

T.C.  
ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ  
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ISPARTA İLİ ELMA BAHÇELERİNDE ZARARLI OLAN *Cydia pomonella* (L.) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE)  
POPULASYONLARININ BAZI İNSEKTİSİTLERE KARŞI  
DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN VE BİYOKİMYASAL  
MEKANİZMALARININ BELİRLENMESİ

Mustafa Murat YEŞİLİRMAK

Danışman  
Prof. Dr. Recep AY

ISPARTA - 2024

© 2024 [Mustafa Murat YEŞİLRMAK]

## ETİK BEYANI

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak ve bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın hazırladığım bu tez çalışmasında;

Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

15/01/2024

**Mustafa Murat YEŞİLİRMAK**

.....

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                                  | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| İÇİNDEKİLER .....                                                                                                | i     |
| ÖZET.....                                                                                                        | iii   |
| ABSTRACT.....                                                                                                    | iv    |
| TEŞEKKÜR.....                                                                                                    | v     |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                                                             | vi    |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                                                          | vii   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....                                                                             | viii  |
| 1. GİRİŞ .....                                                                                                   | 1     |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ .....                                                                                         | 11    |
| 2.1. <i>Cydia pomonella</i> 'nın Organafosfat İnsektisit Sınıfına Karşı Direnç Durumu....                        | 14    |
| 2.2. <i>Cydia pomonella</i> 'nın Piretroit İnsektisit Sınıfına Karşı Direnç Durumu.....                          | 14    |
| 2.2.1. <i>Cydia pomonella</i> 'nın kdr direnç mekanizması .....                                                  | 14    |
| 2.3. <i>Cydia pomonella</i> 'nın Neonikotinoid İnsektisit Sınıfına Karşı Direnç Durumu..                         | 15    |
| 2.4. Dünyada <i>Cydia pomonella</i> Direnci ve Mekanizması Hakkında Yapılmış Çalışmalar .....                    | 15    |
| 2.5. Diğer Lepidoptera Zararlılarında Yapılmış Çalışmalar .....                                                  | 22    |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM .....                                                                                      | 28    |
| 3.1. Materyal .....                                                                                              | 28    |
| 3.2. Yöntem.....                                                                                                 | 29    |
| 3.2.1. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının üretilmesi .....                                                 | 29    |
| 3.3. Biyoassay Çalışmalar .....                                                                                  | 34    |
| 3.3.1. İnsektisit biyoassay denemeleri.....                                                                      | 34    |
| 3.3.2. Sinerjist + insektisit biyoassay denemeleri .....                                                         | 34    |
| 3.4. Biyokimyasal Çalışmalar .....                                                                               | 36    |
| 3.4.1. Esteraz, GST ve P450 enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan enzim kaynağının hazırlanması ..... | 36    |
| 3.4.2. Toplam esteraz, enzim aktivitesinin belirlenmesi.....                                                     | 37    |
| 3.4.3. GST enziminin aktivitesinin belirlenmesi.....                                                             | 38    |
| 3.4.4. Sitokrom P450 monooksijenaz enziminin florimetrik olarak okunması.....                                    | 38    |
| 3.5. Moleküler Çalışmalar.....                                                                                   | 39    |
| 3.5.1. DNA ekstraksiyon çalışmaları .....                                                                        | 39    |
| 3.5.2. PCR çalışmaları.....                                                                                      | 40    |
| 3.6. Verilerin Analizi.....                                                                                      | 42    |
| 4. BULGULAR .....                                                                                                | 43    |
| 4.1. Bioassay Sonuçları .....                                                                                    | 43    |
| 4.1.1. Deltamehrin bioassay sonuçları .....                                                                      | 43    |
| 4.1.2. Indoxacarb bioassay sonuçları .....                                                                       | 45    |
| 4.1.3. Emamectin benzoate bioassay sonuçları .....                                                               | 48    |
| 4.2. Sinerjist Bioassay Sonuçları.....                                                                           | 51    |
| 4.2.1. Sinerjist + deltamethrin bioassay sonucu .....                                                            | 52    |
| 4.2.2. Sinerjist + indoxacarb bioassay sonucu .....                                                              | 55    |
| 4.3. Biyokimyasal Sonuçları .....                                                                                | 58    |
| 4.3.1. Esteraz enzim aktivitesi sonuçları .....                                                                  | 58    |
| 4.3.2. Sitokrom P-450 monooksijenaz enzim aktivitesi sonuçları .....                                             | 60    |
| 4.3.3. GST enzim sonuçları.....                                                                                  | 61    |
| 4.4. Moleküler Sonuçlar .....                                                                                    | 62    |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....                                                                                       | 65    |

|                 |    |
|-----------------|----|
| KAYNAKLAR ..... | 71 |
| ÖZGEÇMİŞ .....  | 82 |



## ÖZET

### Doktora Tezi

# ISPARTA İLİ ELMA BAHÇELERİNDE ZARARLI OLAN *Cydia pomonella* (L.) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) POPULASYONLARININ BAZI İNSEKTİSİTLERE KARŞI DUYARLILIK DÜZEYLERİNİN VE BİYOKİMYASAL MEKANİZMALARININ BELİRLENMESİ

Mustafa Murat YEŞİLIRMAK

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Recep AY

Bu çalışma ile ülkemizde *Cydia pomonella*'nın indoxacarb, deltamethrin ve emamectin benzoate karşı direnç durumu ve direnç mekanizmaları ilk kez araştırılmıştır. Isparta iline ait Tepeli (Eğirdir), MAREM (Eğirdir), Yalvaç, Gelendost, Aksu, Gönen ve Gölcük lokasyonlarından toplanan son dönem larvalara topikal aplikasyon bioassay metodu ile söz konusu insektisitlerin direnç oranları belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan insektisitlere direnç oranı 10 katı geçen MAREM ve Tepeli popülasyonlarında PBO, TPP ve DEM sinerjistleri uygulanmıştır. Esteraz, Glutasyon S Transferaz ve Sitokrom P-450 monooksijenaz enzim seviyeleri biyokimyasal çalışmalar ile belirlenmiştir. Tepeli, MAREM, Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonları deltamethrine'e sırasıyla 22.37, 21.9, 8.54, 4.46, 3.38 ve 6.68 kat; indoxacarb'a sırasıyla 29.87, 23.1, 4.9, 8.7, 5.67 ve 7.35 kat; emamectin benzoate ise sırasıyla 1.46, 2.03, 3.05, 2.12, 2.61 ve 3.85 kat direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Biyokimyasal analizler sonucu Tepeli, MAREM, Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının esteraz enzim değeri sırasıyla 0.53, 0.61, 0.94, 0.8, 0.78 ve 0.51 mOD/min/mg protein; P-450 enzim değeri sırasıyla 0.7, 0.78, 0.53, 0.63, 0.58 ve 0.59 RFU/30 min/mg protein ve GST enzim değeri sırasıyla 0.77, 0.79, 1.03, 0.9, 0.88 ve 1.29 mOD/min/mg protein belirlenmiştir. MAREM ve Tepeli popülasyonlarının deltamethrin ile indoxacarb'a orta düzeyde direnç geliştirdiği Gelendost, Gönen, Aksu ve Yalvaç popülasyonlarının ise düşük seviyede direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Tüm popülasyonların emamectin benzoate'e düşük seviyede direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Tepeli ve MAREM popülasyonlarının deltamethrin ve indoxacarb'a direnç geliştirmesinde P-450 ve esteraz enzimlerinin aktiviteleri rol oynayabileceği ve ayrıca MAREM popülasyonunda yapılan moleküler çalışma sonuçlarına göre sodyum kanallarında deltamethrin direnci ile ilişkili olan kdr nokta mutasyonu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Cydia pomonella*, Detoksifikasyon, Direnç, Elma içkurdu, İnsektisit, Kdr

2024, 82 sayfa

## ABSTRACT

### Ph.D. Dissertation

#### DETERMINATION OF THE SUSCEPTIBILITY AND BIOCHEMICAL MECHANISMS OF *Cydia pomonella* (L.) (LEPIDOPTERA: TORTRICIDAE) POPULATIONS, PEST IN APPLE ORCHARDS IN ISPARTA, AGAINST SOME INSECTICIDES

Mustafa Murat YEŞİLIRMAK

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

Supervisor: Prof. Dr. Recep AY

In this study, for the first time in our country, the resistance status and resistance mechanisms of *Cydia pomonella* against indoxacarb, deltamethrin and emamectin benzoate were investigated. Resistance rates of the insecticides were determined by topical application bioassay method on late-stage larvae collected from Tepeli (Eğirdir), MAREM (Eğirdir), Yalvaç, Gelendost, Aksu, Gönen and Gölcük locations in Isparta province. PBO, TPP and DEM synergists were applied to MAREM and Tepeli populations whose resistance rate to the insecticides used in the study exceeded 10 times. Esterase, Glutathione S Transferase and Cytochrome P-450 monooxygenase enzyme levels were determined by biochemical studies. Tepeli, MAREM, Yalvaç, Gelendost, Aksu, and Gönen populations developed 22.37, 21.9, 8.54, 4.46, 3.38, and 6.68 levels of resistance to deltamethrin, 29.87, 23.1, 4.9, 8.7, 5.67, and 7.35 levels of resistance to indoxacarb, and 1.46, 2.03, 3.05, 2.12, 2.61 levels of resistance to emamectin benzoate respectively. As a result of biochemical analysis, the esterase enzyme values of Tepeli, MAREM, Yalvaç, Gelendost, Aksu and Gönen populations were 0.53, 0.61, 0.94, 0.8, 0.78 and 0.51 mOD/min/mg protein, respectively; P-450 enzyme value was determined as 0.7, 0.78, 0.53, 0.63, 0.58 and 0.59 RFU/30 min/mg protein, respectively, and GST enzyme value was determined as 0.77, 0.79, 1.03, 0.9, 0.88 and 1.29 mOD/min/mg protein, respectively. It was determined that MAREM and Tepeli populations developed moderate resistance to deltamethrin and indoxacarb, while Gelendost, Gönen, Aksu and Yalvaç populations developed low level resistance. It was determined that all populations developed low level resistance to emamectin benzoate. The activities of P-450 and esterase enzymes may play a role in the development of resistance to deltamethrin and indoxacarb in the Tepeli and MAREM populations, and also, according to the results of the molecular study conducted in the MAREM population, a kdr point mutation in sodium channels associated with deltamethrin resistance was determined.

**Key Words:** *Cydia pomonella*, Detoxification, Resistance, Codling moth, Insecticide, Kdr

2024, 82 pages

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında değerli katkı ve eleştirileriyle yol gösteren, sonsuz sabırla beni her zaman çalışmaya teşvik eden ve güven veren danışmanım Sayın Prof. Dr. Recep AY'a sonsuz katkılarından dolayı içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezi izleme jürisinde bulunarak çalışma boyunca önemli yorum ve değerlendirmeleri ile katkıda bulunan sayın hocalarım Prof. Dr. Enver DURMUŞOĞLU, Prof. Dr. Ahmet Güray FERİZLİ, Prof. Dr. Ali Kemal BİRGÜCÜ ve tez savunma jürisinde yer alarak beni destekleyen sayın hocalarım Prof. Dr. İbrahim ÇAKMAK, Prof. Dr. Sibel YORULMAZ, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet HATİPOĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Asiye UZUN YİĞİT hocalarıma tüm özverili katkıları için teşekkürlerimi sunarım

TAGEM/BSAD/E/22/A2/P2/5238 No`lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Tarımsal Araştırma ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne teşekkür ederim.

Ayrıca moleküler çalışmalarda yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Bayram ÇEVİK'e her türlü desteği esirgemeyen ve çalışmamın her aşamasında manevi olarak yanımda olan değerli arkadaşlarım Dr. Mehmet Sedat SEVİNÇ'e, Dr Mansur ULUCA'ya içkurdu toplama çalışmasında yardımlarını esirgemeyen Zeki BÜYÜKSOLAK'a, içtenlikle teşekkür ederim. Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan anneme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

**Mustafa Murat YEŞİLIRMAK**  
ISPARTA, 2024

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                          | Sayfa |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 1.1. Çin, Türkiye ve Avrupa Birliği'nin yıllara göre yüzde elma üretim miktarı.....                                                                | 1     |
| Şekil 1.2. <i>Cydia pomonella</i> 'nın bazı biyolojik dönemleri, A) Karabaş yumurta dönemi B) Son dönem larva dönemi C) Pupa dönemi D) Ergin dönemi .... | 3     |
| Şekil 1.3. <i>Cydia pomonella</i> 'nın elmadaki zararı .....                                                                                             | 4     |
| Şekil 1.4. <i>Cydia pomonella</i> 'nın dünyadaki dağılımı.....                                                                                           | 4     |
| Şekil 1.5. 1990-2021 yılı ülkelere göre kullanılan ortalama insektisit miktarı .....                                                                     | 5     |
| Şekil 2.1. Dünyada belirlenen direnç vakalarının böcek takımlarına göre oransal dağılımı .....                                                           | 11    |
| Şekil 2.2. <i>Cydia pomonella</i> 'nın farklı insektisit sınıflarına karşı belirlenen direnç vaka sayısı.....                                            | 12    |
| Şekil 2.3. Piretroid insektisitlerin sebep olduğu voltaj kapılı sodyum kanallarındaki kdr nokta mutasyonları .....                                       | 15    |
| Şekil 3.1. Oluklu mukavvaların ağaç gövdesine sarılması .....                                                                                            | 30    |
| Şekil 3.2. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının toplandığı yerlerin uydu görüntüsü .                                                                 | 31    |
| Şekil 3.3. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının insektaryumlarda üretim aşamaları..                                                                  | 32    |
| Şekil 3.4. İnsektaryumlarda üretilen <i>Cydia pomonella</i> popülasyonları .....                                                                         | 33    |
| Şekil 3.5 Topikal aplikasyon metodu ile denemelerin kurulması .....                                                                                      | 36    |
| Şekil 3.6. <i>Cydia pomonella</i> larvalarından enzim kaynağının hazırlanması .....                                                                      | 37    |
| Şekil 3.7. Esteraz enzim belirlemek için mikropilaka hücrelerine çözeltilerin aktarılması .....                                                          | 38    |
| Şekil 3.8. Bradford metotuna göre protein analizi .....                                                                                                  | 39    |
| Şekil 3.9. <i>Cydia pomonella</i> kdr nokta mutasyonlarının belirlenmesi için PCR çalışması .....                                                        | 41    |
| Şekil 3.10. PCR'da çoğaltılan <i>Cydia pomonella</i> DNA'larının jele yüklenmesi .....                                                                   | 42    |
| Şekil 4.1. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının deltamethrin doz-ölüm eğrisi.....                                                                    | 45    |
| Şekil 4.2. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının indoxacarb doz-ölüm eğrisi .....                                                                     | 48    |
| Şekil 4.3. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının emamectin benzoate doz-ölüm eğrisi .....                                                             | 51    |
| Şekil 4.4. Deltamethrin+sinergist uygulanan MAREM <i>Cydia pomonella</i> popülasyonu logaritmik doz-ölüm eğrisi .....                                    | 53    |
| Şekil 4.5. Deltamethrin+sinergist uygulanan Tepeli <i>Cydia pomonella</i> popülasyonu logaritmik doz-ölüm eğrisi .....                                   | 54    |
| Şekil 4.6. Indoxacarb+sinergist uygulanan MAREM <i>Cydia pomonella</i> popülasyonu logaritmik doz-ölüm eğrisi .....                                      | 56    |
| Şekil 4.7. Indoxacarb+sinergist uygulanan Tepeli <i>Cydia pomonella</i> popülasyonu logaritmik doz-ölüm eğrisi .....                                     | 58    |
| Şekil 4.8. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının esteraz enzim aktiviteleri .....                                                                     | 59    |
| Şekil 4.9. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının P-450 enzim aktiviteleri .....                                                                       | 61    |
| Şekil 4.10. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının GST enzim aktiviteleri.....                                                                         | 62    |
| Şekil 4.11. %1'lik agaroz jelde görüntülen 170 bp voltaj kapılı sodyum kanal DNA'ları .....                                                              | 63    |
| Şekil 4.12. A) MAREM ve Gölcük popülasyonlarının gen dizilimi B) MAREM ve Gölcük popülasyonlarının aminoasit dizilişi.....                               | 64    |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

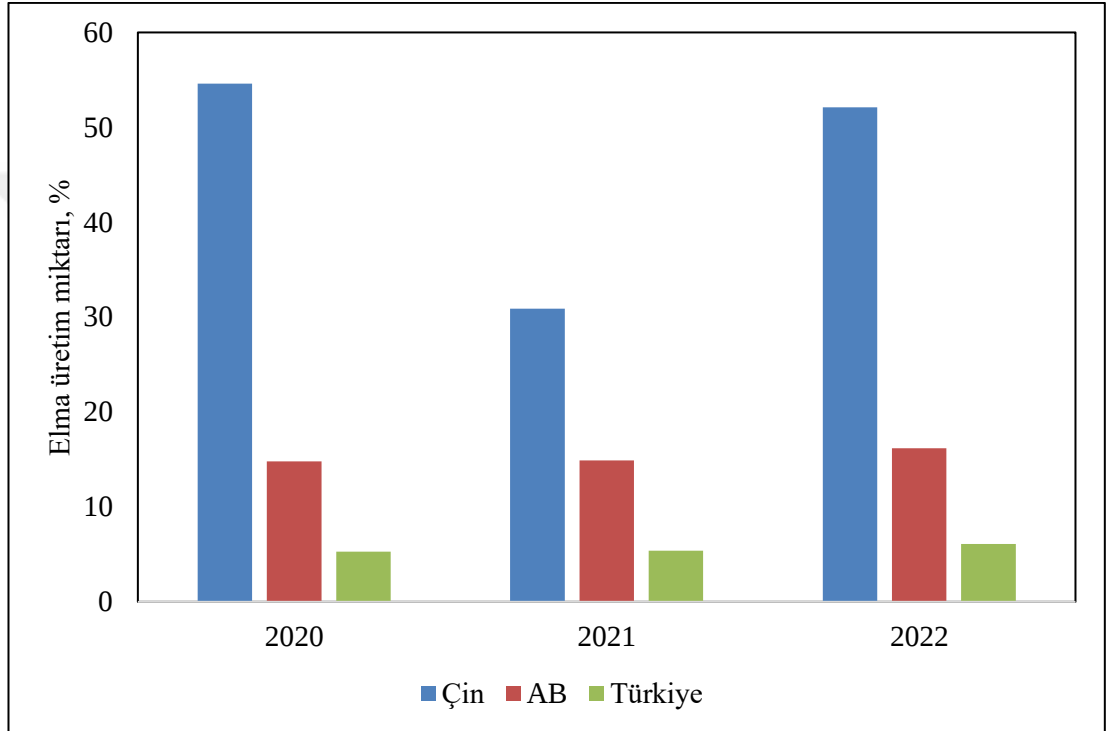
|                                                                                                                 | Sayfa |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 1.1. Türkiye’de toplam pestisit kullanım miktarının gruplara göre dağılımı.....                         | 6     |
| Çizelge 3.1. Toplanan <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının koordinatları ve yılı .....                      | 29    |
| Çizelge 3.2. PCR’da kullanılan ürünler ve miktarı .....                                                         | 40    |
| Çizelge 3.3. PCR çalışma koşulları.....                                                                         | 41    |
| Çizelge 4.1. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının deltamethrin LD <sub>50</sub> direnç oranları .....       | 44    |
| Çizelge 4.2. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının indoxacarb LD <sub>50</sub> direnç oranları ..            | 47    |
| Çizelge 4.3. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının emamectin benzoate LD <sub>50</sub> direnç oranları ..... | 50    |
| Çizelge 4.4. Hassas popülasyonu sinerjist+deltamethrin bioassay sonucu.....                                     | 52    |
| Çizelge 4.5. MAREM popülasyonu sinerjist+deltamethrin bioassay sonucu.....                                      | 53    |
| Çizelge 4.6. Tepeli popülasyonu sinerjist+deltamethrin bioassay sonucu.....                                     | 54    |
| Çizelge 4.7. Hassas popülasyonu sinerjist+indoxacarb bioassay sonucu .....                                      | 55    |
| Çizelge 4.8. MAREM popülasyonu sinerjist+indoxacarb bioassay sonucu .....                                       | 56    |
| Çizelge 4.9. Tepeli popülasyonu sinerjist+indoxacarb bioassay sonuc .....                                       | 57    |
| Çizelge 4.10. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının esteraz enzim aktivitesi.....                            | 59    |
| Çizelge 4.11. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının P-450 enzim aktivitesi .....                             | 60    |
| Çizelge 4.12. <i>Cydia pomonella</i> popülasyonlarının GST enzim aktivitesi .....                               | 62    |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                  |                                             |
|------------------|---------------------------------------------|
| CDNB             | 1-chloro-2,4-dinitrobenzene                 |
| DEM              | Diethyl maleate                             |
| ECOD             | 7-ethoxycoumarin                            |
| EST              | Esteraz                                     |
| GSH              | Reduced glutathione                         |
| GST              | Glutathione S-transferase                   |
| kdr              | Knockdown Resistance                        |
| LC <sub>50</sub> | Lethal konsantrasyon-50                     |
| LC <sub>90</sub> | Lethal konsantrasyon-90                     |
| M                | Molar                                       |
| mg               | Miligram                                    |
| ml               | Mililitre                                   |
| mM               | Milimolar                                   |
| MO               | Monoxygenaz enzimi                          |
| NADPH            | Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate |
| P-450            | Monoxygenaz enzimi                          |
| PBO              | Piperonyl butoxide                          |
| TPP              | Triphenyl phosphate                         |
| µl               | Mikrolitre                                  |

## 1. GİRİŞ

FAO 2022 yılı bitkisel üretim verilerine göre dünyadaki elma üretimi 78.8 milyon tondur. Çin tek başına dünya elma üretiminin yaklaşık yarısını karşılamaktadır. Türkiye’de 2022 yılı elma üretimi 4.493 milyon ton ile Avrupa Birliği ülkelerinden sonra elma üretiminde 3. sırada, ihracatta ise 7. sırada yer almaktadır (Anonim, 2023a) (Şekil 1.1).

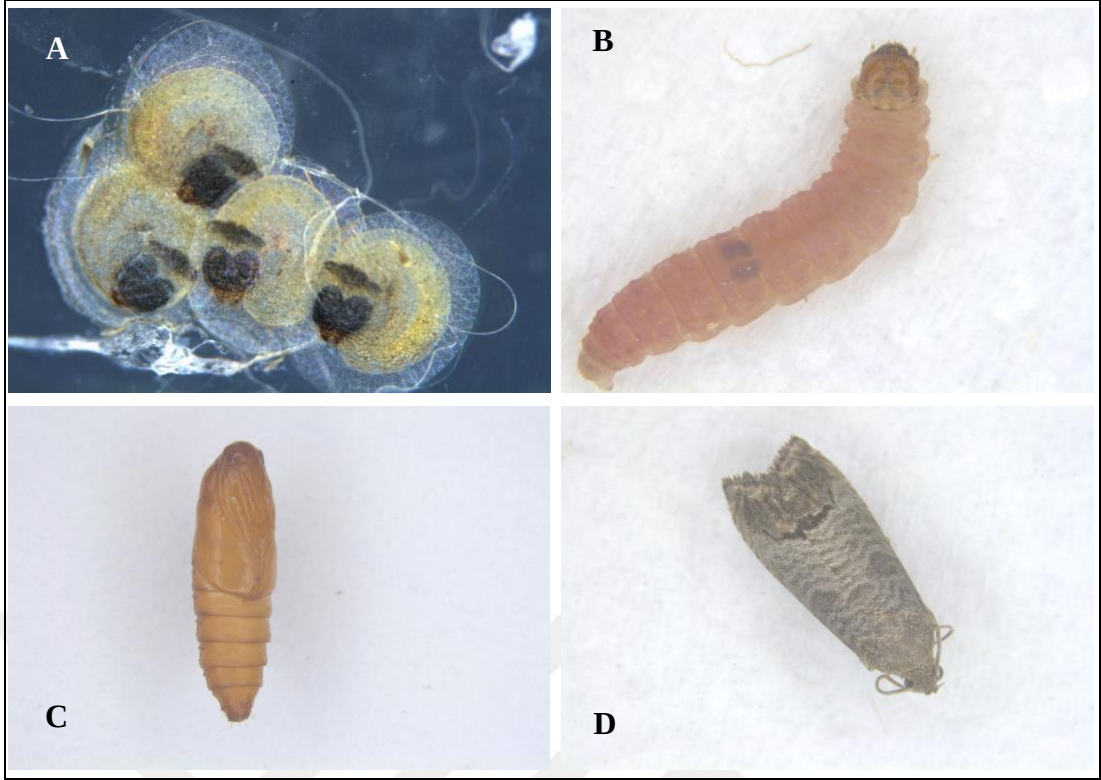


Şekil 1.1. Çin, Türkiye ve Avrupa Birliği’nin yıllara göre yüzde elma üretim miktarı (Anonim, 2023a)

Türkiye’de Karaman ili dikim alanı bakımından ilk sırada iken Isparta ili üretim bakımından %25.5’lik pay ile ilk sırada yer almaktadır. Isparta’dan sonra en çok elma üreten şehirler %15.6 ile Karaman, %11.3 ile Niğde, %10 ile Antalya ve %5.7 ile Denizli illeri yer almaktadır (Anonim, 2023a).

Elma üretimi sırasında verimi ve kaliteyi etkileyen birçok zararlı organizma vardır. Bunların başında en fazla ekonomik kayba neden olan elma içkurdur, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) gelmektedir. *C. pomonella*’nın yumurtası başlangıçta beyaz renkte oval ve 1.0-1.2 mm çapındadır. Yumurtasında embriyonik gelişme sürecinde kırmızı bir halka oluşur ve açılmasına yakın karabaş döneminde, gelişen

larva yumurtanın içinde gör÷lmektedir. *C. pomonella*'nın birinci dönem larvası beyazımsı krem renktedir ve beşinci döneme gelen larva pembemsi renktedir. Erginleri 10 mm uzunluğunda, kanatlarının uç bölgesinde koyu renkte lekeler bulunmaktadır (Şekil 1.2). Dişi güveler, akşamları ve gecenin erken saatlerinde 15.5°C'nin altındaki sıcaklıklarda yapraklara, ince dallara ve meyvelere yumurta bırakır. Larvaların yumurtadan çıkması sıcaklığa bağılı olarak 5-14 gün sürer (Marti vd., 1996). Larvalar 19-21 gün sonra meyveden çıkar ve ağaç gövde yarık ve çatlakları arasında koza örerler. Pupa dönemi 13-15 gün sürer. Bir sezonda ortalama 2-3 döl verirler (Peairs ve Davidson, 1956). Ocak ayından itibaren etkili sıcaklıkların kümülatif toplamı 250 gün-dereceyi bulduğunda 1. dölle ait larva çıkışı, 800 gün-dereceyi bulduğunda ise 2. dölle ait larva çıkışı beklenir. İlk dölün ergin çıkışları mayıs ayı başından itibaren başlar temmuz ayı ortalarına kadar devam eder, 2. döl ergin çıkışları ise temmuz ayı ortasından ağustos ayı ortasına kadar devam eder (Higbee vd., 2001). En yüksek yumurta bırakma zamanı ( $116 \pm 18$  yumurta, yaklaşık %54 açılan yumurta ile) çiftleştikten 3 gün sonra gerçekleşmektedir (Karalius ve Buda, 1995).



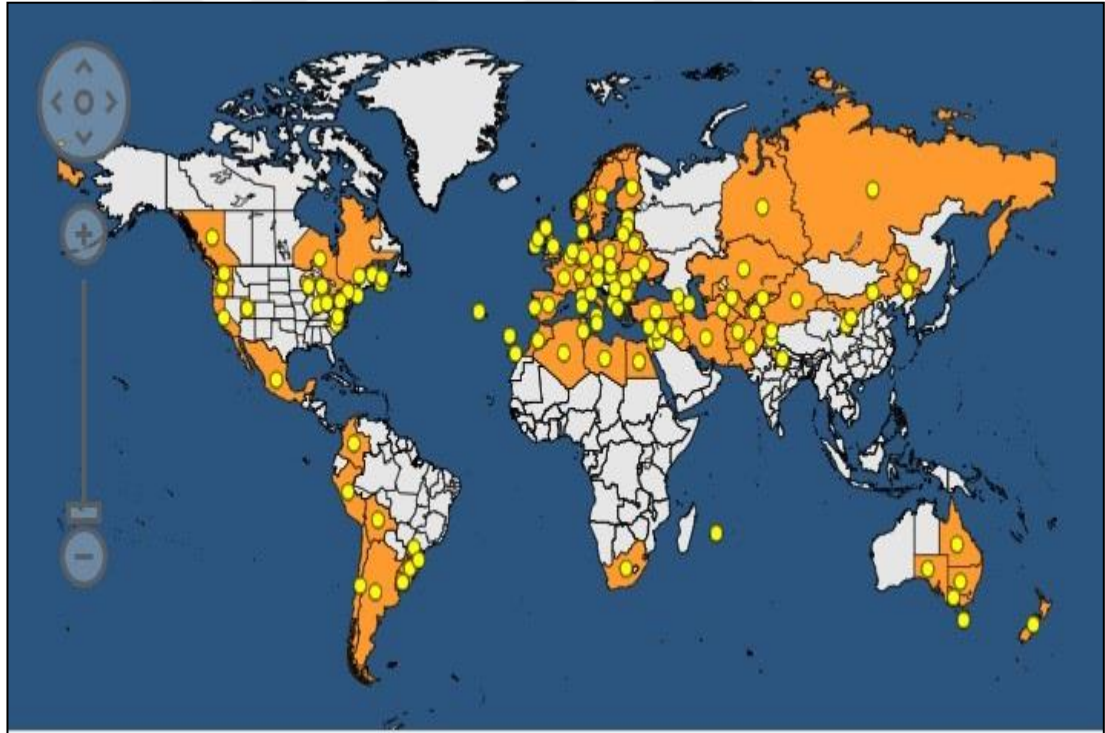
Şekil 1.2. *Cydia pomonella*'nın bazı biyolojik dönemleri, A) Karabaş yumurta dönemi B) Son dönem larva dönemi C) Pupa dönemi D) Ergin dönemi

Larvalar, sarkokarp ve tohumlarla beslenmek için meyvelerin merkezine girerek ve yüzeyde dışkılarını bırakarak meyve dökülmesine neden olur. *C. pomonella* küresel olarak yumuşak çekirdekli meyvelerin ve cevizin en önemli zararlısıdır (Yang ve Zhang, 2015). Mücadele yapılmayan elma bahçelerinde zarar oranı %80 ve armut bahçelerinde ise %60'a kadar ulaşabilmektedir (Wan vd., 2019). Birinci dönem larvaların neden olduğu toplu iğne başı büyüklüğündeki hasarlar bile elmanın taze pazar satışları için kabul edilmemektedir. Bu nedenle, elma gibi değeri yüksek bir ürün için, *C. pomonella*'nın toplam zararı, hasatta %1'i (ekonomik zarar düzeyi) geçmemelidir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. *Cydia pomonella*'nın elmadaki zararı

EPPO (Avrupa ve Akdeniz Bitki Koruma Örgütü)'ne göre dünyada 72 ülkede varlığı tespit edilmiştir (Anonim, 2023b) (Şekil 1.4).

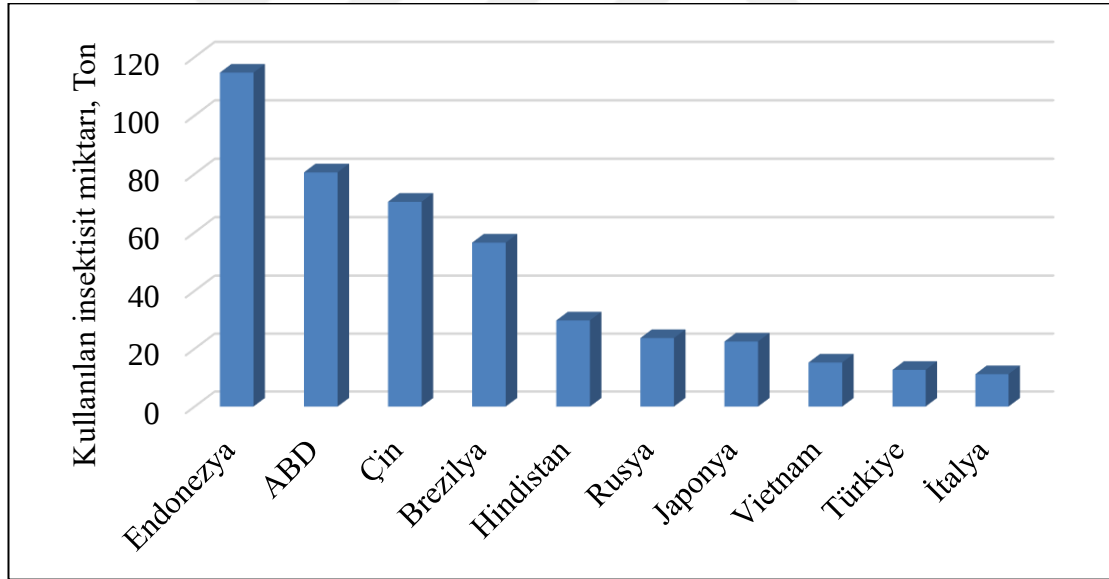


Şekil 1.4. *Cydia pomonella*'nın dünyadaki dağılımı (Anonim, 2023b)

*Malus domestica* (elma), *Cydonia oblonga* (ayva), *Juglans regia* (ceviz), *Prunus armeniaca* (kayısı), *Prunus domestica* (erik), *Prunus dulcis* (badem), *Prunus persica* (şeftali), *Prunus salicina* (japon eriği), *Pyrus communis* (armut), *Prunus avium* (kiraz) *C. pomonella*'nın konukçuları arasındadır (Anonim, 2023b).

Doğa dostu mücadele metotları olan çiftleşme engelleme tekniği feromon yayıcı kullanma, kısırlaştırma tekniği, *Trichogramma* spp. parazitoit salımı, yeni nesil bioinsektisitler (*Bacillus thuringiensis kurstaki*, *C. pomonella* granul virüsü) kullanımı gibi yöntemler *C. pomonella* mücadelesinde kullanılmıştır. Ancak bu uygulamalar tek başına yeterli olmamaktadır. Bu sebeple *C. pomonella* mücadelesi tüm dünyada çoğunlukla kimyasal mücadele ile yapılmaktadır (Calkins ve Faust, 2003).

FAO'nun 2021 yılı verilerine göre dünyada 757 540 ton insektisit kullanılırken Türkiye'de 13 413 ton insektisit kullanılmaktadır. Dünyada 1990 yılından 2021 yılına kadar ortalama insektisit kullanımı bakımından ilk 3 sırada sırasıyla Endonezya, ABD ve Çin yer alırken Türkiye ise 9. sıradadır (Anonim, 2023c) (Şekil 1.5). GKGM'nin 2022 yılı verilerine göre Türkiye'de kullanılan toplam 55 374 ton pestisit 12 205 tonu insektisitler oluşturmaktadır (Anonim, 2023d). Türkiye'de kullanılan pestisitlerin miktarı Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.5. 1990-2021 yılı ülkelere göre kullanılan ortalama insektisit miktarı (Anonim, 2023c)

Çizelge 1.1. Türkiye’de toplam pestisit kullanım miktarının gruplara göre dağılımı (Anonim, 2023d)

| <b>Pestisit Grubu</b> | <b>Kullanım Miktarı<br/>(Ton)</b> | <b>Toplam miktar içindeki<br/>oranı</b> |
|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------|
| İnsektisit            | 12 205                            | %22                                     |
| Fungisit              | 19 446                            | %35                                     |
| Herbisit              | 14 553                            | %26                                     |
| Akarisit              | 2462                              | %4                                      |
| Rodentisit+Mollusit   | 298                               | %1                                      |
| Diğerleri             | 6410                              | %12                                     |
| Toplam                | 55 374                            | %100                                    |

Dünya Sağlık Örgütüne göre direnç, zararlı türün doğal popülasyonundaki bireylerin çoğunu öldüren lethal dozun dirençli popülasyonda etkisizleşmesi ve bu durumun sonraki döllere, artan oranlarda taşınması olarak tanımlanmıştır (Ay ve Yorulmaz, 2010).

IRAC (İnsektisit Direnç Çalışma Komitesi)’a göre direnç, "bir zararlıya karşı aynı etki sınıfına ait insektisitlerin sık aralıklarla arka arkaya kullanılması durumunda zararlının beklenen kontrol seviyesini elde etmede tekrarlanan başarısızlıklar sonucu seleksiyon veya mutasyon yoluyla zararlının insektisite karşı direnç geliştirmesi" olarak tanımlanabilir (IRAC, 2023).

Böcekler, konukçu bitkilerdeki çok çeşitli fitokimyasallar, sentetik insektisitler ve çevresel kirleticiler dâhil olmak üzere, dikkate değer bir dizi doğal ve sentetik ksenobiyotiklere uzun süredir maruz kalmaktadır. Bu ksenobiyotiklerle başa çıkmak için böcekler, ksenobiyotikten kaçınmaya, değişen penetrasyona, hedef bölge mutasyonuna ve detoksifikasyona yol açan davranışsal ve fizyolojik değişiklikler dâhil olmak üzere birçok direnç mekanizması geliştirmiştir (Yu, 2008). Bunlardan, genellikle sitokrom P450 monooksijenazlar (P450'ler), karboksi/kolinesterazlar (CCE'ler) ve glutatyon S-transferazlar (GST'ler) gibi karmaşık bir dizi detoksifikasyon enzimi metabolik dirence neden olmaktadır (Heidel-Fischer ve Vogel, 2015). İnsektisit detoksifikasyonu çoğunlukla oksidasyon-redüksiyon, hidroliz ve konjugasyon reaksiyonlarını içerir. Oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları, sitokrom P450

monooksijenazlar, alkol dehidrojenazlar, aldehit dehidrojenazlar, hidroksilazlar ve peroksidazlar tarafından katalize edilir (Parra-Morales vd., 2021).

Sitokrom P450 monooksijenazların fitokimyasallar, insektisitler ve çevresel kirleticiler gibi ksenobiyotiklerin metabolik detoksifikasyonunda yer aldığı iyi bilinmektedir (Lu vd., 2021). Ayrıca hem endojen hem de ekzojen substratların çeşitli oksidatif dönüşümlerini katalize edebilen, mikroorganizmalardan bitki ve insana kadar uzanan geniş bir yelpaze dâhilindeki konukçularında bulunan dikkate değer bir enzim üst ailesini oluşturur. P450 enzimleri, insektisitlerin detoksifikasyonu sonucu zararlılarda metabolik direncin gelişmesine neden olur. Genel olarak, P450 enzimi bir substratı daha polar bir ürüne dönüştürür, böylece insektisit molekülünü daha atılabilir ve daha az toksik hale getirir. Bu nedenle, bir insektisiti metabolize eden P450'nin aşırı ekspresyonu, toksikokinetik dengeyi dirence doğru yönlendirebilir (Nauen vd., 2021). P450 enzimleri böceklerin büyümesi, deri değiştirmesi ve üremesinden sorumlu ecdysteroidlerin ve juvenil hormonların yapısında bulunur (Feyereisen, 1999). Genel olarak, ksenobiyotik detoksifikasyon faz I (çözünürlük), faz II (birleşme) ve faz III (atılım) olmak üzere üç faza ayrılabilir. Faz I reaksiyonlarındaki P450'ler en yoğun şekilde çalışılmıştır (Lu vd., 2021).

Birçok canlı organizmada bulunan geniş ve multifonksiyonel bir enzimler ailesidir. Böceklerde bazı xenobiotiklerin detoksifikasyonu, hücre içi hormon, endojen moleküller ve ekzojen metabolitlerin taşınması, hücre membranının oksidatif yıkımlara karşı korunması, zararlı elektrofilik ve lipofilik bileşiklerin hücre dışına kolayca atılabilir polar bileşikler haline getirilmeleri, konjugasyona dayalı biotransformasyonlarda katalitik rol alma, stres fizyolojisi ve çeşitli biosentez proseslerinde görevler yüklenir (Yalçın, 2013). GST'ler, organofosforlu insektisitlerin ve glutatyon ile konjuge edilmiş diğer elektrofilik bileşiklerin detoksifikasyonunda önemlidir.

Oksidasyon/indirgeme metabolitleri, konjugasyon yoluyla, esas olarak indirgenmiş glutatyonun (GSH) çeşitli pestisitlere konjugasyonunu katalize eden glutatyon S-transferazlar (GST) tarafından bozulmaktadır. Ayrıca peroksidaz aktivitesi sayesinde oksidatif hasara karşı koruma sağlarlar (Parra-Morales vd., 2021).

Hidrolazlar içerisindeki en önemli enzim grubu esterazlardır (Yu, 2008). Asetilkolinesteraz ve karboksilesteraz enzimleri böceklerin feromon üretiminde, sindirim sisteminde, sinir iletiminde, üremede ve insektisitlere direnç kazanmasında görev alırlar. Ayrıca organik fosforlu insektisitlerin engellenmesinde etkilidirler (Baffi vd., 2005). Asetilkolinesterazlar, organofosfatlar ve karbamatların hedefidir. Diğer esterazlar hormonların ve feromonların metabolizmasıyla ve böcek büyümesi ve davranışlarıyla ilgilidir. Esterazlar insektisit, juvenoit ve faz 1’de oluşan metabolitlerin ester bağlarını su eşliğinde ayırarak suda çözünen komponentlere dönüştüren hidroliz reaksiyonlarını katalize ederler (Parra-Morales vd., 2021).

Biyoassay metotlar böcek popülasyonlarının direnç durumunu belirlemek için kullanılmaktadır. İnsektisitlerin böceklerin biyolojik sistemleri ile toksik interaksiyonları doza bağlıdır. Bir insektisitin bir organizmaya toksisitesi genellikle LD<sub>50</sub> cinsinden ifade edilir. Bu değer, popülasyonunun %50'sini öldüren birim ağırlık başına düşen doz miktarını temsil etmektedir (Finney, 1971). LD<sub>50</sub> genellikle kilograma düşen miligram ile ifade edilir. Hacimde uygulamalarında ise bu terim LC<sub>50</sub> olarak ifade edilir. Bioassayleri etkileyen en önemli faktörler böceklerin yaşı, uygulanacak insektisitin seçimi, uygulama metodu, sıcaklık, cinsiyet, örnekleme, besin, popülasyon yoğunluğu, ışık şiddeti ve heterojenite faktörüdür (Ball, 1981).

*Cydia pomonella* direncini belirlemede birkaç biyoassay metodu vardır. Diyapoz dönemindeki larvalara insektisitlerin ayırıcı dozlarının topikal olarak uygulanması *C. pomonella* direncini tespit etmek için sağlam bir teknik olduğu kanıtlanmıştır (Reyes vd., 2007; Voudouris vd., 2011). Bir diğer biyoassay metodu olan insektisitleri ilk dönem larvaların besinine uygulama yönteminde sıklıkla direnç belirlemede kullanılmaktadır (Balasko vd., 2020).

Piretroidler, hızlı etkisi, yüksek insektisidal aktiviteleri ve memelilere düşük toksisitesi nedeniyle zararlıları ve hastalık vektörlerini kontrol etmek için yaygın olarak kullanılan önemli bir sentetik insektisit sınıfıdır. Sodyum kanalı  $\alpha$ -alt birimleri dört homolog alana (I-IV) sahiptir; her alan altı transmembran segmentine sahiptir. S4 ve S5 bölümleri arasındaki kısa hücre içi bağlayıcılar, kanal açma ve kapama sırasında voltaj algılama modüllerinin hareketlerini S6 bölümlerine iletir. Piretroidlerin birincil hedef bölgeleri voltaj kapılı sodyum kanallarıdır. Bu sodyum kanalı nörotoksinleri,

sodyum kanalı üzerindeki ilgili reseptör bölgelerine bağlanır ve iyon iletkenliği, iyon seçiciliği ve/veya kanal geçitleme (yani açılma ve kapanma) dâhil olmak üzere çeşitli kanal özelliklerini değiştirir. Piretroidler aktivasyonu artırır ve deaktivasyonu ve inaktivasyonu inhibe ederek kanalın uzun süreli açılmasına neden olur. Piretroidler sinir fonksiyonunu bozarak tekrarlayan deşarjlara, membran depolarizasyonuna ve sinaptik bozukluklara neden olur (Dong vd., 2014).

Böceklerin piretroidlere direnç geliştirmesi metabolik detoksifikasyon ve hedefte mutasyon yoluyla olur. Metabolik direnç P450 enzim eşliğinde fenoksy halkasında oksidasyon ve karboksilesteraz enzim eşliğinde ester bağında hidroliz nedenli gerçekleşir (Yalçın, 2013). Piretroidlere karşı oluşan ana direnç mekanizmalarından birisi olan hedef bölge duyarsızlığı, voltaj kapılı sodyum kanallarındaki L1014F kodon bölgesindeki leucine ile phenylalanine isimli aminoasit yer değiştirmesi sonucu oluşan knock down direnci oluşur. Kdr mutasyonlarının tanımlanmasının, piretroid bağlanma mekanizmalarının ve sodyum kanalları üzerindeki etkinin aydınlatılmasında çok değerli olduğu kanıtlanmıştır. Kdr mutasyonları piretroidlerin voltaj kapılı sodyum kanallarına bağlanmasını azalttığı için piretroidlerin etkinliğini azaltarak direnç kazandırmaktadır (Miyazaki vd., 1996).

Indoxacarb, sebze, yumuşak ve sert çekirdekli meyve, asma, pamuk, mısır ve diğer ürünlerde zararlı lepidoptera takımına karşı güçlü tarla aktivitesine sahip, gelecek vaat eden yeni bir oxadiazine insektisittir. Bu bileşiğin önemli bir özelliği zararlılarda N - dekarbometoksillenmiş metabolit tarafından voltaj kapılı sodyum kanalını bloke ederek böceğin paralyze olmasına ardından ölümüne neden olmasıdır. Bu etki şekli oxadiazineleri diğer ticari insektisitlerden ayırır. Ayrıca memelilere ve hedef olmayan zararlılara karşı güvenli olması, çevreye zararsız, kalıntı riski düşük ve zararlıların beslenmesini engellemesi yönüyle geniş spektrumlu bir insektisittir (Wing vd., 2000).

Piretroidler ve oxadiazinelerin aralarında çapraz direnç geliştirdikleri birçok araştırmacı tarafından belirlenmiştir. Eğer bölgemizde çapraz direnç varsa mevcut elma içkurdusu ve elma üretimi yönetimi ciddi şekilde tehlike altında demektir. Elma içkurdusunun mücadelesinde uzun süreli başarı için direnç yönetimi stratejisinin geliştirilmesi gerekmektedir. Direnç yönetiminin en önemli bileşeni, zararlılarda direnç gelişiminin ilk aşamasında tespit edilmesi gerekliliğidir. Eğer direnç geç tespit

edilirse bireylerin sadece %10'u direnç genleri taşısa bile direnç yönetimi zorlaşacaktır (Mota-Sanchez, 2008). Çapraz direnç çalışmaları ve direnç mekanizmasının belirlenmesi ile birlikte direncin izlenmesi, elma içkurdunun sürdürülebilir yönetimi için gerekli bileşenlerdir.

Emamectin benzoat, toprak mikroorganizmaları *Streptomyces avermitilis* tarafından üretilen 16 üyeli makrosiklik laktonların avermektin ailesindeki doğal ürün abamectin'in yeni bir yarı sentetik türevidir. Avermektinler doğrudan glutamat kapılı klorür kanallarının açılmasına neden olur. Böylece kanalın nöronal hücrelere açılmasıyla üretilen klorür iyon akışı, hücre fonksiyonunun kaybına ve sinir uyarılarının bozulmasına neden olur. Sonuç olarak, böcekler paralyze olur ve beslenmesi durur. Avermektinler değme ve beslenme yoluyla zararlılarda etki eder. Emamectin benzoate en çok Lepidoptera takımındaki zararlılara karşı etkilidir. Emamectin benzoat, çok çeşitli parazitoit, predatör ve bal arıları gibi faydalılara düşük toksisite gösterir. Bu nedenle entegre zararlı yönetimi (IPM) programları ile uyumludur (Jansson vd., 1997).

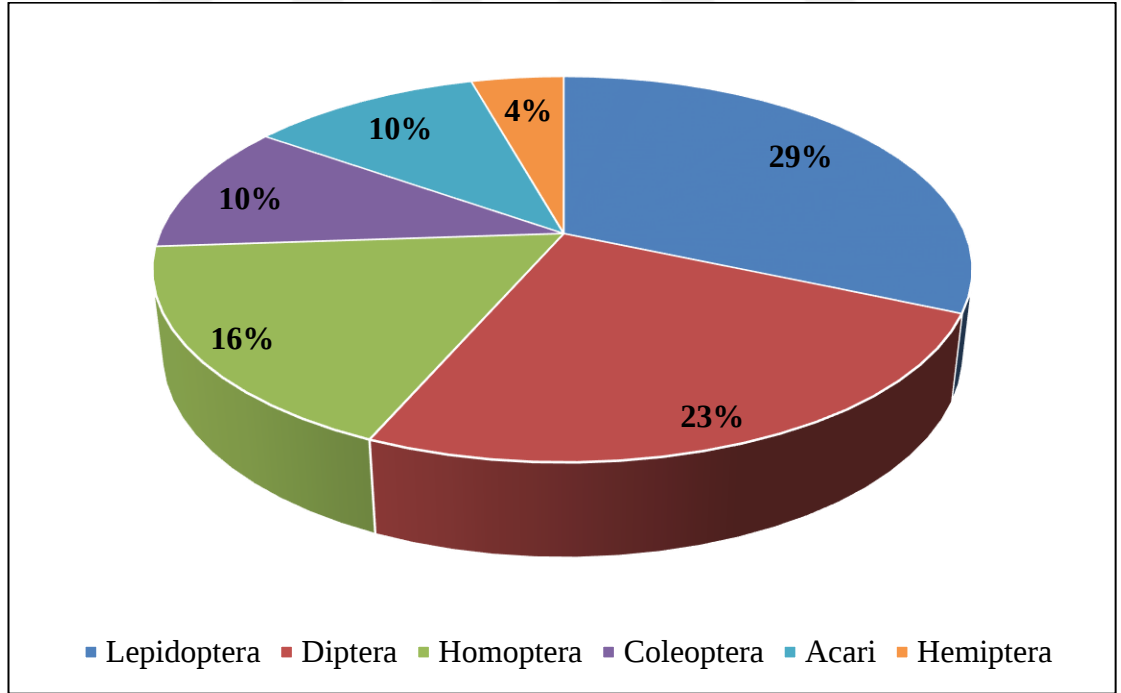
Günümüze kadar elma içkurdu'nun sentetik insektisistlerden (organofosfat, karbamat, piretroid, benzoylurea, neonikotinoid, granula virüs, DDT, fenoksikarp, arsenat, hidrazin ve siklodin organoklorin) 11 adet insektisit grubuna karşı direnç geliştirdiği bildirilmiştir (Anonim, 2020d). Ancak *C. pomonella* popülasyonlarının piretroid, oxadiazin ve avermektin insektisit gruplarına karşı direnç durumu ve biyokimyasal mekanizması konusundaki çalışmalar sınırlıdır. Ispartadaki üreticiler tarafından piretroid grubundan deltamethrin, avermektin grubundan emamectin benzoate ve oxadiazine grubundan indoxacarb aktif maddelerini yoğun olarak elma içkurduna karşı kullanılmaktadır.

Ispartadaki elma üreticileri son yıllarda *C. pomonella*'ya karşı yoğun ilaçlamalarına rağmen normalden daha fazla zarar olması nedeniyle popülasyonların mevcut insektisitlere direnç geliştirmiş olabileceği yönünde şüphe duyulmuştur. Ülkemizde ilk kez bu çalışma ile *C. pomonella*'nın indoxacarb, deltamethrin ve emamectin benzoate karşı direnç durumu ve dirençli bulunan popülasyonların direnç mekanizmaları araştırılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

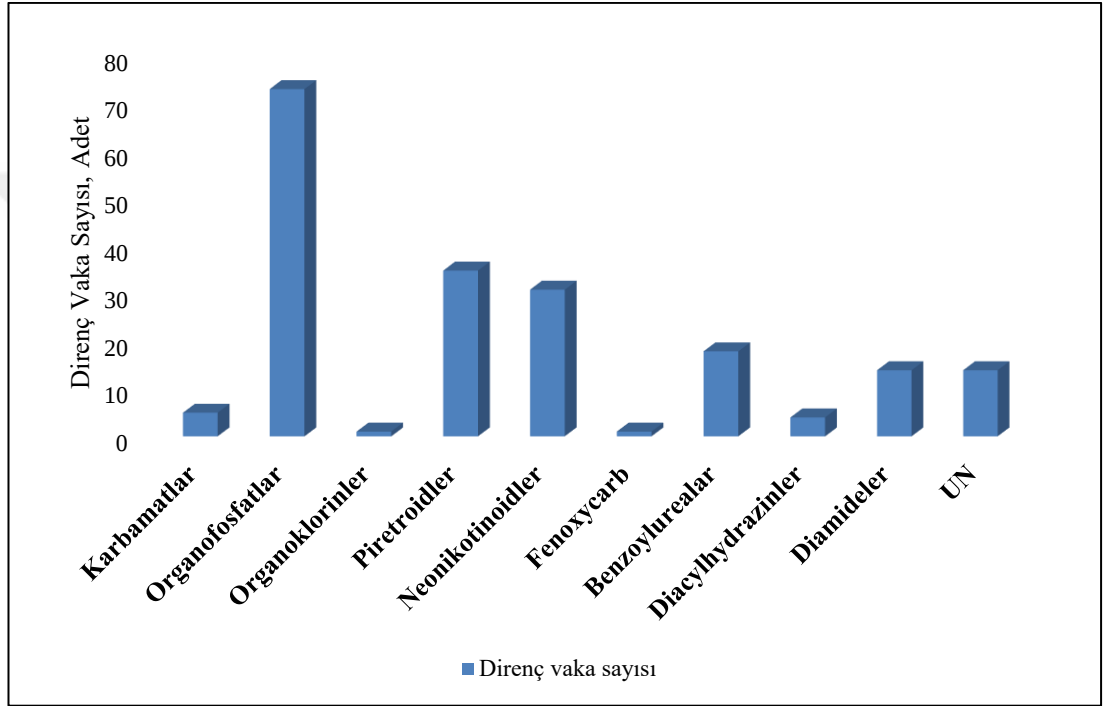
Dünyada ilk kez 1908 yılında Washington'da *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock) (Hemiptera: Diaspididae)'un kükürte karşı direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Yapılan bir çalışma ile 1916 yılında *Aunidiella auranti* (Mask.) (Hemiptera: Diaspididae) ve *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) zararlılarının hidrojen siyanit fumigantına karşı direnç geliştirdiği gözlenmiştir (Stenersen, 2004).

Arthropod pestisit veri tabanına göre dünyada 1914 yılından 2023 yılına kadar 629 adet böcek ve akar türünün 362 farklı etkili maddeye karşı 18 266 adet direnç vakası tespit edilmiştir. Geçmişten günümüze kadar belirlenen direnç vakası bakımından %29 ile Lepidoptera, %23 ile Diptera, %16 ile Homoptera, %10 ile Coleoptera ve Acari, %7 ile diğer takımlar ve %4 ile Hemiptera takımı yer almaktadır (Anonim, 2023e) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Dünyada belirlenen direnç vakalarının böcek takımlarına göre oransal dağılımı (Anonim, 2023e)

*Cydia pomonella*'nın 2023 yılına kadar belirlenen 196 direnç vakasından 22 etkili maddeye karşı direnç geliştirdiği bildirilmiştir. Artropod pestisit veritabanına göre *C. pomonella* en çok 73 direnç vakası ile insektisit sınıflarından organofosfatlara direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Diğer insektisit sınıflarından ise piretroidler, neonikotinoidler, benzoylurealar, diamideler, etki mekanizması bilinmeyenler, karbamatlar, diacylhydrazinler, fenoxycarb ve organoklorinlere karşı sırasıyla 35, 31, 18, 14, 14, 5, 4, 1 ve 1 adet direnç vakası belirlenmiştir (Anonim, 2023e) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. *Cydia pomonella*'nın farklı insektisit sınıflarına karşı belirlenen direnç vaka sayısı (Anonim, 2023e)

Deltamethrin'in zararlılarla mücadelede yoğun kullanılması sebebiyle günümüze kadar 77 türde 864 adet direnç vakası bildirilmiştir. *C. pomonella*'da ise sadece 7 direnç vakası kaydedilmiştir. Indoxacarb etkili maddesine farklı takım ve familyalardan 17 türde 260 direnç vakası belirlenirken emamectin benzoate etkili maddesine ise 15 türde 174 direnç vakası belirlenmiştir. *C. pomonella* zararlısı için indoxacarb ve emamectin benzoate'e karşı sınırlı sayıda direnç çalışmaları yapılmış, fakat herhangi bir direnç vakası belirlenmemiştir (Anonim, 2023e).

Geçmişten günümüze kadar *C. pomonella* kontrolü için 13 insektisit sınıfı önerilmiş veya kullanılmıştır (Balasko vd., 2020). Ülkemizde ise hali hazırda ruhsatlı 11 farklı

etki mekanizmasına sahip insektisit vardır. Bu insektisit sınıfları: asetilkolinesteraz inhibitörleri (organofosfatlar), sodyum kanalı modölatörleri (piretroid), nikotinik asetilkolin reseptör agonistleri (neonikotinoid), nikotinik asetilkolin reseptör agonist allosterik modölatörleri (spinosin), klorid kanal aktivatörleri (avermektin), voltaj-bağımlı sodyum kanal blokerleri (oxadiazine) ve ryanodine reseptör modölatörleri (diamide), kitin biyosentez inhibitorleri (benzoylurea), ekdizon agonistleri (diacylhydrazine), böcek mide zarını bozan mikrobiyal bozucular (*Bacillus thuringiensis*) ve baculovirüslerdir (Granulavirüsler) (Anonim, 2023f).

Bu insektisit grupları arasında diamidler tüm dünyada *C. pomonella* mücadelesinde en yaygın kullanılan insektisit grubunu oluşturur ve bunu hidrazinler, oksadiazinler, piretroidler ve spinosinler takip eder. Birçok ülkede *C. pomonella* mücadelesi için avermektinler, neonikotinoidler, organofosfatlar ve benzoylurealar da önerilmiştir (Ju vd., 2021).

*Cydia pomonella*'nın ilk direnç vakası kurşun arsenata karşı 1928'de ABD Virginia eyaletinde direnç geliştirdiği belgelenmiştir (Hough, 1928). DDT'nin 1939 yılında piyasaya girmesinden sonra ABD'de tarla popülasyonlarının direnç geliştirdiği birçok araştırmacı tarafından belirlenmiştir. 1994 yılında İtalya ve güneydoğu Fransa'da Avrupa'da ilk kez *C. pomonella*'nın diflubenzurona karşı direnç kazandığı belirlenmiştir (Ju vd., 2021).

*Cydia pomonella*'nın günümüze kadar en az 16 ülkede direnç geliştirdiği saptanmıştır. Dünyada en fazla insektisit sınıfına direnç tespit edilen ülkelerin başında Fransa ve İspanya gelirken ülkemizde sadece neonikotinoid ve organofosfatlara karşı direnç tespit edilmiştir (Anonim, 2023e).

İren (1966) tarafından ülkemizde ilk defa Konya, Niğde, Kayseri, Kastamonu, Tokat ve Ankara'dan toplanan *C. pomonella*'nın DDT'ye direnç durumunu araştırılmıştır. İşçi ve Ay (2017) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise, Isparta bölgesinden toplanan *C. pomonella* popülasyonlarında thiacloprid'e karşı orta seviyede direnç belirlenmiştir.

## **2.1. *Cydia pomonella*'nın Organofosfat İsektisit Sınıfına Karşı Direnç Durumu**

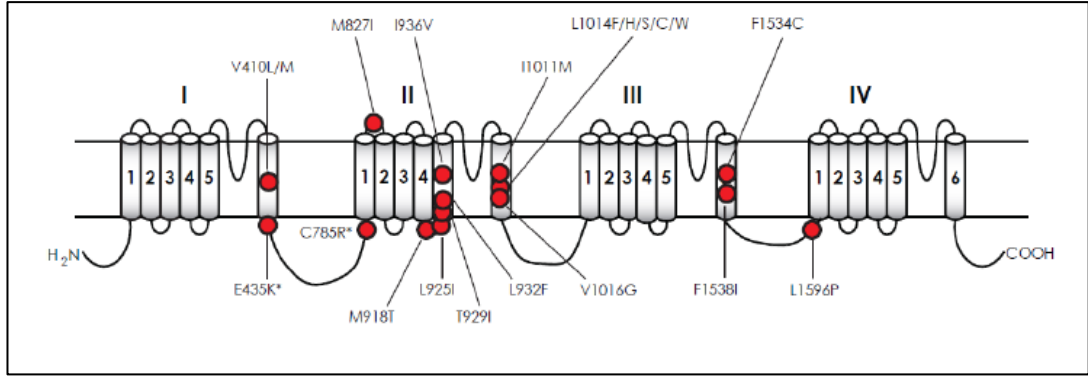
Biyobozunurluk ve birikmeme avantajlarına sahip organofosfatlar 1940'larda piyasaya sürülmüştür (Silva vd., 2014). Organofosfatların kitlesel ve sıklıkla gelişigüzel kullanımı 14 ülkede direnç geliştirmesine neden olmuştur (Anonim, 2023e). Parathion ilk direnç vakası 1989'da Wilkes County, North Carolina (ABD)'da tespit edildikten sonra diğer organofosfatlardan azinphos-methyl ve phosmetde bu bölgede direnç geliştirdiği belirlenmiştir (Mota-Sanchez vd., 2008). Azinphos methyl, parathion, phosmet, phosalone ve chlorpyrifos ethyl çoğu ülkede bildirilen direnç vakaların çoğundan sorumludurlar.

## **2.2. *Cydia pomonella*'nın Piretroit İsektisit Sınıfına Karşı Direnç Durumu**

Piretroidler ilk olarak 1970 yılında piyasaya sürülmüştür. Geçmişten günümüze kadar bilinçsiz bir şekilde kullanılmaları nedeniyle, *C. pomonella*'nın birçok ülkede piretroidlere karşı direnç kazandığı bildirilmiştir (Silva vd., 2014). Reyes vd. (2007) tarafından deltametrinin hassas popülasyonun ayırıcı dozunu, Fransa ve Ermenistan'dan toplanan tarla popülasyonlarına denemesi sonucu direnç kazandığını belirlemişlerdir. Wei vd. (2020) tarafından Çin'de armut bahçesinden toplanan bir popülasyonda lamda-cyhalothrine karşı 16 kat direnç kazandığını belirlenmiştir.

### **2.2.1. *Cydia pomonella*'nın kdr direnç mekanizması**

Geçtiğimiz yirmi yılda kdr mekanizmasının incelenmesi, eklembacaklı türlerinde piretroid direnciyle ilişkili 50'den fazla sodyum kanalı mutasyonunun veya mutasyon kombinasyonlarının tanımlanmasına yol açmıştır. L1014F kodonunda IIS6 bölgesinde kdr direnci ev sineklerinde ilk tespitinden sonra (Milani, 1956) birçok böcek türünde de C, H, S ve W aminoasit yerdeğiştirmesi sonucu kdr direnci belirlenmiştir. L1014F, L1014H ve L1014S mutasyonları da tip1 ve tip 2 piretroid direnci sonucu oluştuğu bildirilmiştir (Dong vd., 2014). Voltaj kapılı sodyum kanallarında belirlenen farklı kdr nokta mutasyonları Şekil 2.3'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Piretroid insektisitlerin sebep olduğu voltaj kapılı sodyum kanallarındaki kdr nokta mutasyonları (Dong vd., 2014)

### 2.3. *Cydia pomonella*'nın Neonikotinoid İnsektisit Sınıfına Karşı Direnç Durumu

Neonikotinoid sınıfından ilk kez imidacloprid 1991 yılında piyasaya sürülmüştür (Bass vd., 2015). Neonikotinoidlere (thiacloprid ve imidacloprid) ilk direnç durumu 2003 yılında İsviçre'de belirlenmiştir (Pasquier ve Charmillot, 2004). Geçmişten günümüze kadar 11 ülkede neonikotinoid sınıfına karşı direnç tespit edilmiştir (Anonim, 2023e). Elma iç kurdu mücadelesinde en sık kullanılan insektisit sınıfından biri olan neonikotinoit sınıfından thiacloprid, imidacloprid ve acetamiprid aktif maddelerine karşı direnç gözlenmiştir (Grigg-McGuffin vd., 2015).

Bazı ülkelerde OP'lerin yasaklanması, *C. pomonella*'nın neonikotinoid ve piretroidlere karşı direnç kazanması nedeniyle, benzoylurealar, JH mimikleri ve karbamatlar gibi diğer insektisit sınıfları, bu zararlının kontrolü için en yaygın kullanılan pestisitler haline gelmiştir. Bu insektisitlerin yoğun kullanımı sonucu direnç genotiplerinde artışa neden olmuştur. Spinosinler, diamidler, oxadiazinler ve avermektinler de üreticiler tarafından yaygın kullanılmaktadır ve günümüze kadar direnç vakasına rastlanılmamıştır (Ju vd., 2021).

### 2.4. Dünyada *Cydia pomonella* Direnci ve Mekanizması Hakkında Yapılmış Çalışmalar

Sauphanor ve Bouvier (1995) tarafından diflubenzuron ile selekte edilen *C. pomonella* popülasyonu 370 kat oranında direnç geliştirmiştir ve bu popülasyonun teflubenzuron

(7 kat), triflumuron (102 kat) ve tebufenozide (26 kat) çapraz direnç geliştirdiğini bildirmişlerdir.

Sauphanor vd. (1997) tarafından diflubenzuron ve deltamethrin ile selekte edilip direnç kazandırılan *C. pomonella* popülasyonlarının deltamethrine sırasıyla 3170 kat ve 6100 kat direnç kazandığını DEF ve PBO'nun deltamethrinde yüksek sinergistik etki yaptığını belirlemişlerdir. P-450 enziminin hassas ile kıyaslandığında çok yüksek olduğunu, GST enzimlerinin ise düşük seviyede olduğunu ve estera z enziminin hassas ile arasında hiç fark çıkmadığını gözlemlemişlerdir.

Bouvier vd. (1998) tarafından Fransa'dan toplanan 14 *C. pomonella* tarla popülasyonu deltamethrine dirençli bulunmuştur. Dirençli bulunan *C. pomonella* popülasyonlarında P-450 enzim miktarının hassas popülasyona kıyasla yüksek miktarda belirlemişlerdir. Esteraz enzimi miktarı ise hassas popülasyondan daha düşük bulmuşlardır.

Sauphanor vd. (2000), Fransa'dan topladıkları 36 *C. pomonella* popülasyonun diflubenzuron ve deltamethrine direnç kazanığını belirlemişlerdir.

Bouvier vd. (2001), deltamethrin ile selekte edilen *C. pomonella* popülasyonunun hassasa kıyasla P-450 enziminin 16.12 kat fazla olduğunu belirlemişlerdir. Deltamethrin direncinde P-450 enziminin önemli rol oynadığı sonucuna varmışlardır.

Bouvier vd. (2002), deltamethrin ve diflubenzuron, ile selekte edilen *C. pomonella*'nın tüm larva dönemlerinin deltamethrin ve teflubenzurona direnç durumunu ve estera z, GST ve P-450 enzim miktarlarını araştırmışlardır. En yüksek direncin söz konusu insektisitlere son dönem larvalarda bulunduğu, GST ve P-450 enzimlerinin hassasa kıyasla yüksek, estera z enziminin ise düşük çıktığını belirlemişlerdir. Benzer bir çalışma Boivin vd. (2001) tarafından deltamethrin ve diflubenzuron, ile selekte edilen *C. pomonella* popülasyonlarında artan GST ve P-450 ile direnç arasında pozitif korelasyon belirlemişlerdir.

Pasquier ve Charmillot (2004), 12 insektisit in topikal aplikasyon metoduyla hassas popülasyonun ayırıcı dozunu belirlemişlerdir. En düşük LC<sub>50</sub> değeri 0.1mg kg<sup>-1</sup>

fenoxycarb bulunurken en yüksek LC<sub>50</sub> değeri 2800 mg kg<sup>-1</sup> ile diflubenzuron ve indoxacarb olduğunu belirlemişlerdir.

Brun-Barale vd. (2005), Fransa’da deltamethrin ile 4 ve 80 kat selekte edilen *C. pomonella* popülasyonlarının voltaj kapılı sodyum kanallarındaki kdr ve süper kdr nokta mutasyonlarını araştırmışlardır. 1014 (L1014F) bölgesinde leucine phenylalanine aminoasit yer değiştirmesi sonucu oluşan kdr mutasyonu sadece 80 kat selekte edilen popülasyonunda bulunurken, 918 (M918T) bölgesinde methionine-threonine amino asit yer değiştirmesi sonucu oluşan süper kdr mutasyonu hiçbir popülasyonda tespit edilmemiştir.

Bosch vd. (2007) tarafından İspanya’nın Rene ve Arcs bölgesinden toplanan *C. pomonella* popülasyonlarının azinphos methyl, lambda cyhalothrin’e düşük seviyede direnç belirlemişlerdir. Ayrıca Rene popülasyonu phosemet’e 38 kat dan fazla direnç kazandığını belirlemişlerdir.

Ioriatti vd. (2007), İtalya Trento bölgesinden toplanan dört farklı popülasyondan sadece ikisinin tebufenozide direnç kazandığı ve dirençli popülasyonlarda yüksek P450 enzimi, popülasyonların tamamında ise düşük esterase ve GST enzimi belirlemişlerdir.

Franck vd. (2007), Fransa, İtalya, Ermenistan ve Şili’den toplanan 27 popülasyondan pyrethroid insektisitlerinin yoğun kullanıldığı Fransa ve Ermenistan’da kdr allelleri gözlenmiş olup popülasyonların çoğunda yüksek P-450 enzimi belirlenmiştir.

Reyes vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada azinphos-methyl, diflubenzuron, spinosad, tebufenozide ve thiacloprid direnci ile P-450 enzimi arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir. Azinphos-methyl direnci ile GST enzimi artışı arasında pozitif korelasyon gelişirken, emamectin direnci ile azalan esterase enzimi arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir. AchE nokta mutasyonu sadece İspanya popülasyonunda tespit edilirken Fransa, İtalya, İsviçre ve Ermenistan popülasyonlarının tamamında kdr nokta mutasyonu belirlenmiştir.

Stara ve Koucourek (2007), *C. pomonella* popülasyonlarında fenoxycarb, teflubenzuron ve phosalone arasında çapraz direnç geliştiğini ve diflubenzurona karşı direnç gelişmediğini belirlemişlerdir.

Mota-Sanchez vd. (2008), *C. pomonella* popülasyonlarına karşı 7 adet insektisit direnç düzeyini besin bioassay metodu ile belirlemişlerdir. Azinphos-methyl 2 popülasyonda 2-5 kat, phosmet 7-8 kat, lambda-cyhalothrin 6-10 kat, methoxyfenozide 14-16 kat ve indoxacarb 6 kat direnç kazanırken acetamiprid ve spinosad'a direnç geliştirmediklerini belirtmişlerdir.

Reyes ve Sauphanor (2008), Azinphos-methyl, diflubenzuron ve deltamethrin ile selekte edilip direnç kazandırılan *C. pomonella* popülasyonlarının birinci dönem, son dönem larva ve erginler üzerinde azinphos-methyl, chlorpyrifos-ethyl, emamectin, spinosad ve thiacloprid aktif maddelerine direnç durumunu araştırmışlardır. Araştırma sonucunda birinci dönem larvalar spinosad hariç diğer insektisitlere 2 ile 9.5 kat arasında direnç gösterirken, son dönem larvalarda ise spinosad (4.2-12.2 kat) en yüksek direnci göstermiştir. Erginlerin enzim değerleri larva dönemlerine kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Larvalarda P450 enzimi (1.7-5.2 kat) yüksek çıkarken esterase (0.7-1.7 kat) ve GST enzimleri (0.5-1.3 kat) düşük çıkmıştır.

Soleno vd. (2008), Azinphos-methyl ayırıcı doz denemesinde Arjantin'den toplanan sekiz popülasyonun üçünde %37.71-84.21 ölüm oranı belirlemişlerdir. Tarla popülasyonlarının çoğunda yüksek esterase enzim miktarı belirlenmiştir. Glutathion S transferase enzim aktivitesi ile ölüm oranı arasında zayıf korelasyon gözlemlenmiştir.

Reyes vd. (2009), 11 ülke 29 popülasyonda Yunanistan, Arjantin ve Uruguay'dan toplanan popülasyonlarda yüksek GST ve P450 aktiviteleri belirlenmiştir. Çek Cumhuriyeti ve Fransa'da yüksek P450 düşük esterase enzimi belirlenirken Şili'de tüm enzimler düşük çıkmıştır. Kdr mutasyonu 5 ülkede 10 popülasyonda tespit edilmiştir.

Reuveny ve Cohen (2010), İsrail'de laboratuvarında 17 nesil boyunca pestisit içermeyen bir diyetle maruz kalan larvalarda azinphos methyl direnci seviyesi %50 azaldığını ve azinphos methyl'e dirençli popülasyonların methoxyfenozide ve novaluron'a çapraz direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir.

Rodriguez vd. (2010), İspanya'dan toplanan *C. pomonella* popülasyonlarının chlorpyrifos-ethyl, azinphos-methyl, ve phosalone direnç durumunu araştırmışlardır. Tarla popülasyonlarının azinphos-methyl ve phosalone direnç kazandığını chlorpyrifos-ethyl ise düşük direnç kazandığını tespit etmişlerdir. Glutasyon S-transferazlar, esterazlar ve sitokrom P-450 monooksijenaz enzimleri tüm popülasyonlarda arttığı gözlenmiştir.

Reyes vd. (2011), azinphos-methyl ve diflubenzuron ile selekte edilip direnç kazandırılan popülasyonda yüksek P-450 enzimi ve karboksilesteraz enziminin ise kullanılan substrata göre değiştiği belirlenmiştir.

Voudouris vd. (2011), Yunanistan'dan toplanan *C. pomonella*'nın azinphos-methyl, phosalone, deltamethrin, thiacloprid, fenoxycarb, tebufenozide, methoxyfenozide ve diflubenzuron aktif maddelerinden en az birine direnç geliştirdiğini gözlemlemişlerdir. Dirençli popülasyonlarda P-450 ve GST enziminin arttığını ve karboksilesteraz enziminin azaldığını belirlemişlerdir. Ayrıca fenoxycarb-phosalone ve thiacloprid-phosalone haricinde diğer insektisitler arasında çapraz direnç gözlemlemişlerdir. Moleküler çalışma sonucunda ise popülasyonların hiçbirinde kdr ve AChE nokta mutasyonu belirlenmemiştir.

Rodriguez vd. (2011), *C. pomonella* popülasyonlarının alpha-cypermethrin'e direnç kazanmadığını belirlemişlerdir. Arcs ve Gimeneles popülasyonlarının lambda cyhalothrine direnç kazandığını belirlemişlerdir. 9 tarla popülasyonunda P-450 enziminin 5.1 ile 16.6 kat arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca popülasyonlardan birinde hassas popülasyona kıyasla GST için 3 kat, EST için ise beş kat daha fazla enzimatik aktivite belirlemişlerdir.

Franck vd. (2012), Ermenistan, Arjantin, Fransa, Yeni Zelanda, Türkiye, ABD, Bulgaristan, Uruguay, İsviçre ve Güney Fransa ülkelerinde 21 popülasyonda voltaj kapılı sodyum kanallarında L1014F kodon bölgesinde kdr mutasyonu belirlemişlerdir.

Rodriguez vd. (2012), *C. pomonella* tarla popülasyonlarında carbaryl <%53 ve azinphos-methyl ise <%39 ölüm oranları elde edilmiştir. Hassas popülasyonla

kıyaslandığında P-450 enzim miktarı 7.3 ile 16.1 kat iken GST 2.5 ile 3.7 kat arttığı belirlenmiştir.

Cichon vd. (2013), Arjantin'den toplanan *C. pomonella* popülasyonları'nın azinphosmethyl, acetamiprid ve thiacloprid aktif maddeleri'ne karşı direncini belirlemek için yapılan bir çalışmada tüm popülasyonların thiacloprid, azinphosmethyl ve acetamiprid direnç kazandığını belirlemişlerdir. Popülasyonların çoğunda P-450 enzim artışı belirlemişlerdir.

Fuentes-Contreras vd. (2014), *C. pomonella* birinci dönem larvalarının azinphos methyl'e direnç kazanmadığı son dönem larvaların ise direnç kazandığını belirlemişlerdir. Dirençli bulunan popülasyonlarda GST enziminin önemli rol oynadığını belirlemişlerdir.

Reyes vd. (2015) tarafından Şili'de 6 farklı lokasyondan topladıkları *C. pomonella* popülasyonlarının azinphos-methyl, chlorpyrifos-ethyl, esfenvalerate, methoxyfenozide, tebufenozide ve thiacloprid aktif maddelerine ilk dönem ve son dönem larvalarındaki direnç durumu ve mekanizmalarını incelemişlerdir. İlk dönem larvanın tüm insektisitlere direnç geliştirmedeğini, son dönem larvaların ise popülasyonlardan 4'nün chlorpyrifos'a, 1 popülasyonun azinphos-methyl'e diğer bir popülasyonun ise tebufenozide aktif maddesine direnç geliştirdiğini gözlemlemişlerdir. Glutasyon S-transferazlar, esterazlar ve sitokrom P-450 monooksijenazların detoksifikasyon enzimatik aktivitesi popülasyonlar arasında farklılık gösterirken, chlorpyrifos'a dirençli popülasyonlarda esteraz enziminin azaldığını belirlemişlerdir. Şili popülasyonunda kdr nokta mutasyonu belirlemişlerdir.

Grigg-McGuffin vd. (2015), 27 farklı lokasyondan topladıkları *C. pomonella* ergin ve 1.dönem larvalarının azinphos-methyl, thiacloprid, chlorantraniliprole ve methoxyfenozide aktif maddelerine karşı direnç durumunu araştırmışlardır. Araştırma sonucunda *C. pomonella* erginlerinin azinphos-methyl'e 5 katdan fazla direnç geliştirdiğini belirlemişler ve ilk dönem larvalarda ise azinphos-methyl, thiacloprid, chlorantraniliprole ve methoxyfenozide sırasıyla ölüm oranlarını %5 ile %50, %15 ile %65, %90 ile %100 ve %10 ile %40 arasında belirlemişlerdir.

Yang ve Zhang (2015), lambda-cyhalothrin, chlorpyrifos-ethyl, carbaryl ve imidacloprid aktif maddeli insektisitlerin farklı dozları uygulayarak direnç kazanan *C. pomonella* popülasyonlarında glutatyon s-transferaz enzim seviyesinin arttığını belirlemişlerdir. Sitokrom P-450 enziminin ise hassas popülasyonlarla benzer seviyede olduğunu belirtmişlerdir.

Bosch vd. (2018a) tarafından İspanya'dan toplanan 20 tarla popülasyonunun tamamının methoxyfenozide ve lambda-cyhalothrine (en yüksek direnç kazanan popülasyon 872 kat direnç) karşı yüksek oranda dirençli, yarısının ise thiaclopride direnç kazandığını, Indoxacarb, spinosad, chlorantraniliprole ve emamectin benzoate ise direnç kazanmadığını tespit etmişlerdir. Sinerjistik çalışmasında lambda-cyhalothrine 22.8 kat direnç kazanan Tossal popülasyonunda PBO 17.1 kat sinerjistik etki göstermiştir.

Bosch vd. (2018b), Fransa, Almanya, İtalya ve İspanyadan toplanan 27 tarla popülasyonunda chlorantraniliprole ayırıcı doz direnç çalışmalarında direnç saptanmamıştır. İspanya popülasyonunda %12.1 ile %100 arasındaki bireylerde hassasa kıyasla yüksek P450 enzimi belirlemişlerdir.

Bosch vd. (2018c), İspanya'dan toplanan 32 tarla popülasyonunun 23'ünde yüksek P450 enzimi, Catalonia popülasyonunun tamamında ve Aragon popülasyonunun 3'ünde AChE nokta mutasyonu (F290V), 12 Catalonia popülasyonunda ise kdr (L1014F) nokta mutasyonu tespit etmişlerdir.

Parra-Morales vd. (2021), *C. pomonella* hassas ve tarla popülasyonlarına acetamiprid'in sublethal dozlarının uygulanması sonucu biyotransformasyon ve antioksidan parametrelerini değerlendirmişlerdir. 7-ethoxycoumarine O-deethylase (ECOD), glutatyon S-transferaz (GST) and catalase (CAT) enzimlerini incelemişlerdir. Tarla popülasyonunda acetamiprid maruziyeti, ECOD aktivitelerinde önemli bir artışa neden olmuştur. GSH içeriği, 100 mg/L acetamiprid uygulanan hassas ve tarla popülasyonlarında önemli ölçüde artmıştır. Catalase enzimi ise her iki popülasyonda çoğunlukla etkilenmemiştir.

Soleno vd. (2020), Arjantin'den toplanan tüm popülasyonlarda lambda-cyhalothrin'e yüksek düzeyde direnç (direnç oranları>30) belirlenmiştir. En yüksek kdr nokta mutasyonu frekansı Río Negro ve Neuquén popülasyonlarında tespit edilmiştir.

Depalo vd. (2022), 5 Avrupa ülkesinden toplanan 9 popülasyonun lambda cyhalothrine 15 popülasyonun ise emamectin benzoate direnç durumunu araştırmışlardır. Popülasyonların hiçbirinde emamectin benzoate'a direnç belirlenmezken 1 popülasyonda lambda cyhalothrine 17.1 kat direnç tespit edilmiştir.

## 2.5. Diğer Lepidoptera Zararlılarında Yapılmış Çalışmalar

Bues vd. (2005), deltamethrin ile selekte edilip direnç kazandırılan *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) popülasyonunda PBO 84.9 kat, DEF 10.6 kat sinerjistik etki gösterirken DEM sinerjistik etki göstermemiştir. P-450 ve esterase enziminin deltamethrinde direnci arttırdığını gözlemlemişlerdir.

Qian vd. (2008), tebufenozide ile selekte edilip direnç kazandırılan *Plutella xylostella* popülasyonu abamectine çapraz direnç geliştirdiğini PBO 11-12.23 kat sinerjistik etki gösterdiğini çapraz dirençten P-450 enzimlerinden kaynaklandığını belirlemişlerdir.

Eziah vd. (2009), *P. xylostella* popülasyonunun piretroit, organik fosforlu ve indoxacarb insektisitlerine dirençli bulunan popülasyonlarda P-450 enzimi miktarı 2-6 kat, esterase aktivitesi 1-9 kat artış göstermiştir.

Che vd. (2013), 2009-2012 yılları arasında Çin'den topladıkları *Spodoptera exigua* popülasyonlarının 9 insektisite direnç durumunu araştırmışlardır. İnsektisitlerden emamectin benzoate (4-348 kat), indoxacarb (2-41 kat), spinosad (5-38 kat), chlorantraniliprole (2-44 kat), tebufenozide (2-87), chlorfluazuron (3-31 kat), cypermethrin (79-1240 kat), chlorpyrifos (8-3.080) ve chlorfenapyr (0.4-7 kat) direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir.

Civolani vd. (2014), İtalya'dan toplanan *Lobesia botrana*'nın insektisit direncini belirlemek için yaptıkları çalışmada, indoxacarb, methoxyfenozide ve emamectin benzoat insektisitlerinin direnç durumunu araştırmışlardır. Araştırma sonucunda

indoxacarb'a 72.58 kat, methoxyfenozide 6.24 kat ve emamectin benzoat 0.40 kat direnç kazandığını tespit etmişlerdir.

Su ve Sun (2014), *S. exigua* popülasyonlarının lambda cyhalothrin (2925-3449 kat), chlorpyrifos (>1786 kat), emamectin benzoate (174-867 kat), and metaflumizone (60.3-942 kat) yüksek direnç, indoxacarb'a (3.6-15.7 kat) ise düşük direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca lambda cyhalothrin ile PBO ile DEF enzim inhibitörlerinin yüksek sinerjistik etki, DEM ise düşük sinerjistik etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Emamectin benzoate her üç sinerjistin etkisiz olduğunu direncin başka mekanizmalardan kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir.

Che vd. (2015), *S. exigua* zararlısını emamectin benzoate ile seleksiyona maruz bırakılarak direnç kazandırılan WH-EB popülasyonu abamectin (202 kat)'e yüksek seviyede çapraz direnç, cypermethrin (10 kat) ve chlorfluazuron (7 kat)'a düşük seviyede çapraz direnç, chlorantraniliprole, chlorfenapyr, indoxacarb, spinosad, tebufenozide ve chlorpyrifos insektisitlerine ise çapraz direnç geliştirmedini belirlemişlerdir.

Bird (2017), indoxacarb'a karşı 139-198 kat direnç kazandırılıp seleksiyona maruz bırakılan *Helicoverpa armigera* popülasyonları chlorantraniliprole aktif maddesine çapraz direnç geliştirmemiştir. Ayrıca seleksiyon yapılan bu dirençli popülasyon emamectin benzoate ve fenvalerate aktif maddelerine daha hassas olduğu gözlenmiştir. İndoxacarb direnci ile PBO 22.6 kat sinerjistik etki göstermiştir.

Zhang vd. (2017), *P. xylostella* zararlısını indoxacarb ile selekte ederek 1069.3 kat direnç kazandırılmıştır. Beta cypermethrine 8.7 kat çapraz direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Biyokimyasal analiz ve sinerjistik sonuçlarına göre PBO (7.8 kat) ve DEM (3.5 kat) yüksek sinerjistik etki gösterdiği, P450 ve GST'nin artan aktivitesinin indoxacarb direncinden sorumlu ana detoksifikasyon mekanizması olduğunu belirlemişlerdir.

Ahmad vd. (2018), *Spodoptera exigua* zararlısının indoxacarb, spinosad, chlorfenapyr, methoxyfenozide ve avermectin'lere karşı yaprak daldırma bioassay metodu uygulayarak 1998'den 2017'ye kadar direnç durumunu incelenmiştir. Bu insektisitlere

karşı ilk 11 yıl boyunca (1998-2008) çok düşük direnç gözlenmiştir. Methoxyfenozide aktif maddesine karşı 20 yıllık izleme sonunda çok düşük direnç gözlenmiştir. Indoxacarb (2011-2015), spinosad (2009-2012), chlorfenapyr (2011-2017), abamectin (2016-2017) ve emamectin benzoate (2010-2013) yılları arasında orta direnç gelişmiştir. Indoxacarb (2016-2017), spinosad (2013-2017) ve emamectin benzoate (2014-2017) yılları boyunca yüksek direnç kazandığı gözlenmiştir.

Bird ve Walker (2018), Avustralya'dan toplanan *Helicoverpa punctigera* (Wallengren)'nin laboratuvar koşullarında emamectin benzoate, chlorantraniliprole ve indoxacarb aktif maddelerine karşı besin insektisit karışımı bioassay yöntemiyle direncini incelemiştir. Tarla popülasyonları'nın hassas'a kıyasla chlorantraniliprole, emamectin benzoate ve indoxacarb'a sırasıyla 1.9, 2.4 ve 2 kat düşük seviyede direnç kazandığını belirlemiştir.

Cui vd. (2018), *Helicoverpa armigera* zararlısı indoxacarb seleksiyonuna maruz bırakılarak 4.43 kat direnç kazandırılmıştır. Araştırma sonucunda cyhalothrin (1.77 kat), chlorpyrifos (1.47 kat) ve metaflumizone (1.39 kat) düşük çapraz direnç gelişmiştir. Biyokimyasal çalışmalar sonucunda sitokrom P450 monooksijenaz (P450) ve karboksilesteraz enzim miktarları önemli düzeyde artmıştır. Piperonyl butoxide ve S,S,S-tributyl phosphorothioate sırasıyla 2.54 ve 1.82 kat sinerjistik etki göstermiştir.

Monteiro vd. (2018), Doğu meyve güvesi (*Grapholita molesta*) (Lepidoptera: Tortricidae) zararlısını Brezilya'nın Vacaria (RS), Fraiburgo (SC1), São Joaquim (SC2), and Porto Amazonas (PR) bölgelerinden toplayarak insektisit direncini ve glutatyon S-transferaz (GST), esteraz ( $\alpha$ - $\beta$  EST) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitelerini incelemiştir. Araştırma sonucunda Vacaria, Fraiburgo ve São Joaquim'de toplanan *G. molesta* popülasyonlarının carbaryl ve chlorpyrifos'a tolerans gösterirken, Porto Amazonas popülasyonunun daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. São Joaquim ve Porto Amazonas popülasyonları deltamethrin'e daha tolerant iken Vacaria ve Fraiburgo popülasyonları daha hassas olduğunu belirlemiştir. Hiçbir popülasyon tebufenozide'e tolerant çıkmamıştır. Vacaria popülasyonu en yüksek AChE, GST, and  $\alpha$ -EST enzim aktivitesi göstermiştir.

Wang vd. (2018a), 2014-2016 yılları arasında Çin'in Sichuan eyaletinden toplanan sekiz *S. exigua* popülasyonu, beta-cypermethrine karşı 62 ila 502 kat direnç kazandığını belirlemişlerdir. Sitokrom P450 monooksijenaz enziminin karboksilesteraz veya glutatyon S-transferaz (GST) kıyasla, *S. exigua*'nın beta-cypermethrine direncinden esas olarak sorumlu olduğunu belirlemişlerdir.

Wang vd. (2018b), *Spodoptera litura*'nın tarla popülasyonunun 2014-2016 yılları arasında beta-cypermethrin, chlorpyrifos, emamectin benzoate, methoxyfenozide ve indoxacarb aktif maddelerine karşı direnç durumu incelenmiştir. Araştırma sonucunda tarla popülasyonu hassas popülasyonla kıyaslandığında beta-cypermethrin 267.3-1789.2 kat yüksek direnç göstermiştir. Chlorpyrifos 2014 yılında 8.9-24.4 kat direnç gösterirken, 2016 yılında 440.5-950.5 kat yüksek direnç kazanmıştır. 2014 ve 2016 yılında toplanan tüm popülasyonlar indoxacarb'a düşük veya orta seviyede direnç kazanmıştır. 2014 yılında emamectin benzoate ve methoxyfenozide'e direnç gözlenmezken 2016 yılında emamectin benzoate 29.8-55.2 kat, methoxyfenozide 38.1-59.0 kat direnç kazanmıştır.

Bolzan vd. (2019), chlorantraniliprole ile selekte edilen *Spodoptera frugiperda* 237 kat oranında direnç geliştirmiştir ve bu popülasyonun diğer diamide grubu insektisitlere çapraz direncini incelemişlerdir. Analizler sonucunda cyantraniliprole (RR~27-kat) düşük çapraz direnç gösterirken, flubendiamide (RR>42 000 kat) ise yüksek çapraz direnç geliştirmiştir.

Stacke vd. (2019), Brezilya'da *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) zararlısının insektisitlere karşı duyarlılığını incelemişlerdir. Tarla popülasyonları hassasa kıyasla spinetoram, indoxacarb, thiodicarb, chlorantraniliprole, flubendiamide ve chlorfenapyr aktif maddelerine 16 kat'dan daha az direnç gösterirken lambda-cyhalothrin, methoxyfenozide, novaluron ve teflubenzuron sırasıyla 38-, 63-, 1.553- ve 5.215- kat direnç geliştirmiştir.

Monteiro vd. (2020), Brezilya'nın 7 farklı bölgesinden toplanan Doğu meyve güvesi (*Grapholita molesta*) popülasyonlarının chlorantraniliprole, lufenuron, chlorpyrifos ve fenitrothion aktif maddeli insektisitlere karşı duyarlılıklarını incelemişlerdir. Bioassay testler sonucunda popülasyonların 5 tanesi organofosfatlara, 6 tanesi lufenuron'a ve 2

tanesi chlorantraniliprol'e hassasa kıyasla çok dirençli bulunmuştur. Organafosfat ve lufenuron dirençli popülasyonlarda AChE ve GST enzim düzeylerinde artış gözlemlenmiştir.

Stacke vd. (2020), lambda-cyhalothrin ile selekte edilen *Chrysodeixis includens* 73.3 kat oranında direnç geliştirmiştir ve bu popülasyonun deltamethrin'e 6.2 kat, cypermethrin'e ise 22.5 kat çapraz direnç kazandığını belirlemiştir.

Zhao vd. (2020), Çin'de mısır bitkisinde zararlı *Spodoptera frugiperda*'nın 8 popülasyonunun 8 insektisite direnç durumunu araştırmışlardır. Tarla popülasyonlarında emamectin benzoate, spinetoram, chlorantraniliprole, chlorfenapyr ve lufenuron aktif maddeleri yüksek toksisite gösterirken, lambda-cyhalothrin ve azadirachtin düşük toksisite göstermiştir. Ayrıca *S. frugiperda*'nın indoxacarb'a direnci hassas popülasyona kıyasla 10 kat fazla olduğunu belirlemiştir. 2 tarla popülasyonunda piperonyl butoxide (PBO) ve triphenyl phosphate (TPP) lambda cyhalothrine yüksek sinerjistik etki göstermiştir.

Huang vd. (2021), Çin'den topladıkları *S. exigua* zararlısının chlorantraniliprole, tetraniliprole, methoxyfenozide, indoxacarb, chlorfenapyr, emamectin benzoate ve beta cypermethrin insektisitlerine direnç durumunu araştırmışlardır. Deneme sonucunda tarla popülasyonlarının chlorantraniliprole orta ve yüksek seviyede (6.3-2477.3 kat), AY19 popülasyonunun beta-cypermethrin (277.5 kat)'e yüksek seviyede, bir popülasyonda indoxacarb (8.7-25.6 kat) ve emamectin benzoate'a (1.5-13.3 kat) orta seviyede direnç geliştirdiğini belirlemiştir.

Tang vd. (2021), *H. armigera* ve *S. exigua* zararlısının emamectin benzoate direnç durumun araştırmışlardır. 2013 yılından 2019 yılına kadar bir popülasyonda *H. armigera* direnç oranı 1.28 kattan 39.12 kata, *S. exigua* 1.49 kattan 37.07 kata arttığını belirlemiştir.

Zuo vd. (2022), Çin'den toplanan 7 popülasyonda beta-cypermethrine dirençli *Spodoptera exigua* zararlısının voltaj kapılı sodyum kanallarında L1014F kodonunda kdr mutasyonu (CTT-TTT) frekansını %60 ile %89.6 arasında belirlemiştir.

Histidine ile phenylalanine yer değiştirmesi sonucu L1014H kdr mutasyonu sadece bir popölasyonda belirlenmiştir.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

*Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) üretimi için Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsündeki iklim odaları, Southland Products Inc. Firmasından temin edilen içkurdu besini, 25x30x20 cm'lik böcek üretim kutuları, içkurdu toplamak için temin edilen oluklu mukavvalar, zımba aleti, pamuk, jelatin, bal, ağız aspriatörü, ince uçlu fırçalar, 50 ml'lik falcon tüpü vb. malzemeler kullanılmıştır.

Biokimyasal materyaller ise Bradford protein deneme kiti, sodium phosphate buffer, editic asit (EDTA), 1,4-dithiothreitol (DTT), 1 mM phenylmethyl sulfonylfluoride (PMSF), phenylthiourea (PTU), 1-naphthyl asetat solüsyonu, fast bluee RR salt, 1-chloro-2,4 - dinitrobenzene (CDNB), Tris HCL buffer, glutathione (GSH), 7-etoxy coumarin, NADPH, oxidase glutation, glutation reductase, ethanol, aseton, buz makinası, -80°C derin dondurucu, fotometrik mikropilaka okuyucu, florimetrik mikropilaka plaka okuyucu, hassas terazi, manyetik karıştırıcı, PBO, TPP ve DEM sinerjistleri vb. materyaller kullanılmıştır.

Bioassay materyaller 50, 100, 250 ml'lik cam beher, 50, 250 ml plastik ve cam mezürler, mikropipetler, 90 mm'lik plastik petrilere, stereomikroskop, deltamethrin, indoxacarb ve emamectin benzoate insektisitleri oluşturmaktadır.

Moleküler çalışmalar için Quagen genomik DNA izolasyon kiti, pcr tüpleri, 5 X Fussion Buffer, CpNa forward primer, CpNa reverse primer, 10 mM dNTP, Taq DNA Polymerase, içkurdu genomik DNA'ları, steril pcr distile suyu, TBE buffer, agar, etidium bromide, loading dye, thermo scientific 100 bp markör, yatay elektroforez jel cihazı, PCR (thermal cycler) cihazı materyalleri oluşturmaktadır.

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. *Cydia pomonella* popülasyonlarının üretilmesi

*Cydia pomonella*'nın üretilmesi amacıyla haziran, temmuz ve ağustos aylarında elma ağaçlarının gövdelerine çift kat oluklu mukavvalar sarılmıştır (Şekil 3.1). Sarma işleminin ardından birer haftalık aralıklarla oluklu mukavvalara gelen larvalar toplanıp buz kutularına aktarıldıktan sonra entomoloji laboratuvarına getirilmiştir. Hassas popülasyon 2021 yılında Isparta ili Gölcük Gölü milli parkında bulunan uzun yıllar (20 yıldan fazla) ilaçlama yapılmayan izole bir elma bahçesinden toplanmıştır. Aynı yılda elma üretiminin yoğun yapıldığı Eğirdir Tepeli köyü ve Eğirdir merkezde bulunan MAREM elma bahçelerinden toplanmıştır. 2022 yılında ise Gelendost, Yalvaç, Gönen ve Aksu ilçelerinden toplanmıştır (Şekil 3.2). Toplanan *C. pomonella* popülasyonlarının koordinatları Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Toplanan *Cydia pomonella* popülasyonlarının koordinatları ve yılı

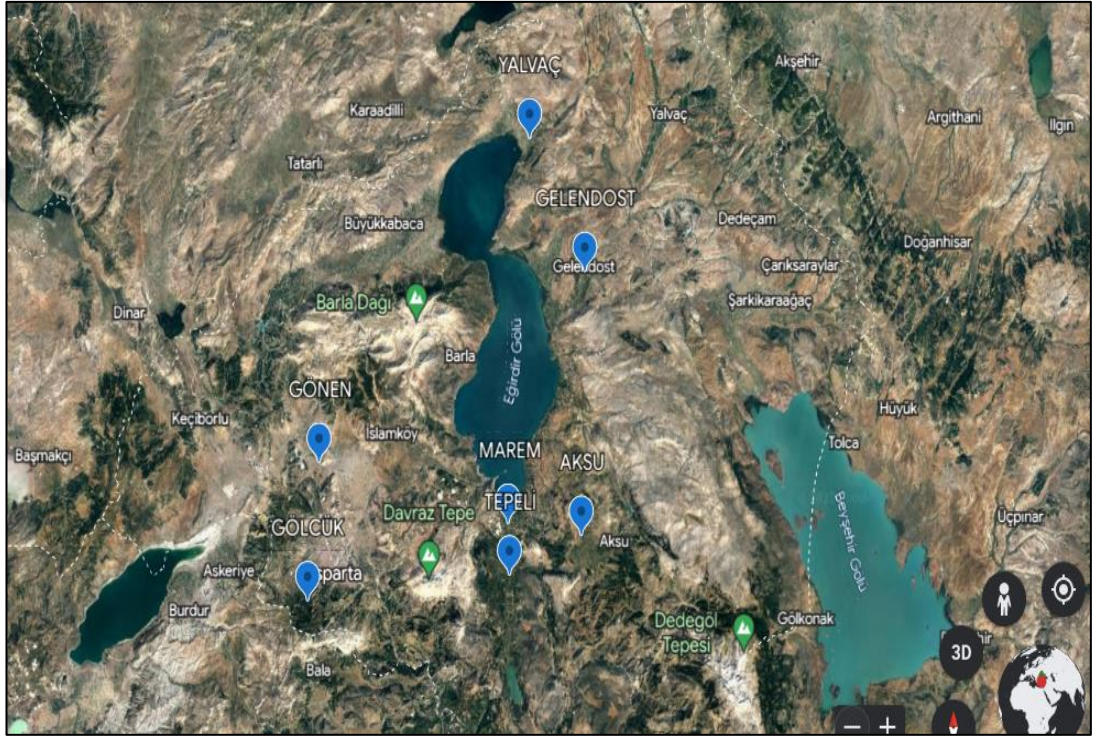
| Popülasyon adı            | Koordinat                          | Toplanma Yılı |
|---------------------------|------------------------------------|---------------|
| Eğirdir Merkez<br>(MAREM) | 37°48' 59" K, 30° 52' 25" D        | 2021          |
| Eğirdir Tepeli Köyü       | 37°45' 24.3" K, 30° 52' 26.6" D    | 2021          |
| Gölcük                    | 37°43' 42.0" K, 30°29' 12.7" D     | 2021          |
| Gelendost Merkez          | 38°06' 43.6" K, 31° 01' 00.9" D    | 2022          |
| Yalvaç Aşağıtirtar Köyü   | 38° 16' 0.8.0" K, 30° 54' 13.9 " D | 2022          |
| Gönen Senirce             | 37° 53' 19.5" K, 30° 31' 25.6" D   | 2022          |
| Aksu Yılanlı              | 37° 48' 11.4" K, 31° 00' 31.8" D   | 2022          |



Şekil 3.1. Oluklu mukavvaların ağaç gövdesine sarılması

Bahçelerden toplanan mukavvalara farklı türden böcekler, karıncalar ve örümcekler girdiği için mukavvalardan son döneme gelen larvalar ve pupalar ayıklanarak yeni kutulara aktarılmış olup larvaların pupa dönemine geçmesi için kutuların içerisine temiz oluklu mukavvalar parça parça kesilerek koyulmuştur. Son döneme gelen larvalar yaklaşık 2-3 gün içerisinde olukların içerisinde koza örerek pupa dönemine geçmiştir. Pupalardan yaklaşık 10-15 gün içerisinde çıkan erginler yeni kutulara aktarılmıştır. Erginlerin beslenmesi için %20'lik ballı su karışımı pamuklara emdirilerek kutulara koyulmuştur. Erginlerin yumurta bırakması için kutuların içi jelatinle kaplanmıştır. Erginler çiftleşme olgunluğuna 2-3 gün içerisinde erişip jelatinin üstüne yumurta bırakmaktadır. Yumurta bırakılan jelatinler toplanarak ayrı kutulara aktarılmıştır. Yumurtalardaki kayıpları önlemek için her gün jelatinlerin üstüne el spreyi ile steril su püskürtülmüş ve üzerine nemli kağıt havlular koyulmuştur. Yumurtalar yaklaşık 5-7 gün içerisinde olgunlaşıp karabaş dönemine geçtiği

gözlenmiştir. Karabaş dönemine geçen yumurtalardan yaklaşık 1-3 saat içerisinde larva çıkışları gözlenmiştir. Çıkan ilk dönem larvaları, içerisinde içkurdu yemi bulunan 90 mm'lik petrilere içkurdunun yamyamlık davranışı nedeniyle larva kayıplarını önlemek için beşer larva olacak şekilde ince uçlu fırça ile aktarılmıştır. Larvalar yaklaşık 15-16 gün sonrası beşinci döneme erişmiştir (Şekil 3.3). Direnç çalışmaları için içkurdu larvaları yeterli sayıya ulaşınca kadar tüm popülasyonlarda üretim bu yöntemle devam etmiştir.



Şekil 3.2. *Cydia pomonella* popülasyonlarının toplandığı yerlerin uydu görüntüsü



Şekil 3.3. *Cydia pomonella* popülasyonlarının insektaryumlarda üretim aşamaları

Suni içkurdu yemi Southlands Products firmasının kullanım talimatına göre 162 g yemin üzerine kaynatılan 930 ml saf su dökülüp karıştırıcı ile 5 dk. karıştırıldıktan sonra petrilerin yarısını geçmiyecek şekilde dökülmüştür. Besinin donması için petrilerin kapağı açık bir şekilde 1 saat bekletilmiştir. Hazırlanan stok besinler üretim için kullanılmak üzere buzdolabında saklanmıştır. *C. pomonella* üretimi  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de ve

%60±5 nispi nemde, 16:8 aydınlık:karanlık koşullar altında iklim odalarında gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. İnsektaryumlarda üretilen *Cydia pomonella* popülasyonları

### 3.3. Biyoassay Çalışmalar

#### 3.3.1. İnsektisit bioassay denemeleri

Tepeli, MAREM, Yalvaç, Gelendost, Aksu, Gönen ve Gölcük lokasyonlarından toplanıp üretimi yapılan popülasyonların indoxacarb, deltamethrin ve emamectin benzoate aktif maddelerine karşı LD<sub>50</sub> değerleri belirlenmiştir. Bioassay çalışmalarında topikal aplikasyon metodu uygulanmıştır. Denemeler 1 kontrol + 6 doz, 4 tekrerrür her tekrerrürde en az 5 larva olacak şekilde kurulmuştur. Her dozda 20 larva kullanılıp her insektisitde en az 120 larva kullanılmıştır. Denemelerin dozları bir öncekinin yarısı olacak şekilde seri konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmıştır. Tarla popülasyonlarına deltamethrin, indoxacarb ve emamectin benzoate sırasıyla 32 ml, 18 ml ve 40 mg; hassas popülasyona 1.6 ml, 1.8 ml ve 30 mg dozunda %50 seyreltilerek en az 6 seri konsantrasyonda farklı dozlar hazırlanmıştır. Kontrole sadece saf su uygulanmıştır. Hazırlanan insektisit konsantrasyonları mikropipet ile 5. dönem larvaların dorsal yüzeylerinin ortasına 1 µl uygulanmıştır. Uygulamadan önce larvaları uyuşturmak için +4°C'de 2 dk. bekletilmiştir. Uygulama yapılan larvalar içerisinde besin bulunan 9 cm çaplı tek kullanımlık petri kaplarına, her petriye en az beşer adet olmak üzere koyulup, 25±1°C'de ve %60±5 nispi nemde, 16:8 aydınlık:karanlık koşullarına sahip iklim odasına yerleştirilmiştir. Canlı ve ölü larva sayımları denemelerden 72 saat sonra yapılmıştır. Sayımlarda her bir larva tek tek kontrol edilerek fırça ile dokunulduğunda hareket etmeyen larvalar ölü olarak kabul edilmiştir. Kontrolde ölüm oranı %10'dan az olmak koşuluyla ve uygulama yapılan larvalardan elde edilen ölüm oranlarının yaklaşık %10 ve %99 arasında normal bir dağılım gösterene kadar denemeler tekrarlanmıştır (Şekil 3.5).

#### 3.3.2. Sinerjist + insektisit bioassay denemeleri

Triphenyl phosphate (TPP) karboksilesteraz inhibitörü, diethyl maleate (DEM) glutatyon s transferaz inhibitörü, piperonyl butoxide (PBO) ise hem esteraz hem de sitokrom P-450 monooxygenaz enzim inhibitörü olarak bilinmektedir. Deltamethrin ve indoxacarb dirençli bulunan MAREM ve Tepeli köyü popülasyonlarında insektisit direncinde esteraz, GST ve P450 enzimlerinin bir rolü olup olmadığını doğrulamak

için piperonyl butoxide (PBO), triphenyl phosphate (TPP) ve diethyl maleate (DEM) sinerjistleri uygulanmıştır.

Ayrıca hassas popölasyonda söz konusu insektisitler ve sinerjistler denenmiştir. Sinerjistlerden PBO (2000 µl/l), DEM (1000 µl/l) ve TPP (0.5 g/l) dozunda hazırlanarak kullanılmıştır (Qian vd., 2008). Aseton ile özölen sinerjistler mikroaplikatör ile insektisit uygulamalarından 1 saat önce 5. dönem larvaların thorax dorsaline PBO 2 µl, TPP 1 µl, ve DEM 1 µl olacak şekilde uygulanmıştır. Kontrole sadece aseton uygulanmıştır. Sinerjistlerin uygulanmasından yaklaşık 1 saat sonra Tepeli ve MAREM popölasyonlarına deltamethrin ve indoxacarb sırasıyla 15 ve 9 ml; hassas popölasyona 0.8 ve 0.9 ml dozunda %50 seyreltilerek hazırlanan en az 6 seri konsantrasyonda farklı dozlar uygulanmıştır. Uygulama yapılan larvalar 25±1°C’de ve %60±5 nispi nemde, 16:8 aydınlık:karanlık fotoperiyot koşullarına sahip iklim odasına yerleştirilmiştir. Ölü-canlı değerlendirmesi 72 saat sonra yapıldıktan sonra LD<sub>50</sub> değerleri belirlenmiştir. Denemelerde kontrolde ölüm oranı %10’u geçmemiştir. Sinerjistik katsayısı Denklem (3.1)’e göre hesaplanmıştır.

$$\text{Sinerjistik etki} = \text{Sinerjistsiz LD}_{50} \div \text{Sinerjistli LD}_{50} \quad (3.1)$$



Şekil 3.5 Topikal aplikasyon metodu ile denemelerin kurulması

### 3.4. Biyokimyasal Çalışmalar

Biyokimyasal çalışmalarda esteraz, glutatyon S transferaz (GST) ve sitokrom P450 monooksijenaz (P450) enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Esteraz ve GST enzim aktivitesi fotometrik mikrolaka yöntemiyle ve sitokrom P450 enzim aktivitesi florimetrik mikrolaka yöntemi ile belirlenmiştir.

#### 3.4.1. Esteraz, GST ve P450 enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan enzim kaynağının hazırlanması

*Cydia pomonella*'nın onar adet son dönem larvası 2 ml'lik eppendorf tüplerin içerisine homojenasyon buffer (0.1 M sodium phosphate buffer, pH: 7.6)'da sterilize edilmiş bir pestile ile homojenize edilmiştir (Şekil 3.6). Homojenasyon buffer; 0.1 M sodium phosphate buffer (pH: 7.6), 1 mM Editic asit (EDTA), 1 mM 1,4-dithiothreitol (DTT), 1 mM phenylmethyl sulfonylfluoride (PMSF) (etanolda çözündürülmüştür) ve 1 mM phenylthiourea (PTU) içermektedir. 20 000 g'de 20 dakika santrifüj yapılmıştır ve

supernatant kısmı esterez, sitokrom P-450 ve GST enzimlerinin analizinde kullanılmıştır (İşçi ve Ay, 2017).



Şekil 3.6. *Cydia pomonella* larvalarından enzim kaynağının hazırlanması

#### 3.4.2. Toplam esterez, enzim aktivitesinin belirlenmesi

Elma içkurdu larvaları homojenize edildikten sonra reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. 10 ml 0.2 M sodium fosfat buffer (pH: 6) içerisine 0.015 g fast blue RR salt çözdürülmüştür. Bu çözelti hazırlandıktan sonra Whatman kâğıdında 100 ml'lik cam erlen içerisine süzdürülmüştür. Manyetik karıştırıcıda 5 dk. karıştırıldıktan sonra 100 mM 1-naftil asetat solüsyonu eklenip karıştırılmıştır. Reaksiyon çözeltisi 10 mM 1-naftil asetat ve 4 mM fast blue RR salt içermektedir. Kinetik okuma öncesinde mikrolaka hücrelerinin her birine 90 µl 0.1 M sodium fosfat buffer (pH 7.6), 10 µl enzim kaynağı koyulmuştur ve 200 µl reaksiyon karışımı ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. Mikrolaka hemen mikrolaka okuyucuya koyularak 27°C'de, 450 nm dalga boyunda, 10 dk. süreyle kinetik olarak okunmuştur (Şekil 3.7) (İşçi ve Ay, 2017).



Şekil 3.7. Esteraz enzim belirlemek için mikrolaka hücrelerine çözeltilerin aktarılması

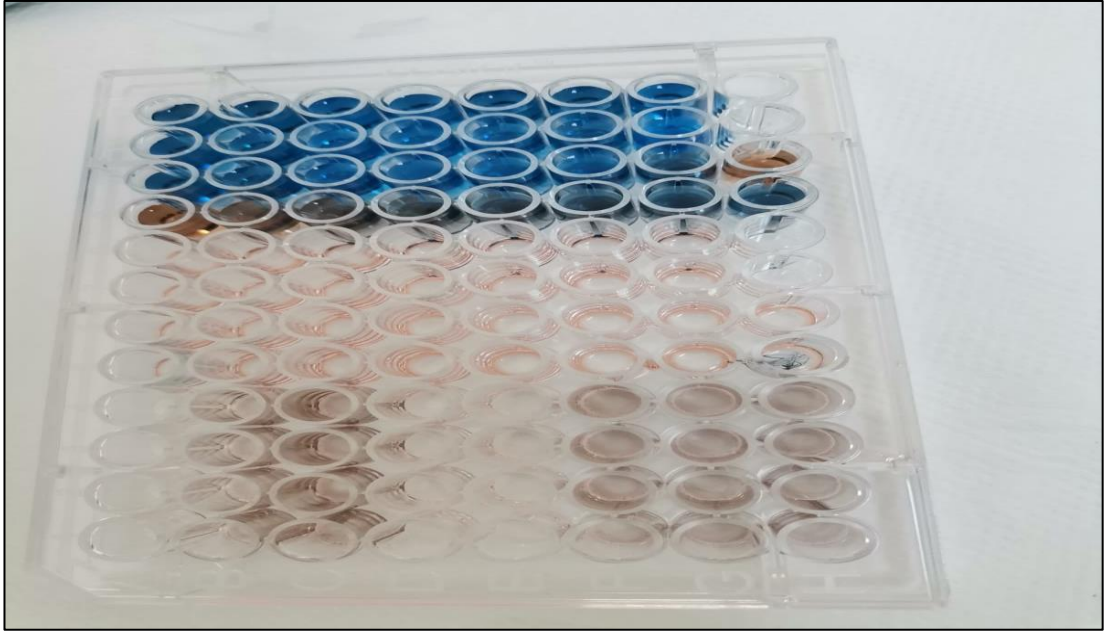
#### 3.4.3. GST enziminin aktivitesinin belirlenmesi

GST enzim miktarını tespit etmek için mikrolaka hücrelerinin her birine stok çözeltilerden 10 µl enzim kaynağı, 90 µl Tris HCL buffer (0.05 mM, pH: 7.5), 100 µl 1.2 mM CDNB ve 100 µl 6 mM glutathione (GSH) koyularak reaksiyon başlatılmıştır. GST enziminin kinetik okunması mikrolaka okuyucuda 27°C'de ve 340 nm dalga boyunda, 10 dakika süreyle okunmuştur (İşçi ve Ay, 2017).

#### 3.4.4. Sitokrom P450 monooksijenaz enziminin florimetrik olarak okunması

P450 enziminin florimetrik okunması için her kuyucuğa 80 µl 0.5 mM 7-etoxy coumarin+50 µl homojenat ve 10 µl 9.6 mM NADPH koyulmuştur. Plate 30°C'de 30 dk santrifüjde 44 g çalkalanarak inkübasyon yapılmıştır. NADP'nin uzaklaştırılması için plate hücrelerine 10 µl 100 mM oksidase glutation ve 13 µl glutation reductase (1.3U) eklenip 10 dk. inkübasyon yapılmıştır. Kimyasal reaksiyonu sonlandırmak için 125 µl %50 acetonitrile (Trizma base buffer içinde (0.05 M, pH: 10)) koyulmuştur. Okumalar 30°C'de endpoint olarak 390 nm exiting 465 nm emissingde yapılmıştır.

Enzim çözeltisinin toplam protein içeriği, standart olarak bovine serum albümini kullanılarak Bradford yöntemiyle belirlenmiştir. 0.001 g bovine serum albümin tartılarak 1000 µl steril suda çözündürülmüştür. Sonra plate'in ilk sütununa sırasıyla 0'dan 14 µl'ye kadar ikişer µl arttırılarak hücrelere yüklenmiştir. Diğer hücrelere 2 µl enzim kaynağından koyulmuştur. Sonra protein tespiti için 250 µl bredford çözeltisi hücrelere eklenmiştir. Ölçümden önce 10 dk. reaksiyonun gerçekleşmesi için beklenilmiştir. Bu sürede renk değişimleri görsel olarak gözlenmiştir (Şekil 3.8). Bu sürenin sonunda ölçüm için plate okuyucuya yerleştirilmiştir. Spektrofotometrik olarak 595 nm dalga boyunda standart eğim çizilerek standardize edilmiş protein konsantrasyonları ölçülmüştür. Protein denemeleri üç tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Herbir enzim için elde edilen sonuçlara göre esterase ve GST aktivitesi mOD/min/mg protein ve RFU/30 min/mg protein olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.8. Bradford metotuna göre protein analizi

### 3.5. Moleküler Çalışmalar

#### 3.5.1. DNA ekstraksiyon çalışmaları

Deltamethrine dirençli bulunan MAREM popülasyonu ve hassas popülasyonun örneklerinden DNA izolasyonu, Quagen genomik DNA izolasyon kiti ile firmanın protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. -80°C'de tutulan larvalar 1.5 ml'lik ephendorf

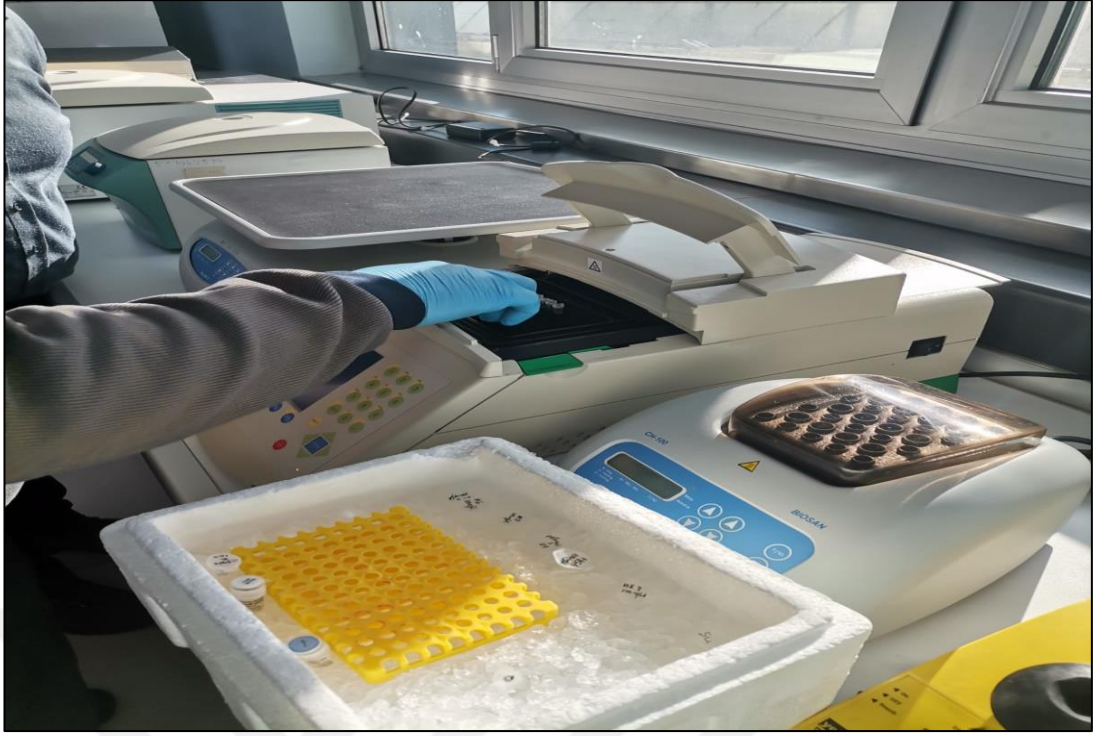
tüplerin içerisinde her tüpe bir larva olacak şekilde koyulmuştur. 180 µl homojenizasyon buffer ATL koyulup pestil ile ezilmiştir. Ardından, 20 µl proteinase K eklenip 10 sn. vortekslenmiştir. Sonra böcek dokularını tamamen parçalamak için 56°C’de 3 sa. inkübe edilmiştir. Bir sonraki adımda 200 µl Tampon AL + 200 µl %96 - %100 etanol solüsyonu ile vortekslenmiştir. Daha sonra karışım 2 ml'lik toplama tüpüne yerleştirilip DNeasy Mini döndürme kolonuna aktarıldıktan sonra 6000 g (8000 rpm)'de 1 dk. santrifüjlenmiştir. Bu adımdan sonra karışım yeni toplama tüpüne aktarıldıktan sonra 500 µl Tampon AW1 eklenmiştir. Sonra 6000 g (8000 rpm)'de 1 dk. santrifüjlenmiştir. Tekrar yeni tüplere karışım aktarıldıktan sonra 500 µl Buffer AW2 eklenmiştir. Sonrasında DNeasy membranını kurutmak için 14 000 rpm hızında 3 dk. santrifüjlenmiştir. Yeni tüplere aktarıldıktan sonra 100 ul tampon AE koyulup 1 dk. oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 8000 rpm’de 1 dk. santrifüj yapılarak DNA’lar izole edilmiştir.

### 3.5.2. PCR çalışmaları

Voltaj kapılı sodyum kanallarındaki L1014F kodon bölgesindeki leucine ile phenylalanine isimli aminoasit yer değiştirmesi sonucu oluşan kdr nokta mutasyonlarını tespit etmek için PCR çalışması yapılmıştır (Şekil 3.9). Franck vd. (2012) tarafından CpNaF (5' TAGAGAGCATGTGGGATTGC 3') ve CpNaR (5' AATTTCGTAGCCCTTGATCG 3') açıklanan primer seti PCR çalışmasında kullanılmıştır. *C. pomonella* örneklerinin DNA’sı 100 ng olacak şekilde %10 seyreltilmiştir. PCR çoğaltmasında Çizelge 3.2’de gösterilen içerikler kullanılarak toplam 50 µl karışım PCR tüplerine koyulmuştur.

Çizelge 3.2. PCR’da kullanılan ürünler ve miktarı

| PCR İçeriği         | 1 X (µl) |
|---------------------|----------|
| 5 X Fussion Buffer  | 10       |
| CpNa Forward Primer | 1        |
| CpNa Rewerse Primer | 1        |
| 10 mM dNTP          | 1        |
| Taq DNA Polymerase  | 1        |
| Genomic DNA         | 4        |
| Steril distile su   | 32       |
| Toplam              | 50       |



Şekil 3.9. *Cydia pomonella* kdr nokta mutasyonlarının belirlenmesi için PCR çalışması

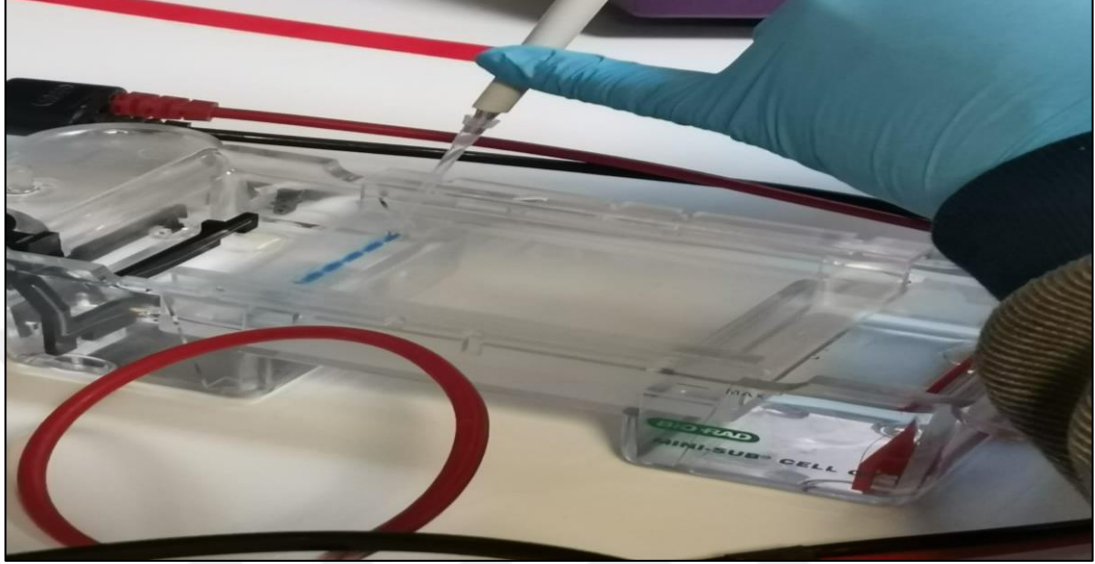
PCR tüpleri cihaza yerleştirildikten sonra Çizelge 3.3'deki PCR döngüleri uygulanarak DNA çoğaltma işlemi tamamlanmıştır.

Çizelge 3.3. PCR çalışma koşulları

| Sıcaklık | Zaman  | Döngü |
|----------|--------|-------|
| 95°C     | 5 dk.  | 1     |
| 95°C     | 30 sn. | 40    |
| 55°C     | 30 sn. |       |
| 72°C     | 1 dk.  |       |
| 72°C     | 5 dk.  | 1     |

PCR'da çoğaltma işleminden sonra jel elektroforez çalışması için %1'lik agaroz jel hazırlandı. Jel için 50 ml TBE X tampon çözeltisi içerisine 0.5 g agar koyulup mikrodalgada kaynatıldı. 10 dk. soğuması için beklendikten sonra içerisine 1.75 µl etidium bromide eklendi. Jel tankına çözelti döküldü donması için beklendi. Donduktan sonra jelin ilk hücrelerine 4 µl markör yüklendi. 2 µl 6x loading dye ile 10 µl PCR ürünü DNA'lar pipetle karıştırılıp jeldeki kuyucuklara yüklendi. Sonra 100 V'da 30 dk. jel elektroforezde DNA'lar yürütüldü. Yürütme işleminin ardından jel UV ışık altında görüntüleme sisteminde fotoğrafı çekilmiştir (Şekil 3.10).

Çoğaltılan PCR ürünü Sentebiolab firması tarafından sekanslaması yapılmıştır. Gelen sekans sonuçları bioedit programı kullanılarak dizilenmiştir. Bu diziler hassas ve dirençli popülasyonlarda alt alta hizalanarak gen bankasından alınan referans dirençli gen dizilimi ile karşılaştırılarak kdr nokta mutasyonları taranmıştır.



Şekil 3.10. PCR’da çoğaltılan *Cydia pomonella* DNA’larının jele yüklenmesi

### 3.6. Verilerin Analizi

Elde edilen verilerden yararlanarak tüm tarla popülasyonlarının LD<sub>50</sub> ve LD<sub>90</sub> değerleri POLO bilgisayar paket programında (LeOra Software, 2003) hesaplanarak hassas (Gölcük) popülasyonunun LD<sub>50</sub> ve LD<sub>90</sub> değeri ile karşılaştırıldıktan sonra LD<sub>50</sub> ve LD<sub>90</sub> direnç oranları, ki kare ve eğim değerleri belirlenmiştir. Sinerjistik katsayısı Denklem (3.1)’e göre hesaplanmıştır. Enzim aktiviteleri ve kontrol grubundaki ortalamalar Shapiro-Wilk normallik testi uygulandıktan sonra tek yönlü varyans analizi yapıldı. Daha sonra ortalamalar arasındaki farkı belirlemek için Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (P<0.05). İstatiksel analizler SPSS version 23.0 paket programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir (IBM Corp., 2010). Tarla popülasyonlarının enzim miktarının hassas popülasyon enzim miktarına bölünmesi ile enzim katsayıları hesaplanmıştır. Popülasyonlar direnç katsayılarına göre düşük direnç (RR≤10), orta seviye direnç (10<RR≤40), yüksek seviyede direnç (40<RR≤160) ve çok yüksek seviye direnç (160<RR) olarak sınıflandırılmıştır (Wang vd., 2018b).

$$\text{Sinerjistik etki} = \text{Sinerjistsiz LD}_{50} \div \text{Sinerjistikli LD}_{50} \quad (3.1)$$

## 4. BULGULAR

### 4.1. Bioassay Sonuçları

#### 4.1.1. Deltamehrin bioassay sonuçları

Denemede kullanılan Hassas, MAREM, Tepeli, Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının deltamethrin'e karşı bulunan LD<sub>50</sub> değerleri sırası ile 0.26, 5.84, 5.97, 2.28, 1.19, 0.90 ve 1.78 ml/100 ml olarak belirlenmiştir. Hassas popülasyonun LD<sub>50</sub> değerinin %95 güven aralıkları diğer popülasyonlarla çakışmadığı için tarla popülasyonlarının tamamının LD<sub>50</sub> değeri hassas popülasyonunkinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Polo bilgisayar programında hesaplanan eşitlik ve paralellik hipotezi sonucuna göre tüm tarla popülasyonları hassas popülasyon ile eşit olmadığı ve paralel olduğu belirlenmiştir. LD<sub>50</sub> değerine göre belirlenen direnç katsayıları ise en yüksek direnç Tepeli ve MAREM popülasyonlarında sırası ile 22.37 ve 21.9 kat direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının direnç oranları sırası ile 8.54, 4.46, 3.38 ve 6.68 kat bulunmuştur.

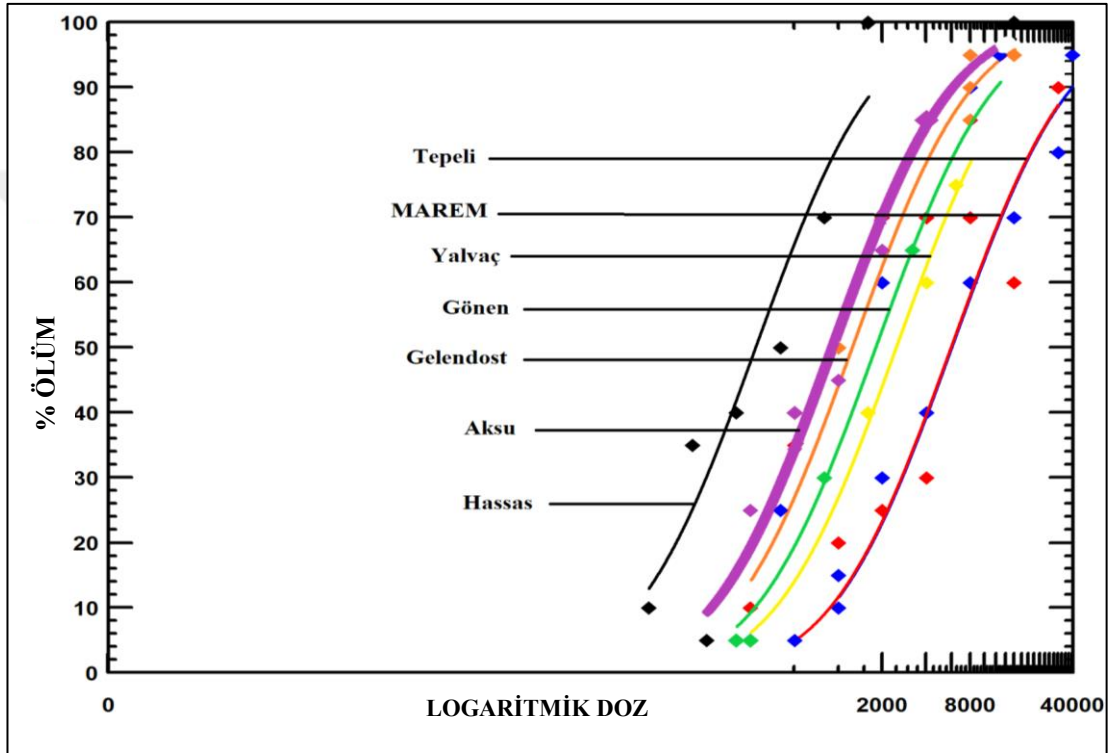
Hassas, MAREM, Tepeli, Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının deltamethrin'e karşı LD<sub>90</sub> değerleri sırası ile 1.61, 44.21, 50.15, 9.31, 9.94, 5.52 ve 12.82 ml/100 ml olarak bulunmuştur. Tarla popülasyonlarının LD<sub>90</sub> değerinin hassasa kıyaslanması sonucu belirlenen direnç katsayıları ise en yüksek Tepeli ve MAREM popülasyonlarında sırasıyla 31.03 ve 27.36 kat olarak belirlenmiştir. Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının direnç oranları sırası ile 5.76, 6.15, 3.42 ve 7.93 kat olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, deltamethrine Tepeli ve MAREM orta düzeyde direnç geliştirirken Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonları düşük seviyede direnç geliştirdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. *Cydia pomonella* popülasyonlarının deltamethrin LD<sub>50</sub> direnç oranları

| Popülasyon | n*  | Eğim±sh   | X <sup>2</sup> / P | LD <sub>50</sub> (ml/100 ml)<br>(%95 güven aralığı) | LD <sub>50</sub><br>Direnç oranı<br>(%95 güven aralığı) | LD <sub>90</sub> (ml/100 ml)<br>(%95 güven aralığı) | LD <sub>90</sub><br>Direnç oranı<br>(%95 güven aralığı) | Eşitlik<br>hipotezi | Paralellik<br>hipotezi |
|------------|-----|-----------|--------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------|------------------------|
| Hassas     | 140 | 1.64±0.28 | 5.48/0.24          | 0.26<br>(0.13 – 0.54)                               | -                                                       | 1.61<br>(0.72 – 18.95)                              | -                                                       | -                   | -                      |
| Marem      | 160 | 1.45±0.23 | 1.99/0.85          | 5.84<br>(3.87 – 8.5)                                | 21.9<br>(12.92-36.93)                                   | 44.21<br>(25.59 – 113.43)                           | 27.36<br>(10.06 - 74.32)                                | Eşit değil          | Paralel                |
| Tepeli     | 160 | 1.38±0.22 | 4.97/0.41          | 5.97<br>(4.03 - 9.32)                               | 22.37<br>(12.95 - 38.39)                                | 50.15<br>(25.85 – 163.53)                           | 31.03<br>(10.14 - 94.88)                                | Eşit değil          | Paralel                |
| Yalvaç     | 140 | 2.09±0.32 | 4.43/0.34          | 2.28<br>(1.42 - 4.00)                               | 8.54<br>(5.28 - 13.74)                                  | 9.31<br>(4.97 – 40.60)                              | 5.76<br>(2.28 - 14.53)                                  | Eşit değil          | Paralel                |
| Gelendost  | 160 | 1.39±0.22 | 2.28/0.80          | 1.19<br>(0.75-1.76)                                 | 4.46<br>(2.57 - 7.69)                                   | 9.94<br>(5.69 – 26.09)                              | 6.15<br>(2.24 - 16.88)                                  | Eşit değil          | Paralel                |
| Aksu       | 180 | 1.63±0.22 | 2.59/0.85          | 0.9<br>(0.62-1.27)                                  | 3.38<br>(2.04 - 5.56)                                   | 5.52<br>(3.47- 11.34)                               | 3.42<br>(1.36 - 8.54)                                   | Eşit değil          | Paralel                |
| Gönen      | 160 | 1.49±0.22 | 2.48/0.77          | 1.78<br>(1.22-2.63)                                 | 6.68<br>(3.96 - 11.21)                                  | 12.82<br>(7.23 – 34.14)                             | 7.93<br>(2.85 - 22.07)                                  | Eşit değil          | Paralel                |

\* n: Larva sayısı

Şekil 4.1 incelendiği zaman en yüksek dirençli bulunan Tepeli ve MAREM popülasyonlarının logaritmik doz-ölüm eğrisi grafiğın en sağında çıkmıştır. Grafiğın en solunda ise hassas popülasyon olduğu belirlenmiştir. Hassas'dan sonra soldan sağı sırasıyla Aksu, Gelendost, Gönen ve Yalvaç doz ölüm eğrileri birbirine yakın çıkmıştır. Yalvaç popülasyonunun eğim değeri 2'den yüksek olduğu için popülasyon homojen yapıda olduğu, diğeri popülasyonların tamamı ise heterojen yapıda olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1. *Cydia pomonella* popülasyonlarının deltamethrin doz-ölüm eğrisi

#### 4.1.2. Indoxacarb bioassay sonuçları

Denemede kullanılan Hassas, MAREM, Tepeli, Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının indoxacarb'a karşı bulunan LD<sub>50</sub> değeri sırası ile 0.18, 4.34, 5.61, 0.92, 1.63, 1.06 ve 1.38 ml/100 ml olarak bulunmuştur. Hassas popülasyonun LD<sub>50</sub> değeri için %95 güven aralıkları diğeri popülasyonlarla çakışmadığı için tarla popülasyonlarının tamamının LD<sub>50</sub> değeri hassas popülasyonunkinden istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (P<0.05). Polo bilgisayar programında hesaplanan eşitlik ve paralellik hipotezi sonucuna göre sadece Yalvaç popülasyonunun hassas popülasyon

ile eşit ve paralel olmadığı diğer tüm popülasyonların eşit olmadığı ve paralel olduğu belirlenmiştir.

LD<sub>50</sub> değerine göre belirlenen direnç katsayıları ise en yüksek Tepeli ve MAREM popülasyonlarında sırası ile 29.87 ve 23.1 kat fazla direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının direnç oranları sırası ile 4.9, 8.7, 5.67 ve 7.35 kat bulunmuştur.

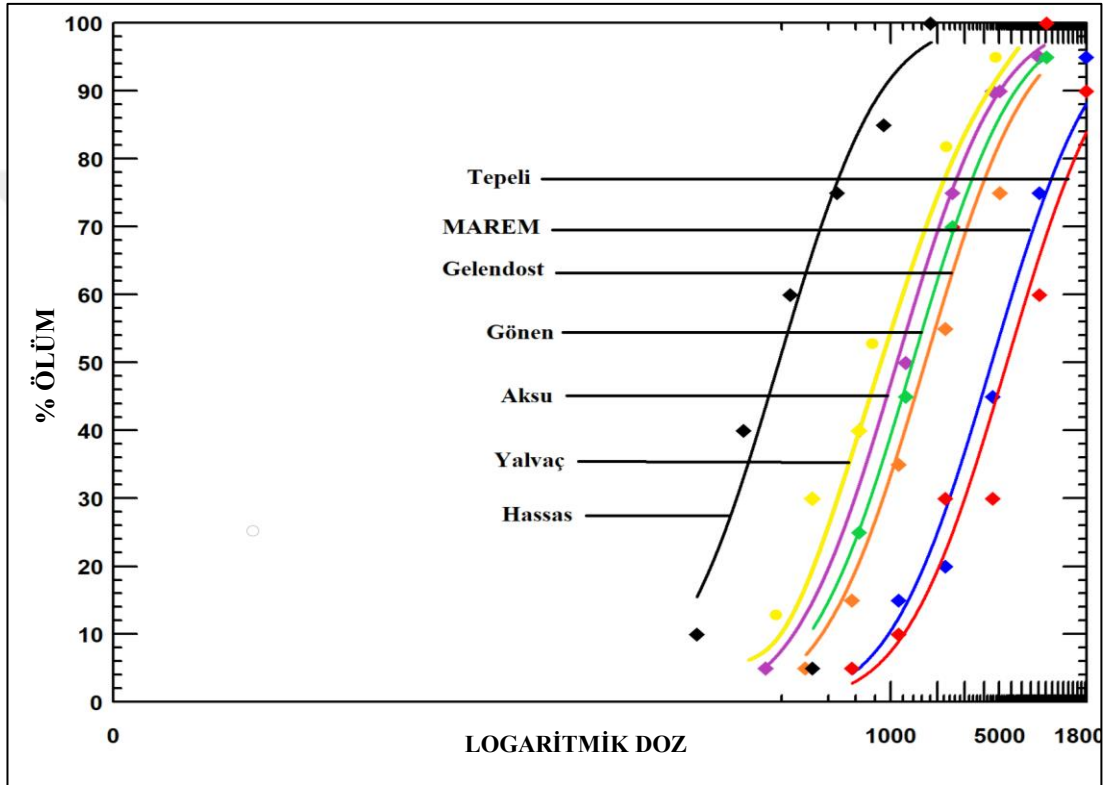
Hassas, MAREM, Tepeli, Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının indoxacarb'a karşı bulunan LD<sub>90</sub> değerleri sırası ile 0.84, 17.54, 28.51, 2.36, 5.94, 7.47 ve 5.24 ml/100 ml olarak bulunmuştur. Tarla popülasyonlarının LD<sub>90</sub> değerinin hassas popülasyonunkiyle kıyaslanması sonucu belirlenen direnç ise en yüksek Tepeli ve MAREM popülasyonlarında sırasıyla 33.58 ve 20.66 kat olduğu belirlenmiştir. Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının direnç oranları sırası ile 2.79, 6.99, 9.12 ve 6.18 kat olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, indoxacarb'a Tepeli ve MAREM orta düzeyde direnç geliştirirken Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonları düşük seviyede direnç geliştirdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. *Cydia pomonella* popülasyonlarının indoxacarb LD<sub>50</sub> direnç oranları

| Popülasyon | n*  | Eğim <sub>±</sub> sh    | X <sup>2</sup> / P | LD <sub>50</sub> (ml/100 ml)<br>(%95 güven aralığı) | LD <sub>50</sub><br>Direnç oranı<br>(%95 güven aralığı) | LD <sub>90</sub> (ml/100 ml)<br>(%95 güven aralığı) | LD <sub>90</sub><br>Direnç oranı<br>(%95 güven aralığı) | Eşitlik hipotezi | Paralellik hipotezi |
|------------|-----|-------------------------|--------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------------------|---------------------|
| Hassas     | 140 | 1.96 <sub>±</sub> 0.32  | 2.42/0.66          | 0.18<br>(0.13 – 0.25)                               | -                                                       | 0.84<br>(0.55 – 1.73)                               | -                                                       | -                | -                   |
| Marem      | 140 | 2.11 <sub>±</sub> 0.32  | 1.99/0.73          | 4.34<br>(3.21 – 6.04)                               | 23.1<br>(14.66 - 36.15)                                 | 17.54<br>(11.25 – 37.16)                            | 20.66<br>(9.56 - 44.64)                                 | Eşit değil       | Paralel             |
| Tepeli     | 140 | 1.81 <sub>±</sub> 0.3   | 3.03/0.55          | 5.61<br>(4.01 – 8.45)                               | 29.87<br>(18.29 - 48.44)                                | 28.51<br>(16.27 – 79.85)                            | 33.58<br>(13.62 - 82.81)                                | Eşit değil       | Paralel             |
| Yalvaç     | 200 | 3.13 <sub>±</sub> 0.57  | 3.47/0.83          | 0.92<br>(0.66-1.16)                                 | 4.9<br>(3.2 - 7.46)                                     | 2.36<br>(1.82 – 3.69)                               | 2.79<br>(1.5 - 5.18)                                    | Eşit değil       | Paralel değil       |
| Gelendost  | 140 | 2.28 <sub>±</sub> 0.34  | 1.03/0.90          | 1.63<br>(1.22-2.19)                                 | 8.7<br>(5.6 - 13.44)                                    | 5.94<br>(4.03 – 11.17)                              | 6.99<br>(3.42 - 14.31)                                  | Eşit değil       | Paralel             |
| Aksu       | 160 | 1.51 <sub>±</sub> 0.23  | 4.78/0.44          | 1.06<br>(0.72-1.54)                                 | 5.67<br>(3.44 - 9.29)                                   | 7.47<br>(4.35 – 18.67)                              | 9.12<br>(3.71 - 20.89)                                  | Eşit değil       | Paralel             |
| Gönen      | 140 | 2.21 <sub>±</sub> -0.33 | 0.75/0.94          | 1.38<br>(1.01-1.85)                                 | 7.35<br>(4.7 - 11.42)                                   | 5.24<br>(3.57– 9.78)                                | 6.18<br>(3.03 - 12.58)                                  | Eşit değil       | Paralel             |

\* n: Larva sayısı

Şekil 4.2 incelendiği zaman logaritmik doz-ölüm eğrisi grafiğın en sağından itibaren sırasıyla en yüksek dirençli bulunan Tepeli ve MAREM popülasyonları çıkmıştır. Grafiğın en solunda ise hassas popülasyon olduğu belirlenmiştir. Hassasdan sonra soldan sağa sırasıyla Yalvaç, Aksu, Gönen ve Gelendost doz ölüm eğrileri sıralanmıştır. MAREM, Gelendost, Gönen ve Yalvaç popülasyonlarının eğim değeri 2’den yüksek çıktığı için popülasyon homojen yapıda olduğu, diğeri popülasyonların tamamı ise heterojen yapıda olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.2. *Cydia pomonella* popülasyonlarının indoxacarb doz-ölüm eğrisi

#### 4.1.3. Emamectin benzoate bioassay sonuçları

Denemede kullanılan Hassas, MAREM, Tepeli, Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının emamectin benzoate karşı bulunan LD<sub>50</sub> değeri sırası ile 8.70, 17.72, 12.70, 26.59, 18.52, 22.79 ve 33.53 ml/100 ml olarak bulunmuştur. Hassas popülasyonun LD<sub>50</sub> değeri %95 güven aralıkları sadece Tepeli popülasyonu ile çakıştığı için istatistiksel olarak benzer çıkmıştır. Diğeri popülasyonların tamamının LD<sub>50</sub> değeri hassas popülasyondan istatistiksel olarak farklı çıkmıştır (P<0.05). Eşitlik ve paralellik hipotezi sonucuna göre sadece Tepeli popülasyonu hassas popülasyon ile

eşit ve paralel çıkmıştır. Diğer tüm popülasyonların hassas popülasyon ile eşit olmadığı ve paralel olduğu belirlenmiştir.

LD<sub>50</sub> değerine göre belirlenen direnç katsayıları ise en yüksek direnç Gönen ve Yalvaç popülasyonlarında sırası ile 3.85 ve 3.05 kat fazla direnç geliştirdiği belirlenmiştir. MAREM, Tepeli, Gelendost ve Aksu popülasyonlarının direnç oranları sırası ile 2.03, 1.46, 2.12 ve 2.61 kat bulunmuştur.

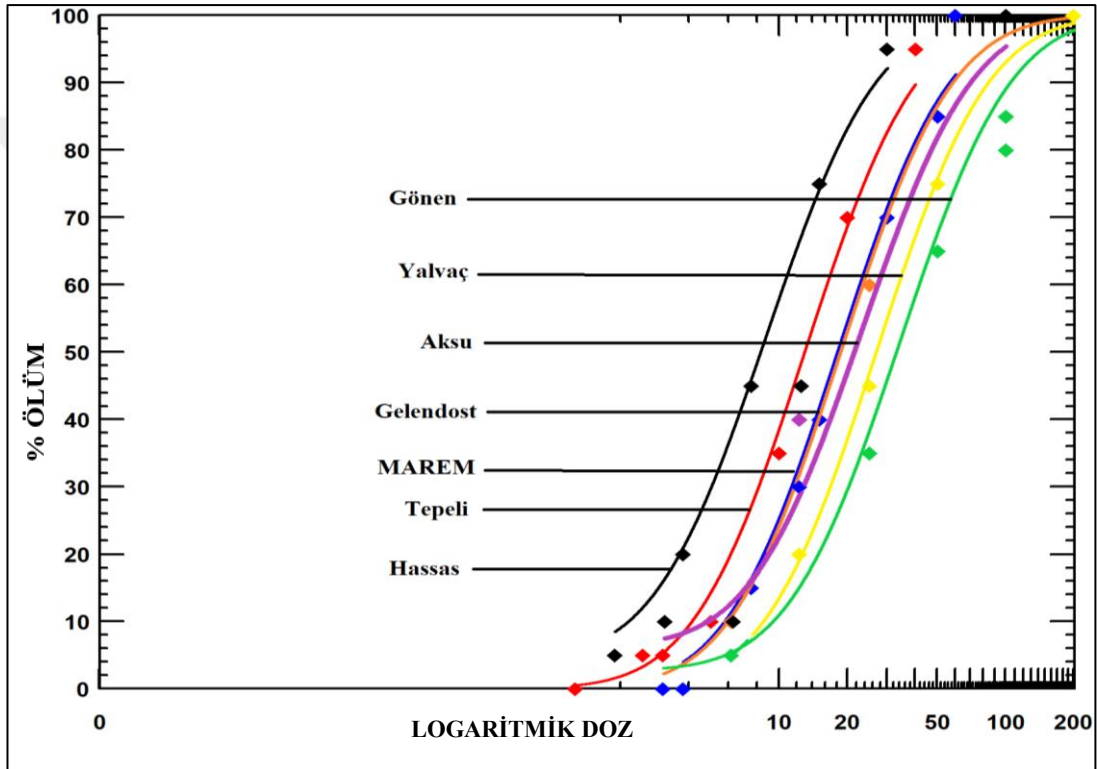
Hassas, MAREM, Tepeli, Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının emamectin benzoate karşı bulunan LD<sub>90</sub> değerleri sırası ile 23.90, 42.46, 35.45, 86.83, 65.78, 76.85 ve 125.36 ml/100 ml olarak bulunmuştur. Tarla popülasyonlarının hassas'a kıyasla LD<sub>90</sub> direnç katsayılarına göre en yüksek Gönen ve Yalvaç popülasyonlarında sırasıyla 5.24 ve 3.63 kat olduğu belirlenmiştir. MAREM, Tepeli, Gelendost ve Aksu popülasyonlarının direnç oranları sırası ile 1.77, 1.48, 2.75 ve 3.21 kat bulunmuştur. Sonuç olarak, emamectin benzoate tüm popülasyonların düşük seviyede direnç geliştirdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. *Cydia pomonella* popülasyonlarının emamectin benzoate LD<sub>50</sub> direnç oranları

| Popülasyon | n*  | Eğim <sub>±</sub> sh   | X <sup>2</sup> / P | LD <sub>50</sub> (ml/100 ml)<br>(%95 güven aralığı) | LD <sub>50</sub> Direnç oranı<br>(%95 güven aralığı) | LD <sub>90</sub> (ml/100 ml)<br>(%95 güven aralığı) | LD <sub>90</sub> Direnç oranı<br>(%95 güven aralığı) | Eşitlik hipotezi | Paralellik hipotezi |
|------------|-----|------------------------|--------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------|---------------------|
| Hassas     | 120 | 2.92 <sub>±</sub> 0.58 | 0.417/0.94         | 8.7<br>(6.1 -11.65)                                 | -                                                    | 23.9<br>(16.91 - 45.65)                             | -                                                    | -                | -                   |
| Marem      | 140 | 3.37 <sub>±</sub> 0.56 | 2.20/0.53          | 17.72<br>( 14.01 - 22.58)                           | 2.03<br>(1.39 - 2.97)                                | 42.46<br>(31.46 - 71.09)                            | 1.77<br>(0.99 - 3.18)                                | Eşit değil       | Paralel             |
| Tepeli     | 140 | 2.87 <sub>±</sub> 0.45 | 1.23/0.87          | 12.7<br>(9.86 -16.71)                               | 1.46<br>(0.98 - 2.16)                                | 35.45<br>(25.09 - 63.37)                            | 1.48<br>(0.79 - 2.76)                                | Eşit             | Paralel             |
| Yalvaç     | 140 | 2.49 <sub>±</sub> 0.37 | 2.93/0.56          | 26.59<br>(19.95-34.97)                              | 3.05<br>(2.03 - 4.59)                                | 86.83<br>(61.3 - 151.31)                            | 3.63<br>(1.95 - 6.73)                                | Eşit değil       | Paralel             |
| Gelendost  | 160 | 2.32 <sub>±</sub> 0.32 | 3.06/0.68          | 18.52<br>(13.89 - 24.57)                            | 2.12<br>(1.41 - 3.21)                                | 65.78<br>(45.72 - 115.66)                           | 2.75<br>(1.46 - 5.16)                                | Eşit değil       | Paralel             |
| Aksu       | 140 | 2.42 <sub>±</sub> 0.54 | 5.08/0.27          | 22.79<br>(6.77-40.41)                               | 2.61<br>(1.61 - 4.24)                                | 76.85<br>(42.76 - 804.88)                           | 3.21<br>(1.6 - 6.42)                                 | Eşit değil       | Paralel             |
| Gönen      | 160 | 2.23 <sub>±</sub> 0.34 | 4.75/0.44          | 33.53<br>(23.97-46.00)                              | 3.85<br>(2.48 - 5.97)                                | 125.36<br>(84.2 - 238.05)                           | 5.24<br>(2.7 - 10.175)                               | Eşit değil       | Paralel             |

\* n: Larva sayısı

Şekil 4.3 incelendiği zaman logaritmik doz-ölüm eğrisi grafiğın en sağından itibaren sırasıyla en yüksek dirençli bulunan Gönen ve Yalvaç popülasyonları çıkmıştır. Grafiğın en solunda ise hassas popülasyon olduğu belirlenmiştir. Hassasdan sonra soldan sağa sırasıyla Tepeli, MAREM, Gelendost ve Aksu doz ölüm eğrileri sıralanmıştır. Eğim değeri 2’den yüksek çıktığı için tüm popülasyonlar homojen yapıda olduğu belirlenmiştir. Tüm popülasyonların dik bir logaritmik doz-ölüm doğrusuna sahip oldukları için dozdaki hafif bir değışme ölüm oranında da büyük bir değışmeye neden olacağı belirlenmiştir.



Şekil 4.3. *Cydia pomonella* popülasyonlarının emamectin benzoate doz-ölüm eğrisi

#### 4.2. Sinerjist Bioassay Sonuçları

Sinerjistler detoksifikasyon enzimlerini inhibe ederek direnci kırmada insektisitlerin etkinliğini arttırmada kullanılmaktadır. *C. pomonella* direncinde esterase, GST ve P450 enzimlerinin bir rolü olup olmadığını doğrulamak için piperonyl butoxide (PBO), triphenyl phosphate (TPP) ve diethyl maleate (DEM) sinerjistleri direnç oranı 10’dan fazla çıkan MAREM ve Tepeli popülasyonlarında incelenmiştir.

#### 4.2.1. Sinerjist + deltamethrin bioassay sonucu

Hassas popülasyonda deltamethrin+sinerjist denemesi sonucu TPP, PBO ve DEM sinerjist oranları sırasıyla 1.09, 1.01 ve 0.94 kat bulunmuştur. Deltamethrin LD<sub>50</sub> değerinin %95 güven aralıkları TPP, PBO ve DEM güven aralıkları ile çakıştığı için istatistiksel olarak tüm sinerjistlerle aynı çıkmıştır (Çizelge 4.4). Eşitlik ve paralellik hipotezi sonucuna göre tüm sinerjistler yalnız deltamethrin uygulaması ile eşit ve paralel çıkmıştır.

Çizelge 4.4. Hassas popülasyonu sinerjist+deltamethrin bioassay sonucu

| İlaç                 | n*  | Eğim±sh   | X <sup>2</sup> / P | LD <sub>50</sub><br>(ml/100 ml)<br>(%95 güven<br>aralığı) | Sinerjistik<br>oran<br>(%95 güven<br>aralığı) | Eşitlik<br>hipotezi | Paralellik<br>hipotezi |
|----------------------|-----|-----------|--------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------|------------------------|
| Deltamethrin         | 140 | 1.64±0.28 | 5.48/0.24          | 0.26<br>(0.13 –<br>0.54)                                  | -                                             | -                   | -                      |
| Deltamethrin<br>+TPP | 140 | 2.59±0.45 | 2.71/0.60          | 0.24 (0.17-<br>0.33)                                      | 1.09 (0.68-<br>1.75)                          | Eşit                | Paralel                |
| Deltamethrin<br>+PBO | 140 | 3.25±0.69 | 1.64/0.80          | 0.26<br>(0.18-0.34)                                       | 1.01<br>(0.64 -<br>1.60)                      | Eşit                | Paralel                |
| Deltamethrin<br>+DEM | 120 | 3.13±0.72 | 0.53/0.91          | 0.28<br>(0.19-0.37)                                       | 0.94<br>(0.58 -<br>1.51)                      | Eşit                | Paralel                |

\* n: Larva sayısı

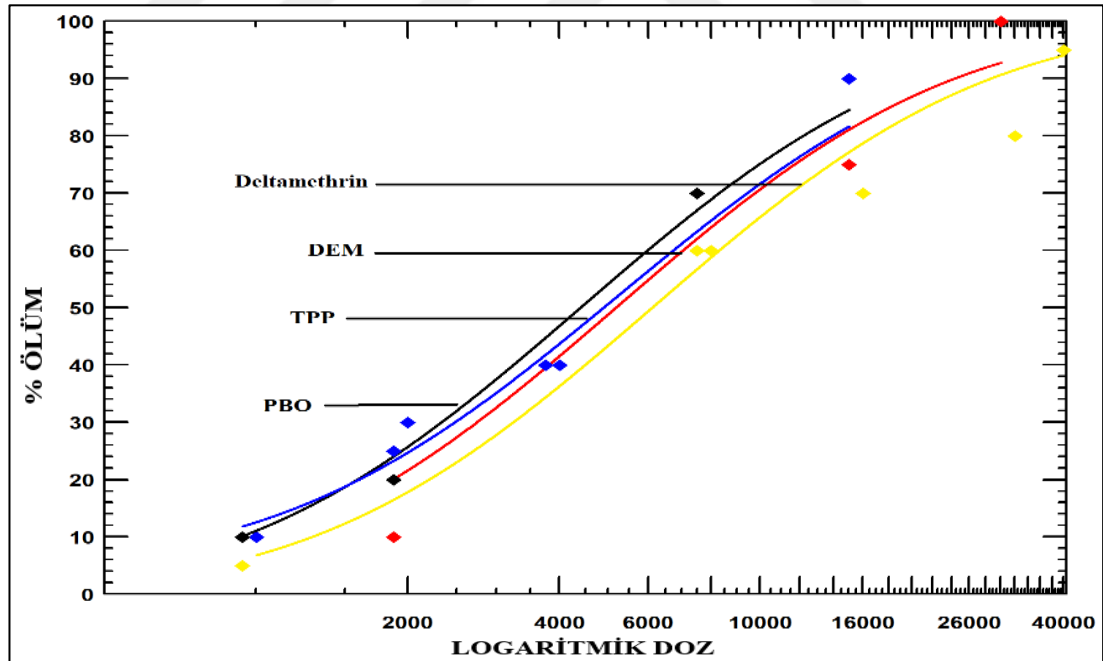
Deltamethrine orta seviyede direnç gösteren MAREM popülasyonunda TPP, PBO ve DEM sinerjist oranları sırasıyla 1.14, 1.34 ve 1.09 kat bulunmuştur. MAREM popülasyonunda yalnız deltamethrin denemesinin LD<sub>50</sub> değerinin %95 güven aralıkları TPP, PBO ve DEM güven aralıkları ile çakıştığı için istatistiksel olarak tüm sinerjistlerle aynı çıkmıştır. Eşitlik ve paralellik hipotezi sonucuna göre tüm sinerjistler yalnız deltamethrin uygulaması ile eşit ve paralel çıkmıştır. Sonuç olarak tüm sinerjistler düşük sinerjistik etki göstermiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. MAREM popülasyonu sinerjist+deltamethrin bioassay sonucu

| İlaç              | n*  | Eğim±sh   | X <sup>2</sup> /P | LD <sub>50</sub> (ml/100 ml)<br>(%95 güven aralığı) | Sinerjistik oran<br>(%95 güven aralığı) | Eşitlik hipotezi | Paralellik hipotezi |
|-------------------|-----|-----------|-------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------|---------------------|
| Deltamethrin      | 160 | 1.45±0.23 | 1.99/0.85         | 5.84<br>(3.87 – 8.5)                                | -                                       | -                | -                   |
| Deltamethrin +TPP | 120 | 2.33±0.49 | 1.34/0.71         | 5.12 (3.44 – 7.34)                                  | 1.14<br>(0.68-1.91)                     | Eşit             | Paralel             |
| Deltamethrin +PBO | 120 | 2.17±0.38 | 0.46/0.92         | 4.33<br>(3.17 -6.05)                                | 1.34<br>(0.82 - 2.2)                    | Eşit             | Paralel             |
| Deltamethrin +DEM | 120 | 2.42±0.42 | 3.47/0.32         | 5.39<br>(2.67 – 9.31)                               | 1.09<br>(0.67 - 1.75)                   | Eşit             | Paralel             |

\* n: Larva sayısı

Şekil 4.4 incelendiği zaman logaritmik doz-ölüm eğrisine göre en etkili bulundandan en aza doğru sırasıyla grafiğin en solundan itibaren PBO, TPP ve DEM sinerjist+deltamethrin doz ölüm eğrileri sıralanmıştır.



Şekil 4.4. Deltamethrin+sinerjist uygulanan MAREM *Cydia pomonella* popülasyonu logaritmik doz-ölüm eğrisi

Deltamethrine orta seviyede direnç gösteren Tepeli popülasyonunda TPP, PBO ve DEM sinerjist oranları sırasıyla 1.47, 1.39 ve 1.75 kat bulunmuştur. Tepeli popülasyonunda sadece deltamethrin LD<sub>50</sub> değerinin %95 güven aralıkları TPP, PBO

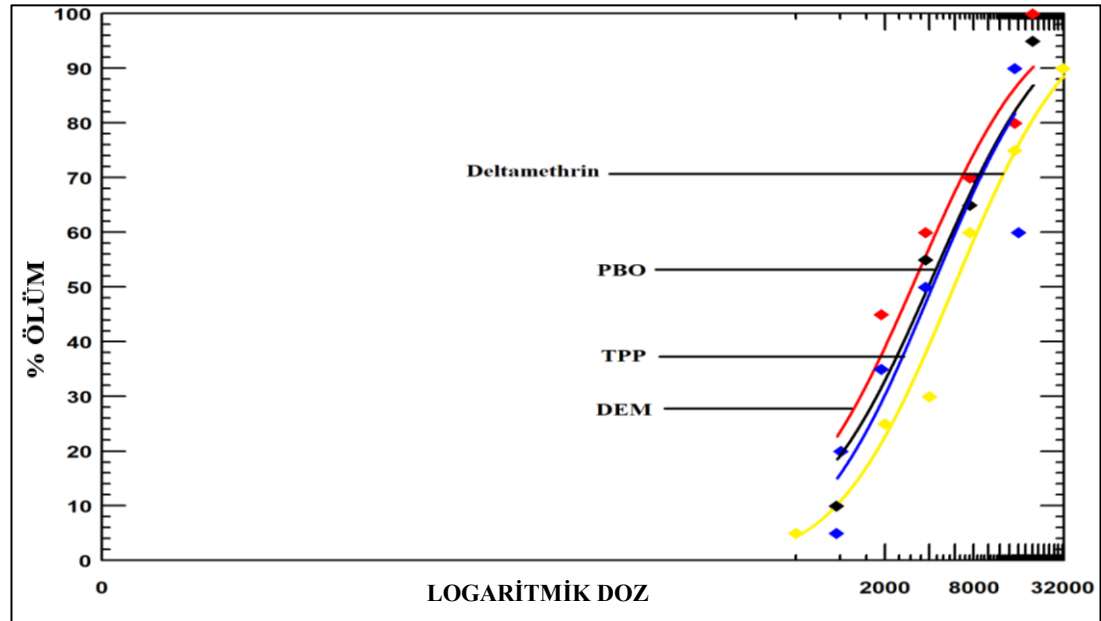
ve DEM güven aralıkları ile çakıştığı için istatistiksel olarak tüm sinerjistlerle aynı çıkmıştır. Eşitlik ve paralellik hipotezi sonucuna göre tüm sinerjistler yalnız deltamethrin uygulaması ile eşit ve paralel çıkmıştır. Sonuç olarak, tüm sinerjistler düşük sinerjistik etki göstermiştir (izelge 4.6).

Çizelge 4.6. Tepeli popülasyonu sinerjist+deltamethrin bioassay sonucu

| İlaç              | n*  | Eğim±sh   | X <sup>2</sup> / P | LD <sub>50</sub> (ml/100 ml)<br>(%95 güven aralığı) | Sinerjistik oran<br>(%95 güven aralığı) | Eşitlik hipotezi | Paralellik hipotezi |
|-------------------|-----|-----------|--------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------|---------------------|
| Deltamethrin      | 160 | 1.38±0.22 | 4.97/0.41          | 5.97<br>(4.03 – 9.32)                               | -                                       | -                | -                   |
| Deltamethrin +TPP | 120 | 1.97±0.37 | 2.80/0.42          | 4.07<br>(2.89 – 5.8)                                | 1.47<br>(0.86 - 2.47)                   | Eşit             | Paralel             |
| Deltamethrin +PBO | 140 | 1.77±0.33 | 3.28/0.51          | 4.26<br>(2.66 – 6.25)                               | 1.39<br>(0.78 - 2.48)                   | Eşit             | Paralel             |
| Deltamethrin +DEM | 140 | 1.87±0.33 | 5.70/0.22          | 3.4<br>(1.22 – 6.4)                                 | 1.75<br>(0.99 - 3.07)                   | Eşit             | Paralel             |

\* n: Larva sayısı

şekil 4.5 incelendiği zaman logaritmik doz-ölüm eğrisine göre en etkili bulunandan en aza doğru sırasıyla grafiğin en solundan itibaren DEM, TPP ve PBO sinerjist+deltamethrin doz ölüm eğrileri sıralanmıştır.



şekil 4.5. Deltamethrin+sinerjist uygulanan Tepeli *Cydia pomonella* popülasyonu logaritmik doz-ölüm eğrisi

#### 4.2.2. Sinerjist + indoxacarb bioassay sonucu

Hassas popülasyonda indoxacarb+sinerjist denemesi sonucu TPP, PBO ve DEM sinerjist oranları sırasıyla 0.9, 1.09 ve 1.15 kat bulunmuştur. Yalnız indoxacarb denemesinin LD<sub>50</sub> değerinin %95 güven aralıkları TPP, PBO ve DEM sinerjistleri güven aralıkları ile çakıştığı için istatistiksel olarak tüm sinerjistlerle aynı çıkmıştır. Eşitlik ve paralellik hipotezi sonucuna göre tüm sinerjistler yalnız indoxacarb uygulaması ile eşit ve paralel çıkmıştır (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Hassas popülasyonu sinerjist+indoxacarb bioassay sonucu

| İlaç            | n*  | Eğim±sh   | X <sup>2</sup> / P | LD <sub>50</sub> (ml/100 ml)<br>(%95 güven aralığı) | Sinerjistik oran<br>(%95 güven aralığı) | Eşitlik hipotezi | Paralellik hipotezi |
|-----------------|-----|-----------|--------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------|---------------------|
| Indoxacarb      | 140 | 1.96±0.32 | 2.42/0.66          | 0.18<br>(0.13 – 0.25)                               | -                                       | -                | -                   |
| Indoxacarb +TPP | 140 | 2.69±0.48 | 1.01/0.90          | 0.2<br>(0.14-0.27)                                  | 0.9<br>(0.57 - 1.41)                    | Eşit             | Paralel             |
| Indoxacarb +PBO | 140 | 2.68±0.39 | 1.12/0.89          | 0.17<br>(0.13-0.22)                                 | 1.09<br>(0.71-1.66)                     | Eşit             | Paralel             |
| Indoxacarb +DEM | 140 | 2.33±0.34 | 1.51/0.82          | 0.16<br>(0.12-0.21)                                 | 1.15<br>(0.74 - 1.77)                   | Eşit             | Paralel             |

\* n: Larva sayısı

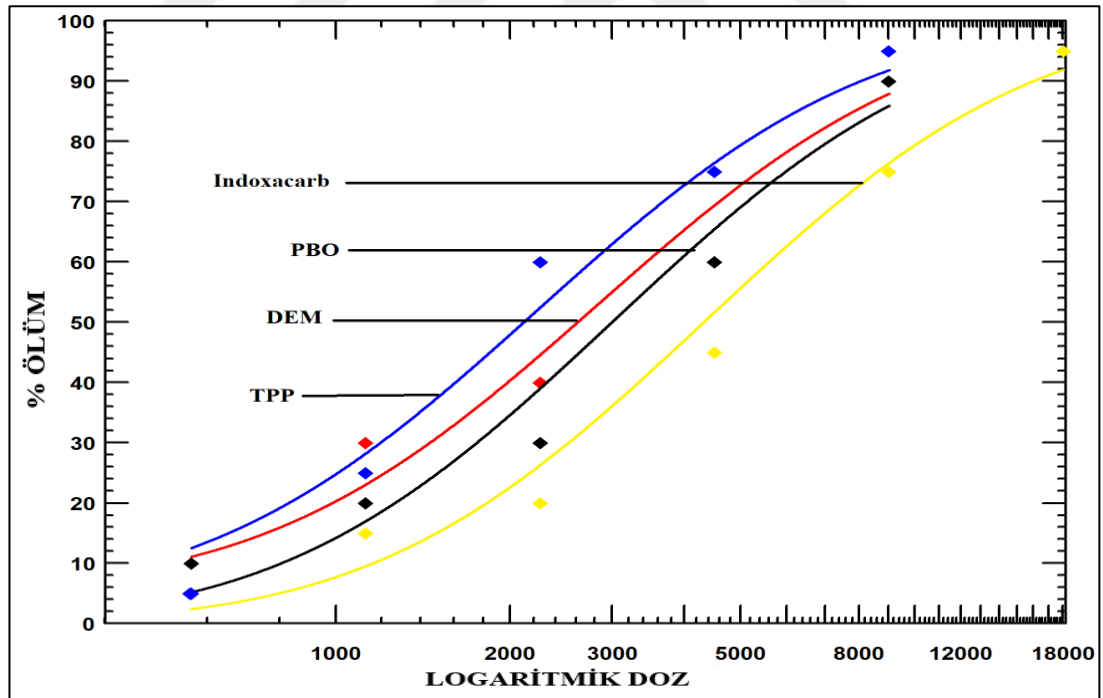
Indoxacarb'a orta seviyede direnç gösteren MAREM popülasyonunda TPP, PBO ve DEM sinerjist oranları sırasıyla 1.94, 1.43 ve 1.54 kat bulunmuştur. MAREM popülasyonunda sadece indoxacarb denemesinin LD<sub>50</sub> değerinin %95 güven aralıkları PBO ve DEM güven aralıkları ile çakıştığı için istatistiksel olarak söz konusu sinerjistlerle aynı çıkmıştır. Sadece TPP ile güven aralıkları farklı çıktığı için istatistiksel olarak farklı çıkmıştır. Eşitlik ve paralellik hipotezi sonucuna göre PBO ve DEM sinerjistleri yalnız indoxacarb uygulaması LD<sub>50</sub> ile eşit ve paralel çıkmıştır. TPP sinerjisti ise eşit çıkmayıp paralel çıkmıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. MAREM popülasyonu sinerjist+indoxacarb bioassay sonucu

| İlaç            | n*  | Eğim±sh   | $\chi^2 / P$ | LD <sub>50</sub><br>(ml/100 ml)<br>(%95 güven aralığı) | Sinerjistik oran<br>(%95 güven aralığı) | Eşitlik hipotezi | Paralellik hipotezi |
|-----------------|-----|-----------|--------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------|---------------------|
| Indoxacarb      | 140 | 2.11±0.32 | 1.99/0.73    | 4.34<br>(3.21 - 6.04)                                  | -                                       | -                | -                   |
| Indoxacarb +TPP | 120 | 2.69±0.49 | 1.28/0.73    | 2.24<br>(1.59 - 3.01)                                  | 1.94<br>(1.26 - 2.98)                   | Eşit değil       | Paralel             |
| Indoxacarb +PBO | 120 | 2.06±0.37 | 1.89/0.59    | 3.03<br>(2.2 - 4.4)                                    | 1.43<br>(0.91 - 2.24)                   | Eşit             | Paralel             |
| Indoxacarb +DEM | 120 | 2.29±0.54 | 2.57/0.46    | 2.81<br>(1.68 - 4.09)                                  | 1.54<br>(0.93 - 2.54)                   | Eşit             | Paralel             |

\* n: Larva sayısı

Şekil 4.6 incelendiği zaman logaritmik doz-ölüm eğrisine göre en etkili bulunandan en aza doğru sırasıyla grafiğin en solundan itibaren sırasıyla TPP, DEM ve PBO sinerjist+indoxacarb doz ölüm eğrileri sıralanmıştır.



Şekil 4.6. Indoxacarb+sinerjist uygulanan MAREM *Cydia pomonella* popülasyonu logaritmik doz-ölüm eğrisi

Indoxacarb'a orta seviyede direnç gösteren Tepeli popülasyonunda en yüksek sinerjistik etkiyi gösteren TPP ve PBO sinerjistleri sırasıyla 2.91, 2.05 kat bulunmuştur. En düşük sinerjistik etkiyi gösteren DEM sinerjisti ise 1.09 kat

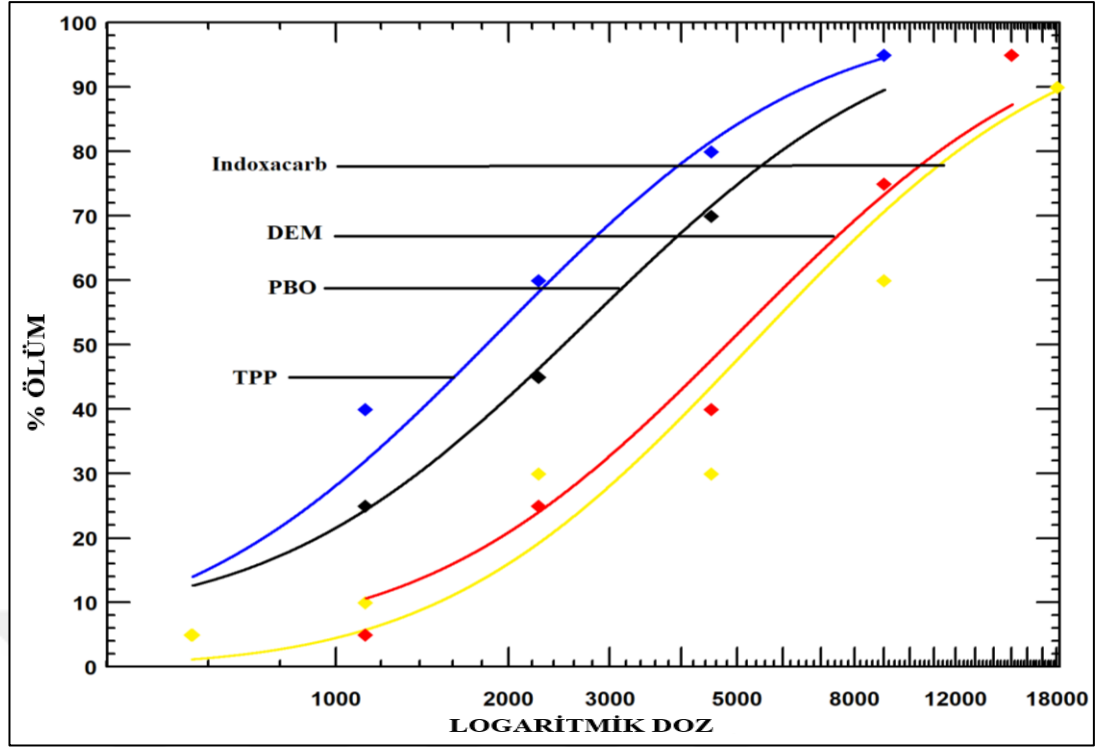
bulunmuştur. Tepeli popülasyonunda sadece indoxacarb denemesinin LD<sub>50</sub> değerinin %95 güven aralıkları DEM sinerjisti LD<sub>50</sub> güven aralığı ile çakıştığı için istatistiksel olarak aynı çıkmıştır. PBO ve TPP sinerjistleri güven aralıkları farklı çıktığı için istatistiksel olarak farklı çıkmıştır. Eşitlik ve paralellik hipotezi sonucuna göre DEM sinerjistleri yalnız indoxacarb uygulaması LD<sub>50</sub> değeri ile eşit ve paralel çıkmıştır. TPP ve PBO sinerjistleri ise eşit çıkmayıp paralel çıkmıştır (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Tepeli popülasyonu sinerjist+indoxacarb bioassay sonucu

| İlaç            | n*  | Eğim±sh   | X <sup>2</sup> / P | LD <sub>50</sub> (ml/100 ml)<br>(%95 güven aralığı) | Sinerjistik oran<br>(%95 güven aralığı) | Eşitlik hipotezi | Paralellik hipotezi |
|-----------------|-----|-----------|--------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------|---------------------|
| Indoxacarb      | 140 | 1.81±0.3  | 3.03/0.55          | 5.61<br>(4.01 – 8.45)                               | -                                       | -                | -                   |
| Indoxacarb +TPP | 120 | 2.5±0.45  | 2.07/0.55          | 1.92<br>(1.35 – 2.62)                               | 2.91<br>(1.81 - 4.68)                   | Eşit değil       | Paralel             |
| Indoxacarb +PBO | 120 | 2.89±0.53 | 3.26/0.35          | 2.74<br>(1.36 – 4.88)                               | 2.05<br>(1.28 - 3.26)                   | Eşit değil       | Paralel             |
| Indoxacarb +DEM | 120 | 2.96±0.62 | 1.31/0.72          | 5.12<br>(3.51 – 6.82)                               | 1.09<br>(0.68 - 1.75)                   | Eşit             | Paralel             |

\* n: Larva sayısı

Şekil 4.7 incelendiği zaman logaritmik doz-ölüm eğrisine göre grafiğin en solundan itibaren en etkili bulunandan en aza doğru sırasıyla TPP, PBO ve DEM sinerjist+indoxacarb doz ölüm eğrileri sıralanmıştır.



Şekil 4.7. Indoxacarb+sinergist uygulanan Tepeli *Cydia pomonella* popülasyonu logaritmik doz-ölüm eğrisi

### 4.3. Biyokimyasal Sonuçları

#### 4.3.1. Esteraz enzim aktivitesi sonuçları

*Cydia pomonella* popülasyonlarının toplam esteraz enziminin kinetik aktivitesi 1-naphthyl asetat substratı ile fotometrik mikropilaka okuyucuda belirlenmiştir. Enzim aktivitesi popülasyona göre 0.36-0.94 mOD/min/mg protein arasında değişen oranlarda bulunmuştur. En yüksek enzim aktivitesi 0.94 mOD/min/mg protein ile Yalvaç popülasyonunda bulunmuştur ve istatistiki olarak diğer popülasyonlardan daha yüksek bulunmuştur. İkinci en yüksek esteraz enzim aktivitesi ise Gelendost ve Aksu popülasyonunda sırasıyla 0.80 ve 0.78 mOD/min/mg protein belirlenmiştir. Deltamethrine ve indoxacarb orta düzey direnç geliştiren Tepeli ve MAREM popülasyonları ise sırasıyla 0.53 ve 0.61 mOD/min/mg protein aktivitesi ile hassas popülasyon ile kıyaslandığında aralarındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir. En az esteraz enzim aktivitesi ise 0.36 mOD/min/mg protein ile hassas popülasyonda belirlenmiştir.

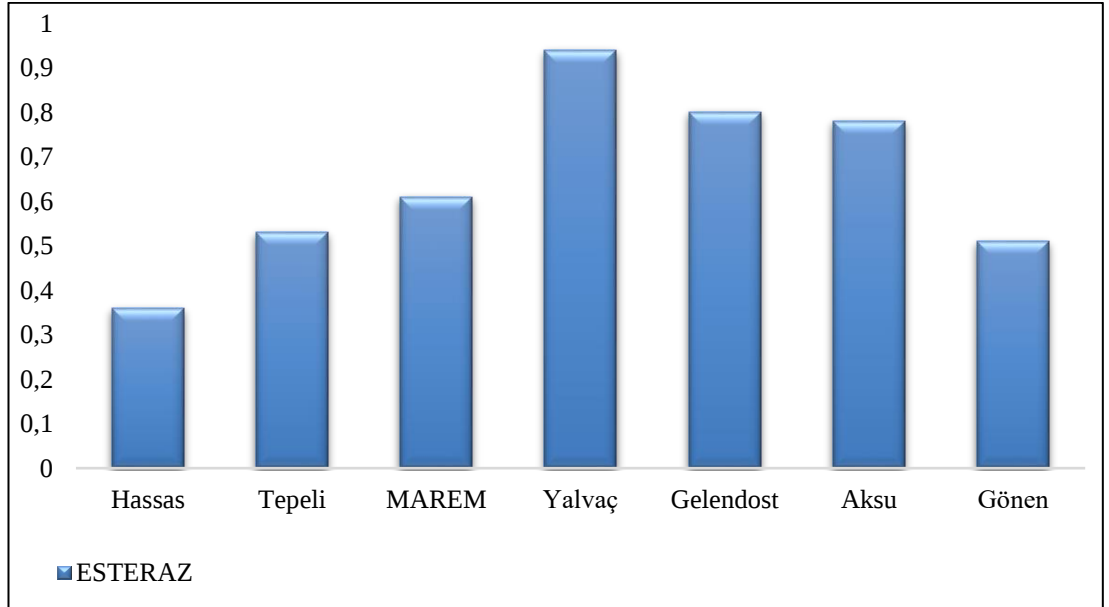
Tarla popülasyonlarının esteraz enzim değerinin hassas enzim değerine bölünmesi ile elde edilen enzim katsayılarına göre en yüksek Yalvaç popülasyonu 2.62 kat fazla olduğu Gelendost, Aksu, MAREM, Tepeli ve Gönen popülasyonlarının enzim oranı sırası ile 2.24, 2.18, 1.71, 1.48 ve 1.43 kat bulunmuştur (Çizelge 4.10, Şekil 4.8).

Çizelge 4.10. *Cydia pomonella* popülasyonlarının esteraz enzim aktivitesi

| Popülasyon | Esteraz mOD/dk/mg protein $\pm$ sh* | Enzim Oranı** |
|------------|-------------------------------------|---------------|
| Hassas     | 0.3613 $\pm$ 0.02 D                 | -             |
| Tepeli     | 0.5350 $\pm$ 0.05 C                 | 1.48          |
| MAREM      | 0.6175 $\pm$ 0.03 C                 | 1.71          |
| Yalvaç     | 0.9454 $\pm$ 0.01 A                 | 2.62          |
| Gelendost  | 0.8095 $\pm$ 0.05 B                 | 2.24          |
| Aksu       | 0.7883 $\pm$ 0.01 B                 | 2.18          |
| Gönen      | 0.5154 $\pm$ 0.01 C                 | 1.43          |

\* Tukey çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütün altındaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05).

\*\*Enzim oranı tarla popülasyonlarının esteraz enzim miktarı hassas popülasyona bölünerek hesaplanmıştır.



Şekil 4.8. *Cydia pomonella* popülasyonlarının esteraz enzim aktiviteleri

#### 4.3.2. Sitokrom P-450 monooksijenaz enzim aktivitesi sonuçları

*Cydia pomonella* popülasyonlarının P-450 enziminin aktivitesi 7-ECOD substratı ile florimetrik mikropłaka okuyucuda belirlenmiştir. Enzim aktivitesi popülasyona göre 0.39-0.78 RFU/30 min/mg protein arasında değişen oranlarda bulunmuştur. P-450 enzim sonuçlarına göre en yüksek enzim aktivitesi deltamethrin ve indoxacarpa en dirençli bulunan MAREM ve Tepeli popülasyonlarında sırasıyla 0.78 ve 0.70 RFU/30 min/mg protein belirlenmiştir. Tepeli ve MAREM popülasyonları hassas popülasyon ile kıyaslandığında aralarındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir. En düşük enzim aktivitesi 0.39 RFU/30 min/mg protein ile hassas popülasyonda olduğu gözlenmiştir. Yalvaç, Gönen, Gelendost ve Aksu popülasyonlarının enzim miktarı sırası ile 0.53, 0.59, 0.63 ve 0.58 RFU/30 min/mg protein olduğu belirlenmiş olup söz konusu popülasyonların istatistiksel olarak aynı grupta olduğu gözlenmiştir.

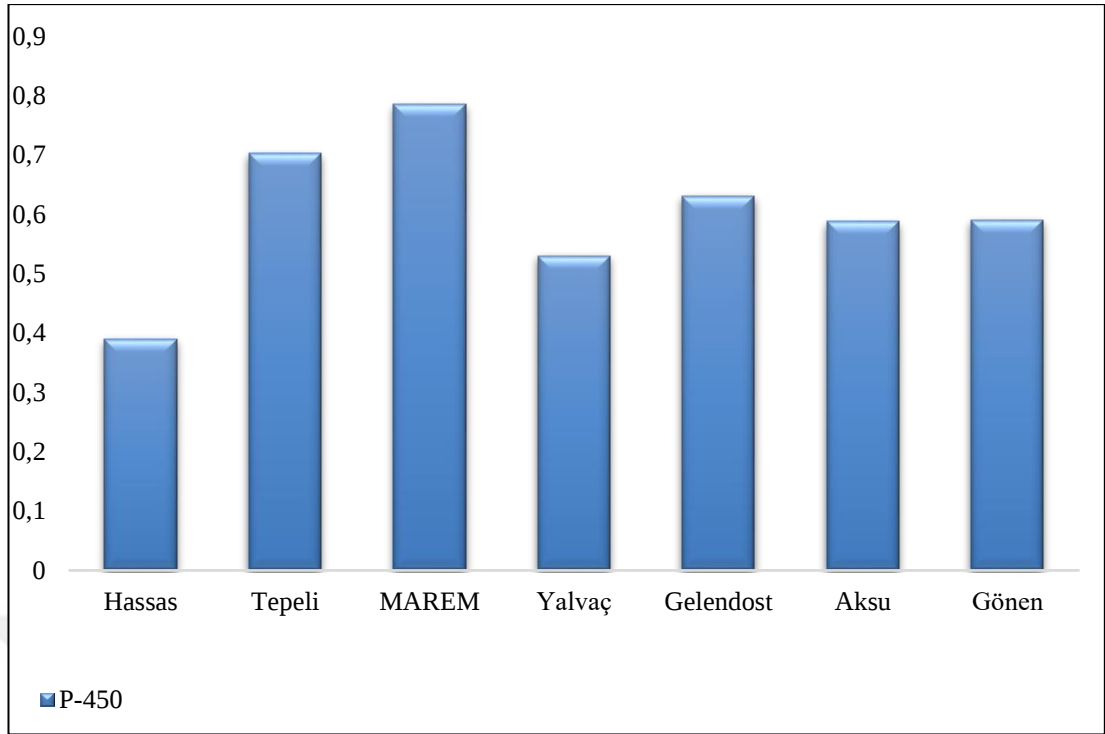
P-450 enzim değerinin hassas enzim değerine bölünmesi ile elde edilen enzim katsayılarına göre en yüksek Tepeli ve MAREM popülasyonları sırası ile 1.96 ve 1.75 kat bulunmuştur. Gelendost, Gönen, Aksu ve Yalvaç popülasyonlarının enzim oranı sırası ile 1.58, 1.47, 1.46 ve 1.32 kat bulunmuştur (Çizelge 4.11, Şekil 4.9).

Çizelge 4.11. *Cydia pomonella* popülasyonlarının P-450 enzim aktivitesi

| Popülasyon | P450 RFU/30 dk/mg protein $\pm$ sh | Enzim Oranı** |
|------------|------------------------------------|---------------|
| Hassas     | 0.3975 $\pm$ 0.02 D                | -             |
| Tepeli     | 0.7025 $\pm$ 0.03 BA               | 1.75          |
| MAREM      | 0.7850 $\pm$ 0.03 A                | 1.96          |
| Yalvaç     | 0.5300 $\pm$ 0.02 C                | 1.32          |
| Gelendost  | 0.6333 $\pm$ 0.03 CB               | 1.58          |
| Aksu       | 0.5875 $\pm$ 0.03 C                | 1.46          |
| Gönen      | 0.5933 $\pm$ 0.02 C                | 1.47          |

\* Tukey çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütun altındaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05).

\*\* Enzim oranı tarla popülasyonlarının esteraz enzim miktarı hassas popülasyona bölünerek hesaplanmıştır.



Şekil 4.9. *Cydia pomonella* popülasyonlarının P-450 enzim aktiviteleri

#### 4.3.3. GST enzim sonuçları

*C. pomonella* popülasyonlarının toplam GST enziminin kinetik aktivitesi CDNB substratına ile fotometrik mikropilaka okuyucuda belirlenmiştir. Enzim aktivitesi popülasyona göre 0.77-1.29 mOD/min/mg protein arasında değişen oranlarda bulunmuştur. En yüksek enzim aktivitesi 1.29 mOD/min/mg protein ile Gönen popülasyonunda tespit edilirken, istatistiki olarak diğer popülasyonlardan daha yüksek bulunmuştur. İkinci en yüksek GST enzim aktivitesi ise Yalvaç popülasyonunda 1.03 mOD/min/mg protein belirlenmiştir. MAREM, Tepeli, Gelendost ve Aksu popülasyonları sırası ile 0.79, 0.77, 0.90 ve 0.88 mOD/min/mg protein aktivitesi hassas popülasyonla ile istatistiki olarak aynı grupta bulunmuştur. Hassas popülasyonun GST enzim aktivitesi 0.91 mOD/min/mg protein bulunmuş olup söz konusu popülasyonlardan yüksek çıkmıştır.

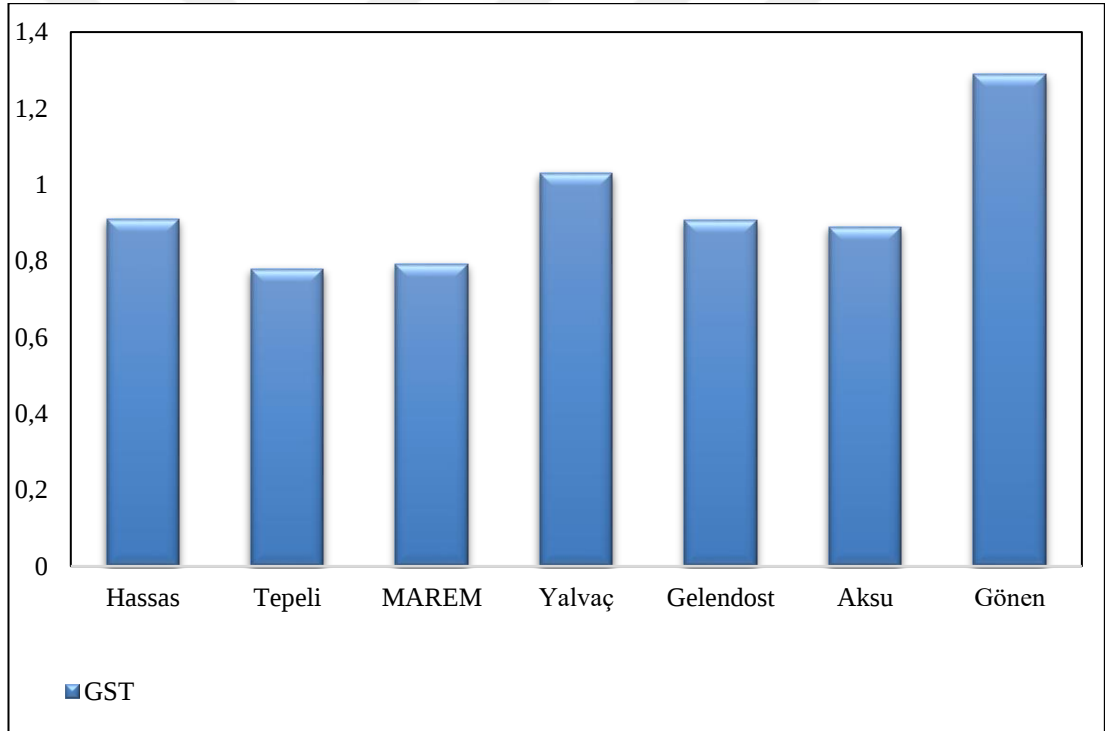
GST enzim değerinin hassas enzim değerine bölünmesi ile elde edilen enzim katsayılarına göre en yüksek Gönen ve Yalvaç popülasyonları sırası ile 1.41 ve 1.13 kat bulunmuştur. MAREM, Tepeli, Gelendost ve Aksu enzim oranı hassas popülasyondan daha düşük çıkmıştır (Çizelge 4.12, Şekil 4.10).

Çizelge 4.12. *Cydia pomonella* popülasyonlarının GST enzim aktivitesi

| Popülasyon | GST mOD/dk/mg protein $\pm$ sh* | Enzim Oranı** |
|------------|---------------------------------|---------------|
| Hassas     | 0.9168 $\pm$ 0.03 C             | -             |
| Tepeli     | 0.7790 $\pm$ 0.01 D             | 0.85          |
| MAREM      | 0.7916 $\pm$ 0.03 DC            | 0.86          |
| Yalvaç     | 1.0344 $\pm$ 0.02 B             | 1.13          |
| Gelendost  | 0.9074 $\pm$ 0.04 C             | 0.99          |
| Aksu       | 0.8884 $\pm$ 0.05 DC            | 0.97          |
| Gönen      | 1.2923 $\pm$ 0.04 A             | 1.41          |

\* Tukey çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütün altındaki farklı harfler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05).

\*\* Enzim oranı tarla popülasyonlarının estera z enzim miktarı hassas popülasyona bölünerek hesaplanmıştır.

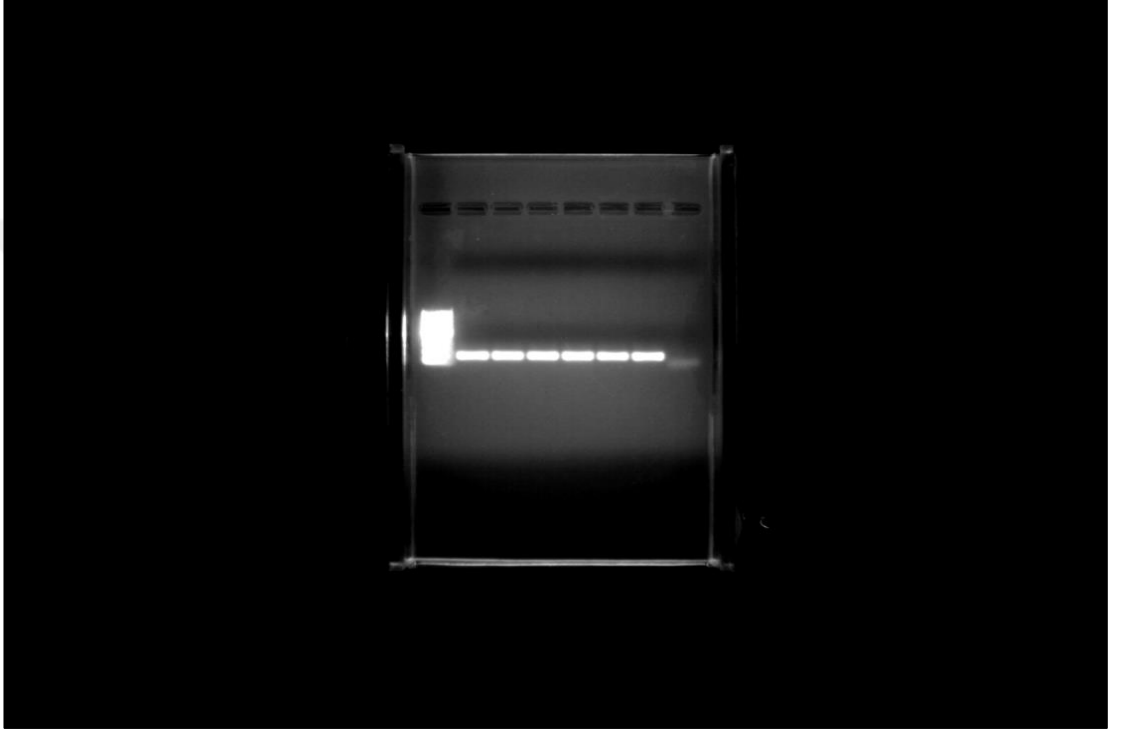


Şekil 4.10. *Cydia pomonella* popülasyonlarının GST enzim aktiviteleri

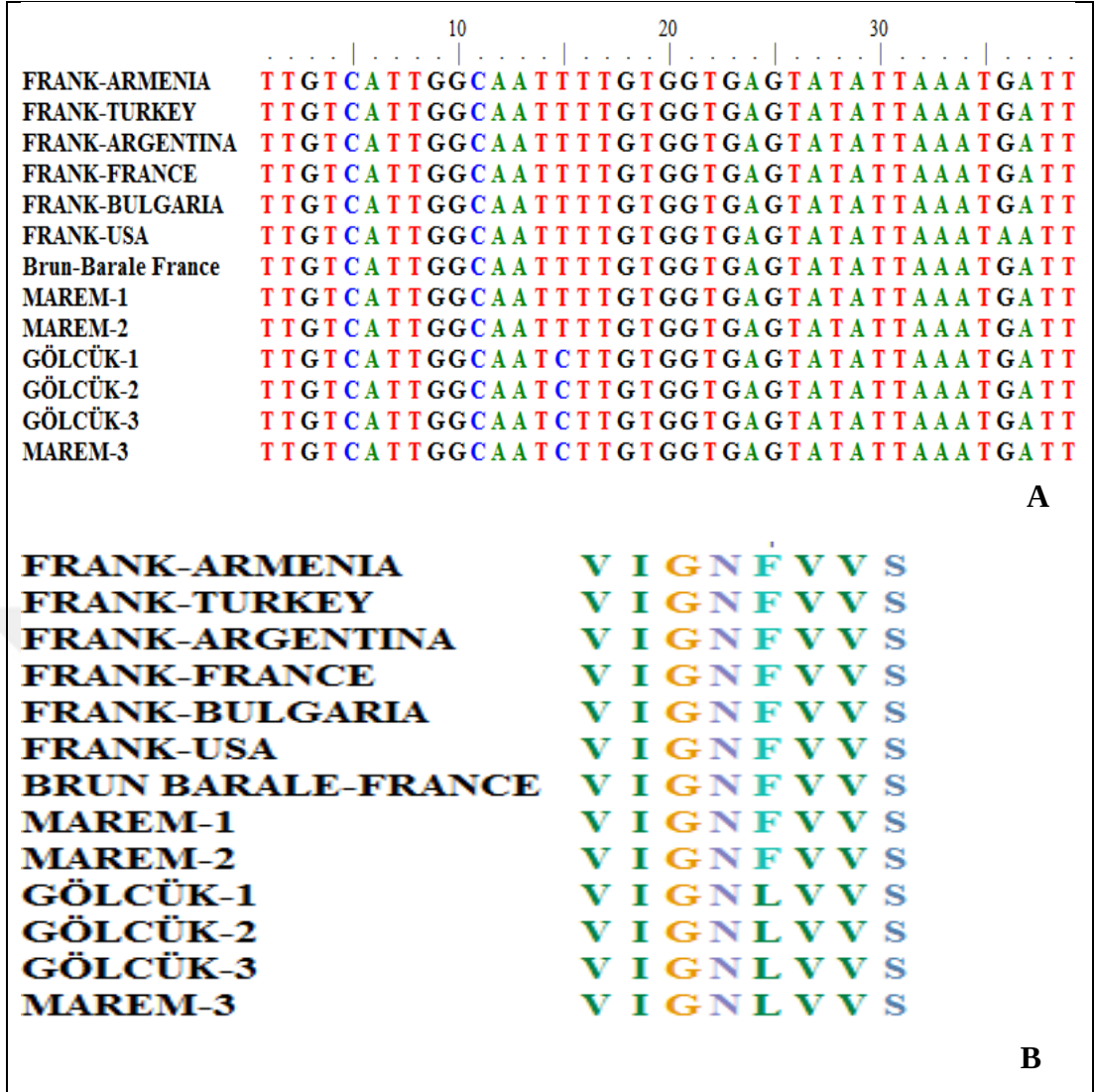
#### 4.4. Moleküler Sonuçlar

Deltamethrine dirençli bulunan MAREM popülasyonunda voltaj kapılı sodyum kanallarındaki L1014F kodon bölgesindeki leucine ile phenylalanine isimli aminoasit yer değiştirmesi sonucu oluşan kdr nokta mutasyonları, gen bankasından alınan Brun-Barale vd. (2005) Fransa popülasyonu ile Franck vd. (2012) Ermenistan, Türkiye,

Arjantin Fransa, Bulgaristan ve ABD kdr nokta mutasyonu belirlenen dirençli popülasyonların gen dizilimi ile %100 benzer bulunmuştur. Sekans sonuçlarına göre MAREM popülasyonunda 2 örnekte homozigot mutasyon 1 örnekte heterozigot mutasyon belirlenmiştir. Hassas popülasyonda mutasyona rastlanmamıştır (Şekil 4.12). PCR işlemi sonrası %1'lik agaroz jelde görüntülenen 170 bp voltaj kapılı sodyum kanal DNA'ları Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. %1'lik agaroz jelde görüntülenen 170 bp voltaj kapılı sodyum kanal DNA'ları



Şekil 4.12. A) MAREM ve Gölcük popülasyonlarının gen dizilimi B) MAREM ve Gölcük popülasyonlarının aminoasit dizilişi

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizde ilk kez bu çalışma ile *C. pomonella*'ya karşı yaygın kullanılan indoxacarb, deltamethrin ve emamectin benzoate aktif maddeli insektisitlere karşı direnç düzeyleri bioassay denemeleri ile ortaya koyulmuştur. Biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle direnç mekanizmaları belirlenmiştir. Bu amaçla, 2021 yılında hassas popülasyonu Isparta ili Gölcük bölgesinde uzun yıllar ilaçlama yapılmayan elma bahçelerinden toplanmıştır. Aynı yılda elma üretiminin yoğun yapıldığı Tepeli köyü ve Eğirdir merkezde bulunan MAREM bahçelerinden toplanmıştır. 2022 yılında ise Gelendost, Yalvaç, Gönen ve Aksu ilçelerinden toplanmıştır.

Bioassay çalışma sonucuna göre deltamethrine popülasyonlar arasında en yüksek Tepeli (22.37 kat) ve MAREM (21.9 kat) popülasyonlarının orta seviyede direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonları ise düşük seviyede direnç geliştirdiği belirlenmiş olup direnç oranları sırası ile 8.54, 4.46, 3.38 ve 6.68 kat bulunmuştur. *C. pomonella*'nın piretroidlere karşı direnç geliştirdiği sonuçlarla benzer sonuçlar birçok araştırmacı tarafından da farklı ülkelerde belirlenmiştir. Sauphanor vd. (2000), Fransa'dan topladıkları 36 *C. pomonella* popülasyonunun deltamethrine karşı direnç kazandığını belirlemişlerdir. Bouvier vd. (1998), Fransa'dan toplanan 14 tarla popülasyonu deltamethrine dirençli bulunmuştur. Bouvier vd. (2002), deltamethrin ile selekte edilen *C. pomonella*'nın tüm larva dönemlerinin deltamethrin'e direnç geliştirdiğini rapor etmişlerdir. Reyes vd. (2007), Avrupa'dan 5 farklı ülkeden toplamış oldukları 47 *C. pomonella* popülasyonundan İtalya ve Fransa popülasyonlarının deltamethrine direnç kazandığını belirtmişlerdir. Voudouris vd. (2011), Yunanistan'dan toplanan popülasyonların çoğunun deltamethrin'e direnç kazandığını belirlemişlerdir. Rodriguez vd. (2011), İspanya'dan topladıkları *C. pomonella* 2 popülasyonun lambda-cyhalothrin'e direnç kazandığını bulmuşlardır. Soleno vd. (2020), Arjantin'de toplanan tüm popülasyonlarda lambda-cyhalothrin'e yüksek düzeyde direnç (direnç oranları>30) rapor etmişlerdir. Yang ve Zhang (2015), Çin'den topladıkları *C. pomonella* popülasyonlarının lambda-cyhalothrin'e düşük direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir. Bosch vd. (2007) tarafından İspanya'nın Rene ve Arcs bölgesinden toplanan *C. pomonella* popülasyonlarının lambda cyhalothrine düşük direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir. Bosch vd. (2018a) tarafından İspanya'dan toplanan 20 tarla popülasyonun tamamının lambda-

cyhalothrine (872 kat direnç) karşı yüksek oranda direnç kazandığını rapor etmişlerdir. Depalo vd. (2022), 5 Avrupa ülkesinden toplanan 9 popülasyondan Fransa popülasyonunun lambda cyhalothrine 17.1 kat direnç kazandığını belirlemişlerdir. Mota-Sanchez vd. (2008), ABD’de farklı lokasyonlardan toplanan *C. pomonella* popülasyonlarının lambda-cyhalothrin 6-10 kat arası direnç geliştirdiğini rapor etmişlerdir. Wei vd. (2020) tarafından Çin’de armut bahçesinden toplanan bir popülasyonda lambda-cyhalothrine karşı 16 kat direnç kazandığını belirlemişlerdir.

Yapılan çalışmalarda piretroid dirençleri, voltaja duyarlı sodyum kanallarındaki nokta mutasyonların (kdr) yanı sıra P-450 ve karboksilesterazlar gibi metabolik yollarla ilişkilendirilmiştir (Brun-Barale, 2000; Bouvier vd., 2002).

Sauphanor vd. (1997), deltamethrin ile selekte edilip direnç kazandırılan *C. pomonella* popülasyonlarında DEF ve PBO yüksek sinerjistik etki yaptığını P-450 enzim aktivitesinin deltamethrin direnci ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Bosch vd. (2018a) tarafından lambda-cyhalothrine dirençli bir *C. pomonella* popülasyonunda PBO yüksek sinerjistik etki yaptığını ve direncin P-450 enzimi ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise TPP ve PBO düşük sinerjistik etki göstermesine rağmen benzer şekilde Tepeli ve MAREM popülasyonlarının deltamethrine direnç kazanmasının esteraz ve P-450 enzim aktivitesi artışı ve kdr nokta mutasyonundan kaynaklanmış olabileceği sonucuna varılmıştır. Günümüze kadar birçok araştırmacı tarafından piretroidlere dirençli *C. pomonella* popülasyonlarında L1014F kodon bölgesinde S6 domain II bölgesindeki leucine phenylalanine aminoasit yer değiştirmesi sonucu kdr nokta mutasyonları belirlenmiştir. Brun-Barale vd. (2005), Fransa’da deltamethrin ile 4 ve 80 kat selekte edilen *C. pomonella* popülasyonlarında voltaj kapılı sodyum kanallarındaki kdr ve süper kdr nokta mutasyonlarını araştırmışlardır. 1014 (L1014F) bölgesinde leucine phenylalanine aminoasit yer değiştirmesi sonucu oluşan kdr mutasyonu sadece 80 kat selekte edilen popülasyonunda bulunmuştur. Franck vd. (2007), Fransa, İtalya, Ermenistan ve Şili’den toplanan 27 popülasyondan pyrethroid insektisitlerinin yoğun kullanıldığı Fransa ve Ermenistan’da kdr allelleri belirlenmiştir. Reyes vd. (2007), Fransa, İtalya, İsviçre ve Ermenistan popülasyonlarının tamamında kdr mutasyonu belirlemişlerdir. Reyes vd. (2009), 5 ülkede 10 popülasyonda Fransa ve Arjantin popülasyonlarının tamamında önemli derecede kdr mutasyonu belirlemişlerdir. Voudouris vd. (2011)

tarafından Yunanistan popülasyonlarının hiçbirinde kdr mutasyonu belirlenmemiştir. Franck vd. (2012), Ermenistan, Arjantin, Fransa, Yeni Zelanda, Türkiye, ABD, Bulgaristan, Uruguay, İsviçre ve Güney Fransa ülkelerinde 21 popülasyonda L1014F kodon bölgesinde kdr mutasyonu belirlemişlerdir. Reyes vd. (2015) tarafından Şili’de %3 oranında kdr direnci belirlemişlerdir. Bosch vd. (2018c) İspanyada Aragon popülasyonunun 3’ünde AChE nokta mutasyonu (F290V), 12 Catalonia popülasyonunda ise kdr (L1014F) nokta mutasyonu tespit etmişlerdir. Soleno vd. (2020), Arjantin’de en yüksek kdr nokta mutasyonu frekansını Río Negro ve Neuquén popülasyonlarında tespit edilmiştir. Zuo vd. (2022), Çin’de 7 popülasyonda beta-cypermethrine dirençli *S. exigua* zararlısında voltaj kapılı sodyum kanallarında L1014F kodonunda kdr mutasyonu (CTT-TTT) frekansını %60 ile %89.6 arasında belirlemişlerdir.

Bioassay çalışma sonucuna göre indoxacarb’a popülasyonlar arasında en yüksek Tepeli (29.87 kat) ve MAREM (23.1 kat) popülasyonlarının orta seviyede direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Yalvaç, Gelendost, Aksu ve Gönen popülasyonlarının ise düşük seviyede direnç geliştirdiği belirlenmiş olup direnç oranları sırası ile 4.9, 8.7, 5.67 ve 7.35 kat bulunmuştur. Literatürde *C. pomonella* zararlısı için indoxacarb karşı sınırlı sayıda direnç çalışmaları yapılmış olup henüz direnç vakası belirlenmemiştir. Bosch vd. (2018a) tarafından İspanya’dan toplanan *C. pomonella* tarla popülasyonları indoxacarba 1 ile 1.5 kat direnç geliştirdiğini rapor etmişlerdir. Mota-Sanchez vd. (2008), *C. pomonella* popülasyonlarının indoxacarba 1 ile 6 kat arası direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir. Farklı türdeki popülasyonlarda örneğin *Helicoverpa armigera*, *Choristoneura rosaceana*, *Lobesia botrana*, *Plutella xylostella*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera exigua*, *Spodoptera litura* ve *Tuta absoluta* gibi türlerin indoxacarba orta ve yüksek seviyede direnç geliştirdiği rapor edilmiştir (Mermer, 2012; Che vd., 2013; Civolani vd., 2014; Su ve Sun, 2014; Ahmad vd., 2018; Wang vd., 2018; Hafez vd., 2019; Zhao vd., 2020; Huang vd., 2021).

Indoxacarba orta seviyede direnç geliştiren Tepeli ve MAREM popülasyonlarında P-450 ve estera z enzimleri hassasa göre yüksek çıkmıştır. GST enzimi ise düşük çıkmıştır. Ayrıca Hassas popülasyona kıyasla Tepeli popülasyonunda PBO ve TPP istatistiki olarak yüksek çıkarken MAREM popülasyonunda sadece TPP yüksek çıkmıştır. DEM sinerjisti ise düşük çıkmıştır. Farklı böcek takımlarında yapılan

çalışmalarda indoxacarb direnci P-450 ve karboksilesterazlar enzim aktivitesi artışı ile ilişkilendirilmiştir. Cui vd. (2018), indoxacarb seleksiyonuna maruz bırakılarak direnç kazandırılan *H. armigera* popülasyonunda sitokrom P450 monooksijenaz (P450) ve karboksilesteraz enzim miktarları önemli derecede arttığını ve PBO, TPP ve DEM sırasıyla 2.54, 1.82 ve 1.25 kat sinerjistik etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Sayyed vd. (2006), indoxacarb ile selekte edilen *P. xylostella* zararlısının PBO ve DEF ile yüksek sinerjistik etki yaptığını indoxacarb direnç artışının P-450 ve esteraz enzimlerinden kaynaklandığını belirlemişlerdir. Ek olarak, Ahmad ve Hollingworth (2004), *C. rosaceana*'nın bir tarla popülasyonunda indoxacarb direncinin PBO ile 705'ten 20 kata düşürdüğünü belirlemişlerdir. P-450 monooksijenaz enzimlerinin indoxacarb'a karşı ana direnç mekanizması olduğunu belirlemişlerdir. Wang vd. (2016), indoxacarb ile selekte edilen *P. xylostella* zararlısının PBO 4 kat, DEF 9.9 kat ve DEM 1 kat sinerjistik etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Benzer bir çalışma Sayyed vd. (2014), indoxacarb ile selekte edilen *S. litura* zararlısının PBO 11 kat ve DEF 3 kat sinerjistik etki göstermiş olup P-450 ve esteraz enzimlerinin indoxacarb direncinden sorumlu olabileceği rapor edilmiştir.

Sitokrom P-450 monooksijenazlar ve esteraz enzimleri birçok isoenzime sahiptir. Eğer bir insektisit belirli bir isoenzimi seçerse farklı bir insektisitleri etkileyebilir ve böylece çapraz direnç gelişimi gerçekleşebilmektedir (Ahmad vd., 2007; Sayyed vd., 2014). Bizim alışmamızda benzer şekilde deltamethrin ve indoxacarb arasında esteraz veya P-450 enziminden kaynaklı çapraz direnç geliştirmesi muhtemeldir. Zhang vd. (2017), *P. xylostella* zararlısını indoxacarb ile selekte edilip 1069.3 kat direnç kazandırılmıştır. Beta cypermethrine 8.7 kat çapraz direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Biyokimyasal analiz ve sinerjistik sonuçlarına göre PBO (7.8 kat) ve DEM (3.5 kat) yüksek sinerjistik etki gösterdiği, P450 ve GST'nin artan aktivitesinin muhtemelen indoxacarb direncinden sorumlu ana detoksifikasyon mekanizması olduğunu belirlemişlerdir. Hafeez vd. (2022), indoxacarb ile selekte edilen *S. frugiperda* zararlısının deltamethrine 31.23 kat çapraz direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir. Sinerjist alışma sonuçlarına göre PBO 3.2 kat yüksek etki gösterirken TPP ve DEM sırasıyla 1.13 ve 1.04 kat düşük etki gösterdiğini indoxacarb direncinde P-450 enzim artışı ile bağlantılı olduğunu belirlemişlerdir. Sayyed vd. (2008), deltamethrin ile selekte edilen *P. xylostella* zararlısının indoxacarb'a 47 kat çapraz direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir. PBO sinerjisti 210 kat sinerjistik etki

gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Ahmad vd. (2007), deltamethrin ile selekte edilen *S. litura* zararlısının cypermethrine 83 kat çapraz direnç geliştirdiğini belirlemişlerdir. PBO 10 kat ve DEF 1.8 kat sinerjistik etki göstermiş olup deltamethrin direncinde P-450 ve esterase enzimlerinin rol oynayabileceğini belirlemişlerdir.

İndoxacarb ve diğer insektisitler arasındaki çapraz direncin bilinmesi, direncin gelişimini geciktirmeye yönelik stratejiler geliştirmek için önemlidir. Bird (2017), indoxacarb'a karşı 139-198 kat direnç kazandırılıp seleksiyona maruz bırakılan *H. armigera* popülasyonları emamectin benzoate ile negatif çapraz direnç göstermiştir. Ayrıca PBO indoxacarb insektisitinde 22.6 kat sinerjistik etki göstermiştir. Bizim çalışmamızda benzer şekilde indoxacarb ile emamectin benzoate arasında negatif çapraz direnç geliştirmiş olabileceği ve dolayısıyla *C. pomonella*'nın indoxacarb direnci yönetimi için emamectin benzoate kullanılabileceği gözlenmiştir.

Bioassay çalışma sonucuna göre tüm popülasyonlar emamectin benzoate düşük seviyede direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Bosch vd. (2018a) tarafından İspanya'dan toplanan *C. pomonella* tarla popülasyonları emamectin benzoate 0.9 ile 1.4 kat ile düşük direnç kazandığını belirlemişlerdir. Depalo vd. (2022), 5 Avrupa ülkesinden toplanan *C. pomonella* popülasyonları emamectin benzoate'a 1 ile 7 kat oranı ile düşük direnç kazandığını belirlemişlerdir. Reyes ve Sauphanor (2008), azinfos-metil, diflubenzuron ve deltamethrin ile selekte edilip direnç kazandırılan *C. pomonella* popülasyonlarının birinci dönem, son dönem larva ve erginlerde emamectin benzoat'a karşı 0.54 ile 3.1 kat arasında direnç kazandığını belirlemişlerdir. Reyes vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada *C. pomonella* popülasyonlarına emamectin benzoate ayırıcı doz denemesi sonucu tarla popülasyonlarında %88.2 ile %100 ölüme neden olduğunu rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızla literatürde yapılmış çalışmalar benzer sonuçlar göstermiş olup, emamectin benzoate tüm popülasyonlarda düşük seviyede direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Farklı türdeki zararlılarda örneğin *H. armigera*, *C. rosaceana*, *L. botrana*, *P. xylostella*, *S. frugiperda*, *S. exigua* ve *S. litura* gibi türlerin emamectin benzoate orta ve yüksek seviyede direnç geliştirdiği rapor edilmiştir (Che vd., 2013; Civolani vd., 2014; Su ve Sun, 2014; Ahmad vd., 2018; Wang vd., 2018b; Hafez vd., 2019; Huang vd., 2021; Tang vd., 2021).

Deltamethrin ve indoxacarb'a karşı orta düzeyde direncin tespit edildiği bölgelerde sürekli olarak direnç durumunun izlenmesi ve çapraz direnç göstermeyen insektisitlerin kullanılması dikkate alınarak *C. pomonella*'nın direnç gelişiminin önüne geçilebileceği düşünülmüştür. Ayrıca *C. pomonella* mücadelesinde deltamethrin veya indoxacarb yerine farklı etki mekanizmalı insektisitlerin rotasyonu, bioinsektisitlerin kullanımı, *Trichogramma* spp. salımı ve şaşırtma tekniği vb. IPM programlarının sahada uygulanması ile *C. pomonella*'ya karşı etkili bir direnç yönetimi stratejisi geliştirilebileceği sonucuna varılmıştır.



## KAYNAKLAR

- Ahmad, M., & Hollingworth, R. M. (2004). Synergism of insecticides provides evidence of metabolic mechanisms of resistance in the obliquebanded leafroller *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 60(5), 465-473. <https://doi.org/10.1002/ps.829>
- Ahmad, M., Farid, A., & Saeed, M. (2018). Resistance to new insecticides and their synergism in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from Pakistan. *Crop Protection*, 107, 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.12.028>
- Ahmad, M., Sayyed, A. H., Crickmore, N., & Saleem, M. A. (2007). Genetics and mechanism of resistance to deltamethrin in a field population of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 63(10), 1002-1010. <https://doi.org/10.1002/ps.1430>
- Anonim (2023a). 2023 Temmuz Tarım Ürünleri Piyasa Raporları TEPGE. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Menu/27/Tarim-Urunleri-Piyasaları>. (Son erişim tarihi: 20 Ağustos 2023)
- Anonim (2023b). EPPO Global Database of *Cydia pomonella*. <https://gd.eppo.int/taxon/CARPPPO/distribution> (Son erişim tarihi: 20 Ağustos 2023)
- Anonim (2023c). World Pesticide Use Land, Inputs and Sustainability. <https://www.fao.org/faostat/en/#compare> (Son erişim tarihi: 20 Ağustos 2023)
- Anonim (2023d). Yıllar İtibarıyla Bitki Koruma Ürünlerinin Kullanım Miktarları, Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Menu/115/Resmi-Tarimsal-Ilac-Istatistikleri>. (Son erişim tarihi: 20 Ağustos 2023)
- Anonim (2023e). Arthropod Pesticide Resistance Database. <https://pesticideresistance.org/search.php> (Son erişim tarihi: 20 Ağustos 2023)
- Anonim (2023f). Elma İçkurdu'na Ruhsatlı İnsektisitler. <https://bku.tarim.gov.tr/Zararli/Details/146> (Son erişim tarihi: 5 Ocak 2023)
- Ay, R., & Yorulmaz, S (2010) Akar ve böceklerde pestisitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan enzimler. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24(2), 137-148.
- Baffi, M. A., Pereira, C. D., Souza, G. R. L. D., Bonetti, A. M., Ceron, C. R., & Goullart, L. R. (2005). Esterase profile in a pyrethroid-resistant Brazilian strain of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari, Ixodidae). *Genetics and Molecular Biology*, 28, 749-753. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572005000500016>

- Balasko, M. K., Mikac, K. M., Lemic, D., & Zivkovic, I. P. (2020). Pest management challenges and control practices in codling moth. *Insects*, 11(38), 1-22. <https://doi.org/10.3390/insects11010038>
- Ball, H. J. (1981). Insecticide resistance: a practical assessment. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 27, 261-262.
- Bass, C., Denholm, I., Williamson, M. S., & Nauen, R. (2015). The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 78-87. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.04.004>
- Bird, L. J., & Walker, P. W. (2018), Baseline susceptibility of *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to indoxacarb, emamectin benzoate, and chlorantraniliprole, *Journal of Economic Entomology*, 112(2), 818-826. <https://doi.org/10.1093/jee/toy389>
- Bird, L. J. (2017). Genetics, cross-resistance and synergism of indoxacarb resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science*, 73, 575-581. <https://doi.org/10.1002/ps.4334>
- Boivin, T., d'Hieres, C. C., Bouvier, J. C., Beslay, D., & Sauphanor, B. (2001). Pleiotropy of insecticide resistance in the codling moth, *Cydia pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 99(3), 381-386. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2001.00838.x>
- Bolzan, A., Padovez, F. E., Nascimento, A. R., Kaiser, I. S., Lira, E. C., Amaral, F. S., Kanno, R. H., Malaquias, J. B., & Omoto, C. (2019). Selection and characterization of the inheritance of resistance of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorantraniliprole and cross-resistance to other diamide insecticides. *Pest Management Science*, 75, 2682-2689. <https://doi.org/10.1002/ps.5376>
- Bosch, D., Avilla, J., Musleh, S., & Rodríguez, M. A. (2018c). Target-site mutations (AChE and kdr), and PSMO activity in codling moth (*Cydia pomonella* (L.)(Lepidoptera: Tortricidae)) populations from Spain. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 146, 52-62. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.02.010>
- Bosch, D., Rodríguez, M. A., Depalo, L., & Avilla, J. (2018b). Determination of the baseline susceptibility of European populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) to chlorantraniliprole and the role of cytochrome P450 monooxygenases. *Journal of Economic Entomology*, 111(2), 844-852. <https://doi.org/10.1093/jee/toy020>
- Bosch, D., Rodríguez, M., & Avilla, J. (2007). A new bioassay to test insecticide resistance of *Cydia pomonella* (L.) first instar larvae: Results from some field populations of Lleida (Spain). *IOBC/wprs Bulletin*, 30(4), 195-199.
- Bosch, D., Rodríguez, M. A., & Avilla, J. (2018a). Monitoring resistance of *Cydia pomonella* (L.) Spanish field populations to new chemical insecticides and the

mechanisms involved. *Pest Management Science*, 74(4), 933-943. <https://doi.org/10.1002/ps.4791>

- Bouvier, J. C., Buès, R., Boivin, T., Boudinhon, L., Beslay, D., & Sauphanor, B. (2001). Deltamethrin resistance in the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae): inheritance and number of genes involved. *Heredity*, 87(4), 456-462. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00928.x>
- Bouvier, J. C., Cuany, A., Monier, C., Brosse, V., & Sauphanor, B. (1998). Enzymatic diagnosis of resistance to deltamethrin in diapausing larvae of the codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 39(2), 55-64. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6327\(1998\)39:2<55::AID-ARCH2>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6327(1998)39:2<55::AID-ARCH2>3.0.CO;2-1)
- Bouvier, J. C., Boivin, T., Beslay, D., & Sauphanor, B. (2002). Age-dependent response to insecticides and enzymatic variation in susceptible and resistant codling moth larvae. *Insect Biochemistry and Physiology*, 51, 55-66. <https://doi.org/10.1002/arch.10052>
- Brun-Barale, A., Bouvier, J. C., Pauron, D., Berge, J. B., & Sauphanor, B. (2005). Involvement of a sodium channel mutation in pyrethroid resistance in *Cydia pomonella* L., and development of a diagnostic test. *Pest Management Science*, 61(6), 549-554. <https://doi.org/10.1002/ps.1002>
- Bues, R., Bouvier, J. C., & Boudinhon, L. (2005). Insecticide resistance and mechanisms of resistance to selected strains of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in the south of France. *Crop Protection*, 24(9), 814-820. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.01.006>
- Calkins, C. O., & Faust, R. J. (2003). Overview of areawide programs and the program for suppression of codling moth in the western USA directed by the United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service. *Pest Management Science*, 59(6-7), 601-604. <https://doi.org/10.1002/ps.712>
- Che, W., Huang, J., Guan, F., Wu, Y., & Yang, Y. (2015). Cross-resistance and inheritance of resistance to emamectin benzoate in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 108(4), 2015-2020. <https://doi.org/10.1093/jee/tov168>
- Che, W., Shi, T., Wu, Y., & Yang, Y. (2013). Insecticide resistance status of field populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. *Journal of Economic Entomology*, 106(4), 1855-1862. <https://doi.org/10.1603/EC13128>
- Cichon, L. B., Soleno, J., Anguiano, O. L., Garrido, S. A. S., & Montagna, C. M. (2013). Evaluation of cytochrome p450 activity in field populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) resistant to azinphosmethyl, acetamiprid, and thiacloprid. *Journal of Economic Entomology*, 106(2), 939-944. <https://doi.org/10.1603/EC12349>

- Civolani, S., Boselli, M., Butturini, A., Chicca, M., Fano, E. A., & Cassanelli, S. (2014). Assessment of insecticide resistance of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in emilia-romagna region. *Journal of Economic Entomology*, 107(3), 1245-1249. <https://doi.org/10.1603/EC13537>
- Cui, L., Wang, Q., Qi, H., Wang, Q., Yuan, H., & Rui, C. (2018). Resistance selection of indoxacarb in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): cross-resistance, biochemical mechanisms and associated fitness costs. *Pest Management Science*, 74, 2636-2644. <https://doi.org/10.1002/ps.5056>
- Depalo, L., Pasqualini, E., Jan, E., Slater, R., Daum, E., Zimmer, C. T., & Masetti, A. (2022). Evaluation of the susceptibility to emamectin benzoate and lambda cyhalothrin in European populations of *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Crop Protection*, 157, 105968. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2022.105968>
- Dong, K., Du, Y., Rinkevich, F., Nomura, Y., Xu, P., Wang, L., Silver, K., & Zhorov, B. S. (2014). Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 50, 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2014.03.012>
- Eziah, V. Y., Rose, H. A., Wilkes, M., & Clift, A. D. (2009). Biochemical mechanisms of insecticide resistance in the diamondback moth (DBM), *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae), in the Sydney region, Australia. *Australian Journal of Entomology*, 48, 321-327. <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.2009.00723.x>
- Feyereisen, R. (1999). Insect P450 enzymes, *Annual Review of Entomology*, 44, 507-533. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.44.1.507>
- Finney, D. J. (1971). *Probit Analysis*. 3rd Ed. Cambridge, UK, Cambridge University Press
- Franck, P., Reyes, M., Olivares, J., & Sauphanor, B. (2007). Genetic architecture in codling moth populations: comparison between microsatellite and insecticide resistance markers. *Molecular Ecology*, 16, 3554-3564. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03410.x>
- Franck, P., Siegwart, M., Olivares, J., Toubon, J. F., & Lavigne, C. (2012). Multiple origins of the sodium channel kdr mutations in codling moth populations. *Plos One*, 7(8), 43543. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043543>
- Fuentes-Contreras, E., Reyes, M., Barros, W., & Sauphanor, B. (2014). Evaluation of azinphos-methyl resistance and activity of detoxifying enzymes in codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) from Central Chile. *Journal of Economic Entomology*, 100(2), 551-556. <https://doi.org/10.1093/jee/100.2.551>
- Grigg-McGuffin, K., Scott, I. M., Bellerose, S., Chouinard, G., Cormier, D., & Scott-Dupree, C. (2015). Susceptibility in field populations of codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), in Ontario and Quebec apple

orchards to a selection of insecticides. *Pest Management Science*, 71(2), 234-242. <https://doi.org/10.1002/ps.3787>

Hafeez, M., Li, X., Ullah, F., Zhang, Z., Zhang, J., Huang, J., Chen, L., Siddiqui, J. A., Ren, X., Zhou, S., Imran, M., Assiri, M. A., Zalucki, M. P., Lou, Y., & Lu, Y. (2022). Characterization of indoxacarb resistance in the fall armyworm: Selection, inheritance, cross-resistance, possible biochemical mechanisms, and fitness costs. *Biology*, 11(12), 1718. <https://doi.org/10.3390/biology11121718>

Hafez, A. M., Mota-Sanchez, D., Gut, L. J., & Wise, J. C. (2019). *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) resistance to insecticides in Michigan apple and cherry orchards. *Journal of Economic Entomology*, 112(2), 812-817. <https://doi.org/10.1093/jee/toy383>

Heidel-Fischer, H. M., & Vogel, H. (2015). Molecular mechanisms of insect adaptation to plant secondary compounds. *Current Opinion in Insect Science*, 8, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.02.004>

Higbee, B. S., Calkins, C. O., & Temple, C. A. (2001). Overwintering of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) larvae in apple harvest bins and subsequent moth emergence. *Journal of Economic Entomology*, 94, 1511-1517. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.6.1511>

Hough, W. S. (1928). Relative resistance to arsenical poisoning of two codling moth strains. *Journal of Economic Entomology*, 21, 325-329. <https://doi.org/10.1093/jee/21.2.325>

Huang, J. M., Zhao, Y. X., Sun, H., Ni, H., Liu, C., Wang, X., Gao, C. F., & Wu, S. F. (2021). Monitoring and mechanisms of insecticide resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), with special reference to diamides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 174, 104831. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104831>

IBM Corp. (2010). *SPSS Statistics for Windows*. IBM Corp, Armonk, NY.

Ioriatti, C., Tasin, M., Charmillot, P. J., Reyes, M., & Sauphanor, B. (2007). Early detection of resistance to tebufenozide in field populations of *Cydia pomonella* L.: methods and mechanisms. *Journal of Applied Entomology*, 131(7), 453-459. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2007.01203.x>

IRAC (2023). Introduction to resistance. Insecticide Resistance Action Committee, USA.

İren, Z. (1966). Bazı illerimizde elma içkurdu'na karşı mücadele, DDT'ye mukavemet konusu ve sevin'in meyve seyreltmesini tetkik bakımından yapılan çalışmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 6(2), 49-66.

İşçi, M., & Ay, R. (2017). Determination of resistance and resistance mechanisms to thiacloprid in *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) populations

collected from apple orchards in Isparta Province, Turkey. *Crop Protection*, 91, 82-88. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.09.015>

- Jansson, R. K., Brown, R., Cartwright, B., Cox, D., Dunbar, D. M., Dybas, R. A., Eckel, C., Lasota, J. A., Mookerjee, P. A., Norton, J. A., Peterson, R. F., Starner, V. R., & White, S. (1997). Emamectin benzoate: A novel avermectin derivative for control of lepidopterous pests. *Vegetable Pest Management*, 1, 171-177.
- Ju, D., Mota – Sanchez, D., Fuentes-Contreras, E., Zhang, Y. L., Wang, X. Q., & Yang, X. Q. (2021). Insecticide resistance in the *Cydia pomonella* (L): Global status, mechanisms, and research directions. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 178, 104925. <https://doi.org/10.1002/ps.1576>
- Karalius, V., & Buda, V. (1995). Mating delay effect on moths reproduction; correlation between reproduction success and calling activity in female *Ephestia kuehniella*, *Cydia pomonella*, *Yponomeuta cognagellus* (Lepidoptera: Pyralidae, ortricidae, Yponomeutidae). *Pharomones*, 5, 169-190.
- LeOra Software (2003). *Poloplus, a User's Guide to Probit or Logit Analysis*. LeOra Software, Berkeley, CA, USA.
- Lu, K., Song, Y., & Zeng, R. (2021). The role of cytochrome P450-mediated detoxification in insect adaptation to xenobiotics. *Current Opinion in Insect Science*, 43, 103-107.
- Marti, S., Bosch, D., Avilla, J., Polesny, F., Muller, M., & Olszak, R. W. (1996). Validation of linear and non linear models of the rate of development of a Spanish population of *Cydia pomonella*. *International Conference on Integrated Fruit Production*. August 28-September 2, Poland, 118-122.
- Mermer, S. (2012). *Salkım Güvesi [Lobesia botrana Denis & Schiffmüller (Lep.: Tortricidae)]'nin Bazı İnsektisitlere Karşı Direnç Durumu*. (Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Milani, R. (1956). Recenti sviluppi delle ricerche genetiche sulla mosca domestica. *Italian Journal of Zoology*, 23(2), 749-764.
- Miyazaki, M., Ohyama, K., Dunlap, D., & Matsumura, F. (1996). Cloning and sequencing of the para-type sodium channel gene from susceptible and kdr-resistant German cockroaches (*Blattella germanica*) and house fly (*Musca domestica*). *Molecular Genetics and Genomics*, 252, 61-68. <https://doi.org/10.1007/BF02173205>
- Monteiro, L. B., Teixeira, R., Guiloski, I. C., Chappuis, E., & Assis, H. C. S. (2018). Resistance of oriental fruit moth (Lepidoptera: tortricidae) to insecticides in apple orchards in southern Brazil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(4), 1-11. <https://doi.org/10.1590/0100-29452018608>

- Monteiro, L. B., Witt, L. G., Guiloski, I. C., Santos, R. S. S., & Assis, H. S. (2020). Evaluation of resistance management for the oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) to insecticides in Brazilian apple orchards. *Journal of Economic Entomology*, 113(3), 1411-1418. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa023>
- Mota-Sanchez, D., Wise, J. C., Poppen, R. V., Gut, L. J., & Hollingworth, R. M. (2008). Resistance of codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), larvae in Michigan to insecticides with different modes of action and the impact on field residual activity. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 64(9), 881-890. <https://doi.org/10.1002/ps.1576>
- Nauen, R., Bass, C., Feyereisen, R., & Vontas, J. (2022). The role of cytochrome P450s in insect toxicology and resistance. *Annual Review of Entomology*, 67, 105-124.
- Parra-Morales, L. B., Alzogaray, R., del Brio, J., Cichón, L., Garrido, S. A., D' Hervé, F., & Montagna, M. (2021). Acetamiprid-induced response of biotransformation and antioxidant parameters in the codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *International Journal of Pest Management*, 67(2), 121-130. <https://doi.org/10.1080/09670874.2019.1698787>
- Pasquier, D., & Charmillot, P. J. (2004). Effectiveness of twelve insecticides applied topically to diapausing larvae of the codling moth, *Cydia pomonella* L. *Pest Management Science*, 60(3), 305-308. <https://doi.org/10.1002/ps.776>
- Peairs, L. M., & Davidson, R. H. (1956). *Insect Pests of Farm, Garden, and Orchard*. London, John Wiley & Sons, Inc.
- Qian, L., Cao, G., Song, J., Yin, Q., & Han, Z. (2008). Biochemical mechanisms conferring cross-resistance between tebufenozide and abamectin in *Plutella xylostella*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 91(3), 175-179. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2008.03.011>
- Reuveny, H., & Cohen, E. (2010). Resistance of the codling moth *Cydia pomonella* (L.) (Lep., Tortricidae) to pesticides in Israel. *Journal of Applied Entomology*, 128(9-10), 645-651. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2004.00901.x>
- Reyes, M., & Sauphanor, B. (2008). Resistance monitoring in codling moth: a need for standardization. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 64(9), 945-953. <https://doi.org/10.1002/ps.1588>
- Reyes, M., Barros-Parada, W., Ramírez, C. C., & Fuentes-Contreras, E. (2015). Organophosphate resistance and its main mechanism in populations of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) from Central Chile. *Journal of Economic Entomology*, 108, 277-285. <https://doi.org/10.1093/jee/tou001>
- Reyes, M., Collange, B., Rault, M., Casanelli, S., & Sauphanor, B. (2011). Combined detoxification mechanisms and target mutation fail to confer a high level of resistance to organophosphates in *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera:

- Tortricidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99, 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.09.004>
- Reyes, M., Franck, P., Charmillot, P. J., Ioriatti, C., Olivares, J., Pasqualini, E., & Sauphanor, B. (2007). Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European populations of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Pest Management Sciences*, 63, 890-902. <https://doi.org/10.1002/ps.1421>
- Reyes, M., Franck, P., Olivares, J., Margaritopoulos, J., Knight, A., & Sauphanor, B. (2009). Worldwide variability of insecticide resistance mechanisms in the codling moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Bulletin of Entomological Research*, 99(4), 359-369. <https://doi.org/10.1017/S0007485308006366>
- Rodríguez, M. A., Bosch, D., & Avilla, J. (2012). Azinphos-methyl and carbaryl resistance in adults of the codling moth (*Cydia pomonella* (L.), Lepidoptera: Tortricidae) from Northeastern Spain. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(1), 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.03.002>
- Rodríguez, M. A., Bosch, D., Sauphanor, B., & Avilla, J. (2010). Susceptibility to organophosphate insecticides and activity of detoxifying enzymes in Spanish populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, 103(2), 482-491. <https://doi.org/10.1603/EC09249>
- Rodríguez, M. A., Marques, T., Bosch, D., & Avilla, J. (2011). Assessment of insecticide resistance in eggs and neonate larvae of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100(2), 151-159. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.03.003>
- Sauphanor, B., & Bouvier, J. C. (1995). Cross-Resistance between benzovlureas and benzoylhydrazines in the Codling Moth. *Cydia pomonella* L. *Pesticide Sciences*, 45, 369-375. <https://doi.org/10.1002/ps.2780450412>
- Sauphanor, B., Brosse, V., Bouvier, J. C., Speich, P., Micoud, A., & Martinet, C. (2000). Monitoring resistance to diflubenzuron and deltamethrin in French codling moth populations (*Cydia pomonella*). *Pest Management Sciences*, 56, 74-82.
- Sauphanor, B., Cuany, A., Bouvier, J. C., Brosse, V., Amichot, M., & Berge, J. B. (1997). Mechanism of resistance to deltamethrin in *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 58(2), 109-117. <https://doi.org/10.1006/pest.1997.2291>
- Sayyed, A. H., & Wright, D. J. (2006). Genetics and evidence for an esterase-associated mechanism of resistance to indoxacarb in a field population of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 62(11), 1045-1051. <https://doi.org/10.1002/ps.1270>

- Sayyed, A. H., Ahmad, M., & Saleem, M. A. (2014). Cross-resistance and genetics of resistance to indoxacarb in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 101(2), 472-479. <https://doi.org/10.1093/jee/101.2.472>
- Sayyed, A. H., Moores, G., Crickmore, N., & Wright, D. J. (2008). Cross-resistance between a *Bacillus thuringiensis* Cry toxin and non-Bt insecticides in the diamondback moth. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 64(8), 813-819. <https://doi.org/10.1002/ps.1570>
- Silva, A. P. B., Santos, J. M. M., & Martins, A. J. (2014). Mutations in the voltage-gated sodium channel gene of anophelines and their association with resistance to pyrethroids-a review. *Parasites and Vectors*, 7(1), 450. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-450>
- Soleno, J., Anguiano, L., de D'Angelo, A. P., Cichón, L., Fernández, D., & Montagna, C. (2008). Toxicological and biochemical response to azinphos-methyl in *Cydia pomonella* L.(Lepidoptera: Tortricidae) among orchards from the Argentinian Patagonia. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 64(9), 964-970. <https://doi.org/10.1002/ps.1582>
- Soleno, J., Parra-Morales, L., Cichón, L., Garrido, S., Guiñazú, N., & Montagna, C. (2020). Occurrence of pyrethroid resistance mutation in *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) throughout Argentina. *Bulletin of Entomological Research*, 110(2), 201-206. <https://doi.org/10.1017/S0007485319000439>
- Stacke, R. F., Godoy, D. N., Halberstadt, S. A., Bronzatto, E. S., Giacomelli, T., Hettwer, B. L., Muraro, D. S., Guedes, J. V., & Bernardi, O. (2020). Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance, fitness costs and cross-resistance to other pyrethroids in soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Protection*, 131, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105096>
- Stacke, R. F., Giacomelli, T., Bronzatto, E. S., Halberstadt, S. A., Garlet, C. G., Muraro, D. S., Guedes, J. V. C., & Bernardi, O. (2019). Susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 112(3), 1378-1387. <https://doi.org/10.1093/jee/toz031>
- Stara, J., & Kocourek, F. (2007). Insecticidal resistance and cross-resistance in populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) in Central Europe. *Journal of Economic Entomology*, 100(5), 1587-1592. <https://doi.org/10.1093/jee/100.5.1587>
- Stenersen, J. (2004). *Chemical Pesticides Mode of Action and Toxicology*. Washington CRC Press.
- Su, J., & Sun, X. X. (2014). High level of metaflumizone resistance and multiple insecticide resistance in field populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera:

- Noctuidae) in Guangdong Province, China. *Crop Protection*, 61, 58-63. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.03.013>
- Tang, T., Hu, F., Wang, P., Fu, W., & Liu, X. (2021). Broflanilide effectively controls *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera exigua* exhibiting diverse susceptibilities to chlorantraniliprole and emamectin benzoate. *Pest Management Science*, 77(3), 1262-1272. <https://doi.org/10.1002/ps.6139>
- Voudouris, C. C., Sauphanor, B., Franck, P., Reyes, M., Mamuris, Z., Tsitsipis, J. A., Vontas, J., & Margaritopoulos, J. T. (2011). Insecticide resistance status of the codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) from Greece. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100(3), 229-238. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.04.006>
- Wan, F. H., Yin, C. L., & Tang, R. (2019). A chromosome-level genome assembly of *Cydia pomonella* provides insights into chemical ecology and insecticide resistance. *Nature Communications*, 10(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12175-9>
- Wang, X. L., Su, W., Zhang, J. H., Yang, Y. H., Dong, K., & Wu, Y. D. (2016). Two novel sodium channel mutations associated with resistance to indoxacarb and metaflumizone in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Insect science*, 23(1), 50-58. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12226>
- Wang, X., Xiang, X., Yu, H., Liu, S., Yin, Y., Cui, P., Jiang, C., & Yang, Q. (2018a). Monitoring and biochemical characterization of beta-cypermethrin resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) in Sichuan Province, China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 146, 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.02.008>
- Wang, X., Huang, Q., Hao, Q., Ran, S., Wu, Y., Cui, P., Yang, J., Jiang, C., & Yang, Q. (2018b). Insecticide resistance and enhanced cytochrome P450 monooxygenase activity in field populations of *Spodoptera litura* from Sichuan, China. *Crop Protection*, 106, 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.12.020>
- Wei, Z. H., Liu, M., Hu, C., & Yang, X. Q. (2020). Overexpression of glutathione S-transferase genes in field  $\lambda$ -cyhalothrin-resistant population of *Cydia pomonella*: reference gene selection and expression analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(21), 5825-5834. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01367>
- Wing, K. D., Sacher, M., Kagaya, Y., Tsurubuchi, Y., Mulderig, L., Connair, M., & Schnee, M. (2000). Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. *Crop Protection*, 19, 537-545. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00070-3](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00070-3)
- Yalçın, E. (2013). *İnsektisit Direnç Yönetimi*. İzmir, Meta Basım.

- Yang, X. Q., & Zhang, Y. L. (2015). Investigation of insecticide- resistance status of *Cydia pomonella* in Chinese populations. *Bulletin of Entomological Research*, 105, 316-325. <https://doi.org/10.1017/S0007485315000115>
- Yu, S. J. (2008). *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*. Newyork, CRC Press.
- Zhang, S., Zhang, X., Shen, J., Li, D., Wan, H., You, H., & Li, J. (2017). Cross-resistance and biochemical mechanisms of resistance to indoxacarb in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 140, 85-89.
- Zhao, Y. X., Huang, J. M., Ni, H., Guo, D., Yang, F. X., Wang, X., & Gao, C. F. (2020). Susceptibility of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smmith), to eight insecticides in China, with special reference to lambda-cyhalothrin. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 168, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104623>
- Zuo, Y., Wang, Z., Ren, X., Pei, Y., Aioub, A. A., & Hu, Z. (2022). Evidence for Multiple Origins of Knockdown Resistance (kdr) in *Spodoptera exigua* (Hübner)(Lepidoptera: Noctuidae) From China. *Journal of Economic Entomology*, 115(4), 1279-1284. <https://doi.org/10.1093/jee/toac075>

## ÖZGEÇMİŞ

