiş ve bu değerler hassas populasyonla kıyaslanarak populasyonların direnç katsayıları hesaplanmıştır. Biyoassay çalışmalar sonucunda hesaplanan LC<sub>50</sub> değerleri hassas populasyona göre chlorpyrifos-ethyl için Sarıgöl-2 populasyonunda yaklaşık 6 kat, deltamethrin için Salihli populasyonunda yaklaşık 5 kat, indoxacarb için Ahmetli populasyonunda yaklaşık 6 kat, spinosad için Sarıbey populasyonunda yaklaşık 6,5 kat daha fazla bulunmuş ve söz konusu populasyonların bahsi geçen ilaçlara karşı direnç geliştirmeye başladığı tespit edilmiştir.

Biyokimyasal testler sonucunda ise 10 populasyondaki AChE, EST, GST ve P450 enzim aktiviteleri belirlenmiştir. GST enzim aktiviteleri sonucunda önemli bir farklılık görülmemiş, P450 enzim analizlerinde ise seçilen yöntem sonucunda herhangi bir veri elde edilememiştir. Sarıgöl-2 populasyonunda, AChE enzim aktivitesi hassas populasyona göre yaklaşık 5 kat, EST enzim aktivitesi ise yaklaşık 1,5 kat oranla fazla bulunmuştur.

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



**ABSTRACT****DETERMINATION OF INSECTICIDE RESISTANCE OF  
EUROPEAN GRAPEVINE MOTH [*Lobesia botrana* (Denis &  
Schifferrmüller) (Lepidoptera: Tortricidae)] FROM MANISA PROVINCE  
IN VINEYARDS**

HATIPOĞLU, Ahmet

PhD in Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Enver DURMUŞOĞLU

July 2014, 127 pages

This study, which took place between 2011 and 2014, has been carried out to determine the resistance to insecticides of European Grapevine Moth, the main pest of vineyards in Manisa region. To this end, different populations from vineyards in Manisa region were collected and cultured in the climate rooms at the Department of Plant Protection, Ege University Faculty of Agriculture.

Since there is no previous proper bioassay method for European Grapevine Moth, three different bioassay methods have been used to determine the best bioassay method for European Grapevine Moth. The methods of blending artificial diet with pesticide, spraying artificial diet with pesticide, and topical application have been applied with four different pesticides on three populations and blending artificial diet with pesticide method has been determined as the most suitable bioassay method for European Grapevine Moth. Using this method, LC values have been determined in 10 different European Grapevine Moth populations which were cultured in climate rooms and then comparing these values with susceptible population, resistance coefficients have been determined. At the end of bioassay studies, in comparison with the susceptible population, LC<sub>50</sub> values have been found to be approximately 6 fold for chlorpyrifos-ethyl in Sarıgöl-2 population, approximately 5 fold for deltamethrin in Salihli population, approximately 6 fold for indoxacarb in Ahmetli population, approximately 6,5 fold for spinosad in Sarıbey population, and the populations in consideration have been seen to develop resistance against the mentioned insecticides.

At the end of biochemical tests, enzyme activities of AchE, EST, GST, and P450 have been determined in 10 populations. No significant difference has been observed at the end of GST enzyme activities, while in the analysis of P450 enzyme activities no data has been obtained at the end of the chosen method. In Sarıgöl-2 population, AchE enzyme activity has been 5 fold while EST enzyme activity have been observed to be 1,5 fold compared to the susceptible population.

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



## **TEŞEKKÜR**

Bu alıŐma sűresince her konuda desteęini esirgemeyen tecrűbelerini paylaŐarak yol gűsteren deęerli hocam Prof. Dr. Enver DURMUŐOęLU'na, çalıŐmanın her aŐamasında desteęini esirgemeyen Prof. Dr. M. Oktay GŪRKAN'a, çalıŐma boyunca bilgi ve tecrűbesini paylaŐarak yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Recep AY'a, yardımlarından dolayı Zir.Yűk.Műh. Hasan BALCI'ya, eŐime ve aileme, bu araŐtırmayı maddi olarak TOVAG 1100637 no'lu proje kapsamında destekleyen TŪBİTAK'a, 2011-BİL-031 no'lu proje kapsamında destekleyen EBİLTEM'e ve çalıŐmada kullanılan insektisitlerin temini için Agrobest Grup, Bayer CropScience Tűrkiye, Dow AgroScience Tűrkiye ve HektaŐ firmalarına teŐekkűr ederim.



**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
TEŞEKKÜR .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxi
1. GİRİŞ .....	1
2. DÜNYADA VE TÜRKİYE'DE BAĞCILIK .....	4
3. SALKIM GÜVESİ HAKKINDA GENEL BİLGİLER .....	6
3.1 Sistematikteki Yeri .....	6
3.2 Tanımı ve Biyolojisi .....	6
3.3 Yayılışı.....	8
3.4 Konukçuları .....	10
3.5 Yaşam Çemberi .....	10
3.6 Zararı .....	12
3.7 Mücadelesi.....	14
4. İNSEKTİSİTLERE KARŞI DİRENÇ OLUŞUMU .....	18
4.1 Direnç Gelişimi.....	18

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
4.2 Direnç Tipleri.....	25
4.3 Direnç ile İlgili Enzimler .....	26
4.4 Direnci Tespit Etme Yöntemleri .....	30
4.4.1 Geleneksel tespit yöntemleri.....	31
4.4.2 Böceklerde insektisit direncinin biyokimyasal tespiti .....	37
4.5 Direnç İle İlgili Çalışmalar .....	37
4.6 Salkım Güvesinin İnsektisitlere Direnci İle İlgili Çalışmalar .....	44
5. MATERYAL .....	46
5.1 Salkım Güvesi Popülasyonları .....	46
5.2 Kullanılan İnsektisitler .....	47
5.2.1 Chlorpyrifos Ethyl .....	48
5.2.2 Deltamethrin.....	49
5.2.3 Indoxacarb.....	51
5.2.4 Spinosad .....	53
6. METOT .....	55
6.1 Salkım Güvesi Kültürlerinin Oluşturulması .....	55
6.1.1 Popülasyonlardan örnek toplanması .....	55

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
6.1.2 Yapay besin hazırlanması .....	55
6.1.3 Popülasyonların üretimi .....	56
6.2 İlaçların Stok Solusyonlarının ve Seri Konsantrasyonların Hazırlanması .....	60
6.3 Uygun Biyoassay Yönteminin Belirlenmesi .....	61
6.3.1 Topikal uygulama .....	63
6.3.2 Besin üzerine püskürtme yöntemi .....	65
6.3.3 Besinin ilaçla karıştırılması yöntemi .....	67
6.4 Biyoassay Testler .....	69
6.4.1 Denemenin kurulması .....	69
6.4.2 Denemede kullanılan insektisit dozları .....	70
6.4.3 Denemenin değerlendirilmesi .....	70
6.4.4 $LC_{50}$ - $LC_{90}$ değerlerinin ve direnç katsayılarının hesaplanması .....	70
6.5 Biyokimyasal Testler .....	70
6.5.1 EST, GST ve P450 enzim preparasyonu ve aktivitelerinin belirlenmesi .....	71
6.5.2 AChE enzim preparasyonu ve aktivitesinin belirlenmesi .....	73
7. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	74
7.1 Salkım Güvesi Kültürlerinin Oluşturulması .....	74

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
7.2 Uygun Biyoassay Yönteminin Belirlenmesi.....	75
7.2.1 Uygulamaların LC <sub>50</sub> ve LD <sub>50</sub> sonuçları .....	84
7.3 Biyoassay Test Sonuçları .....	91
7.4 Biyokimyasal Test Sonuçları .....	107
8. SONUÇ .....	110
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	112
ÖZGEÇMİŞ .....	127

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 2011 yılı dünya üzüm üretiminde Türkiye'nin payı (FAOSTAT, 2013). .....	4
2.2 2012 Yılı Türkiye üzüm üretiminde Manisa'nın payı (TUIK, 2013).....	5
3.1 Salkım güvesi ergini (INRA, 2014).....	6
3.2. Salkım güvesi karabaş dönemindeki yumurtası. ....	7
3.3 Salkım güvesi larvası (INRA, 2014). ....	7
3.4 Salkım güvesi olgun larvasında baş kısmı (INRA, 2014). ....	8
3.5 Salkım güvesi pupası (INRA, 2014).....	8
3.6 Dünyada üzüm üretim alanları (Caboni and Cabras, 2010). ....	9
3.7 Salkım güvesinin yayılış alanları (Varela et al., 2010).....	9
5.1 Örnekleme yapılan Manisa ili bağ alanlarının harita üzerinde gösterimi. ....	47
5.2 Chlorpyrifos etkili maddesinin molekül yapısı (FAO, 2013).....	48
5.3 Deltamethrinin etkili maddesinin molekül yapısı (FAO, 2013). ....	49
5.4 Indoxacarbın etkili maddesinin molekül yapısı (FAO, 2013). ....	52
5.5 Spinosadın etkili maddesinin molekül yapısı (FAO, 2013). ....	53
6.1 Salkım güvesi dişilerinin yumurta bırakması için PVC rulodan yapılmış yetiştirme kapları. ....	57
6.2 a-Kullanılan üretim rulosu, b-Dip kısmına pamuk sıkıştırma işlemi. ....	58

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
6.3 İklim odasında Salkım güvesi üretiminde kullanılan üretim ruloları. ....	59
6.4 Yapay besinde beslenmiş ve pupa olmuş Salkım güvesi bireyleri. ....	60
6.5 Bir etkili madde için hazırlanmış olan seri konsantrasyonlar. ....	61
6.6 Büyük besin kaplarına dökülen besinin 1 cm <sup>3</sup> 'lük parçalara ayrılması. ....	62
6.7 Üzerine şeffaf film kapatılmış 16 hücreli kaplar (BIO-CV-16).....	63
6.8 Burkard marka elle çalışır mikro aplikatör (Hand-operated microapplicator).63	
6.9 Topikal uygulama için temiz besinlerin hücrelere aktarılması. ....	64
6.10 Topikal uygulama yöntemi ve uygulama yapılmış larvalar ile oluşturulan bir tekerrür. ....	64
6.11 Manuel yüklemeli ilaçlama kulesi ve hava kompresörü. ....	66
6.12 İlaç püskürtülen besinlerin hücrelere aktarılması, besinlere larva bırakılması ve kapakla kapatılmış deneme hücreleri. ....	67
6.13 İlaç karıştırılmış besin ve bu besinlerin deneme hücrelerine aktarımı.....	69
6.14 Kinetik microplate okuyucu (VersaMax ELISA Microplate Reader). ....	71
7.1 Chlorpyrifps-ethyl (CE), deltamethrin (DL), indoxacarb (IN) ve spinosad (SP) ile Merkez 1 (MER1), Merkez 2 ve Yeşilyurt1 (YY1) popülasyonlarında besine karıştırma biyoassay yöntemiyle saptanan probit eğrileri: a) CE-MER1, b) CE-MER2 c) CE-YY1, d) DL MER1, e) DL MER2, f) DL YY1,g) IN-MER1 h) IN-MER2, i) IN-YY1, j) SP-MER1 k) SP-MER2 l) SP-YY1 .....	85

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
7.2 Chlorpyrifps-ethyl (CE), deltamethrin (DL), indoxacarb (IN) ve spinosad (SP) ile Merkez 1 (MER1), Merkez 2 ve Yeşilyurt1 (YY1) popülasyonlarında besine ilaç püskürtme biyoassay yöntemiyle saptanan probit eğrileri: a) CE-MER1, b) CE-MER2 c) CE-YY1, d) DL MER1, e) DL MER2, f) DL YY1,g) IN-MER1 h) IN-MER2, i) IN-YY1, j) SP-MER1 k) SP-MER2 l) SP-YY1.....	86
7.3 Chlorpyrifps-ethyl (CE), deltamethrin (DL), indoxacarb (IN) ve spinosad (SP) ile Merkez 1 (MER1), Merkez 2 ve Yeşilyurt 1(YY1) popülasyonlarında topikal uygulama biyoassay yöntemiyle saptanan probit eğrileri: a) CE-MER1, b) CE-MER2 c) CE-YY1, d) DL MER1, e) DL MER2, f) DL YY1,g) IN-MER1 h) IN-MER2, i) IN-YY1, j) SP-MER1 k) SP-MER2 l) SP-YY1 .....	87
7.4 Farklı Salkım güvesi popülasyonunda chlorpyrifos için elde edilen LC değerleri .....	94
7.5 Salkım güvesi popülasyonlarının ayrı ayrı chlorpyrifos için saptanan probit eğrileri, a)Hassas, b) Ahmetli, c) Alaşehir, d) Merkez, e) Saruhanlı, f) Salihli, g) Sarıbey, h) Sarıgöl 1, i) Sarıgöl 2, j) Yeşilyurt populasyonu. ....	96
7.6 Salkım güvesi popülasyonlarında chlorpyrifos için saptanan probit eğrilerinin birlikte görünümü. ....	97
7.7 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında Deltamethrin için elde edilen LC değerleri .....	98
7.8 Salkım güvesi popülasyonlarının ayrı ayrı deltamethrin için saptanan probit eğrileri, a)Hassas, b) Ahmetli, c) Alaşehir, d) Merkez, e) Saruhanlı, f) Salihli, g) Sarıbey, h) Sarıgöl 1, i) Sarıgöl 2, j) Yeşilyurt populasyonu. ....	99
7.9 Salkım güvesi popülasyonlarında deltamethrin için saptanan probit eğrilerinin birlikte görünümü. ....	100

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
7.10 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında indoxacarb için elde edilen LC değerleri. ....	101
7.11 Salkım güvesi popülasyonlarının ayrı ayrı indoxacarb için saptanan probit eğrileri, a)Hassas, b) Ahmetli, c) Alaşehir, d) Merkez, e) Saruhanlı, f) Salihli, g) Sarıbey, h) Sarıgöl 1, i) Sarıgöl 2, j) Yeşilyurt popülasyonu.....	102
7.12 Salkım güvesi popülasyonlarında indoxacarb için saptanan probit eğrilerinin birlikte görünümü.....	103
7.13 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında spinosad için elde edilen LC değerleri .....	104
7.14 Salkım güvesi popülasyonlarının ayrı ayrı spinosad için saptanan probit eğrileri, a)Hassas, b) Ahmetli, c) Alaşehir, d) Merkez, e) Saruhanlı, f) Salihli, g) Sarıbey, h) Sarıgöl 1, i) Sarıgöl 2, j) Yeşilyurt popülasyonu. ....	105
7.15 Salkım güvesi popülasyonlarında spinosad için saptanan probit eğrilerinin birlikte görünümü.....	106

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
2.1 Dünyada 2008-2011 yılları arasında üzüm üretiminde önde gelen ülkeler ve üretim miktarları* (FAOSTAT, 2013) .....	4
2.2 2008-2012 yılları arasında Türkiye ve Manisa’da toplam meyve ve üzüm üretimi miktarları* (TUİK, 2013).....	5
4.1 İnsektisitlerin etki mekanizması listesi (IRAC, 2014).....	19
5.1 Manisa ili bağ alanlarından toplanan popülasyonlar ve kısaltma dizini.....	46
5.2 Chlorpyrifos-ethyl direnci bildirilen böcek türleri (APRD, 2014).....	48
5.3 Deltamethrin direnci rapor edilen böcek türleri (APRD, 2014).....	49
5.4 Indoxacarb direnci rapor edilen böcek türleri (APRD, 2014) .....	52
5.5 Spinosad direnci rapor edilen böcek türleri (APRD, 2014).....	54
6.1 Salkım güvesi üretimi için kullanılan yapay besinin bileşenleri ve miktarları	56
6.2 Denemelerde kullanılan etkili maddeler ve kısaltmaları .....	60
6.3 Her bir etkili madde için uygulanan deneme planı.....	62
6.4 Biyoassay çalışmalarda kullanılan etkili madde dozları.....	70
7.1 İki farklı popülasyonda 3 farklı biyoassay yöntemi ile elde edilen ölü birey sayıları (n=10).....	78
7.2 Yeşilyurt popülasyonunda üç farklı biyoassay yöntemi ve farklı doz serileri kullanılarak yapılan denemede ölü birey sayıları (n=30) .....	79
7.3 Farklı biyoassay yöntemlerinin karşılaştırılmasında kullanılan doz serileri .....	80
7.4 MER1,YY1 ve MER2 popülasyonlarında farklı biyoassay yöntemleri ile 3 farklı tarihte yapılan denemelerde elde edilen ölü birey sayıları (n=30).....	81

## ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge	Sayfa
7.5 MER1,YY1 ve MER2 popülasyonlarında farklı biyoassay yöntemleriyle yapılan testlerde hesaplanan $LC_{50,90}/LD_{50,90}$ sonuçları .....	84
7.6 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında farklı etkili maddelerin çeşitli dozları ile yapılan biyoassay testlerinden elde edilen ölü birey sayıları (n=30).....	92
7.7 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında farklı etkili maddelerin besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve Ki kare değerleri.....	93
7.8 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında chlorpyriphos ethyl ile besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve Ki kare değerleri ile direnç katsayıları .....	94
7.9 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında deltamethrin ile besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve Ki kare değerleri ile direnç katsayıları .....	97
7.10 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında indoxacarb ile besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve Ki kare değerleri ile direnç katsayıları.....	100
7.11 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında spinosad ile besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve Ki kare değerleri ile direnç katsayıları.....	103
7.12 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında AChE, GST ve EST enzim aktiviteleri ile bunların hassas popülasyona göre katsayıları.....	107

## 1. GİRİŞ

Üzüm, asmagiller (Vitaceae) familyasının *Vitis* cinsinden sarılgan bir bitkiye verilen genel bir isimdir. Yeryüzünde kültürü yapılan en eski meyve türlerinden birisidir. Tarihçesi M.Ö. 5000 yılına kadar dayanır. Anavatanı Anadolu'yu da içine alan Küçük Asya ve Kafkasya'yı da kapsayan bölgedir (Wikipedia, 2013).

Yaygın olarak yetiştirilen ve ekonomik öneme sahip bağ, dünya çapında yaklaşık 7,9 milyon hektarın üzerinde yetiştirme alanına sahiptir. Şarap, kuru üzüm, taze meyve, meyve suyu, reçel, konsantre ve tohum yağları üretmek için kullanılır. Üzüm (*Vitis* sp.) Vitaceae familyasına ait üyelerden oluşur. *Vitis* yaklaşık 60 tür ile, kromozom sayısına göre [*Euvitis* (38 kromozom) ve *Muscadinia* (40 kromozom) içermektedir] iki subgeneradan oluşmaktadır. Tür çeşitliliğinin birincil merkezleri Kuzey Amerika ve Doğu Asya olarak bilinmektedir. Birçok çeşit Avrupa üzümü olarak isimlendirilen, *Vitis vinifera*'dan türetilmiştir. 6.000-10.000 yıl önce Karadeniz ve Hazar Denizi arasındaki bölgede bulunan üzüm bu bölgeden doğuda Asya'ya ve batıda Akdeniz Bölgesini içine alan bir yayılım göstermiştir (Reisch et al., 2012)

Diğer meyvelerle kıyaslandığında en fazla çeşide sahip olan türlerden biri olan üzümün 15.000'in üzerinde çeşidi bulunduğu tahmin edilmektedir. Anavatanı Anadolu olan çeşitler 1.200'ün üzerindedir. Bu çeşitlerden oluşturulmuş *Milli Koleksiyon Bağı* Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsünde bulunmaktadır. Bunların 50-60 kadarının ekonomik üretimi yapılmaktadır. Türkiye'de birçok bölgede yetiştirilmekte olan üzüm özellikle Ege Bölgesinde, Manisa ilinde çok yaygındır. Bağ alanlarının büyük bir kısmı Manisa'da bulunmaktadır. Dolayısıyla ülke üretiminin de büyük bir kısmı burada gerçekleşir.

Üzümün; anti-oksidan, anti-aging (yaşlanmayı geciktirici), kan yapımına yardımcı ve kanserden koruyucu etkileri bilinmektedir. Siyah üzüm kabuğunda bulunan 'Resveratrol' maddesi, anti-kanserojen ve anti-oksidan olma özelliklerini taşımakta ve beyin hücrelerini korumaktadır. Üzümün çekirdeğindeki diğer bir madde olan 'Quersetin' ise, kan yapımına yardımcı olmaktadır. Bu yolla damarların sağlığını da olumlu yönde etkilemektedir.

Üzümün güçlü anti-oksidan özelliği, E vitamininden 50, C vitamininden ise 30 kat daha fazladır. Üzüm sırasında; su (% 70-80), karbonhidratlar (% 15-25), organik asitler (% 0,3-1,5), tanenler (% 0,01-0,10), azotlu bileşikler (% 0,03-0,17), mineral bileşikler (% 0,3-0,5) bulunmaktadır (Wikipedia, 2013).

Çok eski bir kültür bitkisi olan üzüm için ıslah, yetiştiricilik teknikleri vb. tarımsal uğraşlar oldukça gelişmiş olmasına rağmen, günümüzde birçok hastalık, zararlı ve yabancı ot ile üretim kalite ve miktarını arttırmak için mücadele edilmesi gerekmektedir. Bunların başında ise ana zararlı olan Salkım güvesi [(*Lobesia botrana* Denis ve Schiffermuller, 1775) (Lepidoptera: Tortricidae)] gelmektedir. Avrupa, Afrika, Güney Amerika ve son yıllarda Amerika kıtasında da bulunduğu tespit edilen bu zararlı, mücadele edilmediği takdirde önemli zarar seviyelerine ulaşmaktadır. Literatürde “Avrupa Salkım Güvesi (European Grape Moth)” olarak adlandırılan bu zararlı Türkiye’de Salkım güvesi olarak bilinmektedir. Üretim sezonu boyunca Türkiye’de ve benzer iklime sahip Akdeniz ülkelerinde 3-4 döl veren bu zararlı ile yoğun bir ilaçlı mücadele yapılmaktadır.

Türkiye’de T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’nın da ilçe teşkilatları aracılığıyla mücadelesine destek verdiği Salkım güvesinde yumurta ve larva çıkışları takip edilerek üreticilere ilaçlama zamanları için uyarılar verilmektedir. ikinci dölden sonra mücadelesi önem kazanan bu zararlı için birçok üreticinin bu uyarıları dikkate aldığını ancak klasik bir üretici davranışı olarak, ek ilaçlamalarla da ürününü garanti altına alma davranışı içinde oldukları görülmektedir. Bir üretim sezonu boyunca 10’den fazla ilaçlama yapıldığı bilinmektedir.

Öte yandan birçok zararlıda karşımıza çıkan ve yoğun ilaçlama yapılan alanlarda daha da çabuk tespit edilen başka bir sorun ise zararlıların kullanılan insektisitlere direnç kazanmasıdır. Direnç, arka arkaya aynı insektisit ya da aynı etki mekanizmasına sahip insektisitlerin kullanımıyla böceklerde o insektisit/etkili madde grubuna hassasiyet azalışı olarak tanımlanabilir.

Bu konuda yapılmış birçok çalışma direnç gerçeğini ortaya çıkartmıştır. 1908 yılından 2012 yılına kadar böceklerin insektisitlere karşı direnci ile ilgili yapılan tüm çalışmalara baktığımızda 574 türde, 338 maddeye karşı, 10.357 vaka bildirilmektedir. Bu vakaların ise %27’si Diptera takımında kaydedilmişken,

%25'i ise Lepidoptera takımına ait kayıtlardan oluşmaktadır (Whalon et al., 2012).

Her ne kadar bu durum yılda çok döl veren zararlılarda daha yaygın görülse de yılda 3-4 döl veren zararlılarda da direnç tespit edilmiştir. Örneğin Salkım güvesi ile yakın akraba olan, aynı familyaya ait Elma iç kurdu [*Cydia pomonella* (L.) (Lep.: Tortricidae)] ile yapılan birçok çalışmanın da içinde olduğu 59 çalışmada, 89 bölgede, 21 farklı etkili maddeye karşı tespit edilen direnç kayıtları karşımıza çıkmaktadır (Arthropod Pesticide Resistance Database-APRD, 2014).

Zararlılarda görülen direnç durumu, kullanılan insektisitlerin piyasadaki ömrünü azaltmakla beraber, başka etkili maddelere de direnç kazanabilmesiyle sorun daha da büyümektedir. Bir zararlıya karşı ruhsat almış yeni bir insektisit kullanım ömrü 10 yıla kadar varabileceken, bilinçsiz kullanım ve yapılan uygulama hataları ile bu süre oldukça azalmakta, bunun yanında üretim maliyetleri artmakta, etkisizlik sebebiyle ilaçlama sayısının artırılmasının da bu duruma katılmasıyla ciddi sorunlar ortaya çıkmaktadır. Bu durum sadece üretici yönünden değil insektisit üreten şirketler için de etkili maddelerin kullanım ömrünün kısalması ile ciddi bir sorun teşkil etmektedir.

Bu bilgiler ışığında Ege Bölgesinin önemli bir tarım ürünü olan üzümün aynı zamanda önemli bir ihracat ürünü de olması ve ana zararlısı olan Salkım güvesi ile yapılmış insektistlere karşı direnç çalışmalarının çok kısıtlı olması bu çalışmanın temel gerekçesi olmuştur.

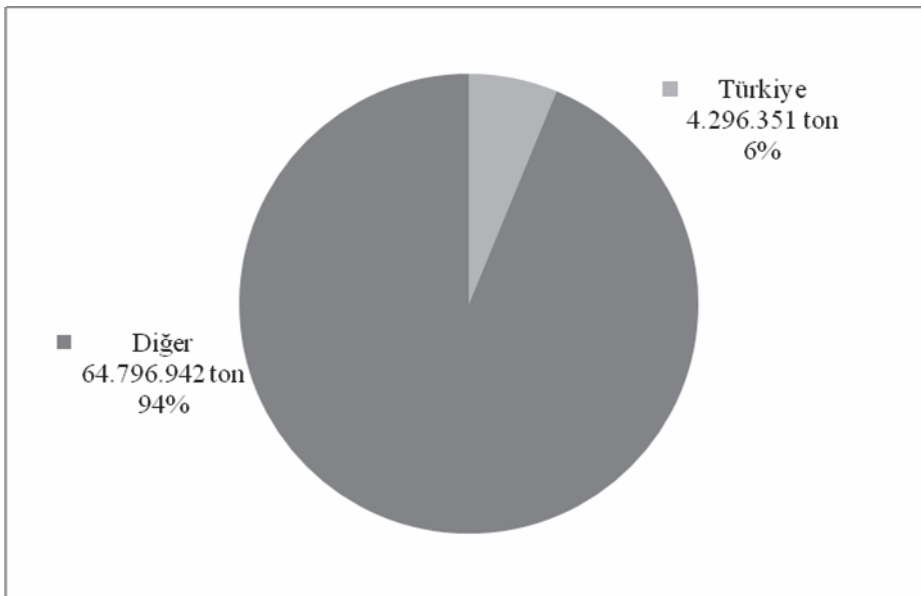
## 2. DÜNYADA VE TÜRKİYE'DE BAĞCILIK

Dünyada 7,5 milyon ha alanda yetiştirilen bağdan yılda yaklaşık 69 milyon ton üzüm elde edilmekte ve bunun 4 milyon tondan fazlası Türkiye'deki bağ alanlarında gerçekleştirilmektedir (Çizelge 2.1). Dünya üzüm üretiminde Çin ilk sırada yer alırken, İtalya, A.B.D., Fransa, İspanya ardından gelmekte ve altıncı sırada yer alan Türkiye dünya üzüm üretimini % 6'sını karşılamaktadır (Şekil 2.1).

Çizelge 2.1 Dünyada 2008-2011 yılları arasında üzüm üretiminde önde gelen ülkeler ve üretim miktarları\* (FAOSTAT, 2013)

Ülkeler	Yıllar			
	2008	2009	2010	2011
Çin	7,23	8,03	8,65	9,17
İtalya	7,79	8,24	7,78	7,11
A.B.D.	6,63	6,62	6,77	6,75
Fransa	6,01	6,10	5,79	6,58
İspanya	5,95	5,53	6,10	5,80
Türkiye	3,91	4,26	4,25	4,29
Şili	2,40	2,60	2,90	3,14
Arjantin	2,82	2,18	2,61	2,75

\*milyon ton



Şekil 2.1 2011 yılı dünya üzüm üretiminde Türkiye'nin payı (FAOSTAT, 2013).

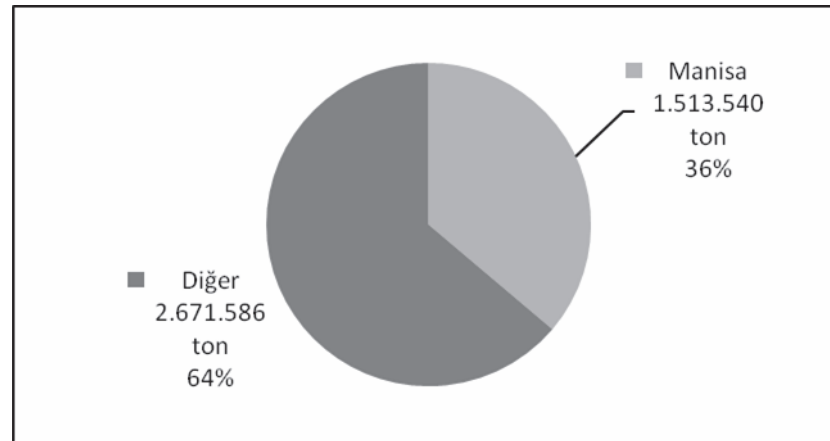
Türkiye bağcılık için dünyanın en elverişli iklim koşullarına sahip ülkelerdendir. Asmanın gen merkezi olmasının yanı sıra, son derece eski tarihlere dayanan bir bağcılık kültürüne sahip olan Anadolu bağcılığının kökenleri M.Ö. 2300 yıllarına dayanmaktadır. İzmir’de çıkarılan arkeolojik bazı buluntular, Ege Bölgesinde bağcılığın M.Ö. 600-700 yıllarına dayandığını göstermektedir (Anonymous, 1997).

Manisa ilinde 2012 yılında üretilen toplam 1.767.534 ton meyvenin 1.513.540 tonluk kısmını üzüm oluştururken (Çizelge 2.2), Türkiye’de üretilen üzüm miktarının % 36’sı Manisa ilinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.2). Manisa İli aynı zamanda Türkiye’den ihraç edilen çekirdeksiz kuru üzümün de % 75-80’ini karşılamaktadır (TUİK, 2013).

Çizelge 2.2 2008-2012 yılları arasında Türkiye ve Manisa’da toplam meyve ve üzüm üretimi miktarları\* (TUİK, 2013)

Yıllar	Türkiye		Manisa	
	Toplam meyve	Üzüm	Toplam meyve	Üzüm
2008	16,78	3,91	1,63	1,39
2009	17,72	4,26	1,73	1,42
2010	17,91	4,25	1,56	1,37
2011	18,42	4,29	1,62	1,40
2012	19,27	4,18	1,76	1,51

\*milyon ton



Şekil 2.2 2012 Yılı Türkiye üzüm üretiminde Manisa’nın payı (TUİK, 2013).

### 3. SALKIM GÜVESİ HAKKINDA GENEL BİLGİLER

#### 3.1 Sistematikteki Yeri

Lepidoptera takımının Tortricidae familyasından olan *Lobesia botrana*'nın (Fauna Europea, 2013) sinonimi olarak da; *Polychrosis flavosquamella* Dufrane, 1960 ve *Olindia rosmarinana* Milliére, 1866 bilinmektedir (Global Biodiversity Information Facility, 2013).

#### 3.2 Tanımı ve Biyolojisi

Salkım güvesinin ergini 18-20 mm kanat açıklığına sahiptir. Uzun ve ince antenleri vardır. İnci gri ön kanatlar üzerinde üç adet hafif eğimli, küçük, kırmızımsı-kahverengi alanlar bant şeklinde görülmektedir. Bu bantlardan biri kanadın başlangıcında, diğeri daha geniş orta kısmında, son olarak da kanadın ucuna doğru genişlemektedir. Etraflarında kısmen siyah lekeler bulunur. Grimsi arka kanatlar ise etrafında daha koyu bir bölge ve gri kıllar ile çevrelenmiştir (Şekil 3.1).

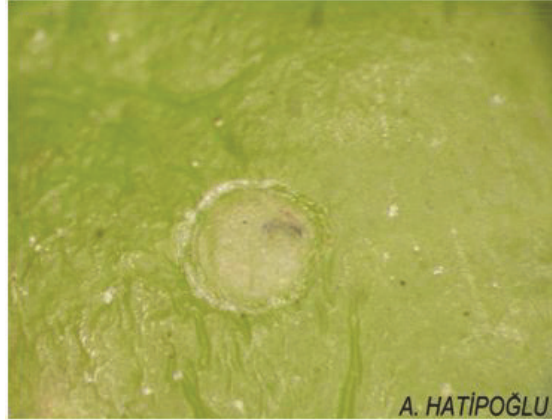


Şekil 3.1 Salkım güvesi ergini (INRA, 2014).

Yumurta, yuvarlak, 0,6-0,7 mm arasında bir çapa sahiptir. Beyazımsı yeşil renge sahip olan yumurta ışık ile birlikte gökkuşağı renklerini yansıtabilir ve hafifçe konveks yapıdadır. (INRA, 2014).

*L. botrana* yumurtalarını, diğertortricidlerin aksine kitleler halinde değil, tek tek eliptik ve düz yumurta şeklinde bırakır. Islak gibi, kremi beyaz sarı yanardöner bir renk hakimdir. Daha sonra yumurta içinde gelişen larvanın baş kısmı belirginleşir ve yumurta görünümünü kısmi olarak karartır (Şekil 3.2).

Larva, saydam yumurta kabuğunu bitkiye bağlı bırakarak yumurta kenarından kapak açarak çıkış yapar (Varela et al., 2010).



Şekil 3.2. Salkım güvesi karabaş dönemindeki yumurtası.

Larva, 8-9 mm boyunda, dar, sarımsı yeşilden, grimsi yeşile bir rengi vardır (Şekil 3.3). Baş ve göğüs dönemine göre kırmızımsı, kahverengi, yeşil olabilir, kahverengimsi-sarı baş ve göğüs plakası ile dikkat çeken larva çevik ve hızlıca hareket edebilir. Rahatsız edildiğinde bir ipek salgı ile kendini askıya alarak sarkıtabilir ve yere inebilir (INRA, 2014). Her iki cinsiyette beş larva dönemi vardır; tam olarak büyümüş larvalar koyu toraks bacakları ile yaklaşık 1,2 cm uzunluğundadır.



Şekil 3.3 Salkım güvesi larvası (INRA, 2014).

Birinci dönem larvaları siyah bir kafa ile kremi beyaz vücut rengine sahipken, olgun larvalar daha açık bir renge sahiptir, sarımsı-kahverengi baş kısmının arka kenarında vücuda yakın koyu bir sınır çizgisi (Şekil 3.4) ile tanımlanabilirler (Varela et al., 2010).



Şekil 3.4 Salkım güvesi olgun larvasında baş kısmı (INRA, 2014).

Pupa, sarımsı-yeşilimsi koyu kahverengi, kabuk altında çatlaklarda veya toprağı malç olarak destek yaparak toprakta, kuru yaprakların kıvrımlarında, üzüm demeti içinde bir ipek kozası içinde bulunur (INRA, 2014) (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Salkım güvesi pupası (INRA, 2014).

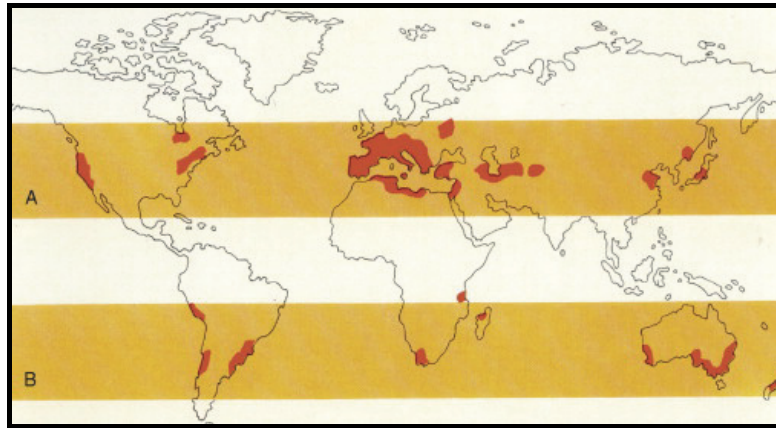
### 3.3 Yayılışı

Salkım güvesi (*Lobesia botrana* Denis ve Schiffermuller, 1775) (Lepidoptera; Tortricidae) üzüm üretimi yapan Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde, Orta Doğu, kuzey ve batı Afrika, Kafkas bölgesi ve Japonya'da en ciddi zararlı konumundadır (Bovey, 1966; Gabel ve Roehrich, 1995; Charmillot et al., 2006).

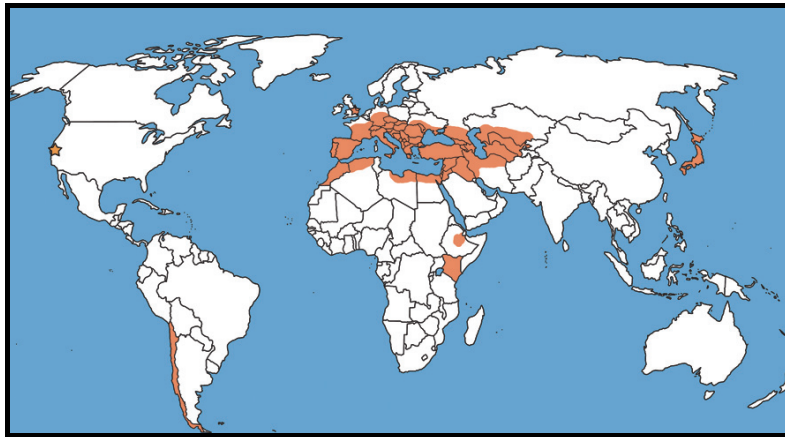
Amerika kıtasında yeni sorun olmaya başlayan bu tür, Şili’de 2008 yılında görülmüştür. Üzüm üretiminde dünyada üçüncü sırada olan A.B.D.’de ise ilk kez Ekim 2009 da Napa County bağ alanlarından rapor edilmiştir (Varela et al., 2010).

Orijini kesin olarak bilinmemektedir fakat ilk kez 1775 yılında Denis ve Schiffermüller tarafından Avusturalya’da bulunmuştur. Sonraları; Güney Avrupa, Kuzey Afrika, Türkiye, Güneybatı ve Güneydoğu Rusya, Transkafkasya, Kazakistan, Orta Asya, İran, Irak, Japonya, Kuzey Amerika’da da tespit edilen (Razowski, 2001) bu zararlı bu bölgelerden; Avrupa, Kuzey ve Batı Afrika, Orta Doğu ve Batı Rusya’ya da yayılmıştır. Günümüze yakın tarihlerde; Şili’de 2008 yılında, A.B.D.’de Napa Valley California’da 2009 yılında tespit edilmiştir (Varela et al., 2010)

Dünyada üzüm üretim alanları Şekil 3.6’da, Salkım güvesi’nin yayılış gösterdiği alanlar ise Şekil 3.7’de verilmiştir. Türkiye’de Salkım güvesi bütün bağ alanlarında bulunmaktadır (Zirai Mücadele Teknik Talimatları, 2008).



Şekil 3.6 Dünyada üzüm üretim alanları (Caboni and Cabras, 2010).



Şekil 3.7 Salkım güvesinin yayılış alanları (Varela et al., 2010).

### 3.4 Konukçuları

Avrupa asmaı [*Vitis vinifera* (Vitaceae)], Amerikan üzümü [*Vitis labrusca* (Vitaceae)] ve Arabistan defnesi [*Daphne gnidium* (Thymelaeaceae)] Salkım güvesinin Güney Avrupa'da yaygın bulunan ana konukçularıdır. Bazı araştırmacılara göre *D. gnidium*, *L. botrana*'nın orijinal konukçusudur, zamanla üzüm onun adapte olduğu konukçu olmuştur (Varela et al., 2010).

Larva, bazılarında diğerlerinden daha iyi gelişmesine rağmen tüm üzüm çeşitleri üzerinde beslenir. Bunların arasında; böğürtlen (*Rubus fruticosus*), beктаşı üzümü (*Ribes* sp.), siyah ve kırmızı frenk üzümü (*Ribes nigrum*), zeytin (*Olea europaea*), kiraz (*Prunus avium*), erik (*Prunus domestica*), Trabzon hurması (*Diospyrus kaki*), kivi (*Actinidia chinensis*), nar (*Punica granatum*), karanfil (*Dianthus* spp.) ve bazı yabancı türlerden oluşan konukçu dizini mevcuttur (Zalom et al., 2011).

Literatürde, Salkım güvesinin üzüm dışında yaklaşık 25 konukçusu olduğunu görölmektedir. Ancak *L. botrana* çok nadiren diğer konukçularda bulunur. *Vitis vinifera* ise ana besin kaynağını oluşturmaktadır. *L. botrana* sadece asmaların üzerinde önemli bir zararlı olarak kabul edilir. Örneğin zeytin yalnızca çiçekleri bakımından önemlidir, asla meyvede beslenme görölmez. Dolayısıyla ilkbahar sonunda bağlar etrafındaki zeytin ağaçları üzerindeki Salkım güveleri bağ alanı için zarar için önemli bir enfeksiyon kaynağı olabilir (Varela et al., 2010).

### 3.5 Yaşam Çemberi

Salkım güvesi kışı asma kabukları altında ya da diğer korunmuş yerlerde pupa olarak geçirir. İlkbaharda uygun orantılı nem ve sıcaklıkta erginler görölür. Erginler geceleri aktiftir. Kelebekler gündüzleri asmanın iç kısımlarında hareketsiz durur. Akşamüstü güneş battıktan sonra 14-31°C sıcaklık aralığında uçuşlar gerçekteşmektedir. Uçuş gece yarısına kadar devam eder. Kelebekler için en uygun uçuş sıcaklığı 20-27 °C, orantılı nem ise % 40-70'dir. birinci döl kelebekleri, bölgelere göre Nisan sonundan Mayıs sonuna kadar görölabilir. Uçuşlar 2-3 haftaya yayılmıştır. Tırtıl çiçeklenme zamanında gelişimini tamamlar. İkinci dölle ait erginlerin uçuş zamanı Haziran-Temmuz aylarında olur, üçüncü döl ise Ağustos ortası-Eylöl sonu arasında gerçekteşir. Ergin ömrü 10-12 gündür ve

çiftleşme alaca karanlıkta başlar ve çiftleşmeden 2-3 gün sonra yumurta bırakımı başlar (Venette et al., 2003; INRA, 2014).

İlk dölle ait yumurtalar çiçek tomurcuğuna bırakılır. Bazen çanak kısmına ya da asmanın sürgün veya yapraklarına da bırakabilir. Sonraki döllere ait yumurtaları ise taneler üzerinde bulmak mümkündür. Bir dişi günde 40 ila 60 adet yumurta bırakabilir ve bir erginin ömrü boyunca 300'ün üzerinde yumurta bıraktığı bildirilmektedir. Yumurta gelişimi, ilk döl için 6-9 gün sürer, bu değer daha yüksek sıcaklığa maruz kalan sonraki döllere için ise 4-6 gündür (INRA, 2014).

Birinci nesil larva birkaç saatlik bir gezinme sonucunda 2 veya 3 çiçek tomurcuğunun arasına girerek çiçek zarfını deler ve tomurcuğa nüfuz eder. Bu durum üzüm demetinin kurummasına yol açabilir. Larva bu dönemde aktiftir ve tespit etmek zordur. Sonraki nesillerin larvası ise sadece birkaç dakika gezinir ve ipek ipliklerin de yardımıyla birçok meyvede kemirmek suretiyle zararlı olur. Larva gelişimi 20-30 gün sonunda tamamlanır (UC-IPM, 2011).

Pupa gelişimi 10-14 gün sürer. Kışlama genellikle kabuk altında veya destek kazıklarının çatlakları arasında pupa evresinde gerçekleşir.

Salkım güvesi Akdeniz Bölgesinde, genellikle yılda iki-üç döl verir. Türkiye'de genellikle 3 döl verir. Ancak iklim koşulları zararlının isteklerine uygun olan bölgelerde ve yıllarda dört döl meydana gelebilir. Orta Anadolu'nun bazı bağ alanlarında iki döl vermektedir (Zirai Mücadele Teknik Talimatları, 2008). Kuzey Avrupa'da iki döl verirken, Güney Avrupa'da üç döl vermektedir. Bunun yanında İspanya, Yunanistan, Ürdün ve Mısır'da dört döl verdiği bildirilmektedir (Saphiro, 2010). Zararlının verdiği döl sayısı fotoperiyot, sıcaklık, orantılı nem, besin kalitesi, predatör ve hastalık etmenleri gibi pek çok faktörün etkisi altındadır. Ancak bunlardan sıcaklık, orantılı nem ve fotoperiyot zararlının gelişiminde en önemli faktörlerdir. (Venette et al., 2003).

Salkım güvesinin ilk dölüne ait egin uçuşları tomurcuk zamanı başlar ve 4-5 hafta devam edebilir; erkekler dişilerden yaklaşık bir hafta önce ortaya çıkarlar. Erginler, 1-3 hafta yaşamlarını sürdürür ve alacakaranlıkta uçarlar. Erginler ortaya çıktıktan 1-6 gün sonra çiftleşirler. Dişiler genellikle yaşamları boyunca bir kez çiftleşir.

Çiftleşmeden 1-2 gün sonra ovipozisyon başlar ve her dişi 80-160 yumurta bırakır. İlk dôle ait yumurtalar çiçek kümesi yakınında veya içine, düz yüzeylerde tek tek bırakılır. Yumurtalar 7-11 gün içinde açılırlar. Larva beslenmek için ve yuva oluşturmak için çiçeklenme sırasında ağ yapısıyla kendi beslenme alanını yaratır. Optimal koşullar altında (26.6- 29.5° C ve % 40-70 bağıl nem) larva gelişimi, 20-30 gün içinde tamamlanır (Varela et al., 2010).

Çiçek kümesi içinde beslenen larva olgunlaşınca burada ya da, kabuk altındaki bir çatlakta, bir yaprak kanadının katlanmış kısmında ya da toprakta kokon içinde pupa olabilir. Ergin ise pupa oluşumundan 6-14 gün sonra ortaya çıkar.

İkinci ve üçüncü dôle ait dişilerde yumurta gölgedeki meyvelere tek tek bırakılır. 3 ile 5 gün içinde yumurta açılır. Bir üzüm salkımı içinde genellikle meyveleri içinde ayrı ayrı beslenen birden fazla larva görülebilir. Taneler arasındaki besin kalitesi farkı ya da büyüklüğü ergin dişinin daha uzun ömürlü olması ve daha çok sayıda yumurta bırakması üzerine etkilidir. Bu nedenle, daha sonraki döller erken sezon döllerine göre daha fazla mahsulde zarar potansiyeline sahip olurlar.

Sonbaharda, yumurta ve/veya larva gelişimi sırasında 11 saatten daha uzun geceler diyapozu (dinlenme durumu) başlatmaktadır. Diyapoz dönemine giren bir pupa diyapoz olmayan bir pupaya göre soğuğa karşı daha dayanıklıdır, hatta soğuk kuzey Avrupa kışlarını bile tolere edebilir. Şubat ayı başlarında, post-diyapoz gelişimi sırasında, ergin ortaya çıkmadan önce, pupa 7.7 ° C altındaki sıcaklıklarda ölebilir (Varela et al., 2010).

### **3.6 Zararı**

Salkım güvesi'nin doğrudan üzümde yaptığı zarar, mücadelesi yapılmadığı takdirde önemli derecede ürün kaybına neden olmaktadır (Stockel, 2000; Thiéry, 2005). Zararlıların larvaları; tomurcuk, çiçek, koruk ve olgun taneleri yemek suretiyle zararlı olmaktadır. Olgun tanede beslenirken yer değiştirmesi daha fazla olduğundan, bir larvanın zarar verdiği tane sayısı bu devrede daha fazladır. Ayrıca olgun taneden akan şekerli su, saprofit mantarların çoğalmasına da sebep olmaktadır. Ürünü hem kalite hem de kantite yönünden etkilerken, yaş üzüm ihracatında ambalajlamada sorun yaratması ve zarar görmüş üzümlerden yapılan

şarap kalitesinin düşüklüğü nedeniyle de bu zararlıyla mücadele kaçınılmaz olmaktadır (Kaya, 1998; Cozzi et al., 2006).

Salkım güvesi larvaları erken ilkbaharda çiçek kümelerinin tüm kısımları üzerinde beslenmektedir. Ancak daha önemlisi, yaz ortası ve yine geç yaz meyveleri üzerinde olan beslenmedir. Beslenme hasat boyunca ve sonbaharda yaprak dökümüne kadar sürmektedir. Bu besleme, meyve kaybının ana nedeni ve salkımın çürümesine neden olan *Botrytis cinerea* ve diğer çürüklük organizmaları tarafından oluşturulan enfeksiyonları tetikler. Böylece oluşan zarar miktarı daha yüksek seviyelere ulaşır.

İlk dönem larvalar çiçek ve tomurcuk içinde beslenir ve bu anda salgıladığı ipliklerle tomurcuk ve çiçekleri birbirine bağlayarak çilkimleri küme haline getirir. Zarara uğrayan tomurcuk ve çiçekler dökülür. Bu nedenle de zarar derecesine göre ilerde çok seyrek veya az seyrek taneli salkımlar oluşur. İkinci nesil larva tanecik oluşumundan önce taneler bezelye boyutunda iken yumurta başına bir larva şeklinde çıkışlar görülür ve koruklarda beslenmeye başlar. Zarar doğrudan tane ile beslemeyle olur. Koyu renk bir noktanın larva beslenme noktasını çevrelemesiyle kendini belli eder ve larvanın yer değiştirmesiyle birlikte birçok tanede zarar görebilir (Varela et al., 2010; TAGEM, 2011).

Üçüncü döl, en çok zararın görüldüğü dönemdir, larva yumurtadan çıktıktan hemen sonra olgunlaşmaya başlayan meyveye girer ve beslenirler. Bu dönemde bulaşık salkımlarda buruş buruş görülen üzüm taneleri, zararlının ağ yapısı ve dışkısı, zararlının burada beslendiğinin kanıtıdır. Beslenme deliği birçok meyve tanesinde görülebilir. Zararlı taneden taneye geçebilir, bu taneleri yapıştırabilir. Bu dönemde yer değiştirme daha sık olduğundan larvanın zarar verdiği tane sayısı daha fazladır (Varela et al., 2010; TAGEM, 2011).

Yoğun zarar sonucunda, sapçık kısmına tutunarak kalmış, içi tamamen oyulmuş kuru bir deri gibi görünen taneleri görmek mümkündür. Salkımda çürüklük iklime bağlı olarak bu dönemde görülmeye başlar ancak yazın salkımlarda çürüklük sekonder olarak görülen işgalci fungus etmenleri tarafından gelişmektedir (Varela et al., 2010).

### 3.7 Mücadelesi

Salkım güvesi üzüm üretimi yapan tüm Avrupa ülkelerinde olduğu gibi Türkiye’de de bağın ana zararlısıdır. Salkım güvesi, ürünü hem kalite hem de kantite yönünden etkilerken, yaş üzüm ihracatında ambalajlamada sorun yaratmaktadır. Zarar görmüş üzümlerden yapılan şarap kalitesini de düşürdüğünden, mücadelesi kaçınılmaz olan bir zararlı konumundadır.

Türkiye’de ve zararlı olduğu Akdeniz iklimine sahip bölgelerde, yılda en az 3 döl veren *L. botrana* için kontrol önlemleri genelde ikinci ve üçüncü dölü hedef almaktadır. Ancak, popülasyonun yoğun olduğu ya da geniş alanlarda savaşım yapıldığında, birinci döl ile de mücadelesi yapılmaktadır. Çiftleşmeyi engelleyici feromon kullanımı, en etkili yöntem gibi gözükse de Avrupa’da yaklaşık 4 milyon ha bağ alanın sadece 100 bin ha’lık kısmında kullanılmaktadır. Çünkü feromon kullanımı ancak uygun koşullarda ve düşük popülasyon seviyesinde gerçekleştirilebilmektedir.

Avrupa’da olduğu gibi Türkiye’de de *L. botrana* mücadelesi geniş spektrumlu sinir sistemine etkili insektisitler, böcek büyüme düzenleyicileri ve biyolojik insektisitlerle yapılmaktadır (Boselli and Scannavini, 2001; Marchesini and Dalla Monta, 2004; Ioriatti et al., 2008). Manisa İli Tarım İl Müdürlüğü’ne bağlı ilçe müdürlüklerinde erken uyarı sistemi kurulmuş olup, bağ alanlarında ilaçlama yapılması için çiftçilere uygulama zamanı, uygulanacak olan etkili maddeler ve uygulama sayısı belirtilerek ilaçlama yapılması tavsiye edilmektedir. Bu yöntem üretim sezonu boyunca devam etmekte ve çiftçilere cep telefonuna gönderilen kısa mesaj yoluyla bildirilmektedir. Ekonomik öneme sahip bu üründe ne yazık ki üreticimiz, bitki koruma konusunda yeterli bilgiye sahip olmayıp ürünü kaybetme korkusu nedeniyle, bilinçsiz ve kontrolsüz kimyasal uygulamaları yoğun bir şekilde yapmaktadırlar (Delen vd., 2004).

İnsektisit uygulama süresi için ergin uçuşları, yumurta bırakma ve yumurta çıkış zamanlarının doğru izlenmesi gerekir. Birinci döl larva zararı ekonomik öneme sahip olmasa da, popülasyon çok yüksek ise ya da mücadele gerektiriyorsa, ilk nesil için yapılan kontrol çalışmaları, ikinci nesilin daha düşük popülasyon düzeylerinde kalması açısından yardımcı olmaktadır.

Yakın zamanda, Salkım güvesi ve diğer lepidopterlere karşı etkili olan birçok insektisit geliştirilmiştir. Farklı sınıflardan insektisitlerin farklı etki mekanizmaları vardır ve birden fazla etkili madde ile yapılan kimyasal mücadele, *L. botrana* kontrolünde direnç gelişmesini önlemeye yardımcı olabilmektedir.

İnsektisit Direnç Eylem Komitesi (IRAC) her bir etki mekanizması için bir grup numarası verir ve bu grup numarası insektisit etiketlerinde görünür (Varela et al., 2010).

Sentetik kimyasalların yanında biyolojik kökenli insektisitler de Salkım güvesi mücadelesinde kullanılmaktadır. *Bacillus thuringiensis* (Bt) kökenli olan preparatları örnek verebiliriz.

*Bacillus thuringiensis* (Bt) bakterisi bazı böcek türleri için toksik proteinler üretir. Bir kez böcek tarafından alınan bu proteinler, bir mide zehiri olarak hareket ederler. Bt toksininin Lepidoptera takımına özgü olan çeşitli ticari ürünleri mevcuttur. Bir larvanın sıcak güneşli günlerde özellikle bahar aylarında aktif olduğunu ve beslendiğini düşünürsek, bu insektisitlerin etkili olabilmesi için, bu zamanlarda uygulamak en doğru yaklaşımdır. Bu yüzden, yumurta bırakma ve larva çıkışı sürelerini de göz önüne alarak bir Bt ürününün üretim sezonu boyunca iki kez uygulanması tavsiye edilir.

Bunun yanında yine Salkım güvesi mücadelesinde de kullanılan böcek büyüme düzenleyicileri lepidoptera takımının birçok türüne karşı etkilidir. Bu ürünler yararlı böcek, akar ve tozlayıcılar için daha düşük toksisiteye sahiptir. Bu sınıftaki insektisitler deri değiştirme aşamasına gelen böceğin bir sonraki büyüme aşamasına geçmesini engeller; bu yüzden ölüm birkaç gün sürebilir. Böcek büyüme düzenleyicisi, hem yumurta hem de larvalara etkiliyse de; uygulamanın, yumurta açılımından ziyade yumurta bırakma zamanının başlangıcında yapılması gereklidir.

Salkım güvesine etkili diğer insektisit grupları ise rynaxypyr, neonikotinoidler, piretroitler, karbamatlar ve organofosfatlardan oluşmaktadır. Her grup farklı bir etki mekanizmasına sahip olmasına rağmen, bu insektisitlerin hepsi sonuçta sinir ve kas sistemine etki ederek böceklerin sinir sinapslarının ya da sinir uyarılarının iletimini engelleyerek etkili olmaktadır.

Salkım güvesinin literatürde çok sayıda predatör ve parazitoit bildirilmiştir. Parazitoitleri arasında sineklerden 4 tachinid türü ve arılardan; ichneumonid, braconid, pteromalid ve chalicidoid olmak üzere yaklaşık 100 tür bulunmaktadır. En etkili olan parazitlerin kışlama halindeki pupalara saldırılar olduğu bildirilmiştir. İspanya'da *Dibrachys affinis* ve *D. cavus* (Hymenoptera: Pteromalinae) türlerinin % 70'e varan oranlarda pupa ölümüne neden olduğu ve İtalya'da *Dicaelotus inflexus* ve *Campoplex capitator* (Hymenoptera: Ichneumonidae)'un en önemli türler olduğu bilinmektedir (Coscollá, 1998).

Biyolojik mücadele anlamında ise parazit arılar ile *L. botrana* yumurtalarının kontrol etmek mümkündür. Trichogamma türleri birçok Lepidoptera türünün yumurta parazitoitleri olarak bilinir ve Salkım güvesi kontrolünde iyi bir biyolojik kaynak olabilir (Varela et al., 2010).

Özsemerci (2008)'ye atfen Çağlar (2009) son yıllarda Türkiye bağ alanlarında 65'i predatör olmak üzere toplam 84 doğal düşman türünün saptandığını bildirmektedir. Parazitoit türlerden altısının [(*Ascogaster quadridentatus* Wesm. (Hym.: Braconidae), *Bassus conspicus* Wesm. (Hym.: Braconidae), *Dicaelotus* sp. (Hym.: Ichneumonidae), *Theroscopus hemipterus* Grav. (Hym.: Ichneumonidae), *Pimpla contemplator*, *Phytomytera nitidiventris* Rond (Dip.: Tachinidae)] Salkım güvesi'nin doğal düşmanlarından olduğunu, predatör türlerden *Scymnus* spp. (Col.: Coccinellidae) ve *Stethorus* spp.'nin bağ alanlarında sıkça görüldüğünü ve *Chrysoperla carnea* Steph. (Neuroptera: Chrysopidae) bireylerinin Salkım güvesi larvaları, yaprakpireleri, kırmızıörümcekler, thrips ve diğer yumuşak vücutlu zararlılarla beslendiğini bildirmiştir. Ayrıca Manisa ilinde 1999 yılında, çiftleşmeyi engelleme yönteminin uygulandığı bağ alanlarında predatör türlerden Coccinellidae (Coleoptera) ve Chrysopidae (Neuroptera) familyasına bağlı türler, *Scolothrips* sp. (Thysanoptera: Thripidae), predatör akarlar ile parazitoitlerden *Dicaelotus erythostoma* Wesm. ve *Pimpla trionella* L. (Hym.: Ichneumonidae), 2000 yılında Coccinellidae ve Chrysopidae familyasına ait türler, *Scolothrips* sp., 2001 yılında ise predatör akarlar tespit ettiğini bildirmiştir (Çağlar, 2009).

Çok sayıda parazitoiti bulunmasına rağmen zararlıyı baskı altına alması üretim sezonunun sonunda ortaya çıkmaktadır, ancak bu dönemin, zararı önlemek için çok geç olması ise bir dezavantaj yaratmaktadır.

Salkım güvesi mücadelesinde görülen diğer önemli bir sorun, bağ alanlarında kullanılan yoğun bitki gelişim düzenleyicileridir. Daha iri taneler elde etmek için uygulanan bu maddeler sonucu oluşan daha sıkı bir salkımda, Salkım güvesi'nin normal bir salkıma göre zarar yapma oranı çok daha yüksek olmakta ve zararlı bu tür salkımlara yönelmektedir (Vartholomaiou et al., 2008). Üzüm kültürlerinin *L. botrana*'ya maruz kalmasında salkım sıklığının etkisinin incelendiği bir çalışmada salkım sıklığı ile ikinci döle ait larva bulaşması arasında pozitif bir ilişki olduğu ortaya konmuştur. İlaçlamalarda ise ilacın bu tür salkımların içlerine ulaşma şansı da azalmakta ve ilaçlamanın başarı yüzdesi azalmaktadır. Salkımın seyrek olmasının larvanın hayatta kalması konusunda olumsuz etkisi olduğu da bilinmektedir (Fermaud et al., 1996; Fermaud, 1998).

## 4. İNSEKTİSİTLERE KARŞI DİRENÇ OLUŞUMU

### 4.1 Direnç Gelişimi

1940'lı yıllarda DDT gibi sentetik organik insektisitlerin tanıtılmasının ardından, ilk direnç vakası da 1947 yılında karasineklerde DDT direnci olarak karşımıza çıkmıştır.

Bundan sonra, siklodienler, organofosfatlar, karbamatlar, formamidinler, piretroidler, *Bacillus thuringiensis*, spinosinler ve neonicotinoidler gibi her yeni giriş yapan insektisitlerin ardından, 2-20 yıl gibi sürelerde önemli zararlı türlerinde bir dizi direnç olayı görülmüştür. Bu duruma “yerinde sayan” anlamında “pesticide treadmill” (pestisit bandı/koşu bandı) adı verilmiştir (IRAC, 2014).

Direnç, pestisit önerildiği zararlıların popülasyonlarının baskı altına alınmasında yanlış depolama, hatalı uygulama ve uygun olmayan çevre koşulları gibi problemler dışında bir hassasiyet azalması olarak tanımlanmaktadır (Ünal ve Gürkan, 2001). Ya da başka bir ifadeyle, bir zararlıya karşı aynı pestisit veya etki mekanizması aynı olan pestisitlerin ard arda uzun süre kullanılması sonucunda, bu zararlı popülasyonunda pestisit(ler)e karşı önce hassasiyet azalışı görülür sonra da hassasiyeti az olan bireylerin popülasyonda artışı ile dayanıklı bireyler çoğalır. Daha sonra bu pestisitlere karşı dayanıklı ırk meydana gelir (Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008). Uluslar arası bir kuruluş olan “The Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) (İnsektisit Direnç Eylem Komitesi)’ne göre: Direnç, bir zararlı popülasyonunun duyarlılığında bir kalıtsal değişim sonucu azalma olarak tanımlanabilir. O böcek türlerine karşı kullanılan bir insektisit beklenen kontrol seviyesini elde etmek için etiket tavsiyesine göre kullanıldığında etki etmemesi durumudur. Bir böcek farklı bir ikinci insektisite maruz edilmemiş olsa da başka bir insektisite de karşı direnç kazandıran çapraz direnç meydana gelmektedir. Zararlı böcek popülasyonları genellikle büyüktür, üreme hızlıdır ve insektisit fazla kullanıldığında, direnç gelişmesine sebep olma riski her zaman vardır. Zararlı böceklerde pestisitlere karşı görülen direnç problemi, tarımsal üretimde verimliliği etkileyen önemli sorunların başlarında gelmektedir. Günümüzde 600'e yakın böcek ve akar türünün çeşitli ilaçlara karşı direnç geliştirmiş olduğu kaydedilmektedir (IRAC, 2014).

Günümüzde uluslararası çalışma grupları ile ülke ya da bölge bazında çalışma grupları oluşturularak IRAC çatısı altında dünya çapında direnç üzerinde

sistemli bir bilgi paylaşımı ve çalışmalar yapılmaktadır. Bu kapsamda çalışmaların düzeni açısından da faydalı olabilecek etkili maddeler için etki mekanizması (Mode of action) listesi sık aralıklarla yapılan toplantılarla güncellenerek yayınlanmaktadır. 2014 Şubat ayında yayımlanan son listeye (Version 7.3) göre ise 28 etki mekanizması bildirilmektedir (Çizelge 4.1)

Çizelge 4.1 İnsektisitlerin etki mekanizması listesi (IRAC, 2014).

Ana grup ve öncelikli etki yeri	Kimyasal alt grup ya da ana grubu örneklendiren aktif madde	Aktif maddeler
1 Acetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri Sinir sisteminde etkili {bu proteinin insektisit etkilerinden sorumlu olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır}	1A Karbamatlılar	Alanycarb, Aldicarb, Bendiocarb, Benfuracarb, Butocarboxim, Butoxyacboxim, Carbaryl, Carbofuran, Carbosulfan, Ethiofencarb, Fenobucarb, Formetanate, Furathiocarb, Isoprocarb, Methiocarb, Methomyl, Metolcarb, Oxamyl, Pirimicarb, Propoxur, Thiodicarb, Thiofanox, Triazamate, Trimethacarb, XMC, Xylcarb
	1B Organik Fosforular	Acephate, Azamethiphos, Azinphos-ethyl, Azinphosmethyl, Cadusafos, Chlorethoxyfos, Chlorfenvinphos, Chlormephos, Chlorpyrifos, Chlorpyrifosmethyl, Coumaphos, Cyanophos, Demeton-S-methyl, Diazinon, Dichlorvos/DDVP, Dicrotophos, Dimethoate, Dimethylvinphos, Disulfoton, EPN, Ethion, Ethoprophos, Famphur, Fenamiphos, Fenitrothion, Fenthion, Fosthiazate, Heptenophos, Imicyafos, Isofenphos, Isopropyl O-(methoxyaminothiophosphoryl) salicylate, Isoxathion, Malathion, Mecarbam, Methamidophos Methidathion, Mevinphos, Monocrotophos, Naled, Omethoate, Oxydemeton-methyl, Parathion, Parathion-methyl, Phenthoate, Phorate, Phosalone, Phosmet, Phosphamidon, Phoxim, Pirimiphosmethyl, Profenofos, Propetamphos, Prothiofos, Pyraclofos, Pyridaphenthion, Quinalphos, Sulfotep, Tebupirimfos, Temephos, Terbufos, Tetrachlorvinphos, Thiometon, Triazophos, Trichlorfon, Vamidothion
2 GABA-kapılı klorür kanal antagonistleri Sinir sisteminde etkili {bu proteinin insektisit etkilerinden sorumlu olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır}	2A Cyclodiene organoklorinler	Chlordane, Endosulfan
	2B Phenylpyrazoles (Fiproles)	Ethiprole, Fipronil

Çizelge 4.1. İnsektisitlerin etki mekanizması listesi (IRAC, 2014). (Devamı)

Ana grup ve öncelikli etki yeri	Kimyasal alt grup ya da ana grubu örneklendiren aktif madde	Aktif maddeler
3 Sodyum kanal modulatorleri Sinir sisteminde etkili {bu proteinin insektisit etkilerinden sorumlu olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır}	3A Pyrethroidler Pyrethrinler	Acrinathrin, Allethrin, d-cis-trans Allethrin, d-trans Allethrin, Bifenthrin, Bioallethrin, Bioallethrin Scyclopentenyl isomer, Bioresmethrin, Cycloprothrin, Cyfluthrin, beta-Cyfluthrin, Cyhalothrin, lambda-Cyhalothrin, gamma-Cyhalothrin, Cypermethrin, alpha-Cypermethrin, beta-Cypermethrin, thetacypermethrin, zeta-Cypermethrin, Cyphenothrin, (1R)-trans-isomers], Deltamethrin, Empenthrin (EZ)-(1R)- isomers], Esfenvalerate, Etofenprox, Fenpropathrin, Fenvalerate, Flucythrinate, Flumethrin, tau-Fluvalinate, Halfenprox, Imiprothrin, Kadethrin, Permethrin, Phenothrin [(1R)-trans- isomer], Prallethrin, Pyrethrins (pyrethrum), Resmethrin, Silafluofen, Tefluthrin, Tetramethrin, Tetramethrin [(1R)-isomers], Tralomethrin, Transfluthrin
	3B DDT Methoxychlor	DDT Methoxychlor
4 Nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR) agonistleri  Sinir sisteminde etkili  {bu protein sınıfının bir ya da daha fazlasının insektisidal etkilerin sorumlusu olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır}	4A Neonikotinoidler	Acetamiprid, Clothianidin, Dinotefuran, Imidacloprid, Nitenpyram, Thiacloprid, Thiamethoxam,
	4B Nikotin	Nicotine
	4C Sulfoxaflor	Sulfoxaflor
	4D Butenolides	Flupyradifurone
5 Nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR) allosterik aktivatörleri  Sinir sisteminde etkili  {bu protein sınıfının bir ya da daha fazlasının insektisidal etkilerin sorumlusu olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır}	Spinosinler	Spinetoram, Spinosad

Çizelge 4.1. İnsektisitlerin etki mekanizması listesi (IRAC, 2014). (Devamı)

Ana grup ve öncelikli etki yeri	Kimyasal alt grup ya da ana grubu örneklendiren aktif madde	Aktif maddeler
6 Klorür kanalı aktivatörleri  Sinir ve kas etkili {bu protein sınıfının bir ya da daha fazlasının insektisidal etkilerin sorumlusu olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır}	Avermectinler Milbemycinler	Abamectin, Emamectin benzoate, Lepimectin, Milbemectin
7 Jüvenil hormon taklitleri  Büyüme regülasyonu {Hedef proteinin biyolojik aktivitesi bilinmiyor tanımlanmamış}	7A Juvenile hormone analogları	Hydroprene, Kinoprene, Methoprene
	7B Fenoxycarb	Fenoxycarb
	7C Pyriproxyfen	Pyriproxyfen
8 Çeşitli spesifik olmayan (multi-site) inhibitörleri	8A Alkyl halidler	Methyl bromide ve diğer alkil halidler
	8B Chloropicrin	Chloropicrin
	8C Sulfuryl fluoride	Sulfuryl fluoride
	8D Boratlılar	Borax
	8E Tartar emetic	Tartar emetic
9 Chordotonal organ modülatörleri  Sinir sisteminde etkili {Hedef protein Biyolojik aktivitesi bilinmiyor tanımlanmamış}	9B Pymetrozine	Pymetrozine
	9C Fonicamid	Fonicamid
10 Akar büyüme inhibitörleri büyüme regülasyonu  Büyüme regülasyonu {Hedef protein Biyolojik aktivitesi bilinmiyor tanımlanmamış}	10A Clofentezine Hexythiazox Diflovidazin	Clofentezine, Hexythiazox, Diflovidazin
	10B Etoxazole	Etoxazole

Çizelge 4.1. İnsektisitlerin etki mekanizması listesi (IRAC, 2014). (Devamı)

Ana grup ve öncelikli etki yeri	Kimyasal alt grup ya da ana grubu örneklendiren aktif madde	Aktif maddeler
11 Böcek karın zarının mikrobiyal bozucuları <i>Bacillus thuringiensis</i> toksinleri ekspresyonu yapılmış transgenik bitkileri içerir  {Transgenik bitkiler direnç yönetimi için özel yönlendirmesi etki mekanizmalarının rotasyonuna bağlı değildir. }	11A <i>Bacillus thuringiensis</i> ve ürettikleri böcek öldürücü proteinler	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>israelensis</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>tenebrionis</i> B.t. crop proteinleri Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Fa, Cry1A.105, Cry2Ab, Vip3A, mCry3A, Cry3Ab, Cry3Bb, Cry34Ab1/Cry35Ab1
	11B <i>Bacillus sphaericus</i>	<i>Bacillus sphaericus</i>
12 Mitokondriyal ATP sentez inhibitörleri Enerji metabolizması  {Bileşikler bu proteinin fonksiyonunu etkiler ama bu biyolojik aktivite neyin neden olduğu belli değil}	12A Diafenthiuron	Diafenthiuron
	12B Organotin miticides	Azocyclotin, Cyhexatin, Fenbutatin oxide
	12C Propargite	Propargite
	12D Tetradifon	Tetradifon
13 Proton gradyanın oksidatif fosforilasyonunun bozulmasıyla eşleşmeyenler  Enerji metabolizması	Chlorfenapyr DNOC Sulfluramid	Chlorfenapyr, DNOC, Sulfluramid
14 Nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR) kanal bloke ediciler  Sinir sisteminde etkili  {Bileşikler bu proteinin fonksiyonunu etkileyebilir, ancak biyolojik aktiviteyi ne neden olduğu değil}	Nereistoxin analogları	Bensultap, Cartap hydrochloride, Thiocyclam, Thiosultap-sodium
15 Kitin biyosentezi, tip 0 inhibitörleri  Büyüme regülasyonu Biyolojik aktivite için sorumlu hedef protein bilinmiyor veya karakterize edilmemiş	Benzoyl üreler	Bistrifluron, Chlorfluazuron, Diflubenzuron, Flucyclozuron, Flufenoxuron, Hexaflumuron, Lufenuron, Novaluron, Noviflumuron, Teflubenzuron, Triflumuron

Çizelge 4.1. İnsektisitlerin etki mekanizması listesi (IRAC, 2014). (Devamı)

Ana grup ve öncelikli etki yeri	Kimyasal alt grup ya da ana grubu örneklendiren aktif madde	Aktif maddeler
16 Kitin biyosentezi, tip 1 inhibitörleri,  Büyüme regülasyonu  Biyolojik aktivite için sorumlu hedef protein bilinmiyor veya karakterize edilmemiş	Buprofezin	Buprofezin
17 Deri değiştirmesini bozan, Diptera takımında  Büyüme regülasyonu Biyolojik aktivite için sorumlu hedef protein bilinmiyor veya karakterize edilmemiş	Cyromazine	Cyromazine
18 Ekdison reseptör agonistleri Büyüme regülasyonu {bu proteinin insektisidal etkilerin sorumlusu olduğuna dair güçlü kanıtlar vardır }	Diacylhydrazinler	Chromafenozone, Halofenozone, Methoxyfenozone, Tebufenozide
19 Octopamine reseptör agonistleri Sinir sisteminde etkili  {bu proteinin insektisit etkilerinden sorumlu olduğuna dair iyi kanıtlar vardır}	Amitraz	Amitraz
20 Mitokondriyal kompleks III elektron transport inhibitörleri Enerji metabolizması {bu protein kompleksinin insektisit etkilerinden sorumlu olduğuna dair iyi kanıtlar vardır}	20A Hydramethylnon	Hydramethylnon
	20B Acequinocyl	Acequinocyl
	20C Fluacrypyrim	Fluacrypyrim
21 Mitokondriyal kompleks I elektron transport inhibitörleri Enerji metabolizması {bu protein kompleksinin insektisit etkilerinden sorumlu olduğuna dair iyi kanıtlar vardır}	21A METI akarisit ve insektisitler	Fenazaquin, Fenpyroximate, Pyrimidifen, Pyridaben, Tebufenpyrad, Tolfenpyrad
	21B Rotenone	Rotenone (Derris)

Çizelge 4.1. İnsektisitlerin etki mekanizması listesi (IRAC, 2014). (Devamı)

Ana grup ve öncelikli etki yeri	Kimyasal alt grup ya da ana grubu örneklendiren aktif madde	Aktif maddeler
22 Voltage-dependent sodium channel blockers Sinir sisteminde etkili {bu protein kompleksinin insektisit etkilerinden sorumlu olduğuna dair iyi kanıtlar vardır}	22A Indoxacarb	Indoxacarb
	22B Metaflumizone	Metaflumizone
23 Asetil CoA karboksilaz inhibitörleri. Lipid sentezi, büyüme düzenleme  {bu protein kompleksinin insektisit etkilerinden sorumlu olduğuna dair iyi kanıtlar vardır}	Tetronic ve Tetramic asit türevleri	Spirodiclofen, Spiromesifen, Spirotetramat
24 Mitochondrial complex IV electron transport inhibitors Enerji metabolizması {bu protein kompleksinin insektisit etkilerinden sorumlu olduğuna dair iyi kanıtlar vardır}	24A Phosphine	Aluminium phosphide, Calcium phosphide, Phosphine, Zinc phosphide
	24B Cyanide	Cyanide
25 Mitokondriyal kompleks II elektron transport inhibitörleri Enerji metabolizması {bu protein kompleksinin insektisit etkilerinden sorumlu olduğuna dair iyi kanıtlar vardır}	Beta-ketonitrile türevleri	Cyenopyrafen, Cyflumetofen
28 Riyanodin reseptörü modülatörleri Sinir ve kas etkili {bu protein kompleksinin insektisit etkilerinden sorumlu olduğuna dair iyi kanıtlar vardır}	Diamidler	Chlorantraniliprole, Cyantraniliprole, Flubendiamide
UN *  Bilinmeyen veya belirsiz bileşikler  {Biyolojik aktivite sorumlu hedef protein bilinmiyor, ya da tanımlanmamış}	Azadirachtin	Azadirachtin
	Benzoximate	Benzoximate
	Bifenazate	Bifenazate
	Bromopropylate	Bromopropylate
	Chinomethionat	Chinomethionat
	Cryolite	Cryolite
	Dicofol	Dicofol
	Pyridaly	Pyridaly
	Pyrifluquinazon	Pyrifluquinazon

## 4.2 Direnç Tipleri

Kırmızıörümcekler, yaprakbitleri gibi gelişme süreleri kısa ve dolayısıyla yılda çok sayıda döl veren zararlılarda kısa zamanda direnç ortaya çıkar (Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008). Bu nedenle bunlarla yapılan savaşımında ekonomik kayıpların fazla olmasının yanında doğal dengenin bozulması ve çevre kirliliğinin artması gözlenir. Öncelikle zararlılar ile savaşım yöntemlerinin yanında bunların nasıl direnç kazandıklarının ele alınması gerekir. Direnç çeşitleri Öncüer ve Durmuşoğlu (2008)'na göre şu şekilde sıralanabilir:

**Morfolojik Direnç:** Zararlının vücut yapısı nedeniyle kazandığı dayanıklılıktır. Örneğin vücut yapısı sık kıllı ise ilaç böceğin vücuduna temas edemez ve direnç ortaya çıkar.

**Davranışsal Direnç:** Böceğin davranışı sonucu ortaya çıkar. Örneğin; Elma iç kurdu larvaları meyveye girerken kabuğu yutmayıp dışarı atar.

**Fizyolojik Direnç:** En çok rastlanan direnç tipidir. Fizyolojik faaliyetleri sonucu kimyasal yollarla meydana gelen direnç çeşididir. Genellikle kalıtsaldır. Örneğin; İlacın etkisini engelleyen kimyasal veya enzimlerin ortaya çıkması ile direnç oluşur.

**Çapraz Direnç:** Bir zararlının direnç kazandığı bir pestisidin dışında aynı gruptan olan diğer bir pestiside de direnç kazanmasıdır.

**Çok Yönlü Direnç:** Bir zararlının birçok pestiside farklı yollarla kazandığı direnç şeklidir

Ünal ve Gürkan (2001) ise; böceklerin bitki koruma ürünlerine dirençli hale gelmeleri için çeşitli yollar olduğunu ve genellikle bu mekanizmaların birden fazlasının aynı anda görüldüğünü bildirmiş ve direnç tiplerini şöyle sıralamışlardır:

**Davranışsal direnç:** Dirençli böcekler tehlikeyi ya da zehirli maddeyi tespit edebilirler veya tanıyıp kaçınabilirler. Bu direnç mekanizması organoklorinler, organofosfatlar, karbamatlılar ve piretroidler dahil çeşitli insektisit sınıfları için rapor edilmiştir. Böcekler, sadece belli insektisitlerle karşılaştığında beslemeyi durdurma veya püskürtme yapılan bölgeyi terk etme davranışı göstermektedirler

(örneğin, bir ilaca maruz kalan yaprağın alt yüzüne hareket etmek veya hedef bölgesinden uçmak gibi).

**Penetrasyon direnci:** Dirençli böcekler duyarlı böceklere göre toksinleri daha yavaş absorbe edebilirler. Bu böcekler dış kütikulasında vücutlarının içine kimyasal emilimini yavaşlatabilecek engelleri geliştirir ve penetrasyon direnci oluşur. Bu durum geniş bir insektisit sınıfından böcekleri koruyabilir. Penetrasyon direnci sıklıkla diğer direnç mekanizmaları ile birlikte görülebilir ve düşük penetrasyon diğer mekanizmaların da etkilerini yoğunlaştırır.

**Metabolik direnç:** Dirençli böcekler toksini hassas böceklere göre daha hızlı detoksifiye ya da yok ederler ve toksik molekülleri vücutlarından uzaklaştırırlar. Metabolik direnç en sık görülen ve genellikle büyük sorun oluşturan, kırılması güç bir mekanizmadır. Böcekler insektisiti parçalamak için kendi iç enzim sistemlerini kullanırlar. Dirençli ırklar bu enzimlere yüksek düzeyde veya daha verimli şekilde sahip olabilmektedirler. Daha etkili olmasının yanı sıra, bu enzim sistemleri de geniş bir aktivite spektrumuna (yani, pek çok farklı insektisite etki edecek düzeyde) sahip olabilir.

**Değiştirilmiş hedef yeri direnci:** İsektisit etkilerini azaltmak için toksinin genellikle böcek içindeki hedef yeri modifiye edilmiş olur. Bu ikinci en yaygın mekanizmadır.

Bu mekanizmalardan en önemlisi metabolik dirençtir ve kırılması çok güçtür. Böceğin normal enzimatik metabolizması, insektisit detoksifikasyonunu artırmak veya insektisit aktivasyonunu önlemek için modifiye edilir. Canlılarda zenobiyotiklerin detoksifikasyondan sorumlu enzimler esterazlar, oksidaz ve GST gibi büyük multigen aileleri üyelerinin transkripsiyonu ile meydana gelmektedir. Glutation transferaz (GST), her yerde görülen aerobik organizmalarda bulunan enzimlerin farklılaşmış bir ailesidir. Bunlar, endojen ve ksenobiyotik bileşiklerin detoksifikasyonunda merkezi bir rol oynamaktadır ve aynı zamanda hücre içi ulaşım, hormon biyosentezi ve oksidatif strese karşı koruma sağlamaktadırlar.

### 4.3 Direnç ile İlgili Enzimler

Böceklerin insektisitlere direnci ile ilgili yapılan çalışmalar sayesinde, insektisitleri metabolize edici bir dizi enzim tanımlanmıştır (Li et al., 2007).

Bu enzimler toplu olarak detoksifikasyon enzimi olarak bilinirler ve sitokrom P450 (P450), glutation S-transferaz (GST), karboksilesteraz (COE) ve UDT-glikosiltransferaz (UGT) çoklu gen ailelerinin üyeleri tarafından kodlanırlar. *D. melanogaster*'de 196 detoksifikasyon üzerinde etkili gen (89 P450, 39 KDV, 35 COE ve 33UGT) tespit edilmiştir (Tijet et al, 2001; Luque and O'Reilly, 2002; Ranson et al., 2002; Low et al., 2007).

Benzer numaralar çoğu böceklerde sıralı genomlar ile bulunmaktadır. Bu dört detoksifikasyon gen familyası elemanlarının çeşitli organizmalarda da bulunduğu bilinmektedir. (Ranson et al., 2002; Claudianos et al., 2006; Nene et al., 2007; Strode et al., 2008; Lee et al., 2010). Böceklerde direnç ile ilgili enzimlerden Esterazlar, Glutathion -S-Transferazlar, P-450 Monooxygenazlar ve Hidrolazlar en çok bilinenleridir.

Esteraz enzimleri bir çok mekanizmada rol oynamaktadır. Bunlar içinde üreme davranışı, feromon ve hormon metabolizması, sindirim sistemi ve sinir iletimi ve insektisitlere direnç sayılabilir. Organofosfatlar (OP) esterazların inhibitörleri olarak bilinir. Esteraz enzimleri asetil esterazlar, aril esterazlar, karboksil esterazlar ve kolin esterazlar olmak üzere 4 sınıftan oluşur. Bunlardan asetil esteraz enzimleri hiçbir inhibitörle etkileşmezler ve genellikle alifatik substratları tercih ederler. Aril esterazlar yalnızca sülfidril ayraçlarınca inhibe edilir ve genellikle aromatik substratları tercih ederler. Karboksil esterazlar yalnız organofosfatlarca inhibe edilirler. Genellikle asetik asitten daha uzun alifatik esterleri tercih ederken, kolin esterazlar, organofosfatlarca ve eserin sülfatlarca inhibe edilirler ve diğer alifatik ve aromatik esterler dışında kolinesterleri tercih ederler. Bu esteraz gruplarından karboksil ve kolin esterazlar organofosfat inhibisyonunda önemlidir. Karboksil/kolin esteraz enzimlerinin organofosfat insektisitlerince geri dönüşümsüz olarak inhibe edildiği Çakır ve Yamanel (2005) tarafından da bildirilmiştir. Ayrıca, organofosfatlı insektisitlerin aktive olmuş okson formları bu enzimlerle tepkime gösterdiklerinden, organofosfatlı insektisitler esteraz inhibitörleri olarak tanımlanır (Oakeshott et al., 1993).

Organofosfatlar ve karbamatlılar böcek ilaçları içerisinde en çok kullanılan ilaçların başında gelir. Organofosfatlı insektisitler özellikle sinir sisteminde asetilkolinesteraz üzerinde etkilerini gösterirler, asetilkolin ise sinir impulslarının sinaplardan geçişini kolaylaştıran bir nörotransmitter maddedir.

Asetilkolinesteraz böceklerdeki merkezi sinir sisteminin cholinergic synapsisinde neurotransmitter asetilkolini hidrolize ederler. Asetilkolin, Asetilkolin esteraz (AChE) enzimi tarafından kolin ve asetik asite dönüştürülür. Organofosfatlar ve karbamatlar ise AChE'nin analogu olarak çalışırlar (benzer yapısal formüle sahiptirler ve böylece resptör ile aynı yerlerden bağ yapabilirler) ve AChE'nin aktif bölgesine bağlanırlar. Fakat asetilkolin hidroliz olmasına rağmen, insektisitler, enzim-substrat kompleksi olarak sabit kalırlar. Böylece insektisitler, asetilkolinesteraz inhibisyonuyla sinir impulslarının transmiyonunu bloke eder ve asetilkolin reseptörlerinin uyuşmasına neden olurlar ve sonuçta ölüme sebep olur (Chen et al., 2001). Fakat böceklerde de önceki bölümde bahsedildiği gibi (*Bkz. 4.2. Direnç tipleri*) bu etkiyi azaltıcı ve hatta yok edici direnç mekanizmaları gelişmiştir.

Dirençte etkili olduğu düşünülen diğer bir enzim grubu da Glutathion-S-Transferazlar (GST)'dir. Glutathion-S-Transferazlar bütün metazoanlar ve bitkilerde bulunan bir izoenzim ailesidir ve temel detoksifikasyon sistemlerinden birisidir. Böceklerde bu enzim ailesi insektisitlerin toksik etkilerine karşı temel bir savunma olarak bilinir (Çakır ve Yamanel, 2005).

Örneğin *Musca domestica*'da organofosfat insektisitlere dirençli mutantların GST'nin yüksek seviyelerine sahip olduğu bulunmuştur. *Musca domestica*'da  $\theta$  sınıfı GST'leri önemli bir gen ailesi kodlar. Bu aileden Md GST -1, -2, -3, -4, -6A, -6B genleri tanımlanmıştır. *Musca domestica*'da Md GST-1,-3 ve -6'nın fazla üretimi organik fosforlu insektisitlere direnç oluşturur. Md GST-6A dirence diğerlerinden daha fazla katkıda bulunur. Bu genlerle (Md GST-3,-4) ilgili sekansların *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) genomunda çoklu kopyaları bulunur (Zhau ve Syvanen, 1997; Çakır ve Yamanel, 2005). Plapp tarafından 1984'de *Musca domestica*'nın ikinci kromozomunda lokalize olmuş olan genlerin organofosfatlı insektisitlere direnç gösteren GST'nin ekspresyonunu kontrol ettiği gösterilmiştir (Kence, 1988).

Hücrede fazla ihtiyaç duyulan gen ürünlerini kodlayan genler, evrim sırasında dublikasyona uğrayarak bir çok üye içeren gen ailesi formuna dönüşmüşlerdir. P450 süper gen ailesi de bunlardan birisidir. Çünkü bu genler oksijenli solunumun ETS evresinde görev alan sitokrom proteinlerini kodlarlar (Çakır ve Yamanel, 2005). Nebert et al. (1987) tarafından önerilen nomenklatüre

göre sekanslar CYP olarak adlandırılmıştır (CYtokrom P450). 1970 ve 1980 yılları boyunca P450 lerin çok büyük bir miktarı öncelikle memelilerden izole edilerek karakterize edilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar bir çok böcek türünde P450 gen süper ailesinin 70 aile ile 127 alt aileden oluştuğunu gösterir ve sekansların sayısı hızla büyümektedir. *Caenorhabditis elegans* (Nematoda: Rhabditida, Rhabditidae) genomunun sekanslanmasıyla 80 P450 geninin varlığı ortaya çıkarılmıştır (Jeffrey, 1999). Sitokrom P450'nin bağlı olduğu monooxygenazlar, ilaçlar, pestisitler ve bitki toksinleri gibi xenobiotiklerin katabolizması ve anabolizmasında ve hormonlar, yağ asitleri ve steroidler gibi endergonik bileşiklerin karşılık vermesinin düzenlenmesindeki ilgilerinden dolayı önemli metabolik bir sistemdir. Monooxygenazlar; böcekler, bitkiler, memeliler, kuşlar ve bakteriler gibi bütün aerobik organizmalarda mevcuttur. Sitokrom P450, monooxygenaz sisteminde merkezi oksidazın görevini yapan bir hemoproteindir. Ökaryotlarda P450'ler endoplazmik retikulum ve mitokondrilerde bulunur. Mitokondrideki P450'ler farklı bir elektron taşıma sistemi kullanır ve ökaryot P450'lerden çok primitif prokaryotik P450'lerle daha yakındır (Jeffrey, 1999). Böcek monooxygenazlarından P-450 redüktaz ve Sitokrom b5'in direnç gelişiminde rol oynadığı tespit edilmiştir. Bir böcekte toplam P450'nin varlığı ilk kez 1967'de kaydedilmiştir ve son zamanlarda araştırmacılar birkaç böcek türünde çok sayıda P450 varlığını kanıtlamıştır (Çakır ve Yamanel, 2005). Böcek P450 redüktazı ilk kez *Musca domestica*'dan izole edilmiştir ve memeli P450 redüktazına benzerlik gösterir. Sitokrom b5 ilk kez *Hyalophora cecropia* denen bir böcekte tanımlanmıştır. P450 redüktaz ve b5'in artan seviyelerinin monooxygenaza bağlı insektisit direnci ile bağlantılı olduğu ise ilk defa *Musca domestica*'da bulunmuş ve son zamanlarda diğer türlerde de tespit edilmiştir. Böceklerin monooxygenazları pestisitlere direnç, beslenme, büyüme ve gelişme, bitki toksinlerine tolerans gibi bir çok fonksiyonel role sahiptir (Çakır ve Yamanel, 2005). İnsektisitlerin diğer sınıfları için (bir çok organofosfatlar gibi) P450 ler ana bileşiğin aktivasyonunda insektisidal diazoxan (bir fosfat) içerisindeki diazinon gibi detoksifikasyona kolay karışabilir. P450 monooxygenazlar bu nedenle kritik olarak organik fosforuların insektisidal aktivitesi için açık olacaktır. Belirli bir P450 kolayca aktive olmuş bileşikte non-toxic organik fosforulara durum değiştirirken aynı P450'nin aktive olmuş fosfatı metabolize etme yeteneği ya azdır veya yoktur. Sonuç olarak denebilir ki, P-450'ler organik fosforuların insektisit aktivitesini engelleyerek etkili olurlar (Jeffrey, 1999; Çakır ve Yamanel, 2005).

Hidrolazlar bir çok organizmada bulunan heterojen enzimlerin büyük bir grubudur. Fosfatazlar, karboksilesterazlar vb. bu kategoriye dahil edilir. Hidrolaza bağlı direnç üzerine yapılan çalışmaların bazıları göstermiştir ki, organik fosforlulara dirençli türlerin  $\alpha$  naftil asetat gibi model substratları hidroliz yeteneği azdır, bu durum mutant ali esteraz hipotezi olarak adlandırılır. Newcomb et al. (1997) tarafından açıklanan bu hipoteze göre; Normal şartlarda E3 (bir karboksilesteraz) enzimi  $\alpha$  naftil asetatı (model substrat) katalitik olarak aktive eder. Eğer E3 (bir karboksilesterazda) enziminde tek bir aminoasit mutasyonu (G137D) oluşursa bu enzim  $\alpha$  naftil asetat substratını katalitik olarak aktive edemez. Fakat organik fosforulardan chlorfenvinphosda (insektisit aktif formu) aktivite artışına neden olur ve direnç gelişir. Böylece bir mutasyon sonucu oluşan bir tek aminoasit değişikliğinin dirence neden olmak için yeterli olduğu söylenebilir (Newcomb et al., 1997; Çakır ve Yamanel, 2005).

#### 4.4 Direnci Tespit Etme Yöntemleri

Böceğin, döl süresi, yumurta bırakma sıklığı ve durumu direnç etki mekanizmasını ve evrim hızını belirler. Duyarlı ve dirençli bireyler arasında ayırım yapmak için güvenilir, hızlı ve etkili teknikler gereklidir (Brown, 1981; Gunning, 1993).

Popülasyon yapısında ve dağılımında pestisitlerin neden olduğu kaymaların değerlendirilebildiği zararlı türlerde direnci teşhis etmek için çeşitli fenogenetik yöntemler kullanılabilir, coğrafi koşullar ve zamanla direnç gelişimi etkilenebilir.

Bunlar arasında, kolay kullanımlı toksikolojik yöntemler dünya çapında en çok kullanılanlardır. Bunlar, kullanılan pestisitlerle popülasyonda, dirençli ve duyarlı genotiplerin oranını saptayarak duyarlılık düzeylerinin tespitine imkan sağlamaktadır.

2004 yılında İnsektisit Direnç Eylem Komitesi 'Eklembacaklı zararlıların popülasyonlarında pestisit direnci izleme' adıyla bir yöntem kılavuzu yayınlamıştır. Bu kılavuzda yer alan yöntemler tarım ilaçları ve diğer ilaçlar ile çalışan bilim adamları için, böcekler ve akarları içeren 37 türün popülasyonlarında direnç gelişimini değerlendirmek için büyük pratik bilgiler sağlamaktadır (Karaağaç, 2012).

Günümüzde, araştırmacılar direnç tanısı için kullanılabilir kolay görülebilir görsel morfolojik karakterler tespit etmeye çalışmaktadır. Bunu başarmak için, popülasyonlarda fraksiyonları belirlenmiş erginlere ait farklı morfotip örnekleri vardır. Tanımlanan her morfotip, kullanılan toksik maddenin ardından duyarlılık açısından test edilmektedir (Karaağaç, 2012).

Öneğin, patates böceğinde, farklı varyasyonların meydana gelme sıklığının piretroid duyarlılığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu bulgu, kışkıktan erginlerin çıkmasından sonra zararlının popülasyonunda, piretroid direncini ortaya çıkarmak için tasarlanmış olan hızlı bir yöntem olmuştur (Sukhoruchenko and Dolzhenko, 2008). Böylece, patates yetiştiricilerinin mevsimsel uygulama listelerinde pestisitlerin rasyonel kullanım planlamasını yapmasını sağlar.

Direncin hedef yeri duyarlılığının azalması ve detoksifikasyonun artışı gibi ana mekanizmaları vardır. Hedef yeri, insektisit tarafından saldırılan böceklerdeki moleküllerdir. Azalmış hedef bölge duyarlılığı, hedef yerlerinde değişikliklere neden olarak insektisit bağlanmasını azaltır ya da bağlanılan yerde meydana gelen hasarı azaltmaktadır. Metabolizma insektisitlere hızlı bir şekilde bağlanan ve toksik olmayan bileşiklere dönüştüren enzimler içerir. İnsektisit penetrasyonunu azaltan kutikula yapısı ve insektisite maruz kalmaktan kurtulma amacıyla görülen davranış değişiklikleri de direnç mekanizmaları arasındadır. Farklı mekanizmalar bazen etkileşim içinde bulunarak tek bir böcek içinde oluşabilir ve bu durum direncin çok yüksek seviyelerde olmasına sebep olmaktadır (Karaağaç, 2012).

Direnç, Uluslararası Direnç Eylem Komitesi (IRAC) tarafından yayınlanan, geleneksel standart biyoassay yöntemler kullanılarak ve biyokimyasal, immünolojik ve moleküler yöntemler ile tespit edilebilir.

#### 4.4.1 Geleneksel tespit yöntemleri

Standart tespit yönteminde tarla popülasyonundan örnekler alınır ve üretilirler. Larva veya eginler bir insektisit doz aralığına maruz kaldıktan sonra, ölüm oranı değerlendirilerek direnç tespit edilir. Duyarlı ve tarla popülasyonu için LD<sub>50</sub> veya LC<sub>50</sub> değerleri probit analizi kullanılarak hesaplanmaktadır (Karaağaç, 2012).

Sonuçlar, standart duyarlı popülasyon örnekleri ile karşılaştırılır ve oransal olarak direnç tespiti yapılır. Bu metot, farklı zararlı türleri için bazı farklılıklar

içermektedir ve bu yöntemler bazı zararlı türler için Böcek Direnci Eylem Komitesi (IRAC) tarafından yayınlanmıştır. Direnci belirlemenin en önemli amaçlarından biri üreticiye en güvenli veya dirençten en az etkilenen pestisitlerin seçiminde yardımcı olmaktır (Roush and Tabashnik, 1990).

Biyoassay denemeleri direncin belirlenmesinde kullanılan ilk yöntemdir ve daima etkilidir. Biyokimyasal denemeler ise düşük frekanslardaki direnç genlerini doğru olarak tanımlama ve kontrol etme yeteneğindedir (Roush and Tabashnik, 1990). Genel olarak direnç kontrolü  $LC_{50}$ 'lerin ve  $LC_{90}$ 'ların karşılaştırmasını veya tarla ve laboratuvar popülasyonları arasındaki doz-tepki grafiğini içermektedir. 1990'lı yıllara kadar direnç kontrolünde doz veya konsantrasyon ile ölüm ilişkisine çok az önem verilmiştir. Bununla birlikte, özellikle örneklemedeki istatistiksel test teknikleri, direnç kontrol programına karar vermede en önemli faktördür. Yüksek direnç frekanslarında direncin belirlenmesinin mümkün olmasına rağmen, özellikle direncin ilk ortaya çıktığı dönemde hem lethal doz (LD), hem de direnç frekansındaki dağılım tahminleri küçük değişimlere duyarsızdır (Ay ve Sökeli, 2005).

### **Biyoassay Yöntemler**

İnsanlar kendileri ve doğal yaşam için tehdit oluşturabilecek maddelerden/olaylardan önceden haberi olması amacıyla birçok araştırma yapmaya başlamış ve bu durumları önceden belirleme gereği duymuştur. Bir biyokimyasal toksisite testi, bir biyolojik organizma kullanımını gerektirir. Belki de en eski ve en bilinen örneği, kömür madeninde kanarya kullanımınıdır. Geleneksel olarak, kömür madencileri güvenli bir hava kaynağı sağlamak için madenlere kafesli kanaryalar almış. Kanaryalar, madencilik sürecinde yayılan bir kokusuz gaz olan metana insanlardan daha duyarlıdır, bu nedenle kanarya, metan gazının madenlerde tehlikeli seviyelere ulaştığını anlamak için kullanılmış ve kanarya öldüğü anda madenciler kısa sürede madeni terk etmeli uyarısı anlamına gelmiştir (Authentic Scientific Research for High School Students, 2009)

Geniş anlamda, kullanımıyla "biyoassay" ya da "biyolojik analiz" aktif maddenin bir canlı organizmada fizyolojik olarak etkileri ve arasındaki ilişkinin saptanması için kullanılmaktadır (Hoskins ve Craig, 1962)

Finney (1979), verdiği tanıma göre: “en geniş anlamıyla biyoassay terimi, herhangi bir uyarıcının, fiziksel, kimyasal, biyolojik ya da fizyolojik olarak potansiyel etki ölçümü anlamına geldiği anlaşılmalıdır” demektedir.

Direnç belirlemede birçok standart biyoassay yöntemi vardır. Bu yöntemler insektisitlerin uygulama yöntemlerine göre sınıflandırılmıştır (French-Constant ve Roush, 1990).

1. Daldırma
2. Rezidü veya yüzey teması
3. Topikal uygulama
4. Besleme

Biyoassay denemeleri, insektisitlerin böceklere karşı etkisinin ölçümü anlamında ele aldığımızda önemli olan bazı konuları belirtmek gerekmektedir. Bu bilgiler için “Biyoassays with Arthropods” (Robertston et al., 2007) isimli kitap ve Isman (2011) oldukça ayrıntılı bilgiler içermektedir. Özet olarak üzerinde durulması gereken konular şu şekildedir:

Bilinmesi gereken bazı tanımlar:

- Biyodene (Biyoassay), “canlı bir organizmanın bir denek olarak kullanıldığı bir deney” olarak tanımlanabilir.
- Quantal tepki biyodene (*Quantal response biyoassay*): Uyarıcı miktar ya da yoğunluğu ile tepki arasındaki ilişkiyi tahmin etmek için yapılan deneydir.
- Tepki değişkenleri (bağımlı değişkenler) - *Response variables (dependent variables)*: Deneyin rasgele elde edilmiş çıktıları.
- Açıklayıcı değişkenler (bağımsız değişkenler) - *Explanatory variables (independent variables)*: Tepkiye neden olan uyarının ölçülebilir özellikleri.

Tepki (yanıt) değişkenlerinin türleri:

- İkili – (*Binary*): Evet ya da hayır, mesela canlı ya da ölü
- Sürekli değişken – (*Continuously variable*) tepkilerin spektrumu, örneğin ağırlık, tüketilen artış, gıda vb.

- Birden fazla açıklayıcı değişkenler ile İkili model - (*Binary model with multiple explanatory variables*): Bir "doz-yanıt (dose-response) eğrisi" üretir
- Deney birimi – (*Experimental unit*): Uygulamaya maruz kalan esas varlık
- Tekrar – (*Replication*): Farklı bir zamanda biyoassay tekrarı, ama mümkün olduğunca aynı koşullar altında.
- Bir tekrarda altkümeler = yalancı tekrar

İyi bir biyoassay kabul görmesi için bazı özellikler içermelidir. Tekrarlanabilirlik özelliği; deneyin aynı şekilde başka bir zamanda ve mekanda tekrar edilebilir olması gerekmektedir. Kolaylıkla gözlenen ve ölçülen sonuçları olmalıdır. Nispeten düşük maliyetli olmalıdır. Tercihen kısa süreli olmalı ve fazla tekrar içeriyor olmalıdır. Bunların sonucunda da “doğrusal bir doz-yanıt eğrisi” vermelidir.

Buraya kadar iyi bir biyoassay yaptığımızı düşünürsek, bu test sonucunda elde edilen veriler “Neyi ölçebilir?” sorusuna verilecek cevapları fizyolojik ve davranışsal tepkiler olarak iki grupta inceleyebiliriz:

#### Fizyolojik tepkiler

- 1) Ölüm (sabit süre veya gelişme aşaması içinde)
- 2) Larvaların büyümesi (ağırlık)
- 3) Pupa gelişimi (zaman); ömür uzunluğu
- 4) Döl verimi, yumurta verimi

#### Davranışsal tepkiler

- 1) Beslenmeyi engelleme
- 2) Yumurtlamayı engelleme
- 3) İticilik (repellent)

Elde ettiğimiz sonuçların doğru yorumlanması için insektisitlerin söz konusu olduğu denemelerde göz önünde bulundurulması gereken önemli noktalar ise şu şekilde sıralanabilir, geleneksel insektisitlerin tarla (saha) etkinliği, en fazla ölü birey sayısı ile bağlantılıdır. Ancak, ölüm sayıları hesaplanırken insektisitlerin böceklerde meydana getirdiği davranışsal etkiler göz ardı edilmemelidir.

Gecikmeli ölüm önemli olabilir, mesela azadirachtin (neem), rotenone, böcek gelişim düzenleyicileri, protein sentez inhibitörleri ve mitokondriyal zehirler ile yapılan uygulamalarda böcekleri öldürmek genellikle 48 saatten fazla sürer. Bunun yanında, yılda verdiği döl sayısı fazla olan üretken türler için doğurganlık önemli bir kıstas olabilir.

Biyoassay çalışma planlanırken bir bitiş noktası (süresi-dönemi) seçilerek deneme planlanmalıdır. Bunun yanında öncelikle bir "pozitif" kontrol oluşturulmalıdır, "negatif" kontrol ise sadece uygulamanın yapılmadığı, ancak tüm test koşullarını sağlamalıdır. Uygulama yöntemlerini tekrarlamak gerekir. Gözlemler ve tekrarlar değil, gözlem başına böceklerin sayısının maksimum olması gereklidir. Amaç elde edilen veriler doğrultusunda uygulama sonunda böceklere karşı bir yüzde tepki, % 50 tepki üretecek bir doz/konsantrasyon ölçebilmektir, % 100 değil.

Öncelikle biyoassay iyi şekilde planlanmalıdır (Ne ölçmek istiyorsun?)

- Gözlem sayısı arttırılmalıdır
- Kontrollerin önemi unutulmamalı: negatif kontrol ve pozitif kontrol
- Preparatların, yöntemlerin, zararlıların, koşulların değişkenliği olabildiğince azaltılmalıdır.

Biyoassay denemeler esas olarak bir bitki, bir böcek ve insektitilerin uygulama şekli ve yöntemi gibi başlıklardan oluşmaktadır. Bu başlıklar içindeki değişken kaynakları ise şu şekilde sınıflandırabiliriz:

Böcekler

- 1) Yaş ve/veya yaşam evresi
- 2) Açlık ve/veya beslenme durumu

Bitkiler

- 1) Toplanan yer, bitki kısmı, fenolojik yaş
- 2) Ekstraksiyon yöntemi (solvent, hacim, zaman)

Uygulama yöntemi

- 1) Solvent, emülsiyon yapıcı (lar)
- 2) Alt tabaka (yaprak, filtre kağıdı, cam)

3) Taşıyıcı/korunaklı kısım: açık/kapalı, nem

İnsektisitlerin böceklere uygulama şekilleri ise 4 başlıkta değerlendirilir

Doğrudan: Topikal uygulama, etki eden kesin bir sabit doz kullanımı söz konusudur veya püskürtme şeklinde uygulama yapılır konsantrasyon daha az kesin/yaklaşiktır.

Alt tabakaya (yaprağa, cam şişeye vb.) yapılan uygulama yüzey teması şeklinde etki gerçekleşir, etki eden konsantrasyon net olarak hassas hesaplanamaz, alt tabakaya verilen doz bilinmektedir ve kesindir.

Rezidüel (kalıntı) kontak uygulaması - yukarıdaki gibi aynıdır, ancak böcekler alt tabakaya uygulama yapıldıktan sonra belirlenen zamanlarda verilir.

Fumigasyon - kapalı konteyner; böcekler uygulama ile doğrudan temas etmesi mümkün olmamalıdır.

Beslenme engelleyici biyoassay çalışmalarında ise deneme süresini mümkün olduğunca en aza indirmek gerekir. Beslenme biyoassay çalışmaları kısa olmalıdır yani, bir ya da iki besleme döneminde bitmelidir. Böcekler bazen, beslenme engelleyicilere hızla alışabilir. Bunlara ek olarak böcekleri gruplar halinde kullanmaktan kaçınılmalıdır, "sosyal kolaylaştırma" denilen bu durum sonuçları etkileyebilir.

Ancak, laboratuvar koşullarında yapılan bu testler dışında gerçek koşullara daha yakın deneysel koşullardan (tarla koşulları) da söz edebiliriz. Bu durumda daha fazla değişken ortaya çıkmaktadır. Bunlardan plastik yüzeylerde kullanılan rezidü yöntemi daha çok kırmızıörümcekler için geliştirilmiştir. Bu uygulama modeli yaprak rezidü modeline çok benzemektedir, fakat yaprak rezidü modeline göre çok hızlıdır, 24 saatte sonuç verir ve kontrole gerek yoktur. Rezidü yönteminin sonuçları gelecekte tarlada oluşacak seleksiyon oranları hakkında da fikir vermektedir (Ay ve Sökeli, 2005).

Biyoassay testler, sadece direnç varlığı ve frekansının bir göstergesi olabilir ve direnç mekanizması hakkında sınırlı bilgi vermektedirler. Direncin gelişimi genellikle bir veya birkaç gene dayanmaktadır. Duyarlı bir popülasyon, bir insektisite maruz kalmadan önce, tipik olarak direnç genleri bakımından genellikle zayıftır, bu genler insektisit yokluğunda azaltılmaktadırlar (Karaağaç, 2012).

#### 4.4.2 Böceklerde insektisit direncinin biyokimyasal tespiti

Zararlı türlerde pestisit direncini belirleyen diğer bir yöntem ise biyokimyasal denemelerdir. Bu yöntemin temelinde böceklerdeki pestisit direnç mekanizmasının bilinmesi amaçlanmaktadır. Bunun en iyi örneği *Myzus persicae* (Sulzer)'de direnç,  $\alpha$ -naphthyl asetatı hidrolize eden esteraz aktivitesinin pozitif ilişkisidir.  $\alpha$ -naphthyl asetat'ı hidrolize eden birçok enzimden sadece karboksilesteraz, E4'ün artan aktivitesinin dirençte önemli rol oynadığını ortaya çıkartılmıştır. Fazla miktarda karboksilesteraz E4 bulunduğunda, insektisitler sinir sistemindeki hedefe ulaşmadan önce tutulmakta ve bu nedenle AChE normal biyolojik fonksiyonuna devam etmekte ve böcek yaşamaktadır (Ay ve Sökeli, 2005).

Biyokimyasal deneyler/teknikler dirençle ilgili bir mekanizma kurmak için kullanılabilir. Bir popülasyon biyokimyasal deneyler ile iyi karakterize edildiğinde, bu deneyler bazı farklı seleksiyon baskısı altındaki bir popülasyonunda direnç gen frekanslardaki değişiklikleri ölçmek için kullanılabilir (Karaağaç, 2012).

##### İmmünolojik tespit yöntemleri:

Bu yöntem, yalnızca spesifik yüksek esteraz için antiserum erişimi olan laboratuvarlar ile işbirliği içinde kullanılabilir. Bugüne kadar bir antiserum E4 karboksilesteraza karşı İngiltere'de bulunan bir popülasyondan yaprak biti (*Myzus persicae*)'nden hazırlanmıştır. Bu antiserumdan bir afinite 1gG kısmı saflaştırılmış ve üç yaygın dirençli varyantlar arasında ayırım için basit bir immunoassayde kullanılmıştır (Devonshire et al., 1986).

##### Monooksijenaz (sitokrom P450) bazlı insektisit direnci tespiti

Tek tek zararlıların oksidaz aktivitesi seviyesi düşüktür ve micrtitre plaka güvenilir değildir. Tek böcekte p450 aktivitesini ölçmek için noktasal test geliştirilmiştir. P450, enzimlerin karmaşık bir ailesidir ve farklı sitokrom P450'ler farklı insektisitlere karşı direnç üretebilir (Karaağaç, 2012).

#### 4.5 Direnç İle İlgili Çalışmalar

Türkiye'de insektisit ve akarisitlere dayanıklılık ile ilgili çalışmalar sentetik organik pestisitlerin kullanımının yaygınlaşmasının hemen ardından yani 1960'lı

yıllarda başlamıştır. Dayanıklılık üzerine yurdumuzda saptanan ilk yayınlar konuyu aydınlatan, yurtdışındaki durumları rapor eden derlemeler şeklinde olmuştur (Düzgüneş, 1953; Alkan, 1960). Dayanıklılık en çok halk ve çevre sağlığı kapsamında kullanılan insektisitlere karşı sivrisinek ve karasinek türleri için rapor edilmiştir (Şişli vd., 1983; Kence ve Kence, 1985; Kasap vd., 1999). Durmuşoğlu (2004), Türkiye’de insektisit ve akarisitlere karşı dayanıklılık konusunda yeterince çalışılma yapılmadığını ve 2000’li yılların başına kadar toplam 30 araştırma bulunduğunu bildirmiştir. Bunlar içinde kültür bitkilerinde sorun olan zararlılarla ilgili olarak sadece 4 tanesinde; Şeftali yaprakbiti [*Myzus persicae* (Sulz.) (Homoptera: Aphididae)]’nin parathion-ethyl’e (Zümreoğlu, 1978), Pamuk yaprakkurdu [*Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae)]’nun monocrotophos’a (Öden vd., 1975), Karasinek [(*Musca domestica* L.) (Diptera: Muscidae)]’in malathion’a karşı (Şişli vd., 1983), Patates böceği [*Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)]’nin de delthamethrin’e karşı direnci bildirilmiştir (Erdoğan ve Gürkan, 1997).

Yoğun kimyasal kullanımı başta kalıntı sorunu nedeniyle insan sağlığını tehdit etmekte ve ihracatımızda da önemli sorunlara açmaktadır. Son 5 yılda Avrupa Gıda Güvenliği - Gıda ve Yemlerde Hızlı Alarm Sistemi (RASFF)’nde sadece Türkiye orijinli üzümde saptanan kalıntı kayıtları şu şekildedir: Almanya’dan 31/08/2005 tarihinde spinosad (0.04 ppm), 07/12/2009 tarihinde procymidone (1.8 ppm) ve lambda-cyhalothrin (0.15 ppm); İngiltere’den 30/05/2006 tarihinde dithiokarbamat (0.4 ppm), monocrotophos (0.5 ppm), procymidone (0.4 ppm) ve metalaxyl (0.3 ppm); Macaristan’dan 30/07/2008 tarihinde esfenvalerate (0.20; 0.22; 0.23 ppm); Litvanya’dan 15/09/2009 tarihinde monocrotophos (0.5 ppm), 25/09/2009 tarihinde methoxychlor (0.04 ppm) ve 07/12/2009 tarihinde imazalil (0.08 ppm) kalıntıları tespit edilmiştir (RASFF, 2010).

Yaygın ve bilinçsiz/yoğun kullanılan insektisitler kalıntının yanında zararlılarda çeşitli tiplerde direnç görülmesine neden olmaktadır. Zararlılara karşı pestisit dayanıklılığıyla ilgili ilk kayıt 1914 yılında ABD’de bildirilmiş ve o tarihten 2007 yılı sonuna kadar 553 türün 331 bileşiğe toplam 7747 vakada dayanıklılığı bildirilmiş ve bu vakalar içinde en çok dayanıklılık sırasıyla Diptera (% 33.8), Lepidoptera (%15.4), Acarina (13.7), Coleoptera (%13.4) ve Homoptera

(%10.5) takımına bağlı türlerde görülmüştür. Dayanıklılık durumu en çok sırasıyla organik fosforlu bileşiklere (%37.3), klorlandırılmış hidrokarbonlu bileşiklere (%30.2), piretroitli bileşiklere (%15.5) ve karbamatlı bileşiklere (%7,1) karşı tespit edilmiştir (Mota-Sanchez et al., 2008).

Türkiye’de tarımsal zararlıların pestisitlere karşı gösterdiği direnç üzerine 2000’li yıllarda yapılmış önemli bazı çalışmaların sonuçları ise aşağıda sunulmuştur:

Ay ve Gürkan (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, ülkemizin önemli pamuk üretim merkezlerinden toplanan *Tetranychus urticae* Koch. (Acari: Tetranychidae) popülasyonlarında selektif akarisitlere (dicofol, bromopropylate) karşı önemli ölçüde bir duyarlılık kaybına rastlanmadığı bildirilmiştir. Birçok ülkede özellikle dicofol’a karşı çok yüksek oranlarda direnç kaydedildiğini bildiren araştırmacılar bu durumu, ülkemizde spesifik ilaçların çok fazla tercih edilmediğine ve geniş spektrumlu ilaçların daha çok tercih edildiğine bağlamışlardır.

Ay (2006) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada, Antalya’da örtüaltı sebze üretim alanlarında, yine *T. urticae* ’nin bazı akarisitlere (propargite, abamectin ve amitraz) karşı duyarlılıkları araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan akarisitlerden propargite ve abamectin’e karşı önemli ölçüde duyarlılık kaybı belirlenemezken, ülkemizde amitraz’a karşı daha önce bir duyarlılık kaybı bildirilmediği halde bu çalışmada amitraz’a karşı bazı popülasyonlarda önemli ölçüde direnç belirlenmiştir.

Sökeli vd. (2007), elmanın yoğun olarak üretildiği Isparta İli elma bahçelerindeki *T. urticae* popülasyonlarının chlorpyrifos’a karşı dirençli fakat propargite ve abamectin’e karşı duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir.

Dağlı ve Tunç (2007), *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae)’in Antalya’dan elde edilen ırklarının 5 insektisit sınıfına karşı direnç durumunu incelemiş ve tümünde cypermethrine karşı 1.6 ile 12.2 kat arasında değişen direnç artışı tespit etmişlerdir.

Erdoğan vd. (2008), Adana, Antalya, İzmir ve Tarsus pamuk alalarından topladıkları Tütün beyaz sineği [*Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera:

Aleyrodidae]] popülasyonlarının piretroitli insektisitlere karşı önemli dercede dirençli olduklarını bulmuşlardır.

Kumral vd. (2008), Bursa İli elma bahçelerinden toplanan *Panonychus ulmi* (Koch) (Acarina: Tetranychidae) popülasyonlarının, chlorpyrifosa 6.0 ile 35.6 kat, lambda-cyhalothrine ise 0.7 ile 5.7 kat daha dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Velioğlu vd. (2008a), İçel’de yaptıkları bir çalışma sonucunda *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae) popülasyonlarında, yüksek düzeydeki karboksilesteraz (E4 ve FE4) nedeniyle vücuda alınan pirimicarb’ın bir kısmının toksik olmayan yapıya dönüştürüldüğünü (detoksikasyon), kalan pirimicarb’ın sinir sistemine ulaşabilen kısmının ise, AChE’in duyarsız hale gelmesi nedeniyle (hedef alanın duyarsızlaşması) etkisini gösteremediğini bildirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda, *M. persicae*’nin İçel popülasyonlarında farklı iki direnç mekanizması tespit edildiğinden bu popülasyonlarda “çoklu direnç mekanizması” olduğu belirlenmiştir.

Yine Velioğlu vd. (2008b), pamuklarda zararlı *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)’nin beş farklı popülasyonu ile yapılan biyokimyasal çalışmalar ışığında, hem yüksek esteraz aktivitesine, hem de dirençli olan 1081K popülasyonu ile aynı bant dizilişine sahip oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca bu zararlının pirimicarb ve demeton-S-metil’e değişen oranlarda duyarsız asetilkolinesteraz aktivitesi sergiledikleri, dolayısıyla, bu popülasyonların karbamatlılara ve organikfosforllara karşı değişik seviyelerde direnç gösterdikleri bulunmuştur.

Ay ve Kara (2009) amitraz ile *Tetranychus urticae* popülasyonlarını seleksiyon yoluyla dirençli hale getirmişler, amitraz direnç oranının 14.39 kattan 32.02 kata yükseldiğini; oluşan çoklu direnci incelediklerinde ise bu popülasyonlarda en yüksek çoklu direncin sırasıyla abamectin (8.38 kat), propargite (6.37 kat), chlorpyrifos (3.53 kat), clofentezine (3.43 kat) ve fenpyroximate (1.91 kat)’de arttığını; buna karşın bifenthrin’e hassasiyet oluştuğunu bildirmişlerdir.

Genç vd. (2009), Çanakkale ve çevresinden toplanan Zeytin sineği [*Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae)] popülasyonlarının organik fosforlu ilaçlara karşı dayanıklılık durumları incelenmiş, 2006 yılında toplanan

toplam 161 örneğin % 32'sinin homozigot dayanıklı (RR), % 65' inin heterozigot dayanıklı ve % 3'nün ise hassas olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar 2007 yılında topladıkları toplam 181 örneğin aynı grup aktiflerine karşı dayanıklılıkları incelediklerinde ise % 53'ünün homozigot dayanıklı (RR), % 46'sının heterozigot dayanıklı (RS) ve %1'inin de hassas (SS) olduğu bildirilmişlerdir.

Bahşi vd. (2012), Antalya ve ilçelerinden toplanan *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) popülasyonlarının acetamiprid, chlorpyrifos-ethyl ve cypermethrin'e karşı duyarlılık düzeylerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada topladıkları popülasyonlarda acetamiprid, chlorpyrifos ve cypermethrin için ortaya çıkan direnç düzeyleri sırasıyla 6-299; 2-16 ve 1-22 kat arasında olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca acetamiprid ve chlorpyrifos-ethyl ile seleksiyona tabi tutulan popülasyonların direnç düzeylerinde sırasıyla 18 ve 4 katlık artışlar kaydetmişlerdir. Bu sonuçlara göre, *B. tabaci* Antalya popülasyonlarının acetamiprid, chlorpyrifos ve cypermethrin'e karşı önemli düzeylerde direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir.

Yukarıda açıklandığı gibi Türkiye'de insektisit ve akarisitlere dayanıklılık ile ilgili çalışmalar geçtiğimiz son beş yılda da çok sınırlı sayıda olmuştur. Üstelik yurdumuzda bağ alanlarında sorun olan zararlıların insektisit ve akarisitlere direnci ile ilgili bir çalışmaya da rastlanılmamıştır.

Dünyada bağ alanlarında görülen türlerin insektisit ve akarisitlere direnci ile ilgili yapılmış önemli bazı çalışmaların sonuçları aşağıda sunulmuştur:

Amerika'da bağın önemli zararlısı *Endopiza viteana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae)'nın hiç ilaç uygulanmayan ve hassas ırk olduğu bilinen diğeri ise carbaryl kullanımı olan alandan seçilmiş 2 popülasyonunda carbaryl direnci araştırılmış, yapılan LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> testleri ile önemli direnç oluşumu ortaya konmuş ve çalışma sonucunda bu alanda yapılan mücadelede carbaryl kullanımının bir an önce terkedilerek yerini yeni ve daha etkili insektisitlere bırakması gerekliliği bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada carbaryle karşı 3. ve 4. dönem larvaların birinci döneme göre daha düşük hassasiyet gösterebileceği, bunun da direnç kazanımı sağlayan detoksifiye enzimlerinin ancak bu dönemlerde artışından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Nagarkatti et al., 2002).

Fransa'da bağ alanlarında sıkça görülen avcı *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari: Phytoseiidae)'nin 13 popülasyonunun chlorpyrifos-ethyl ve deltamethrine karşı direnç durumunun incelendiği bir çalışmada popülasyonların tümünün chlorpyrifos-ethyle karşı dirençli olduğu, 4 tanesinin de deltamethrine karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. *T. pyri*'ye toksik olduğu düşünülen bu insektisitler Tortricidae familyasına dahil zararlı türlerin kontrolünde de kullanılmaktadır (Bonafos et al., 2008).

Yunanistan bağ alanlarında zararlı *Tetranychus pacificus* McGregor (Acari: Tetranychidae)'un akarisitlere direnci ile ilgili yapılan bir çalışmada, *T. pacificus* popülasyonlarının bifenazate ve pyridabene 7-10 kat dirençli bulunduğu bildirilmiştir (Stavrinides et al., 2010).

Ioriatti et al. (2008), bağ alanlarında *L. botrana*'nın insektisitlere karşı direnç kazanımı olsa bile, bazı bileşiklerin kullanım kısıtlamaları veya potansiyel kayıt kaybı sebebiyle tespit edilmesinin zor olacağını bildirmektedir.

Bağ alanları dışında ise:

Voudouris et al. (2011), Yunanistan'da Elma içkurdu *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae)'nin insektisit direncinin durumunun belirlenmesi için yaptıkları çalışmada, azinphos-methyl, phosalone, deltamethrin, thiacloprid, fenoxycarb, tebufenozide, methoxyfenozide ve diflubenzuron'a direncini incelemişlerdir. Hassas popülasyon ile karşılaştırıldığında hemen hemen tüm popülasyonlarda duyarlılık azalışı gözlemlenmiştir. Bu duyarlılık azalması ile ilgili olarak biyokimyasal test sonuçlarına göre sitokrom P450 polysubstrate monoooksijenazlarının etkinliğinin ve glutation-S-transferaz aktivitesinin artması ve karboksilesteraz etkinliğinin azalmasının görüldüğünü belirtmişlerdir.

Rodríguez et al. (2011), *Cydia pomonella*'nın birinci dönem larvaları ve yumurtalarında İspanya'da *C. pomonella*'nin direnç gösterdiği bilinen popülasyonlarının direncini belirlemek amacıyla hassas olduğu bilinen popülasyonun LC<sub>90</sub> değerleri baz alınarak teşhis konsantrasyonlarını beş ve yedi insektisit için belirlemiş ve sırasıyla, yumurta ve birinci dönem larvalar üzerinde uygulamışlardır. Uygulama yapılan yumurtaların % 96'sında hassas popülasyonla karşılaştırıldığında düşük etkinlik gözlemlenmiştir. Uygulama yapılmış birinci dönem larvalarda ise belirgin bir hassasiyet azalması gözlemlenmiştir.

Flufenoxuron, azinphos-methyl ve phosmet çok düşük etkinlik gösterirken lambda-cyhalothrin, alpha-cypermethrin ve chlorpyrifos-ethyl'in çok yüksek etkinlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Biyokimyasal testler sonucunda insektisit detoksifikasyonu ile ilgili en önemli enzim sisteminin, en yüksek enzim aktivite oranı ile MFO olduğunu gözlemlemişlerdir (Dokuz bölgeden toplanan popülasyonların birinci dönem larvaları için; 5,1-16,6). Hassas popülasyonla karşılaştırıldığında popülasyonlardan birinde sırasıyla GST ve EST için üç kat ve beş kat enzimatik aktivite oranı ve gelişmiş GST ve EST aktivitesi belirlemişlerdir.

IRAC web sayfasındaki direnç vaka kayıtları incelendiğinde Lepidoptera takımına bağlı türlerden 89 tanesinde, bunlardan da Tortricidae familyasına bağlı türlerden 13 tanesinde direnç vakası bildirilmiştir. Ancak bu çalışmalardan sadece bir tanesi bağda *L. botrana* ile ilgilidir (APRD, 2014). Bu tek kayıta da, Ermenistan'da bağda *L. botrana*'nın DDT'ye karşı direnç durumu bildirilmiştir (Mardzhanyan et al., 1974). Söz konusu çalışmaya ulaşılammış araştırma detay ve sonuçlarının FAO'da kayıtlı olduğu bildirilmiştir.

Rodriguez Garcia et al. (2011), *C. pomonella*'nın birinci dönem larvaları ve yumurtalarında insektisit direncinin belirlenmesi amacıyla çalışma yapmışlardır. İspanya'da *C. pomonella*'nın direnç gösterdiği bilinen popülasyonlarının direncini belirlemek amacıyla hassas olduğu bilinen popülasyonun LC<sub>90</sub> değerleri baz alınarak teşhis konsantrasyonlarını beş ve yedi insektisit için belirlemiş ve sırasıyla, yumurta ve birinci dönem larvalar üzerinde uygulamışlardır. Uygulama yapılan yumurtaların % 96'sında hassas popülasyonla karşılaştırıldığında düşük etkinlik gözlemlemişlerdir. Uygulama yapılmış birinci dönem larvalarda ise belirgin bir hassasiyet azalması gözlemlemişlerdir. Flufenoxuron, azinphos-methyl ve phosmet çok düşük etkinlik gösterirken lambda-cyhalothrin, alpha-cypermethrin ve chlorpyrifos ethylin çok yüksek etkinlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Biyokimyasal testler sonucunda insektisit detoksifikasyonu ile ilgili en önemli enzim sisteminin, en yüksek enzim aktivite oranı ile MFO olduğunu gözlemlemişlerdir. Hassas popülasyonla karşılaştırıldığında popülasyonlardan birinde sırasıyla GST ve EST için üç kat ve beş kat enzimatik aktivite oranı ve gelişmiş GST ve EST aktivitesi belirlemişlerdir. Biyoassaylerde kullanılan LC<sub>90</sub> teşhis konsantrasyonlarının etkili olduğunu bulmuşlardır. MFO

aktivite konsantrasyonlarının yanında insektisit teşhis konsantrasyonları ile biyoassaylerin de birinci dönem larvalarda insektisit direncinin izlenmesinde araç olarak kullanılabilceğini belirtmişlerdir.

Salkım güvesi, üzüm üretimi yapan tüm Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye’de de bağın ana zararlısı konumundadır. Avrupa da olduğu gibi Türkiye’de de *L. botrana* mücadelesi daha çok sentetik insektisitlerle yapılmaktadır. Bağ alanlarında *L. botrana*’ya karşı kullanılan insektisitlere direnci konusunda, bu çalışmanın planlandığı süreçte hem Türkiye’de hem de dünyada güncel bir çalışma olmadığı dikkat çekmektedir. İşte bu verilerden hareketle önerilen bu çalışma ile, yurdumuzun en önemli bağ alanlarına sahip Manisa İlinde, bağın ana zararlısı olan Salkım güvesi popülasyonlarının yaygın kullanılan insektisitlere direncinin ve bu direncin biyokimyasal mekanizmalarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

#### 4.6 Salkım Güvesinin İnsektisitlere Direnci İle İlgili Çalışmalar

Salkım güvesi mücadelesi, Avrupa’da olduğu gibi Türkiye’de de genelde sentetik insektisitlerle yapılmaktadır. Manisa İlinde her ne kadar erken uyarı sistemi sayesinde, Salkım güvesi’ne karşı uygulama zamanı, sayısı ve kullanılacak ilaçlar bildirilse de ne yazık ki üreticiler, ürünü kaybetme korkusu nedeniyle, bilinçsiz ve kontrolsüz kimyasal uygulamaları yapabilmektedirler. Gerek ihraç ettiğimiz, gerekse iç pazardan alınan örneklerde rastlanan tolerans üzeri pestisit kalıntıları bildirilmesi bunun en önemli göstergesidir.

İnsektisitlerin yaygın ve bilinçsiz kullanımı, başta kalıntı sorunu nedeniyle insan sağlığını tehdit etmekte, çevreyi olumsuz etkilemekte ve zararlılarda çeşitli tiplerde direnç görülmesine neden olmaktadır. Buna karşın Türkiye’de dayanıklılık ile ilgili çalışmalar hem genel anlamda yetersizdir hem de bağ alanlarında sorun olan zararlıların insektisit ve akarisitlere direnci ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Dünyada bağ alanlarında görülen zararlıların insektisit ve akarisitlere direnci ile ilgili yapılmış bazı çalışmalar mevcuttur. Salkım güvesi’nin insektisitlere direnci konusunda, güncel bir çalışma 2014 yılında Civolani et.al. (2014) tarafından yapılmıştır. İtalya’da Trento bölgesinden alınmış uzun yıllardır üretimi devam eden bir hassas popülasyon ile Ravenna bölgesinden toplanmış bir

populasyonda, indoxacarb, methoxyfenozide ve emamectin benzoat ile biyoassay testler ile direnç durumunu araştırmışlardır. Araştırma sonucunda; Ravenna populasyonunda, hassas populasyona göre indoxacarb'a LC<sub>50</sub> değerlerini karşılaştırarak 12 kat direnç tespit etmişlerdir (Civolani et.al., 2014).

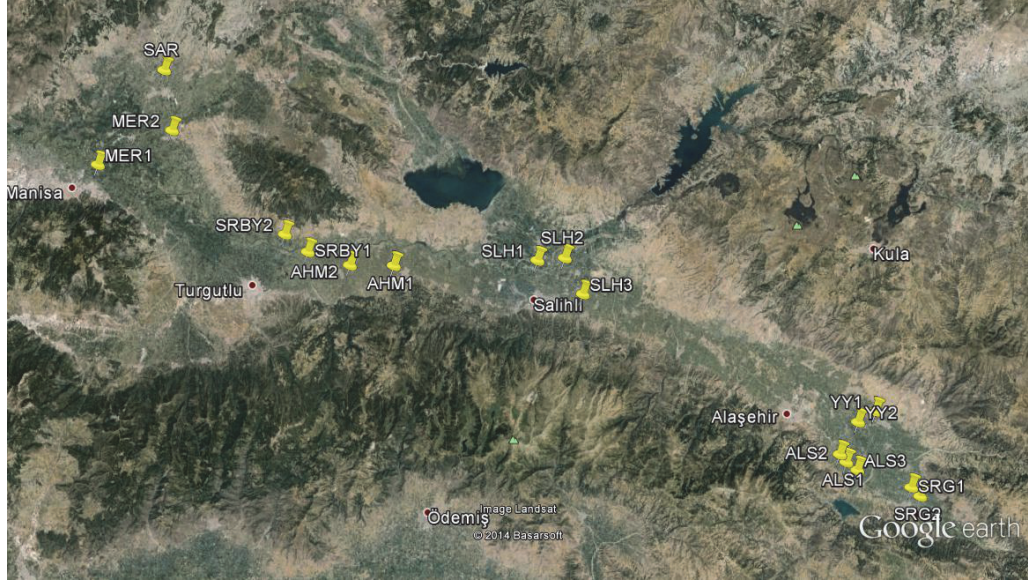
## 5. MATERYAL

### 5.1 Salkım Güvesi Popülasyonları

Salkım güvesi popülasyonları Manisa ilinin çeşitli ilçelerinden 2011-2012 yıllarında toplanan bireylerden üretilmiştir. Başlangıçta toplam 17 popülasyon ile üretim çalışmaları gerçekleştirilmiştir, ancak ilerleyen dönemlerde, iklim odasının 17 popülasyonun üretimine müsait olmaması, işgücünün ve zamanın 1 iş günü boyunca 17 popülasyona yetersiz olması, iklim odasının bulunduğu sera alanının su baskını ile zarar görmesi, üretim esnasında yapay besin üzerinde akar sorunun görülmesi gibi çeşitli olumsuz sebeplerden dolayı 7 popülasyonun üretimine devam edilememiştir. Proje kapsamında üretimi yapılan popülasyonlar için aşağıdaki kısaltmalar kullanılmıştır. Merkez 1 popülasyonu ilaçlama yapılmayan bir ev bahçesinden toplandığı için hassas popülasyon olarak isimlendirilmiştir (Çizelge 5.1, Şekil 5.1)

Çizelge 5.1 Manisa ili bağ alanlarından toplanan popülasyonlar ve kısaltma dizini

Bağ bölgesi	Kullanılan kısaltmalar	Denemelerde kullanılan popülasyonlar
Merkez1 (Hassas)	MER1 (HAS)	MER1 (HAS)
Merkez 2	MER2 (MER)	MER2 (MER)
Ahmetli 1	AHM 1	AHM
Ahmetli 2	AHM 2	Üretimine devam edilemedi
Alaşehir 1	ALS 1	ALS
Alaşehir 2	ALS 2	Üretimine devam edilemedi
Alaşehir 3	ALS 3	Üretimine devam edilemedi
Saruhanlı	SAR	SAR
Salihli 1	SLH 1	Üretimine devam edilemedi
Salihli 2	SLH 2	Üretimine devam edilemedi
Salihli 3	SLH 3	SLH
Sarıbey 1	SRBY 1	SRBY
Sarıbey 2	SRBY 2	Üretimine devam edilemedi
Sarıgöl 1	SAR1	SAR 1
Sarıgöl 2	SAR2	SAR 2
Yeşilyurt 1	YY 1	YY
Yeşilyurt 2	YY 2	Üretimine devam edilemedi



Şekil 5.1 Örnekleme yapılan Manisa ili bağ alanlarının harita üzerinde gösterimi.

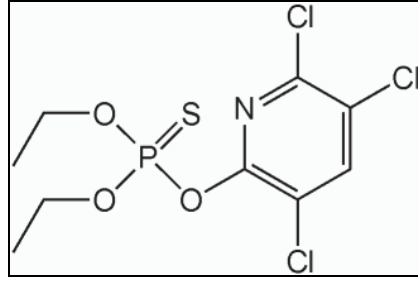
## 5.2 Kullanılan İsektisitler

Türkiye’de Salkım güvesine karşı ruhsatlı insektisitler arasında; biyolojik insektisitlerden *Bacillus thuringiensis*, organik fosforlu bileşiklerden Chlorpyrifos ethyl, Chlorpyrifos methyl, Fenitrothion, Methidathion, Methomyl, Quinalphos ve Phosalone; karbamatlı bileşiklerden Thiodicarb; sentetik piretroidli bileşiklerden Bifenthrin, Cypermethrin, Deltamethrin, Esfenvalerate, Gamma cyhalothrin, Lambda cyhalothrin ve Zeta cypermethrin; benzoyl ürelerden Flufenoxuron ile Lufenuron ve Fenoxycarb karışımı, diğerleri arasında ise Emamectin benzoate, Indoxacarb, Methoxyfenozide, Spinosad ve Tebufenozide aktif maddeli ilaçlar bulunmaktadır (KKGM, 2010). Bu çalışma planlandığı zaman, bölgedeki bağ alanlarında kullanım miktarları, belirli bir süre sonra yasaklanacak olmaları, Avrupa Birliğinde de ruhsatlı olmaları, maksimum kalıntı limitleri gibi kriterler göz önünde tutularak, değişik grupları temsilen, Chlorpyrifos ethyl, Deltamethrin, Indoxacarb ve Spinosad seçilmiştir. Denemelerde söz konusu ilaçların üretici firmalarından temin edilen teknik maddeleri kullanılmıştır. Teknik maddeler istenen dozda ağırlık / hacim ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) esasına göre uygun bir çözücüde çözümlenerek stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözülden bir sonraki doz, bundan da bir sonraki doz elde edilecek şekilde seri konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır.

### 5.2.1 Chlorpyrifos Ethyl

Chlorpyrifos (IUPAC adı: O, O-diethyl O-3,5,6-trichloropyridin-2-il fosforotioat) bir kristalin organofosfat insektisittir. Kimyasal formülü  $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ 'dir (Şekil 5.2). Dow Chemical Company tarafından 1965 yılında tanıtılmış ve Dursban ve Lorsban dahil olmak üzere birçok ticari isimle bilinmektedir.

Değişik yollarla böcek bünyesine alınan organik fosforlu insektisitler, asetilkolinesteraz (AChE) enziminine bağlanarak faaliyetini durdurur ve alıcı reseptörlere bağlanmış olan asetilkolinin hidrolize olmasını önler. Böylece sinapslarda asetilkolin birikir ve asetilkolin, asetik asit ve koline ayrışmadığı için uyarı sürekli olur ve ölüm gerçekleşir (Ünal ve Gürkan, 2001).



Şekil 5.2 Chlorpyrifos etkili maddesinin molekül yapısı (FAO, 2013).

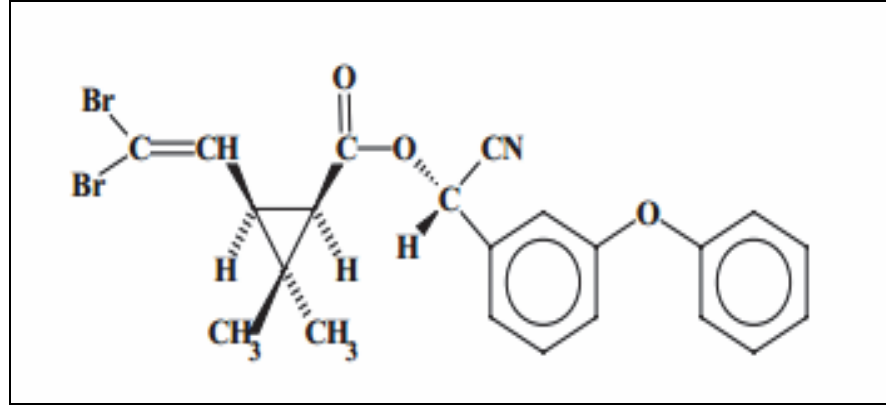
Chlorpyrifos insanlara orta derecede toksiktir ve kronik maruz kalma sonucunda nörolojik etkiler, gelişimsel bozukluklar ve otoimmün hastalıklar ile bağlantılı olduğu bilinmektedir. Hamilelik sırasında maruz kalma çocukların zihinsel gelişimini geciktirir, kullanımı ABD'de 2001 yılından bu yana yasaklanmıştır (Israel, 2012). Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA)'na göre tarımda en yaygın kullanılan insektisitlerden biri olarak bildirilmiştir (United States Environmental Protection Agency, 2006). Chlorpyrifos-ethyl sistemik olmayan direkt temas, sindirim ve solunması halinde etkili olması için tasarlanmış bir insektisittir. Chlorpyrifos-ethyle'in zararlı mücadelesinde kullanılması sonucu oluşan 2 adet direnç olayı kayıtlıdır. Bir lepidoptera ve bir akar türünde görülen dayanıklılık Çizelge 5.2'de verilmiştir.

Çizelge 5.2 Chlorpyrifos-ethyl direnci bildirilen böcek türleri (APRD, 2014)

Tür	Takım	Familya	Konukçu
<i>Cydia pomonella</i>	Lepidoptera	Tortricidae	Meyve ağaçları
<i>Typhlodromus exilaratus</i>	Acarina	Phytoseiidae	

### 5.2.2 Deltamethrin

Deltamethrin, sentetik piretroidler sınıfına ait bir insektisittir. Piretroidler lipofilik yapıları nedeniyle biyolojik membranlar ve dokularda kolayca emilirler. Böcek kütikulasına nüfuz ederek, sinir hücrelerinde sodyum kanallarının açık kalmasını sağlayarak uyarıların sürekli olmasına neden olurlar. Sonuçta, sinir iletimi bozulur, beslenme durur, daha sonra kas kontrolünün kaybı, felç ve neticede ölüm görülür. Deltamethrin diğer birçok pyrethroidin aksine hava ve güneş ışığına karşı daha stabildir (Kumar et al., 2002). Dördüncü nesil sentetik piretroid molekülü (Şekil 5.3) olan deltamethrin dekara 1-5 gr aktif madde dozunda güçlü insektisit etkiyi göstermekte ve bitkideki kalıcılığı 10 gün sürebilmektedir. Bu yüksek insektisit etkisine karşın memelilere olan toksisitesi oldukça düşüktür (Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008).



Şekil 5.3 Deltamethrinin etkili maddesinin molekül yapısı (FAO, 2013).

Bu pestisit sucul yaşam, özellikle balıklar için son derece zehirlidir, bu nedenle su ve çevresinde çok dikkatli kullanılması gerekir. Genellikle insanların etrafında kullanmanın güvenli olduğu kabul edilse de, yine de insanlara nörotoksiktir. Bir kadında cilt yoluyla kana ve anne sütüne geçmesi mümkündür (Bouwman et al., 2006). Deltamethrin sindirim yoluyla ve doğrudan temas yolu ile böceklere karşı etkilidir.

Deltamethrin pamuk, mısır, tahıl, soya fasulyesi ve sebzeler dahil olmak üzere çeşitli ürünler üzerinde bulunan akarlar, karıncalar, böcekler vb. zararlılara karşı kullanılmaktadır. Deltamethrinin zararlı mücadelesinde kullanılması durumunda oluşan direnç olayı kaydedilmiştir. Dayanıklılık saptanan türler, takım, familya tür adı ve konukçularıyla birlikte Çizelge 5.3’de verilmiştir.

Çizelge 5.3 Deltamethrin direnci rapor edilen böcek türleri (APRD, 2014)

Tür	Takım	Familiya	Konukçu
<i>Aedes aegypti</i>	Diptera	Culicidae	İnsan
<i>Aedes albopictus</i>	Diptera	Culicidae	İnsan
<i>Alabama argillacea</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Pamuk
<i>Amblyomma cajennense</i>	Acari	Acaridae	Memeliler, sürüngenler, amphibialar
<i>Anopheles albimanus</i>	Diptera	Culicidae	
<i>Anopheles arabiensis</i>	Diptera	Culicidae	
<i>Anopheles funestus</i>	Diptera	Culicidae	
<i>Anopheles nuneztovari</i>	Diptera	Culicidae	
<i>Anopheles sacharovi</i>	Diptera	Culicidae	
<i>Aphis gossypii</i>	Hemiptera	Aphididae	Pamuk, sebzeler
<i>Bemisia tabaci</i>	Hemiptera	Aleyrodidae	Pamuk
<i>Blattella germanica</i>	Blattodea	Blattellidae	
<i>Boophilus microplus</i>	Acari	İxodidae	Sığır
<i>Brevicoryne brassicae</i>	Hemiptera	Aphididae	Lahanagiller
<i>Cacopsylla pyri</i>	Hemiptera	Psyllidae	
<i>Cavariella salicicola</i>	Hemiptera	Aphididae	
<i>Choristoneura rosaceana</i>	Lepidoptera	Tortricidae	
<i>Chrysoperla carnea</i>	Neuroptera	Chrysopidae	
<i>Cimex lectularius</i>	Hemiptera	Cimicidae	İnsan
<i>Culex pipiens</i>	Diptera	Culicidae	
<i>C. quinquefasciatus</i>	Diptera	Culicidae	
<i>C. tritaeniorhynchus</i>	Diptera	Culicidae	
<i>Cydia pomonella</i>	Lepidoptera	Tortricidae	Meyve ağaçları, ceviz
<i>Dendrolimus punctatus</i>	Lepidoptera	Lasiocampida	Çam
<i>Earias vittella</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Pamuk
<i>Frankliniella occidentalis</i>	Thysanoptera	Thripidae	Pamuk
<i>Haematobia irritans</i>	Diptera	Muscidae	Çiftlik hayvanları
<i>Helicoverpa armigera</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Pamuk, mısır, süpürge darısı, domates
<i>Helicoverpa zea</i>	Lepidoptera	Noctuidae	
<i>Heliothis virescens</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Nohut, mısır, pamuk,
<i>Laodelphax striatellus</i>	Hemiptera	Delphacidae	Çeltik
<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	Coleoptera	Chrysomelidae	Patlıcan, biber, patates, domates
<i>Musca domestica</i>	Diptera	Muscidae	
<i>Mythimna separata</i>	Lepidoptera	Noctuidae	
<i>Myzus persicae</i>	Hemiptera	Aphididae	Çiçek, bitkileri, meyve, ağaçlar, tahıl, tütün, sebze

Çizelge 5.3. Deltamethrin direnci rapor edilen böcek türleri (APRD, 2014) (Devamı)

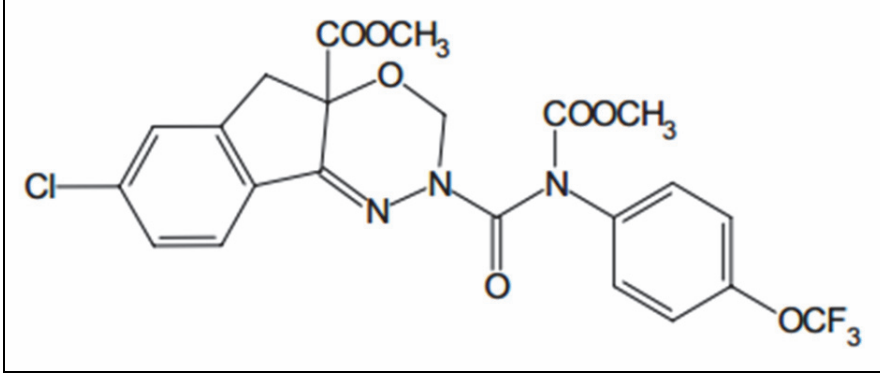
Tür	Takım	Familiya	Konukçu
<i>Nasonovia ribisnigri</i>	Hemiptera	Aphididae	
<i>Pectinophora gossypiella</i>	Lepidoptera	Gelechiidae	Pamuk
<i>Phyllonorycter</i>	Lepidoptera	Gracillariidae	Elma
<i>Phytoseiulus macropilis</i>	Mesostigmata	Phytoseiidae	
<i>Phytoseiulus persimilis</i>	Acari	Phytoseiidae	Akarlar
<i>Pieris rapae</i>	Lepidoptera	Pieridae	Turpgiller
<i>Piophilidae casei</i>	Diptera	Piophilidae	
<i>Plutella xylostella</i>	Lepidoptera	Plutellidae	Turpgiller, latin çiçeği
<i>Pseudoplusia includens</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Soya fasulyesi
<i>Rhipicephalus microplus</i>	İxodida	İxodidae	
<i>Rhodnius prolixus</i>	Hemiptera	Reduviidae	
<i>Simulium</i> spp.	Diptera	Simuliidae	Memeliler
<i>Sitophilus granarius</i>	Coleoptera	Curculionidae	Depolanmış tahıl
<i>Spodoptera exigua</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Pamuk, domates, kereviz, marul, lahana ve yonca
<i>Spodoptera frugiperda</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Pamuk, tahıl, çim, şeker kamışı
<i>Spodoptera littoralis</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Yonca pamuk, patates, sebze
<i>Spodoptera litura</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Tütün
<i>Tetranychus urticae</i>	Acari	Tetranychidae	Pamuk, meyve, sebze, ceviz, süs bitkileri
<i>Thrips tabaci</i>	Thysanoptera	Thripidae	Soğan
<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	Hemiptera	Aleyrodidae	Hıyar, domates, süs bitkileri
<i>Triatoma infestans</i>	Hemiptera	Reduviidae	Sıcak kanlı hayvanlar
<i>Tribolium castaneum</i>	Coleoptera	Tenebrionidae	Depolanmış ürünler
<i>Tuta absoluta</i>	Lepidoptera	Gelechiidae	Domates, patates

### 5.2.3 Indoxacarb

Indoxacarb, DuPont tarafından geliştirilen Lepidoptera larvalarına karşı etkili, bir oksadiazin grubu pestisittir, Indoxacarb teknik maddesi içeren, Steward ve Avaunt insektisitleri ticari olarak pazarlanmaktadır. Ayrıca, DuPont'un Advion ve Arilon ticari adlı insektisitlerinde de aktif bileşen olarak kullanılır (United States Environmental Protection Agency, 2000).

Kimyasal formülü  $C_{22}H_{17}ClF_3N_3O_7$ 'dir (Şekil 5.4). Indoxacarb sinir sistemindeki sodyum kanallarını bloke ederek sodyum iyonlarının girişinin engellenmesine neden olur. Böceğin felç olması, beslenmesinin durması ve

sonunda ölüme dayalı bir etki mekanizmasına sahiptir. 4,65 bir  $K_{ow}$  değeri ile oldukça lipofiliktir. Indoxacarb böcek tarafından vücuda alındıktan sonra 0-4 saat içerisinde böcekte beslenme durur. 4-48 saat içerisinde önce felç sonra da ölüm gerçekleşir (Lee ve Robinson, 2005).



Şekil 5.4 Indoxacarbın etkili maddesinin molekül yapısı (FAO, 2013).

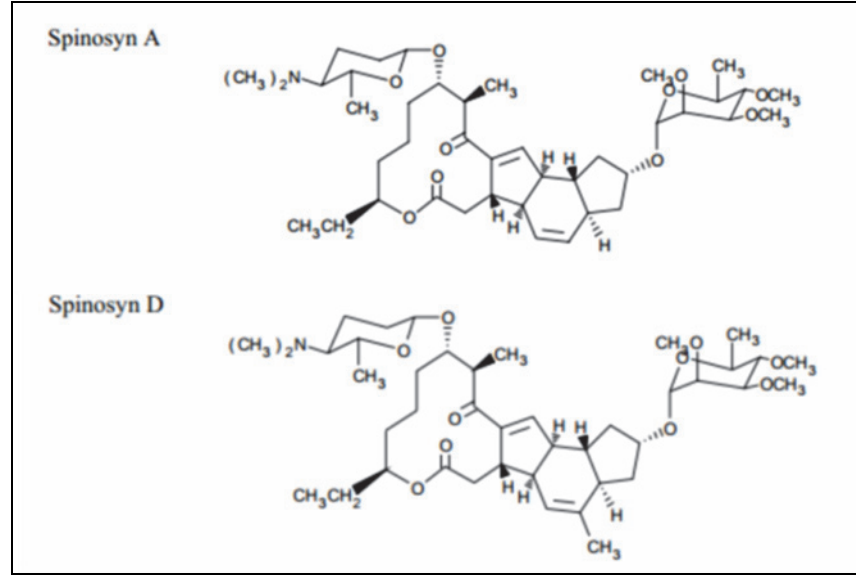
Indoxacarb geniş etki spektrumuna sahip en az 10 takımdan 30'dan fazla familyada yer alan böceklere karşı etkilidir. Lepidoptera bu zararlıların çoğunluğunu temsil etmektedir, aynı zamanda yaprak pireleri, diğer larvalar ve sinekler gibi birçok türü de kontrol altına alır. Indoxacarbın zararlı mücadelesinde kullanılması durumunda Lepidoptera ve Diptera'da görülen 10 adet direnç olayı kaydedilmiştir. Dayanıklılık saptanan türler, takım, familya tür adı ve konukçularıyla birlikte Çizelge 5.4'te verilmiştir.

Çizelge 5.4 Indoxacarb direnci rapor edilen böcek türleri (APRD, 2014)

Tür	Takım	Familya	Konukçu
<i>Aedes albopictus</i>	Diptera	Culicidae	İnsan
<i>Choristoneura rosaceana</i>	Lepidoptera	Tortricidae	
<i>Earias vittella</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Pamuk
<i>Helicoverpa armigera</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Pamuk, mısır, süpürge darısı, domates
<i>Heliothis virescens</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Nohut, mısır, pamuk, tütün
<i>Musca domestica</i>	Diptera	Muscidae	
<i>Plutella xylostella</i>	Lepidoptera	Plutellidae	Turpgiller, latin çiçeği
<i>Spodoptera exigua</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Pamuk, domates, kereviz, marul, lahana ve yonca
<i>Spodoptera litura</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Tütün
<i>Tuta absoluta</i>	Lepidoptera	Gelechiidae	Domates, patates

### 5.2.4 Spinosad

Toprak kökenli aktinomiset bakterisi *Saccharopolyspora spinosa*'dan doğal yollarla (Fermantasyon-mayalanma yoluyla) elde edilmiştir. Spinosad, spinosin A ve spinosin D metabolitlerinin karışımıdır (Kirst et al., 1991; Thompson et al., 2010). Kimyasal formülü Spinosyn A:  $C_{41}H_{65}NO_{10}$  Spinosyn D:  $C_{42}H_{67}NO_{10}$  'dır (Şekil 5.5). Spinosad etkili maddesi açık gri ve beyaz kristal rengindedir. Mide zehiri ve temas yolu etkilidir. Translaminar etkisi vardır ve sınırlı sistemik etkilidir. Spinosad duyarlı böceklerde sinir sistemini hızla uyararak sinir hücrelerinin nikotinik asetilkolin reseptörlerine etki eder ve uyarı iletimini engeller (Thompson et al., 2010).



Şekil 5.5 Spinosadın etkili maddesinin molekül yapısı (FAO, 2013).

Spinosad birçok insektisite göre daha hızlı etki göstermektedir. İlk birkaç dakika içinde belirtiler görülmeye başlar ve birkaç saat içinde bireylerde ölüm gerçekleşir. Aktif maddenin mideye alınmasından birkaç dakika sonra beslenme durur. Böcekte ilk olarak titremeler meydana gelir, daha sonra bir süre hareketsiz kalarak felç geçirir ve ölür. Spinosad ayrıca GABA reseptör hücrelerinin işlevlerini de etkiler (Thompson et al., 2010). Spinosadın zararlı mücadelesinde kullanılması durumunda Lepidoptera ve Diptera başta olmak üzere birçok takımdan bir çok familyada direnç olayı kaydedilmiştir. Dayanıklılık saptanan türler, takım, familya tür adı ve konukçularıyla birlikte Çizelge 5.5'te verilmiştir.

Çizelge 5.5 Spinosad direnci rapor edilen böcek türleri (APRD, 2014)

Tür	Takım	Familya	Konukçu
<i>Aedes albopictus</i>	Diptera	Culicidae	İnsan
<i>Bactrocera dorsalis</i>	Diptera	Tephritidae	Meyve ağaçları
<i>Bactrocera oleae</i>	Diptera	Tephritidae	Zeytin
<i>Bactrocera zonata</i>	Diptera	Tephritidae	Sebzeler ve meyveler
<i>Cotesia plutellae</i>	Hymenoptera	Braconidae	Lahana yaprak güvesi larvası
<i>Deraeocoris brevis</i>	Hemiptera	Miridae	Yumuşak çekirdekli meyveler
<i>Frankliniella occidentalis</i>	Thysanoptera	Thripidae	Pamuk
<i>Helicoverpa armigera</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Pamuk, mısır, domates
<i>Heliothis virescens</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Nohut, mısır, pamuk, tütün
<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	Coleoptera	Chrysomelidae	Patlıcan, biber, patates, domates
<i>Liriomyza trifolii</i>	Diptera	Agromyzidae	Krizantem, kereviz
<i>Musca domestica</i>	Diptera	Muscidae	
<i>Plutella xylostella</i>	Lepidoptera	Plutellidae	Turpgiller, latin çiçeği
<i>Sesamia inferens</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Şeker kamışı ve çeltik
<i>Spodoptera exigua</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Pamuk, domates, kereviz, marul, lahana ve yonca
<i>Spodoptera litura</i>	Lepidoptera	Noctuidae	Tütün

## 6. METOT

### 6.1 Salkım Güvesi Kùltürlerinin Oluşturulması

#### 6.1.1 Popùlasyonlardan òrnek toplanması

Salkım güvesi elde etmek için arazi çalışmaları 2011 yılı Nisan ayından itibaren başlatılmıştır. Manisa ilinin birçok bölgesine haftada 2 kez planlanan arazi çıkışları ve yapılan gözlemler sonucunda baē alanlarında çiçek döneminden itibaren òrneklemeler yapılmıştır. Arazi hattı, İzmir-Manisa Merkez ve İzmir-Salihli olmak üzere 2 yön olarak belirlenmiş, Merkez hattında Saruhanlı'ya kadar, Salihli hattında ise Sarıgöl'e kadar òrneklemeler yapılmıştır.

Arazi çalışmaları 2012 yılının Eylül ayı sonuna kadar devam etmiştir ve çalışmada kullanılan toplam 10 popùlasyonun çalışma boyunca sorunsuzca üretilmiştir.

Arazide òrnekler, zararlının görüldüēü bitki kısmı ile birlikte alınmıştır. Baē alanlarında çiçeklenme zamanında larva görülmese durumunda çiçekler ile birlikte alınmış, taneler üzerinde görülmese durumunda tanelerle birlikte alınmıştır. Alınan larvaların iklim odasında yaşamını devam ettirip pupa olabilmesi için ilaçsız bitki kısımlarından da alınarak yıkanıp gerekli durumlarda ek besin olarak kullanılmıştır. Ayrıca larva dışında bulunan pupalar ve tane üzerinde yumurta görülmese durumunda bu taneler de alınmıştır. Alınan òrnekler 5 cm çapında 10 cm yüksekliēinde aēız ve yan taraflarında tül ile kapatılmış açıklıkları bulunan plastik kaplara konmuş ve iklim odasına (16:8 A:K, 25± 2 °C, %60-65 nem) alınmıştır. Her baēa ait popùlasyonlara bölgelerini temsil edecek bir kısaltma isim verilmiştir (Bkz. Çizelge 5.1). Araziden getirilen tüm òrneklerin pupa olması beklenmiştir, pupa olduktan sonra ise aynı popùlasyona ait diēer bireylerin de pupa olması için ilk elde edilen pupalar +10°C'de bekletilmiştir. Böylece farklı zamanlarda oluşan pupaların aynı anda açılmalarıyla çiftleşme ve dolayısıyla bırakılan yumurta sayısının maksimum olması saēlanmıřtır.

#### 6.1.2 Yapay besin hazırlanması

Salkım güvesinin üretiminde kullanılan hazır besin, Rapagnani et al., (1990)'a göre hazırlanmıştır. Kullanılan maddeler Çizelge 6.1'de verilmiştir.

Çizelge 6.1 Salkım güvesi üretimi için kullanılan yapay besinin bileşenleri ve miktarları

64 gr mısır irmiği	20 gr agar	5.7 gr askorbik asit	(1 lt su için)
66 gr buğday özütü	30 gr bira mayası	2.3 gr nipagin	

Yapay besin hazırlamak için 1 lt su 2 ayrı 1 lt lik plastik vida kapaklı otoklavlanabilir cam şişelere 500'er ml olarak aktarılmıştır. Bu kaplardan bir tanesine agar ve mısır irmiği eklenmiştir. Daha sonra bu iki şişe 120 °C'de 20 dk otoklavda sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Otoklavdan çıkan agar - mısır irmiği – su içeren şişe karıştırıcı alete (mixer) boşaltılmış, diğer şişede bulunan su yardımı ile dipte yapışıp kalan agar-mısır irmiği karışımı da tamamen çıkartılmıştır.

Daha sonra karıştırıcıya eklenen karışımın sıcaklığı sık aralıklarla ölçülerek, sıcaklığın 70 °C'ye düşmesi beklenmiştir. Bu noktadan itibaren buğday özü ve bira mayası kısım kısım eklenerek iyice karıştırılmıştır. Sıcaklığın 60°C'ye düşmesinden sonra ise askorbik asit saf su içinde, nipagin ise % 96'lık alkol içinde (çok az miktarda) çözülerek karışıma eklenmiştir. Karıştırıcı ile iyice karışması sağlandıktan sonra elde edilen 1 lt yapay besin donması için steril plastik kaplara 2 cm kalınlığında dökülerek üzeri bir tül ile örtülmüş ve oda sıcaklığında 24 saat donması için bekletilmiştir. Daha sonra +4°C'de buzdolabında kullanılmak üzere saklanmıştır.

Dolapta kullanıma hazır olarak bekletilen besinler Salkım güvesi üretiminde uygun büyüklüklerde kesilerek gerekli olduğu zaman kullanılmıştır. Denemelerde kullanılması gerektiğinde ise ilaçlı ve temiz besin denemedi 24 saat önce aynı şekilde hazırlanmıştır.

### 6.1.3 Popülasyonların üretimi

Üretim çalışmaları için 2 mm kalınlığında 70x100 cm ölçülerinde şeffaf pvc tabakaları rulo şekline getirilerek kullanılmıştır. Altına ve üstüne plastik kapak konmuştur (Şekil 6.1).

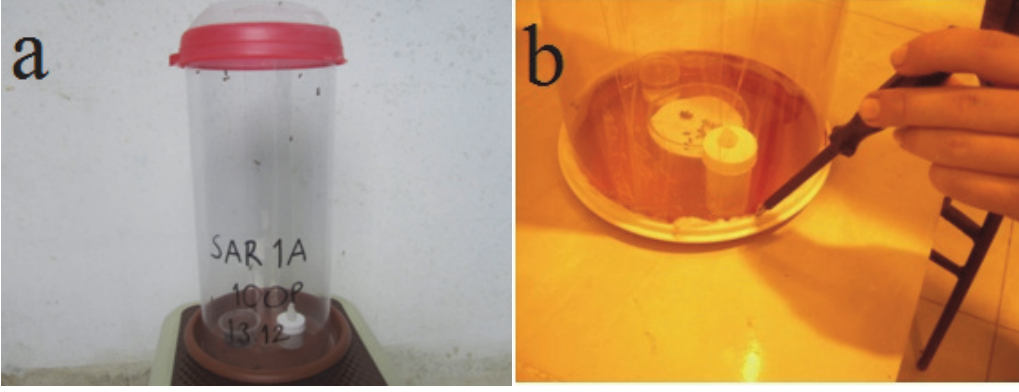
Öncelikle 20x15 cm ölçülerinde bir pvc tabakası rulo yapılmış ve Salkım güvesi ergin dişilerin yumurta bırakması için söz konusu rulolar içine yağlı kağıt konmuştur, alternatif olarak rulonun iç yüzeyi şeffaf naylon ile kaplanmıştır. %5 lik şekerli su emdirilmiş kurutma kağıtları yine dibinde şekerli su bulunan plastik uzun kaplara ağzı delinerek konmuştur (Dunley and Welter, 2000; Mota-Sanchez

et.al., 2008). Yapılan ön denemeler sonucu şeffaf naylon ile yapılan uygulamada daha iyi sonuç alındığı için üretime bu yöntemle devam edilmiştir.



Şekil 6.1 Salkım güvesi dişilerinin yumurta bırakması için PVC rulodan yapılmış yetiştirme kapları.

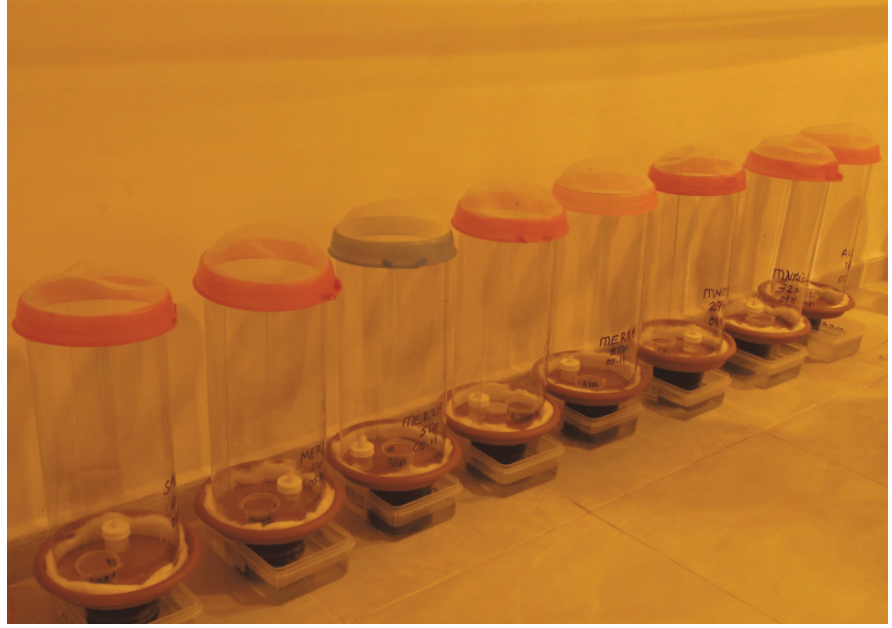
İç kısımda kaplanan naylon yumurta bırakma dönemi sona erdikten sonra alınmış ve yumurta olan bölgeler yaklaşık 4 cm<sup>2</sup> civarındaki parçalar şeklinde kesilmiş ve 10x20x5 cm'lik plastik kaplara dökülen besinlerin üzerine bırakılmıştır. Bu şekilde yapılan uygulamalarda larva elde etme oranının çok düşük olması sebebiyle farklı uygulamalara gidilerek bu oranın artırılması hedeflenmiştir. Bunun için hazırlanan rulonun yüksekliği ve çapı arttırılmıştır. Pvc tabaka 4 eşit parçaya bölünmüştür, böylece 50x35 cm ölçülerinde kesilmiş ve 15 cm'lik çapa sahip bir daire yapacak şekilde kıvrılıp 35 cm yüksekliğinde rulo haline getirilmiştir. Yine %5 lik şekerli su emdirilmiş kurutma kağıtları plastik uzun kaplar ile taban kısmına konmuştur. Bu rulo pvc alt tarafı saksı tabağına oturtulmuş, üzerine ise tamamen ağzını kapatacak şekilde 20 cm çapında süt süzgeci kapatılmıştır. Böylece içine konulacak pupalardan çıkan erginlerin dışarı kaçmaları da engellenmiştir. Ayrıca büyüyen boyutlar ile erginler için daha fazla uçuş-hareket alanı sağlanmıştır. Yine önlem amaçlı saksı tabağına oturtulan rulonun alt kısmına, tabakla arasında boşluğu kapatacak şekilde pamuk şeritler konmuştur (Şekil 6.2).



Şekil 6.2 a-Kullanılan üretim rulosu, b-Dip kısmına pamuk sıkıştırma işlemi.

Bu uygulamada rulonun iç kısmı şeffaf naylon ile kaplanmamıştır. Ayrıca parça keserek yumurta elde etmek yerine, bu rulonun şekli bozulmamış, günlük gözlemlerle bırakılan yumurtalardan çıkan larvaların yine günlük olarak yumuşak bir fırça yardımıyla yapay besine alınması şeklinde üretim gerçekleştirilmiştir. Böylece tüm yumurtlama döneminin bitmesi ya da bu tarihe karar vermek gibi bir zorunluluk ortadan kalkmış, bir rulodan erginler ölünceye kadar faydalanılmış, ilk bırakılan yumurtadan da son bırakılan yumurtadan da larva alınması mümkün olmuştur. Yumurtadan çıkan larvalar rulo üstündeki süzgece doğru yönelmiş ve kenar kısımlarında hareket halinde gözlemlenerek bir fırça yardımıyla alınmıştır. Burada larvaların ipliksi salgı oluşturma davranışları bir fırça yardımıyla neredeyse larvaya hiç dokunmadan onları almayı kolaylaştırmıştır. Ancak yoğun pupa sayılarında yumurtlamanın en yüksek seviyesini takiben bu döneme ait yumurtaların açıldığı günlerde yapılan gözlemlerin sıklaşması gerekmiştir.

Rulo üzerindeki kapaklardan toplanan larvaların iklim odasındaki diğer popülasyona ait larvalarla karışmasını önlemek için de önlemler alınmıştır. Öncelikle rulolar arasında 10 cm mesafe bırakılmıştır, ayrıca her rulo altında bulunan saksı altlığı yine küçük bir saksının ters çevrilerek içi su dolu bir kaba oturtulması ile zemin oluşturulmuş ve rulolar bu zemine yerleştirilmiştir. Böylece rulo altından saksı tabağına giden, ya da rulo üstünden kapaktan sarkarak aşağıya düşen larvaların suya düşmesi sağlanmıştır. Böylece herhangi bir hareketlilik olması engellenmiş ve bir iklim odasında alan müsade ettikçe bu ölçüler dahilinde bir çok popülasyonun sorunsuz üretilmesi sağlanmıştır (Şekil 6.3).



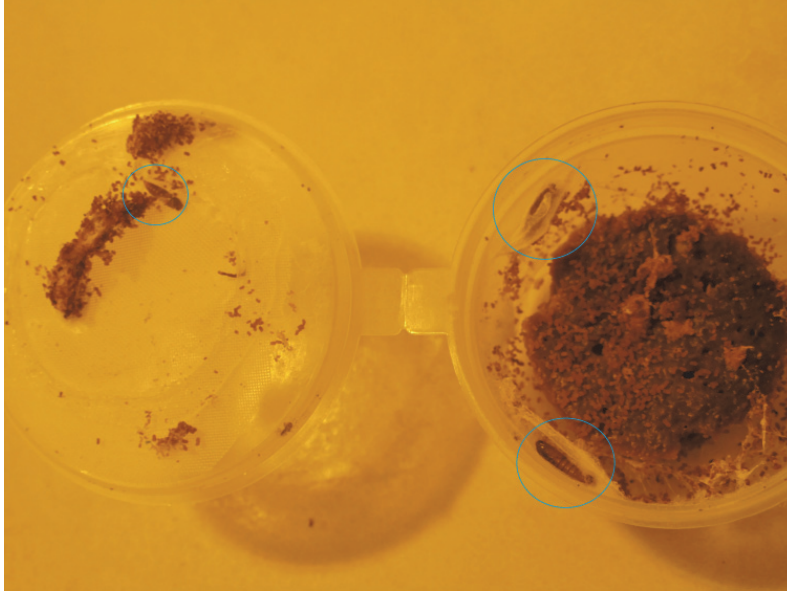
Şekil 6.3 İklim odasında Salkım güvesi üretiminde kullanılan üretim ruloları.

Her bir popülasyon için birden fazla üretim ruloları oluşturulmuştur, üzerlerine içerisine konan pupa sayısı, tarih ve popülasyonun ismi yazılmıştır. Pupalar 3 cm çapında ağzı tamamen açık plastik şeffaf kaplara konmuş ve bu kaplar saksı tabağına konmuştur.

Üst kapağın plastik kısmından toplanan 1. dönem larvalar bir fırça yardımıyla rulo üstünden içinde 2 cm yüksekliğinde ve 3x3 cm boyutunda besin bulunan ağzı tül kapaklı 3 cm çapındaki kaplara alınmıştır. Her bir kaba 20'şer adet larva konmuş, ağzı kapatılarak üzerine popülasyon adı, alındığı tarih ve larva sayısı yazılarak iklim odasında muhafaza edilmiştir.

Bu kaplara konulan besinin daha sonraki dönemlerde üzeri bir iğne yardımıyla delikler açıldıktan sonra üzerine larva bırakılmıştır.

Bu şekilde tüm popülasyonlardan elde edilen larvalar günde 2 defa iklim odasında yapılan çalışmalarla besin içeren kaplara konmuş ve 20-25 gün sonra pupalar içlerinden alınarak tekrar üretim rulolarına konmuş (Şekil 6.4) ve bu üretim döngüsü böyle devam etmiştir. Biyoassay denemeler için yeter sayıda larva bulunduğu anda ise larvalar 9 günlükken besin içinden alınmış ve denemelerde kullanılmıştır. Denemelerde kullanılacak larva sayısı hesaplanırken üretimin devam edebilmesi de göz önünde tutularak seçimler bu prensibe göre yapılmıştır.



Şekil 6.4 Yapay besinde beslenmiş ve pupa olmuş Salkım güvesi bireyleri.

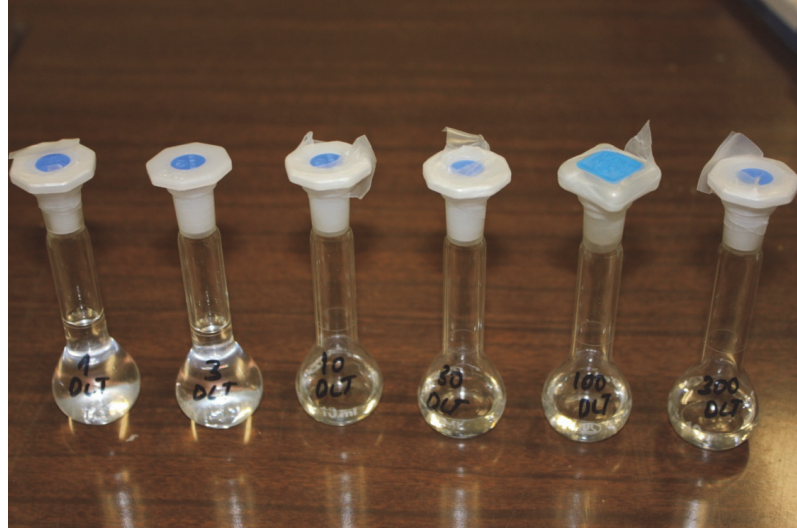
## 6.2 İlaçların Stok Solusyonlarının ve Seri Konsantrasyonların Hazırlanması

Denemede kullanılacak olan ilaçlar teknik madde olarak üretici firmalardan edinilmiş (Çizelge 6.2) ve buzdolabında +4°C’de saklanmıştır. Stok solusyonlar denemenin kurulacağı zaman hazırlanmıştır. Her etkili madde için uygun çözücüler araştırılmış ve sonuçta aseton ve metanolde sorunsuz çözüldüğü tespit edilmiştir. Ancak kullanılacak yöntemler de göz önüne alındığında uçuculuğunun asetona göre daha az olması açısından metanol ile çalışılmıştır.

Çizelge 6.2 Denemelerde kullanılan etkili maddeler ve kısaltmaları

CE	Chlorpyrifos-ethyl
SPN	Spinosad
INDX	Indoxacarb
DLT	Deltamethrin

Denemelerde her ilacın farklı en az 6 dozu ve kontrol kullanılmıştır. Bunun için her etkili maddeden hazırlanan bir stok solusyondan (10.000 ppm) uygulamada kullanılacak seri konsantrasyonlar hazırlanmıştır (Şekil 6.5).



Şekil 6.5 Bir etkili madde için hazırlanmış olan seri konsantrasyonlar.

Stok solusyon hazırlamak için hazırlanacak olan etkili maddeden 1 gr tartılmış ve 100 ml ethanolde çözülmüştür. Böylece 10.000 ppm'lik stok solusyon elde edilmiştir. Stok solusyondan hazırlanan seri konsantrasyonlarda ise distile su kullanılmıştır. Stok solusyondan 10 ml alıp üzerine 90 ml distile su ilavesi ile 1000 ppm, 1000 ppm lik çözeltilerden ise 10 ml alıp üzerine 90 ml distile su ilavesi ile 100 ppm lik çözeltiler elde edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan seri konsantrasyonların her biri için 10 ve 100 ml'lik balon jöje ve yine her biri için ayrı cam pipetler kullanılmıştır.

### 6.3 Uygun Biyoassay Yönteminin Belirlenmesi

Daha önceki bölümlerde de bahsedildiği gibi (Bkz. 4.4. *Direnci tespit etme yöntemleri*) böcekler ile yapılan biyoassay çalışmalarda genel olarak 4 farklı yöntem ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada, bu dört yöntemden uygun olmayan daldırma yöntemi dışındaki 3 yöntem kullanılmıştır. Daldırma yönteminde zararlının beslendiği konukçu bitki yaprakları/kısmı kullanılmaktadır ve genellikle yaprakları hazırlanmış olan ilaçlı solusyonlara daldırmak suretiyle yapılmaktadır. Ancak burada esas tercih edilmeme sebebi konukçudur. Salkım güvesi üzüm ile beslenmekte ve bu bitki kısa sürelerde kontrollü koşullarda yetiştirip üretimi mümkün olmamaktadır. Bu yöntem sadece doğada salkım buldukça yapılabilmektedir.

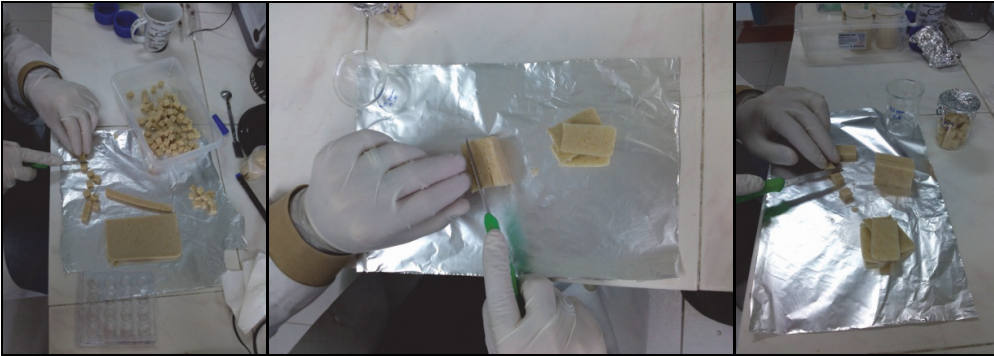
Birinci yöntem, olarak bu tür zararlılarda kullanımı sıklıkla görülen topikal uygulamadır. Yapay besin ile kullanılan diğer 2 yöntem ise besine doğrudan ilaç karıştırılması ve yapay besin üzerine ilaç püskürtme şeklinde uygulanmıştır.

Biyosay yöntemler için normal koşullarda üretimi gerçekleştirilen Salkım güvesi larvalarının belli bir sayıya ulaşması amaçlanmıştır, böylece yapılacak 3 farklı uygulama ve 4 ilacın farklı dozları aynı anda ve aynı koşullarda denemeye alınmıştır. Öncelikle bu çalışmalarda kullanılacak olan larva sayısı ve ilaç dozları ile ilgili ön hazırlıklar yapılmıştır (Çizelge 6.3):

Çizelge 6.3 Her bir etkili madde için uygulanan deneme planı

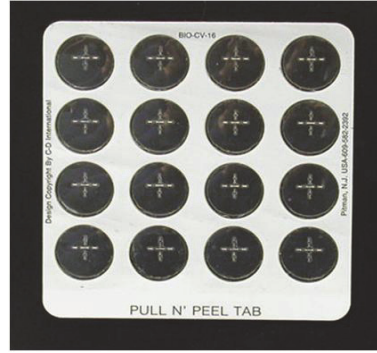
Besine ilaç püskürtme (İlaçlama kulesi ile)								
Uygulamalar	Kontrol	Doz 1	Doz 2	Doz 3	Doz 4	Doz 5	Doz 6	Toplam larva
Larva sayısı	30	30	30	30	30	30	30	210
Besine karıştırma								
Uygulamalar	Kontrol	Doz 1	Doz 2	Doz 3	Doz 4	Doz 5	Doz 6	Toplam larva
Larva sayısı	30	30	30	30	30	30	30	210
Topikal uygulama								
Uygulamalar	Kontrol	Doz 1	Doz 2	Doz 3	Doz 4	Doz 5	Doz 6	Toplam larva
Larva sayısı	30	30	30	30	30	30	30	210

Tüm yöntemlerde de bireylerin beslenmesi için yapay besin kullanılmıştır. Bu yüzden daha önce sadece popülasyonların üretimi için kullanılan besin içeriği aynı kalmak koşuluyla sadece şekil değiştirerek denemelerde kullanılmıştır. Şekil değişikliği ise besine uygulanacak ilacın miktarının hesaplanabilir ve sabit bir besin ağırlığı eldesi açısından yapılmıştır. Ayrıca besin bu şekilde kullanıldığında, içine konduğu hücreyi tamamen kaplamadığı için larvaların hareket edecek alanı artmış ve sayım zamanında görülmesi kolaylaşmıştır. Bu amaçla besinler büyük saklama kaplarına dökülmüş ve daha sonra 1cm<sup>3</sup>'lük besin (~1.3 gr) parçalarına ayrılmıştır (Şekil 6.6). Bu besin parçaları ise her larvaya 1 adet kullanılmıştır.



Şekil 6.6 Büyük besin kaplarına dökülen besinin 1cm<sup>3</sup>'lük parçalara ayrılması.

Biyoassay denemelerin tüm yöntemlerinde kullanmak üzere Bio-Serv (Kanada-One 8th Street, Suite One Frenchtown, NJ 08825) firmasından 16 hücreli şeffaf kaplar (Bio-Assay Tray Lid- 16 cells) ve üzerine kapatılacak olan hava alabilen şeffaf film (Clear P.E. film on P.E. liner) alınmıştır (Şekil 6.7). Küp şeklinde kesilen besinler bu kaplara aktarılmıştır. Her bir kap 16 hücreden oluşmaktadır, her doz için 30 birey kullanıldığı için bu kaplara 1 ve 2 numara şeklinde numara verilerek 15'er besin ve birey konularak denemeler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 6.7 Üzerine şeffaf film kapatılmış 16 hücreli kaplar (BIO-CV-16).

### 6.3.1 Topikal uygulama

Doz-tepki ilişkisi bu yöntemde larvaların thorax kısmına bırakılan ilaçlı sıvı ile araştırılmıştır. Uygulamada petri içinde bulunan larvalara önce kontrol olmak üzere en düşükten en yüksek doz sırasıyla 1µl solusyon verilmiştir. Bunun için el ile kontrol edilen mikrouygulayıcı (Burkard Hand-Operated Microapplicator) aleti kullanılmıştır (Şekil 6.8). Kontrol için distile su kullanılmıştır.



Şekil 6.8 Burkard marka elle çalışır mikro aplikatör (Hand-operated microapplicator).

Salkım güvesi üretiminde kullanılan yapay besin büyük kaplara dökülmüş ve biyoassay denemelerde kullanılacak olan küp şeklinde kesilmiş besinler hücrelere konmuş ve topikal uygulama yapılmış larvalar bu besinler üzerine alınmıştır (Şekil 6.9).



Şekil 6.9 Topikal uygulama için temiz besinlerin hücrelere aktarılması.

Buzdolabının dondurucu kısmında 4 dk'lık soğuğa maruz bırakma yöntemiyle hareketsiz kalan larvalara uygulama yapılmıştır. Tam anlamıyla 2-3 dakika sonra hareketlenen larvalar daha sonra küp şeklinde 15 adet temiz besinle doldurulmuş olan 16'lı hücreler içeren deneme kaplarına her hücreye 1 adet olmak üzere aktarılmıştır. Bu işlem kontrol için saf su ile ve her doz için 30 bireyle tekrarlanmıştır (Şekil 6.10).



Şekil 6.10 Topikal uygulama yöntemi ve uygulama yapılmış larvalar ile oluşturulan bir tekerrür.

Topikal uygulama yöntemi, başka bir etkili madde ve 2 popülasyonla da tekrar edilmiştir.

Topikal uygulama ile ilaca maruz bırakılan bireyler, uygulama biter bitmez Salkım güvesi üretiminin yapıldığı iklim odalarına taşınmıştır. Uygulama sonrasında deneme kaplarına uygulanan ilaç adı-dozu-tarih-yöntem-popülasyonu ve her bir doz için 2 adet deneme kabı 1 ve 2 numaralarını belirten ibareler yazılmıştır. İklim odasında üzerine herhangi bir şey konmadan sıralanan deneme kapları 72 saat sonra yine iklim odasında değerlendirmeye alınmıştır.

Değerlendirmeye önce kontrolden başlanmıştır. Deneme kaplarına alt yüzeyinden bakılmış öncelikle genel görüntü incelenmiştir, daha sonra ince uçlu bir pens yardımıyla larvalara zarar vermeden canlılık durumları kontrol edilmiştir. Hareketli olup da beslenmesine devam eden bireyler canlı kabul edilmiş, hiçbir hareket göstermeyen bireyler ölü olarak kayıtlara geçmiştir. Bu değerlendirmenin bitmesinden sonra deneme kaplarının iklim odasındaki düzeni bozulmamış, canlı bireyler pupa oluncaya kadar beklenmiştir. Bu bireylerin pupa olmasından sonra deneme kapları çöpe boşaltılmıştır.

### **6.3.2 Besin üzerine püskürtme yöntemi**

Pratikte ilaçların meyve üzerine püskürtüldüğü durumu simule edebilmek için bir diğer yöntem olarak besin üzerine püskürtme yöntemi de biyoassay yöntemi olarak seçilmiştir. Besinin ilaçla kaplanması yönteminde Burkard Agronomic Instruments (İngiltere) firmasından temin edilen manuel yüklemeli ilaçlama kulesi (Potter-Precision Laboratory Spray Tower) ve ilaçlama kulesinin çalışması için bir hava kompresörü de kullanılmıştır (Şekil 6.11).



Şekil 6.11 Manuel yüklemeli ilaçlama kulesi ve hava kompresörü.

Besinler daha önce de bahsedildiği gibi yine küp şeklinde kesilmiştir. Ancak bu sefer besin ilaçlanacağı için cam petrilere 10'ar adet olmak üzere yerleştirilmiştir. Her doz için 3 petri (30 besin) kullanılmıştır. İlaçlama kulesinde önce kontrol ile uygulamaya başlanmış ve kontrol için distile su kullanılmıştır. İlaçlama kulesinin ilaç haznesine 2 ml distile su konmuş ve 1 bar basınçla çalıştırılıp tabla üzerinde içinde 10 parça besin bulunan petri üzerine püskürtme yapması sağlanmıştır. 3 tekrürde toplam 30 adet besin parçası her 10 besin parçası için 2 ml su kullanılarak bu şekilde püskürtmeye maruz bırakılmıştır, bu işleme kontrol ile başlayıp daha sonra en düşük ilaç konsantrasyonundan en yükseğe doğru devam ederek aynı şekilde tamamlanmıştır.

Tabla üzerinden Besine ilaç püskürtmeden hemen sonra alınan petrilere üzerindeki besin küpleri, bir pens yardımıyla petri zemininde yer değiştirmek suretiyle besinlerin taban kısmının da (Besine ilaç püskürtme esnasında besinin püskürtmeye maruz kalmayan taban kısmı) petriye ulaşan ilaç ile maruz kalması sağlanmıştır. Böylece küp şeklinde kesilmiş olan besinin tüm yüzeylerinin ilaçla

kaplanmış, larvanın beslenme esnasında besinin alt yüzüne hareket ederek besin içine oradan girmesi ve ilaçla karşılaşma şansının azalmasına karşı önlem alınmıştır (küp şeklindeki besin parçaları 16 hücreli kaplara, püskürtmede petride durduğu pozisyonda yerleştirilmiştir).

Oda sıcaklığında 30 dk bu şekilde bekletilen ilaçlanmış besin parçaları 16 hücreli kaplara her hücreye 1 adet olmak üzere bir kaba 15 adet, her bir doz için 2 kap, toplamda 30 besin parçası kaplara yerleştirilmiştir. Daha sonra besin içinden çıkarılan larvalar bekletilmeden her bir hücreye (besine) 1 adet olarak bırakılmış ve üzerine bu kap için üretilmiş olan hava alabilen şeffaf kapak ile kapatılmıştır. Üzerine doz ve popülasyon bilgileri yazılmış olan 16 hücreli kaplar iklim odasına alınarak 72 saat sonra ölü/canlı sayımları yapılmak üzere muhafaza edilmiştir (Şekil 6.12).



Şekil 6.12 İlaç püskürtülen besinlerin hücelere aktarılması, besinlere larva bırakılması ve kapakla kapatılmış deneme hücreleri.

Denemenin değerlendirilmesi bir önceki bölümde verildiği gibi yapılmıştır.

### 6.3.3 Besinin ilaçla karıştırılması yöntemi

İlacın besine karıştırılması yönteminde Salkım güvesi larvalarının ilaçla homojen şekilde karışmış besinle beslendiğinde doz-ölüm ilişkisi araştırılmıştır. Besin tamamen hazır olmadan, yani hem sterilizasyon işleminden ilacın etkilenmemesi hem de ilacın besine homojen olarak karıştırılabilmesi için besin donmadan kısa bir süre önce ilaç besine karıştırılmıştır. Bu amaçla daha önce de besinin hazırlanış şeklinde bahsedilen otoklavdan çıktıktan sonraki dönem önem kazanmıştır. Hatırlanacağı gibi (Bkz 6.1.2 Yapay besin hazırlanması) besinin buğday özü ve bira mayası içerikleri sterilizasyon sonrası besine karıştırılmaktaydı. Bunun için otoklavdan çıkarılan mısır irmiği ve agar içeren kısmın 70 °C'ye düşmesi beklenmekte ve buğday özü ve bira mayası

karıştırılmaktadır, ardından 60 °C'ye düşünce askorbik asit ve nipagin eklenilmektedir. Bu aşamadan sonra temiz besin kaplara dökülüp donması için beklenmektedir. İlaçlı besin ise besin kaplara dökülmeden önce, ilacın bozunmayacağı ve besinin akıcılığını da kaybetmeyeceği en düşük sıcaklık olan 40 °C uygun bir sıcaklık olarak belirlenmiştir. Bu sıcaklığa kadar besin devamlı karıştırılmış ve uygun miktarda hazırlanan ilaçlı suyun behere eklenerek karıştırılmasıyla ilaçlı besinler elde edilmiştir.

Bu işlemde 100 ml'lik beherler kullanılmıştır. 100 ml'lik behere sıcaklığı 40 °C'ye kadar düşmüş olan 90 ml besin ve balon joje içinde hazırlanmış 10 ml ilaçlı sıvı ilave edilmiştir. Bir karıştırıcı yardımıyla elde homojen bir karışım oluncaya kadar karıştırılmış ve beherin ağzı streç film ile kapatılarak oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Bu uygulama denemeden 24 saat önce yapılmış ve besinin istenen olgunluğa ulaşması için gerekli süre elde edilmiştir. Bu şekilde tüm dozlar için bu işlem ayrı beherler ve karıştırıcılar yardımıyla yapılmış, üzerlerine ilacın adı ve dozu yazılarak ilaçlı besinler hazırlanmıştır. Kontrol için ise aynı oranda distile su karıştırılmıştır.

Bu şekilde hazırlanan besinlerde kullanılan ilaçlı sıvının dozu 10 kat seyreceği için besinde hedeflenen dozu elde etmek amacıyla ilaçlı sıvı 10 kat yüksek dozda hazırlanmıştır. Bu yüzden örneğin 10 ppm'lik bir ilaçlı besin hazırlanacağı zaman; 100 ppm lik ilaçlı sıvıdan 10 ml alınıp 90 ml besine karıştırılmış böylece 10 ppm'lik besin elde edilmiştir.

Deneme mutlaka ilaçlı besinin hazırlanmasından 24 saat sonra yapılmıştır. Bunun için beherlerden çıkarılan besin yine  $\sim 1 \text{ cm}^3$  lük besin parçalarına ayrılmış ve 16 hücreli deneme kaplarından 2 tanesine 30 adet olacak şekilde, her hücreye 1 adet larva yerleştirilmiştir (Şekil 6.13).



Şekil 6.13 İlaç karıştırılmış besin ve bu besinlerin deneme hücrelerine aktarımı.

Denemelerde sayım ve değerlendirme bir önceki bölümde verildiği gibi yapılmıştır.

#### 6.4 Biyoassay Testler

##### 6.4.1 Denemenin kurulması

Salkım güvesine uygun biyoassay yöntemi olarak besine karıştırma yöntemi belirlendiği için Ege üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü iklim odasında üretimi yapılan toplam 10 popülasyon ile, ilacın besine karıştırılması yöntemiyle biyoassay çalışmaları yapılmıştır.

Tüm işlemler ilacın besine karıştırılması yönteminde açıklandığı gibi gerçekleştirilmiştir.

Bu denemeler için de yeni doz serileri ile hazırlanmış ilaçlı besinler yine  $\sim 1 \text{ cm}^3$  lük besin parçalarına ayrılmış ve 16 hücreli deneme kaplarına 15 adet olmak üzere her doz için 2 kap içinde 30 adet yerleştirilmiştir. Hemen sonra her hücreye 1 adet larva eklenmiştir.

Denemeye önce kontrolden başlanmış daha sonra her ilaç için en düşük dozdan başlayarak en yüksek doza doğru besinlerin kesilip kaplara yerleştirilmesi işlemiyle devam etmiştir. Her popülasyon ve her ilaç dozu için deneme kapları içerisinde o doza ait besin parçaları ile üzerlerine larva bırakmak üzere hazırlanmıştır. Daha sonra iklim odasından 9 gün yaşında olan larvaları içinde bulunduran besin kapları getirilmiştir. Bu besinlerden çıkarılan larvalar deneme

kaplarındaki hücrelere tek tek yerleştirilerek ağız hava alabilen yapışkan kapaklarla kapatılmıştır.

#### 6.4.2 Denemede kullanılan insektisit dozları

Denemelerde daha önce kullanılan dozlar dikkate alınarak %10 - %90 arasında ölüm sağlayacağı öngörülen aşağıdaki dozlar belirlenmiştir. (Çizelge 6.4).

Çizelge 6.4 Biyoassay çalışmalarda kullanılan etkili madde dozları

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

#### 6.4.3 Denemenin değerlendirilmesi

Denemelerde günlük gözlemler yapılmış ancak sayımlar sadece 72 saat sonunda ölü bireyler üzerinden gerçekleştirilmiştir. Canlı larvaların gelişimi açısından gözlemlere pupa oluncaya kadar devam edilmiştir.

#### 6.4.4 $LC_{50}$ - $LC_{90}$ değerlerinin ve direnç katsayılarının hesaplanması

Biyoassay test sonuçlarında elde edilen değerler PoloPlus (Leora Software) programı kullanılarak  $LC_{50}$  ve  $LC_{90}$  değerleri hesaplanmıştır. Direnç katsayısının hesaplanması için her etkili madde için popülasyonların  $LC_{50}$  ve  $LC_{90}$  değerleri hassas popülasyondan elde edilenler ile kıyaslanmıştır.

### 6.5 Biyokimyasal Testler

Besine karıştırma yöntemiyle tüm popülasyonlar için yapılan biyoassay çalışmaları esnasında, biyoassay çalışmalarda kullanılan larvalardan biyokimyasal testlerde kullanılmak üzere her popülasyondan en az 20 adet 9 gün yaşında larva  $-20^{\circ}C$ 'de saklanmak üzere derin dondurucuya kaldırılmıştır.

Biyokimyasal testler enzim analizlerine yönelik olduğu ve enzim kaynağının sıcakta bozunmaması için çalışmalar klimalı bir ortamda ve  $18^{\circ}C$ 'de yapılmıştır. Ayrıca yine bu duruma destek olması açısından örnekler daima buz üzerinde bekletilmiştir.

Enzim kaynağı hazırlanması aşamasında sıklıkla kullanılan soğutuculu santrifuj de yine aynı gerekçeyle +4 °C’de kullanılmıştır.

Biyokimyasal testlerde okumalar kinetik microplate okuyucu (VersaMax ELISA Microplate Reader) ile yapılmıştır (Şekil 6.14).



Şekil 6.14 Kinetik microplate okuyucu (VersaMax ELISA Microplate Reader).

Salkım güvesi ile daha önce yapılmış biyokimyasal test çalışması bulunmadığı için Salkım güvesi ile aynı familyada (Tortricidae) yer alan Elma içkurdu ile yapılan çalışmalardan faydalanılmıştır. O çalışmalardaki bilgilerden hareketle, biyokimyasal testlerde 4 farklı enzim analizi için 4 farklı yöntemden yararlanılmıştır. Esteraz, Glutathion S-transferaz ve P450 enzimleri için kullanılacak enzim kaynağı ile ACHe testi için enzim kaynağı olmak üzere 2 enzim kaynağı kullanılmıştır.

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

#### **6.5.1.1 Enzim kaynağı hazırlanması**

Salkım güvesi'nin detoksifikasyon enzimlerinin ölçülmesinde Qian et al. (2008)'den alınan enzim preparasyon yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Buna göre, Salkım güvesi'nin 9 günlük 3 larvası 1 ml homojenasyon buffer [0,1 M sodium phosphate buffer, pH 7,6 ve 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 1 mM 1,4-dithiothreitol (DTT), 1 mM phenylmethyl sulfonylfluoride

(PMSF) ve 1 mM phenylthiourea (PTU) içeren] içerisinde homojenize edilmiştir. Önce 15.000xG (RCF)'de 20 dk +4°C'de santrifüj yapıldıktan sonra üstte kalan kısım alınıp sonra 20.000xG de 20 dk daha +4°C'de santrifüj yapılmıştır. Üstte kalan temiz kısım alınarak eppendorf tüp içine konmuş ve hemen buz üzerine konularak esteraz, P 450 ve GST analizi için enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

#### **6.5.1.2 EST analizi**

EST Enzim aktivitesinin belirlenmesi için Han et al. (1998) yönteminden yararlanılmıştır. Buna göre, mikropılaka hücrelerinin herbirine substrat olarak 90 µl 0,1 M sodium fosfat buffer (pH 7,6) ve 200 µl solüsyon karışımı (10 mM 1-naphthyl asetat solution ve 4 mM fast blue RR salt) konulmuştur. Reaksiyon, stok solüsyondan 10 µl enzim kaynağı ilave edilerek başlatılmıştır. EST enzim aktivitesi, "Versamax microplate reader"da 27 °C ve 450 nm dalga boyunda 10 s aralıklarla 10 dk boyunca tutulmuş ve optical density (OD) değerleri belirlenmiştir. Ayrıca popülasyonların protein konsantrasyonları, bovine serum albumin (BSA)'nin standart olarak kullanıldığı Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiş ve böylece popülasyonların EST enzim aktiviteleri toplam protein miktarları içindeki oranı tespit edilmiştir.

#### **6.5.1.3 GST analizi**

GST enzim aktivitesinin belirlenmesi için Oppenoorth (1979) yönteminden yararlanılmıştır. Buna göre, substrat olarak hem 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) hem de 1,2-dichloro-4-nitrobenzene (DCNB) kullanılmıştır. Reaksiyon, CDNB ile yapılacağı durumda; mikropılakanın her bir hücresine stok solüsyondan 10 µl enzim kaynağı, 90 µl 0,1 M sodyum fosfat buffer (pH 7,6), 100 µl 6 mM CDNB ve 100 µl 6 mM glutathione (GSH) konmuş, DCNB ile reaksiyon başlatılmak istendiğinde ise mikropılakanın her bir hücresine stok solüsyondan 100 µl enzim kaynağı, 100 µl 1,2 mM DCNB ve 100 µl 6 mM GSH konmuştur. Yapılan testler sonucunda (CDNB) substrat olarak kullanıldığında elde edilen sonuçlar kullanılmıştır. GST enzim aktivitesinin ölçülmesi microplate okuyucuda 27 °C ve 340 nm dalga boyunda 10 s aralıklarla 10 dk boyunca tutulmuş ve OD değerleri belirlenmiştir. Ayrıca popülasyonların protein konsantrasyonları BSA'nın standart olarak kullanıldığı Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiş

ve böylece popülasyonların EST enzim aktiviteleri toplam protein miktarları içindeki oranı tespit edilmiştir.

#### **6.5.1.4 P450 analizi**

P450 enzim aktivitesinin belirlenmesi için Hansen ve Hodgson (1971) yönteminden yararlanılmıştır. Buna göre, mikroplaka hücrelerinin herbirine stok solüsyondan 90 µl enzim kaynağı, substrat olarak 100 µl 2mM p-nitroanisol (PNOD) karıştırılmıştır. 27 °C’de 2 dk inkübe ettikten sonra 10 µl 9,6 mM nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. P450 enzim aktivitesinin ölçülmesi microplate readerda 27 °C ve 405 nm dalga boyunda 10 s aralıklarla 10 dk boyunca tutularak elde edilmiş, OD değerleri belirlenmiş ve Bradford (1976)’a göre protein miktarları hesaplanmıştır.

### **6.5.2 AChE enzim preparasyonu ve aktivitesinin belirlenmesi**

#### **6.5.2.1 Enzim kaynağı hazırlanması**

Asetilkolinesteraz aktivitesinin belirlenmesinde Stumpf et al. (2001) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Salkım güvesinin 9 günlük 3 larvası eppendorf tüp içinde bulunan % 0,1 Triton X-100 içeren 0,1 M fosfat buffer (1ml, 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 supernatant enzim kaynağı olarak kullanılmak üzere yine buz içine alınmıştır.

#### **6.5.2.2 AChE analizi**

AChE aktivitesini ölçmek için mikroplaka 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 mikroplaka okuyucuda 23 °C ve 405 nm’de 20 dakika tutularak belirlenmiştir. Ayrıca popülasyonların protein konsantrasyonları BSA’nın standart olarak kullanıldığı Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiş ve böylece popülasyonların EST enzim aktivitelerinin toplam protein miktarları içindeki oranı tespit edilmiştir.

## 7. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 7.1 Salkım Güvesi Kùltürlerinin Oluşturulması

Salkım güvesini kùltüre alma çalımlarında başlangıçta oluşturulan rulo içine şeffaf naylon konmuş, bırakılan yumurta sayısı daha önce kullanılan yağlı kağıda göre daha fazla olmuş ve bırakılan yumurtalar daha kolay gözlenmiştir.

Bu şekilde yapılan uygulamalarda yumurta açılımı olmuştur ancak bırakılan yumurta sayısı ile elde edilen larva sayısı karşılaştırıldığında larva elde etme oranının çok düşük olduğu, birçok yumurtanın açılmadığı gözlemlenmiştir. Bu yüzden iç yüzeye kaplanan naylon kullanılmadan yumurtaların doğrudan pvc yüzeye bırakılması sağlanmıştır.

Literatüre bakıldığında 1.döl için yumurta açılma süresi 7-11 gün, larva gelişme süresi 25-30 gün, pupa açılması ise 6-14 gün olarak bildirilmektedir (Varela, 2010). Diğer döllerde ise yumurta açılma süresi 4-6 gün olarak bildirilmiştir (Rice et al., 2011). Araziden alınan örnekler ile yapılan üretim rulolarında pupaların tamamının açılması yaklaşık 3-4 gün sürmektedir. Uçuşmaya başlayan erginler ise 2. günden itibaren yumurta koymaya başlamışlardır. Yumurtaların genelde şeffaf olan pvc rulonun duvarlarına, az miktarda da olsa altta bulunan saksı tabağında ve üstte bulunan süzgeçli kapağın plastik kısmına da bırakıldığı görülmüştür.

Ovipozisyon 4-5 gün kadar sürmüş ve ilk yumurta koyma döneminden 1 hafta sonra da ilk larvalar görülmüştür. Larvalar günlük gözlemlerle (fazla pupa sayısına sahip rulolarda günde 2 kez) özellikle üst kapağın plastik kısmından bir fırça ile toplanmıştır.

Toplanan larvalar içine besin bulunan ve her birine 20 adet larva konulan kaplara alınmıştır. Besin üzerine iğne yardımıyla açılan delikler ile larvanın besinin içine girmesi kolaylaştırılmış, delik açılmayan düz zeminli besine göre pupa elde etme yüzdesi artmıştır.

Bu kaplarda pupa olan bireyler tekrar üretim rulolarına lınmış ve bu şekilde salkım güvesi üretimi sorunsuz ve en yüksek verimle devam etmiştir.

## 7.2 Uygun Biyoassay Yönteminin Belirlenmesi

Biyoassay metodu için en uygun yöntemin belirlenmesi çalışmalarında topikal uygulama, ilacın besine püskürtülmesi ve ilacı besine karıştırma yöntemlerinde birçok doz serisi ile birçok kez ön deneme yapılmıştır. Bu denemelerde sayıca uygun hale gelen (en güçlü gelişen) bazı popülasyonlar denemeye alınmış ve uygulamalar bu popülasyonlar ile devam ettirilmiştir. Sonuç olarak 3 uygulamanın da karşılaştırılması açısından, popülasyona bağlı farklılıkların da ortadan kaldırılması anlamında 3 popülasyon ile ve yöntemlere cevap veren en uygun doz serileri belirlenerek yöntem çalışmaları tek bir popülasyonda maksimum birey kullanılarak çalışmanın başında hedeflenen plan ile sonlandırılmıştır.

Önceden de planlandığı gibi biyoassay çalışmalarda amaç farklı yöntemleri bir arada kullanarak hangi yöntemin iyi sonuç verdiğini belirlemek olmuştur. Besin miktarı, uygulama zamanı, sıcaklık ve nem gibi değerler tüm çalışmalarda sabit tutulmuştur.

Yapılan 3 uygulamanın sonucunda uygulamaların birbirlerine göre avantajlı ve dezavantajlı durumları irdelenmiştir.

Öncelikle topikal uygulama üzerinde durulmuş ilk olarak bu yöntemin sağlıklı bir biçimde çalışması için çaba gösterilmiştir. Topikal uygulama birçok böcek için yaygın kullanılan bir yöntemdir. Salkım güvesi ile yapılan uygulamada ise bazı zorlukları ile dikkat çekmiştir. Topikal uygulama için Salkım güvesinin 9 günlük larvaları kullanılmıştır.

Salkım güvesi larvalarının çok küçük olması ve çok hareketli olmaları topikal uygulamada zorluklar çıkarmıştır. Bu zorlukları aşmak amacıyla ön denemeler yapılarak larvaların zarar görmeden buzdolabında bekletilerek hareketsiz olacakları süre belirlenmiştir. Bu amaçla larvalar steril plastik petri kaplarına 10'lu gruplar halinde konmuş ve buzdolabının dondurucu kısmında (0°C) 4 dk bekletilmiştir. 4 dk'lık sürenin belirlenmesinde ise larvalar yapılan bir ön denemede incelenmiş ve 10 dk'ya kadar tutulan larvaların oda sıcaklığına alındıktan 2-3 dk sonra tekrar hareketli olabildiği görülmüştür. Buzdolabında tutulan sürenin en az olması ve buzdolabından çıkan bireylere topikal uygulama yapılacak sürenin de yeterli olan en az süre olması amaçlanmıştır. Bu yüzden 4 dk

sonra çıkarılan larvaların yaklaşık 1 dk içinde hareketli olması ve bu zaman dilimde 10 adet larvaya topikal uygulama yapılabiliyor olması bu zaman diliminin seçilmesine sebep olmuştur. 3dk ve daha az süreler ile buzdolabında tutulan bireyler oda sıcaklığına alındığında, 10 bireye topikal uygulama yapmadan hareketlendikleri için bu süreler uygun görülmemiştir.

Bu uygulama şekli hareketli olma sorununu ortadan kaldırırsa da larvada oluşan sıcaklık düşüşü sebebiyle bu sefer damlanın larva üstüne yapışması ve dolayısıyla iğne ucunda larvanın yapışık vaziyette asılı kalması durumu ile sıklıkla karşılaşılmıştır. Bu sorunun aşılması için 5 ve 6 dk buzdolabının dondurucu kısmında (0°C) bekletilen larvalara da uygulama yapılmış ve aynı sorun devam etmiştir. Bu yüzden 4 dk'lık dondurucu kısımda bekletme yöntemi ile uygulamalar yapılmıştır. Ayrıca ilaçlı sıvı damlasının sorunsuz verilmiş olması durumunda bir başka problem olarak larvanın sıvıyı vücuduna tam olarak alamadan hareketli hale geçmesi ve sıvıyı ortama bulaştırdığı gözlemlenmiştir.

Denemelere geçilmeden önce ön deneme olarak larvalara su ve metanol verilerek teknik maddelerin çözülmesinde kullanılan metanolün olumsuz etkileri incelenmiştir. 3 adet petri içinde bulunan 5'er adet larvaya su, aynı şekilde diğer 15 larvaya da 1 µl metanol uygulanmıştır. Daha sonra besine bırakılan bu larvalar pupa oluncaya kadar izlenmiş ve metanol uygulaması ile distile su uygulaması arasında bir fark görülmemiştir.

Ancak larvanın oda sıcaklığında tekrar hareket kazanması sonucunda thoraks kısmına bırakılan ilaçlı sıvı damlası henüz emilmediği için hareketlenme sonucu etrafa değme etkisi ile vücut üzerindeki ilaçlı sıvı miktarında eksilmeler olabilmektedir. Topikal uygulamada verilen ilaç doğrudan böcek vücudu ile karşılaştığı için düşük dozlarda bu uygulama başarılı olmuştur.

Püskürtme yöntemi ile yapılan uygulamalarda ise ilk yapılan denemelerde (düşük doz serisi ile) dozların artırılması gerektiği görülmüştür. Yapılan ön denemeler sonucu tamamen ölümün görüldüğü dozun oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Ancak bu durum istenilen ölüm oranlarını yakalamayı sağlasa da teknik maddeden hazırlanan doz serilerinde çok yüksek dozlar için homojen karışamama, ya da zaman zaman ilaçlama kulesinin meme düzeneğinde

tıkanmalara sebep olmuştur. Diğer yöntemler ile karşılaştırıldığında püskürtme yönteminde etkili olan doz serisi diğer yöntemlere göre oldukça yüksek olmuştur.

Besine ilaç karıştırma yönteminde ise dozun artışına bağlı olarak ölüm oranlarının belirgin bir şekilde arttığı tek deneme olmuştur.

Üç yöntem hazırlık aşaması, kullanılan malzeme/alet ve sonuç vermesi açısından oldukça farklı özellikler göstermektedir. Yöntemlerin sağlıklı kullanılması için gereken fiziki şartlar aynı değildir, ilaçlama kulesi kullanımında iyi bir havalandırma gerekirken, topikal uygulama da larvaları soğutma, besine karıştırma da ise sabit oda sıcaklığı gerekliliği vardır.

Yöntemlerden besine karıştırma dışındaki iki yöntem ilaçlı su hazırlandıktan sonra hemen kullanıma hazır hale gelmesine rağmen besine karıştırma yönteminde besin üzerine larvaların bırakılması için bir süre beklenmesi gerekmektedir.

Yöntemlerde larvaların %100 ölüm gösterdiği dozlar birbirinden oldukça farklı tespit edilmiştir. Bu sonuca bakılarak 3 yöntem için ayrı doz serisi belirlenmesi zorunluluğu ortaya çıkmıştır. Besine karıştırma yönteminde en yüksek dozda tüm ilaçlarda %100 ölüm meydana gelmiş ve bu yöntem doz serilerine paralel olarak daha güvenilir ölüm oranları vermiştir.

İlaçlama kulesi ile ilacı besine püskürtme yönteminde, besinin ilaçla kaplanma oranı ve ilacın büyük bir kısmının hedefe ulaşmıyor olması besine karıştırma yöntemine göre daha yüksek dozlar kullanılması gerekliliğini doğurmuştur.

Son olarak besine ilaç püskürtme yönteminde ilaçla kaplanmış besine bırakılan larvanın besinin dış kısmında kısa bir süre beslendikten sonra, besinin iç kısmına hareketlenmesi ve hiç ilaç içermeyen/daha az ilaç içeren iç kısımda beslenmeye devam etmesi larvanın ilaçla her besin hücresinde aynı oranda karşılaşamayacağı sonucunu ortaya çıkarmıştır. Bu yöntemde, teorik olarak larva ilk beslenme anlarında dış yüzeyden aldığı ilaç miktarı ile ya ölmekte ya da beslenmeye içeride devam etmektedir. Bu durum artan doza rağmen beklenen ölüm artışının sağlanmamasına neden olmuştur.

Besine karışıma yönteminde ise her besin parçası için homojen bir ilaç miktarı sağlanırken, larvanın beslenme şekline göre değişmeksizin larva sayımın yapıldığı saate kadar (beslenme devam ediyorsa) ilaçlı besin ile karşılaşmaktadır.

Yapılan ön denemeler kullanılacak yöntem hakkında bazı ipuçları verse de bu sonuçları yöntemlerden elde edilecek LC<sub>50</sub>/LD<sub>50</sub> sonuçlarına ve bazı sayısal verilere göre değerlendirmek için bazı denemeler yapılmıştır.

Öncelikle doz başına 10 birey üzerinden 2 popülasyon (Yeşilyurt ve Merkez 2) ile tüm yöntemlerde kullanılmak üzere 4 doz ile bir doz serisi oluşturulmuş ve tüm ilaçlar ve 3 yöntemde kullanılarak bir deneme yapılmıştır. Bu denemedeki amaç uygun bir doz aralığı bulmak ve uygulama şekillerinin sorunsuz çalıştığını görmek olmuştur (Çizelge 7.1).

Çizelge 7.1 İki farklı popülasyonda 3 farklı biyoassay yöntemi ile elde edilen ölü birey sayıları (n=10)

Merkez 2 popülasyonu (30.12.2012)						Yeşilyurt popülasyonu (29.12.2012)					
Topikal uygulama						Topikal uygulama					
Dozlar (ppm)	K	1	10	100	1000	K	1	10	100	1000	
CE	0	0	0	4	5	0	1	1	3	7	
SPN	1	0	3	7	10	0	0	1	10	10	
INDX	0	0	0	0	4	1	3	5	7	10	
DLT	0	0	2	3	4	0	1	0	4	9	
İlaç besine püskürtme						İlaç besine püskürtme					
CE	0	0	2	2	6	0	1	2	3	4	
SPN	0	1	2	9	9	0	1	2	6	8	
INDX	0	2	4	5	8	0	2	3	5	6	
DLT	0	0	1	3	7	0	0	0	3	6	
Besine karıştırma						Besine karıştırma					
CE	0	0	3	8	10	0	0	3	7	10	
SPN	0	2	6	10	10	0	2	6	10	10	
INDX	0	2	4	5	10	0	4	6	10	10	
DLT	1	0	2	4	10	0	0	3	4	10	

İki popülasyon ile doz başına 10 birey kullanılarak yapılan ön denemeden elde edilen sonuçlar; öncelikle kullanılacak birey sayısının daha fazla olması gerektiğini, 10 bireyle yapılan bir denemenin vereceği bilgilerin güvenilir olmadığını göstermiştir. Ancak besine karıştırma yönteminde elde edilen sonuçlar tatmin edici olurken, topikal uygulamada Merkez 2 popülasyonunda elde edilen sonuçlar ilaçlara göre ciddi farklılıklar göstermiş, doz-ölüm ilişkisi anlamsız bulunmuştur. Seçilen dozlar arasındaki fark 10 kat olmasına rağmen bazı uygulamalarda ölü birey sayıları bu doz serilerine göre farklılık göstermemiştir (Çizelge 7.1).

Sonuç olarak deneme kurmaya yeter sayıda olan tek bir popülasyon ile (Yeşilyurt) doz serileri yeniden düzenlenerek bir ön deneme daha yapılmıştır. Bu denemede tüm ilaçlar ile 3 uygulama için ayrı ayrı yeni doz serileri belirlenmiş böylece her uygulama için %100 ölümün gerçekleştiği bir doz olması hedeflenmiştir (Çizelge 7.2).

Çizelge 7.2 Yeşilyurt popülasyonunda üç farklı biyoassay yöntemi ve farklı doz serileri kullanılarak yapılan denemede ölü birey sayıları (n=30)

TOPIKAL							
dozlar (ppm)	K	1	3	10	30	100	300
CE	1	5	6	5	7	11	27
SPN	1	1	3	7	10	27	29
INDX	0	3	3	13	24	30	30
DLT	0	3	6	18	24	30	30
BESİNE İLAÇ PÜSKÜRTME							
dozlar (ppm)	K	10	30	100	300	1000	3000
CE	1	6	21	26	28	30	30
dozlar (ppm)	K	1	3	10	30	100	300
SPN	0	2	17	24	26	30	30
dozlar (ppm)	K	10	30	100	300	1000	3000
INDX	1	6	22	22	25	29	30
dozlar (ppm)	K	10	30	100	300	1000	3000
DLT	0	18	24	28	29	30	30
BESİNE KARIŞTIRMA							
dozlar (ppm)	K	1	3	6	10	30	60
CE	2	5	4	9	10	20	30
dozlar (ppm)	K	0.1	0.3	0.6	1	3	6
SPN	0	1	2	13	16	26	30
dozlar (ppm)	K	0.1	0.5	1	5	10	50
INDX	0	1	9	23	30	30	30
dozlar (ppm)	K	0.5	1	5	10	50	100
DLT	0	0	1	2	18	24	30

YEŞİLYURT POPÜLASYONU (21.01.2013)

Çizelge 7.2'de görüldüğü gibi doz serileri yeniden düzenlenmiş ve böylece tüm yöntemlerde hemen hemen %100 ölüme ulaşılmıştır. Böylece ilaçlama kulesi kullanılarak yapılan denemelerde doz serisinin çok daha yüksek dozlar içermesi gerektiği öngörüsü ispatlanmıştır. Ayrıca topikal uygulamada daha sağlıklı sonuçlar elde edilmesi açısından ara dozlar eklenmiştir.

İlaçlama kulesinin yapı itibarıyla çok yüksek dozlar kullanımına, ilacın çözücü maddesine bağlı olarak uygun olmadığı tespit edilmiştir. 100 ppm lik bir doz su ya da başka bir çözücü (aseton/metanol) ile hazırlansa da uygulamada sorun çıkarmazken, 1000 ppm lik bir doz hazırlanırken çözücü olarak su kullanıldığında ilacın çözünmesinde olumsuzluklar olduğu, uygulama esnasında da püskürtme memesinde tıkanmalar meydana geldiği görülmüştür. Ancak daha önemli bir problem, 100 kat artış gösteren doz serisinde (30-100-300 ppm) ölüm oranlarında görülen yakın sayılar olmuştur. Bu sonuçlar da ilaçlama kulesi ile yapılan denemelerin sonucunda güvensizlik oluşturmuştur.

Besine karıştırma yöntemi ise en baştan beri daha sağlıklı sonuçlar vermiştir. Tüm ilaçlarda aynı sağlıklı sonuçları veren yöntem ise şu özellikleriyle diğer yöntemlere göre daha avantajlı olmuştur: Hazırlanış yöntemi sonucunda ilaçların besine homojen bir biçimde karıştırılıyor olması, larvanın tükettiği besinin en küçük parçasında bile ilaçla karşılaşması doz-ölüm ilişkisini net bir şekilde göstermektedir.

Ancak yapılan 2. ön denemenin tek bir popülasyonla yapıldığı ve tekerrüsus yapıldığı göz önüne alındığında yöntemleri karşılaştırmak üzere yapılacak olan esas deneme için kullanılacak doz serilerinde yapılandırmaya ihtiyaç olduğu görülmüştür. Her ne kadar her bir ilaç ve popülasyona göre doz serisinin farklılık göstermesi normal olsa da çalışmanın kolay yapılabilirliğini ve kullanılacak ilaç solusyonlarının mümkün olduğunca aynı olması amaçlandığı için kullanılacak doz serilerinde ortak değerler oluşturulmuştur (Çizelge 7.3). Buna rağmen besine karıştırma yönteminde, özellikle spinosad ve indoxacarb için 30 ve 100 ppm dozlarında % 100 ölüm elde edildiğinden bazı ara dozlar eklenmesi zorunluluğu ortaya çıkmıştır. Bu durumda da sadece söz konusu iki etkili maddenin ara dozları ile yapılan deneme sonuçları da bu kapsama ilave edilerek 3 farklı popülasyonda biyoassay yöntemi ile elde edilen doz-ölü birey sayıları Çizelge 7.4’de sunulmuştur.

Çizelge 7.3 Farklı biyoassay yöntemlerinin karşılaştırılmasında kullanılan doz serileri

YÖNTEMLER	DOZLAR							
	0,1 ppm	1 ppm	10 ppm	30 ppm	100 ppm	300 ppm	1000 ppm	3000 ppm
BESİNE KARIŞTIRMA	✓	✓	✓	✓	✓			
SPREYLEME		✓	✓		✓	✓	✓	✓
TOPIKAL UYGULAMA		✓	✓	✓	✓	✓	✓	

Doz serilerinin son olarak tekrar düzenlenmesi sonucunda elde edilecek verilerin güvenilirliği açısından 3 popülasyon ile tüm yöntemler aynı doz serileri kullanılarak denemeye alınmıştır. Aynı deneme 3 ayrı tarihte tekrar edilerek elde edilen ölü birey sayılarının ortalamaları sonuçlarda kullanılmıştır (Çizelge 7.4).

Çizelge 7.4 MER1,YY1 ve MER2 popülasyonlarında farklı biyoassay yöntemleri ile 3 farklı tarihte yapılan denemelerde elde edilen ölü birey sayıları (n=30)

21.01.2013		K	0,1 ppm	0,5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm	30 ppm	100 ppm	
BESİNE KARIŞTIRMA YÖNTEMİ	MER1	CE	0	2	4		22	25	30	
		SPN	0	2	7	24	28	29	30	
		INDX	0	0	3	16	18	28	30	
		DLT	1	1		6		18	24	30
	YY1	CE	0	0		2		9	21	25
		SPN	0	1	7	21	28	29	30	30
		INDX	0	2	4	14	15	21	28	30
		DLT	0	1		6		16	19	27
	MER2	CE	0	0		3		23	27	30
		SPN	0	0	6	15	29	29	30	30
		INDX	1	1	4	8	18	19	27	29
		DLT	0	1		6		11	24	29
BESİNE İLAÇ PÜSKÜRTME YÖNTEMİ	MER1	CE	0	2	1	6	15	12	21	
		SPN	1	1	2	22	24	26	30	
		INDX	0	1	1	15	11	20	30	
		DLT	0	1	8	18	17	26	30	
	YY1	CE	0	0	9	6	20	26	30	
		SPN	0	1	6	27	25	30	30	
		INDX	0	9	12	18	25	29	30	
		DLT	0	0	1	10	24	30	30	
	MER2	CE	0	0	6	8	14	19	27	
		SPN	0	4	4	19	21	30	30	
		INDX	0	1	11	19	17	22	30	
		DLT	0	0	2	8	10	24	30	
TOPIKAL UYGULAMA YÖNTEMİ	MER1	CE	0	4	8	16	26	30	30	
		SPN	0	4	16	17	28	30	30	
		INDX	1	8	20	20	30	29	30	
		DLT	0	7	14	15	16	22	26	
	YY1	CE	0	1	8	11	11	24	30	
		SPN	0	1	9	10	26	25	30	
		INDX	1	2	12	27	26	30	30	
		DLT	0	11	11	22	30	30	30	
	MER2	CE	0	5	9	7	19	20	30	
		SPN	0	0	12	16	28	28	30	
		INDX	0	0	8	14	17	20	25	
		DLT	0	1	8	9	20	19	26	

Çizelge 7.4 (Devamı)

		24.02.2013	K	0,1 ppm	0,5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm	30 ppm	100 ppm
BESİNE KARIŞTIRMA YÖNTEMİ	MER1	CE	0	0		4		18	26	30
		SPN	0	4	10	22	27	30	29	30
		INDX	1	2	5	16	19	24	29	30
		DLT	0	1		6		22	30	30
	YY1	CE	0	0		0		10	19	29
		SPN	0	3	9	17	27	30	30	30
		INDX	1	3	4	15	16	28	30	30
		DLT	0	2		6		15	24	25
	MER2	CE	0	0		6		18	28	30
		SPN	0	1	7	13	28	30	30	30
		INDX	0	2	4	8	19	27	30	30
		DLT	0	2		5		19	22	28
BESİNE İLAÇ PÜSKÜRTME YÖNTEMİ	MER1		K	1 ppm	10 ppm	100 ppm	300 ppm	1000 ppm	3000 ppm	
		CE	0	4	2	9	11	10	25	
		SPN	1	0	2	17	20	22	30	
		INDX	0	0	2	15	6	28	30	
	YY1	DLT	0	2	6	15	24	28	30	
		CE	0	4	5	10	24	28	30	
		SPN	0	2	7	18	29	30	30	
		INDX	0	5	9	12	28	28	30	
	MER2	DLT	0	1	4	4	26	30	30	
		CE	0	1	6	5	10	21	22	
		SPN	0	4	8	25	24	30	30	
		INDX	0	2	17	12	13	28	30	
TOPIKAL UYGULAMA YÖNTEMİ	MER1	DLT	0	0	5	13	16	24	30	
			K	1 ppm	10 ppm	30 ppm	100 ppm	300 ppm	1000 ppm	
		CE	0	8	8	5	27	30	30	
		SPN	0	8	15	18	22	30	30	
	YY1	INDX	1	10	16	26	30	30	30	
		DLT	0	8	18	19	24	23	26	
		CE	0	4	4	9	15	28	30	
		SPN	0	2	11	13	27	30	30	
	MER2	INDX	0	2	14	22	23	30	30	
		DLT	0	8	9	28	26	30	30	
		CE	0	4	9	8	20	21	30	
		SPN	0	2	10	15	30	30	30	
	INDX	0	1	9	12	14	21	26		
	DLT	0	5	11	11	21	24	24		

Çizelge 7.4 (Devamı)

31.03.2013		K	0,1 ppm	0,5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm	30 ppm	100 ppm	
BESİNE KARIŞTIRMA YÖNTEMİ	MER1	CE	0	1		6		19	26	30
		SPN	0	1	9	25	26	30	30	30
		INDX	0	1	4	13	19	27	30	30
		DLT	0	1		9		23	26	30
	YY1	CE	0	0		1		11	21	27
		SPN	1	2	8	18	27	30	30	30
		INDX	0	1	5	13	17	26	29	30
		DLT	0	2		4		15	22	25
	MER2	CE	0	0		5		25	29	30
		SPN	0	1	9	19	25	30	30	30
		INDX	0	2	5	8	18	22	29	30
		DLT	0	1		5		20	23	28
BESİNE İLAÇ PÜSKÜRTME YÖNTEMİ	MER1		K	1 ppm	10 ppm	100 ppm	300 ppm	1000 ppm	3000 ppm	
		CE	0	4	6	5	13	22	22	
		SPN	0	2	2	15	19	23	30	
		INDX	0	0	0	12	14	20	30	
	YY1	CE	0	2	4	10	21	30	30	
		SPN	0	0	6	18	25	29	30	
		INDX	0	3	7	15	22	30	30	
		DLT	0	0	3	14	22	30	30	
	MER2	CE	0	0	6	4	10	18	25	
		SPN	0	1	5	17	19	29	30	
		INDX	0	3	6	16	16	24	30	
		DLT	0	0	3	7	9	19	30	
TOPIKAL UYGULAMA YÖNTEMİ	MER1		K	1 ppm	10 ppm	30 ppm	100 ppm	300 ppm	1000 ppm	
		CE	0	5	12	10	23	25	30	
		SPN	0	8	12	12	22	30	30	
		INDX	0	9	13	16	29	30	30	
	YY1	DLT	0	11	12	20	21	21	30	
		CE	0	5	7	8	15	24	30	
		SPN	0	5	8	8	22	28	30	
		INDX	1	1	17	24	24	30	30	
	MER2	DLT	0	9	11	23	28	30	30	
		CE	0	1	9	10	16	23	30	
		SPN	0	2	11	12	21	30	30	
		INDX	0	0	11	11	12	17	22	
DLT	0	3	9	11	17	18	26			

Birçok ön denemeden sonra elde edilen veriler ışığında 3 farklı biyoassay yöntemi ile 3 farklı tarihte yapılan testlerin karşılaştırılması Çizelge 7.4'de görülen ortalama rakamlar ile tamamlanmıştır.

### 7.2.1 Uygulamaların LC<sub>50</sub> ve LD<sub>50</sub> sonuçları

İlacın besine karıştırılması, topikal uygulama ve besinin ilaçla spreyleneşmesi ile 3 yöntem ve 3 popülasyonda 4 ilacın etkilerinin araştırıldığı denemede elde edilen veriler PoloPlus (LeOra Software Company®, 1987) programında değerlendirilmiştir. Bunun sonucunda 3 farklı uygulama ve ilaçlar için LC<sub>50</sub> ve LD<sub>50</sub> değerleri Çizelge 7.5'de sunulmuştur. Ayrıca probit eğrileri çıkartılarak yöntemlerin sonuçları bu bilgiler ışığında yorumlanmıştır (Şekil 7.1, 7.2, 7.3).

Çizelge 7.5 MER1,YY1 ve MER2 popülasyonlarında farklı biyoassay yöntemleriyle yapılan testlerde hesaplanan LC<sub>50,90</sub>/LD<sub>50,90</sub> sonuçları

	P <sup>1</sup>	EM <sup>2</sup>	n <sup>3</sup>	LC <sub>50</sub> (ppm)	LC <sub>90</sub> (ppm)	H <sup>4</sup>	eğim±sh <sup>5</sup>
				0,95 güven aralığı	0,95 güven aralığı		
BESİNE KARIŞTIRMA	MER1	CE	450	4,47 (1,94-9,04)	38,42 (17,41-158,28)	2,56	1,37±0,10
		SPN	630	0,66 (0,34-1,16)	3,72 (1,96-12,38)	4,43	1,71±0,12
		INDX	630	1,86 (0,93-3,33)	12,78 (6,53-43,39)	4,19	1,53±0,11
		DLT	450	3,73 (2,61-5,04)	29,67 (21,21-45,61)	0,97	1,42±0,13
	YY	CE	450	16,44 (12,96-20,63)	102,80 (73,69-160,65)	0,24	1,61±0,14
		SPN	630	0,85 (0,62-1,11)	3,92 (2,83-6,18)	1,02	1,94±0,17
		INDX	630	2,19 (0,85-4,31)	19,34 (8,93-89,96)	4,58	1,35±0,10
		DLT	450	7,93 (5,62-11,14)	191,20 (110,99-392,24)	0,48	0,92±0,07
	MER2	CE	450	4,09 (3,16-5,19)	21,69 (16,32-30,81)	0,42	1,76±0,14
		SPN	630	1,00 (0,83-1,19)	4,11 (3,23-5,56)	0,23	2,08±0,15
		INDX	630	2,98 (2,25-3,81)	22,76 (16,80-33,60)	0,59	1,45±0,12
		DLT	450	6,03 (3,41-10,27)	88,70 (43,79-263,90)	1,16	1,09±0,08
BESİNE İLAÇ PÜSKÜRTME	MER1	CE	540	658,26 (164,22-9447,60)	104988,11 (7962,15-938369909,32)	4,41	0,58±0,05
		SPN	540	114,11 (27,44-264,41)	1191,39 (474,55-11304,61)	4,61	1,25±0,11
		INDX	540	228,50 (43,92-939,79)	2485,00 (683,03-449106,97)	9,48	1,23±0,09
		DLT	540	57,14 (22,54-126,37)	1494,53 (553,52-8434,74)	2,90	0,90±0,06
	YY	CE	540	82,69 (13,12-361,08)	1370,74 (323,79-112270,25)	9,68	1,05±0,07
		SPN	540	36,23 (27,10-47,51)	328,11 (235,73-488,74)	0,73	1,33±0,09
		INDX	540	27,12 (3,80-105,83)	813,69 (186,54-34870,12)	7,24	0,86±0,06
		DLT	540	101,74 (18,01-335,20)	615,50 (211,51-24278,71)	10,35	1,63±0,12
	MER2	CE	540	411,51 (119,78-2352,09)	17088,81 (2784,26-5429528,21)	5,36	0,79±0,06
		SPN	540	39,88 (10,25-115,08)	656,15 (207,08-7248,94)	5,83	1,05±0,07
		INDX	540	65,38 (7,90-321,21)	2930,02 (515,14-894322,89)	7,78	0,77±0,06
		DLT	540	240,92 (74,57-738,83)	2878,73 (886,23-86752,22)	6,52	1,19±0,09
TOPIKAL UYGULAMA	MER1	CE	540	19,36 (2,24-84,14)	300,92 (72,57-66609,92)	10,74	1,07±0,08
		SPN	540	10,69 (2,15-29,80)	295,26 (61,80-3446,68)	5,88	1,01±0,08
		INDX	540	5,66 (0,79-15,26)	77,69 (28,06-745,85)	4,79	1,12±0,10
		DLT	540	11,46 (6,27-18,69)	2254,60 (965,02-7890,68)	0,92	0,55±0,06
	YY	CE	540	51,39 (10,76-248,76)	873,21 (197,85-233486,85)	9,43	1,04±0,07
		SPN	540	25,40 (8,62-61,97)	270,24 (100,16-2657,07)	5,81	1,24±0,09
		INDX	540	12,05 (3,82-25,09)	92,23 (42,19-454,65)	4,31	1,45±0,12
		DLT	540	6,12 (0,44-21,83)	86,79 (23,95-6195,33)	9,04	1,11±0,08
	MER2	CE	540	46,51 (12,23-167,69)	1083,63 (259,23-82236,44)	6,56	0,93±0,07
		SPN	540	19,81 (11,17-32,41)	144,63 (79,66-386,22)	2,37	1,48±0,11
		INDX	540	83,12 (38,88-191,75)	3171,67 (914,81-41855,01)	2,39	0,81±0,07
		DLT	540	54,72 (31,18-96,14)	2688,90 (1030,03-12902,14)	1,18	0,75±0,06

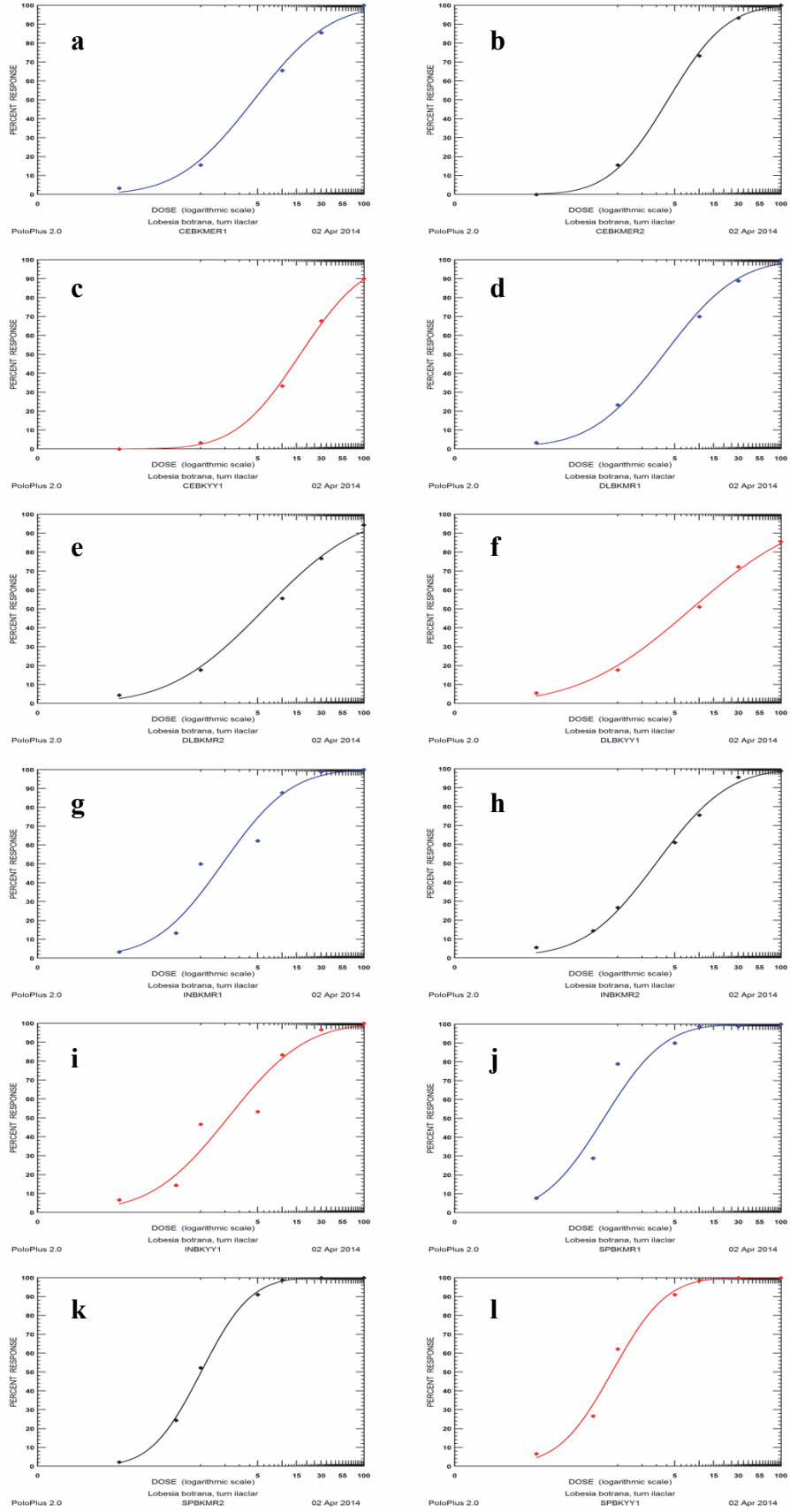
<sup>1</sup> Popülasyonlar

<sup>2</sup> Etkili maddeler

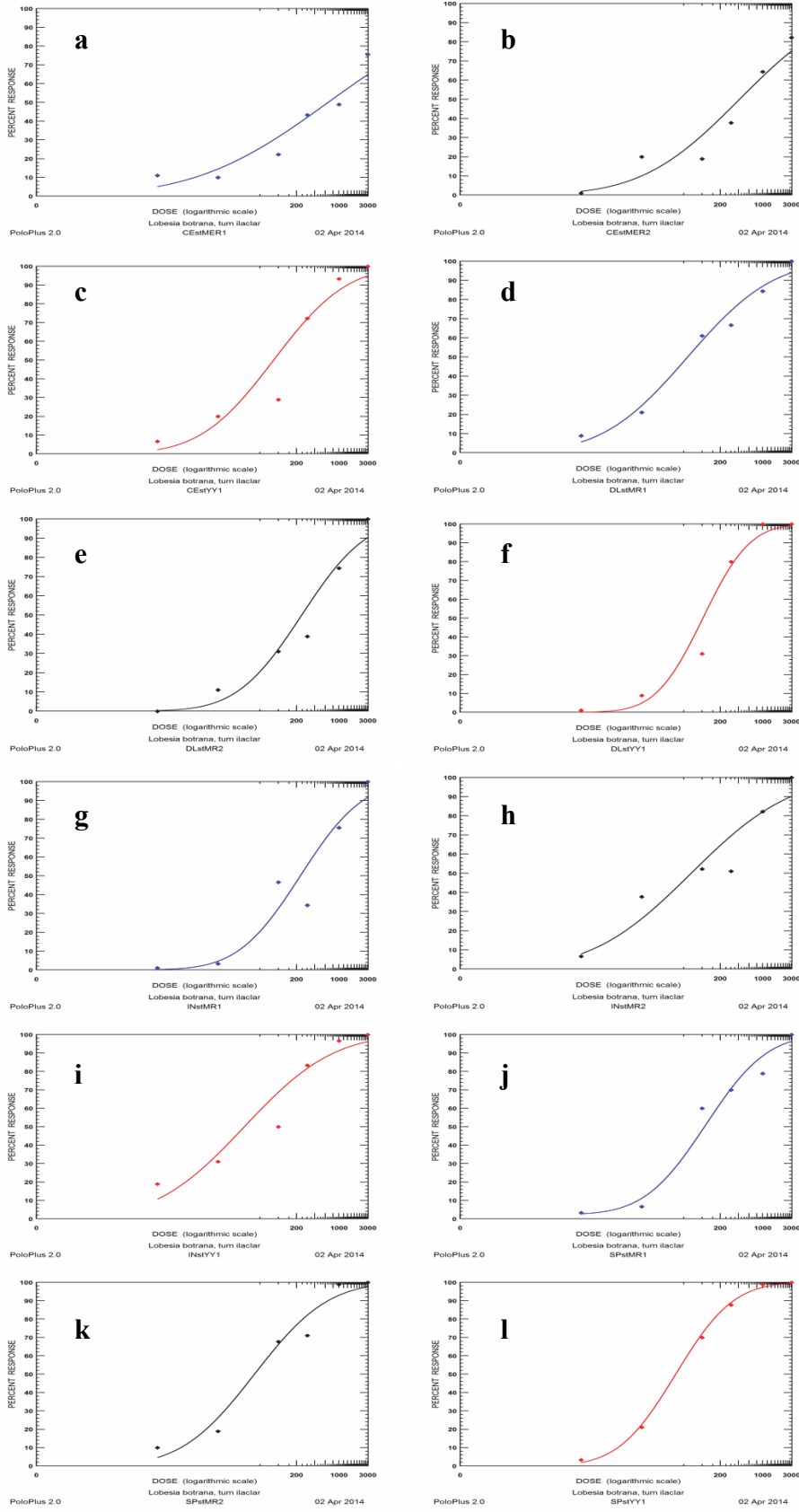
<sup>3</sup> Birey sayısı

<sup>4</sup> Heterojenite

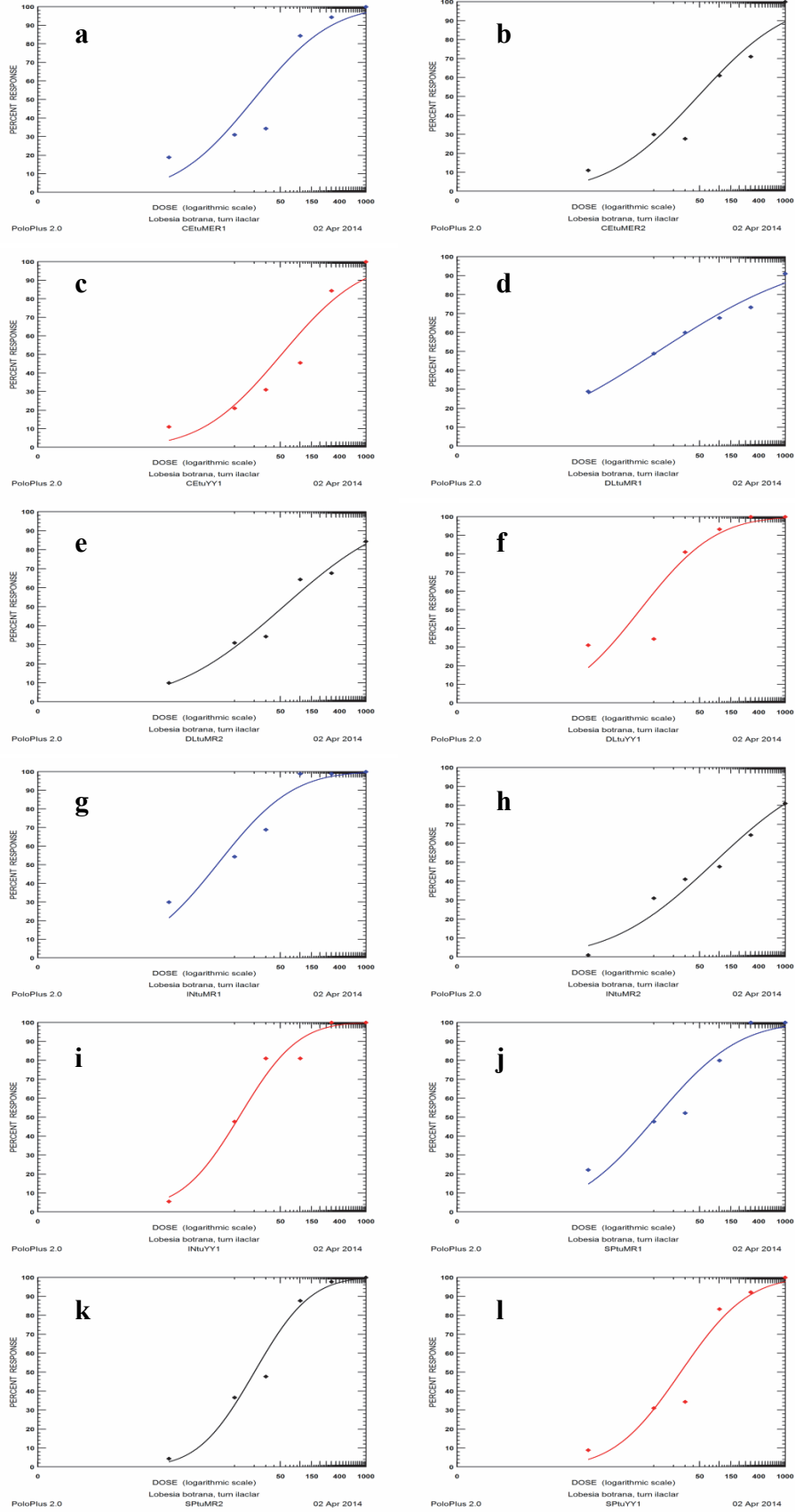
<sup>5</sup> Standart hata



Şekil 7.1 Chlorpyrifos-ethyl (CE), deltamethrin (DL), indoxacarb (IN) ve spinosad (SP) ile Merkez 1 (MER1), Merkez 2 ve Yeşilyurt1 (YY1) populasyonlarında besine karıştırma biyoassay yöntemiyle saptanan probit eğrileri: a) CE-MER1, b) CE-MER2 c) CE-YY1, d) DL MER1, e) DL MER2, f) DL YY1,g) IN-MER1 h) IN-MER2, i) IN-YY1, j) SP-MER1 k) SP-MER2 l) SP-YY1



Şekil 7.2 Chlorpyrifos-ethyl (CE), deltamethrin (DL), indoxacarb (IN) ve spinosad (SP) ile Merkez 1 (MER1), Merkez 2 ve Yeşilyurtl (YY1) popülasyonlarında besine ilaç püskürtme biyoassay yöntemiyle saptanan probit eğrileri: a) CE-MER1, b) CE-MER2 c) CE-YY1, d) DL-MER1, e) DL-MER2, f) DL-YY1, g) IN-MER1 h) IN-MER2, i) IN-YY1, j) SP-MER1 k) SP-MER2 l) SP-YY1



Şekil 7.3 Chlorpyrifos-ethyl (CE), deltamethrin (DL), indoxacarb (IN) ve spinosad (SP) ile Merkez 1 (MER1), Merkez 2 ve Yeşilyurt 1(YY1) popülasyonlarında topikal uygulama biyoassay yöntemiyle saptanan probit eğrileri: a) CE-MER1, b) CE-MER2 c) CE-YY1, d) DL MER1, e) DL MER2, f) DL YY1,g) IN-MER1 h) IN-MER2, i) IN-YY1, j) SP-MER1 k) SP-MER2 l) SP-YY1

3 farklı popülasyonda 3 farklı biyoassay yöntemiyle 4 farklı ilaç için 3 tekerrürlü olarak elde edilen veriler, birçok açıdan değerlendirildiğinde, besine ilaç karıştırma yöntemi diğer yöntemlere göre daha uygun bir biyoassay yöntem olarak tespit edilmiştir.

Besine ilaç karıştırma yöntemi ile elde edilen  $LC_{50}$  değerleri, diğer yöntemlere göre daha tekrarlanabilir bulunmuştur. Denemedeki tüm  $LC_{50}$  ve  $LD_{50}$  değerleri bir arada incelendiğinde besine karıştırma yöntemi ile elde edilen değerlerde güven aralığı min ve max değerleri birbirine yakın olurken, diğer iki yöntemde güven aralığı min ve max değerlerinin çok aralıklı olduğu, özellikle Besine ilaç püskürtme yönteminden elde edilen sonuçlar açısından incelendiğinde bu rakamların büyüyen  $LC_{50}$  değeriyle birlikte oldukça açıldığı görülmektedir.

Kullanılan üç yöntemin farklı popülasyonlardaki heterojenite değerleri Çizelge 7.5'de görülmektedir. Besine karıştırma yönteminde popülasyon heterojenite değerleri 0,2-4,6 arasında dağılım gösterirken, Besine ilaç püskürtme yönteminde 0,7-10,4 arasında, topikal uygulama yönteminde ise 0,9-10,8 arasında değişmiştir. Bu açıdan bakıldığında da besine karıştırma yönteminin daha iyi sonuç verdiği görülmektedir.

Kullanılan popülasyonlardan MER1 isimli popülasyonun yıllardır ilaca maruz kalmadığı bilinen bir popülasyon olduğu ve bu yüzden hassas popülasyon olarak kabul edildiği daha önceki bölümlerde belirtilmişti. Dolayısıyla bu popülasyondan elde edilecek LC/LD değerlerinin diğer popülasyonlardan elde edilenlere oranla daha düşük olması beklenilmektedir. Besine karıştırma yönteminde elde edilen  $LC_{50}$  değerleri ilaçlara göre popülasyonlar arasında karşılaştırıldığında bir istisna hariç (CE'de MER2 popülasyonu en düşük değere sahiptir) 4 ilaç için en düşük  $LC_{50}$  değerlerinin MER1 popülasyonunda olduğu görülmektedir. Diğer yöntemlerde ise bu durum oldukça farklılıklar göstermektedir. Örneğin Besine ilaç püskürtme uygulamasında deltamethrin hariç diğer 3 ilaç için MER1 popülasyonundan elde edilen  $LC_{50}$  değerleri beklenenin aksine çok yüksek olmuştur. Topikal uygulamada ise deltamethrin uygulamasında en düşük  $LD_{50}$  değeri YY popülasyonunda bulunmuştur. Dolayısıyla farklı yöntemlerin değişik popülasyonlardaki LC ve LD değerleri kıyaslandığında da en uygun yöntem besine karıştırma yöntemi olarak belirlenmiştir.

Popülasyonların LC<sub>50</sub> ve LD<sub>50</sub> değerlerinin farklı biyoassay yöntemlerine göre değişmesi olası bir sonuçtur. Ancak bir popülasyon için artan ilaç dozuna bağlı olarak ölümün de artması şeklinde sonuç beklenilir. Doz artışına paralel ölüm oranının da artması, yöntemin uygun olduğunu gösteren bir diğer parametredir.

Doz-ölüm ilişkisi açısından da en uygun yöntem olarak besine karıştırma yöntemi belirlenmiştir. Nitekim bu ilişkiyi en iyi gösteren “eğim” değerlerini incelediğimizde (Çizelge 7.5) besine karıştırma yönteminde eğim değerleri 0,92-2,08 arasında değiştiği, Besine ilaç püskürtme yönteminde bu değer 0,58-1,63 arasında, topikal uygulama yönteminde ise bu değer 0,55-1,48 arasında olduğu görülmektedir.

Salkım güvesi ile yapılan çalışmalara bakıldığında çok fazla çalışma olmadığı, ancak bununla birlikte tespit edilen çalışmalarda da besine ilaç karıştırma ya da doğrudan ilaçlanan salkım üzerinde beslenme suretiyle testlerin yapıldığı görülmektedir.

Lufenuron ile yapılan bir çalışmada, larva biyoassay çalışmaları besine karıştırma yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Birinci dönem için 0,015-0,16 ppm aralığında, üçüncü dönem için 0,05-0,15 ppm, beşinci dönem için 0,05-0,21 ppm dozları içeren besinler kullanılmıştır. Uygulama 5 cm çaplı bir petri tabağına ilaçla muamale edilmiş beş porsiyon (~ 1 gr) suni besin ve üzerlerine 10 larva bırakılarak yapılmıştır (Saenz-De-Cabezón et al., 2006).

Chlorantraniliprole etkili maddesinin Salkım güvesi larva ve yumurtalarına etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, larva biyoassay çalışmasında temiz olduğu bilinen bir salkım, kullanılan doza uygun 1 lt lik solusyona 5 sn. batırılmak suretiyle uygulama yapılmış ve bu salkıma bırakılan yumurtadan yeni çıkan larvaların chlorantraniliprole için LC<sub>50</sub> değeri 0,11 ppm bulunmuştur (Ioriatti et al., 2008).

İspanya’da azadirachtin etkili maddeli bir insektisit Salkım güvesine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 3. dönem larvalar için besine karıştırma yöntemi kullanılmış ve 8 ile 32 ppm arasında değişen bir doz serisi kullanılarak azadirachtin için LC<sub>50</sub> değeri 18,71 ppm olarak tespit edilmiştir (Irigaray et al., 2010).

Başka türlerde ise bazı biyoassay karşılaştırma ya da geliştirme çalışmaları görülmektedir.

Perez et al. (1997)'nin yaptığı bir çalışmada, Lahana yaprakgüvesi (*Plutella xylostella*)'nin *Bacillus thuringiensis*'e direncini tespit etmek amacıyla yaprak daldırma ve yapay besin üzerinde beslenme yöntemleri karşılaştırılmıştır. Araştırmacılar sonuç kısmında “Birisini, duyarlı bireylerin % 99 unu öldüren bir ayrımcı konsantrasyon seçmek istiyorsa, duyarlı ve dirençli popülasyonların arasında net bir ayırım için yaprak daldırma biyoassay yöntemi daha etkilidir; çünkü, bu yöntem daha dirençli bireyleri yapay besin ile yapılan biyoassaye göre daha düşük bir oranda öldürmektedir” şeklinde açıklama yapmışlardır. Ancak, ideal bir biyoassay yönteminin hızlı olması, işgücü oranında verimli olması gerektiğini (French-Constant & Roush, 1990) ve yapay besinin hazırlanması ve saklanması kolay olduğunu ve bu kriterlere göre, yapay besin ile yapılan yöntemin tercih edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

*Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) için hızlı bir biyoassay yöntemi geliştirmek amacıyla yapılan bir çalışmada da yapay besin kullanılmıştır. Yapay besinden diskler halinde kesilen parçalar microplate hücrelerine aktarılmış ve bu besin parçaları CRY3Aa süspansiyonu ile muamele edilerek 24 saat inkubasyona bırakılmış, daha sonra her bir hücre üzerine bir larva bırakılarak biyoassay çalışması tamamlanmıştır (Oppert, 2010).

Biyoassay testlerin karşılaştırılmasında her zaman yöntemler arasında bir ilişki saptanması söz konusu değildir. Bazı çalışmalarda, farklı biyoassay yöntemlerinin direnci belirlemede farklı sonuçlar verdiği de görülmektedir.

Leibee and Savage (1992) iki *Plutella xylostella* popülasyonlarının üzerinde fenvalerate ile yaptıkları çalışmalarda topikal uygulama ve yaprak daldırma biyoassay yöntemlerini kullanmışlar ve elde edilen sonuçların ilişkili olmadığını bildirmişlerdir.

Benzer bir korelasyon eksikliği de Dennehy et al. (1983) tarafından akarlarla, yaprak-kalıntı ve slayt daldırma biyoassay yöntemleriyle yapılan bir çalışmada rapor edilmiştir.

Perez et al. (1997), kullanılacak biyoassay yönteminde; tek bir/az sayıda konsantrasyon kullanımının bir dizi konsantrasyona göre daha kullanışlı olduğunu, genellikle fazla konsantrasyonların hazırlanması için daha fazla zaman ve emek gerektiğini ve az sayıdaki doz ile direnç çalışmalarının verimliliğinin de arttırılabileceğini bildirmişlerdir.

Direnç çalışmaları birçok bölgede, bölge ve kültür için ana zararlılar başta olmak üzere birçok araştırmacı tarafından yapılmaktadır. Uluslararası bir bilgi ağının da varlığı söz konusu olduğunda yapılan çalışmalarda kullanılan yöntemlerin bir başka araştırmacı tarafından kullanılabilmesi de önem kazanmaktadır. Bu anlamda tekrarlanabilirlik kavramı öne çıkmaktadır. Yöntemlerin açık ve anlaşılır belirtilmesinin yanı sıra kullanılan alet ve ekipmanın da aynı şekilde anlaşılır ve mümkün olduğunca kolay elde edilir olması, işgücünün ve zamanın etkin kullanımı gibi etmenler yöntemin tekrarlanabilirliği açısından önemlidir (Perez et al., 1997). Ayrıca veriler açısından bu durum da desteklenebilmelidir.

Bu çalışmada, yöntemler arasında elde edilen verilerin tekrarlanabilirliğe uygunluğuna bakıldığında, 3 farklı zamanda yapılan 3 farklı yöntemle göre ölü birey sayılarının birbirine yakın sonuçlar vermesi besine karıştırma yönteminde görülmüş ve tekrarlanabilirlik açısından da bu yöntem öne çıkmıştır.

Sonuç olarak; daha önce sayılan tüm avantajların yanında tekrarlanabilirlik, dolayısıyla güvenilirlik açısından da bakıldığında, ilacı besine karıştırma yönteminin Salkım güvesi ile direnç çalışmalarında biyoassay yöntemi olarak kullanılmasının daha uygun olduğu görülmektedir.

### **7.3 Biyoassay Test Sonuçları**

Manisa ili bağ alanlarından toplanan farklı Salkım güvesi popülasyonlarında 4 etkili madde kullanılarak ilacı besine karıştırma yöntemi ile yapılan biyoassay test sonuçlarından elde edilen ölü birey sayıları Çizelge 7.6'da verilmiştir.

Çizelge 7.6 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında farklı etkili maddelerin çeşitli dozları ile yapılan biyoassay testlerinden elde edilen ölü birey sayıları (n=30)

Chlorpyrifos-ethyl							
popülasyon	K*	1 ppm	3 ppm	6 ppm	10 ppm	30 ppm	60 ppm
HAS**	0	1	17	24	29	30	30
AHM	0	2	7	11	24	30	30
ALŞ	0	1	5	10	12	25	30
MER	0	3	10	22	22	30	30
SAR	0	2	5	10	12	28	30
SLH	1	1	4	12	16	30	30
SRBY	0	2	2	6	18	22	26
SRG 1	1	0	3	8	14	25	30
SRG 2	1	0	0	0	9	21	30
YY	0	0	3	4	9	23	26
Spinosad							
	K	0,1 ppm	0,3 ppm	0,6 ppm	1 ppm	3 ppm	6 ppm
HAS	0	1	6	13	24	29	30
AHM	0	0	2	3	11	17	30
ALŞ	0	2	4	11	14	29	30
MER	0	0	4	11	15	30	30
SAR	0	0	1	6	13	21	24
SLH	0	0	3	11	14	29	29
SRBY	1	1	0	0	0	11	24
SRG 1	0	1	5	15	18	29	30
SRG 2	0	0	10	15	27	30	30
YY	0	4	5	12	23	28	30
Indoxacarb							
	K	0,1 ppm	0,5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm	50 ppm
HAS	0	0	2	14	20	24	30
AHM	0	0	1	1	7	11	16
ALŞ	0	0	0	4	9	14	30
MER	0	2	4	5	17	25	30
SAR	1	1	3	9	20	29	30
SLH	0	1	1	10	19	26	30
SRBY	0	0	1	5	11	14	30
SRG 1	0	0	0	4	9	22	30
SRG 2	0	0	9	11	13	23	30
YY	0	1	5	14	16	22	30
Deltamethrin							
	K	0,5 ppm	1 ppm	5 ppm	10 ppm	50 ppm	100 ppm
HAS	0	1	5	17	21	29	30
AHM	0	1	3	4	13	21	27
ALŞ	1	0	1	7	16	25	30
MER	0	1	3	15	17	27	29
SAR	0	0	0	5	7	23	30
SLH	0	2	3	7	7	20	25
SRBY	0	0	1	7	10	19	30
SRG 1	0	1	2	7	11	14	30
SRG 2	0	1	2	7	11	23	28
YY	0	1	2	6	14	25	28

\* Kontrol

\*\* Hassas popülasyon

Biyoassay çalışmaları, Salkım güvesi popülasyonlarının denemede kullanılan etkili maddelere karşı direnç geliştirip geliştirmediği görmek amacıyla yapılmıştır.

Çizelge 7.7’de tüm popülasyonlarda 4 etkili madde için hesaplanan LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> değerleri toplu olarak görülmektedir.

Çizelge 7.7 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında farklı etkili maddelerin besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve Ki kare değerleri

P <sup>1</sup>	EM <sup>2</sup>	n <sup>3</sup>	LC <sub>50</sub> (ppm) 0.95 güven aralığı	LC <sub>90</sub> (ppm) 0.95 güven aralığı	H <sup>4</sup>	eğim±sh <sup>5</sup>	χ <sup>2</sup> <sup>6</sup>
HAS	CE	180	3,014 (2,384-3,673)	7,164 (5,671-10,209)	0,32	3,408±0,501	1,289
	SPN	180	0,589 (0,470-0,735)	1,740 (1,295-2,2743)	0,48	2,723±0,368	1,908
	INDX	180	2,269 (0,999-5,076)	14,077 (6,015-112,571)	2,07	1,617±0,204	8,264
	DLT	180	4,278 (3,040-5,992)	23,073 (14,873-43,816)	0,26	1,751±0,215	1,028
AHM	CE	180	5,607 (3,497-8,966)	17,232 (10,370-58,149)	1,73	2,628±0,353	6,904
	SPN	180	1,665 (0,972-3,327)	5,721 (2,977-34,057)	2,24	2,391±0,306	8,963
	INDX	180	13,495 (9,382-21,012)	77,494 (43,071-208,088)	0,64	1,688±0,250	2,579
	DLT	180	16,172 (8,843-32,669)	157,527 (66,015-848,806)	1,10	1,296±0,164	4,391
ALŞ	CE	180	9,758 (7,566-12,741)	39,321 (27,094-69,137)	0,89	2,117±0,266	3,567
	SPN	180	0,796 (0,469-1,417)	2,806 (1,539-12,298)	2,04	2,342±0,294	8,146
	INDX	180	7,768 (3,641-21,720)	38,629 (15,705-633,848)	2,25	1,840±0,257	8,982
	DLT	180	11,347 (6,561-18,629)	49,993 (28,361-146,086)	1,06	1,99±0,277	4,227
MER	CE	180	4,044 (3,093-5,152)	14,311 (10,400-23,367)	0,90	2,335±0,320	3,588
	SPN	180	0,797 (0,654-0,988)	2,030 (1,524-3,237)	0,96	3,157±0,457	3,853
	INDX	180	2,815 (1,272-6,746)	21,220 (8,346-186,630)	1,94	1,461±0,178	7,779
	DLT	180	6,593 (4,567-9,490)	45,768 (28,135-92,736)	0,25	1,523±0,181	1,002
SAR	CE	180	8,620 (5,012-15,687)	33,465 (17,742-156,657)	2,00	2,175±0,271	7,993
	SPN	180	1,693 (1,287-2,301)	7,850 (5,063-15,689)	0,81	1,924±0,255	3,221
	INDX	180	2,298 (1,566-3,221)	9,303 (6,214-17,376)	0,85	2,110±0,318	3,393
	DLT	180	18,067 (11,596-28,683)	68,847 (40,591-181,083)	1,03	2,206±0,288	4,134
SLH	CE	180	8,056 (6,308-10,076)	19,259 (14,474-32,546)	0,69	3,385±0,622	2,753
	SPN	180	0,868 (0,707-1,079)	2,303 (1,722-3,642)	0,59	3,023±0,417	2,374
	INDX	180	2,471 (1,291-4,816)	14,065 (6,698-65,306)	1,55	1,697±0,209	6,210
	DLT	180	21,071 (13,287-36,697)	321,040 (141,736-1227,683)	0,95	1,083±0,150	3,799
SRBY	CE	180	12,397 (6,771-25,314)	69,594 (31,709-508,630)	1,86	1,710±0,222	7,432
	SPN	180	3,773 (3,082-4,569)	7,368 (5,785-12,085)	0,83	4,409±0,913	3,325
	INDX	180	6,767 (3,271-17,551)	42,264 (16,610-507,547)	1,90	1,611±0,217	7,606
	DLT	180	16,979 (8,067-39,668)	103,099 (43,057-887,645)	1,97	1,636±0,208	7,881
SRG1	CE	180	10,953 (8,552-14,008)	33,466 (24,363-54,417)	0,62	2,642±0,359	2,464
	SPN	180	0,665 (0,527-0,838)	2,123 (1,552-3,429)	0,46	2,541±0,335	1,847
	INDX	180	5,684 (2,980-11,917)	23,313 (11,305-153,569)	1,86	2,091±0,289	7,426
	DLT	180	19,139 (5,380-155,757)	201,945 (47,100±204155,079)	3,68	1,252±0,166	14,708
SRG2	CE	180	17,963 (10,992-30,660)	40,500 (25,162-141,258)	2,27	3,630±0,483	9,075
	SPN	180	0,812 (0,392-1,659)	4,065 (1,903-36,585)	2,35	1,832±0,240	9,401
	INDX	180	2,594 (0,783-9,556)	28,040 (8,115-2025,002)	2,87	1,240±0,163	11,494
	DLT	180	14,062 (9,651-21,027)	111,220 (63,647-257,184)	0,39	1,427±0,175	1,566
YY	CE	180	16,277 (12,589-21,627)	65,145 (43,939-119,241)	0,52	2,128±0,270	2,081
	SPN	180	0,727 (0,410-1,277)	4,004 (2,032-18,278)	1,55	1,730±0,224	6,181
	INDX	180	2,400 (1,002-5,909)	25,477 (9,144-308,823)	1,81	1,249±0,162	7,241
	DLT	180	12,002 (8,340-17,539)	84,459 (50,475-180,201)	0,41	1,512±0,181	1,653

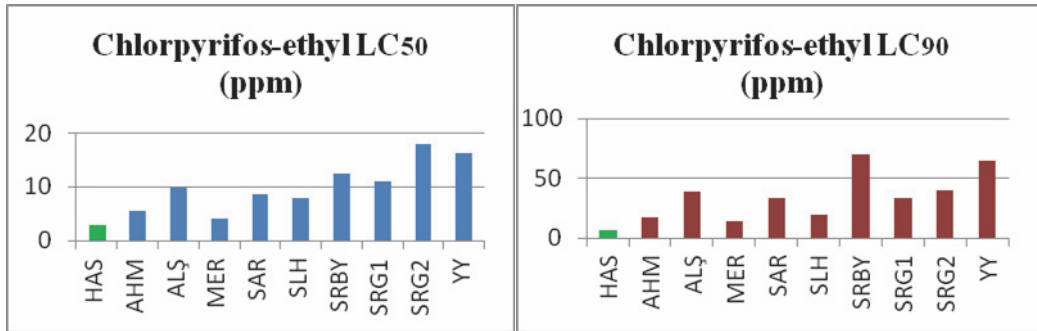
<sup>1</sup> Popülasyon <sup>2</sup> Etkili madde <sup>3</sup> Larva sayısı <sup>4</sup> Heterojenite <sup>5</sup> Standart hata <sup>6</sup> chi kare

Direnç durumlarını görmek amacıyla bu popülasyonların LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> değerlerini etkili maddelere göre ayrı ayrı vererek direnç katsayıları ile birlikte göstermek daha uygun olacağı için Çizelge 7.8’de Chlorpyrifos-ethyl için, LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> değerleri direnç katsayıları ile birlikte verilmiştir.

Çizelge 7.8 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında chlorpyrifos ethyl ile besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC<sub>50</sub>, heterojenite, eğim ve Ki kare değerleri ile direnç katsayıları

P	n	LC50(ppm) 0.95 Güven Aralığı	LC90(ppm) 0.95 Güven Aralığı	H	Eğim±sh	χ <sup>2</sup>	Direnç Katsayısı LC50	Direnç Katsayısı LC90
HAS	180	3,014 (2,384-3,673)	7,164 (5,671-10,209)	0,32	3,408±0,501	1,289	1,00	1,00
AHM	180	5,607 (3,497-8,966)	17,232 (10,370-58,149)	1,73	2,628±0,353	6,904	1,86	2,41
ALŞ	180	9,758 (7,566-12,741)	39,321 (27,094-69,137)	0,89	2,117±0,266	3,567	3,24	5,49
MER	180	4,044 (3,093-5,152)	14,311 (10,400-23,367)	0,90	2,335±0,320	3,588	1,34	2,00
SAR	180	8,620 (5,012-15,687)	33,465 (17,742-156,657)	2,00	2,175±0,271	7,993	2,86	4,67
SLH	180	8,056 (6,308-10,076)	19,259 (14,474-32,546)	0,69	3,385±0,622	2,753	2,67	2,69
SRBY	180	12,397 (6,771-25,314)	69,594 (31,709-508,630)	1,86	1,710±0,222	7,432	4,11	9,71
SRG1	180	10,953 (8,552-14,008)	33,466 (24,363-54,417)	0,62	2,642±0,359	2,464	3,63	4,67
SRG2	180	17,963 (10,992-30,660)	40,500 (25,162-141,258)	2,27	3,630±0,483	9,075	5,96	5,65
YY	180	16,277 (12,589-21,627)	65,145 (43,939-119,241)	0,52	2,128±0,270	2,081	5,40	9,09

Hassas popülasyon için LC<sub>50</sub> değeri 3.014 ppm iken en yakın değer MER popülasyonunda 4.044 ppm, en yüksek değer de SRG2 popülasyonunda 17.963 ppm olarak bulunmuştur. Hassas popülasyon dışındaki popülasyonların Chlorpyrifos için elde edilen LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayılarına göre duyarlılık kayıpları en yüksek 3 popülasyon; LC<sub>50</sub> değerlerine göre sırasıyla SRG2 5.96, YY 5.40, SRBY 4.11 kat, LC<sub>90</sub> değerleri için ise SRBY 9.71, YY 9.09, SRG2 5.65 kat olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre Chlorpyrifosa karşı en fazla hassasiyet azalması (LC<sub>50</sub> değerlerine göre) yaklaşık 6 kat ile SRG2 popülasyonunda görülmüştür (Çizelge 7.8; Şekil 7.4)

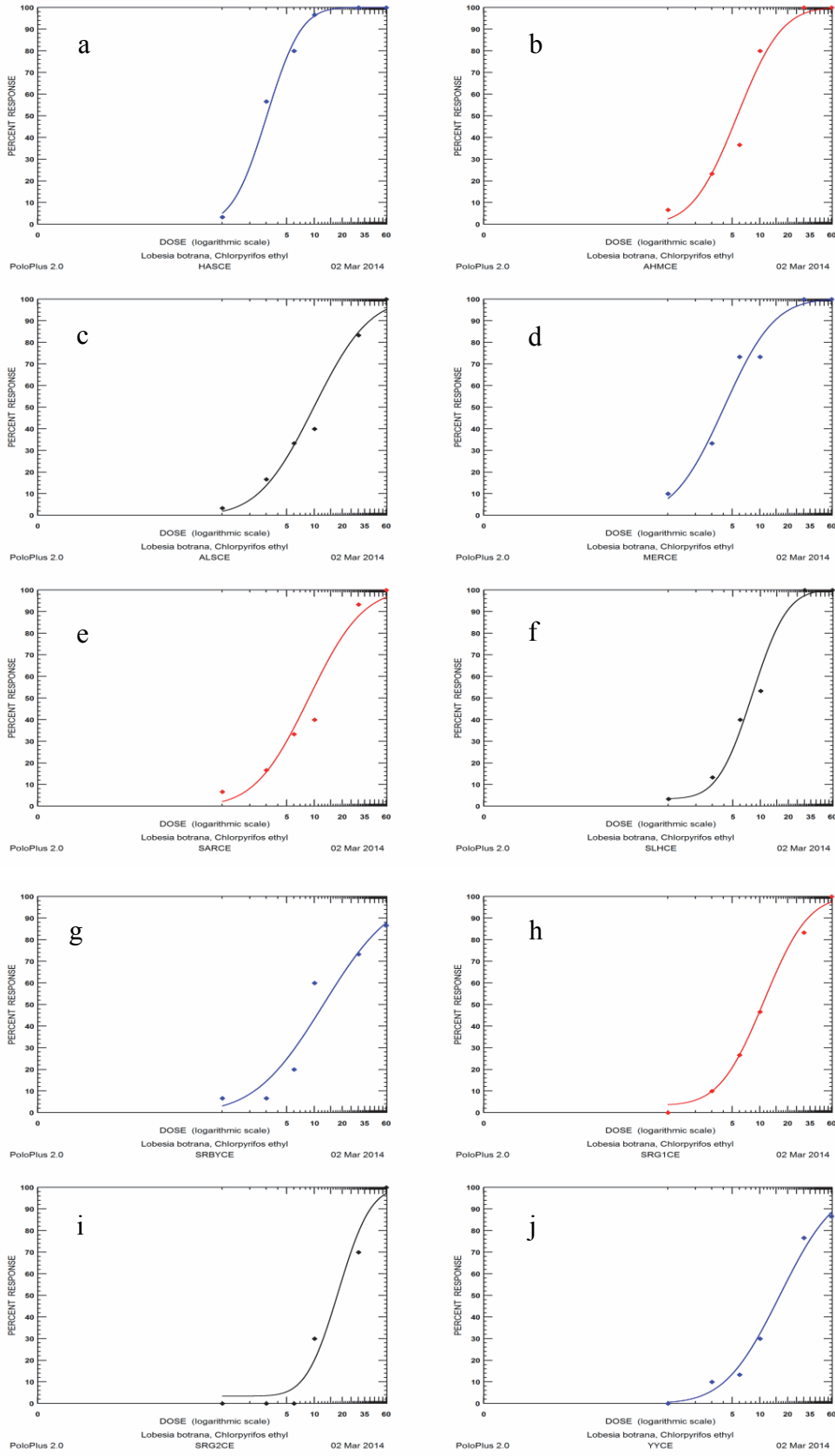


Şekil 7.4 Farklı Salkım güvesi popülasyonunda chlorpyrifos için elde edilen LC değerleri

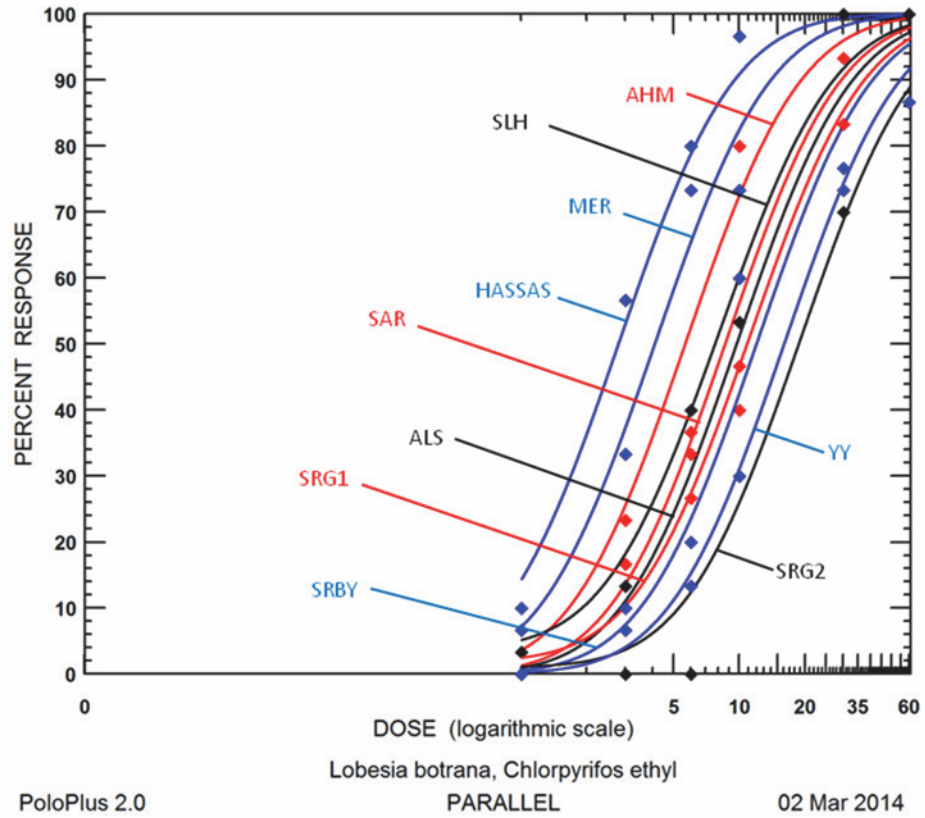
Bu 3 popülasyon dışında diğer popülasyonların Chlorpyrifos için elde edilen LC<sub>50</sub> değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayıları 1.86 ile 3.63 kat arasında; LC<sub>90</sub> değerlerinde ise 2.00 ile 5.49 kat arasında bir hassasiyet azalması tespit edilmiştir (Çizelge 7.8; Şekil 7.4).

Şekil 7.5 ve 7.6'da görüldüğü gibi Chlorpyrifos uygulanmış popülasyonların logaritmik doz - % ölüm ilişkisini gösteren probit eğrileri hassas popülasyondan

farklı olmuştur. Probit eğrilerinin eğimi ve yeri popülasyonların hassasiyetine ve popülasyon yapılarına göre değişmiştir. Bununla beraber popülasyonların % 50'sini öldüren logaritmik dozların birbirinden değişen oranlarda farklı olduğu görülmüştür. Tüm popülasyonların bir arada görüldüğü grafikte ise hassas popülasyon en solda yer almıştır.



Şekil 7.5 Salkım güvesi popülasyonlarının ayrı ayrı chlorpyrifos için saptanan probit eğrileri, a)Hassas, b) Ahmetli, c) Alaşehir, d) Merkez, e) Saruhanlı, f) Salihli, g) Sarıbey, h) Sarıgöl 1, i) Sarıgöl 2, j) Yeşilyurt popülasyonu.



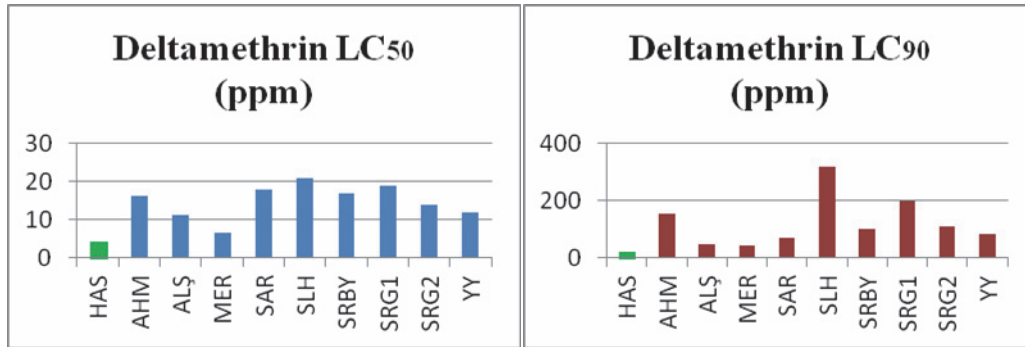
Şekil 7.6 Salkım güvesi popülasyonlarında chlorpyrifos için saptanan probit eğrilerinin birlikte görünümü.

Deltamethrin için, hassas popülasyonda  $LC_{50}$  değeri 4.278 ppm iken en yakın değer MER popülasyonunda 6.593 ppm, en yüksek değer de SLH popülasyonunda 21.071 ppm olarak bulunmuştur (Çizelge 7.9).

Çizelge 7.9 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında deltamethrin ile besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve Ki kare değerleri ile direnç katsayıları

P	n	$LC_{50}$ 0.95 Güven Aralığı	(ppm)	$LC_{90}$ 0.95 Güven Aralığı	(ppm)	H	Eğim±sh	$\chi^2$	Direnç Katsayı 1st $LC_{50}$	Direnç Katsayı 2nd $LC_{90}$
HAS	180	4,278 (3,040-5,992)		23,073 (14,873-43,816)		0,26	1,751±0,215	1,028	1,00	1,00
AHM	180	16,172 (8,843-32,669)		157,527 (66,015-848,806)		1,10	1,296±0,164	4,391	3,78	6,83
ALŞ	180	11,347 (6,561-18,629)		49,993 (28,361-146,086)		1,06	1,99±0,277	4,227	2,65	2,17
MER	180	6,593 (4,567-9,490)		45,768 (28,135-92,736)		0,25	1,523±0,181	1,002	1,54	1,98
SAR	180	18,067 (11,596-28,683)		68,847 (40,591-181,083)		1,03	2,206±0,288	4,134	4,22	2,98
SLH	180	21,071 (13,287-36,697)		321,040 (141,736-1227,683)		0,95	1,083±0,150	3,799	4,93	13,91
SRBY	180	16,979 (8,067-39,668)		103,099 (43,057-887,645)		1,97	1,636±0,208	7,881	3,97	4,47
SRG1	180	19,139 (5,380-155,757)		201,945 (47,100±204155,079)		3,68	1,252±0,166	14,708	4,47	8,75
SRG2	180	14,062 (9,651-21,027)		111,220 (63,647-257,184)		0,39	1,427±0,175	1,566	3,29	4,82
YY	180	12,002 (8,340-17,539)		84,459 (50,475-180,201)		0,41	1,512±0,181	1,653	2,81	3,66

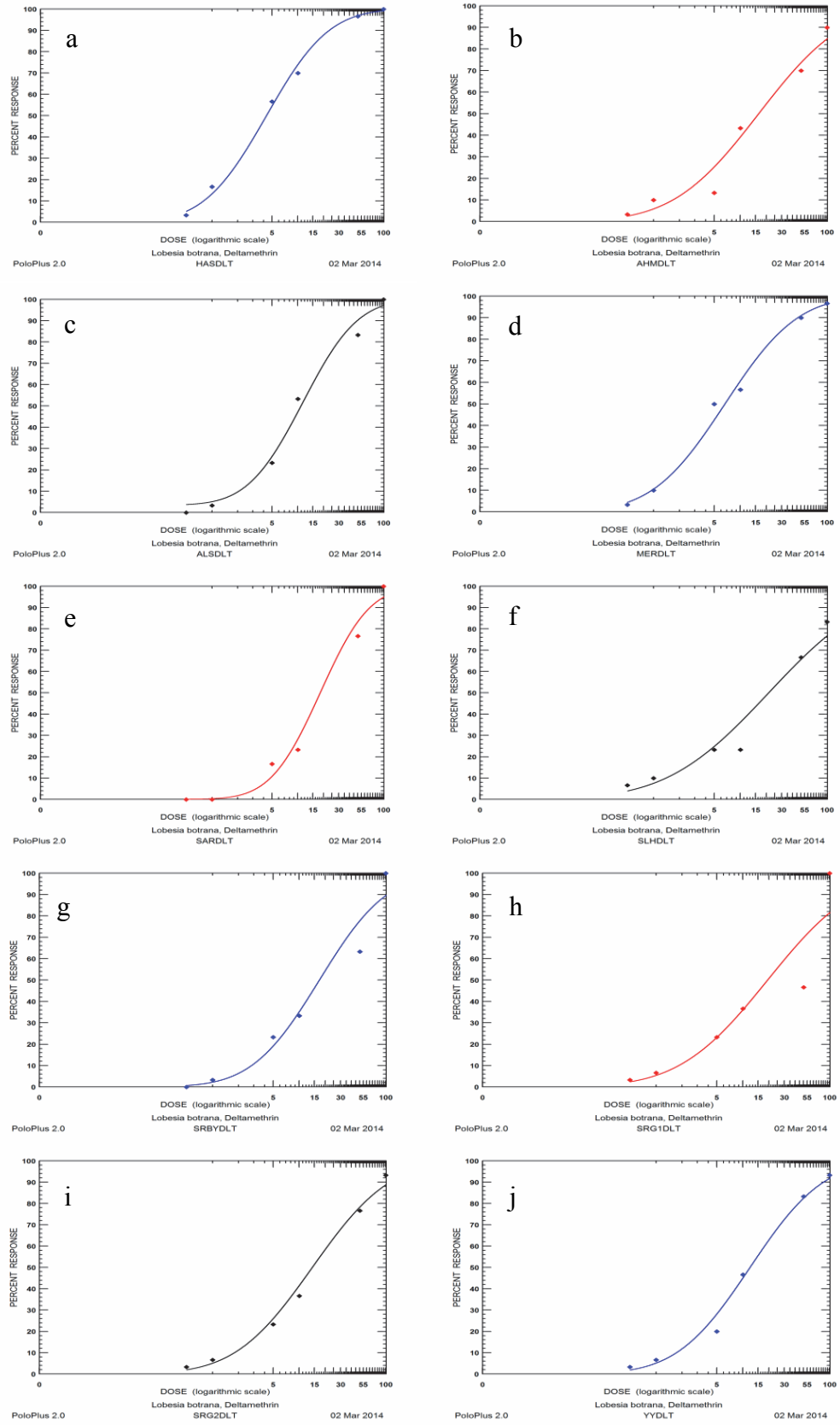
Hassas popülasyon dışındaki popülasyonların deltamethrin için elde edilen  $LC_{50}$  ve  $LC_{90}$  değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayılarına göre duyarlılık kayıpları en yüksek 3 popülasyon;  $LC_{50}$  değerlerine göre sırasıyla SLH 4,93, SAR 4,22, SRG1 4,47 kat,  $LC_{90}$  değerleri için ise SLH 13,91, SRG1 8,75, AHM 6,83 kat olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre deltamethrine karşı en fazla hassasiyet azalması ( $LC_{50}$  değerlerine göre) yaklaşık 5 kat ile SLH popülasyonunda görülmüştür (Çizelge 7.9; Şekil 7.7).



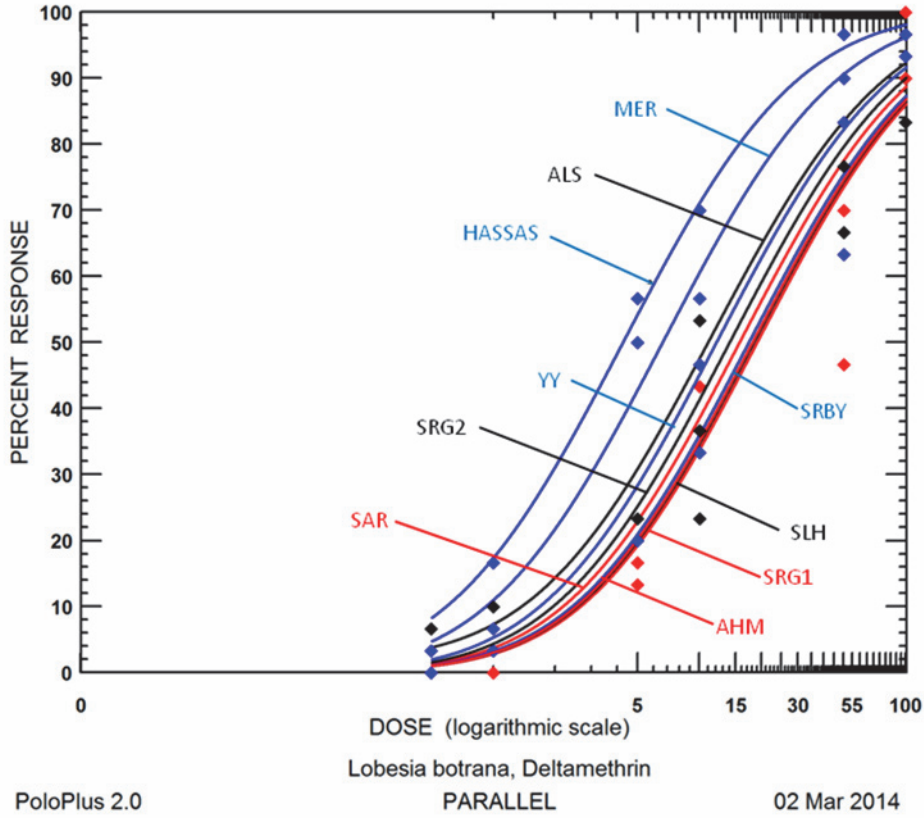
Şekil 7.7 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında Deltamethrin için elde edilen LC değerleri

Bu 3 popülasyon dışında diğer popülasyonların Deltamethrin için elde edilen  $LC_{50}$  değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayıları 1,54 ile 3,97 kat arasında;  $LC_{90}$  değerlerinde ise 1,98 ile 4,82 kat arasında bir hassasiyet azalmasını göstermektedir.

Şekil 7.8 ve 7.9'da görüldüğü gibi deltamethrin uygulanmış popülasyonların logaritmik doz - % ölüm ilişkisini gösteren probit eğrileri hassas popülasyondan farklı olmuştur. Probit eğrilerinin eğimi ve yeri popülasyonların hassasiyeti ve popülasyon yapılarına göre değişmiştir. Bununla beraber popülasyonların % 50'sini öldüren logaritmik dozların birbirinden değişen oranlarda farklı olduğu görülmüştür. Tüm popülasyonların bir arada görüldüğü grafikte ise hassas popülasyon en solda yer almıştır.



Şekil 7.8 Salkım güesi popülasyonlarının ayrı ayrı deltamethrin için saptanan probit eğrileri, a)Hassas, b) Ahmetli, c) Alaşehir, d) Merkez, e) Saruhanlı, f) Salihli, g) Sarıbey, h) Sarıgöl 1, i) Sarıgöl 2, j) Yeşilyurt popülasyonu.



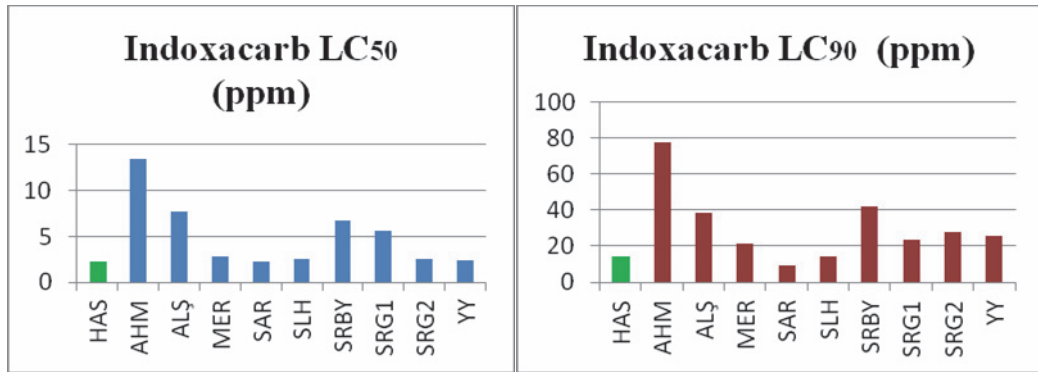
Şekil 7.9 Salkım güvesi popülasyonlarında deltamethrin için saptanan probit eğrilerinin birlikte görünümü.

Indoxacarb için, hassas popülasyonda  $LC_{50}$  değeri 2,269 ppm iken en yakın değer SAR popülasyonunda 2.298 ppm, en yüksek değer de AHM popülasyonunda 13.495 ppm olarak bulunmuştur (Çizelge 7.10).

Çizelge 7.10 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında indoxacarb ile besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve Ki kare değerleri ile direnç katsayıları

P	n	$LC_{50}$ 0.95 Güven Aralığı	(ppm)	$LC_{90}$ 0.95 Güven Aralığı	(ppm)	H	Eğim±sh	$\chi^2$	Direnç Katsay ısı $LC_{50}$	Direnç Katsayısı $LC_{90}$
HAS	180	2,269 (0,999-5,076)		14,077 (6,015-112,571)		2,07	1,617±0,204	8,264	1,00	1,00
AHM	180	13,495 (9,382-21,012)		77,494 (43,071-208,088)		0,64	1,688±0,250	2,579	5,95	5,51
ALŞ	180	7,768 (3,641-21,720)		38,629 (15,705-633,848)		2,25	1,840±0,257	8,982	3,42	2,74
MER	180	2,815 (1,272-6,746)		21,220 (8,346-186,630)		1,94	1,461±0,178	7,779	1,24	1,51
SAR	180	2,298 (1,566-3,221)		9,303 (6,214-17,376)		0,85	2,110±0,318	3,393	1,01	0,66
SLH	180	2,471 (1,291-4,816)		14,065 (6,698-65,306)		1,55	1,697±0,209	6,210	1,09	1,00
SRBY	180	6,767 (3,271-17,551)		42,264 (16,610-507,547)		1,90	1,611±0,217	7,606	2,98	3,00
SRG1	180	5,684 (2,980-11,917)		23,313 (11,305-153,569)		1,86	2,091±0,289	7,426	2,51	1,66
SRG2	180	2,594 (0,783-9,556)		28,040 (8,115-2025,002)		2,87	1,240±0,163	11,494	1,14	1,99
YY	180	2,400 (1,002-5,909)		25,477 (9,144-308,823)		1,81	1,249±0,162	7,241	1,06	1,81

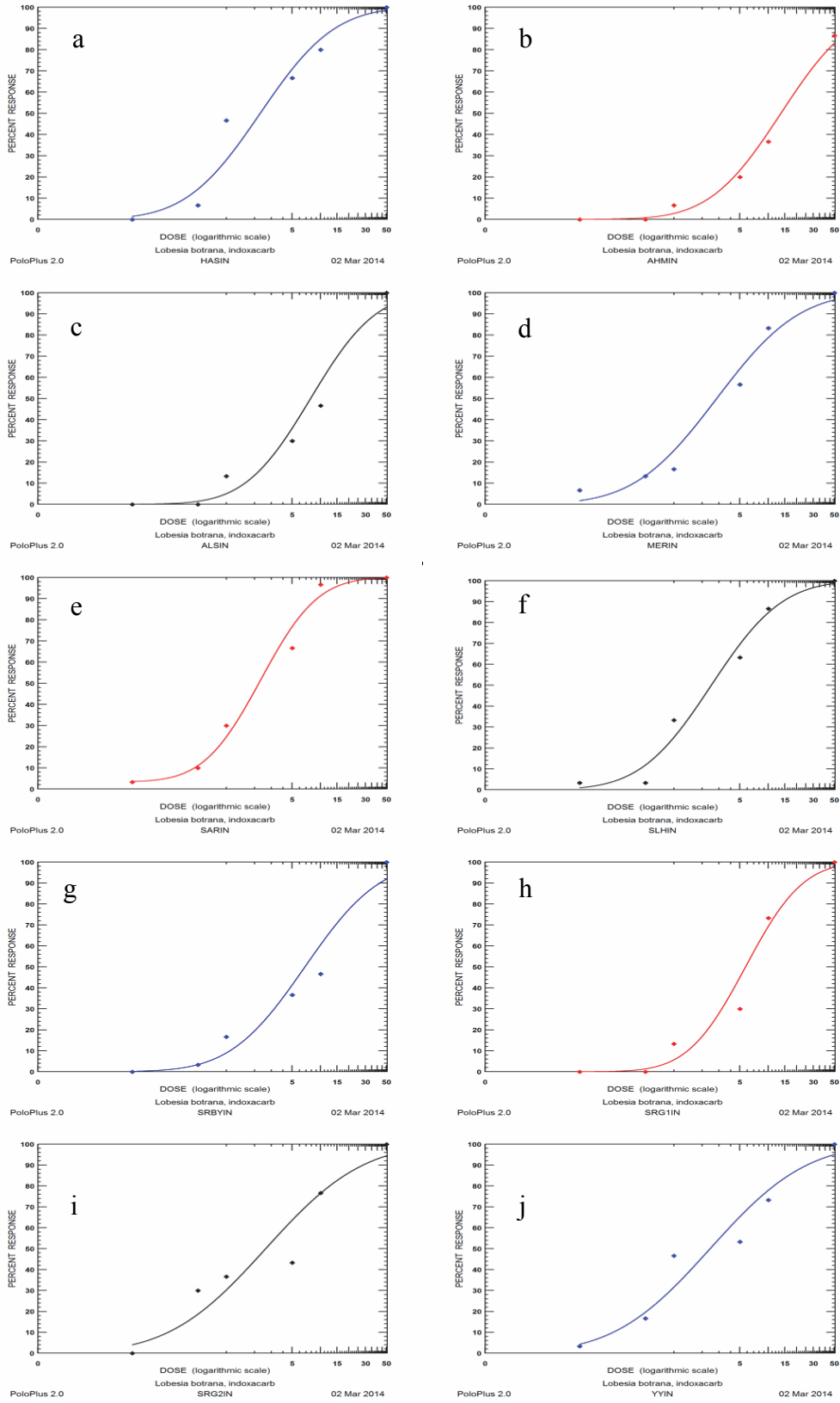
Hassas popülasyon dışındaki popülasyonların Indoxacarb için elde edilen  $LC_{50}$  ve  $LC_{90}$  değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayılarına göre duyarlılık kayıpları en yüksek 3 popülasyon;  $LC_{50}$  değerlerine göre sırasıyla AHM 5,95, ALŞ 3,42, SRBY 2,98 kat;  $LC_{90}$  değerleri için ise AHM 5,51, SRBY 3,00, ALŞ 2,74 kat olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre Indoxacarb karşı en fazla hassasiyet azalması ( $LC_{50}$  değerlerine göre) yaklaşık 6 kat ile AHM popülasyonunda görülmüştür (Çizelge 7.10; Şekil 7.10).



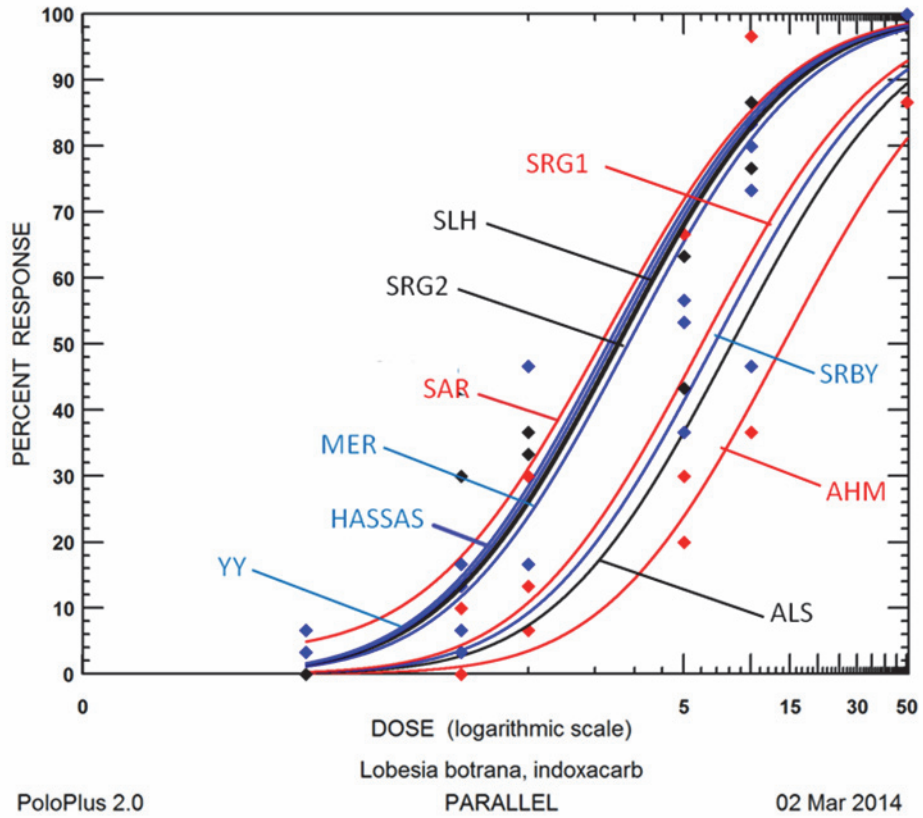
Şekil 7.10 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında indoxacarb için elde edilen LC değerleri.

Bu 3 popülasyon dışında diğer popülasyonların Indoxacarb için elde edilen  $LC_{50}$  değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayıları 1,01 ile 2,51 kat arasında;  $LC_{90}$  değerlerinde ise 0,66 ile 1,99 kat arasında bir hassasiyet azalmasını göstermektedir (Çizelge 7.10; Şekil 7.10).

Şekil 7.11 ve 7.12'de görüldüğü gibi Indoxacarb uygulanmış popülasyonların logaritmik doz - % ölüm ilişkisini gösteren probit eğrileri hassas popülasyondan farklı olmuştur. Probit eğrilerinin eğimi ve yeri popülasyonların hassasiyeti ve popülasyon yapılarına göre değişmiştir. Bununla beraber popülasyonların % 50'sini öldüren logaritmik dozların birbirinden değişen oranlarda farklı olduğu görülmüştür. Tüm popülasyonların bir arada görüldüğü grafikte ise SAR popülasyonu hassas popülasyonla birlikte en solda yer almıştır.



Şekil 7.11 Salkım güvesi popülasyonlarının ayrı ayrı indoxacarb için saptanan probit eğrileri, a) Hassas, b) Ahmetli, c) Alaşehir, d) Merkez, e) Saruhanlı, f) Salihli, g) Sarıbey, h) Sarıgöl 1, i) Sarıgöl 2, j) Yeşilyurt popülasyonu.



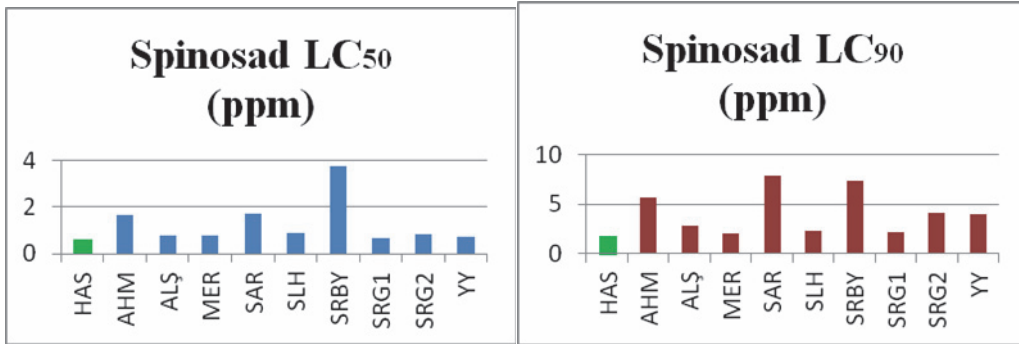
Şekil 7.12 Salkım güvesi popülasyonlarında indoxacarb için saptanan probit eğrilerinin birlikte görünümü.

Çizelge 7.11’de spinosad için, hassas popülasyonda  $LC_{50}$  değeri 0,589 ppm iken en yakın değer SRG1 popülasyonunda 0.665 ppm, en yüksek değer de SRBY popülasyonunda 3.773 ppm olarak bulunmuştur.

Çizelge 7.11 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında spinosad ile besine karıştırma yöntemiyle yapılan biyoassay testlerinden elde edilen LC, heterojenite, eğim ve Ki kare değerleri ile direnç katsayıları

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

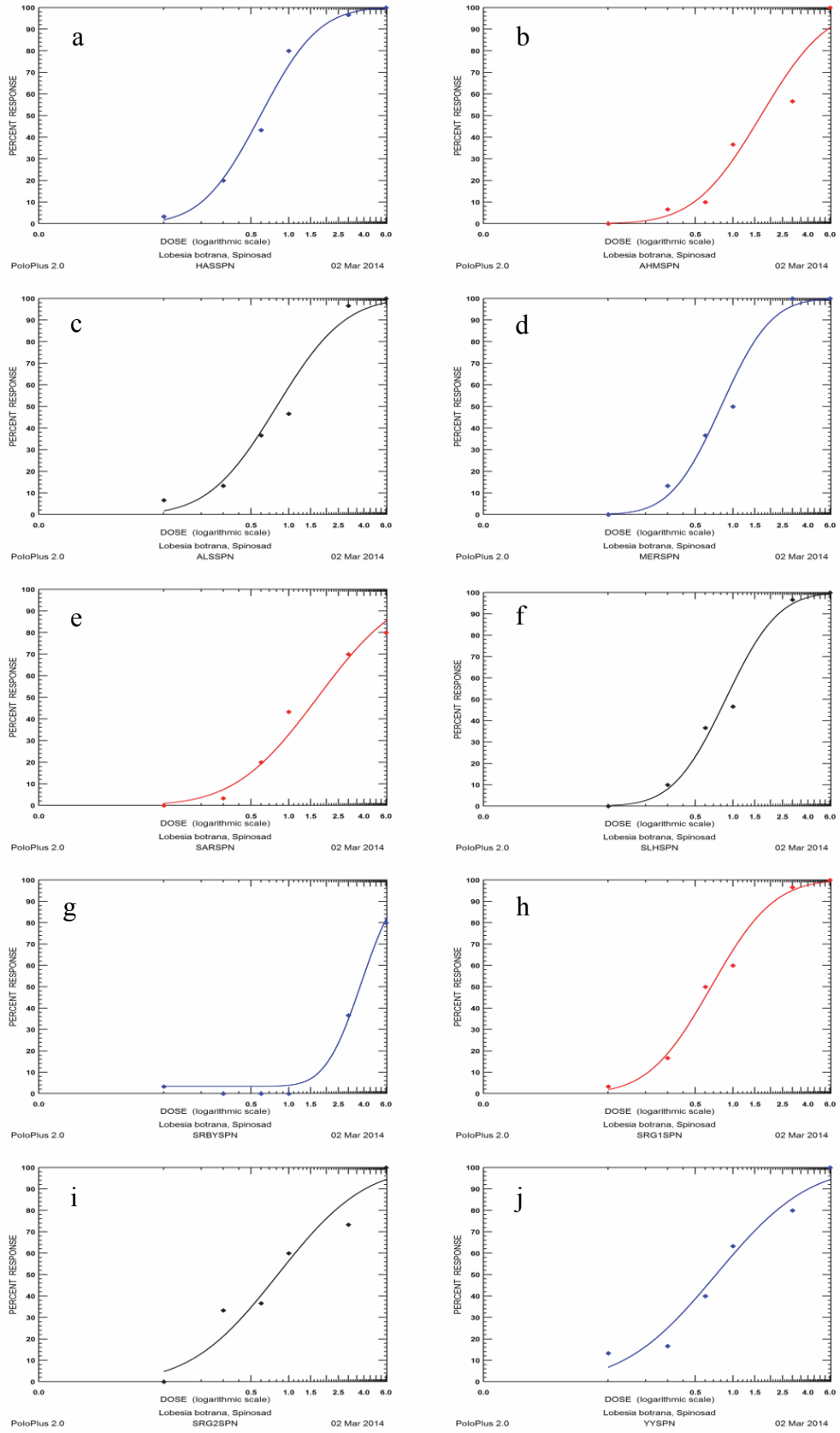
Hassas popülasyon dışındaki popülasyonların spinosad için elde edilen  $LC_{50}$  ve  $LC_{90}$  değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayılarına göre duyarlılık kayıpları en yüksek 3 popülasyon;  $LC_{50}$  değerlerine göre sırasıyla SRBY 6,41, SAR 2,87, AHM 2,83 kat;  $LC_{90}$  değerleri için ise SAR 4,51, SRBY 4,23, AHM 3,29 kat olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuçlara göre Spinosada karşı en fazla hassasiyet azalması ( $LC_{50}$  değerlerine göre) yaklaşık 7 kat ile SRBY popülasyonunda görülmüştür (Çizelge 7.11; Şekil 7.13)



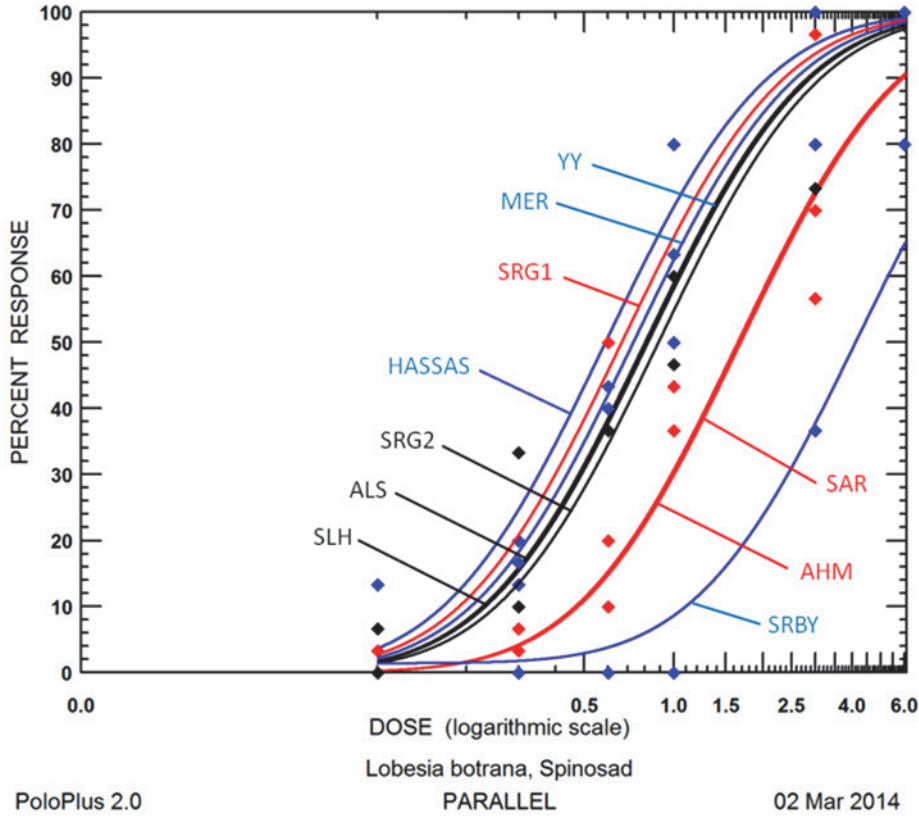
Şekil 7.13 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında spinosad için elde edilen LC değerleri

Bu 3 popülasyon dışında diğer popülasyonların Spinosad için elde edilen  $LC_{50}$  değerlerinin hassas popülasyondaki değerlerle oranlanması sonucu ortaya çıkan direnç katsayıları 1,13 ile 1,47 kat arasında;  $LC_{90}$  değerlerinde ise 1,17 ile 2,34 kat arasında bir hassasiyet azalmasını göstermektedir (Çizelge 7.11; Şekil 7.10).

Şekil 7.14 ve 7.15’de görüldüğü gibi spinosad uygulanmış popülasyonların logaritmik doz - % ölüm ilişkisini gösteren probit eğrileri hassas popülasyondan farklı olmuştur. Probit eğrilerinin eğimi ve yeri popülasyonların hassasiyeti ve popülasyon yapılarına göre değişmiştir. Bununla beraber popülasyonların % 50’sini öldüren logaritmik dozların birbirinden değişen oranlarda farklı olduğu görülmüştür. Tüm popülasyonların bir arada görüldüğü grafikte ise hassas popülasyon en solda yer almıştır.



Şekil 7.14 Salkım güvesi popülasyonlarının ayrı ayrı spinosad için saptanan probit eğrileri, a) Hassas, b) Ahmetli, c) Alaşehir, d) Merkez, e) Saruhanlı, f) Salihli, g) Saribey, h) Sarıgöl 1, i) Sarıgöl 2, j) Yeşilyurt popülasyonu.



Şekil 7.15 Salkım güvesi popülasyonlarında spinosad için saptanan probit eğrilerinin birlikte görünümü.

Manisa ili bağ alanlarından toplanan farklı Salkım güvesi popülasyonlarının farklı ilaçlara karşı direnç durumunun belirlenmesi amacıyla yürütülen bu çalışma sonucunda direnç katsayıları hassas popülasyon ile kıyaslanarak elde edilmiş ve direnç düzeyleri çok yüksek olmamıştır. Bu duruma temel olarak hassas popülasyon olarak kullanılan MER1 popülasyonundan elde edilen değerler sebep olmuştur. Hassas popülasyon olarak yurtdışından ya da başka bir ilimizden elde edilecek bir popülasyon kullanılsaydı direnç katsayıları çok farklı olabilecekti. Nitekim Civolani et al. (2014) İtalya'da bulunan uzun yıllardır üretimi devam eden bir hassas popülasyonda indoxacarb için  $LC_{50}$  değerini 0.177 ppm olarak, yani bu projedeki hassas popülasyonun  $LC_{50}$  değerinden yaklaşık 13 kat daha düşük bulmuştur. Şayet elimizde öyle bir hassas popülasyon olsaydı AHM popülasyonunda indoxacarb için yaklaşık 76 kat, ALS popülasyonu için yaklaşık 44 kat dirençten bahsetmek mümkün olacaktı.

#### 7.4 Biyokimyasal Test Sonuçları

Biyokimyasal testlerin 3 tanesinde olumlu sonuçlar elde edilmiş olmasına rağmen P450 enzim kaynağının tespitinde yapılan birçok teste rağmen değerlendirilebilecek hiçbir bir sonuç elde edilememiştir. Ayrıca GST analizinde DCNB substrat olarak kullanıldığında hiçbir sonuç alınamamıştır. GST analizleri CDNB kullanılarak yapılmıştır.

P450 dışında diğer 3 enzim ölçümlerinde elde edilen sonuçlar ve elde edilen enzim aktivitesi sonuçları hassas popülasyona göre oranlanarak katsayı değerleri de Çizelge 7.12’de verilmiştir. Popülasyonların enzim aktiviteleri değerleri ile hassas popülasyondan elde edilen değerler arasında kaydadeğer bir farklılık görülmemiştir. Hassas popülasyona göre diğer popülasyonların enzim değerlerinin oranlanması ile de elde edilen veriler bu durumu açıklamaktadır (Çizelge 7.12).

Çizelge 7.12 Farklı Salkım güvesi popülasyonlarında AChE, GST ve EST enzim aktiviteleri ile bunların hassas popülasyona göre katsayıları

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

Çizelge 7.12’den de görülmektedir ki en dikkat çekici farklılıklar AChE enzim katsayılarında görülmektedir. SRG2 ve YY popülasyonları hassas popülasyona göre sırasıyla 4,85 ve 3,19 kat daha fazla AChE enzim aktivitesi göstermiştir. Diğer popülasyonlardan elde edilen AChE enzim aktivitesi değerleri ise hassas popülasyona göre 1,73 kat ile 2,44 kat arasında değişen değerler almıştır. En düşük AChE enzim aktivitesi değeri hassas popülasyonda görülmüştür.

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

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

Çizelge 7.8’de biyoassay test sonuçlarında chlorpyrifos-ethyl için elde edilen LC<sub>50</sub> değerlerine bakıldığında ise AChE enzim aktivitesi değerleri ile paralellik gösterdiği görülmektedir. Hassas popülasyon ile oranlandığında yaklaşık 6 kat daha fazla LC<sub>50</sub> değerine sahip olan SRG2 ve YY popülasyonları, Çizelge 7.12’de görüldüğü gibi, AChE enzim aktivitesi değerlerinde de hassas popülasyona göre sırasıyla 4,85 ve 3,19 kat daha fazla enzim aktivitesine sahip olduğu görülmektedir. AChE enzim aktivitesi ile chlorpyrifos-ethyl için elde edilen LC<sub>50</sub> değerlerinin korelasyon analizi sonucunda  $r=0,85$  rakamı elde edilmiştir ki bu rakam da enzim miktarı ile LC<sub>50</sub> değerleri arasında kuvvetli bir pozitif ilişki olduğunu göstermektedir. Diğer yandan EST enzim aktivitesi sonuçlarında da; biyoassay test sonuçlarında chlorpyrifos-ethyl için elde edilen LC<sub>50</sub> değerleri ile paralellik görülmektedir. En yüksek değeri alan iki popülasyon olarak yine karşımıza SRG2 ve YY popülasyonları çıkmaktadır. Hassas popülasyona göre katsayı oranları 1,5 kat civarında olmasına rağmen diğer popülasyonlardan, değerlerine bakıldığında farklılık göstermeleri sonucunda ayrılmaktadırlar (Çizelge 7.12).

Organikfosforlu bir insektisit olan chlorpyrifos-ethylin; özellikle sinir sisteminde asetilkolinesteraz üzerinde etkilerini gösterdiği bilinmektedir. Asetilkolin ise sinir impulslarının sinapslardan geçişini kolaylaştıran bir nörotransmitter maddedir (*Bkz. 4.3. Direnç ile ilgili enzimler*). Organofosfatlar ve karbamatlar ise AchE’in analogu olarak çalışırlar ve AchE’in aktif bölgesine bağlanırlar. Fakat asetilkolin hidroliz olmasına rağmen, insektisitler, enzim-substrat kompleksi olarak sabit kalırlar. Böylece insektisitler, asetilkolinesteraz inhibisyonu ile sinir impulslarının transmiyonunu bloke eder ve asetilkolin reseptörlerinin uyuşmasına neden olurlar ve sonuçta ölüme sebep olurlar. Ancak böcekte artan bir AChE enzim seviyesi ile bu şekilde etki eden insektisitlerin ölümle sonuçlanan etkilerinden kurtulabilme şansı vardır. Ayrıca organofosfatlı insektisitler esteraz inhibitörleri olarak da tanımlanır ve böcekte artan EST enzim aktivitesi de organikfosforlu insektisitlere karşı direnç gelişmesi durumunda

araştırılan diğer önemli enzim grubudur. Elde edilen enzim aktivitesi sonuçlarında ise artan EST ve özellikle AChE enziminin tespiti olası bir direnç gelişimi konusunda anlam kazanmaktadır.

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

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

Ayrıca yapılan diğer 2 çalışmada da İspanya'da Elma iç kurdu popülasyonlarında tespit edilen yüksek AChE seviyesinin organikfosforlu ve karbamatlı insektisitlere karşı böceklerde duyarlılığı azalttığını bildirilmiştir (Reyes et al., 2007;. Reyes and Sauphanor, 2008).

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

GST enzim aktivitesi sonuçlarına bakıldığında ise en düşük değer ALS popülasyonunda görülmüştür. Bunun dışında 4 popülasyonda da hassas popülasyona göre daha düşük değerler görülürken diğer 4 popülasyonun da hemen hemen hassas popülasyon ile aynı değere sahip oldukları görülmektedir (Çizelge 7.12). GST enzim analizleri sonuç olarak herhangi bir katsayı ile dikkat çekmemektedir.

## 8. SONUÇ

Aynı etki mekanizmasına sahip ilaçların art arda kullanılması nedeniyle zararlı organizmalarda direnç gelişimi görülmektedir. Salkım güvesinin Manisa ili bağ alanlarında yaygın kullanılan insektisitlere karşı direnci bilinmediği için bu çalışma planlanmış ve 2011-2012 yılları arasında Manisa ili bağ alanlarından toplanan populasyonlara ait örnekler Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü iklim odalarında kültüre alınmış ve bu populasyonlar ile 2012-2014 yılları arasında verimi yüksek bir üretim modeli geliştirilmiştir.

Salkım güvesi populasyonunda insektisitlere direnç gelişimini tespit etmek amacıyla bilinen bir biyoassay yöntem olmadığı için öncelikle 3 farklı biyoassay yöntemi ayrıntılı biçimde irdelenmiş ve kullanılacak olan insektitlerin formülasyon ve etki yolu ile uyumlu olmak koşuluyla kullanılacak en verimli yöntem ortaya konmuştur. İlaçların, doğrudan larvaya topikal aplikasyonu, besin üzerine püskürtülmesi ve besine karıştırma yöntemleri 4 farklı ilaç ile 3 farklı populasyon üzerinde 3 tekerrürlü olarak denenerek Salkım güvesi için en uygun biyoassay yöntemi olarak ilacın besine karıştırılması yöntemi belirlenmiştir.

Besine karıştırma yöntemi kullanılarak iklim odalarında kültürü geliştirilebilen 10 farklı Salkım güvesi populasyonunda LC değerleri belirlenmiştir. Biyoassay çalışmalar sonucunda hesaplanan LC<sub>50</sub> değerleri hassas populasyon ile kıyaslanmış, chlorpyrifos-ethyl için Sarıgöl-2 populasyonunda yaklaşık 6 kat, deltamethrin için Salihli populasyonunda yaklaşık 5 kat, indoxacarb için Ahmetli populasyonu için yaklaşık 6 kat, spinosad için Sarıbey populasyonunda yaklaşık 6,5 kat direnç tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, insektisitlere direnç gelişiminin önemli göstergelerinden olan AChE, EST, GST enzim aktiviteleri tespit edilerek biyokimyasal testler de gerçekleştirilmiştir. 10 populasyon için, hassas populasyona göre direnç katsayıları belirlenmiştir. Biyokimyasal testler sonucunda GST enzim miktarlarında önemli bir farklılık görülmemiştir. P450 enzim analizlerinde ise seçilen yöntem sonucunda değerlendirilebilecek hiçbir bir sonuç elde edilememiştir. Sarıgöl-2 populasyonunda, AChE enzim aktivitesi hassas

popülasyona göre yaklaşık 5 kat, EST enzim aktivitesi ise yaklaşık 1,5 kat oranla fazla bulunmuştur.

Yapılan çalışmalar sonucunda hassas popülasyona göre elde edilen direnç oranları çok yüksek olmamıştır. Bu kadar yoğun ilaç kullanımı olan bir kültürde bu oranların düşük çıkmasının sebepleri için ise; bağ alanlarında Tarım İl ve ilçe müdürlükleri aracılığıyla yapılan uyarıları öncelikli olarak düşünmek gerekir. Bu uyarılar sonucunda çiftçiler özellikle 2. dölden itibaren ilaçlamalara başlamaktadır. Uyarılar her döl için yumurta çıkışı ve larva dönemi için yapılmaktadır ve her dönem için yumurta/larvaya karşı kullanılacak farklı etkili maddeler önerilmektedir.

Ayrıca direnç yönetimine katkısı olan başka bir sebepte çiftçinin ilaç seçimi ve ürünün hasada yaklaştığında piyasa koşullarına göre daha kıymetli olması ve ihracatta değerlendirilecek ürünlerde kalıntı riski ile alakalıdır. Çiftçiler erken dönemdeki zararlarda genellikle daha ekonomik olan insektisitleri tercih etmektedir, daha sonra ise zararın büyümesine paralel olarak daha pahalı olan ilaçların kullanımı devreye girmekte, sezon sonuna doğru ise kalıntı problemi yaşamak istemeyen çiftçiler bekleme süresi daha kısa olan insektisitlere yönelmektedir. Böylece bir üretim sezonu boyunca çiftçiler bilinçli bir şekilde olamasa da farklı etkili madde gruplarına ait insektisitleri kullanmaktadırlar. Bu duruma ek olarak, yumurta ve larva dönemi için birçok etkili madde kullanım olanağının bulunuyor olması da ilaçlamalarda kullanılan etkili maddelerin farkında olmadan bir direnç yönetim politikası çerçevesinde seçilmesine sebep olmakta ve bilinçsiz de olsa bağ alanlarında direnç yönetimi yapılmasını sağlamaktadır.

Sonuç olarak Manisa ili bağ alanlarında Salkım güvesinin yaygın kullanılan insektisitlere karşı bir direnç gelişimi başladığını söylemek mümkündür.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Alkan, B.**, 1960, Insect resistance to insecticides, Proceeding of the regional symposium, Cairo, UAR., 182-186 p.
- Anonymous**, 1997, İzmir Ticaret Borsası, İktisadi Raporu. Kuvvet Matbaa ve Tic., İzmir, 238 s.
- Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD)**, 2014, Arthropod Pesticide Resistance Database. <http://www.pesticideresistance.org/search/1/> (Erişim tarihi: 12 Ocak 2014)
- Authentic Scientific Research for High School Students**, 2009. Environmental Inquiry, Cornell University and Penn State University, <http://ei.cornell.edu/toxicology/biyoassays/Uses.html> (Erişim tarihi: 12 Ocak 2014)
- Ay, R.**, 2006, Antalya İli Örtüaltı Sebze Üretim Alanlarında Zararlı Olan *Tetranychus urticae* Koch Popülasyonlarının Bazı Akarisitlere Karşı Tepkileri. Tarım Bilimleri Dergisi, 12 (3): 301-306 s.
- Ay, R. ve Gürkan O.M.**, 2005, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)'nin Değişik Popülasyonlarının İki Selektif Akarisite Karşı Duyarlılıkları ve Duyarlılık Mekanizmaları Üzerinde Araştırmalar. Tarım Bilimleri Dergisi, 11 (2): 217-223 s.
- Ay, R. ve Kara F.B.**, 2009, Amitraz'a dirençli *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)'de çoklu direnç, kalıtım, sinerjizm ve detoksifikasyon mekanizmaları. Tarım Bilimleri Dergisi, 15 (2): 148-156 s.
- Ay, R. ve Sökeli, E.**, 2005, Böceklerde Direnç Yönetimi Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9-1 1-4 s.
- Bahşi, Ş.Ü., Dağlı, F., İkten C. ve Göçmen, H.**, 2012, Antalya ve ilçelerinden toplanan *Bemisia tabaci* popülasyonlarının Acetamiprid, Chlorpyrifos ethyl ve Cypermethrine karşı duyarlılık düzeyleri, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 25 (1): 17-22 s.

### **KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Bonafos, R., Vignesb V., Serranob E. and Auger P.**, 2008, Resistance Monitoring to Deltamethrin and Chlorpyrifos-ethyl in 13 Populations of *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari: Phytoseiidae) From Vineyards in the Southwest of France. *Crop Protection*, 27: 855–858 pp.
- Boselli, M. and Scannavini M.**, 2001, Lotta Alla Tignoletta Della Vite in Emilia Romagna. *Informatore Agrario*, 19: 97–100 pp.
- Bouwman, B., Sereda H. and Meinhardt, M.**, 2006, Simultaneous presence of DDT and pyrethroid residues in human breast milk from a malaria endemic area in South Africa. *Environmental Pollution*, 144 (3): 902–917 pp.
- Bovey, P.**, 1966, Super Famille des Tortricidae, 456–893 pp. *Entomologie appliquée à l'agriculture*, A.S. Balachowsky (Ed), Masson et Cie Paris, France, 1392p.
- Bradford M.M.**, 1976, A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254 pp.
- Brown, T.M.**, 1981, Counter measures for insecticide resistance. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 27:198-202 pp.
- Caboni, P. and Cabras, P.**, 2010, Pesticides influence on wine fermentation, *Advances in Food and Nutrition Research*, 59: 43–62 pp.
- Charmillot, P.J., Pasquier D., Salamin C. and Briand F.**, 2006, Efficacité Larvicide et Ovicide sur Les Vers de la Grappe *Lobesia botrana* et *Eupoecilia Ambiguella* de différents Insecticides Appliqués par Trempage des Grappes. *Revue Suisse de Viticulture Arboriculture Horticulture*, 38: 289–295 pp.
- Charmillot, P.J., Pasquier, D. and Verneau, S.**, 2003, Effectiveness of different insecticides incorporated into artificial diets on larvae of the grapevine moth *Lobesia botrana* and the grape berry moth *Eupoecilia ambiguella*. *Integrated Protection and Production in Viticulture (Appendix) IOBC/wprs Bulletin*, Vol. 26 (8-1) 1 - 5 pp.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chen, Z., Newcomb, R., Forbes, E., McKenzie, J. and Batterham, P., 2001,** The Acetylcholinesterase gene and organophosphorus resistance in the australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 31(8):805–816 pp.
- Civolani, S., Boselli, M., Butturini, A., Chicca, M., Fano, E.A., and Cassanelli, S., 2014,** Assessment of Insecticide Resistance of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in Emilia-Romagna Region. *Journal of Economic Entomology*, 107 (3):1245-1249 pp.
- Claudianos, C., Ranson, H., Johnson, R.M., Biswas, S., Schuler, M.A., Berenbaum, M.R., Feyereisen, R. and Oakeshott, J.G., 2006,** A deficit of detoxification enzymes: pesticide sensitivity and environmental response in the honeybee. *Insect Molecular Biology*, 15: 615-636 pp.
- Coscollá Ramón, R., 1998,** Polillas del racimo (*Lobesia botrana* Den. Y Shiff.), 29-42. Los parasitos de la vid, Estrategias de proteccion razonada. Gonzalo B.S., Ramon C.R., Alfonso L.E., Jose J.P.O., Jose L.P.M., Julian T.P. (Eds) Madrid, Spain. 391p.
- Cozzi, G., Pascale, M., Perrone, G., Visconti, A. and Logrieco, A., 2006,** Effect of *Lobesia botrana* Damages on Black Aspergilli's Rot and ochratoxin A Content in Grapes, *International Journal of Food Microbiology*, 111: 88–92 pp.
- Çağlar, Y., 2009,** Hatay ili bağ alanlarındaki zararlılar, yayılışları parazitoit ve predatörler ile Bağ Salkım Güvesi, *Lobesia botrana* (Denis and Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae)'nın popülasyon gelişmesinin belirlenmesi, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, 126 s.
- Çakır, Ş. ve Yamanel, Ş., 2005,** Böceklerde İnsektisitlere Direnç. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi, Cilt 6, Sayı 1, 21-29 s.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dağlı, F. and Tunç, İ.**, 2007, Insecticide Resistance in *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) Collected From Horticulture and Cotton in Turkey. *Australian Journal of Entomology*, 46 (4): 320–324 pp.
- Delen, N., Koplay, C., Yıldız, M., Güngör, N., Kınay, P., Yıldız, F. and Çoşkuntuna, A.**, 2004, Sensitivity in *Botrytis cinerea* Isolates to Some Fungicides with Specific Mode of Action. XIII. Botrytis Symposium, 25-31 October 2004, Antalya. Abstracts, 131.
- Dennehy, T.J., Grannett, J. and Leigh, T.F.**, 1983, Relevance of slide-dip and residual bioassay comparisons to detection of resistance in spider mites. *Journal of Economic Entomology*, 76: 1125-1230 pp.
- Devonshire, A.L., Moores, G.D. and French-Constant, R.H.**, 1986, Detection of insecticide resistance by immunological estimation of carboxylesterase activity in *Myzus persicae* (Sulzer) and cross reaction of antiserum with *Phorodon numuli* (Schrank) (Hemiptera: Aphidae) . *Bulletin of Entomological Research*, 76: 97-107 pp.
- Dunley, J.E. and Welter, S.C.**, 2000, Correlated Insecticide Cross-Resistance in Azinphosmethyl Resistant Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae), *Journal of Economic Entomology*, 93 (3): 955-962 pp.
- Durmuşoğlu, E.**, 2004, İsektisitler. Basılmamış Ders Notları.
- Düzgüneş, Z.**, 1953, Mücadele İlaçlarına Karşı Mukavemetin Meydana Gelişi. *Bitki Koruma Bülteni*, 5: 39-47 s,
- Erdoğan, C. ve Gürkan, M.O.**, 1997, Farklı *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) Popülasyonlarının Bazı İsektisitlere Duyarlılıklarının Araştırılması, **Türkiye Entomoloji Dergisi**, 21 (4): 299-309 s.
- Erdoğan, C., Moores, G.D., Gürkan, M.O., Gorman, K.J. and Denholm, I.**, 2008, Insecticide Resistance and Biotype Status of Populations of the Tobacco Whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Turkey, **Crop Protection**, 27 (3-5): 600-605 pp.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- FAO**, 2013, FAO Specifications and Evaluations. For Agricultural Pesticides, Deltamethrin, [http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/Download/2002\\_eva/DELTAMETHRINevaluationjja.pdf](http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/Download/2002_eva/DELTAMETHRINevaluationjja.pdf) (Erişim tarihi: 18 Nisan 2013).
- FAOSTAT**, 2013, Grape production of the world. <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E> . (Erişim tarihi: 18 Nisan 2013).
- Fauna Europea**, 2013, Lobesia (Lobesia) botrana (Denis & Schiffermüller 1775) taxonomy. [http://www.faunaeur.org/full\\_results.php?id=438660](http://www.faunaeur.org/full_results.php?id=438660) (Erişim tarihi: 21 Nisan 2013).
- Fermaud, M.**, 1998, Cultivar Susceptibility of Grape Berry Clusters to Larvae of Lobesia botrana (Lepidoptera: Tortricidae), Journal of Economic Entomology, 91(4):974-980 pp.
- Fermaud, M., Pracros, P., Roehrich, R. and Tockel, J.**, 1996, Evaluation of an Artificial Infestation Technique of Grape with Lobesia botrana (Lepidoptera: Tortricidae), Journal of Economic Entomology, 89 (6):1658-1662 pp.
- Ffrench-Constant, R.H. and Roush, R.T.**, 1990, Resistance detection and documentation: the relative roles of pesticidal and biochemical assays, 4-38 pp. Pesticide Resistance in Arthropods, Roush R.T., et al. (Eds.), Chapman and Hall, 303p, New York.
- Finney, D.J.**, 1979, Bioassay and the Practice of Statistical Inference. **International Statistical Institute (ISI)**, Vol. 47, No. 1, 1-12 pp.
- Gabel, B. and Roehrich, R.**, 1995, Sensitivity of Grapevine Phenological Stages to Larvae of European Grapevine Moth, Lobesia botrana Den. ve Schiff. (Lep., Tortricidae), Journal of Apply Entomology, 119: 127–130 pp,
- Genç, H., Skavdis, G., Vontas, J.**, 2009, Çanakkale ve Çevresinden Toplanan Doğal Zeytin Sineği [*Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae)] Popülasyonlarının Organikfosforlu İnektisitlere Karşı Hassasiyetini Azaltan Asetilkolinesteraz'daki Nokta Mutasyonlarının Belirlenmesi, Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, 15-18 Temmuz Van-Türkiye.

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Global Biodiversity Information Facility**, 2013, “Species: Lobesia botrana Denis and Schiffermüller, 1775” <http://data.gbif.org/species/438660/resource/13560> (Erişim tarihi: 10 Eylül 2013)
- Gunning, R.V.**, 1993, Comparison of the two bio-assay techniques for larvae of *Helicoverpa* sp. (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 86:234-238 pp.
- Han, Z.J., Moores G.D., Devonshire A.L. and Denholm I.**, 1998, Association Between Biochemical Markers And Insecticide Resistance in the Cotton Aphid, *Aphis gossypii*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 62: 164–171 pp.
- Hansen, L. and Hodgson, G.E.**, 1971, Biochemical Characteristics of Insect Microsomes N-and O-demethylation, *Biochemical Pharmacology*, 20: 1569–1573 pp.
- Hoskins, W.M. and Craig, R.**, 1962, Uses of Biyoassay in Entomology. *Annual Review of Entomology*. Vol. 7: 437-464 pp.
- INRA**, 2014, Vine moth, Grape moth. <http://www7.inra.fr/hyppz/RAVAGEUR/6llobot.htm>. (Erişim tarihi : 12 Şubat. 2014)
- Ioriatti, C., Lucchi, A., and Bagnoli, B.**, 2008, Grape Areawide Pest Management in Italy, 208–225. *Areawide Pest Management: Theory and Implementation*, Koul, O., Cuperus, G. and Elliot, N. (Eds), CABI, Wallingford, UK, 590p.
- IRAC**, 2014, Resistance Definition, Background, Development. <http://www.iraconline.org/about/resistance/> (Erişim tarihi: 14 Şubat, 2014)
- Irigaray, F.J., Grijalba, F.M., Marco, V. and Pérez-Moreno, I.**, 2010, Acute and reproductive effects of Align®, an insecticide containing azadirachtin, on the grape berry moth, *Lobesia botrana*. *Journal of Insect Science*: Vol. 10: Article 33
- Isman, Murray, B.**, 2011, Insect Biyoassay Workshop ADAPPT annual meeting. Lusaka, Zambia 25 January 2011.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Israel, B.**, 2012, "Common Insecticide May Harm Boys' Brains More Than Girls". Scientific American. August 21, 2012. <http://www.scientificamerican.com/article/common-insecticide-may-harm-boys-brains-more-than-girls/> (Erişim tarihi: 18 Şubat 2014)
- Jeffrey, G.S.**, 1999, Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 29, 757p.
- Karaağaç, S.U.**, 2012, Insecticide Resistance, 469-478. *Insecticides - Advances in Integrated Pest Management*, F., Perveen, (Ed), InTech, Jan. 2012. 708 pages. ISBN: 978-953-307-780-2, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/insecticides-advances-in-integrated-pest-management/insecticideresistance>
- Kasap, H.; Luleyap, U., Alptekin, D. and Kasap, M.**, 1999, Use of Insecticides in Çukurova and Development of Resistance in Mosquitoes, *Acta Parasitologica Turcica*, 23 (3): 267-272 s.
- Kaya, Ü.**, 1998, Ege Bölgesinde Salkım Güvesi (*Lobesia botrana* Schiff.-Den.) Savaşında Kullanılan Farklı İki İlaçlama Aletinin Etkinlik ve Kalıntı Yönünden Karşılaştırılması Üzerine Araştırmalar. (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova-İzmir.
- Kence M.**, 1988, The Ecological Genetics Of Malathion Resistance In House Fly *Musca Domestica*. PhD Thesis. METU, Ankara.
- Kence, A. and Kence, M.**, 1985, Malathion Resistance in Housefly Populations Distributed in Turkey. *Doga Bilim Dergisi*, A2 (Biyoloji) 9 (3): 565-573 pp.
- Kirst, H.A., Michel, K.H., Martin, J.W., Creemer, L.C., Chio, E.H., Yao, R.C., Nakatsukasa, W.M., Boeck, L.D., Ocolowitz, J.L., Paschal, J.W., Deeter, J.B., Jones, N.D. and Thompsona, G.D.**, 1991, A83543A-D, Unique Fermentation-Derived Tetracyclic Macrolides. *Tetrahedron Letters*, 32(37), 4839-4842 pp., <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040403900934749> (Erişim tarihi: 03 Mart 2013)

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- KKGM**, 2010, Bağ Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, 56 s.
- Kumar, A., Share, B. and Pandey, R.**, 2002, Toxicological assessment of pyrethroid insecticides with special reference to cypermethrin and cyhalothrin in freshwater fishes, International Journal of Biological ve Medical Research, 320 pp.
- Kumral, N.A., Susurluk H., Gencer N.S. and Gürkan M.O.**, 2008, Resistance to Chlorpyrifos and Lambda-cyhalothrin Along with Detoxifying Enzyme Activities in Field-collected Populations of European Red Mites, *Phytoparasitica*, 37 (1): 7-15 pp.
- Lee, C. and Robinson, W.**, 2005, Metaflumizone; Proceedings of the fifth international conference on urban pests, A New İnsecticide for Urban Insect Control rom Basf Clark, 5 s.
- Lee, S.H., Kang, J.S., Min, J.S., Yoon, K.S., Strycharz, J.P., Johnson, R., Mittapalli, O., Margam, V.M., Sun, W., Li, H.M., Xie, J., Wu, J., Kirkness, E.F., Berenbaum, M.R., Pittendrigh, B.R., et al.**, 2010, Decreased detoxification genes and genome size make the human body louse an efficient model to study xenobiotic metabolism. *Insect Molecular Biology*, 19, 599-615 pp.
- Leibee, G.L., and Savage, K.E.**, 1992, Insecticide resistance in diamondback moth in Florida, 427-435. Management of diamondback moth and other curicifer pests. N. S. Talekar (Ed.), Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan. 580p.
- LeOra Software**, 1987,. POLO-PC Probit and logic analysis. LeOra, Berkeley, CA.
- Li, X., Schuler, M.A. and Berenbaum, M.R.**, 2007, Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology*, 52, 231-253 pp.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Low, W.Y., Ng, H.L., Morton, C.J., Parker, M.W., Batterham, P., Robin, C.,** 2007, Molecular evolution of glutathione s-transferases in the genus *Drosophila*. *Genetics*, 177: 1363-1375 pp.
- Luque, T., O'Reilly, D.R.,** 2002, Functional and phylogenetic analyses of a putative *Drosophila melanogaster* UDP-glycosyltransferase gene. *Insect Biochemical Molecular Biology*, 32:1597-1604 pp.
- Marchesini, E., and Dalla Montà, L.,** 2004, Nel Veneto Quattro Generazioni di Tignoletta Della Vite. *L'Informatore Agrario*, 60 (4): 75-78 pp.
- Mardzhanyan, G.M., Manukyan, Z.S. and Ust Yan, A.K.,** 1974, Communication to FAO
- Mota-Sanchez, D., Wise J.C, Poppen R.V., Gut L.J. and 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 pp.
- Nagarkatti, S., Tobin, P.C., Muza A.J. and Saunders M.C.,** 2002, Carbaryl Resistance in Populations of Grape Berry Moth (Lepidoptera: Tortricidae) in New York and Pennsylvania. *Journal of Economic Entomology*, 95 (5): 1027-1032 pp.
- Nebert, D.W., Adesnik, M., Coon, M.J., Estabrook, R.W., Gonzalez, F.J., Guengerich, F.P., Gunsalus, I.C., Johnson, E.F., Kemper, B., Levin, W., et al.,** 1987, The P450 gene superfamily: recommended nomenclature. *DNA*. Feb;6 (1):1-11.
- Nene, V., Wortman, J.R., Lawson, D., Haas, B., Kodira, C., Tu, Z.J., Loftus, B., Xi, Z., Megy, K., Grabherr, M., Ren, Q., Zdobnov, E.M., Lobo, N.F., Campbell, K.S., Brown, S.E., et al.,** 2007, Genome sequence of *Aedes aegypti*, a major arbovirus vector. *Science*, 316, 1718-1723.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Newcomb, R.D., Campbell, P.M., Ollis, D.L., Cheah, E., Russell, R.J., Oakeshott, J.G.A.**, 1997, Single amino acid substitution converts A carboxylesterase to an organophosphorus hydrolase and confers insecticide resistance on a blowfly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 7464.
- Oakeshott, J.G., Van Papenrecht, E.A., Boyce, T.M., Healy, M.J., Russell, R.J.**, 1993, Evolutionary genetics of *Drosophila* esterases. *Genetica*, 90, 239.
- Oppenoorth, F.J.**, 1979, Glutathione-S-transferase and hydrolytic activity in a tetrachlorvinphos-resistant strain of house fly and their influence on resistance, *Pesticide Biochemical Physiology*, 11: 176–178 pp.
- Oppert, B.**, 2010, Rapid Bioassay to Screen Potential Biopesticides in *Tenebrio molitor* Larvae. *Biopesticides International*, 6 (1): 67–73 pp.
- Öden, T., Temizer, A., Ersoy, G., ve Kılıç, B.**, 1975. Fındık Kurdu (*Balaninus nuceum* L.)'nin Carbaryl ve Methiocarb'a karşı Direnci Üzerinde Çalışmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 15 (1): 38-42 pp.
- Öncüler, C. ve Durmuşoğlu, E.**, 2008, Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, Aydın, No:28, 472 s.
- Perez, C.J., Tang, J.D. and Shelton, A.M.**, 1997, Comparison of Leaf-Dip and Diet Bioassays for Monitoring *Bacillus thuringiensis* Resistance in Field Populations of Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae), *Insecticide Resistance And Resistance Management. Journal of Economic Entomology*, 90(I): 94-101 pp.
- Qian, G.C., Song, J., Yin, Q., Han Z.**, 2008. Biochemical mechanisms conferring cross resistance between tebufenozide and abamectin in *Plutella xylostella*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 91 (2008) 175–179 pp.
- Ranson, H., Claudianos, C., Ortelli, F., Abgrall, C., Hemingway, J., Sharakhova, M.V., Unger, M.F., Collins, F.H., Feyereisen, R.**, 2002, Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science*, 298, 179-181 pp.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rapagnani, M. R., Cafferelli, V., Barlettoni, M., Mineli, F.,** 1990, Descrizione di un allevamento, in laboratorio, della tignolotta dell'ura *Lobesia botrana* Den.-Schiff. (Lepidoptera: Tortricidae) su un nuovo alimento semi-sintetico, Bolletino dell'Istituto di Entomologia Università di Bologna, 44: 57-64. pp.
- RASSF,** 2010., Rapid Alert System for Food and Feed portal- Notifications list <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-inform/> (Erişim tarihi 14 Ağustos 2010).
- Razowski, J.,** 2001, Die Tortriciden Mitteleuropas, F. Slamka, Bratislava. 319 pp.
- Reisch, B.I., Owens, C.L., Cousins, P.S.,** 2012, Grape. Fruit Breeding Handbook of Plant Breeding, Volume 8, 225-262 pp.
- Reyes, M., Frank, P., Charmillot, J.P., Ioriatti, C., Olivares, J., et al.,** 2007, Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European populations of the codling moth, *Cydia pomonella*. Pest Management Science, 63: 890–902 pp.
- Reyes, M. and Sauphanor, B.,** 2008, Resistance monitoring in codling moth: a need for standardization. Pest Management Science, 64: 945–953 pp.
- Rice, R., Grafton, B., Gut, L., Brunner, J., McDonough, L., Barnett, W., Zalom, F., Knodel, J., Olsen J. and Fisher, G.,** 2011, The IPM Partner Insect Monitoring Guidelines Book, A Practical Guide To More Effective Insect Pest Monitoring. Trece Incorporated, Adair, OK USA, 121p.
- Robertson, J.L., Savin N.E., Preisler H.K., Russell R.M.,** 2007, Bioassays With Arthropods, 2nd Ed.,CRC Press, 224p.
- Rodríguez Garcia, M.; Marques, T.; Bosch Serra, A.D., Avilla Hernandez, J.T.,** 2011, Assessment of insecticide resistance in eggs and neonate larvae of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae), Pesticide Biochemistry and Physiology, 100 (2): 151-159 pp.
- Rodríguez, M.A., Bosch D. and Avilla J.,** 2011, Resistance of Spanish codling moth (*Cydia pomonella*) populations to insecticides and activity of detoxifying enzymatic systems. Entomologia Experimentalis et Applicata, 138 (3): 184–192 pp.
- Roush, R.T. and Tabashnik, B.E.,** 1990, Pesticide resistance in Arthropods. Chapman and Hall, 303p, New York and London.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Saenz-De-Cabezón, F.J., Pérez-Moreno, I., Zalom, F.G., and Marco, V., 2006,** Effects of Lufenuron on *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) Egg, Larval, and Adult Stages. Horticultural Entomology. Journal of Economic Entomology, 99(2): 427-431pp.
- Shapiro, L., 2010,** *Lobesia botrana* Denis and Schiffermüller 1775, <http://eolspecies.lifedesks.org/pages/22059> (Erişim tarihi: 03 Mart 2013)
- Soleno, J., Montagna, C., Anguiano, L., Chicho'n, L., Fernandez, D., and Pechen-D'Angelo, A., 2003,** Toxicidad de esfenvalerato y metil azinfos en poblaciones de larvas post-diapausantes de *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) del alto valle de Río Negro y Neuquén. Resúmenes XXV Congreso Nacional de Entomología, (November, 26–28), Chile, 60p.
- Soleno, J., Anguiano, L., Pechen-D'Angelo, A., and Montagna, C., 2004.** Tolerancia a metil azinfos en una población de larvas postdiapausantes de *Cydia pomonella* en el alto valle de Río Negro y Neuquén. Resúmenes XXVI Congreso Nacional de Entomología, Chile, (December, 1–3), p. 8
- Soleno, J., Anguiano, L., Pechen de D'Angelo, A., Chicho'n, L., Fernandez, D., and Montagna, C., 2008,** Toxicological and biochemical response to azinphos-methyl in *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) among orchards from the Argentinian Patagonia. Pest Management Science, 64: 964–970 pp.
- Sökeli, E., Ay, R., and 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 Pesticides, Tarım Bilimleri Dergisi, 13 (4): 326-330 pp.
- Stavrínides, M.C., Van Nieuwenhuysse, P., Van Leeuwen, T., and Mills, N.J., 2010,** Development of Acaricide Resistance in Pacific Spider Mite (*Tetranychus pacificus*) from California Vineyards. Experimental and Applied Acarology, 50 (3): 243–254 pp.
- Stockel, J., 2000,** Les ravageurs de la vigne, Féret, Bordeaux.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Strode, C., Wondji, C.S., David, J.P., Hawkes, N.J., Lumjuan, N., Nelson, D.R., Drane, D.R., Karunaratne, S.H., Hemingway, J., Black, W.C.T., Ranson, H.**, 2008, Genomic analysis of detoxification genes in the mosquito *Aedes aegypti*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 38, 113-123 pp.
- Stumpf, N., Zebitz, C., Kraus W., Moores G.D. and Nauen R.**, 2001, Resistance to Organophosphates and Biochemical Genotyping of Acetylcholinesterases in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 69: 131-142 pp.
- Sukhoruchenko, G.I. and Dolzhenko, V.I.**, 2008, Problems of resistance development in arthropod pests of agricultural crops in Russia. *EPPO Bulletin*, 38 (1): 119-126 pp.
- Şişli, M.N., Boşgelmez, A., Koçak, O. and Porsuk, H.**, 1983, The Effect of Malathion, Fenitrothion and Propoxur on the House Fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) populations. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 17(1): 49-62 pp.
- TAGEM**, 2011, T.C. Bağ Entegre Mücadele Teknik Talimatı. Tarım Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı. Ankara.
- Thiery, D.**, 2005, *Vers de la Grappe. Les Connaître Pour s'en Protéger*, Vigne et Vin Publications Internationales, Bordeaux.
- Thompson, G.D., Hutchins, S.H. and Sparks, T.C.**, 2010, Development of Spinosad and Attributes of A New Class of Insect Control Products, *IPM World Textbook* E.B. Radcliffe and W.D. Hutchison (Eds), Radcliffe's University of Minnesota.
- Tijet, N., Helvig, C., Feyereisen, R.**, 2001, The cytochrome P450 gene superfamily in *Drosophila melanogaster*: annotation, introneexon organization and phylogeny. *Gene* 262, 189-198.
- TUİK**, 2013, Meyveler, İçecek ve Baharat Bitkilerin Üretim Miktarları (seçilmiş ürünlerde). <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist> (Erişim tarihi :15 Mayıs. 2013)

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- UC-IPM**, 2011, European Grapevine Moth (*Lobesia botrana*) Provisional Guidelines. University of California Agriculture ve Natural Resources, UC-IPM Online, Statewide Integrated Pest Management Program <http://www.ipm.ucdavis.edu/EXOTIC/eurograpevinemoth.html> (Erişim tarihi: 15 Şubat 2014)
- United States Environmental Protection Agency (EPA)**, 2000, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances (7505C). Pesticide Fact Sheet. Name of Chemical: Indoxacarb. Reason for Issuance: Conditional Registration. Date Issued: October 30, 2000.
- United States Environmental Protection Agency (EPA)**, 2006. "Interim Reregistration Eligibility Decision for Chlorpyrifos" (PDF). [http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/chlorpyrifos\\_ired.pdf](http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/chlorpyrifos_ired.pdf) (Erişim tarihi: 15 Şubat 2014)
- Ünal, G. ve Gürkan, M.O.**, 2001, İnsektisitler Kimyasal Yapıları, Toksikolojileri ve Ekotoksikolojileri , 1. Baskı, Ethemoğlu Ofset Matbaacılık, Ankara, 159 s.
- Varela, L.G.**, 2010, European Grapevine Moth *Lobesia botrana*. University of California Cooperative Extension ve Statewide IPM Program <http://www.cdfa.ca.gov/plant/egvm/docs/Varela2010-UCCE-EGVM-factsheet.pdf> (Erişim tarihi : 12 Mayıs. 2012)
- Varela, L.G., Smith, R.J., Cooper, M.L., Hoenisch, R.W.**, 2010, Monitoring, Control, Grape Damage European grapevine moth, *Lobesia botrana*, in Napa Valley vineyards. Practical Winery ve Vineyard, March/April, 1-5 pp.
- Vartholomaïou, A.N., Navrozdis E.L., Payne C.C. and Salpiggidis G.A.**, 2008, Agronomic Techniques to Control *Lobesia botrana* *Phytoparasitica* 36 (3): 264-271,
- Veliöglu, S.A., Moores, G.D., Devonshire, A.L. ve Toros, S.**, 2008a, İçel'den Toplanan *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae) Popülasyonlarında İnsektisitlere Direnç Mekanizmalarının Biyokimyasal Yöntemlerle Belirlenmesi, Bitki Koruma Bülteni, 48 (3): 15-31 s.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Veliöğlu, S.A., Erdoğan, C., Gürkan, M.O. ve Moores, G.D.**, 2008b, "Pamuklarda Zarar Yapan *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) Popülasyonlarının Biyokimyasal Yöntemlerle Direnç Mekanizmalarının Belirlenmesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 14 (2): 116-123 s.
- Venette, R.C., Davis, E.E., DaCosta, M., Heisler, H. and Larson, M.**, 2003, Mini Risk Assessment Grape Berry Moth, *Lobesia botrana* (Denis ve Schiffermuller) [Lepidoptera: Tortricidae], Department of Entomology, University of Minnesota. 29 pp.
- Voudouris, C.Ch., Sauphanor, B., Franck, P., Reyes, M., Mamuris, Z., Tsitsipis, J.A., Vontas, J., Margaritopoulos, J.T.**, 2011, Insecticide resistance status of the codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) from Greece. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 01/2011; 100:229-238 pp.
- Whalon, M.E., Mota-Sanchez, D. and Hollingworth, R.M.**, 2012, Global Arthropod Pesticide Resistance Reporting. Department of Entomology Michigan State University. [http://www.ipmcenters.org/ipmsymposium12/20-1\\_Whalon.pdf](http://www.ipmcenters.org/ipmsymposium12/20-1_Whalon.pdf) (Erişim tarihi: 21 Ekim 2013)
- Wikipedia**, 2013. Grape. <http://en.wikipedia.org/wiki/Grape>. (Erişim tarihi: 18 şubat 2014)
- Zalom, F.G., Varela, L.G. and Cooper, M.**, 2011, European Grapevine Moth (*Lobesia botrana*) Provisional Guidelines, University of California Agriculture ve Natural Resources, UC-IPM Online, Statewide Integrated Pest Management Program,
- Zhou, H.A. and Syvanen, M.**, 1997, A complex Glutathione transferase gene family in the housefly *Musca domestica*. *Molecular Genetics and Genomics*. 256, 187p.
- Zirai Mücadele Teknik Talimatları**, 2008, T. C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara, 5, 301s.
- Zümreoğlu, S.**, 1978, Investigations on the green peach aphid against insecticides on tobacco growing areas in Aegean Region. *Türkiye Bitki Koruma Dergisi*, 2(2): 97-102.

## ÖZGEÇMİŞ

Araştırıcı, 1978 yılında İzmir’de dünyaya gelmiştir. İlkokul eğitimini Piyale İlkokulu, ortaokul eğitimini Alsancak Ortaokulu, lise eğitimini İzmir Atatürk Lisesi’nde tamamlamıştır. 2004 yılında Ege Üniversitesi, Ziraat Fakóltesi, Bitki Koruma Bölümünden mezun olmuştur, 2005 yılında ise aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaya başlamıştır. 2007 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim dalı, Entomoloji Bilim dalında yüksek lisans eğitimini tamamlamış ve aynı yıl doktora eğitimine başlamıştır. Halen bu bölümde araştırma görevlisi olarak görevine devam etmektedir.



