

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

HELIOTHIS ARMIGERA (HUBN.) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)'NİN
DEĞİŞİK POPULASYONLARININ BAZI İNSEKTİSİTLERE KARŞI
DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ
ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Sakine UĞURLU

104466

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

104466

ANKARA
2001

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. M. Oktay GÜRKAN danışmanlığında, Sakine UĞURLU tarafından hazırlanan bu çalışma 02 / 07 /2001 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. M. Oktay GÜRKAN

Üye : Prof. Dr. Seval TOROS

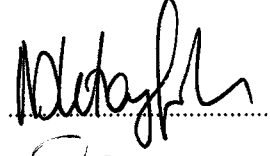
Üye : Prof. Dr. İsmail KARACA

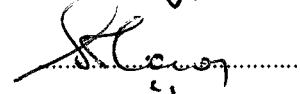
Üye : Prof. Dr. Sultan ÇOBANOĞLU

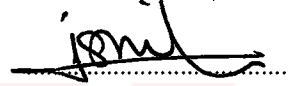
Üye : Prof. Dr. Mesude İŞCAN

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Esmâ KILIÇ
Enstitü Müdürü











ÖZET

Doktora Tezi

HELIOTHIS ARMIGERA (HUBN.) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE)'NİN DEĞİŞİK POPULASYONLARININ BAZI İNSEKTİSİTLERE KARŞI DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Sakine UĞURLU

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. M. Oktay GÜRKAN

Bu çalışma, pamuğun önemli zararlılarından biri olan *Heliothis armigera* (Hubn.)'nın hassas (İsrail), Adana, Hatay ve Antalya illerindeki pamuk tarlalarından toplanan populasyonlarının, bazı insektisitlere karşı duyarlılık düzeylerini biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle belirlemek amacıyla yapılmıştır.

H. armigera'nın İsrail (hassas), Adana, Hatay ve Antalya populasyonlarında, topikal bioassay yöntemi kullanılarak endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin'in LD₅₀ değerleri belirlenmiştir. İnsektisitlerin hepsi için, tarla populasyonlarının LD₅₀ düzeyinde dayanıklılık oranları tespit edilmiştir.

Biyokimyasal analizlerde, *H. armigera* populasyonlarının genel esteraz, glutatyon S-transferaz (GST) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimlerinin aktiviteleri belirlenmiştir. Adana ve Hatay populasyonunun genel esteraz enzim aktivitesi hassas populasyonunun genel esteraz aktivitesinden daha düşük bulunmuştur. Antalya populasyonunun genel esteraz enzim aktivitesi ise hassas populasyonunkine benzer bulunmuştur. GST ve AChE enzim aktivitesi açısından tarla populasyonları ile hassas populasyon arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

2001, 86 sayfa

ANAHTAR KELİMELEER : *Heliothis armigera*, Yeşilkurt, pamuk, insektisit dayanıklılığı, insektisit, enzim aktiviteleri.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

DETERMINATION OF THE SUSCEPTIBILITY LEVELS OF *HELIOTHIS ARMIGERA* (HUBN.) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) POPULATIONS TO SOME INSECTICIDES

Sakine UĞURLU

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor : Prof. Dr. M. Oktay GÜRKAN

The purpose of this study was to investigate susceptibility levels of *Heliothis armigera* (Hubn.) strains collected from cotton fields in Adana, Hatay, and Antalya to some insecticides by using bioassay and biochemical methods.

In all *H. armigera* strains, LD₅₀ values of endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin and lambda-cyhalothrin were determined by using topical bioassay method. Resistance ratios of field strains were determined at LD₅₀ levels for all insecticides.

The activities of general esterase, glutathione S-transferase (GST), and acetylcholinesterase (AChE) enzymes were determined for all strains by biochemical analyses. Adana and Hatay strains had lower general esterase enzyme activities than that of susceptible strain. General esterase enzyme activity in Antalya strain was found to be similar to susceptible strain. GST and AChE enzyme activities of field strains and susceptible strain were found to be similar.

2001, 86 pages

Key Words: *Heliothis armigera*, cotton bollworm, insecticide resistance, insecticides, enzyme activities.

TEŞEKKÜR

Ülkemizde önemli bir endüstri bitkisi olan pamuğun ana zararlılarından biri olan *Heliothis armigera* (Hubn.)'nın tarla populasyonlarının bazı insektisitlere karşı duyarlılığının araştırıldığı bu çalışma, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından BS/98/08/05/106 no'lu proje kapsamında desteklenmiştir.

Bana böyle bir konuda araştırma olanağı sağlayan ve çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve önerileriyle yardımcı olan danışman hocam, sayın Prof. Dr. M. Oktay GÜRKAN (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi)'a, biyokimyasal çalışmalarımda yardımcı olan Prof. Dr. Mesude İŞCAN (Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölüm Başkanı)'a , Tez İzleme Komitesi sırasında katkı ve önerileriyle destek olan Prof. Dr. Seval TOROS (Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi) ve Prof. Dr. İsmail KARACA (Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dekanı)'ya, biyokimyasal çalışmalarla ilgili istatistikleri yapan Uzm. Dr. Ali E. DEMİRBAĞ (Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi)'a, tüm çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen müdürümüz sayın Dr. Ali TAMER (Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü)'e ve çalışmalarım sırasında yardımcı olan tüm mesai arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Sakine UĞURLU

Ankara, Mayıs 2001

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1. Materyal.....	24
3.1.1. <i>Heliothis armigera</i> populasyonları.....	24
3.1.2. İnsektisitlerin seçimi.....	25
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Biyoassay çalışmaları.....	29
3.2.1.1. İstatistiksel değerlendirme.....	30
3.2.2. Biyokimyasal çalışmalar.....	30
3.2.2.1. Genel esterase enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	31
3.2.2.2. Glutasyon S-transferaz enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	33
3.2.2.3. Asetilkolinesteraz enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	33
3.2.2.4. İstatistiksel değerlendirme.....	34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	35
4.1. Biyoassay sonuçları.....	35
4.2. Biyokimyasal sonuçlar.....	54
4.2.1. Genel esterase enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	54
4.2.2. Glutasyon S-transferaz enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	61
4.2.3. Asetilkolinesteraz enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	66
4.3. Genel değerlendirme.....	70
KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	86

SİMGELER DİZİNİ

ACh	Asetilkolin
ACHE	Asetilkolinesteraz
ATChI	Acetylthiokolin iodide
BSA	Bovine Serum Albumin
CDNB	Klorodinitrobenzen
DCNB	Dikloronitrobenzen
DTNB	5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoik asit)
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S-transferaz
KCL	Potasyum Klorür
Kdr	Knockdown Resistance
LC ₅₀	Letal Konsantrasyon-50
LD ₅₀	Letal Doz-50
O.D.	Optical Density (Soğurma Yoğunluğu)
TPP	Trifenil Fosfat
MFO	Karışık Fonksiyonlu Oksidaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kolinerjik bir synapsiste sinirsel iletimin diagramatik görünüşü (Callaghan 1991).....	4
Şekil 1.2. Dayanıklılık mekanizmalarının diagram halinde gösterilmesi: (1) fiziksel mekanizma, (2) değiştirilmiş hedef bölge, (3) insektisit detoksifikasyonu..	6
Şekil 4.1. Endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin uygulanan <i>Heliothis armigera</i> 'nın hassas popülasyonuna ait logaritmik doz-% ölüm doğruları.....	36
Şekil 4.2. Endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin uygulanan <i>Heliothis armigera</i> 'nın Adana popülasyonuna ait logaritmik doz-% ölüm doğruları	38
Şekil 4.3. Endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin uygulanan <i>Heliothis armigera</i> 'nın Hatay popülasyonuna ait logaritmik doz-% ölüm doğruları.....	39
Şekil 4.4. Endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin uygulanan <i>Heliothis armigera</i> 'nın Antalya popülasyonuna ait logaritmik doz-% ölüm doğruları.....	41
Şekil 4.5. Endosulfan uygulanan <i>Heliothis armigera</i> popülasyonlarının logaritmik doz- %ölüm doğruları.....	44
Şekil 4.6. Profenofos uygulanan <i>Heliothis armigera</i> popülasyonlarının logaritmik doz-%ölüm doğruları.....	45
Şekil 4.7. Methomyl uygulanan <i>Heliothis armigera</i> popülasyonlarının logaritmik doz-%ölüm doğruları.....	48
Şekil 4.8. Tralomethrin uygulanan <i>Heliothis armigera</i> popülasyonlarının logaritmik doz- %ölüm doğruları.....	49
Şekil 4.9. Lambda-cyhalothrin uygulanan <i>Heliothis armigera</i> popülasyonlarının logaritmik doz- %ölüm doğruları.....	50
Şekil 4.10. p-Nitrofenol standart doğrusu, regresyon denklemi ve regresyon katsayısı.....	55
Şekil 4.11. Protein miktarının esterase aktivitesine etkisi ile ilgili ön denemelerden elde edilen doğrular.....	56

Şekil 4.12. Bradford standart protein doğrusu.....	57
Şekil 4.13. <i>Heliothis armigera</i> populasyonlarının genel estera z enzim aktivite leri.....	58
Şekil 4.14. <i>Heliothis armigera</i> populasyonlarının glutatyon S-transfera z enzim aktivite leri.....	63
Şekil 4.15. <i>Heliothis armigera</i> ’ nın hassas, Adana, Hatay ve Antalya populasyonlarının ortalama AChE enzim aktivite leri.....	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Ülkemizde tarım alanlarında dayanıklılık kazanan türler ve dayanıklılık kazanan insektisit ve akarisit grupları (Tomlin 1997'den değiştirilerek alınmıştır)	8
Çizelge 3.1. Denemelerde kullanılan insektisitler.....	26
Çizelge 4.1. <i>Heliothis armigera</i> 'nın hassas popülasyonunun 3. dönem larvalarına topikal aplikasyonla yapılan bioassay denemelerinden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan probit analiz sonuçları.....	36
Çizelge 4.2. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Adana popülasyonunun 3. dönem larvalarına topikal aplikasyonla yapılan biyoassay denemelerinden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan probit analiz sonuçları.....	37
Çizelge 4.3. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Hatay popülasyonunun 3. dönem larvalarına topikal aplikasyonla yapılan bioassay denemelerinden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan probit analiz sonuçları.....	39
Çizelge 4.4. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Antalya popülasyonunun 3. dönem larvalarına topikal aplikasyonla yapılan bioassay denemelerinden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan probit analiz sonuçları.....	40
Çizelge 4.5. Endosulfan'ın topikal aplikasyonla 3. dönem <i>Heliothis armigera</i> larvalarına uygulanmasıyla yapılan denemelerden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları.....	42
Çizelge 4.6. Profenofos'un topikal aplikasyonla 3. dönem <i>Heliothis armigera</i> larvalarına uygulanmasıyla yapılan denemelerden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları.....	42
Çizelge 4.7. Methomyl'in topikal aplikasyonla 3. dönem <i>Heliothis armigera</i> larvalarına uygulanmasıyla yapılan denemelerden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları.....	47
Çizelge 4.8. Tralomethrin'in topikal aplikasyonla 3. dönem <i>Heliothis armigera</i> larvalarına uygulanmasıyla yapılan denemelerden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları.....	47

Çizelge 4.9. Lambda-cyhalothrin 'in topikal aplikasyonla 3. dönem <i>Heliothis armigera</i> larvalarına uygulanmasıyla yapılan denemelerden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları.....	51
Çizelge 4.10. <i>Heliothis armigera</i> ' da genel esteraz enzim aktivitelerinin popülasyonlara göre ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerlerinin dağılımı.....	59
Çizelge 4.11. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Hassas ve Adana popülasyonlarında genel esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak).....	59
Çizelge 4.12. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Hassas ve Hatay popülasyonlarında genel esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak).....	60
Çizelge 4.13. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Hassas ve Antalya popülasyonlarında genel esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak).....	60
Çizelge 4.14. <i>Heliothis armigera</i> ' da genel GST enzim aktivitelerinin popülasyonlara göre ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerlerinin dağılımı (nmole/min/mg).....	64
Çizelge 4.15. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Hassas ve Adana popülasyonlarında GST enzim aktivitesilerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak).....	64
Çizelge 4.16. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Hassas ve Hatay popülasyonlarında GST enzim aktivitesilerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak).....	65
Çizelge 4.17. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Hassas ve Antalya popülasyonlarında GST enzim aktivitesilerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak).....	65
Çizelge 4.18. <i>Heliothis armigera</i> ' da AChE enzim aktivitelerinin popülasyonlara göre ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerlerinin dağılımı (nmole/min/mg).....	68
Çizelge 4.19. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Hassas ve Adana popülasyonlarında AChE enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak).....	68
Çizelge 4.20. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Hassas ve Hatay popülasyonlarında AChE enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak).....	69
Çizelge 4.21. <i>Heliothis armigera</i> 'nın Hassas ve Antalya popülasyonlarında AChE enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak).....	69

1. GİRİŞ

Birim alandan yüksek verim elde etmek tarımsal araştırmaların başta gelen hedeflerindendir. Bunu sağlayabilmek için de kültür bitkilerinin uygun şekilde yetiştirilmesi ve korunması gerekmektedir. Pamuk ülkemizde 1997 yılında 721.723 hektar ekiliş alanı ile önemli bir endüstri bitkisidir (Anonim 1999). *Heliothis armigera* (Hubn.) (Lep.: Noctuidae) pamuğun önemli bir zararlısıdır ve dünyanın pamuk ekilen pek çok yerinde *Heliothis* ssp.'nin bulunduğu ve zarar yaptığı bilinmektedir. Larvaları pamukta genellikle taraklar başta olmak üzere generatif organlarda beslenerek, pamuğun koza oluşumuna engel olup önemli oranda ürün kaybına neden olmaktadır. Polifag olan bu zararlı ülkemizde de başta pamuk olmak üzere tarımı yapılan birçok kültür bitkisinde zarar yapmaktadır. Ancak, bazı yıllar iklim koşulları nedeniyle popülasyonlarda yok denecek kadar azalma görülmektedir. Bu zararlıya karşı uygulanan mücadele yöntemi kimyasal mücadeledir ve yoğun olarak ilaç kullanılmaktadır.

Sürekli ve yoğun ilaç kullanımı çevre kirlenmesi, doğal dengenin bozulması ve direnç oluşumu gibi birçok problemi beraberinde getirmektedir. Özellikle böceklerin ilaçlara dayanıklı hale gelmesi, ilaçların etkisinin azalmasına neden olarak, tarımsal üretimi tehdit eden en önemli sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (Knight and Norton 1990). Birçok ülkede *H. armigera* ve diğer *Heliothis* spp.'nin farklı gruptan insektisitlere karşı dayanıklılık geliştirdiği kaydedilmektedir (Luttrell *et al.* 1987, Ahmad ve McCaffery 1988, Daly 1988, Elzen *et al.*, 1992, Ahmad *et al.* 1995).

Arthropodların insektisitlere karşı dayanıklılığı ile ilgili ilk bilimsel yayın, Melander'in 1908 yılındaki gözleminde, San Jose kabuklubiti'nin her zaman uygulanmakta olan kükürt-kireç karışımından eskisi kadar etkilenmediğini tespit etmesiyle karşımıza çıkmıştır (Melander 1914). Bu gözlemden sonraki 38 yılda sadece 11 arthropod türü pestisitlere dayanıklılık kazanmıştır. Sentetik organik insektisitlerin bulunmasından kısa süre sonra, DDT'ye karşı dayanıklı popülasyonların görülme oranında belirgin bir şekilde artış gözlenmiştir. DDT'nin piyasaya girişinden bir sonraki yıl olan 1946 ile 1954 yılı arasında her yıl ortalama 1-2 yeni türün, 1954-1960 yılları arasında ise yılda ortalama 19 türün insektisitlere dayanıklılık kazandığı tespit edilmiştir. Klorlandırılmış

hidrokarbonluların çevreye olumsuz etkileri nedeniyle yasaklanmasından sonra, organikfosforlu, karbamatlı ve sentetik piretroidli insektisitlerin kullanımına paralel olarak, yeni tip insektisitlere karşı da dayanıklılık oluşmaya başlamıştır (Forgash 1984). Günümüzde 500'den fazla tür en az bir insektisit veya akarisit karşı dayanıklılık kazanmış durumdadır (Soderlund 1997).

Heliothis virescens (F.) (Lep.: Noctuidae) DDT'ye karşı dayanıklılık kazandığında, organik fosforlu insektisitler keşfedilmiş ve ilaçlama sistemi önceki gibi devam etmiştir. Bunu 5 yeni lepidopter zararlı türünün ortaya çıkışı izlemiştir. Aynı zararlı türlerin organik fosforlu ilaçların kullanılmadığı izole edilmiş alanlarda bulunmalarına rağmen zararlı olmadıkları gözlenmiştir.

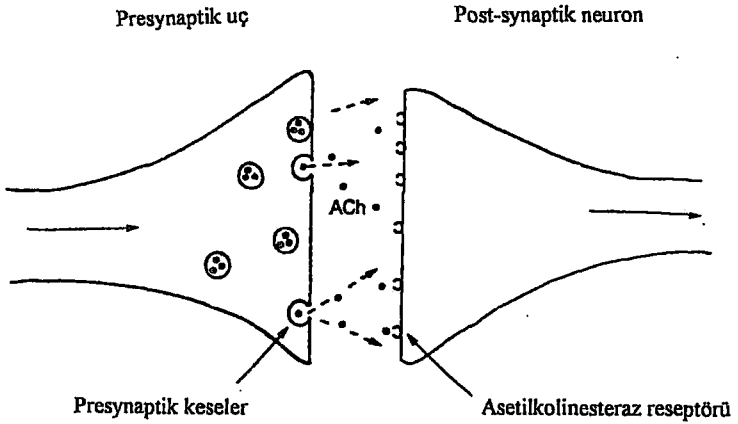
İnsektisitlere dayanıklılık, bir böcek türünün bir popülasyonundaki bireylerin çoğunluğu için öldürücü olan bir insektisit dozuna, aynı popülasyondaki bazı bireylerin tolere edebilme yeteneğinin dölden döle geçmesi olarak tanımlanabilir. Dayanıklılık durumu görülmeden önce, popülasyondaki dayanıklılık genlerine sahip bireylerin öne çıktığı ve çoğaldığı bir hazırlık dönemi bulunmaktadır. İnsektisit seleksiyon baskısı altında, dayanıklı gene sahip bir grup birey canlılığını sürdürürken, bu genden yoksun diğer bireyler (hassas) ölmektedir. Sürekli insektisit uygulamalarıyla, bir popülasyondaki dayanıklı bireylerin sayısı artmaktadır (Callaghan 1991).

Tarlada dayanıklılık gelişimi değişik faktörler tarafından etkilenmektedir. Bunlar Georghiou and Taylor (1977) tarafından generasyon süresi, her generasyonda meydana gelen birey sayısı ve göç gibi biyolojik faktörler, dayanıklılık geninin dominantlığı ve sıklığı, dayanıklılık genotipinin uygunluğu ve farklı dayanıklılık allellerinin sayısı gibi çok sayıda genetik faktörler olarak özetlenmiştir. Genetik faktörler dayanıklı böceklerden genetik olarak alındığı için insanlar tarafından fazla kontrol edilemezler. Ancak, ilaç uygulaması, sürekliliği ve insektisit kimyası gibi dayanıklılık oluşumunu etkileyen işlevsel faktörler insanlar tarafından kontrol edilebilir ve bundan dolayı insektisit uygulamasının dozu ve zamanı dayanıklılık gelişimini geciktirmek için çok dikkatli seçilmelidir.

Bir insektisit etkili olabilmesi için, hedef alınan organizmadaki belirli bir yere ulaşması ve bu alandaki biyolojik işlemleri etkilemek için yeterli konsantrasyonda olması gerekmektedir. İnsektisitlerin etki yerine ulaşması için yaptığı hareketi engelleyen fiziksel veya kimyasal engeller, böceğin bu toksik maddeye karşı dayanıklılık kazanmasına neden olabilir. İnsektisitlere dayanıklılığı daha iyi anlayabilmek için birçok araştırma yapılmış ve araştırmalarda dayanıklılığın mekanizması, biyokimyası, genetiği, moleküler mekanizması, gelişimi ve yönetimi incelenmiştir (Oppenoorth 1965, Plapp 1976, Georghiou 1980, Georghio and Mellon 1980, Plapp and Wang 1983, Forghash 1984, Oppenoorth 1985, Brown and Brogdon 1987, Brattsten 1989, Metcalf 1989, Soderlund 1997).

Dayanıklılığın nedenlerinin belirlenmesinde, insektisitlerin etki mekanizmalarının da bilinmesi gerekmektedir. İnsektisitlerin etki mekanizmalarını kısaca şöyle özetleyebiliriz: 1939'da DDT'nin keşfinden önce, böcekler arsenik ve piretrum gibi doğal ürünlerle kontrol altına alınmaktaydı. O zamandan sonra bugün de mücadelede kullanılan dört önemli kimyasal insektisit sınıfı geliştirilmiştir. Bunlar organik klorlular, organik fosforlular, karbamatlılar ve piretroidler' dir.

Organik fosforlular ve karbamatlılar asetilkolinesteraz enzimini engelleyerek etkili olurlar, fakat bunu farklı bir şekilde yaparlar. Bu bileşikler sinir sistemindeki synapsislerde elektriksel sinir uyarılarının iletimini bozarak bir böceği öldürür. Bir sinir uyarısı kolinerjik neurona ulaştığında, synaptik boşluklar pre-synaptik membranla birleşir ve post-synaptik membran üzerindeki bir reseptöre bağlanan sinirsel uyarı taşıyıcısı olan asetilkolin (ACh) serbest kalır (şekil 1.1). Bu, yapıda bir değişikliğe neden olur ve iyonik geçirgenliğin değiştirilmesiyle uyarılar sürekli iletilir. Tekrarlanan uyarılardan korunmak için, asetilkolin asetilkolinesteraz enzimi (AChE) tarafından kolin ve asetik asite ayrışır. Organik fosforlu ve karbamatlılar asetilkolinesterazın aktif bölgesine bağlanarak bir asetilkolin analogu olarak etkili olurlar. Ancak, normal olarak hidrolizle parçalanarak asetilkolinin aksine, insektisitler stabil enzim substrat kompleksi oluşturabilirler. Bu insektisitlerin AChE ile interaksyonu sadece hassas böceklerde sinirlerde zarar oluşturmaya, paraliz ve ölüme neden olmaya yeterlidir.



Şekil 1. 1. Kolinerjik bir synapsiste sinirsel iletimin diagramatik görünüşü (Callaghan 1991)

Piretroidler, zararlı organizmaların çoğunluğu üzerinde etkili olurlar. Bu nedenle bunların etki mekanizmalarının açıklanması için kimyacılar, biyokimyacılar ve neurofizyolojistler on yıllar süren araştırmalar yapmışlardır. Bu çalışmalar sonucunda böceklerde elektriksel iletim üzerinde bir etkinin olduğu bulunmuştur. Sinir sistemi mekanik, görsel, sıcaklık ve kimyasal uyarıcılar tarafından uyarılır ve bu uyarı daha sonra elektriksel olarak sinir sistemindeki iletim yoluyla hücreden hücreye gönderilir. Sonunda örneğin bir kas kasılması gibi en son bir organda reaksiyon (tepki) gösterir. Bu iletim, sinir hücresi membranının içinde veya dışında elektriksel olarak yüklü partiküllerin iyon konsantrasyonlarında çok kısa süren değişikliklerle sağlanır. Sodyum kanalları olarak isimlendirilen kanallar boyunca sinir uzantıları içindeki sodyum iyonları bu işlemden önemli bir rol oynar. Piretroidler geçici olarak bu iletimi engellemekte ve sodyum kanallarını bloke ederek ölüme neden olmaktadır. Böylece piretroidlerin etki mekanizması organik fosforlu ve karbamatlılardan farklıdır bu nedenle organik fosforlu ve karbamatlı bileşiklere dayanıklılık kazanmış zararlı popülasyonları, birçok durumda piretroidlerle başarılı bir şekilde kontrol altına alınabilir.

Organik hidrokarbonlular, piretroidler gibi esas olarak sinir membranındaki sodyum kanallarını etkilemektedirler. Depolarizasyonla birleşmiş sodyum akımında bir uzamaya

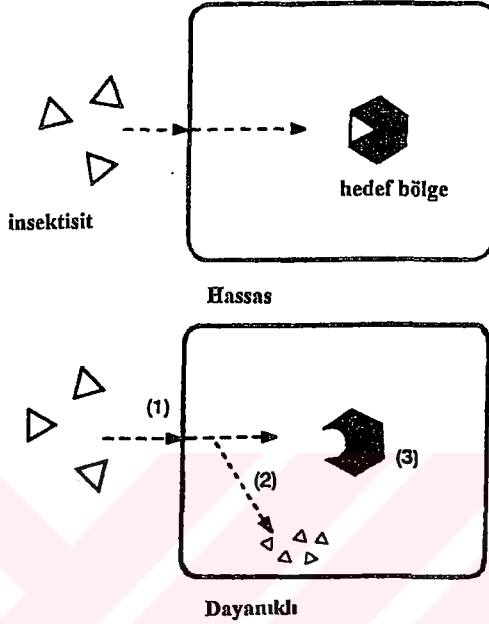
uzamaya neden olmakta ve uzatılmış sodyum akımı, insektisitler tarafından başlatılan tekrarlamalı aktiviteden doğrudan sorumludur (Bercken and Vijverberg 1982). Bu grup bileşiklerin genel olarak etki mekanizmaları aynı olmakla birlikte, grup içindeki bileşiklere göre ayrıntılarda bazı farklılıklar görülür. Örneğin sıcaklık arttığında toksisite artışı hepsinde aynı değildir.

Organik klorlular ve piretroidler sinir sistemi üzerinde etkili olmakla birlikte bir AChE enzimi bağlayıcısı değillerdir. Büyük bir çoğunlukla sodyum kanallarındaki iyon geçişini engelleyerek sinirsel iletimi bozmakta ve bunun sonucu meydana gelen aksaklıklar nedeniyle ölüm meydana gelmektedir.

İnsektisitlere karşı dayanıklılığın dört önemli mekanizması vardır. Fiziksel dayanıklılık mekanizması; böceğin vücudunun dış kısmındaki bazı değişikliklerle toksik maddenin alımı yavaşlatılır veya azaltılır. Örneğin, kutikular yapıdaki bir değişiklikle topikal olarak uygulanan insektisitlerin penetrasyon oranı azalabilir. Davranışsal dayanıklılık; böceğin davranışsal değişiklikleri ilacın toksik dozuna temas etmesini önlemektedir. Metabolik dayanıklılık; böceğin normal enzimatik metabolizması insektisit detoksifikasyonunu arttırmak veya insektisit inaktivasyonunu önlemek için değiştirilir. Değiştirilmiş hedef bölge; toksik maddelere karşı duyarlılığı azaltmak için etki yeri değiştirilir (Hassall 1990, Callaghan 1991). Bu mekanizmalar Şekil 1.2.'de görülmektedir.

Organik fosforlu insektisitlere karşı metabolik dayanıklılık, arttırılmış karışık fonksiyonlu oksidaz (mixed function oxidase), arttırılmış glutathione S- transferaz ve esterase aktivitelerini veya bu enzimlerin miktarı değiştirilmiş izozim formlarını içermektedir (Plapp 1984).

Dünyada özellikle son yıllarda insektisitlere dayanıklılık konusunda çok detaylı araştırmalar yapılmakta ve bu araştırmalarda geleneksel dayanıklılık belirleme yöntemlerinin yanında biyokimyasal ve moleküler tekniklerden de yararlanılmaktadır. Ülkemizde ise bu konu ile ilgili yapılan araştırmaların çoğunluğu biyoassay çalışmalarıdır. Bu çalışmalar kısaca şöyle özetlenebilir.



Şekil 1.2. Dayanıklılık mekanizmalarının diagram halinde gösterilmesi: (1) fiziksel mekanizma, (2) değiştirilmiş hedef bölge, (3) insektisit detoksifikasyonu

Karadeniz bölgesinde fındıklarda zarar yapan Fındık kurdu (*Curculio nucum*)'nun ,ilaçlı savaşımı bazı yıllarda sorun oluşturduğundan, özellikle karbamatlı insektisitlerle değişik yıllarda projeler yürütülmüştür (Ural *et al.* 1967, Öden *et al.* 1975a, Dindar *et al.* 1986, Dindar ve Yılmaz 1989). Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata*)'nın insektisitlere dayanıklılık durumu ile ilgili olarak da değişik yıllarda araştırmalar yapılmıştır (Atak ve Atak 1977, Dindar ve Yılmaz 1990, Erdoğan ve Gürkan 1997, Ünal ve Uğurlu 2000).

Sevintuna *et al.* (1963): Öden (1979)'dan, İren (1966) ve Ersoy (1976) Elma iç kurdu (*Cydia pomonella*) nun, Öden *et al.* (1972a) ve Ünal *et al.* (1994) Kıvılcık (*Aelia rostrata*)'ın, Öden *et al.* (1971) Bambul (*Anisoplia austriaca*)'un, Temizer (1972) Süne (*Eurygaster integriceps*)'nin insektisitlere dayanıklılık durumu üzerinde araştırmalar yapmışlardır.

Pamuklarda zararlı bazı lepidopterlerin insektisitlere dayanıklılık durumu da değişik yıllarda yapılan araştırmalarla incelenmiştir (Takayısı *et al.* 1969: Öden 1979’dan, Öden *et al.* 1972b, Öden *et al.* 1975b, Kışmir *et al.* 1976: Öden 1979’dan).

Dördbudak *et al.* (1987) *Sitophilus granarius*’un, Erkam ve Gürkan (1983) *Panonychus ulmi*’nin, Karman (1959) *Thrips tabaci*’nin, Zoral *et al.* (1983) *Bemisia tabaci*’nin ilaçlara karşı dayanıklılık durumunu incelemişlerdir.

Dindar (1992) tarafından doktora tezi olarak sunulan, *Ceratitis capitata*’nın malathion’a karşı dayanıklılık durumunun incelendiği araştırmada, ölkemizde ilk defa dayanıklılığın belirlenmesinde biyoassay yöntemlerinin yanında biyokimyasal yöntemlerden de yararlanılmıştır. Daha sonra Velioğlu (1999) tarafından yine doktora tezi olarak sunulan, değişik bölgelerden toplanan *Myzus persicae* popülasyonlarının farklı gruptan bazı insektisitlere karşı duyarlılık farklarının belirlendiği araştırmada da hem biyoassay yöntemlerinden hem de biyokimyasal yöntemlerden yararlanılmıştır.

“Insecticide Resistance Action Committee”(IRAC) olarak adlandırılan komite, yapılan sörvey ve araştırma sonuçlarına göre, tüm dünyadaki insektisit ve akarisitlere dayanıklılık durumunu bir çizelgede toplamıştır (Tomlin 1997). Bu izelgedeki verilere göre, ürünler bazında ölkemizde dayanıklılık kazanılan insektisit ve akarisit grupları yeniden düzenlenerek izelge 1.1’ de verilmiştir. Bu çizelgeden, ölkemizde özellikle pamukta zararlı türler bakımından dayanıklılığın önemli bir problem olduğu görölmektedir.

Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü’nün verilerine göre ölkemizde 2000 yılında 32 106 ton tarım ilacı kullanılmış olup, bunun karşılığı olarak yaklaşık 144 trilyon TL harcanmıştır (Anonim 2001).

Ölkemizde pamukta zararlıların çok olması ve bu zararlılarda dayanıklılık durumunun görölmesi nedeniyle genellikle havadan ilaçlama ile geniş alanlarda ilaçlama yapılmakta ve fazla miktarda ilaç kullanılmaktadır.

Çizelge 1.1. Ülkemizde tarım alanlarında dayanıklılık kazanan türler ve dayanıklılık kazanan insektisit grupları (Tomlin 1997'den değiştirilerek alınmıştır)

KONUKÇU BİTKİ	ZARARLI TÜR	PESTİSİT GRUBU
Pamuk	<i>Aphis gossypii</i>	organikfosforlu
	<i>Bemisia tabaci</i>	organikfosforlu, piretroidli
	<i>Helicoverpa armigera</i>	organikfosforlu, piretroidli
	<i>Lygus sp.</i>	organikfosforlu
	<i>Spodoptera littoralis</i>	organikfosforlu, piretroidli
	<i>Tetranychus cinnabarinus</i>	organikfosforlu, piretroidli
Antepfıstığı	<i>Agonoscena targionii</i>	piretroidli
Karpuz	<i>A. gossypii</i>	organikfosforlu
Sebze	<i>A. gossypii</i>	organikfosforlu
	<i>Aphis sp.</i>	organikfosforlu, karbamatlı
Patates	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	piretroidli
Şeftali	<i>Myzus persicae</i>	organikfosforlu, karbamatlı
Turuncgil	<i>Panonychus citri</i>	Klorlandırılmış hidrokarbonlular
Armut	<i>Psylla pyri</i>	piretroidli

Bu çalışma, *H. armigera*'nın değişik bölgelerden toplanan popülasyonlarının bazı insektisitlere karşı dayanıklılık durumunun incelenmesi amacıyla ele alınmıştır. Denemeye alınan insektisitler klorlandırılmış hidrokarbonlu, organik fosforlu, karbamatlı ve sentetik piretroidli gruplardan seçilmiş olup bunların LD₅₀ değerleri standart dayanıklılık belirleme metodu kullanılarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte, dayanıklılıkta rol oynayan genel estera, glutathione S- transferaz ve asetilkolinesteraz enzimlerinin spesifik aktiviteleri belirlenerek, enzim aktiviteleri ile dayanıklılık arasında bir ilişki olup olmadığına bakılmıştır. Denemeler 1998-2000 yılları arasında Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsünde yürütülmüştür.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Böceklerin insektisitlere dayanıklılığı ile ilgili değişik ülkelerde birçok araştırma yapılmıştır. Bu çalışmaların çoğunluğu son yıllara kadar standart dayanıklılık belirleme metodu ile yapılmıştır. Son yıllarda ise hem standart dayanıklılık belirleme yöntemini hem de biyokimyasal çalışmaları kapsayan detaylı araştırmalar yapılmaktadır.

Dayanıklılığın biyokimyasal çalışmalarla belirlenmesine temel olan ilk araştırma Gomori (1953) tarafından yapılmış ve aryl-esterleri hidrolize etme kapasitesine dayanan esteraz aktivitesinin belirlenmesi için kolorimetrik bir yöntem geliştirmiştir.

Plapp (1976), klorlandırılmış hidrokarbonlu insektisitlerin etki mekanizmaları hakkındaki bilgilerin, bunların sinir sistemi üzerinde etkili olduklarının ötesine geçmediğini ve aynı şekilde bunlara karşı dayanıklılığın özellikle detoksifikasyon ihtiva etmeyen genlerle ilgili olduğunun iyi anlaşılamadığını ifade etmektedir. Non-detoksifikasyon dayanıklılık genleri hedef bölgedeki bir değişikliği içermektedir. Etki mekanizmasının ve dayanıklılığın anlaşılması aynı problemin farklı bölümleri olabilir.

Yine aynı araştırmacı klorlu hidrokarboluların bir alt grubu olan cyclodien'lerin dayanıklılığı ile ilgili olabilecek birçok biyokimyasal bulgular elde edildiğini bildirmektedir. Dayanıklı *Blattella germanica* L. (Orthoptera: Blattidae) ve *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae)'nın sinir dokularında hassaslarla karşılaştırıldığında daha az toksikant birikimi görülmektedir. Cyclodienler presynaptik boşluklardan asetilkolinin serbest kalmasına neden olarak toksik olabilir. Eğer bu doğruysa, dayanıklılık asetilkolinin serbest bırakılmasının kontrolü veya bir asetilkolin reseptöründeki muhtemel bir değişiklikle ilgili olabilir.

Bir organik fosfatlı insektisite karşı dayanıklılık gelişimini, genellikle diğer organik fosforlu bileşiklere karşı dayanıklılık gelişimi takip eder. Böyle bir durumda, GST, MFO enzimi veya hedef enzimin değişmiş özellikleri, asetilkolinesteraz gibi bir veya birden fazla biyokimyasal mekanizma yer alabilir. Böylece organik fosforlulara karşı dayanıklılıkta, diğer faktörlere ilave olarak GST enziminin de yer aldığı, beyaz

sineklerle yapılan çalışmalarda tekrarlamalı olarak gösterilmiştir. Çapraz-dayanıklılık yapıları bu faktörlerin kombinasyonu sonucunda olabilir. Dayanıklılıkta GST enziminin önemi, organizmayla birlikte diğer biyokimyasal faktörlerin varlığı kadar, kullanılan organik fosfatlı insektisitlerin yapısına bağlı olarak değişmektedir. Şimdiye kadar elde edilen bilgilerin ışığı altında, transferaz reaksiyonlarının genellikle ethoxy bileşiklerine karşı dayanıklılıkta çok az öneme sahip oldukları halde, methoxy bileşiklerine karşı dayanıklılıkta önemli bir rol aldıkları görülmüştür (Motoyama and Dauterman 1980).

Dauterman (1983), fosfortriester hidrolizleri ve glutathion S-transferazlar böceklerin belirli ırklarında ve belirli türlerde organikfosforlu insektisit dayanıklılığından sorumlu biyolojik mekanizmalardır. Her ikisinde insektisiti böceklerde toksik olmayan bileşiklere dönüştürürler ve genellikle karışık fonksiyonlu oksidazlar, değiştirilmiş kolinesteraz ve penetrasyon gibi diğer dayanıklılık mekanizmaları ile birlikte hareket ederler. Triester hidrolizleri ve glutathion S-transferazların dayanıklılıktaki önemi, insektisitlerin yapısına, insektisitlerin konsantrasyonuna ve muhtemelen böceğin gelişme dönemine bağlıdır. Organik fosforlu insektisitlerin hidroliz yoluyla parçalanmaları sadece sınırlı sayıda dayanıklı karasinek popülasyonlarında ve sadece birkaç böcek türünde görüldüğünden, hidroliz olayları insektisit dayanıklılığında beklenenden daha az bir rol oynar ve genel olarak daha önemli diğer dayanıklılık mekanizmaları ile birlikte bulunur.

Georghiou and Mellon (1983), Melander'den (1914) başlayarak, 1983 yılına kadarki sürede insektisitlere karşı direnç gösterdiği saptanan böceklerin takım, familya ve tür düzeyinde ayrımını yapmakta ve hangi insektisitlere yada insektisit grubuna karşı direnç görüldüğünü bildirmektedir. Bünyesinde en çok tarımsal zararlı böcek türü içeren takımların sırasıyla Lepidoptera, Coleoptera ve Hemiptera olduğunu ifade etmektedir. Yine aynı raporda *H. armigera*'nın DDT, cyclodien, organik fosforlu ve karbamatlara karşı direnç gösterdiği bildirilmektedir.

Dayanıklılığın belirlenmesinde kullanılan biyoassay yöntemlerin oldukça fazla sayıda böcek ve uzun süre gerektirmesi yanında, özellikle düşük seviyedeki direncin saptanmasında yetersiz kalması; bu gibi durumlar açısından biyokimyasal esaslı yöntemleri öne çıkarmaktadır (Miyata 1983).

Narahashi (1983), bir böceğin bir insektisite karşı fizyolojik olarak gösterdiği direncin mekanizmasını anlayabilmek için, insektisitlerin etki şeklinin bilinmesi gerektiğini ve kutikuladan penetrasyon, zehirsizleştirme ve hedef noktanın duyarlılığı şeklinde verilen üç faktörün direnç için önemli rolleri üstlendiğini belirtmektedir. Dirençli böceklerde hedef noktanın normallere göre daha az hassas olduğuna dikkat çekerek; DDT ve piretroit tipi insektisitlerin hedef noktası olan sinir membranı içindeki sodyum kanallarını etkilediğini ve buradaki değişimler sonucu direnç görüldüğünü bildirmektedir.

Gunning et al. (1984), Avustralya'da 1977-1983 yılları arasında tarladan toplanan *Heliothis armigera*'nın laboratuvarı yetiştirilen 3. dönem larvalarını kullanarak permethrin, fenvalerate, cypermethrin ve deltamethrin'e karşı dayanıklılık olup olmadığını araştırmışlar ve 1983 yılına kadar dayanıklılık belirtileri bulamamışlardır. 1983 yılında Orta Queensland ve Emereald bölgesinden toplanan populasyonlarda %50'ye varan oranda dayanıklılık tespit etmişlerdir. Cypermethrin, deltamethrin ve fenvalerate'ye karşı LC₅₀ düzeyinde dayanıklılık sırasıyla 15 kat, 20-30 kat ve 20 kat olarak bulunmuştur. 1983 yılında *H. armigera*'nın denemeye alınan 43 populasyonundan 17'sinde dayanıklı bireyler tespit edilmiştir. Emerald'dan toplanan 5 populasyon dayanıklı bireylerin çoğunluğunu içermektedir.

Terriere (1984), böceklerin toksik maddeleri metabolize edebilmeleri ve o suretle parçalayabilmelerinin, kimyasal olarak uygun olmayan çevrede yaşamlarını sürdürebilmeleri için çok önemli olduğunu belirtmektedir. Bütün böceklerin muhtemelen detoksikatif kapasiteye sahip olmalarına rağmen, bunun miktarının türler arasında, gelişme dönemlerine ve böceğin en son içinde bulunduğu çevre ile ilgili olarak farklı olabileceğini de bildirmektedir. Aktivitedeki bu varyasyon, en azından kısmen, insektisitlerin selektif toksisitesi, insektisitlere karşı dayanıklılık gelişimi ve konukçu bitkilerin gelişiminden sorumludur.

Watkinson et al. (1984), laboratuvar imkanlarının halihazırda bulunmadığı yerlerde, insektisitlerin çoğuna karşı birçok zararlıda duyarlılığın tarlada izlenebilmesi amacıyla bir daldırma test kit'i geliştirmişlerdir. Test metodu, tarladan toplanan böceklerle

uygulandıktan 24 saat sonra sonuç vermekte ve lokal popülasyonların LC_{50} değerlerini belirlemek veya ayırıcı doz ile böceklerin tek tek denenmesi için adapte edilebilmektedir.

Brown and Brogdon (1987), biyokimyasal tekniklerin bir popülasyonda dayanıklılığın başlangıç aşamasında tespit edilmesine ve dayanıklılığı içeren mekanizmanın belirlenmesine yardımcı olacağını bildirmektedirler.

Luttrell et al. (1987), 1986 yılında Mississippi’de pamuk ve soya fasulyesi üzerinden toplanan *H. virescens* larvaları ile yapılan laboratuvar biyoassaylerinde, fenvalerate ve cypermethrin için elde edilen LD_{50} değerleri, hassas popülasyonun LD_{50} değerinden sırasıyla 5-15 kat ve 18-23 kat daha yüksek bulunmuştur. Yine aynı çalışmada Teksas’tan toplanan popülasyonda cypermethrin için belirlenen LD_{50} değeri hassas popülasyonunkinden 21- kat daha yüksek bulunmuştur.

Ahmad and McCaffery (1988), Tayland’da tarladan toplanan *H. armigera* popülasyonunda birçok insektisite karşı dayanıklılık düzeyini belirlemek amacıyla biyoassay çalışmaları yürütmüşler ve birçok insektisite karşı LD_{50} düzeyinde yüksek seviyede dayanıklılık tespit etmişlerdir. Referans olarak hassas tarla popülasyonu ile aynı LD_{50} değerine sahip olan hassas bir laboratuvar popülasyonu kullanılmıştır. Dayanıklılık faktörleri *cis*-cypermethrin için 102 kat, *trans*-cypermethrin için 82 kat, fenvalerate için 51 kat, DDT için 125 kat ve carbaryl için 28 kat olarak bulunmuştur. Diazinon, monocrotophos ve endosulfan’a karşı dayanıklılık ise 2 kat olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar piretroidler ve DDT arasında güçlü bir çapraz dayanıklılık bulunduğunu göstermektedir.

McCaffery et al. (1988) tarafından yapılan bir çalışmada *H. virescens* ve *H. armigera* popülasyonlarında dayanıklı ve duyarlı bireylerin ayırımında en etkili biyoassay yönteminin belirlenmesi amacıyla bir çalışma yapılmış ve *H. virescens*’te en etkili yöntemin 1. dönem larva ile yaprak kalıntı testi bulunurken, *H. armigera*’da tarla popülasyonlarında topikal test, yaprak kalıntı testinden daha etkili bulunmuştur. Yine

aynı çalışmada *H. armigera*'nın Hindistan ve Endonezya populasyonlarında piretroidlere karşı dayanıklılık olduğu belirlenmiştir.

Daly (1988), Avustralya'da *H. armigera*'da sentetik piretroidli insektisitlere karşı dayanıklılığın ortaya çıkmasından sonra 1983 yılında, bu zararlının kontrolünde insektisit dayanıklılık yönetimi stratejisinin geliştirildiğini bildirmektedir. Bu strateji çerçevesinde piretroidlerin kullanımının sınırlanmış, endosulfanın kullanımı yasaklanmış ve diğer pestisitlerle rotasyon önerilmiştir. Bu stratejinin etkinliği farklı bölgelerden toplanan larvalarla yapılan testlerle izlenmiştir.

Leonard et al. (1988), 1986 yılında Louisiana'dan toplanan *H. virescens*'in fenvalerate'ye dayanıklı populasyonuna uygulanan 8 piretroidli insektisit için doz-ölüm regresyonunu elde etmişlerdir. Tarlada sadece cypermethrin, fenvalerate ve permethrin yaygın olarak kullanıldığı halde, permethrin (16 kat), cypermethrin (9.4 kat), fluvinat (15.5 kat), biphenthrin (11.9 kat), esfenvalerate (10.4 kat) ve deltamethrin'e (6.7 kat) çapraz dayanıklılık göstermiştir. Lambda-cyhalothrin'e karşı çapraz dayanıklılık birçok populasyonda düşüktür (1.2 kat). Methyl parathion ve profenofos ile test edilen piretroid dayanıklı populasyonlar sırasıyla, 2.0-15.8 kat ve 4.1-5.1 kat dayanıklılık göstermişlerdir. Methyl parathion dayanıklılığının fenvalerate dayanıklılık seviyesinin artışı ile ilgili olduğu belirlenmiştir.

Hindistan'da Andhra Pradesh' taki pamuk tarlalarından toplanan *H. armigera* larvalarının cypermethrin ve fenvalerate'ye karşı oldukça dayanıklı, endosulfan'a karşı ise orta derecede dayanıklı olduğu bulunmuştur. 1986'da Hyderabad'taki *H. armigera* larvaları ise DDT'ye dayanıklı fakat piretroidlere ve endosulfana karşı hassas bulunmuşlardır. 1987 sonlarında, bu sonraki populasyonlar piretroidlere karşı oldukça yüksek, endosulfana karşı çok az dayanıklı bulunmuşlardır. Son zamanlarda ise DDT'ye karşı dayanıklılık artmıştır (McCaffery et al.1989).

Davidson (1989), *H. armigera*'da piretroidlere karşı dayanıklılığı sağlayan 3 mekanizmanın bulunduğunu ifade etmektedir. Bunlar sinir duyarsızlığı, karışık-

fonksiyonlu oksidaz aktivitesi ve penetrasyonun bloke edilmesidir. Bu mekanizmalardan ilk ikisinin genetik esasları belirlenmiştir.

Phokela and Mehrotra (1989), hassas ve piretroidlere dayanıklı *Heliothis armigera* larvalarında cypermethrin'in kütikuladan geçirgenliği ve tüm larva dönemi süresince cypermethrin'in metabolizmasını incelemişlerdir. Böceklerde dayanıklılık seviyesi ile cypermethrin'in penetrasyon oranı arasında bir korelasyon görülmemiştir. Ancak, cypermethrin dayanıklı böceklerde, hassaslardan daha yüksek oranda metabolize edilmiştir. Bu nedenle, piretroid dayanıklılığının böceklerde bu insektisitlerin yüksek oranda metabolize edilmelerinden dolayı olabileceği düşünülmektedir.

Dary et al. (1990), Gomori doku boyama yönteminin, "mikro-plate" yöntemine uyarlanması şeklinde bir uygulama kullanılarak, tek böcek düzeyinde, total olarak esteraz enzimi aktivitesi saptanması üzerindeki çalışmayı ayrıntılı olarak vermektedir.

Devonshire (1990), dayanıklılık çalışmalarında biyoassay çalışmalarının esas olmasına rağmen, bu çalışmaların böcek popülasyonlarında biyokimyasal ve genetik değişikliklerin nasıl geliştiğine ışık tutan diğer metotlar tarafından tamamlanması gerektiğini bildirmektedir.

Gunning et al. (1990), Avustralya'da *H. armigera*'nın 1974-1978 yılları arasında DDT'ye karşı oldukça dayanıklı (500 kat), fakat piretroidlere karşı tamamen duyarlı olduklarını ve 1979 yılında piretroidlerin *H. armigera*'ya karşı kullanımını takiben, DDT'ye karşı dayanıklılığın önemli oranda düştüğünü, fakat 1983 yılında *H. armigera*'nın piretroidlerin dayanıklılık kazandığında yeniden ortaya çıktığını bildirmektedirler. Veriler, başlangıçtaki güçlü DDT dayanıklılığının DDT-dehidroklorinaz nedeniyle olabileceğini göstermektedir. DDT-dehidroklorinaz enzimi sadece DDT'yi toksik olmayan hale dönüştürmektedir.

Plapp et al. (1990), Teksas'ta 1986 yılında *Heliothis virescens* (F.)'te piretroid insektisitlere karşı dayanıklılığı belirlemek amacıyla ilaç uygulanmış cam şişe tekniğini geliştirmişlerdir. Bu tekniğin kullanımı Arkansas ve Louisiana'da 1986 sonlarında ,

Mississippi ve Oklahoma'da 1987 yılında yaygınlaşmıştır. 1986-1988 arasında 57.000'den fazla böcek denemeye alınmış ve elde edilen veriler her bölgede ve her yıl dayanıklılık olduğunu göstermiştir.

Tabashnik(1990), günümüze kadar yapılan çalışmalar sonunda, en iyi anlaşılabilen direnç mekanizmasının toksik maddenin parçalanma hızında artış şeklinde ifade edilen olduğunu ve bunun biyokimyasal direnç olarak isimlendirilebileceğini belirterek; gen amplifikasyonu şeklinde ifade edilen, DNA zinciri veya bir genin kopyalarının artması olayından, direnç gelişimi ve yönetiminde enzimlerden sorumlu genler üzerinde iç ve dış kaynaklı kimyasal maddeler yardımıyla uyarılar yapılarak, direnç yönetiminde yararlanılması hakkında bilgileri ve uygulamaları aktarmaktadır.

Walker et al. (1990) tarafından piretroidlere karşı dayanıklılıktan sorumlu enzimlerin belirlenmesi amacıyla, *H. virescens*' in piretroidlere dayanıklı bir ırkında (PEG87) C¹⁴ ile etiketlenmiş trans cypermethrin'in metabolizması çalışılmıştır. Piperonil butoksit (PBO) 3. dönem larvalara verildiğinde, trans cypermethrinin oksidatif metabolizmasında güçlü bir engelleme görülmüştür ve boşaltımda etiketlenmiş metabolitlerin boşaltımla birleşme oranı çok yavaşlamıştır. *H. virescens*'in 4 dönem larvaları ile yapılan laboratuvar çalışmaları, NADP-bağımlı mikrozomal monooksijenazlar tarafından trans cypermethrinin oksidatif metabolizmasının hızlı olduğunu göstermiştir. Esteraz hidrolizleri ise nispeten yavaş olmuştur. Bu sonuçlar, sistemin katalitik merkezi olan sitokrom P-450 ile birlikte bir mikrosomal monooksijenaz sisteminin PEG 87 popülasyonunda piretroidlere karşı dayanıklılıkta önemli bir faktör olduğunu delilidir.

Yu (1991), *Spodoptera frugiperda*'nın Kuzey Florida'dan toplanan bir popülasyonunun yaygın olarak kullanılan insektisitlere karşı dayanıklılık gösterdiğini bildirmektedir. Piretroidlere karşı dayanıklılık 2-216 kat; en yüksek dayanıklılık seviyesi fluvinate'ye karşı gözlenmiştir. Organikfosfor'lara karşı dayanıklılık 12-271 kat, karbamatlılara karşı dayanıklılık 14-192 kat aralığında gözlenmiştir. Detoksikasyon enzim assayleri, mikrozomal oksidaz ve hidroliz enzim aktivitelerinin, tarla popülasyonunda hassas popülasyondan 1.4-6.6 kat daha fazla olduğunu göstermiştir. Sitokrom P450 ve

sitokrom *b₅* düzeyleri, tarla popülasyonlarında hassas popülasyondan 1.7 ve 1.3 kat daha fazla bulunmuştur.

Reddy et al. (1991) , Hindistan'ın Andhra Pradesh bölgesindeki *H. armigera*'nın 3 farklı popülasyonunda insektisitlere karşı dayanıklılık gelişimini izlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, denemeye alınan insektisitlere karşı en yüksek dayanıklılık Gunter popülasyonunda bulunmuştur. Bu popülasyonda monocrotophos, endosulfan, carbaryl ve fenvalerate'ye karşı sırasıyla 1.8492, 2.1899, 2.2405 ve 2.2822 kat dayanıklılık bulunmuştur. Yine aynı ilaçlara karşı Rangareddy popülasyonu 1.1462, 1.1544, 1.0156 ve 1.9452 kat dayanıklılık göstermiştir.

Elzen et al. (1992) dört tip laboratuvar bioassay yöntemini kullanarak 1990 yılında Louisiana'dan toplanan *H. virescens* popülasyonlarının farklı gruptan insektisitlere karşı dayanıklılığını belirlemişlerdir. Topikal aplikasyon bioassayleri cypermethrin'e karşı 13-15 kat , profenofos'a karşı 7-12 kat, sulprofos'a karşı 7-10 kat dayanıklılık olduğunu göstermiştir.

Ernst and Dittrich (1992), birbirine yakın üç *Heliothis* türünün insektisitlere karşı dayanıklılığının karşılaştırmalı olarak belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, Türkiye'den toplanan *H. armigera* türünün profenofos için LD₅₀ değerini 118 ng / larva ve dayanıklılık oranını da 2 olarak bulmuşlardır. Cypermethrin için LD₅₀ değeri 95.3 ng/larva, dayanıklılık oranı ise 17 olarak bulunmuştur. Monocrotophos için bu değerler LD₅₀ > 1000 ng / larva , ve dayanıklılık oranı ise > 5 olarak bulunmuştur.

Yu (1992) tarafından yapılan bir çalışmada,1990 yılında Florida'nın Güney ve Orta bölgelerindeki mısır tarlalarından toplanan *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)'nın iki tarla popülasyonunun yaygın olarak kullanılan insektisitlere karşı dayanıklılık gösterdiği belirlenmiştir. Piretroidlere karşı dayanıklılığın 3-264-kat arasında değiştiği ve en yüksek dayanıklılık seviyesinin fluvalinate'ye karşı gözlemlendiği bildirilmektedir. Organik fosforlara karşı dayanıklılık 11-517 kat arasında değişmekte ve en yüksek dayanıklılık seviyesi methyl parathion'a karşı gözlenmiştir. Karbamatlılara karşı ise en yüksek seviyede carbaryl'e karşı olmak üzere 10-507 kat olarak gözlenmiştir. Yine aynı

çalışmada detoksifikasyon enzim assayleri mikrosomaloksidaz (epoksidazlar, hidroksilaz, sulfoksidaz, N-dimetilaz ve o-dealkilaz), glutathione transferaz (DCNB ve CDNB), hidroliz (genel esterase, kaboksilesteraz, β -glukosidaz ve asetilkolinesteraz) ve reduktaz (sitokrom c reduktaz) enzimlerinin aktivitelerinin tarla popülasyonlarında hassas popülasyonundakinden 1.2-11.0 kat daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Allelokimyasalların besinlerle veya konukçu bitkilerle verildiği böceklerde açık bir şekilde birçok pestisit metabolizması artar (Hodgson et al. 1991).

Horowitz and Ishaaya (1992), İsrail'de pamuk tarlalarında "İnsektisit Dayanıklılığı Yönetimi" (IRM) amacıyla yaptıkları çalışmalarda *H.armigera* 'da test edilen insektisitlere karşı erginlerin toleransı, yetiştirme mevsimi süresince dalgalanmalar göstermiştir. Bu insektisitlere karşı başarılı bir dayanıklılık yönetimi sağlanmış ve IRA stratejisinin uygulandığı yıllarda dayanıklılıkta bir artış gözlenmemiştir.

Martin et al. (1992), cypermethrin, endosulfan, methomyl, profenofos ve sulprofos'un topikal bioassay yöntemiyle *H. virescens*'in Louisiana, Mississippi ve Texas'tan toplanan tarla popülasyonları ve laboratuvar popülasyonlarına uygulamasından elde edilen verilere göre, tarla popülasyonlarının cypermethrin'e karşı yüksek seviyede (1-42x), profenofos ve sulprofos'a karşı orta seviyede (1-6x) ve methomyl'e karşı yüksek seviyede (2-12x) dayanıklılık geliştirmişlerdir. Bunun aksine, endosulfan için LD₅₀ değeri tarla popülasyonlarında laboratuvar popülasyonundan daha düşüktür. İlaçlama çemberi bioassay'i ise cypermethrin, endosulfan, profenofos ve thiodicarb'ın tarla popülasyonlarına karşı etkinliklerinin azaldıklarını göstermiştir.

Kanga and Plapp (1992), *Heliothis virescens* ve *Anthonomus grandis* Boh.'te organikfosforlu ve karbamatlılara karşı dayanıklılığın izlenmesi için cam şişe (glass vial) tekniği geliştirilmiştir. Laboratuvar verileri Lorsban ve Curacron'un cam şişelerdeki kalıntı toksisitesinin oda sıcaklığında bir hafta içinde yok olduğunu, fakat dondurucuda tutulanlarda yok olmadığını göstermiştir. Toksikite kaybının insektisit buharlaşmasından çok hidroliz nedeniyle kaybolduğu belirlenmiştir. Benzoik veya

dekanoik asit gibi organik asitlerin eklenmesiyle kalıntı süresi büyük oranda arttırılmıştır.

Allelokimyasalları içeren xenobiotiklerin ve pestisitlerin metabolizması için üç detoksifikasyon enzim sistemi, polysubstrat monooxygenaz (PSMO), genel esteraz(GE) ve glutathionae S-transferaz (GST) yaygın olarak kabul edilen en önemli biyokimyasal mekanizmalardır (Wheeler et al.1993).

Kanga et al. (1993), *Heliothis virescens* (F)'de organikfosforlu, karbamatlı ve cyclodiene insektisitlere karşı dayanıklılığı izlemek amacıyla ergin cam şişe testleri geliştirmişlerdir. Laboratuvarda elde edilen veriler organikfosforlu (chlorpyriphos, profenofos), karbamatlı (methomyl) ve cyclodiene (endosulfan) insektisitlerin toksisiteleri oda sıcaklığında 2-4 günde yok olduğu, fakat, buzdolabında bekletilenlerde 60 gün kalabildikleri belirlenmiştir. Cam şişelerdeki toksisite kaybının buharlaşmadan çok hidroliz nedeniyle olabileceği gösterilmiştir. Tarla izleme verileri birçok *H. virescens* popülasyonunda organik fosforlu, karbamatlı ve cyclodiene insektisitlere karşı dayanıklılığın varlığını göstermiştir.

Lagadic et al (1993)' ın bildirdiğine göre, Lagadic (1991) tarafından yapılan bir çalışmada *Spodoptera littoralis*'in insektisitlere dayanıklı ırkında GST aktivitesinin artmasının yanında sitokrom P450 (2.9 kat) ve sitokrom b5 (2.1 kat) içeriğinin de arttığı gözlenmiştir. Bu durum diğer birçok dayanıklı böcek ırkları ve akarlarda da olduğu gibi dayanıklı *S. littoralis*'te insektisit dayanıklılığı, polyvalent xenobiotic detoxifying sisteminde birçok biyotransformasyon enziminin yer aldığını göstermektedir. Substrate olarak CDNB kullanıldığında lindane uygulanmış dayanıklı *S. littoralis* larvalarında, lindane uygulanmamış hassas larvalara göre 2 kat fazla GST aktivitesi görülmüştür. Substrate olarak DCNB kullanıldığında GST aktiviteleri arasında fark görülmemiştir

Horowitz et al. (1993), İsrail'de 1987'den sonra pamuk ekim alanlarında *H. armigera* için İnsektisit Dayanıklılık Yönetimi (IRM) stratejisini geliştirmişlerdir. Bu stratejinin etkinliğini belirlemek amacıyla, zararlının endosulfan, cypermethrin, methomyl ve methidathion'a karşı duyarlılıkları 1987-1991 yılları arasında uzun dönemde izlenmiştir.

Feromon tuzaklarda yakalanan erkekler, insektisitlerin teşhis konsantrasyonlarının (LC₈₀₋₉₀) cam şişelerdeki kalıntısına maruz bırakılmıştır. Genel olarak, mevsim boyunca dalgalanmalar görülmesine rağmen 1987-1991 arasında *H. armigera*'nın bu insektisitlere karşı duyarlılıkları önemli oranda değişmemiştir. Çoğu zaman, dayanıklılık seviyesi sezon boyunca tipik V-şeklinde eğri çizerek dalgalanma göstermiştir. Bu çalışma süresince *H. armigera*'nın değişik insektisitlere karşı gösterdiği duyarlılık, IRM stratejisinin bu zararlıda başarılı dayanıklılık yönetimi için yapılan önerilerle uygunluk göstermiştir.

Gunning (1994), *Helicoverpa armigera* (Hubn.)'da piretroid dayanıklılığının naftil esterleri hidrolize etme yeteneğinin artışı ile ilgili olduğunu bildirmektedir. Dayanıklı *H. armigera* hassaslarda olmayan esteraz enzimlerine sahiptir. Bu enzimler C¹⁴ fenvalerate'yi bağlar ve metabolize ederler. Bütün hayat dönemlerinde belirlenebilen, ekstra esterazlar elektroforezden sonra poliakrilamid jeller üzerinde görülebilirler. En yüksek dayanıklılığa sahip *H. armigera* (fenvalerate'ye karşı yaklaşık 300 kat), hassas bireylerden yaklaşık 50 kat daha fazla enzime sahiptir. Dayanıklı bireylerdeki böyle çok miktardaki esteraz, piretroidlerin önemli bir miktarını parçalayabilir ve tutabilir.

Bin (1994), dayanıklı ve hassas populasyonlarda 6.dönem *H. armigera* larvalarının midesinden elde edilen esteraz aktivitelerinin biyokimyasal analizleri, dayanıklı populasyondaki aktivitenin hassas populasyondaki aktivitenin iki katı olduğunu göstermiştir (dayanıklı ve hassas populasyondaki aktivite sırasıyla 5.96×10^{-4} mM / mg protein/min ve 2.9×10^{-4} mM / mg protein/min). Esteraz inhibitörü trifenil fosfatın (TPP), dayanıklı ve hassas populasyonlar arasında fenvalerate'nin toksisitesine etkisinin araştırılmasından sonra, esterazların önemli olmadığı kanısına varılmıştır. Diğer taraftan, in vivo da 6. dönem larvanın midesinde trifenil fosfatın engelleme oranı, esteraz aktivitesini dayanıklı ve hassas populasyonlarda sırasıyla %22.3 ve %15.5 oranında azaltmıştır. Elde edilen sonuçlardan, dayanıklı ve hassas populasyonlardan elde edilen karboksil esteraz aktivitesinin benzer olabileceği ve piretroid dayanıklılığı ile bir bağlantısının olmayabileceği sonucuna varılmıştır.

Ahmad et al. (1995) tarafından yapılan bir çalışmada, Pakistan'da 1991-1993 yıllarında değişik bölgelerden toplanan *Helicoverpa armigera* (Hüb.)'da yaprak daldırma metodu ile yapılan laboratuvar bioassay denemelerinde, tarladan toplanan popülasyonları laboratuvar popülasyonları ile karşılaştırmışlar ve tarla popülasyonlarının cypermethrin ve monocrotophos'a karşı orta ve yüksek seviyede dayanıklılık geliştirdiğini belirlemişlerdir. Endosulfan'a karşı direnç orta derecede, chlorpyrifos, profenofos ve thiodicarb'a karşı direnç ise düşük bulunmuştur.

Gunning (1995), *Helicoverpa armigera*'da thiocarb dayanıklılığını ilk defa 1993'te belirlenmiştir. O zamandan sonra dayanıklı bireylerin sıklığı artmış ve pamuk üreticileri arasında mısır ve tahıla ilgi artmıştır. Thiocarb'a karşı dayanıklılık seviyesi yaklaşık 35 kat ve methomyl ve carbaryl gibi diğer karbamatlara karşıda çapraz dayanıklılık oluşmuştur. Thiocarb dayanıklılığında sorumlu mekanizma duyarlı bir hedef bölgedir. Dayanıklı bireyler, neurotransmitter asetilkolin esterase (AChE)'nin karbamatlara kısmen duyarlı bir formuna sahiptir. Dayanıklılık mekanizması etkili bir şekilde dominant olduğundan, dayanıklı bireyler ya heterozigot ya da homozigot olabilirler. AChE'nin %70 engellenmesiyle, thiocarb'a maruz kalan dayanıklı bireyler yaşamını sürdürebilir. Bu dayanıklılık mekanizması gelişmeye az bir zarar verir ve dayanıklı larva daha yavaş gelişir.

Yanchao and Runxi (1995), pestisit karışımının *H. armigera*'da dayanıklılık gelişimi üzerine etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, pestisitler karışım halinde uygulandığında dayanıklılık artışının çok yavaş olduğunu, bunun aksine, sadece tek bir pestisit uygulandığında dayanıklılığın hızlıca arttığını gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte, iki insektisitten oluşan karışım uygulandığında ise dayanıklılıkta orta derecede bir artış olduğunu belirlemişlerdir.

Alaux (1995), dayanıklılık yönetiminde insektisit kombinasyonlarının kullanımının, insektisitlerin dönüşümlü kullanımından daha iyi sonuç verdiğini belirtmektedir. Küçük dozlarda ve yüksek sıklıkla uygulama yapmak, yüksek dozda ve düşük sıklıkta uygulamadan daha iyi bulunmuştur.

Yu (1995), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)'nın larvasına ait orta barsak ve vücut yağından GST izozimleri izole edilmiş ve saflaştırılmıştır. Orta barsak , MG GST-1, MG GST-2, MG GST-3, MG GST-4 ve MG GST-5 olarak isimlendirilen beş izozime sahiptir ve bunların herbiri 26,700-30,000 molekül ağırlığına sahip alt ünitelerden oluşan heterodimer yapıdadırlar. Bu izozimlerin pI değerleri 4.6- 6.0 arasında değişmektedir. Larval gelişme süresince izozim kompozisyonunda kalitatif bir fark gözlenmemiştir. Vücut yağı FB GST-1, FB GST-2 ve FB GST-3 olarak isimlendirilen üç izozime sahiptir ve bunların herbiri 20,100-29,000 molekül ağırlığında alt ünitelerden oluşan homodimerdirler. Bu izozimlerin pI değerleri 4.4 - 6.5 arasında değişmektedir. Spesifik izozim antisera kullanılarak, MG GST-2, MG GST-3, FB GST-2 ve FB GST-3 muhtemelen bazı ortak alt üniteleri paylaşmaları nedeniyle, immünojenik olarak bağlantılı (benzer) bulunmuşlardır. MG GST-2, MG GST-3 aynı zamanda larval malpighi tüplerinden elde edilen GST ile de immünojenik olarak ilgili bulunmuştur.

Yunxi et al. (1995). Çin'de *H. armigera*'da methomyl için dayanıklılık oranı seçilen popülasyonda 86.08 kat ve Liao Cheng tarla popülasyonunda 1995 yılında 119.16 kat bulunmuştur.

Leonova and Slynko (1996), detoksifikasyon enzim assaylerinin kelebeklerde ve 4. dönem larvalarda, toksisite denemelerinin ve etiketlenmiş insektisitlerle metabolizma çalışmalarının yapıldığı dönemde, esteraz ve GST aktivitelerinin oldukça benzer olduğunu ortaya çıkartmıştır. Spesifik monooksijenaz aktivitelerinin böcek dönemi veya sitokrom P450 içeriği ile ilgisi yoktur. Beklendiği gibi, daha yaşlı larvalar en yüksek enzim aktivitesine sahiptirler. Böylece *Heliothis armigera* da model substratları kullanarak enzimatik sistemin in vitro detoksifikasyon çalışmalarının, *H. armigera*'nın belirli insektisitlere karşı duyarlılık mekanizmasını açıklayacak kadar faydalı olmadığını bildirmektedirler.

Tan and Guo (1996), *Heliothis armigera*'nın deltamethrin'e duyarlılığı ve detoksifikasyon enzimlerinin aktiviteleri üzerinde konukçu bitkilerin etkilerini araştırmak amacıyla yaptıkları bir çalışmada, 5 farklı besinle beslenen larvaların deltamethrine karşı duyarlılıkları önemli oranda farklılık göstermiştir. Farklı besinler

üzerindeki maksimum ve minimum LD₅₀ değerleri arasındaki oran yaklaşık 60 kat bulunmuştur. Test larvalarında α -naftilasetat esterase ve aldrin epoksidaz'ın aktivite seviyeleri, deltamethrine karşı tepkilerle ilgili bulunmuştur. *H. armigera*'nın gelişimi sırasında dışsal maddelerin metabolizmasında α -naftilasetat esterase ve aldrin epoksidaz'ın önemli olduğunu ve bu enzimlerin harekete geçmesinin deltamethrine karşı dayanıklılığı etkileyebileceğini bildirmektedirler.

Yidong and Jinliang (1996), Çin' de fenvalerate dayanıklılığının mekanizması ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, *H. armigera* populasyonlarında fenvalerate dayanıklılığında esteraseların önemli olmadığını ve dayanıklılığın esas olarak MFO'nin metabolik mekanizması nedeniyle olduğunu bildirmektedirler. Bunun yanında C¹⁴ fenvalerate'nin penetrasyonu hassas popülasyonda dayanıklı popülasyona göre daha yüksek bulunmuştur. Azalan kutikular penetrasyonun fenvalerate dayanıklılığından sorumlu bir faktör olabileceği düşünülmektedir. Seleksiyon işleminde, dayanıklı popülasyon DDT'ye karşı çapraz dayanıklılığa sahiptir. Bu, *H. armigera*'da sinir duyarlılığının fenvalerate'ye dayanıklılıktan sorumlu diğer bir mekanizmanın olabileceğini göstermektedir.

Gunning et al. 1997, Etkili bir dayanıklılık yönetimi ve insektisitlerin ekonomik kullanımı için, ilaçlamaya karar verilmeden önce böceklerin dayanıklılık durumunun bilinmesi gerektiğini, fakat bunun standart biyoassay metodlarını kullanarak mümkün olmadığını bildirmektedir. Ancak, dayanıklılığın bütün biyokimyasal mekanizmaları belirlenebilirse, dayanıklılığın gen frekansını izlemek için, eğer pratikse, biyokimyasal deneyler kullanılmalıdır. *H. armigera*'da, biyokimyasal mekanizmaların şimdilik piretroid ve karbamat dayanıklılığından sorumlu olduğu anlaşılmıştır. Esteraz izozimlerinin ayrılması ve enzim titresindeki kantitatif değişiklikler dayanıklılık faktörleriyle ilgilidir. *H. armigera*'da esterase, piperonil butoksit (PBO) tarafından kısmi olarak engellenir. AChE aktivite assayleri, karbamatlı insektisitler ve protein arasındaki interaksyonu doğrudan ölçer. Ancak, yeni mekanizmaların ortaya çıkışı veya önceden mevcut olan knockdown dayanıklılık (Kdr) mekanizmasına bağlılığı dikkat edilmelidir

H. armigera'da biyokimyasal assaylerin, belirli piretroid ve karbamatlara karşı dayanıklılık mekanizmasının izlenmesi için mükemmel bir yol olduğunu ve biyokimyasal deneylerden elde edilen piretroid ve karbamatlara karşı dayanıklılık izleme verilerinin standart biyoassaylerden elde edilen verilerle yakından ilgili olduğunu bildirmektedirler. Bunun yanında, biyokimyasal assaylerle her böcekte piretroid ve karbamatlılara karşı dayanıklılık durumunun ayırt edilebileceğine değinmektedirler.

Heckel et al. (1997), *H. armigera*'nın DDT, organikfosforlu ve piretroidlere karşı dayanıklılık geliştirdiğini ve muhtemelen *Bacillus thuringiensis* (Bt)'e karşı da dayanıklı olduğunu bildirmektedirler. Dayanıklılık Çin, Hindistan, Avustralya ve Tayland' da yaygındır ve birçok ülkede de bulunduğu dair rapor vardır. *H. armigera*'da OP ve karbamat dayanıklılığı azalan penetrasyon, artan detoksifikasyon ve /veya duyarsız AChE nedeniyledir. Piretroid dayanıklılığı azalan penetrasyon, artan hidroliz, monooksijenazlar tarafından artan metabolizma ve/veya sinir duyarsızlığı nedeniyledir. Böylece *H. armigera* geniş bir dayanıklılık mekanizmasına sahiptir.

Casida and Quistad (1998), dayanıklılığın yönetimi için en etkili yöntemin seleksiyon baskısını azaltmak ve sınırlı sayıdaki yeni ve kullanışlı kimyasal maddeleri korumak olduğunu belirtmektedirler. Araştırmacılar, insektisit kullanımının dikkatlice planlanmasının ve zararlı populasyonlarındaki dayanıklılık genlerinin (veya ilgili enzim ve kanalların) sürekli izlenmesinin gerekli olduğuna değinmektedirler.

Harold et al. (1999), *H. virescens*'de profenofos'a karşı dayanıklılığın metabolik mekanizmasını belirlemek amacıyla mikropate ve elektroforetik assay yöntemlerini kullanmışlardır. Ortalama esteraz (EST) aktiviteleri profenofos'a dayanıklı larvalarda, hassas larvalardan daha yüksek bulunmuştur. Buna ek olarak, alfa- ve beta- naftil asetat ile boyanan elektroforetik jellerde kalitatif ve kantitatif farklılıklar gözlenmiştir. Esterazların boyanması dayanıklı larvalarda hassaslardan daha yoğundur ve esterazlar, profenofos'a dayanıklı larvaların % 100'ünde belirlenmesine rağmen kontrol edilen hassas bireylerde yoktur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Denemenin ana materyalini, *H. armigera*'nın hassas (İsrail), Adana, Hatay ve Antalya'da bulunan pamuk ekim alanlarından toplanan tarla populasyonları ile bu populasyonların laboratuvarında beslenmeleri için hazır böcek besini, biyoassay çalışmaları için insektisitlerden endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin, biyokimyasal çalışmalar için p-nitrofenol, p-nitrofenil asetat, glutatyon, asetil tiokolin iyodit, DTNB, CDNB ve değişik kimyasallar oluşturmaktadır.

Bioassay çalışmalarında mikroadaptör, farklı kapasitelerde mikropipetler, cam tüpler, mikrosiringa, parafilm, fırça, farklı hacimlerde cam ölçü balonları ve pipet gibi malzemeler kullanılmıştır.

Biyokimyasal çalışmalarda ise, Jasco Marka UV spektrofotometre, Biotec EL-311 Marka mikropate okuyucu, 96 kuyulu ve düz tabanlı mikropate'ler, farklı devirlerde çalışan soğutmalı santrifüj ve ultrasantrifüj, homojenizatör, tüp karıştırıcı, etüv, derin dondurucu, tek ve çok kanallı mikropipetler, değişik cam ve plastik malzemeler kullanılmıştır. Denemeler 1998-2000 yılları arasında Ankara Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsünde yürütülmüştür.

3.1.1. *Heliothis armigera* populasyonları

H. armigera'nın hassas popülasyonu İsrail'de Volcani Center'de bulunan Tarımsal Araştırma Organizasyonu'ndan temin edilmiştir. Tarla popülasyonları ise ülkemizde pamuk ekim alanlarının en fazla olduğu ve yoğun insektisit kullanılan bölgelerimizi temsilen Akdeniz bölgesinden Adana, Hatay ve Antalya illerinden toplanmıştır. Bu illerde pamuk ekim alanları dolaşarak pamuk bitkileri üzerinde farklı dönemlerde bulunan *H. armigera* larvaları toplanmıştır. Toplanan larvalar Ankara Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü laboratuvarına getirilmiş ve laboratuvarında kültüre alınmıştır.

Laboratuvarlarda larvaların beslenmesi için Southland Product Inc. (Amerika)'dan temin edilen hazır böcek besini kullanılmıştır. 162 gram hazır besin ile 930 mililitre kaynamış saf su bir blender de 3-4 dakika karıştırılarak hazırlanan besin 5.5 cm çaplı disposable petrilere yaklaşık yarısını dolduracak şekilde konarak, soğuduktan sonra bunların üzerine beslenmeleri için larvalar bırakılmıştır. Larvalar pupa oluncaya kadar bu besinle beslenmişlerdir. Pupalar, içinde odun talaşı bulunan 25x20x15 cm boyutlarındaki plastik kaplara alınmıştır. Ortalama 10 günlük pupa döneminden sonra erginler çıkmıştır. Erginler 20 cm yükseklik ve 18 cm çaplı plastik silindir kaplarda tutulmuştur. Bu plastik silindirin iç kısmı 3-5 kat filtre kağıdı ile kaplanmıştır. Silindirin üst kısmı kelebeklerin yumurta bırakması için tülbentle kapatılmıştır.

Besin olarak %10 bal ve %20'lik şekerli su emdirilmiş pamuk bir petri içinde, bu silindirin iç kısmına yerleştirilmiştir. Bu silindir içine yaklaşık 100 adet değişik yaşlarda ergin bırakılmıştır.

Silindirin üst kısmına kapatılan tülbent her gün değiştirilerek, aynı yaşta yumurtalar elde edilmiştir. Tülbent üzerindeki yumurtalar kapalı bir kutu içinde formaldehidli atmosferde 5 saat tutularak sterilize edilmiştir (24 litrelik hacim için 6 ml formaldehid solusyonu bir petri içindeki pamuk üzerine dökülür). Buradan alınan yumurtalar 30 dakika açık havada tutulduktan sonra, kapalı bir kutu veya petri içine alınmıştır. Yaklaşık 3 gün sonra yumurtalar açılmıştır.

H. armigera kültürlerinin yetiştirilmesi 27 ± 2 °C sıcaklık, %60-90 nem ve 16:8 saat aydınlık ve karanlık fotoperiyot koşullarına sahip iklim dolaplarında yapılmıştır.

3.1.2. İnsektisitlerin seçimi

Denemelerde kullanılan insektisitler, ülkemizde pamuk ekim alanlarında *H. armigera*'ya karşı yoğun olarak kullanılmış yada kullanılan ve teknik talimatlarda yer alan insektisitler arasından seçilmiştir. Denemelerde kullanılan insektisit isimleri ve grupları çizelge 3. 1.'de verilmiştir.

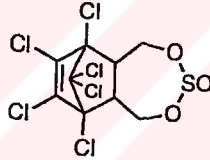
Çizelge 3.1. Denemelerde kullanılan insektisitler

Insektisit Adı	Grubu	Firması
Endosulfan %96	Klorlandırılmış Hidrokarbonlular	Hektaş
Profenofos %99	Organik Fosforular	Novartis
Methomyl %99.8	Karbamatlılar	Dupont
Tralomethrin %97.5	Sentetik Piretroidliler	Dupont
Lambda-cyhalothrin 98.7	Sentetik Piretroidliler	Zeneca

Endosulfan

Endosulfan, klorlandırılmış hidrokarbonluların bir alt grubu olan cyclodien'ler grubundandır.

Açık formülü:



Kimyasal adı: (6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3-benzodioxathiepine 3-oxide.

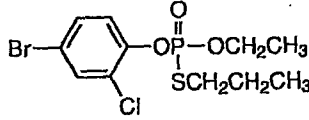
İki stereoizomerin karışımından oluşur: alfa-endosulfan, endosulfan(I), sterokimyası 3 α ,5 α ,6 α ,9 α ,9 α β-, teknik maddenin %64-67' sini oluşturur. Beta endosulfan, endosulfan (II), sterokimyası 3 α , 5 α , 6 β , 9 β , 9 α -, teknik maddenin %29-32'sini oluşturur.

Kapalı formülü C₉ H₁₆ Cl₆O₃S, molekül ağırlığı=406.9 olan renksiz kristaller formundadır. Alfa endosulfan ve beta endosulfanın suda çözünürlüğü sırasıyla 0.32 ve 0.33 mg/l (22°C)'dir. GABA reseptör-klorid kanal kompleksinin antagonistidir. Kontak ve mide etkili, sistemik olmayan bir insektisit ve akarisitir. Çiğneyici ve emici ağız yapısına sahip birçok böcek ve akar türünün mücadelesi için çok sayıda agroekosistemde kullanılır. Tarla koşullarındaki kullanma dozunda arılara toksik değildir. Balıklara oldukça toksiktir. Toprakta yarılanma süresi (DT₅₀) 30-70 gündür.

Profenofos

Organikfosforlu bir insektisit ve akarisitir.

Açık formülü :



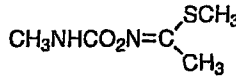
Kimyasal adı: *O*-(4-bromo-2-chlorophenyl) *O*-ethyl S-propyl phosphorothioate.

Molekül ağırlığı 373.6, molekül formülü $C_{11}H_{13}BrClO_3PS$ olan sarımsak benzeri kokulu açık sarı sıvı formundadır. Suda çözünürlüğü 28 mg/ml (25 °C)'dir. Profenofos bir asetilkolinesteraz inhibitörüdür. Ayrı optikal izomerler, chiral fosfor atomu nedeniyle, farklı tiplerde insektisidal etki gösterirler ve asetilkolinesterazı engelleme kabiliyetine sahiptirler.. Mide ve kontakt etkili, sistemik olmayan bir akarisit ve insektisittir. Translaminar bir etki gösterir ve ovisidal özelliğe sahiptir. Pamuk, mısır, şeker pancarı, soya fasulyesi, patates, sebze, tütün ve diğer ürünler üzerindeki böcek (özellikle Lepidoptera) ve akarların mücadelesinde kullanılır. Cypermethrin ve deltamethrin'le karışabilir. Arılara zehirlidir.

Methomyl

Methomyl karbamatlılar grubundan bir insektisittir.

Açık formülü:



Kimyasal adı: methyl *N*- [[(methylamino) carbonyl]oxy] ethanimidothiate.

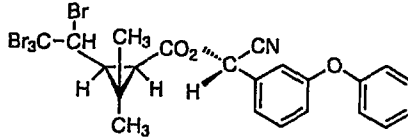
Methomyl, (Z)- ve (E)- izomerlerinin bir karışımıdır. Molekül ağırlığı 162.2 ve molekül formülü $C_5H_{10}N_2O_2S$ olan hafif sülfür kokusunda renksiz kristaller halindedir. Suda çözünürlüğü 57.9 g / l (25 °C)'dir. Kolinesteraz inhibitörüdür. Kontak ve mide etkili,

sistemik bir insektisit ve akarisitir. Birçok üründe ve birçok zararlıya karşı kullanılır (özellikle Lepidoptera, Hemiptera, Homoptera, Diptera ve Coleoptera'ya karşı). Dicofol ve tetradifon ile karışabilir. Arılara toksiktir. Toprakta hızlıca parçalanır.

Tralomethrin

Sentetik piretroid grubundan bir insektisittir

Açık formülü:

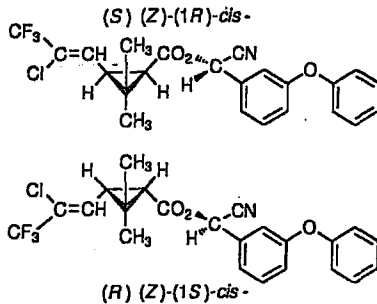


Kimyasal adı: cyano (3-phenoxyphenyl) methyl 2,2-dimethyl-3-(1,2,2,2-tetrabromoethyl) cyclopropanecarboxylate. Tralomethrin (>93 a.i.) iki aktif diastereoisomerin 60:40 oranında karışımından oluşur. Molekül ağırlığı 665.0, molekül formülü C₂₂H₁₉Br₄NO₃ olan tralomethrin turuncu-sarı renki sakız benzeri katı formdadır. Suda çözünürlüğü 80 µg/l'dir. Kontakt ve mide etkili sistemik olmayan bir insektisittir. Birçok üründe tarımsal zararlıların, özellikle Lepidoptera, mücadelesinde kullanılır. Ev zararlıları, odun korumada, halk sağlığında da depolanmış ürünleri korumada kullanılır. Arılara toksik değildir. Toprakta sıkı bir şekilde tutulur ve yarılanma süresi 64-84 gündür.

Lambda-cyhalothrin

Sentetik piretroid grubundan bir insektisittir

Açık formülü:



Kimyasal adı: [1 α (S*) ,3 α (Z)]-($\pm$)-cyano(3-phenoxyphenyl) methyl 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate.

Teknik madde %81 saflıktadır. Molekül ağırlığı 449.9 ve molekül formülü $C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$ 'dır. Renksiz katı formdadır (teknik madde koyu kahverengi/yeşil katılaştırılmış sıvıdır). Birçok zararlının mücadelesinde kullanılır. Buprofezin, primicarb, dimethoate, tetramethrin ile karıştırılabilir. Toprakta yarılanma ömrü 4-12 haftadır.

3.2. Yöntem

Denemeler, LD₅₀ değerlerinin belirlendiği biyoassay çalışmaları ve spesifik enzim aktivitelerinin belirlendiği biyokimyasal çalışmalar olmak üzere iki ayrı bölümde yürütülmüştür.

3.2.1. Biyoassay çalışmaları

H. armigera'da insektisitlerin LD₅₀ değerlerinin belirlenmesi amacıyla biyoassay denemeleri, *Heliothis*'lerde standart dayanıklılık belirleme metoduna göre yürütülmüştür (Anonymous 1970). İnsektisit aktif maddeleri aseton içinde çözündürülerek istenen dozda, ağırlık/hacim (μ g a.i./ μ l) esasına göre önce stok bir çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra bu stok çözeltiden bir sonraki doz, bir öncekinin yarısı olacak şekilde seri konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. En az 5 seri konsantrasyonda farklı dozlar hazırlanmıştır. Bu seri konsantrasyonlardan bir mikrolitrelik (1 μ l) damlacık bir mikroaplikatör yardımıyla her larvanın thoraks bölgesinin dorseline topikal olarak uygulanmıştır. Denemelerde 30-40 mg ağırlığındaki 3.dönem *H. armigera* larvaları kullanılmıştır. Larvalar uygulamadan birkaç saat önce 0.0000g hassaslığında olan terazide tartılarak, içinde yeni hazırlanmış besin bulunan 9 cm çaplı disposable petri kaplarına, her petriye 5'er adet olmak üzere ayrılmıştır. İnsektisit uygulaması larvalar bulundukları besin ortamından alınmadan yapılmıştır. İnsektisit verilen larvalar yine yetiştirme ortamı ile aynı koşulları taşıyan iklim dolaplarına bırakılmıştır. Uygulamalara önce kontrolden başlanarak, sırasıyla en düşük

dozdan ve daha sonra yüksek dozlar verilmiştir. Kontrol larvalara sadece asetonla uygulama yapılmıştır. Kontrol ve deneme grubunda her bir doz için en az 30 larva kullanılmıştır.

Canlı ve ölü larva sayımları denemelerden 48 saat sonra yapılmıştır. Sayımlarda her bir larva tek tek kontrol edilerek fırça ile dokunulduğunda hareket etmeyen veya yürüyemeyen larvalar ölü kabul edilmiştir.

3.2.1.1. İstatistiksel değerlendirme

Denemelerden 48 saat sonra elde edilen sonuçlar maksimum olasılık işlemlerini ve probit analizi (Finney,1964) uygulayan bilgisayar programı POLO-PC (Robertson and Preisley 1992) kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Bu program, dozu (örneğin, her bir böceğe uygulanan a.i. miktarını) Log_{10} dozlara transfer ederek ve tepki olasılığını (toplam bireylerin sayısından ve ölü bireylerin sayısından hesaplanan) düz bir doğru ilişkisi sağlamak için probitlere dönüştürmektedir.

Analiz sonunda LD_{10} , LD_{50} , LD_{90} değerleri ve eğim değerleri belirlenmiş, LD değerleri her bir larvaya verilen mikrogram aktif madde ($\mu\text{g a.i. / larva}$) olarak ifade edilmiştir.

Denenen tüm populasyonlar için belirlenen LD_{50} ve LD_{90} 'da dayanıklılık faktörleri, her insektisit için tarla populasyonlarından elde edilen değerlerin, hassas populasyonun değerlerine bölünmesiyle elde edilmiştir.

3.2.2. Biyokimyasal çalışmalar

Biyokimyasal çalışmalarda, böceklerde bulunan ve böceklerde insektisitlere karşı dayanıklılıkta önemli rolleri olan detoksifikasyon enzimlerinden genel esterase (non-spesifik), glutatyon S-transferaz ve asetilkolinesteraz enzimleri ele alınmış ve bunların spesifik aktiviteleri belirlenmiştir.

3.2.2.1. Genel esteraz (non – spesifik) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Genel esteraz enzim aktivitesinin belirlenmesi van Asperen (1962) tarafından kullanılan yöntemle göre yürütülmüştür. Bu metot, substrat olarak kullanılan propan-2-ol'den esteraz enzimi sayesinde ürün olarak oluşan p-nitrofenol'ün spektrofotometrik olarak 404 nm'de okunmasına dayanır. Örneklerin hazırlanması ise Yu (1991)'e göre yapılmıştır. Bu enzim aktivitesinin belirlenmesi için 1-2 günlük 6.dönem larvalar kullanılmıştır. Larvalar bulundukları besin ortamından alınarak 3 saat aç bırakıldıktan sonra buz üzerine konarak hareketsiz kalmaları sağlanmış ve sonra orta barsakları çıkartılarak %1.15'lik +4 °C soğukluğunda KCl çözeltisi ile yıkanarak mide içerikleri temizlenmiştir. Bir larvanın orta barsağı, teflon-cam homojenizatör kullanılarak 5 ml soğuk 0.1 M sodyum fosfat tamponu (pH: 7.0) içinde homojenize edilmiştir. Tülbentten süzülen bu homojenat enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada substrate olarak p-nitrofenil asetat kullanılmıştır. Substrat'ın hazırlanışı aşağıdaki gibidir:

Solusyon I : Propan-2- ol ile hazırlanmış 40 mM p-nitrofenil asetat çözeltisi

Solusyon II: İçinde % 0.05 Triton X-100 bulunan Tris-HCl tamponu (pH:7.0).

1 ml Solusyon I ve 9 ml Solusyon II karıştırılarak enzim aktivitesi belirlenmesinde substrat olarak kullanılır.

Enzim kaynağı ve substrat hazırlandıktan sonra enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla 96 kuyulu bir mikropate kullanılmıştır. Mikropate'in her bir gözüne otomatik pipet yardımıyla 10 µl enzim konulmuş ve bunun üzerine 190 µl substrate ilave edilmiştir. Hazırlanan örnekler 37 °C sıcaklıkta ve karanlık ortamda 30 dakika inkübasyona bırakılıp, bu süre sonunda inkübatörden çıkartılarak 405 nm dalga boyuna ayarlanmış Biotec EL-311 Marka mikropate okuyucuda oluşan ürün miktarı için absorbans okumaları yapılmıştır. Kontrol olarak 10 µl homojenat yerine, 10µl 0.1 M Tris-HCl tampon (pH:7.0) çözeltisi kullanılmıştır. Böceklerden elde edilen enzimler 1:100 oranında homojenizasyon tamponu ile seyreltilerek kullanılmıştır.

H. armigera larvalarında protein miktarını belirlemek amacıyla Bradford (1976) metodu kullanılmıştır. Larvalarda protein miktarının belirlenebilmesi için ihtiyaç duyulan standart protein doğrusu elde etmek amacıyla, protein standardı olarak Bovine Serum Albumin (BSA) kullanılmıştır. BSA'den farklı miktarlarda alınarak bir spektrofotometre küveti içine bırakılmış ve distile su ile 100 µl'ye tamamlanmıştır. Bunun üzerine 3 ml Bradford çözeltisi eklenerek karıştırılmış ve bu karışım 10 dakika bekletildikten sonra, 595 nm dalga boyunda Jasco Marka UV spektrofotometrede absorbans değerleri okunmuştur. Denemelerde kontrol olarak 100 µl distile su kullanılmıştır. Protein miktarları ve absorbans değerleri kullanılarak bilgisayarda Excel programında standart protein doğrusu elde edilmiştir.

Larvalarda protein miktarının belirlenebilmesi için, larvalardan elde edilen enzim çözeltilerinden farklı miktarlarda (50 veya 100 µl) enzim bir spektrofotometre küveti içine konarak, üzerine 3 ml hazır Bradford çözeltisi ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu karışım 10 dakika bekletildikten sonra 595 nm dalga boyunda Jasco Marka UV spektrofotometrede absorbans okumaları yapılmıştır. Buradan elde edilen absorbans değerleri, Bradford standart protein doğrusundaki değerlerle karşılaştırılarak larvalardaki protein miktarları hesaplanmıştır.

H. armigera larvalarında enzim aktivitesinin belirlenebilmesi için p-nitrofenol ile standart bir doğru elde edilmiştir. Bu standart doğru dan denemelerde elde edilen fenol miktarı hesaplanmıştır. Standart doğrunun elde edilmesi için p-nitrofenol'un 0.01, 0.03, 0.05, 0.06 0.08 ve 0.1 mM'lık çözeltileri, Tris-HCl tamponu (pH:7.0) ile hazırlanarak yine 37 °C sıcaklıkta ve karanlık ortamda 30 dakika inkübasyona bırakılıp, bu süre sonunda inkübatörden çıkartılarak 405 nm dalga boyuna ayarlanmış mikropate okuyucuda absorbans okumaları yapılmıştır. Buradan elde edilen absorbans değerleri ve p- nitrofenol miktarları kullanılarak bilgisayarda Excel programında standart p-nitrofenol doğrusu elde edilmiştir. numunelerde saptanan esterase aktivitesi standart doğru kullanılarak hesaplanmıştır. 1 ünite enzim yukarıda anlatılan deney koşullarında 1 dakikada 1 mg enzim proteini tarafından oluşturulan 1 nmol p-nitrofenol olarak tanımlanmıştır.

3.2.2.2. Glutasyon-S- Transferaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Glutasyon S-transferaz enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Yu (1991) metodu kullanılmıştır. Bu enzim aktivitesinin belirlenmesi için de yine 1-2 günlük 6. dönem *H. armigera* larvaları kullanılmıştır. Beslendikleri ortamdan alınarak 3 saat aç bırakılan larvaların buz üzerine konarak hareketsiz kalmaları sağlanmıştır. Hareketsiz kalan larvaların orta barsakları (mide) çıkartılarak %1.15'lik KCl çözeltisi ile mide içerikleri uzaklaştırılmıştır. On adet larvanın midesi teflon-cam homojenizer kullanılarak, 15 ml soğuk 0.1 M sodyum fosfat tamponu (pH:6.5) içinde homojenize edilmiştir. Tülbentten süzülen bu homojenat önce 10,000 x g max'da +4 °C' de 15 dakika santrifüj yapılmıştır. Santrifüjden sonra tüpün üst kısmında kalan homojenat cam pamuktan süzülerek yeniden 105,000 x g max 'da +4 °C' de 1 saat ultrasantrifüj yapılmıştır. Buradan elde edilen süpernatant (tüpün üst kısmında kalan kısım) enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Protein konsantrasyonları Bradford (1976) metodu ile belirlenmiştir.

Substrate olarak 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) kullanılmıştır.

Enzim ve substrat hazırlandıktan sonra 340 nm dalga boyuna ayarlanmış Jasco Marka UV spektrofotometrede absorbanstaki değişim 5 dakika süre ile 10 saniye aralıklarla kaydedilmiştir.

3.2.2.3. Asetilkolinesteraz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Asetilkolinesteraz enzim aktivitesi Ellman et al. (1961) metoduna göre belirlenmiştir. Bu amaçla 3-5 günlük ergin *H. armigera* 'nın baş kısımları kullanılmıştır. 20 adet erginin baş kısmı çıkartılarak 10 ml soğuk 0.1 M sodyum fosfat buffer (pH:8.0) içinde homojenize edilerek tülbentten süzümüştür. Süzülen homojenat 1000 g x max'da +4 °C' de 15 dakika santrifüj edildikten sonra tüpün üst kısmında kalan homojenat enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Substrat olarak 0.075 M asetiltiyokolin iyodür çözeltisi kullanılmıştır. Biyokimyasal reaksiyonlardaki aktivite aşağıdaki reaksiyonlara dayanır:

asetiltiyokolin (ATChI) $\longrightarrow$ tiyokolin + asetat

tiyokolin + dithiobisnitrobenzoik asit $\longrightarrow$ sarı renk

Enzim aktivitesi tiyokolinin dithiobisnitrobenzoik asit (DTNB) ile reaksiyona girmesiyle oluşan sarı rengin artışıyla ölçülür. Enzim aktivitesinin ölçümü için erginlerin baş kısımlarından elde edilen homojenattan 0.4 ml alınarak bir spektrofotometre küveti içine bırakılmış ve üzerine 2.6 ml sodyum fosfat buffer (pH:8.0) ve 100 µl 0.01 M DTNB çözeltisi ilave edilmiştir. Bunlar karıştırıldıktan sonra 20 µL substrat eklenerek 412 nm dalga boyunda 10 saniye aralıklarla 5 dakika süre ile absorbans değerleri kaydedilmiştir. Bu amaçla Jasco Marka UV spektrofotometre kullanılmıştır. Bu absorbans değerleri kullanılarak nmol/min/mg protein olarak enzim aktivitesi hesaplanmıştır.

3.2.2.4. İstatistiksel değerlendirme

Tüm enzimler için elde edilen veriler SPSS (10.0.1, 1999-USA) ortamında bilgisayara kaydedildi. Gruplara göre genel esterase, glutatyon S-transferaz ve asetilkolinesteraz enzim aktivitelerinin ortalama, standart sapma, ortanca (medyan), minimum ve maksimum değerleri tanımlanmıştır. Dört populasyonun (4 grubun) ortalamaları arasında fark olup olmadığı, önce Kruskal Wallis varyans analizi ile test edilmiştir. Daha sonra ikili grupların enzim aktiviteleri ortalamaları arasında fark bulunup bulunmadığı “Çoklu Karşılaştırma” (Multiple Comparisons, Post Hoc) testlerinden “Tamhane’s T_2 ” testi ile karşılaştırılmıştır. Not: Antalya populasyonunun ölçüm değerleri normal dağılım göstermediği için genel esterase enzim aktivitesinin karşılaştırılmasında da veriler “non-parametrik” olarak kabul edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

1998- 2000 yılları arasında Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsünde yürütülen bu araştırmada, değişik bölgelerden toplanan *H. armigera* populasyonlarının endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin'e karşı duyarlılık düzeyleri incelenmiştir. Denemeler, biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerin kullanıldığı iki farklı grupta yürütülmüştür. Biyoassay yöntemlerinden topikal aplikasyonla uygulanan insektisitlerin LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri belirlenmiştir. Biyokimyasal çalışmalarda ise, *H. armigera*' da bulunan ve insektisitlere karşı dayanıklılıkta önemli etkisi olan enzimlerden genel esterase (non-spesifik), glutatyon S-transferaz ve asetilkolinesteraz enzimlerinin aktiviteleri belirlenmiştir.

4.1. Biyoassay sonuçları

Biyoassay denemelerinde İsrail'den temin edilen hassas *H. armigera* ve ülkemizde değişik bölgelerde tarladan toplanan *H. armigera* populasyonlarından bireylere standart metoda göre topikal aplikasyonla uygulanan endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin'in LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri, bu değerlerin alt ve üst limitleri ve eğim değerleri belirlenmiştir. Hassas populasyon bireylerine topikal aplikasyonla uygulanan endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin'in LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri, bu değerlerin alt ve üst limitleri ve eğim değerleri çizelge 4.1.'de verilmiştir.

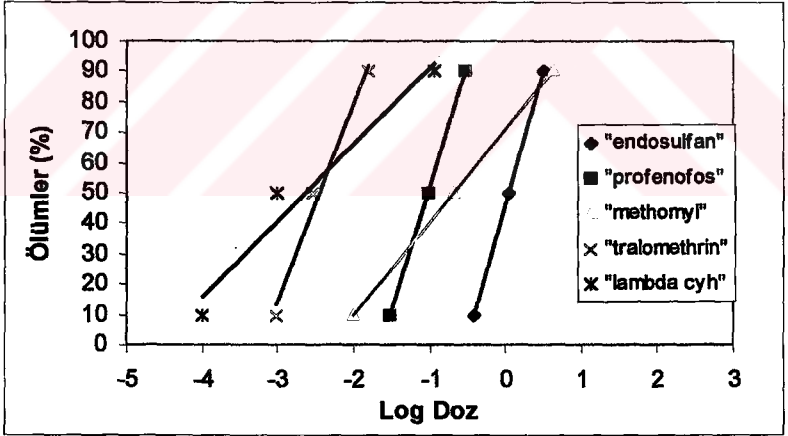
Çizelge 4.1.'den de görüleceği gibi endosulfan'ın LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri sırasıyla 1.159 ve 3.172 µg/ larva olarak bulunmuştur. Profenofos için bu değerler yine sırasıyla 0.096 ve 0.293 µg/larva, methomyl için 0.201 ve 4.143 µg/larva, tralomethrin için 0.003 ve 0.016 µg/larva, lambda-cyhalothrin için 0.001 ve 0.116 µg/larva olarak bulunmuştur.

Endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin uygulanan *H. armigera*'nın hassas populasyonuna ait logoritmik doz-%ölüm doğruları şekil 4.1.'de verilmektedir.

Aynı denemede endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin'in logoritmik doz-%ölüm doğrularının eğim değerleri de sırasıyla 2.931 ± 0.406 , 2.637 ± 0.434 , 0.975 ± 0.170 , 1.717 ± 0.274 ve 0.665 ± 0.146 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. *Heliothis armigera*'nın hassas popülasyonunun 3. dönem larvalarında topikal aplikasyonla yapılan bioassay denemelerinden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan probit analiz sonuçları

İnsektisitler	Larva Sayısı	LD ₅₀ (µg/ larva)	LD ₉₀ (µg/ larva)	Hetero jenlik	Eğim Değeri (±SH)
Endosulfan	181	1.159 (0.958-1.420)	3.172 (2.379-5.029)	0.24	2.931(±0.406)
Profenofos	140	0.096 (0.074-0.120)	0.293 (0.214-0.505)	0.69	2.637(±0.434)
Methomyl	230	0.201 (0.112-0.312)	4.143 (0.965-16.997)	0.49	0.975(±0.170)
Tralomethrin	210	0.003 (0.002-0.004)	0.016 (0.010-0.038)	0.24	1.717(±0.274)
Lambda-cyhaloth.	211	0.001 (0.000-0.003)	0.116 (0.041-1.176)	0.93	0.665(±0.146)



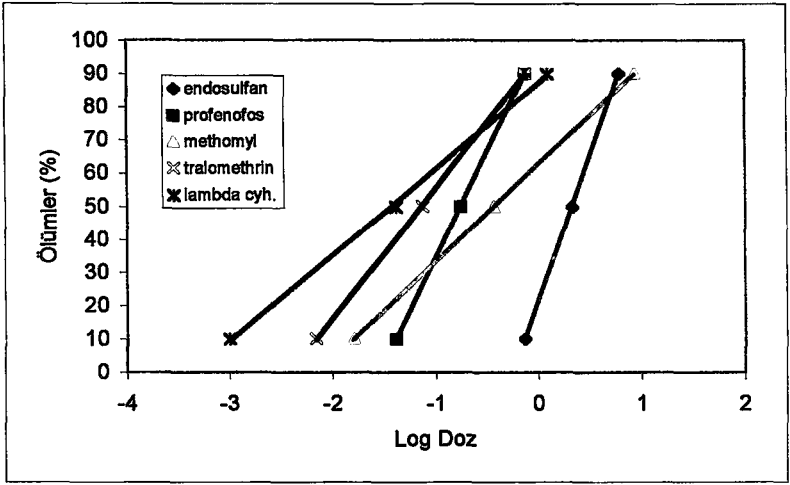
Şekil 4.1. Endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin uygulanan *Heliothis armigera*'nın hassas popülasyonuna ait logoritmik doz-%ölüm doğruları

H. armigera'nın Adana popülasyonuna topikal aplikasyonla uygulanan endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin'in LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri, bu değerlerin alt ve üst limitleri ve eğim değerleri çizelge 4.2.'de verilmiştir. Çizelge 4.2.'den de görüleceği gibi Adana popülasyonunda endosulfan'ın LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri sırasıyla 2.140 ve 6.165 µg/larva olarak bulunmuştur. Profenofos için yine bu değerler sırasıyla 0.177 ve 0.759 µg/larva, methomyl için 0.373 ve 8.569 µg/larva, tralomethrin için 0.074 ve 0.754 µg/larva ve lambda-cyhalothrin için 0.041 ve 1.249 µg/larva olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.2. *Heliothis armigera*'nın Adana popülasyonunun 3. dönem larvalarında topikal aplikasyonla yapılan biyoassay denemelerinden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan probit analiz sonuçları

İnsektisitler	Larva Sayısı	LD ₅₀ (µg/ larva)	LD ₉₀ (µg/ larva)	Hetero jenlik	Eğim Değeri (±SH)
Endosulfan	162	2.140 (1.741-2.680)	6.165 (4.460-10.802)	0.72	2.790 (± 0.436)
Profenofos	145	0.177 (0.080-0.302)	0.759 (0.402- 9.311)	2.25	2.031 (± 0.394)
Methomyl	220	0.373 (0.228-0.657)	8.569 (2.945-11.576)	0.69	0.941 (± 0.206)
Tralomethrin	180	0.074 (0.044-0.173)	0.754 (0.266- 17.221)	0.96	1.270 (± 0.037)
Lambda-cyh.	230	0.041 (0.018-0.166)	1.249 (0.251-461.59)	1.08	0.846 (± 0.235)

Adana'dan toplanan *H. armigera* popülasyonunda yine aynı ilaçlarla topikal aplikasyonla yapılan denemelerden elde edilen logoritmik doz- %ölüm doğruları şekil 4.2.'de verilmektedir. Eğim değerleri endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin için sırasıyla 2.790±0.406, 2.031±0.394, 0.941±0.206, 1.270±0.037 ve 0.846±0.235 olarak bulunmuştur.



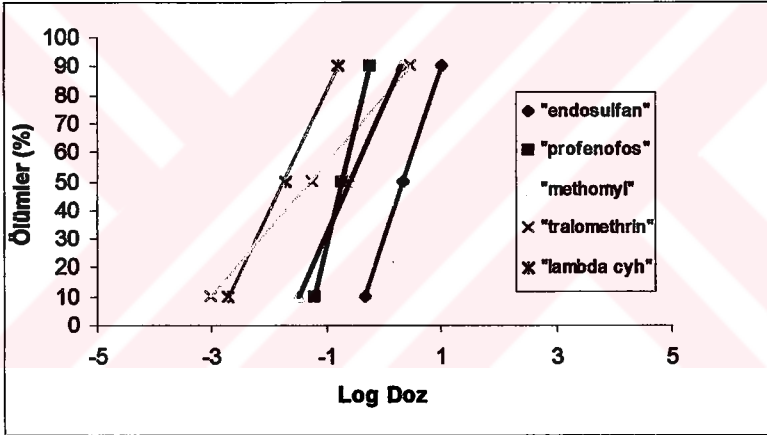
Şekil 4.2. Endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin uygulanan *Heliothis armigera*'nın Adana popülasyonuna ait logaritmik doz-%ölüm doğruları

H. armigera'nın Hatay popülasyonu bireylerine topikal aplikasyonla uygulanan endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin'in LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri, bu değerlerin alt ve üst limitleri ve eğim değerleri çizelge 4.3.'te, logaritmik doz-%ölüm doğruları şekil 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. incelendiğinde *H. armigera*'nın Hatay popülasyonunu bireylerine topikal aplikasyonla uygulanan endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin'in LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri sırasıyla endosulfan'ın 2.273 ve 10.681 µg/larva, profenofos'un 0.192 ve 0.593 µg/larva, methomyl'in 0.268 ve 2.111 µg/larva, tralomethrin'in 0.059 ve 3.047 µg/larva ve lambda-cyhalothrin' in 0.020 ve 0.169 µg/larva olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.3. *Heliothis armigera*'nın Hatay popülasyonunun 3. dönem larvalarında topikal aplikasyonla yapılan bioassay denemelerinden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan probit analiz sonuçları

İnsektisitler	Larva sayısı	LD ₅₀ (µg/larva)	LD ₉₀ (µg/ larva)	Hetero- jenlik	Eğim Değeri (±SH)
Endosulfan	180	2.273(1.652-3.523)	10.681(5.947-34.636)	1.06	1.907 (± 0.312)
Profenofos	155	0.192 (0.133-0.260)	0.593 (0.404 -1.325)	1.14	2.620(± 0.474)
Methomyl	213	0.268 (0.191-0.373)	2.111(1.219 -5.500)	0.55	1.431(±0.221)
Tralomethrin	210	0.059 (0.030-0.196)	3.047 (0.560 -0.662)	0.95	0.748(± 0.204)
Lambda-cyh.	209	0.020 (0.009-0.039)	0.169 (0.084 - 0.830)	0.96	1.370(± 0.296)



Şekil 4.3. Endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin uygulanan *Heliothis armigera*'nın Hatay popülasyonuna ait logoritmik doz-ölüm doğruları

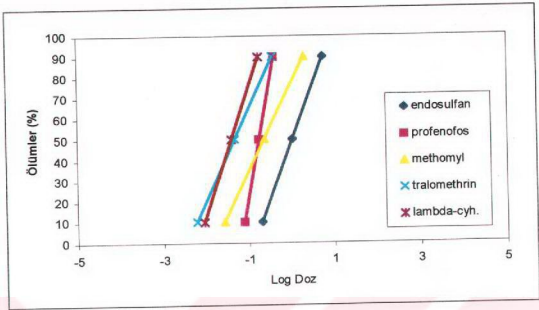
Eğim değerleri de endosülfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin için sırasıyla 1.907 ± 0.312 , 2.620 ± 0.474 , 1.431 ± 0.221 , 0.748 ± 0.204 ve 1.370 ± 0.296 'dır.

H. armigera'nın Antalya popülasyona topikal aplikasyonla uygulanan endosülfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin'in LD_{50} ve LD_{90} değerleri, bu değerlerin alt ve üst limitleri ve eğim değerleri çizelge 4.4.'te, logoritmik doz-%ölüm doğruları şekil 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. *Heliothis armigera*'nın Antalya popülasyonunun 3. dönem larvalarına topikal aplikasyonla yapılan bioassay denemelerinden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan probit analiz sonuçları

İnsektisitler	Larva sayısı	LD_{50} ($\mu\text{g/larva}$)	LD_{90} ($\mu\text{g/larva}$)	Heterojenlik	Eğim Değeri ($\pm SH$)
Endosulfan	150	1.069(0.779-1.561)	5.568(3.083-21.527)	0.24	1.788(± 0.381)
Profenofos	120	0.180(0.140-0.223)	0.410(0.311-0.707)	0.44	3.581(± 0.718)
Methomyl	160	0.236(0.141-0.368)	2.060(1.003-11.553)	0.54	1.361(± 0.310)
Tralomethrin	181	0.047(0.033-0.073)	0.380(0.187-1.648)	0.28	1.415(± 0.269)
Lambda-cyh.	180	0.040(0.030-0.053)	0.180(0.115-0.395)	0.64	1.947(± 0.300)

Çizelge 4.4. incelendiğinde *H. armigera*'nın Antalya popülasyona topikal aplikasyonla uygulanan endosülfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin'in LD_{50} ve LD_{90} değerleri sırasıyla endosulfan'ın 1.069 ve 5.568 $\mu\text{g/larva}$, profenofos'un 0.180 ve 0.410 $\mu\text{g/larva}$, methomyl'in 0.236 ve 2.060 $\mu\text{g/larva}$, tralomethrin'in 0.047 ve 0.380 $\mu\text{g/larva}$ ve lambda cyhalothrin' in 0.040 ve 0.180 $\mu\text{g/larva}$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.4. Endosulfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin uygulanan *Heliothis armigera*'nın Antalya popülasyonuna ait logaritmik doz-%ölüm doğruları

Eğim değerleri endosülfan, profenofos, methomyl, tralomethrin ve lambda-cyhalothrin için sırasıyla 1.788 ± 0.381 , 3.581 ± 0.718 , 1.361 ± 0.310 , 1.415 ± 0.269 ve 1.947 ± 0.300 'dür.

Kullanılan insektisitleri tek tek ele alırsak, popülasyonlara göre etkileri aşağıdaki gibi özetlenebilir:

Endosulfan'ın topikal aplikasyon yöntemiyle *Heliothis armigera* popülasyonlarına uygulanmasından 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları çizelge 4.5.'te verilmektedir. Çizelgenin incelenmesinden de görüleceği gibi endosulfan'a ait LD_{50} değerleri hassas, Adana, Hatay ve Antalya popülasyonlarında sırasıyla 1.159, 2.140, 2.273 ve 1.069 $\mu\text{g/larva}$ olarak bulunmuştur. McCaffery *et al.* (1989)'da *H. armigera*'nın hassas (Reading) popülasyonunda endosulfan'ın LD_{50} değerini 1.2 $\mu\text{g/larva}$ larva olarak bulmuşlardır. Bu değer bizim hassas popülasyonda elde ettiğimiz LD_{50} değerine çok yakın bir değerdir.

Çizelge 4.5. Endosulfan'ın topikal aplikasyonla 3. dönem *Heliothis armigera* larvalarına uygulanmasıyla yapılan denemelerden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları

Populasyon	Toplama Tarihi	Denenen Larva Sayısı	LD ₅₀ (µg/larva)	LD ₅₀ düzeyinde Dayanıklılık Oranı	LD ₉₀ (µg/larva)	Eğim	Heterojenlik g Değerleri (%95)
Hassas	-	180	1.159 (0.958 - 1.420)	-	3.172	2.931 (± 0.406)	0.93
Adana	15. 7.1999	162	2.140 (1.741 - 2.680)	1.846	6.165	2.790 (± 0.436)	0.72
Hatay	25. 7.1999	180	2.273 (1.652 - 3.523)	1.961	10.681	1.907 (± 0.312)	1.06
Antalya	4-8.7.2000	150	1.069 (0.799 - 1.561)	0.922	5.568	1.788 (± 0.381)	0.24

Çizelge 4.6. Profenofos'un topikal aplikasyonla 3. dönem *Heliothis armigera* larvalarına uygulanmasıyla yapılan denemelerden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları

Populasyon	Toplama Tarihi	Denenen Larva Sayısı	LD ₅₀ (µg/larva)	LD ₅₀ düzeyinde Dayanıklılık Oranı	LD ₉₀ (µg/larva)	Eğim	Heterojenlik	g Değerleri (%95)
Hassas	-	140	0.096 (0.074 - 0.120)	-	0.293	2.637 (± 0.434)	0.69	0.104
Adana	15.7.1999	145	0.177 (0.080 - 0.302)	1.843	0.759	2.031 (± 0.394)	2.25	0.420
Hatay	25.7.1999	155	0.192 (0.132 - 0.260)	2.133	0.593	2.620 (± 0.474)	1.14	0.180
Antalya	4-8.7.2000	120	0.180 (0.140 - 0.223)	2.0	0.410	3.581 (± 0.718)	0.44	0.155

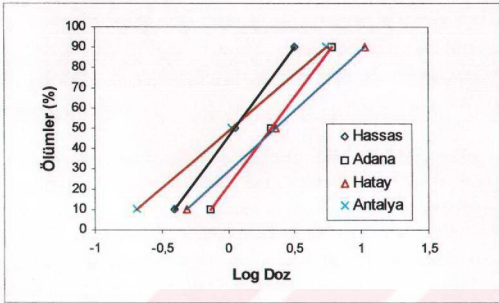
Tarla populasyonlarının LD₅₀ değerlerinin hassas populasyonun LD₅₀ değerlerine bölünmesiyle elde edilen LD₅₀ düzeyinde dayanıklılık oranları ise Adana, Hatay ve Antalya populasyonunda sırasıyla 1.846, 1.961 ve 0.922 olarak bulunmuştur.

Ahmad and McCaffery (1988)'de *H. armigera*'nın Tayland populasyonunda endosulfan'a karşı dayanıklılığı 2-kat olarak bulmuşlardır. Daly (1988), Hindistan'da Andhra Pradesh'teki pamuk tarlalarından toplanan *H. armigera* populasyonunda endosulfan'a karşı orta derecede dayanıklılık bulunduğunu bildirmektedir. Yine aynı bölgede pamuk tarlalarından toplanan *H. armigera* populasyonunda, endosulfan'a karşı dayanıklılık oranı 12.5 olarak bulunmuştur (McCaffery *et al.* 1989). Reddy *et al.* (1991)'da Andhra Pradesh ve Rangareddy populasyonlarında monocrotophos, endosulfan ve carbaryl için dayanıklılık oranlarının 1.0156 kat ve 2.2822 kat arasında değiştiğini bildirmektedirler. Pakistan'da 1991-1993 yıllarında *H. armigera*'nın tarla populasyonları endosulfan'a karşı orta derecede direnç geliştirmişlerdir (Ahmad *et al.* 1995). *H. armigera* ile elde edilen bu sonuçların aksine, *H. virescens*'in Louisiana, Mississippi ve Texas populasyonlarında endosulfan için LD₅₀ değeri hassas populasyonun LD₅₀ değerinden daha düşük bulunmuştur (Martin *et al.* 1992).

Hem ülkemizde yapılan bu çalışma hem de diğer ülkelerde yapılan çalışmalardan da anlaşılabileceği gibi, endosulfan için düşük seviyede dayanıklılık tespit edilmiştir (1.846-1.961 kat). Gelecek yıllarda dayanıklılığın artacağı düşünüldüğünde endosulfan'ın dikkatli kullanılması ve populasyonların izlenmesi gerekmektedir.

Endosulfan'a ait logaritmik doz-%ölüm doğruları Şekil 4.5.'de verilmektedir. %Ölüm doğrularına ait eğim değerleri hassas, Adana, Hatay ve Antalya populasyonları için sırasıyla 2.931(± 0.406), 2.790(± 0.436), 1.907(± 0.312) ve 1.788(± 0.381)'dir.

Şekil 4.5.'ten de görüleceği gibi hassas populasyona ait olan logaritmik doz-%ölüm doğrusu, 1.846 ve 1.941 kat dayanıklılık oranına sahip olan, sırasıyla Adana ve Hatay populasyonlarının logaritmik doz- %ölüm doğrularından biraz daha diktir.



Şekil 4.5. Endosulfan uygulanan *Heliothis armigera* populasyonlarının logoritmik doz-%ölüm doğruları

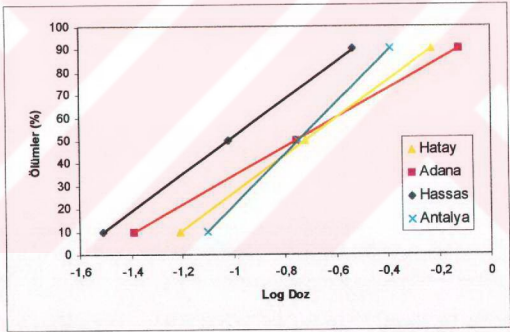
Logoritmik doz-%ölüm doğrusunun eğimi, toksik maddeye karşı canlı reaksiyonlarındaki değişimi göstermektedir (Hoskins 1960). Eğer eğim dik ise, dozdaki hafif bir değişme ölüm oranında büyük bir değişmeye neden olacaktır. Ancak bu doğrunun yatık olması durumunda, böceklerdeki farklılığın daha az olduğu ve daha fazla ölüm elde etmek için daha yüksek dozların kullanılması gerektiği söylenebilir. Herhangi bir deneme sonucunda elde edilen logoritmik doz-probit doğrusunun eğimi, toksik maddenin böcek vücuduna alınmasındaki ve organizmaların reaksiyonlarındaki farklılıkların toplamı sonucunda ortaya çıkmaktadır. Eğer iki populasyon birbirinden farklı, ancak duyarlılık farkı birkaç kat ise logoritmik doz- probit doğruları birbirine oldukça yakın çıkacaktır.

Endosulfan uygulanan populasyonlarda, şekil 4.5'te de görüldüğü gibi Antalya ve Hatay populasyonlarının logoritmik doz- %ölüm doğrularının eğimi, hassas populasyona göre daha düşüktür. Adana populasyonuna ait doğrunun eğimi ise hassas populasyonun eğimine paraleldir.

Profenofos'un topikal aplikasyonla *H. armigera*'nın hassas, Adana, Hatay ve Antalya populusyonlarına uygulanmasından 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları çizelge 4. 6.' da verilmiştir. Profenofos'a ait LD₅₀ değerleri hassas, Adana, Hatay ve Antalya populusyonunda sırasıyla 0.096, 0.177, 0.192 ve 0.180 µg/larva olarak bulunmuştur.

Yine çizelge 4. 6.'dan da görüleceği gibi LD₅₀ düzeyinde tarla populusyonlarının hassas populusyona göre dayanıklılık oranları Adana, Hatay ve Antalya populusyonlarında sırasıyla 1.843, 2.133 ve 2.0 olarak bulunmuştur.

Profenofos uygulanan populusyonların logaritmik doz-%ölüm doğruları şekil 4.6.'da verilmektedir. Doğrulara ait eğim değerleri hassas, Adana, Hatay ve Antalya için sırasıyla 2.637 (±0.434), 2.031 (±0.394), 2.620 (±0.474) ve 3.581 (±0.718) olarak bulunmuştur.



Şekil 4.6. Profenofos uygulanan *Heliothis armigera* populusyonlarının logaritmik doz-% ölüm doğruları

Şekil 4.6'dan da görüldüğü gibi Adana, Hatay ve Antalya populasyonunun LD₅₀ değerleri birbirine yakın olmasına rağmen, doğruların eğimleri birbirinden farklıdır. Adana populasyonuna ait doğrunun eğimi, hassas ve diğer populasyonlara göre daha düşüktür. Hatay populasyonuna ait doğrunun eğimi, hassas populasyona ait doğrunun eğimine paralel olmasına rağmen, Antalya populasyonuna ait doğrunun eğimi hassas populasyonun eğiminden daha diktir.

Elzen *et al.* (1992), *H. virescens*'de topikal aplikasyonla yapılan bir denemede, profenofos'a karşı 7-12 kat ve sulprofos'a karşı 7-10 kat dayanıklılık tespit etmişlerdir. Yine *H. virescens*'in Louisiana, Mississippi ve Texas populasyonlarının profenofos ve sulprofos'a karşı orta seviyede (1-6 kat) dayanıklı olduklarını tespit etmişlerdir (Martin *et al.* 1992). Ernst and Dittrich (1992) birbirlerine yakın 3 *Heliothis* türünün insektisitlere karşı dayanıklılığının karşılaştırmalı olarak belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, Türkiye'den toplanan *H. armigera* türünün profenofos'a karşı dayanıklılık oranını 2, LD₅₀ değerini de 118 ng/larva olarak bulmuşlardır. Pakistan'da 1991 -1993 yıllarında *H. armigera*'nın tarla populasyonlarında chlorpyrifos, profenofos ve thiodicarb'a karşı düşük seviyede direnç tespit edilmiştir (Ahmad *et al.* 1995).

Bizim çalışmamızda, profenofos için dayanıklılık oranları tüm populasyonlarda yaklaşık 2 kat bulunmuştur. Önümüzdeki yıllarda dayanıklılığın artma ihtimali göz önünde bulundurularak, populasyonların dikkatlice izlenmesi gerekmektedir.

Methomyl'in topikal aplikasyonla *H. armigera* populasyonlarına uygulanmasıyla elde edilen verilerin istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.7.'de ve logoritmik doz- %ölüm doğruları da şekil 4.7.'de verilmiştir.

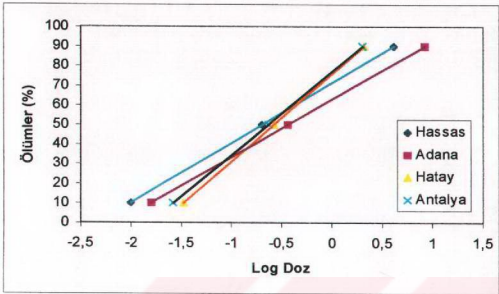
Methomyl'e ait LD₅₀ değerleri hassas, Adana, Hatay ve Antalya populasyonlarında sırasıyla 0.201, 0.373, 0.268 ve 0.236 µg/larva'dır. Dayanıklılık oranları Adana, Hatay ve Antalya populasyonlarında sırasıyla 1.855, 1.333 ve 1.174 olarak bulunmuştur. Hassas, Adana, Hatay ve Antalya populasyonlarının log doz - %ölüm doğrularının eğim değerleri ise sırasıyla 0.975(± 0.170), 0.941(± 0.206), 1.431(± 0.221) ve 1.361(± 0.310) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Methomyl'in topikal aplikasyonla 3. dönem *Heliothis armigera* larvalarına uygulanmasıyla yapılan denemelerden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları

Populasyon	Toplama Tarihi	Denenen Larva Sayısı	LD ₅₀ (µg/larva)	LD ₅₀ düzeyinde Dayanıklılık Oranı	LD ₉₀ (µg/larva)	Eğim	Heterojenlik	g Değerleri (%95)
Hassas	-	220	0.201 (0.112 - 0.312)	-	4.143	0.975 (±0.170)	0.49	0.117
Adana	15.7.1999	206	0.373 (0.228 - 0.657)	1.855	8.569	0.941 (±0.206)	0.69	0.184
Hatay	25.7.1999	213	0.268 (0.191 - 0.373)	1.333	2.111	1.431 (±0.221)	0.55	0.092
Antalya	4-8.7.2000	160	0.236 (0.141 - 0.368)	1.174	2.060	1.361 (±0.310)	0.54	0.199

Çizelge 4.8. Tralomethrin'in topikal aplikasyonla 3. dönem *Heliothis armigera* larvalarına uygulanmasıyla yapılan denemelerden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları

Populasyon	Toplama Tarihi	Denenen Larva Sayısı	LD ₅₀ (µg/larva)	LD ₅₀ düzeyinde Dayanıklılık Oranı	LD ₉₀ (µg/larva)	Eğim	Heterojenlik	g Değerleri (%95)
Hassas	-	210	0.003 (0.002 - 0.004)	-	0.016	1.717 (±0.274)	0.24	0.098
Adana	15.7.1999	180	0.074 (0.044 - 0.173)	24.666	0.754	1.270 (±0.037)	0.96	0.273
Hatay	25.7.1999	210	0.059 (0.030 - 0.196)	19.666	3.047	0.748 (±0.204)	0.95	0.287
Antalya	4-8.7.2000	181	0.047 (0.033 - 0.073)	15.666	0.380	1.415 (±0.269)	0.28	0.138



Şekil 4.7. Methomyl uygulanan *Heliothis armigera* populasyonlarının logaritmik doz-%ölüm doğruları

Şekil 4.7'de görüldüğü gibi, methomyl'e karşı yaklaşık 2 kat dayanıklılık tespit edilen, Adana populasyonuna ait doğrunun eğimi hassas populasyona ait doğrunun eğimine paralel fakat, doğrunun sağında yer almaktadır. Hatay ve Antalya populasyonuna ait doğrunun eğimi ise, hassas populasyona ait doğrunun eğiminden daha diktir.

Yidong and Jinliang (1996), Çin'de yaptıkları bir çalışmada *H. armigera*'da deltamethrin, cyhalothrin, fenprothrin, esfenvalerate, cyfluthrin ve methomyl için dayanıklılık oranlarını 10-50- kat arasında bulmuşlardır. *H. virescens*'in Louisiana, Mississippi ve Texas populasyonlarının methomyl'e karşı yüksek seviyede (2-12 kat) dayanıklılık geliştirdikleri belirlenmiştir (Martin *et al.* 1992).

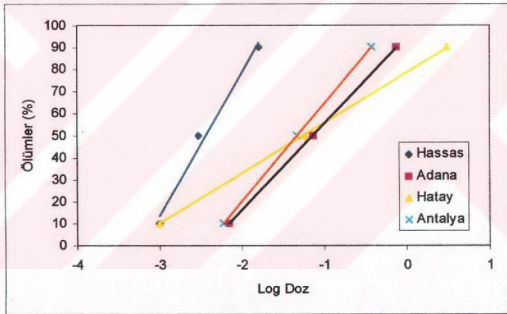
Avustralya'da *H. armigera*'da thiocarb'a karşı dayanıklılığın ilk defa 1993'te belirlendiği (35 kat), methomyl ve carbaryl gibi karbamatlara karşı da çapraz dayanıklılık geliştirdiği bildirilmektedir (Gunning 1995). Çin'de *H. armigera*'da methomyl için dayanıklılık oranı ise bazı populasyonlarda 86.08-119.16 kat bulunmuştur (Yunxi *et al.* 1995).

Tralomethrin'in topikal aplikasyonla uygulanmasından elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları çizelge 4.8.'de ve logaritmik doz-%ölüm doğruları da şekil 4. 8.'de verilmiştir.

Tralomethrin'e ait LD₅₀ değerleri hassas, Adana, Hatay ve Antalya populasyonlarında sırasıyla 0.003, 0.074, 0.059 ve 0.047 µg/larva olarak belirlenmiştir.

Dayanıklılık oranları da Adana, Hatay ve Antalya için sırasıyla 24.666, 19.666 ve 15.666 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlara göre, tüm populasyonlarda tralomethrin'e karşı yüksek seviyede dayanıklılık olduğunu söyleyebiliriz.

Eğim değerleri hassas, Adana, Hatay ve Antalya populasyonları için sırasıyla, 1.717 (± 0.274), 1.270 (± 0.037), 0.748 (± 0.204) ve 1.415 (± 0.269)' tir.



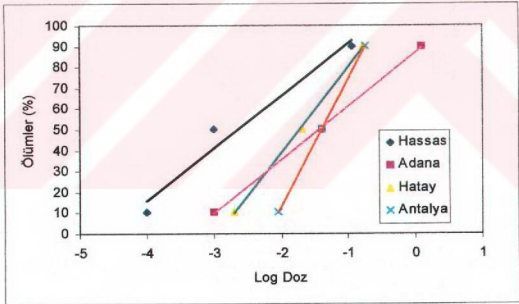
Şekil 4.8. Tralomethrin uygulanan *Heliothis armigera* populasyonlarının logaritmik doz- %ölüm doğruları

Şekil 4.8'de görüldüğü gibi, hassas populyasyona ait doğruyun eğimi diğer populyasyonlardan daha fazla ve tüm doğruların solunda yer almaktadır. Methomyl'e karşı 19.666 kata dayanıklılık oranına sahip olan Hatay populyasyonuna ait doğruyun

eğimi ise en düşük olanıdır. Burada, Hatay popülasyonunun insektisitlere karşı daha az duyarlı olduğunu söyleyebiliriz. Methomyl'e karşı 24.666 ve 15.666 kat dayanıklılık oranına sahip Adana ve Antalya popülasyonuna ait doğrular ise, hassas popülasyona ait doğrunun sağında yer almakta ve doğruların eğimleri de hassas popülasyondan daha düşüktür.

Lambda-cyhalothrin uygulanan *H. armigera* popülasyonlarda LD₅₀ değerleri hassas, Adana, Hatay ve Antalya için sırasıyla 0.001, 0.041 ve 0.020 ve 0.040 µg/larva ve Adana, Hatay ve Antalya popülasyonlarında dayanıklılık oranları da sırasıyla 41, 20 ve 40 olarak belirlenmiştir (çizelge 4.9.). Bu verilere göre, tüm popülasyonlarda bu ilaca karşı da yüksek seviyede dayanıklılık olduğunu söyleyebiliriz.

Popülasyonlara ait logaritmik doz- %ölüm doğruları şekil 4. 9.'da verilmektedir. Eğim değerleri Hassas, Adana, Hatay ve Antalya popülasyonları için sırasıyla 0.655(±0.146), 0.846 (±0.235), 1.370 (±0.296) ve 1.947 (± 0.300)'dir.



Şekil 4.9. Lambda-cyhalothrin uygulanan *Heliothis armigera* popülasyonlarının logaritmik doz - %ölüm doğruları

Çizelge 4.9. Lambda-cyhalothrin 'in topikal aplikasyonla 3. dönem *Heliothis armigera* larvalarına uygulanmasıyla yapılan denemelerden 48 saat sonra elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları

Populasyon	Toplama Tarihi	Denenen Larva Sayısı	LD ₅₀ (µg/larva)	LD ₅₀ düzeyinde Dayanıklılık Oranı	LD ₅₀ (µg/larva)	Eğim	Heterojenlik	g Değerleri (%95)
Hassas(İsrail)	-	211	0.001 (0.000 - 0.003)	-	0.116	0.655 (± 0.146)	0.93	0.186
Adana	15.7.1999	230	0.041 (0.018 - 0.166)	41	1.249	0.846 (± 0.235)	1.08	0.353
Hatay	25.7.1999	209	0.020 (0.009 - 0.039)	20	0.169	1.370 (± 0.296)	0.96	0.179
Antalya	4-8.7.2000	180	0.040 (0.039 - 0.053)	40	0.180	1.947 (± 0.300)	0.64	0.091

Sekil 4.9'da görüldüğü gibi, hassas popülasyona ait doğru yine diğer popülasyonlara ait doğruların en solunda yer almaktadır. Lambda-cyhalothrin'e karşı 41 kat dayanıklılık oranına sahip olan Adana popülasyonuna ait doğrunun eğimi düşüktür.

Sentetik piretroidler genellikle diğer insektisitlerden daha düşük oranlarda uygulanır. Bunlar esas olarak böceklerin sinir sistemi üzerinde etkili olurlar. Piretroid molekülleri sinir membranındaki sodyum kanallarının kapanmasına zarar verir ve böylece sinir uyarılarının iletim mekanizması zarar görür. Zarar gören böcekler koordinasyonu kaybeder ve sonradan paraliz olur. Piretroidler uçan böceklerde knock-down bir etkiye sahiptir (Davidson 1989).

Diğer ülkelerde yapılan dayanıklılık çalışmalarında da *H. armigera* ve *H. virescens* popülasyonlarında, piretroidlere karşı genellikle yüksek oranda dayanıklılık tespit edilmiştir.

H. armigera'nın Adana' dan toplanan tarla popülasyonunda İsviçre'de yapılan bir çalışmada da cypermethrin'e karşı dayanıklılık oranı 17 olarak bulunmuştur (Ernst and Dittrich 1992).

Avustralya'da yapılan bir çalışmada *H. armigera*'nın tarla popülasyonlarında cypermethrin, deltamethrin ve fenvalerate'ye karşı LC₅₀ düzeyinde dayanıklılık sırasıyla 15-kat, 20-30 kat ve 20 -kat olarak bulunmuştur (Gunning *et al.* 1984).

H. armigera'nın Hindistan ve Endonezya popülasyonlarında piretroidlere karşı dayanıklılık oranları 20-750 arasında bulunmuştur (McCaffery *et al.* 1988). Tayland'dan toplanan *H. armigera* popülasyonunda *cis*-cypermethrin için LD₅₀ düzeyinde dayanıklılık oranı 102-kat, *trans*- cypermethrin için 82-kat ve fenvalerate için 51-kat dayanıklılık belirlenmiştir (Ahmad and McCaffery 1988). Hindistan'da Andhra Pradesh'teki pamuk tarlalarından toplanan *H. armigera* larvalarının cypermethrin ve fenvalerate'ye karşı oldukça dayanıklı oldukları belirlenmiştir (Daly 1988). Reddy *et al.* (1991), Hindistan'ın Andhra Pradesh ve Rangareddy bölgesinden toplanan *H.*

armigera popülasyonlarının fenvalerate'ye karşı sırasıyla 2.2822 kat ve 1.9452 kat dayanıklılık geliştirdiğini tespit etmişlerdir.

Pakistan'da 1991-1993 yıllarında değişik bölgelerden toplanan *H. armigera* popülasyonlarında cypermethrin'e karşı yüksek seviyede dayanıklılık geliştirmişlerdir (Ahmad *et al.* 1995).

H. virescens'in Mississippi popülasyonunda fenvalerate ve cypermethrin için LD₅₀ değeri hassas popülasyonun LD₅₀ değerinden sırasıyla 5-15 kat ve 18-23 kat daha yüksek bulunmuştur. Texas popülasyonunda ise cypermethrin için 21- kat daha yüksek bulunmuştur (Luttrell *et al.* 1987). Texas'ta *H. virescens* popülasyonları ile yapılan bir çalışmada, 1986-1988 yılları arasında her bölgede ve her yıl piretroidlere karşı dayanıklılık olduğu belirlenmiştir (Plapp *et al.* 1990). *H. virescens*'in Louisiana, Mississippi ve Texas popülasyonlarında cypermethrin'e karşı yüksek seviyede (1-42- kat) dayanıklılık gözlenmiştir (Martin *et al.* 1992). 1990 yılında Louisiana'dan toplanan *H. virescens*' in tarla popülasyonları cypermethrin'e karşı 13-15 kat dayanıklılık göstermiştir (Elzen *et al.* 1992).

H. armigera'nın DDT, organikfosforlu ve piretroidlere karşı dayanıklılık geliştirdiği ve muhtemelen biyolojik preparatlardan *Bacillus thuringiensis* (Bt)'e karşı da dayanıklı olduğu bildirilmektedir. Dayanıklılık Çin, Hindistan, Avustralya ve Tayland'da yaygındır ve birçok ülkede de bulunduğu dair kayıtlar vardır (Heckel *et al.* 1997).

Bu çalışmada, bizim elde ettiğimiz bulgular da diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda elde edilen bulgularla paralellik göstermektedir.

4.2. Biyokimyasal Sonuçlar

Biyokimyasal çalışmalarda genel esteraz veya non-spesifik esteraz enzimi, glutatyon S-transferaz ve asetilkolinesteraz enzimlerinin aktiviteleri uygun metotlarla saptanmıştır.

4.2.1 Genel esteraz enzim aktivitesinin ölçümü

Günümüzde kullanılan insektisitlerin çoğu fosforik, karbamik veya siklopropan-karboksilik asitlerin yerine geçebilen, ve sonuçta esterazlar tarafından parçalanmaya maruz kalan esterlerdir. Birçok pestisit hidrolizle az veya çok parçalanabilen ester, amid ve fosfat kalıntısı içerir. Organikfosforlu, karbamatlı ve piretroidler esterlerdir ve böylece esterazlarla detoksifikasyon için potansiyel substratlardır. Ancak, esterazlar tarafından hidrolizler sadece organikfosforlular için önemli bir dayanıklılık mekanizması olarak tanımlanmıştır (Callaghan 1991). Bin (1994), *H. armigera*'da dayanıklı ve hassas populasyonlardan elde edilen karboksil esteraz aktivitesinin benzer olabileceğini ve piretroid dayanıklılığı ile bir bağlantısının olmadığını bildirmektedir. Çin'de yapılan bir çalışmada da, *H. armigera* populasyonlarında fenvalerate dayanıklılığında esterazların önemli olmadığı ve dayanıklılığın esas olarak karışık fonksiyonlu oksidaz'ın metabolik mekanizması nedeniyle olduğu bildirilmektedir (Yidong and Jinliang 1996).

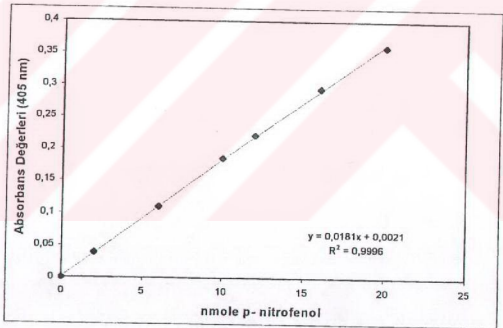
Genelde esterazlar, aliesterazlar ve kolinesterazlar olmak üzere iki büyük sınıfa ayrılırlar. Aliesterazlar substrat olarak, kısa zincirli esterlere sahip olan basit alkoller tercih eden proper esterazlar ve uzun zincirli polihidrik alkoller de hidrolize eden lipazlar olarak iki alt gruba ayrılır.

Dayanıklılıkta rol oynayan esterazlar ya PO ya da PS bağlarını parçalayan fosfatazlar veya karboksilester bağlarını çözen karboksilesterazlar olarak gruplara ayrılabilirler. Genel olarak, hidrolizler non-toksik iyonik metabolitin üretimi sonucudur. Bazı durumlarda, esteraz insektisitler tarafından geri dönüşü olmayan bir şekilde fosforlanır veya karboksillenir. Esteraz üretiminde bir artışın görüldüğü yerlerde, insektisit hedef bölgeye ulaşmadan engellendiği için, bu böcek tarafından dayanıklılık kazanmada bir

avantajdır (Callaghan 1991). En fazla kimyasal yapı farklılıkları organikfosforlu insektisitlerde görülür.

Genel esteraz (general esterase or non-spesifik) enzim aktivitesinin ölçümü van Asperen (1962) tarafından önerilen metoda göre yapılmıştır. Yalnız substrat olarak α -naftil asetat yerine p-nitrofenil asetat kullanılmıştır. Denemelerde larvalardan enzim kaynağının elde edilmesi Yu (1991) tarafından önerilen metoda göre yapılmıştır ve denemelerde larvalar tek tek kullanılmıştır. Larvalardan elde edilen enzim üzerine p-nitrofenil asetat ilave edildikten 30 dakika sonra oluşan ürün miktarı saptanarak enzim aktivitesi hesaplanmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda p-nitrofenol kullanılarak mikroplate reader' da yapılan absorbans okumaları sonucu elde edilen p-nitrofenol standart doğru grafiği, regresyon denklemi ve regresyon katsayısı şekil 4. 10.'da verilmektedir.

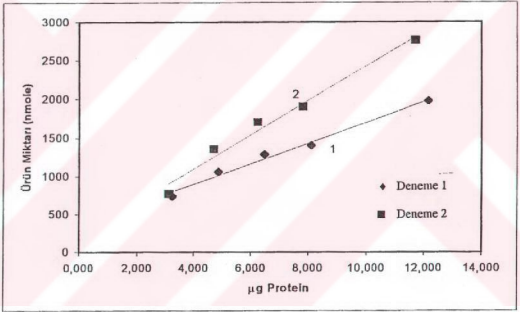


Şekil 4.10. p-Nitrofenol standart doğrusu, regresyon denklemi ve regresyon katsayısı

Elde edilen bu grafik ve dolayısıyla regresyon denklemi kullanılarak *H. armigera*

larvalarından elde edilen homojenatla yapılan denemelerde okunan absorban değerlerinin ne kadar esteraz enzimine denk geldiği hesaplanabilmektedir.

Genel esteraz enzimi aktivite tayini optimizasyonu ile ilgili olarak yapılan ön denemelerde, hazırlanan homojenattan hangi miktarda alınması gerektiğinin belirlenmesi için, esteraz aktivitesi 3–12 μg arasında protein miktarı değiştirilerek denenmiş ve 12 μg protein'e kadar ürün miktarı ile doğru orantılı bulunmuştur. Bu nedenle yapılan denemelerde 8 μg (10 μl homojenat) protein miktardan seçilmiştir. Protein miktarının esteraz aktivitesine etkisini araştırmak amacıyla yapılan denemelerden elde edilen grafik Şekil 4.11.'de verilmiştir.

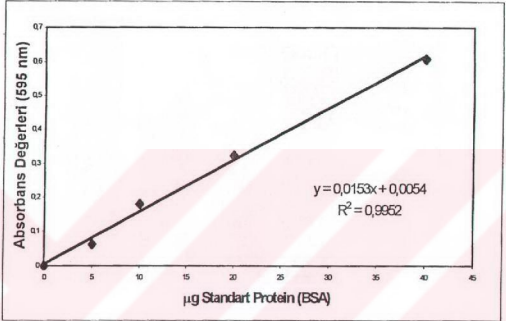


Şekil 4.11. Protein miktarının esteraz aktivitesine etkisi ile ilgili olarak yapılan ön denemelerden elde edilen doğrular.

Şekil 4.11.'de de görüldüğü gibi protein miktarındaki artışla orantılı olarak elde edilen ürün miktarında (enzim aktivitesinde) de artış görülmektedir.

Böceklerde spesifik enzim aktivitesinin hesaplanabilmesi için protein miktarlarının da bilinmesi gerekmektedir. Bu amaçla, standart protein olarak Bouvine serum albumin kullanılarak Bradford standart protein doğrusu elde edilmiştir. Bradford standart

protein doğrusu ve bu doğruya ait regresyon denklemi ve regresyon katsayısı şekil 4.12.' de verilmiştir.

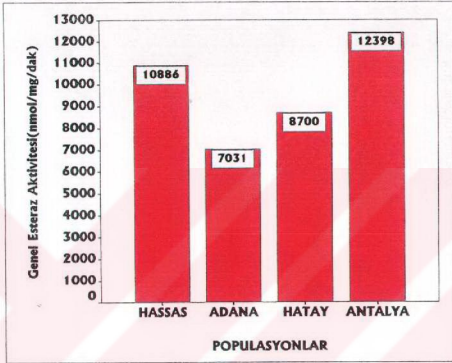


Şekil 4.12. Bradford standart protein doğrusu

Standart protein doğru denklemi kullanılarak larvalardan elde edilen homojenatla yapılan protein tayinlerinden elde edilen absorbans değerlerinin ne kadar proteine karşılık geldiği hesaplanabilmektedir.

p-Nitrofenol standart doğru denklemi kullanılarak hesaplanan enzim aktivitesi ve Bradford standart protein doğrusu denklemi yardımıyla hesaplanan protein miktarları kullanılarak böceklerdeki spesifik aktivite nmol/min/ mg protein olarak hesaplanmıştır. *H. armigera* populasyonlarının ortalama genel esteraz enzim aktiviteleri şekil 4.13'te verilmiştir.

Elde edilen bu değerler SPSS (10.0.1, 1999-USA) ortamında bilgisayara kaydedilmiş ve populasyonlara göre genel esteraz aktivitelerinin ortalama, standart sapma, ortanca,



Şekil 4. 13. *Heliothis armigera* populasyonlarının ortalama genel esteraz enzim aktiviteleri

minimum ve maksimum değerleri tanımlanmıştır (çizelge 4.10).

Dört populasyonun (4 grubun) ortalamaları arasında fark olup olmadığı, önce Kruskal Wallis varyans analizi ile test edilmiştir. Daha sonra ikili grupların genel esteraz enzim aktivitesi ortalamaları arasında fark bulunup bulunmadığı “Çoklu Karşılaştırma” (Multiple Comparisons, Post Hoc) testlerinden “Tamhane’s T_2 ” testi ile karşılaştırılmıştır (çizelge 4.11, 4.12 ve 4.13). Antalya populasyonunun ölçüm değerleri normal dağılım göstermediği için veriler non-parametrik olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.10. *Heliothis armigera*' da genel esteraz enzim aktivitelerinin populasyonlara göre ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerlerinin dağılımı

Populasyonlar	Böcek sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	22	10886± 2365	10654	4719	14370
Adana	23	7031± 2998	7118	3551	18523
Hatay	24	8700± 1765	8805	5034	11770
Antalya	25	12398± 8725	7673	5075	29814

Kruskal Wallis Testi. $X^2=23.163$; Ser. Derecesi=3; $P=0.000<0.05$

Kruskal Wallis varyans analizi testine göre, en az bir populasyonun genel esteraz enzim aktivitesi, diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur.

Tarla populasyonlarının enzim aktivitelerinin ortalaması ile hassas populasyonun enzim aktivitesi ortalaması arasında fark olup olmadığını karşılaştırmak amacıyla yapılan “Çoklu Karşılaştırma” testi (Tamhane's T_2) sonuçları ise şöyledir:

Çizelge 4.11. *Heliothis armigera*'nın Hassas ve Adana populasyonlarında genel esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak)

Populasyonlar	Böcek sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	22	10886± 2365	10654	4719	14370
Adana	23	7031± 2998	7118	3551	18523

Tamhane's T_2 testine göre farklı bulunmuştur, $P=0.000<0.01$

Çizelge 4.11'den de anlaşılabacağı gibi, hassas populasyonun genel esteraz enzim aktivitesi ile Adana populasyonunun genel esteraz enzim aktivitesi karşılaştırıldığında, Adana populasyonunun genel esteraz enzim aktivitesi, hassas populasyonun enzim aktivitesine göre, istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur.

Çizelge 4.12. *Heliothis armigera*'nın Hassas ve Hatay populasyonlarında genel esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak)

Populasyonlar	Böcek sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	22	10886± 2365	10654	4719	14370
Hatay	24	8700± 1765	8805	5034	11770

Tamhane's T_2 testine göre farklı bulunmuştur, $P=0.007<0.01$

Çizelge 4.12' de görüldüğü gibi, hassas populasyonun genel esteraz enzim aktivitesi ile Hatay populasyonunun genel esteraz enzim aktivitesi karşılaştırıldığında, Hatay populasyonunun genel esteraz enzim aktivitesi, hassas populasyonunkine göre, istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($p<0.01$).

Çizelge 4.13. *Heliothis armigera*'nın Hassas ve Antalya populasyonlarında genel esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak)

Populasyonlar	Böcek sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	22	10886± 2365	10654	4719	14370
Antalya	25	12398± 8725	7673	5075	29814

"Tamhane's T_2 " testine göre farklılık bulunmamıştır, $P= 0.959>0.05$

Çizelge 4.13'te görüldüğü gibi, hassas populasyonun genel esteraz enzim aktivitesi ile Antalya populasyonunun genel esteraz enzim aktivitesi karşılaştırıldığında, Antalya populasyonunun genel esteraz enzim aktivitesi, hassas populasyonun enzim aktivitesinden daha yüksek olmasına rağmen, bu farklılık istatistiksel olarak önemli değildir ($p=0,959>0.05$).

Daha önce birçok böcek ve akar türünün homojenatları veya kısmen saflaştırılmış enzimleriyle yapılan çalışmalar, organikfosforlara karşı dayanıklılık gelişiminin, (metilbütirat ve α -nafil asetat gibi yapay substratların *in vitro* da hidrolizleri esasına

dayanan) aliesteraz veya non-spesifik esteraz aktivitesinin değişimiyle ilgili olduğunu göstermiştir.

Bazı durumlarda, *Tetranychus urticae* ve *Leodelphax striatellus*'un malathion'a dayanıklı populasyonlarında aktivite seviyesinin arttığı gözlenmiştir (Matsumura ve Voss 1965, Ozaki ve Cassai 1970). *H. virescens*'de profenofos'a dayanıklı larvalarda ortalama esteraz aktiviteleri hassas populasyonunkinden daha yüksek bulunmuştur. Bunun yanısıra, alfa ve beta-naftil asetat ile boyanan elektroforetik jellerde esterazların boyanması, dayanıklı larvalarda hassaslardan daha yoğundur (Harold et al. 1999). Ancak, bazı böceklerde genel esteraz aktivitesi dayanıklılık artışına paralel olarak azalmıştır. van Asperen ve Oppenoorth (1959), Plapp ve Bigley (1961) OP dayanıklı *Musca domestica* L. populasyonlarının, hassas populasyonlarla karşılaştırıldığında daha düşük esteraz aktivitesine sahip olduklarını bildirmektedirler. Aynı sonuçlar *Chrysoma putoria* için de verilmiştir (Spackmen et al. 1994).

Bu azalışın iki açıklaması vardır. Plapp ve Bigley (1961) tarafından, ali-esteraz enziminin insektisit için geçici bir depo bölgesi sağladığı bildirilmektedir. Böylece, dayanıklılık insektisit için daha az etkili bir depolama sağlayarak, ali-esteraz miktarındaki kantitatif bir azalmanın sonucu olabilir. İkinci açıklamaya göre, esteraz aktivitesinde açık bir azalma olduğu halde, insektisiti toksik olmayan ürünlere parçalayan esteraz oranında bir artış vardır.

4.2.2. Glutasyon S-transferaz (GST) enzim aktivitesinin lm

Glutasyon transferazlar birçok molekülün detoksifikasyon mekanizmasında ve muhtemelen fizyolojik olarak önemli lipofilik bileşiklerin taşınmasında rol alan enzimlerdir. Bu enzimler, ikinci bir elektrofilik substrat üzerine nükleofilik saldırı için, glutasyon sülfür atomunun elektron sağladığı reaksiyonları katalize ederler. İkinci elektrofilik substratlar, endojen doğal substratlar olabilir, örneğin epoksitler veya ganik hidroperoksitler, veya oksidatif metabolizma sonucu aktif hale getirilmiş alkenallar. Böylece, glutasyon S-transferazlar (GSTs) dokuları oksidatif zarar ve oksidatif baskıdan

korumada önemli rol oynarlar. Elektrofilik substratlar aynı zamanda karsinojenler (carcinogens) veya insektisitler gibi xenobiotik orijinli olabilirler.

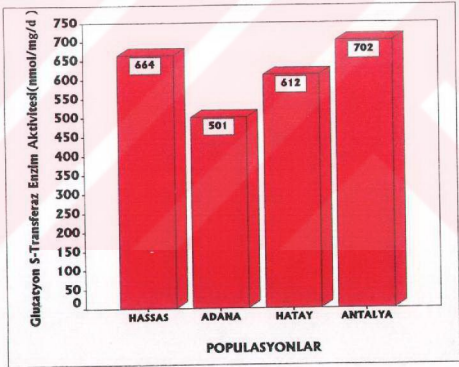
Böceklerde glutatyon S-transferazlar dimerik proteinler olarak bulunurlar, fakat yapıları tamamiyle belirlenememiştir. Örneğin, *Drosophila melanogaster* Meig. (Diptera: Drosophilidae) ve *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera:Tephritidae)'da GTS aktivitesinden sorumlu olan bir izozim bulunurken (Yawetz and Koren 1984); *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae)'da GST aktivitesinden sorumlu birkaç izozim vardır (Clark *et al.* 1984). Diğer bir raporda, Motoyama and Dauterman (1977, 1978) karasineklerde sadece bir tane önemli altbirim bulurken, Clark *et al* (1984) 3 alt birim bulmuştur.

İnsektisitlere karşı dayanıklılıkta GST'lerin önemli bir role sahip olduğuna dair birçok veri Lewis (1969) tarafından gösterilmiştir. İlk olarak, organik fosforlu bileşikler, cyclofenler ve 1,1,1-trichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane'ı içeren birçok insektisit için glutatyon S- konjugasyonu bir detoksifikasyon yolunu gösterir (Fukami1980). İkinci olarak, bazı dayanıklı böceklerin bir glutatyon-bağımlılığı yoluyla insektisitleri daha etkili bir şekilde metabolize ettikleri bulunmuştur (Motoyama *et al.* 1971; Oppenoorth *et al* 1972). Üçüncüsü, bazı dayanıklı böcek ırklarında yüksek seviyede GST aktivitesi belirlenmiştir (Motoyama and Dauterman 1975, Motoyama *et al.* 1977, Ottea and Plapp 1984). Sonuncusu, Fournier *et al.* (1987) tarafından yapılan bir çalışmada, dayanıklılık için laboratuvar seleksiyonu, GST aktivitesinin artması ve GST bağımlı insektisit metabolizması ile ilgili bulunmuştur. Dayanıklılık mekanizmasında GST'lerin önemine rağmen, onun temelini teşkil eden genetik mekanizma açıklanmamıştır.

Fournier *et al* (1992) tarafından yapılan bir çalışmada, *Musca domestica*'nın GST'leri karakterize edilmiş ve *M. domestica*'dan elde edilen önemli GST formlarının herbiri birkaç alt birimden oluşan iki sınıfa ayrılmıştır (GST1 ve GST2). Alt birimleri farklı molekül ağırlığına sahip olan iki sınıf arasında serolojik olarak farklılıklar vardır ve dimer oluşturmazlar. Bunun aksine, her sınıf içinde aynı molekül ağırlığına sahip olan alt birimler serolojik olarak birbiriyle ilgilidir ve dimer oluştururlar. GST1 *Escherichia*

coli'de izole edilen ve gen sırası belirlenen bir gen ile şifrelenmiştir. Bu genin analiz edilmesi ve üretilmesiyle, GST1'in mRNA seviyesinin (miktarının) dayanıklılık ile pozitif bir ilişkisi bulunmuştur.

Çalışmamızda glutatyon S-transferaz enzim aktivitesinin ölçümü Yu (1991) tarafından kullanılan metoda göre yapılmıştır. Larvalar grup halinde homojenize edildikten sonra homojenat tülbenkten süzöldükten sonra önce 10.000 g x max 'da 15 dakika, daha sonra 105.000 g x max' da 1 saat ultrasantrifuj yapıldıktan sonra tütün üst kısmında kalan homojenat (süpernatant) enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Substrat olarak 1-chloro dinitrobenzen (CDNB) kullanılmıştır. Metoda uygun şekilde hazırlanan örnekler Jasco UV spektrofotometrede 340 nm'de 10 saniye aralıklarla 5 dakika süre ile absorbans okumaları yapılmıştır. Protein miktarlarının belirlenmesi Bradford (1976) metoduna göre yapılmıştır. Populasyonlara ait GST enzim aktiviteleri ortalamaları şekil 4.14'te verilmiştir.



Şekil 4.14. *Heliothis armigera* populasyonlarının glutatyon S-transferaz enzim aktiviteleri

Populasyonlara ait elde edilen GST enzim aktivitesi değerleri SPSS (10.0.1,1999-USA) bilgisayar ortamında kaydedilerek populasyonlara göre GST aktivitelerinin ortalama, standart hata, ortanca, minimum ve maksimum değerleri tanımlanmıştır (çizelge 4.14.). Daha sonra hassas populasyon ile tarla populasyonları ikili olarak karşılaştırılmıştır (çizelge 4.15, 4.16, 4.17).

Çizelge 4.14. *Heliothis armigera*' da genel GST enzim aktivitelerinin populasyonlara göre ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerlerinin dağılımı (nmole/min/mg)

Populasyonlar	Deneme sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	4	664±17	669	640	677
Adana	6	501±105	450.5	413	651
Hatay	8	612±79	587.5	526	724
Antalya	8	702±28	701	649	743

Kruskal Wallis testi. $X^2=13.600$; Serbestlik Derecesi=3; $P=0.004 < 0.01$

Kruskal Wallis varyans analizine göre, en az bir populasyonun GST enzim aktivitesi diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır.

Tarla populasyonlarının enzim aktivitelerinin ortalaması ile hassas populasyonun enzim aktivitesi ortalaması arasında fark olup olmadığını karşılaştırmak amacıyla yapılan "Çoklu Karşılaştırma" testi (Tamhane's T_2) sonuçları ise şöyledir:

Çizelge 4.15. *Heliothis armigera*'nın Hassas ve Adana populasyonlarında glutatyon S-transferaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak)

Populasyonlar	Deneme sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	4	664±17	669	640	677
Adana	6	501±105	450.5	413	651

"Tamhane's T_2 " testine göre farklılık yoktur, $P=0.069 > 0.05$

Çizelge 4.15'te görüldüğü gibi, hassas ve Adana populasyonlarının GST enzim aktiviteleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Yani populasyonlar arasında GST enzim aktivitesi yönünden farklılık yoktur.

Çizelge 4.16. *Heliothis armigera*'nın Hassas ve Hatay populasyonlarında glutatyon S-transferaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak)

Populasyonlar	Deneme sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	4	664±17	669	640	677
Hatay	8	612±79	587.5	526	724

"Tamhane's T₂" testine göre farklılık yoktur, P=0.520>0.05

Çizelge 4.16'da görüldüğü gibi, hassas ve Hatay populasyonunun GST enzim aktiviteleri arasında fark istatistiksel olarak önemli değildir.

Çizelge 4.17. *Heliothis armigera*'nın Hassas ve Antalya populasyonlarında glutatyon S-transferaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak)

Populasyonlar	Deneme sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	4	664±17	669	640	677
Antalya	8	702±28	701	649	743

"Tamhane's T₂" testine göre farklı bulunmamıştır, P=0.092>0.05

Çizelge 4.17'de görüldüğü gibi, hassas ve Antalya populasyonlarının GST enzim aktiviteleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Çalışmamızda, GST enzim aktivitesi açısından, hassas populasyonla tarla populasyonları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Ancak,

tarla populasyonlarından Antalya populasyonunun, Adana populasyonuna göre daha yüksek GST enzim aktivitesine sahip olduğu ve bu farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p=0.028$).

Yapılan birçok çalışma GST aktivitesinin artmasının insektisitlere karşı dayanıklılıkla, özellikle organikfosforlu bileşiklere karşı dayanıklılıkla, ilgili olduğunu göstermektedir (Moyotoma and Dauterman 1980, Clark 1990, Reidy *et al.* 1990, Fournier *et al.* 1992). Bizim çalışmamızda ise, organik fosforlu insektisitlere karşı yüksek seviyede dayanıklılık tespit edilmemiştir. Bu nedenle GST aktivitesi açısından tarla populasyonlarının enzim aktivitesi ile hassas populasyonun enzim aktivitesinin benzer çıkması beklenen bir sonuçtur.

4.2.3. Asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesinin ölçümü

Organik fosforlu ve karbamatlı insektisitlerin hedefi olan asetilkolinesteraz enzimi ile ilgili olarak birçok araştırma yapılmıştır. Memelilerde, asetilkolinesterazın iki tipi bilinmektedir. Bunlar, asetilkolinesteraz veya gerçek-kolinesteraz ve butirilkolinesteraz veya yalancı-kolinesteraz'dır. Yalancı-kolinesterazın fizyolojik fonksiyonunun bilinmemesine rağmen, bu iki kolinesterazın fonksiyonu, dağılımı ve özellikleri farklıdır. Böceklerdeki kolinesterazın özellikleri, memelilerdeki gerçek kolinesterazın özellikleri ile benzerdir. Bu nedenle ya asetilkolinesteraz ya da kolinesteraz olarak isimlendirilir. Kolinesterazın diğer formunun (yalancı-kolinesteraz) böceklerde varlığı henüz ispatlanmamıştır (Hama 1983).

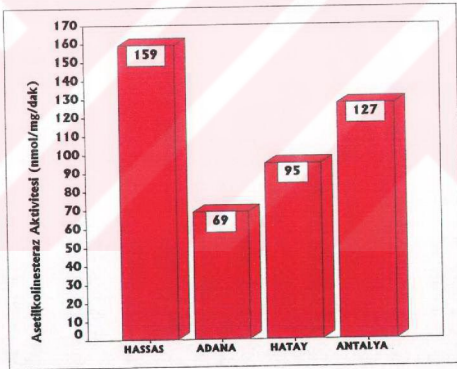
Mengle and Casida (1960)'nın bildirdiğine göre, kara sineklerin tüm vücut homojenatlarının paraoxon ve malaoxon ile ön-inkübasyonu yapıldığında, AChE'in engellenme oranı hassas ırkta, organik fosforlulara dayanıklı iki ırktan daha hızlı bulunmuştur (Hama 1983).

Kojima *et al.* (1963) malaoxon tarafından engellenen AChE duyarlılığını *Nephotettix cincticeps* Uhler'in hassas ve dayanıklı ırkları arasında karşılaştırmışlar, ancak,

malathion'a 10 kat dayanıklı ırk ile hassas ırk arasında duyarlılık farkı bulamamışlardır (Hama 1983).

Çalışmamızda, *H. armigera*'da AChE enzim aktivitesinin ölçümü Ellman *et al.* (1961) metoduna göre yapılmıştır. *H. armigera* populasyonlarına ait AChE. enzim aktivitesi ortalamaları şekil 4.15' te verilmiştir.

Elde edilen enzim aktivitesi değerleri SPSS (10.0.1, 1999-USA) ortamında bilgisayara kaydedilmiş ve populasyonlara göre AChE aktivitelerinin ortalama, standart sapma, ortanca değer, minimum ve maksimum değerleri tanımlanmıştır.(çizelge 4.18). Daha sonra hassas populasyonla diğer populasyonlar arasındaki ortalamalar "Çoklu Karşılaştırma" testi ile karşılaştırılmıştır (çizelge 4.19, 4.20 ve 4.21).



Şekil 4.15. *Heliothis armigera* populasyonlarının asetilkolinesteraz enzim aktiviteleri

Çizelge 4.18. *Heliothis armigera*’ da AChE enzim aktivitelerinin populasyonlara göre ortalama, standart sapma , ortanca , minimum ve maksimum değerlerinin dağılımı (nmole/min/mg)

Populasyonlar	Deneme sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	3	159± 54	128.80	126.95	220.94
Adana	6	69± 3	68.73	65.64	73.52
Hatay	8	95±21	93.37	75.14	117.91
Antalya	6	127± 8	125.07	117.97	137.98

Kruskal Wallis testi. $X^2 = 19.723$; Serbestlik Derecesi = 3 ; $P=0.000<0.01$

Kruskal Wallis varyans analizine göre, en az bir populasyonun AChE aktivitesi diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur.

Tarla populasyonlarının enzim aktivitelerinin ortalaması ile hassas populasyonun enzim aktivitesi ortalaması arasında fark olup olmadığını karşılaştırmak amacıyla yapılan “Çoklu Karşılaştırma” testi (Tamhane’s T_2) sonuçları ise şöyledir:

Çizelge 4.19. *Heliothis armigera*’nın Hassas ve Adana populasyonlarında asetilkolin-esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak)

Populasyonlar	Deneme sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	3	159± 54	128.80	126.95	220.94
Adana	6	69± 3	68.73	65.64	73.52

“Tamhane’s T_2 ” testine göre farklılık yoktur, $P=0.471>0.05$

Çizelge 4.19’da görüldüğü gibi, hassas ve Adana populsyonlarının AChE enzim aktiviteleri arasında, istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark yoktur.

Çizelge 4.20. *Heliothis armigera*'nın Hassas ve Hatay populasyonlarında asetilkolin-esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak)

Populasyonlar	Deneme sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	3	159± 54	128.80	126.95	220.94
Hatay	8	95±21	93.37	75.14	117.91

“Tamhane’s T₂ ” testine göre farklılık yoktur, P=0.671>0.05

Çizelge 4.20’den görüldüğü gibi, hassas ve Hatay populasyonlarının AChE enzim aktiviteleri arasında, istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark yoktur.

Çizelge 4.21. *Heliothis armigera*'nın Hassas ve Antalya populasyonlarında asetilkolin-esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması (nmole/ mg / dak)

Populasyonlar	Tekerrür sayısı	Ortalama±Standart sapma	Ortanca Değer	Minimum	Maksimum
Hassas	3	159± 54	128.80	126.95	220.94
Antalya	6	127± 8	125.07	117.97	137.98

“Tamhane’s T₂ ” testine göre farklılık yoktur, P=0.960>0.05

Çizelge 4. 21’den görüldüğü gibi, hassas ve Antalya populasyonlarının AChE enzim aktiviteleri arasında, istatistiksel olarak anlamlı derecede bir fark yoktur.

Bu test sonucuna göre, hassas populasyon tarla populasyonlarından daha yüksek AChE enzim aktivitesine sahip olmasına rağmen, hassas populasyonun AChE enzim aktivitesi ile tarla populasyonlarının AChE enzimi aktiviteleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Tarla populasyonlarında en düşük AChE aktivitesine sahip olan populasyon Adana populasyonudur. En yüksek enzim aktivitesine sahip populasyon ise Antalya populasyonudur. Adana populasyonu ile Antalya populasyonu arasındaki fark, Antalya

populasyonunun lehine istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p=0.00$). Hatay populasyonun AChE enzim aktivitesi de Antalya populasyonunun enzim aktivitesinden daha düşüktür ve bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p= 0.016$). Adana populasyonu ile Hatay populasyonu arasında AChE enzim aktivitesi açısından farklılık istatistiksel olarak önemli değildir ($p=0.052$).

AChE inhibitörlerinden insektisit olarak kullanılan iki ana sınıf organikfosforlular ve karbamatlılardır. Bunlar yarışmacı inhibitörlerdir ve moleküler yapıları ACh substratları ile analog (benzer)'tur. Böylece AChE organikfosforlu ve karbamatlı bileşikler için hedef enzimdir (Denholm *et al.* 1992). Böceklerde dayanıklı AChE'in varlığı *Nephotettix cincticeps*'te açıkça belirlenmiştir (Fournier ve Mutero, 1994). Değiştirilmiş AChE'lar *Musca domestica* L. gibi birçok böcekte ve sivrisinekte yüksek AChE aktivitesiyle görülmüştür (Tripathi ve O'Brien 1973, Ayad ve Georghiou 1975).

AChE'lar diğer dayanıklılık mekanizmaları ile birleşmiş olarak bulunabilirler. Örneğin, insektisit düşük penetrasyonu, oksidazlar, esterazlar veya GST nedeniyle daha iyi bir degradasyon sağlanabilir (Oppenoorth *et al.* 1977). Bu durumda, enzim duyarsızlığı ve dayanıklılık arasında doğrudan bir birleşme beklenemez (Oppenoorth 1985).

4.3. Genel Değerlendirme

Bu çalışmada elde edilen tüm veriler değerlendirildiğinde, biyoassay çalışmaları sonucunda tarladan toplanan *H. armigera* populasyonlarının endosulfan, profenofos, ve methomyl'e karşı dayanıklılık oranları düşük bulunmuştur (0.922-2.133 kat arasında değişmektedir). Tarla populasyonlarında bu 3 insektisite karşı bir miktar dayanıklılığın başladığı görüldü de şimdilik bu ilaçlara karşı ciddi bir duyarlılık azalması söz konusu değildir. Ancak, ileriki yıllarda oluşabilecek bir duyarlılık azalması ihtimali göz önünde bulundurularak, belirli aralıklarla bu populasyonların izlenmesi gerekmektedir.

Sentetik piretroidli ilaçlardan tralomethrin ve lambda-cyhalothrin'e karşı tarla populasyonları hassas popülasyona göre, tralomethrin'e 15-24 kat ve lambda-cyhalothrin'e 20-41 kat daha fazla dayanıklı bulunmuşlardır. Bu oran oldukça

yüksektir. Bu durumun, sentetik piretroidli ilaçların son yıllarda, diğer ilaçlardan daha yoğun bir şekilde kullanılması nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir. Sentetik piretroidli ilaçlar, başlangıçta çok etkili olmaları ve düşük dozda kullanılmaları nedeniyle üreticiler tarafından kısa sürede benimsenmiş ve fazla miktarda kullanılmıştır. Ancak, piretroidli ilaçlara karşı böceklerin kısa sürede dayanıklılık oluşturmaları, bunların dezavantajıdır.

Piretroidli ilaçlara karşı *H. armigera*'da yüksek dayanıklılık durumu düşünülerek, pamuk ekim alanlarında dayanıklılık yönetimi ile ilgili çalışmaların yapılması gerekmektedir. En azından belirli bir süre bu insektisitlerin kullanımının azaltılması veya yasaklanması, bunlara alternatif ilaçların ve mücadele yöntemlerinin araştırılması gerekmektedir.

Yapılan biyokimyasal çalışmalar sonucunda, Adana ve Hatay popülasyonu genel esteraz enzim aktivitesi, hassas popülasyonun genel esteraz enzim aktivitesinden daha düşük bulunmuştur. Antalya popülasyonunun genel esteraz enzim aktivitesi ise, hassas popülasyonun enzim aktivitesine benzer bulunmuştur. Glutasyon S-transferaz ve asetilkolinesteraz enzim aktiviteleri açısından tarla popülasyonları ile hassas popülasyon arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır.

Bu çalışmada, sentetik piretroidli insektisitler dışında, diğer insektisitlere karşı dayanıklılık oranının düşük bulunduğu düşünülürse, biyokimyasal çalışmalarda elde edilen sonuçlar beklenen sonuçlardır. Siegfried and Scott (1992)'ta, birçok organik fosforlu ve karbamatlı insektisite çoklu dayanıklılık gösteren *Blattella germanica* (L) popülasyonu ile propoxur ve chlorpyrifos'a karşı dayanıklılık mekanizmasının belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, belirlenen genel esteraz aktivitesi ile dayanıklılık seviyesi arasında beklenen bir ilginin olmadığını tespit etmişlerdir. Çin'de yapılan bir çalışmada, *H. armigera* popülasyonlarında fenvalerate dayanıklılığında esterazların önemli olmadığı ve dayanıklılığın esas olarak karışık fonksiyonlu oksidaz'ın metabolik mekanizması nedeniyle olduğu bildirilmektedir (Yidong and Jinliang 1996). Bin (1994), *H. armigera*'da dayanıklı ve hassas popülasyonlardan elde

edilen karboksil esteraz aktivitesinin benzer olabileceğini ve piretroid dayanıklılığı ile bir bağlantısının olmadığını bildirmektedir.

Böceklerde dayanıklılık mekanizmasını daha detaylı araştırmak için, tek bir birey üzerinde çoklu enzim assayleri yapılmalıdır. Bu assayler insektisit dayanıklılığının moleküler biyolojisi ile ilgili temel soruları cevaplandırmaya yardımcı olacaktır (Grant *et al.* 1989). Örneğin, Plapp (1984), *Musca domestica*'da detoksifikasyon enzimlerinin tek bir locus tarafından koordineli olarak düzenlendiğini bildirmektedir. Buna göre, eğer bir detoksifikasyon enzimi teşvik edilirse diğerleri de aynı zamanda teşvik edilecektir. Tek bir böcekte birçok enzimi ölçme yeteneği bu hipotezin doğrudan test edilmesini sağlar.

Bu çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, *H. armigera* populasyonlarında enzim aktiviteleri ve dayanıklılık arasında herhangi bir bağlantının olup olmadığını söyleyebilmemiz için, bu çalışmada ele alınmayan diğer enzimlerin aktivitelerinin belirlenmesi ve sentetik piretroidli ilaçlara karşı dayanıklılık mekanizmasının ortaya konması gerekmektedir.

5. KAYNAKLAR

- Ahmad, M. and McCaffery, A.R. 1988. Resistance to insecticides in a Thailand strain of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol., 81(1); 45-48.
- Ahmad, M., Iqbal Arif, M. and Ahmad, Z. 1995. Monitoring insecticide resistance of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera : Noctuidae) in Pakistan. J. Econ. Entomol., 88(4); 771-776.
- Alaux, T. 1995. Pyrethroid resistance management in *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Cote d'Ivoire. Resistant Pest Management, Vol. 7, No. 1.
- Anonim, 1999. Tarımsal Yapı (Üretim, Fiyat, Değer). Devlet İstatistik Enstitüsü Matbası , Nisan 1999-Ankara. DİE yayınları, No: 2234.
- Anonim, 2001. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Kayıtları.
- Anonymous, 1970. Standart method for detections of insecticide resistance in *Heliothis zea* (Boddie) and *H. virescens* (F.). Bull. Entomol. Soc. America. 16; 147-153.
- Atak, E. D. ve Atak, U. 1977. Marmara bölgesinde Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say)'nin insektisitlere karşı direnci üzerinde çalışmalar. Bitki Koruma Bülteni, 17(1); 29-40.
- Ayad, H. and Geoghiou, G. P. 1975. Resistance to organophosphates and carbamates in *Anopheles albimanus* based on reduced sensitivity of acetylcholinesterase. J. Econ. Entomol. 83; 2187-2192.
- Bercken, J. and Vijverberg, H.P.M. 1982. Interaction of pyrethroids and DDT-like compounds with the sodium channels in the nerve membrane. Pesticide Chemistry: Human welfare and the environment, Mode of action, metabolism and toxicology., Vol. 3; 115-121.
- Bin, X. 1994. The preliminary biochemical analyses of resistance of the cotton bollworm in China. Resistant Pest Management, Vol. 6 (2); 4-5.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive Method for the Quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72; 248-254.

- Brattsten, L. B. 1989. Insecticide resistance: research and management. *Pestic. Sci.*, 26; 329-332.
- Brown, T. M. and Brogdon, W. G. 1987. Improved detection of insecticide resistance through conventional and molecular techniques. *Ann. Rev. of Entomol.*, 32; 145-162.
- Callaghan, A. 1991. Insecticide resistance: mechanism and detection methods. *Sci. Progress Edinburgh*. Vol.75; 423-438.
- Casida, J. E. and Quistad, G. B. 1998. Golden age of insecticide research: past, present, or future? *Ann. Rev. Entomol.*, 43; 1-16.
- Clark, A. G. 1990. The glutathione S-transferases and resistance to insecticides. In *Glutathione S-transferases and Drug Resistance* (Edited by Hayes, J. D., Pickett C. B. and Mantle, T. J.); 369-378.
- Clark, A. G., Shamaan, N. A., Dauterman, W. C. and Hayaoka, T. 1984. Characterization of multiple glutathione transferases from the house fly, *Musca domestica* (L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol. 22; 51-59.
- Daly, J. C. 1988. Insecticide resistance in *Heliothis armigera* in Australia. *Pestic. Sci.*, 23; 165-176.
- Dary, O., Georgioui, G. P. , Parsons, E. and Pasteur, N. 1990. Microplate adaptation of Gomori's assay for quantitative determination of general esterase activity in single insects. *J. Econ. Entomol.*, 83; 2187-2192.
- Dauterman, W. C. 1983. Role of hydrolases and glutathione S-transferases in insecticide resistance. " in *Pest resistance to pesticides*. Eds: G.P. Georgioui and T. Satio. Plenum Press, New York and London, p. 229-247.
- Davidson, S. 1989. Pyrethroid resistance in *Heliothis*: a genetic puzzle. *Rural Research* 142, Autumn 1989; 11-17.
- Denholm, I., Devonshire, A. L. , Gormon, K. J. and Moores, G. D. 1992. Use of biochemical markers to study the interaction of insecticide resistance genes. In *Insecticides: Mechanism of Action and Resistance*. (D. Otto, B. Weber, eds.), p. 293-304. Intercept Ltd. U.K.
- Devonshire, A. L. 1990. Biochemical and molecular genetic analysis of insect populations resistant to insecticides. Brighton Crop Protection Conference- Pest and Diseases-1990. 889-896.

- Dindar, Ö. N., Yamlmaz, A. F. ve Yılmaz, D. 1986. Karadeniz bölgesinde fındıklarda zarar yapan Fındık kurdu (*Balaninus mucum* L.)'nun carbaryl'e karşı direnç durumu üzerinde ön çalışmalar. Ankara Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü, 3/E 300.002 nolu proje nihai raporu (basılmamış).
- Dindar, Ö. N. ve Yılmaz, D. 1989. Karadeniz bölgesinde fındıklarda zarar yapan Fındık kurdu (*Balaninus mucum* L.)'na karşı kullanıma yeni verilen ilaçlar üzerinde toksikolojik ön çalışmalar. Ankara Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü, KKGA-B-01-T-43 nolu proje nihai raporu (basılmamış).
- Dindar, Ö. N. ve Yılmaz, D. 1990. Orta Anadolu bölgesinde patateslerde zarar yapan Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say) üzerinde toksikolojik ön çalışmalar. Ankara Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü, KKGA-B-01-T-044 nolu proje nihai raporu (basılmamış).
- Dindar, Ö. N. 1992. *Ceratitis capitata* (Wied.)'nın değişik populasyonlarında malathion'a karşı direncin bazı yöntemlerle saptanması üzerinde araştırmalar. Doktora tezi (basılmamış). Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Dörtbudak, N., Yılmaz, D. ve Aydın, M. 1987. Ankara ve Eskişehir illerinde depolanmış tahılda zarar Buğday biti (*Sitophilus granarius* L.)'nin uygulamada kullanılan koruyucu ilaca karşı direnç durumunun araştırılması. Bitki Koruma Bülteni. 27(1-2); 101-109.
- Ellman, G. L. Courtney, , K. D. , Andres, V., Jr. and Featherstone, R. M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, Vol.7; 88-95.
- Elzen, G. W., Leonard, B. R., Graves, J. B., Burris, E. and Micinski, S. 1992. Resistance to pyrethroid, carbamate, and organophosphate insecticides in field populations of Tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) in 1990. *J. Econ. Entomol.*, 85(6); 2064-2072.
- Erdoğan, C. ve Gürkan, M. O. 1997. *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)'nın değişik populasyonlarının, bazı insektisitlere karşı duyarlılığının belirlenmesi üzerinde araştırmalar. *Türk. Entomol. Derg.*, 21(4); 299-309.

- Erkam, B ve Gürkan, S. 1983. Marmara bölgesi meyve ağaçlarında zararlı Avrupa kırmızı örümceği (*Panonychus ulmi* Koch.)'nin akarisitlere karşı direnci üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 23(3); 115-123.
- Ernst, G. H. and Dittich, V. 1992. Comparative measurement of resistance to insecticides in three closely-related old and new world bollworm species. Pestic. Sci., 34; 147-152.
- Ersoy, G. 1976. Elma iç kurdu (*Laspeyresia pomonella* L.)'nun insektisitlere karşı direnci üzerinde araştırmalar. Ankara Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü çalışmalarından (basılmamış).
- Finney, D. J. 1964. Probit Analysis (2nd edition). Cambridge University Press, 318 p., U.K.
- Forgash, A. J. 1984. History, evolution, and consequences of insecticide resistance. Pesticide Biochemistry and Physiology, 22; 178-186.
- Fournier, D., Bride, J. M., Mouches, C., Raymond, M., Magnin, M., Berge, J. B. , Pasteur, N. and Georgiou, G. P. 1987. Biochemical characterization of esterases A1 and B1 associated with organophosphate resistance in the *Culex pipiens* L. complex. Pest. Biochem. Physiol. Vol. 27.
- Fournier, D., Bride, J. M., Poirie, M., Berge, J. B. and Plapp, F. W. 1992. Insect Glutathione S- Transferases. The Journal of Biological Chemistry, 267(3); 1840-1845.
- Fournier, D. and Mutero, A. 1994. Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 108; 19-31.
- Fukami, J. 1980. The metabolism of several insecticides by glutathione S-transferases. Pharmacology and Therapeutics, 10; 473-514.
- Georgiou, G. P. 1980. Insecticide and prospects for its management. Residue Reviews, 76; 131-145.
- Georgiou, G. P. and Mellon, R. B. 1980. "Pesticide resistance in time and space. " in Pest resistance to pesticides. Eds: G.P. Georgiou and T. Satio. Plenum Press, New York and London, p. 1-70.
- Georgiou, G. P. and Mellon, R. B. 1983. "Pesticide resistance in time and space. " in Pest resistance to pesticides. Eds: G.P. Georgiou and T. Satio. Plenum Press, New York and London, p.1- 46.

- Georghiou, G. P. and Taylor, C. E. 1977. Operational influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.*, 70; 653-658.
- Gomori, G., 1953. Human esterases. *J. Lab. and Clin. Med.*, Vol. 42 (3); 445-453.
- Grant, D. F., Bender, D. M. and Hammock, B. D. 1989. Quantitative kinetic assays for glutathione S-transferase and general esterase in individual mosquitoes using an eia reader. *Insect Biochemistry*, Vol. 19; 741-751.
- Gunning, R. V. , Easton, C. S. , Greenup, L. R. And Edge, V. E. 1984. Pyrethroid resistance in *Heliothis armiger* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia. *J. Econ. Entomol.*, 77 ; 1283-1287.
- Gunning, R.V. Forrester, N. W. , Easton, C. S. and Greenup, L. R. 1990. Relationship between DDT and pyrethroid resistance in *Heliothis armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia. *Tropical Pest Management*, 36(3); 293-295.
- Gunning, R. V. 1994. Esterases and pyretroid resistance in Australian *Helicoverpa armigera*. *Resistant Pest Management*, Vol. 6. No.2.
- Gunning, R. V. 1995. Detecting thiocarb resistance in Australian *Helicoverpa armigera*. *Resistant Pest Management*, Vol. 7. No.2.
- Gunning, R. V. , Moores, G. D. and Dvonshire, A.L. 1997. Biochemical resistance detection in *Helicoverpa armigera* in Australia. *Recent Resistance.. Devel. in Entomol.*, 1; 203-213.
- Hama, H. 1983. Resistance to insecticides due to reduced sensitivity of acetylcholinesterase. " in *Pest resistance to pesticides*. Eds: G.P. Georghiou and T. Satio. Plenum Press, New York and London, p. 299-331.
- Harold, J., Ottea, J., Dugger, P. (ed) and Richter, D. 1999. Mechanisms of resistance to organophosphate insecticides in the tobacco budworm, *Heliothis virescens*. 1999 Proceedings Beltwide Cotton Conferances, Orlando, Florida, USA, 3-7 January, 1999: Volume 2; 880-883; 29 ref.
- Hassall, K. A. 1990. *The biochemistry and uses of pesticides*. Second Eddition. VCH, New York.
- Heckel, D. G. Gahan, L. J. , Gould, F. , Daly, J.C. and Trowell, S. 1997. Genetics of *Heliothis* and *Helicoverpa* resistance to chemical insecticides and *Bacillus thuringiensis*. *Pesticide Science*, 51; 251-258.

- Hodgson, E., Silver, I.S., Butler, L.E., Lawton, M.P. and Levi, P.E. 1991. Metabolism, pp.107-167, in W.J. Hays, Jr, and E.R.Laws, Jr (eds.). Handbook of pesticide Toxicology. Academic Press, New York.
- Horowitz, A. R. and Ishaaya, I. 1992. Insecticide resistance management strategy in cotton fields in Israel. Resiatance Pest Management, Vol. 4, pt. 1, p. 26-27.
- Horowitz, A. R., Seligman, I. M., Forer, G., Bar, D. and Ishaya, I. 1993. Preventive Insecticide resistance strategy in *Helicoverpa (Heliothis) armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Israeli cotton. J. Econ. Entomol., 86(2); 205-212.
- Hoskins, W. M. 1960. Use of the dosage-mortality curve in quantitative estimation of insecticide resistance. Miscellaneous Publication of the Entomological Society of America. Vol. 2 (1); 85-91.
- İren, Z. 1966. Bazı illerimizde Elma iç kurdu (*Carpocapsa pomonella* L.)'na karşı mücadele, DDT'ye mukavemet konusu ve sevin'in meyve seyreltmesini tetkik bakımından yapılan çalışmalar. Bitki Koruma Bülteni, 6; 49-66.
- Karman, M. 1959. Tütünlerde zararlı Thrips tabaci Lind.'nin parathionlu preparatlara karşı muhafiyeti üzerinde deneme. Bitki Koruma Bülteni, 1 (2); 9-11.
- Kanga, L. H. B. , Plapp, Jr. F. W. , 1992. Development of a glass vial technique for monitoring resistance to organophosphate and carbamate insecticides in the tobacco budworm and the boll weevil. Proc Beldwide Cotton Prod and Res Conf, Natnl Cotton Council, Memphis. pp, 731-734.
- Kanga, L. H. B. , Plapp, Jr. F. W. , Wall, M. L. and Elzen, G. W. 1993. Monitoring for resistance to nonpyretroid insecticides in the tobacco budworm. Proc Beldwide Cotton Prod and Res Conf, Natnl Cotton Council, Memphis. Vol.2; 802-807.
- Kişmir, A., Arık, Ü., Turhan, N., Belli, H., Tunç, A., Tekin, T. ve Kısakürek, N. 1976. Adana Enstitüsü pamuklarında zarar yapan Yeşilkurt(*Heliothis* spp.) larvalarına karşı ilaç denemeleri. Adana Bölge Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü 110.077 No. Lu Proje çalışma raporları (basılmamış).
- Knight, A. L and Norton, G. W. 1990. Economics of agricultural pesticide resistance in arthropods. Ann. Rev. of Entomol., 34; 293-313.
- Kojima, K., Ishizuka, T., and Kitaka, S. 1963. Mechanism of resistance to malathion in the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps*, Boytu- Kagaku, 28; 17.

- Lagadic, L., Cuany, A., Berge, J. B. and Echaubard, M. 1993. Purification and partial characterization of glutathione S-transferases from insecticide-resistant and lindane-induced susceptible *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae. Insect Biochem. Molec. Biol. Vol. 23 (4); 467-474.
- Leonard, B. R., Sparks, T. C. and Graves, J. B. 1988. Insecticide cross-resistance in pyrethroid-resistant strains of tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol., 8(5);1529-1535.
- Leonova, I. N. and Slynko, N. M. 1996. Comparative study of insecticide susceptibility and activities of detoxification enzymes in larvae and adults of cotton bollworm, *Heliothis armigera*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 32; 157-172.
- LeOra Software. 1994. POLO-PC: a user's guide to probit or logit analysis. LeOra Software, 28p., Berkeley, CA.
- Lewis, J. B. 1969. Detoxification of diazinon by subcellular fractions of diazinon-resistant and susceptible house flies. Nature, 224; 917-918.
- Luttrell, R. G., Roush, R. T., Ali, A., Mink, J. S., Reid, M. R. and Snodgrass, G. L. 1987. Pyrethroid resistance in field populations of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Mississippi in 1986. J. Econ. Entomol., 80 (5); 985-989.
- Martin, S. H., Elzen, G. W., Graves, J. B., Micinski, S. Leonard, B. R. and Burris, E. 1992. Toxicological responses of tobacco budworms from Louisiana, Mississippi and Texas to selected insecticides. Proc Beldwide Cotton Prod and Res Conf, Natnl Cotton Council, Memphis. pp. 735-738.
- Matsumura, F. and Voss, G. 1965. Properties of partially purified carboxylesterase of the two spotted spider mite. J. Insect Physiology, Vol. 11, pp 147.
- McCaffery, A. R., Maruf, G. M., Walker, A. J. and Styles, K. 1988. Resistance to pyrethroids in *Heliothis* spp. : Bioassay methods and incidence in populations from India and Asia. Brighton Crop protection Conference- Pest and Diseases, p.433-438.
- McCaffery, A. R., King, A. B. S., Walker, A. J., and El-Nayir, H. 1989. Resistance to synthetic pyrethroids in the Bollworm, *Heliothis armigera* from Andhra Pradesh, India. Pestic. Sci., 27; 65-76.

- Melander, A. L. 1914. Can insects become resistant to sprays? J. Econ. Entomol., 7; 167-173.
- Mengle, D.C. and Casida, J. E. 1960. Biochemical factors in the acquired resistance of houseflies to organophosphate insecticides. J. Agric. Food Chem., 8;431-437.
- Metcalf, R. L. 1989. Insect resistance to insecticides. Pesticide Science, 26; 333-358.
- Miyata, T. 1983. Detection and monitoring methods for resistance in arthropods based on biochemical characteristics. in Pest resistance to pesticides. Eds: G.P. Georgiou and T.Saito , Plenum Press, New York and London, p. 99-116.
- Motoyama, N. and Dauterman, W. C. 1975. Interstrain comparison of glutathione dependent reactions in susceptible and resistant houseflies. Pestic. Biochem.. Physiol., 5; 489.
- Motoyama, N. and Dauterman, W. C. 1977. Purification and properties of house fly glutathione S-transferase. Insect Biochemistry, Vol. 7; 361-369.
- Motoyama, N. and Dauterman, W. C. and Plapp, F. W., Jr., 1977. genetic studies of glutathione-dependent reactions in resistant strains of house fly, *Musca domestica* L. , Pestic. Biochem. Physiol., 7; 433.
- Motoyama, N. and Dauterman, W. C. 1978. Molecular weight, subunits and multiple forms of glutathione S-transferase from the house fly. Insect Biochem., 8; 337.
- Motoyama, N. and Dauterman, W. C. 1980. Glutathione S- Transferases: Their role in the metabolism of organophosphorus insecticides. Rev. Biochem. Toxicol., Vol. 2; 49-69.
- Motoyama, N., Rock, G. C. and Dauterman, W. C. 1971. Studies on the mechanism of azinphosmethyl resistance in the predaceous mite, *Neoseiulus fallacis* (T.) (family: Phytoseiidae). Pestic. Biochem. Pyhsiol., 1; 205-215.
- Narahashi, T. , 1983 "Resistance to insecticides due to reduced sensitivity of the nervous system." in Pest resistance to pesticides. Eds: G.P. Georgiou and T. Saito. Plenum Press, New York and London. p. 333-352.
- Oppenoorth, F. J. 1965. Biochemical genetics of insecticide resistance. Ann. Rev. Entomol., 10; 185-206.
- Oppenoorth, F. J. 1985. Biochemistry and genetics of insecticide resistance. In: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. (eds. Kerkut, G.S. and Gilbert, L.I.). Vol. 12, Pergamon Press, Oxford, p. 731-773.

- Oppenoorth, F. J., Rupes, S. ElBashir, S. Houx, N. W. H. Voerman, S. 1972. Glutathione-dependent degradation of parathion and its significance for resistance in the house fly. *Pestic. Biochem. Physiol.*, Vol. 2; 262-269.
- Oppenoorth, F. J., Smissaert, H. R. , Welling, W., van der Pas, L. J. T. and Hitman, K. T. 1977. Insentitive acetylcholinesterase, high glutathione s-transferase, and hydrolytic activity as resistance factors in a tetrachlorvinphos-resistant strain of housefly. *Pestic. Biochem. Physiol.*, Vol. 7; 34-47.
- Ottea, J. A. and Plapp, F. W. 1984. Glutathione S-transferase in the housefly: Biochemical and genetic changes associated with induction and insecticide resistance. *Pesticide Biochem. Physiol.*, 22; 203-208.
- Ozaki, A. R. and Kassai, T. 1970. Biochemical genetics of malathion resistance in the smaller brown planthopper. *Entomol. Exp. Appl.*, Vol. 13; 162.
- Öden, T., Ersoy, G. ve Temizer, A. 1971. Lindane ve carbaryl'e karşı Bambul (*Anisoplia austraca* Hbs.)'un mukavemet durumu üzerinde çalışmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 11; 65-71.
- Öden, T., Temizer, A. ve Ersoy, G. 1972a. DDT ve BHC'nin Kımıl (*Aelia rostrata* Boh.)'a etkisi üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 12; 145-152.
- Öden, T., Temizer, A., Ersoy, G. ve Kılıç, B. 1972b. Pamuk yaprak kurdu (*Spodoptera littoralis* Boisd.) üzerinde toksikolojik çalışmalar. Ankara Zırai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü, 109-010 nolu proje raporu (basılmamış).
- Öden, T., Temizer, A., Ersoy, G. ve Kılıç, B. 1975a. Fındık kurdu (*Balaninus nucum* L.)'nun carbaryl ve methiocarb'a karşı direnci üzerinde çalışmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 15(1), 36-40.
- Öden, T., Temizer, A., Ersoy, G. ve Kunter, K. 1975b. Antalya bölgesi pamuklarında Pamuk yaprak kurdu ((*Spodoptera littoralis* Boisd.)'nun insektisitlere karşı direnci. *Koruma Bülteni*, 15; 97-106.
- Öden, T. 1979. Insecticide resistance in agricultural insect species of Turkey. VI. Balkan Ülkeleri Bitki Koruma Konferansı Bildirileri, İzmir, 10-16 Ekim 1977, 187-193.

- Phokela, A. and Mehrotra, K. N. 1989. Pyrethroid resistance in *Heliothis armigera* Hubner II. Permeability and metabolism of cypermethrin. Proc. Indian natn. Sci. Acad. B55 No. 4, p. 235-238.
- Phokela, A. and Mehrotra, K. N. 1992. A diagnostic dose for monitoring pyrethroid resistance in *Heliothis armigera* in India. Resiatance Pest Management, Vol. 4, pt. 1, p. 25-26.
- Plapp, F. W. 1976. Biochemical genetics of insecticide resistance. Ann. Rev. Entomol. Vol. 21; 179-197.
- Plapp, F. W. 1984. The genetic basis of insecticide resistance in the housefly: Evidence that a single locus plays a major role in metabolik resistance to insecticides. Pesticide Biochemistry and Physiology Vol. 22; 194-201.
- Plapp, F. W. and Bigley, W. S. 1961. Inhibition of house fly ali-esterase under *in vivo* conditions by parathion and malathion. J. Econ .Entomol., Vol. 54; 103-108.
- Plapp, F. W. and Wang, T. C. 1983. Genetic orijins of insecticide resistance. In: Pest Resistance to Pesticides (Eds. Georghiou, G. P. and Satio, T.). Plenum Press, New York and London, p. 47-70.
- Plapp, F. W., Jackman, J. A., Campanhola, C., Frisbie, R. E., Graves, J.B., Luttrell, R. G., Kitten, W. F. and Wall, M. 1990. Monitoring and management of pyrethroid resistance in tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) in Texas, Mississippi, Louisiana, Arkansas, and Oklahoma. J. Econ .Entomol., 83(2); 335-341.
- Reddy, G. R., Chitra, K. C. and Rao, P. K. 1991. Development of resistance to insecticides in different populations of *Heliothis armigera* Hubner (Noctuidae: Lepidoptera) in Andhra Pradesh. Indian J. Entomol., 53(3); 393-395.
- Reidy, G. F., Rose, H. A. Visetson, S. and Murray, M. 1990. Increased glutathione S-transferase activity and glutathione content in an insecticide resistant strain of *Tribolium castaneum* (Herbst). Pestic. Biochem. Physiol., 36; 269-276.
- Robertson, J. L. and Preisler, H. K. 1992. Pesticide bioassay with arthropods. CRC Press, London, 127 p.
- Sevintuna, C., Kılıç, B. ve Özsunar, G. 1963. Elma iç kurdu ve Elma ağ kurdunun gusathion ve DDT'ye direnci. Ankara Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü çalışmalarından (basılmamış).

- Siegfried, B. D. and Scott, J. G. 1992. Biochemical characterization of hydrolitic and oxidative enzymes in insecticide resistant and susceptible strains of the German cockroach (dictyoptera: Blattellidae). J. Econ. Entomol., 85(4); 1092-1098.
- Soderlund, D. M. and Bloomquist, J. R. 1990. Molecular mechanism of insecticide resistance, p. 58-96, in R.T. Roush and B.E. Tabashnik(eds). Pesticide Resistance in Arthropods. Chapman and Hall, New York.
- Soderlund, D. M. 1997. Molecular mechanisms of insecticide resistance. In: Molecular Mechanisms of Resistance to Agrochemicals (ed. Sjut, V.). Springer, 21-56, Germany.
- Spackman, M. E. , Oakeshott, J. G., Smyth, K. A. , Medveezky, K. M. and Russel, J. R. 1994. A cluster of esterase genes on chromosome 3R of *Drosophila melanogaster* includes homologues of esterase genes conferring insecticides resistance in *Lucilia cuprina*. Biochemical Genetics, Vol. 32; 39-62.
- Tabashnik, B. E. ,1990. Implications of gene amplification for evaluation and management of insecticide resistance. J. Econ Entomol., 83; 1170-1176.
- Takayısı, İ., Kaygısız, H., Belli, H. ve Arık, Ü. 1969. Güney Anadolu bölgesi pamuklarında zarar yapan Pamuk yaprakkurdu (*Prodenia litura* L.)'na karşı vaki şikayetler üzerinetxophane + DDT + methyl parathion terkipli ilaçların denenmesi. Adana Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü çalışmaları (basılmamış).
- Tan, W. J. and Guo, Y. Y. 1996. Effects of host plant on susceptibility to deltamethrin and detoxication enzymes of *Heliothis armigera* (Lepidoptera:Noctuidae). J. Econ. Entomol., 89(1); 11-14.
- Temizer, A. 1972. Süne (*Eurygaster integriceps* Put.)'nin değişik hayat dönemlerinin insektisitlere karşı direnci konusunda çalışmalar. Ankara Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü çalışması (basılmamış).
- Terriere, L. C. 1984. Induction of detoxication enzymes in insects. Ann. Rev. Entomol., 29; 71- 88.
- Tomlin, C. D. S. (ed) 1997. The Pesticide Manual 11th edition, The British Crop Protection Council, BCPC Publications, 1606 p., UK.

- Tripathi, R. K. and O'Brien, R. D. 1973. Insensitivity of acetylcholinesterase as a factor of in resistance of houseflies to the organophosphate rabor. Pestic. Biochem. and Physiol., Vol. 3; 495-498.
- Ural, İ., Işık, M., Kırtıloğlu, T. ve Özdemir, N. 1967. Karadeniz bölgesinde *Balaninus mucum*'a karşı ilaç denemeleri. Ankara Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü, 108.600 nolu proje nihai raporu (basılmamış).
- Ünal, G. ,Yılmaz, D. Kılıç, B. ve Dindar, Ö. N. 1994. orta Anadolu Bölgesi hububat alanlarında zarar yapan Kımlı (*Aelia rostrato* Boh)'ın kullanılan insektisitlere karşı duyarlılıklarının araştırılması. Bitki koruma Bülteni, 34 (3-4); 135-142.
- Ünal, G. ve Uğurlu, S. 2000. Orta Anadolu bölgesinde Patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say) populasyonlarının yaygın olarak kullanılan insektisitlere karşı duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi. Türkiye Entomoloji Derneği Yayınları No: 10. (Türkiye 4. Entomoloji Kongresi Bildirileri. 12-15 Eylül 2000, Aydın), 285-294.
- van Asperen, K. and Oppenoorth, F. J. 1959. Organophosphate resistance and esterase activity in houseflies. Entomol. Exp. Appl., Vol. 2, pp 48.
- van Asperen, K. 1962. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. Journal of Insect Physiology, Vol. 8; 401-416.
- Velioğlu, S. 1999. Değişik bölgelerden toplanan *Myzus persicae* (Sulz.) populasyonlarının farklı gruptan bazı insektisitlere karşı duyarlılık farklarının belirlenmesi üzerinde araştırmalar. Doktora tezi (basılmamış).
- Walker, C. H. , Lee, K. S., McCaffery, A. R. and Little, E. J. 1990. Resistance to cypermethrin in the PEG87 strain of *Heliothis virescens*- The enzymatic factor. Proc Beltwide Cotton Production and Research Conf, Natnl Cotton Council Memphis, 177-180.
- Watkinson, I. A., Wiseman, J. and Robinson, J. 1984. A simple test kit for field evaluation of the susceptibility of insect pest to insecticides. In Proceedings, 1984 British Crop Protection Conference-Pest and Diseases, 559-564.
- Wheeler, G. S., Slansky, F. JR. and Yu, S. J. 1993. Fall armyworm sensitivity to flavone: Limited role of constitutive and induced detoxifying enzyme activity. Journal of Chemical Ecology, Vol. 19(4); 645-667.

- Yanchao, J. and Runxi, L. 1995. The effect of pesticide mixtures versus single applications on resistance in the cotton bollworm. *Resistance Pest Management*, Vol. 7, No.2.
- Yawetz, A. and Koren, B. 1984. Purification and properties of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* W. glutathione transferase. *Insect Biochemistry*, 6; 663-670.
- Yidong, W. and Jinliang, S. 1996. Characters of fenvalerate resistance in *Helicoverpa armigera* (Hubner) from China. *Resistant Pest Management*. Vol. 8, No. 1.
- Yu, S. J. 1984. Interactions of allelochemicals with detoxication enzymes of insecticide-susceptible and resistant fall armyworms. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 22; 60-68.
- Yu, S. J. 1986. Consequence of induction of foreign compound metabolizing enzymes in insects, pp. 153-174, in L.B. Brattsten and S.Ahmad (eds.). *Molecular Aspects of Insect- Plant Associations*. Plenum Press, New York.
- Yu, S. J. 1991. Insecticide resistance in the Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 39; 84-91.
- Yu, S. J. 1992. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 85 (3); 675-682.
- Yu, S. J. 1995. Tissue-specific expression of glutathione transferase isozymes in Fall armyworm larvae. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 53; 164-171.
- Yunxi, L., Guilin, C. and Yanchou, J. 1995. Cross resistant patterns of insecticide selected strains of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera* (Hubner)). *Resistance Pest Management*, Vol.7, No.2.
- Zoral, A., Ersoy, G., Yılmaz, D. ve Dindar, Ö. N. 1983. Pamuklarda zarar yapan Beyazsinek (*Bemisia tabaci* Genn.) üzerinde toksikolojik çalışmalar. Ankara Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitüsü, A. 109.013 nolu proje nihai raporu (basılmamış).

ÖZGEÇMİŞ

Eskipazar'da 1963 yılında doğdu. İlk ve orta öğrenimini Eskipazar'da, lise öğrenimini Karabük'te tamamladı. 1985 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nden 1989 yılında Ziraat Mühendisi ünvanıyla mezun oldu. Ekim 1989-Kasım 1994 yılları arasında, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Yüksek lisans öğrenimini tamamlayarak Ziraat Yüksek Mühendisi ünvanını aldı.

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde 1991-1994 yılları arasında Araştırma Görevlisi olarak çalıştı. 1994 yılında Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, Toksikoloji Bölümü'nde çalışmaya başladı. Halen aynı birimde Ziraat Yüksek Mühendisi olarak görev yapmaktadır.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM BAKANLIĞI
DOKÜMENTASYON MERKEZİ