

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE)
POPULASYONLARINDA ACEQUINOCYL DİRENCİ VE DİRENÇ
MEKANİZMALARININ BELİRLENMESİ

Berke DEMİRCİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ANKARA
2023

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) POPULASYONLARINDA ACEQUINOCYL DİRENCİ VE DİRENÇ MEKANİZMALARININ BELİRLENMESİ

Berke DEMİRCİ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Emre İNAK

İki noktalı kırmızı örümcek, *Tetranychus urticae* Koch, tarım alanlarında sıklıkla zarar meydana getiren bir akar türüdür ve en yaygın mücadelesi akarisit uygulamaları ile gerçekleşmektedir. Ancak, direnç gelişimi nedeniyle kimyasal mücadelede sıklıkla başarısızlıklar meydana gelmektedir. Akarisit direncini yönetmek amacıyla güncel direnç durumu ve direnç mekanizmalarının bilinmesi gerekmektedir. Bu amaçla, ülkemiz tarım alanlarında 10 yıldan fazla süredir ruhsatlı olan acequinocyl aktif maddesinin *T. urticae* popülasyonları üzerindeki etki durumu ve hassasiyet kayıplarının altında yatan moleküler mekanizmaları belirlemek amacı ile Antalya, Mersin ve Ankara illerinden 2021 ve 2023 yılları arasında toplanan 10 farklı *T. urticae* popülasyonu test edilmiştir ve sonuçlar hassas referans popülasyon ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonunda, iki *T. urticae* popülasyonunda yüksek düzeyde acequinocyl direnci tespit edilmiş olup (Tu4= 153-kat, Tu8= 257-kat), 8 popülasyon ise hassas olarak tespit edilmiş ve acequinocyl ruhsatlı dozu uygulamasında popülasyonların %90'ından fazlasını öldürdüğü belirlenmiştir. Aynı etki mekanizmasına sahip bifenazate için de benzer sonuçlar gözlenmiştir (Tu4= 1330-kat, Tu8= 690-kat). Yüksek dirençli olan her iki popülasyonda da, acequinocyl hedef etki yeri olan sitokrom b geninin korunmuş cd-1 sarmalında M128T mutasyonu tespit edilmiştir. Ancak mutasyonun dirençteki rolünün doğrulanması için ileri çalışmalar gerekmektedir. Bu tez çalışmasında, direncin farmakokinetik mekanizmalarını araştırmak amacı ile sinerjistik maddeler ile de denemeler gerçekleştirilmiş olup, özellikle sitokrom P450 monooksijenaz enziminin baskılanmasının acequinocyl toksisitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Detoksifikasyon enzimlerinin dirençteki rolünü gen seviyesinde tespit etmek amacı ile transkriptom analizi gerçekleştirilmiş ve farklı ifade seviyeleri gösteren genler analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler akarisit direnç yönetim programlarının oluşturulmasına katkılar sağlayacaktır.

Aralık 2023, 71 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Tetranychus urticae*, akarisit direnci, hedef yeri mutasyonu, acequinocyl, çapraz direnç

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF ACEQUINOCYL RESISTANCE AND RESISTANCE MECHANISMS IN VARIOUS *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) POPULATIONS

Berke DEMİRCİ

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

Supervisor: Asst. Prof. Emre İNAK

The two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, is a common agricultural pest often controlled through acaricide applications. However, resistance development poses challenges to chemical control efficacy. Resistance status and resistance mechanisms should be known in order to manage acaricide resistance. To determine the current resistance status and elucidate the molecular mechanisms underlying resistance, 10 *T. urticae* populations collected from Antalya, Mersin, and Ankara provinces in Turkey between 2021 and 2023 were tested for their susceptibility to acequinocyl, a registered acaricide for over a decade in the country. The results showed that two populations were resistant to acequinocyl (Tu4= 153-fold, Tu8= 257-fold), while eight populations remained sensitive. Similar resistance patterns were observed for bifenazate having same mode of action (Tu4= 1330-fold, Tu8= 690-fold). In the highly resistant populations, a M128T mutation in the conserved cd-1 helix of the cytochrome b gene, the target site for acequinocyl, was identified, however, the role of the mutation needs to be validated. Experiments with synergistic compounds suggested potential associations of detoxification enzymes with acequinocyl resistance. A transcriptomic analysis was conducted to unveil the role of detoxification enzymes at the gene level, and the differentially expressed genes were subsequently analyzed. The results obtained in the present study will contribute to design proper acaricides resistance management programs.

December 2023, 71 pages

Keywords: *Tetranychus urticae*, acaricide resistance, target-site mutation, acequinocyl, cross resistance

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Benim için bir danışman hocadan çok daha fazlası olan ve hayatım boyunca büyük saygı duyacağım, lisans eğitimimde yaptığım stajda çalışma fırsatı bularak tanıdığım, tanıdıktan sonra da her alanda kendisini örnek aldığım, lisansüstü eğitimime başlamamda en büyük nedenlerden biri olan, sahip olduğu yüksek bilgi birikimi ve tecrübesi, özellikle çalıştığı alana karşı hevesi ve ilgisi ile bu tez çalışması ve diğer çalışmaları gerçekleştirirken büyük keyif aldığım, pozitif enerjisi ve motive edici konuşmaları ile hem bilimsel anlamda gelişmemi sağlayan hem de sosyal ve profesyonel hayatımda uygulayacağım öğreti ve önerileri için danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Emre İNAK'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamı gerçekleştirmem için MOLEN laboratuvarının imkanlarını kullanmama izin veren, görüş ve önerileri ile de tezimin iyileşmesine katkıda bulunan Prof. Dr. Umut TOPRAK'a; tezimde yer alan eksikleri gösterdiği ve değerli önerileri için jüri üyesi hocam Dr. Öğretim Üyesi Esengül ERDEM'e teşekkürlerimi sunarım.

Maddi ve manevi olarak desteklerini her zaman hissettiğim aileme teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasını destekleyen HEKTAŞ TİCARET T.A.Ş. 'a teşekkür ederim.

Berke DEMİRCİ
Ankara, Aralık 2023

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Akarlarda Direnç Mekanizmaları.....	6
1.1.1 Farmakokinetik direnç	8
1.1.2 Farmakodinamik direnç	9
1.1.3 Akarisitler ve etki mekanizmaları	11
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	23
3.1 Materyal	23
3.2 Yöntem	24
3.2.1 Akar popülasyonlarının elde edilmesi.....	24
3.2.2 Kırmızı örümcek popülasyonlarının teşhisi	25
3.2.3 Akarisitler	26
3.2.4 Biyoassay denemeleri.....	26
3.2.5 Seleksiyon çalışmaları.....	28
3.2.6 Çapraz direnç denemeleri	28
3.2.7 Sinerjizm denemeleri	29
3.2.8 Hedef-bölge nokta mutasyonlarının taranması.....	29
3.2.9 Transkriptom analizi	31
4. BULGULAR.....	33
4.1 Biyoassay Bulguları.....	33
4.2 Seleksiyon Çalışmaları.....	37
4.3 Çapraz Direnç Bulguları	38
4.4 <i>Tetranychus urticae</i> 'nin Yumurtaları Üzeride Acequinocyl Akarisitinin Etkisinin Belirlenmesi	39
4.5 Sinerjizm Bulguları.....	39
4.6 Hedef-bölge Nokta Mutasyonlarının Taranması	40
4.7 Transkriptom Analizi	41
5. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	46
KAYNAKLAR	53
EKLER.....	63
EK 1 RvsL Karşılaştırmasında Farklı İfade Seviyesinde Artış Gösteren İlk 50 Gen	63

EK 2 RvsL Karşılaştırmasında Farklı İfade Seviyesinde Azalış Gösteren İlk 50	
Gen	65
EK 3 RvsS Karşılaştırmasında Farklı İfade Seviyesinde Artış Gösteren İlk 50	
Gen	67
EK 4 RvsS Karşılaştırmasında Farklı İfade Seviyesinde Azalış Gösteren İlk 50	
Gen	69
ÖZGEÇMİŞ.....	71



SİMGELER DİZİNİ

% : Yüzde

SC : Süspansiyon konsantre

WP : Islanabilir toz formülasyon

EC : Emülsiyon konsantre formülasyon

°C : Santigrad derece

LC₅₀ : Popülasyonun %50'sini öldüren pestisit konsantrasyonu

LC₉₀ : Popülasyonun %90 ını öldüren pestisit konsantrasyonu

METI : Mitokondriyal elektron transfer inhibitörü

µl : Mikrolitre

ATP : Adenozin Trifosfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 <i>Tetranychus urticae</i> 'nin farklı biyolojik evreleri (Anonymous 2023a)	3
Şekil 1.2 a-d) <i>Tetranychus urticae</i> ve zarar şekli.	5
Şekil 1.3 Türkiye’de 2012-2022 yılları arasında toplam pestisit, insektisit ve akarisit kullanımı kullanımı (Ton) (TÜİK 2023).	6
Şekil 1.4 <i>T. urticae</i> ’de belgelenmiş akarisit direnci vakalarının etki şekline göre dağılımı (Mota-Sanchez ve Wise 2022)	7
Şekil 1.5 Direnç mekanizmalarından bazılarının şematize edilmiş gösterimleri (Heckel 2012).	10
Şekil 1.6 Kompleks III inhibitörü akarisitlerin kimyasal yapıları a) acequinocyl, b) bifenazate, c) fluacyrpyrim (Anonymous 2023b).	14
Şekil 1.7 Kırmızı örümceklerin mitokondriyal elektron taşıma zincirinde tespit edilen mutasyonlar (De Rouck vd. 2023).	15
Şekil 3.1 a-j) moleküler çalışmalarda kullanılan bazı cihazlar ve sarflar.	23
Şekil 3.2 a) Çalışmada kullanılan ilaçlama kulesi, b) ilaç dozlarının hazırlanmış hali	28
Şekil 4.1 Acequinocyl uygulamasının 24 saat ve 72 saat ardından gerçekleştirilen sayımların farkları.	34
Şekil 4.2 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarına ait acequinocyl ve bifenazate akarisitlerinin 24. saat LC ₅₀ değerleri	37
Şekil 4.3 Farklı organizmalara ait Sitokrom b geninin kısmi dizilimi. Kırmızı yuvarlaklar daha önceden tespit edilmiş mutasyonları, yıldız ise bu çalışmada bulunan M128T mutasyonunu göstermektedir. Aksasyon numaraları : <i>Tetranychus urticae</i> (EU345430), <i>Panonychus citri</i> (HM367068), <i>Gallus gallus</i> (AAO44995), <i>Homo sapiens</i> (AAX15094), <i>Arabidopsis thaliana</i> (CAA47966), <i>Plasmodium falciparum</i> (NP_059668), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ABS28693), <i>Venturia inaequalis</i> (AAC03553).	41
Şekil 4.4 TBA analizi sonuçları a) R ve S b) R ve L c) R, S ve L örnekleri. R= acequinocyl dirençli tarla popülasyonu, S = hassas tarla popülasyonu, L= London popülasyonu	42
Şekil 4.5 Farklı ifade seviyeleri gösteren genler (RvsL)	43
Şekil 4.6 Farklı ifade seviyeleri gösteren genler (RvsS)	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 En çok aktif maddeye karşı direnç geliştirmiş tarımsal eklembacaklılar (Mota-Sanchez ve Wise 2023)	2
Çizelge 1.2 Etki mekanizmalarına göre akarisitlerin sınıflandırılması.....	12
Çizelge 3.3 Araziden toplanmış akar popülasyonları hakkında genel bilgiler	25
Çizelge 3.4 Sitokrom b hedef yerine ait primerler	30
Çizelge 4.5 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarının acequinocyl aktif maddesine karşı 24. saatte belirlenen saat LC ₅₀ – LC ₉₀ değerleri	33
Çizelge 4.6 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarının acequinocyl aktif maddesine karşı 72. saatte belirlenen LC ₅₀ – LC ₉₀ değerleri.....	34
Çizelge 4.7 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarının bifenazate aktif maddesine karşı belirlenen LC ₅₀ – LC ₉₀ değerleri.....	36
Çizelge 4.8 Acequinocyl seleksiyonun ardından oluşan direnç durumu.	38
Çizelge 4.9 Tu4 popülasyonunun abamectin, pyridaben ve spiromesifen aktif maddelerine karşı belirlenen LC ₅₀ -LC ₉₀ değerleri	38
Çizelge 4.10 Acequinocyl akarisitinin yumurtalar üzerinde belirlenen LC ₅₀ değerleri	39
Çizelge 4.11 Sinerjizm denemeleri sonucunda elde edilen belirlenen acequinocyl LC ₅₀ - LC ₉₀ değerleri	40
Çizelge 4.12 RvsL ve RvsS karşılaştırmasında Log2fold değişimine göre ifade seviyesinde artış gösteren direnç ile ilişkili genler.....	45
Çizelge 4.13 RvsL ve RvsS karşılaştırmasında Log2fold değişimine göre ifade seviyesinde azalış gösteren direnç ile ilişkili genler.....	45

1. GİRİŞ

Sürdürülebilirlik, uzun sürelerdir gündemde olan ve son zamanlarda önemini daha da arttıran bir kavramdır (Scoones 2007). Rutin ihtiyaçlar karşılanırken gelecek nesillerin, çevrenin ve ekonominin düşünülmesi gerektiği fikrinden ortaya çıkan bu kavram; tarım, sanayi, enerji ve ulaşım gibi birçok alanda dikkate alınması gereken bir konu haline gelmiştir.

Sürdürülebilir bir tarım artan dünya nüfusu göz önüne alındığında önemini daha da arttırmaktadır. Tahminlere göre dünyanın 2050 yılında ulaşacağı nüfusu beslemek için tarımsal üretimin %70 artması gerekmektedir (Tilman vd. 2011). Ancak örtü altı ve açık alanlarda gerçekleştirilen meyve sebze yetiştiriciliği, endüstri bitkisi yetiştiriciliği ve kesme çiçek yetiştiriciliği yapılan alanlar başta olmak üzere bütün işletmelerde üretimin yeterliliğini ve sürdürülebilirliğini kısıtlayan bazı faktörler bulunmaktadır. Bunların en önemlilerinden biri ise tarımsal alanlardaki zararlı eklembacaklılardır.

Tarımsal zararlı organizmalar, tarımın başlangıcından itibaren yetiştirilen mahsüllerin verimliliğinin azalmasına neden olmuştur (Oerke 2006). Tahminlere göre dünya genelinde tarımsal zararlı eklembacaklılar, her yıl üretilen tarımsal ürünlerin %18-20'sini yok etmektedir, bu zararın parasal karşılığının 470 milyar dolar olduğu düşünülmektedir (Sharma vd. 2017). Ülkelerin gelişmişlik seviyelerine bağlı olarak bu oran artış gösterebildiği gibi, zararlılarla mücadele yapılmayan alanlarda ürün kayıpları %100 seviyesine ulaşabilmektedir (Yu 2008). Fitofag eklembacaklılarla mücadelede kullanılan birçok yöntem bulunmasına rağmen en yaygın kullanılan yöntem kimyasal mücadeledir (Whalon vd. 2008). Ancak başka direnç gelişimi olmak üzere daha birçok sebeple kimyasal mücadelede başarısızlıklar ortaya çıkmaktadır (Whalon vd. 2008; Sparks ve Nauen 2015). Bu başarısızlık üzerine üreticiler daha sık ve daha yüksek dozda ilaç uygulaması yapabilmekte ve bu da sorunu daha da üst bir boyuta taşımaktadır. Doğru şekilde gerçekleştirilmeyen kimyasal mücadele uygulamaları gıda güvenliği sorunlarına yol açabileceği gibi hedef dışı organizmalar için de tehdit oluşturmaktadır (de Souza 2020; Parven vd. 2021; Serrão vd. 2022). Gıda güvenliği ile

ilgili kaygılar ve direnç gelişimi sorunları ile beraber tarım ilacı üreten şirketler, mücadelede kullanılacak yeni kimyasallar keşfetmenin, üretmenin ve ruhsatlamamanın hem maliyet olarak büyük yükleri olması hem de zaman olarak uzun süreler gerektirmesi gibi sorunlar ile de karşı karşıya kalmış durumdadır (Van Leeuwen vd. 2020).

Artropod Pestisit Direnci Veritabanı'nın (APRD) verilerine göre tarım alanlarında zarar meydana getiren en dirençli organizmalar **Çizelge 1.1**'de verilmiştir.

Çizelge 1.1 En çok aktif maddeye karşı direnç geliştirmiş tarımsal eklembeçliler (Mota-Sanchez ve Wise 2023)

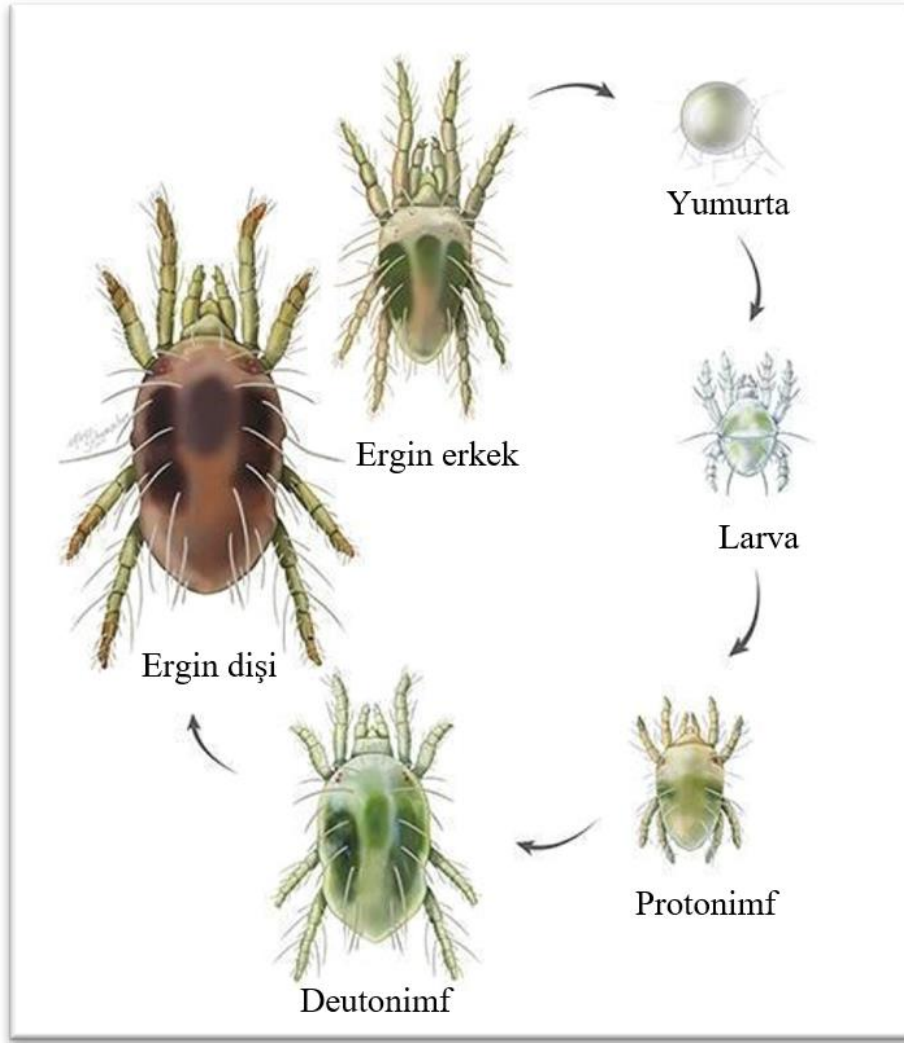
Tür	Takım / Familya	Vakalar	Akt*
<i>Plutella xylostella</i>	Lepidoptera/ Plutellidae	1022	101
<i>Tetranychus urticae</i>	Acari/ Tetranychidae	557	96
<i>Myzus persicae</i>	Hemiptera/ Delphacidae	495	85
<i>Bemisia tabaci</i>	Hemiptera/ Aleyrodidae	720	68
<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	Coleoptera/ Chrysomelidae	306	56
<i>Helicoverpa armigera</i>	Lepidoptera/Noctuidae	891	55
<i>Aphis gossypii</i>	Homoptera/ Aphididae	346	52

Akt*: Direnç geliştirdiği aktif madde sayısı

Fitofag akarlar tarımsal alanlarda zarara sebep olan organizmaların başında gelir (Van Leeuwen vd. 2010; De Rouck vd. 2023). Diğer tüm akarlar gibi fitofag akarlar da karada yaşayan canlıların en büyük ikinci grubu olan kelistera alt şubesinde bulunur. (Van Leeuwen ve Dermauw 2016). Tarımsal üretim alanlarında zararlı Tetranychidae, Tarsonomidae, Tenuipalpidae, Eriophyidae, Acaridae gibi akar familyaları arachnida sınıfına bağlı acari alt sınıfında yer alırlar (Van Leeuwen vd. 2009).

İki noktalı kırmızı örümcek olarak bilinen *Tetranychus urticae* Koch'un ise Tetranychidae familyasının en polifag türlerinden biri olduğu bilinmektedir (Migeon ve Dorkeld 2022). Boyutları 0.4-0.5 milimetre kadar olan *Tetranychus urticae*'nin dişileri yuvarlak bir vücuda sahipken, erkekleri daha sivri bir vücut yapısına sahiptir (Jeppson

1975) (Şekil 1.1). Renkleri genelde kırmızı, yeşil ya da kahverengimsi olabilmektedir. Vücutlarında iki adet belirgin benek bulundurulur. Tetranychid akarlar ayrıca avcı akarlar karşı savunma ve bir çeşit iletişim yöntemi olarak kullandıkları ağ örme yeteneğine sahiptirler (Helle ve Sabelis 1985). Dişiler ömrü boyunca ortalama 100-200 civarı yumurta bırakır ve bu yumurtalar sıcaklığa göre 2-9 günde açılırlar. Yumurtadan çıkan larvalar beneksizdir ve daha açık renkli olup üç çift bacağı sahiptirler. Benekler beslenmeye başladıktan sonra oluşmaya başlar. Larva döneminden sonra sırasıyla protonimf ve deutonimf olmak üzere iki ayrı dönem daha geçirirler. Dördüncü çift bacaklar protonimf döneminde oluşur (Şekil 1.1). İki noktalı kırmızı örümcek yılda 10 ila 20 döl verebilir.



Şekil 1.1 *Tetranychus urticae* 'nin farklı biyolojik evreleri (Anonymous 2023a)

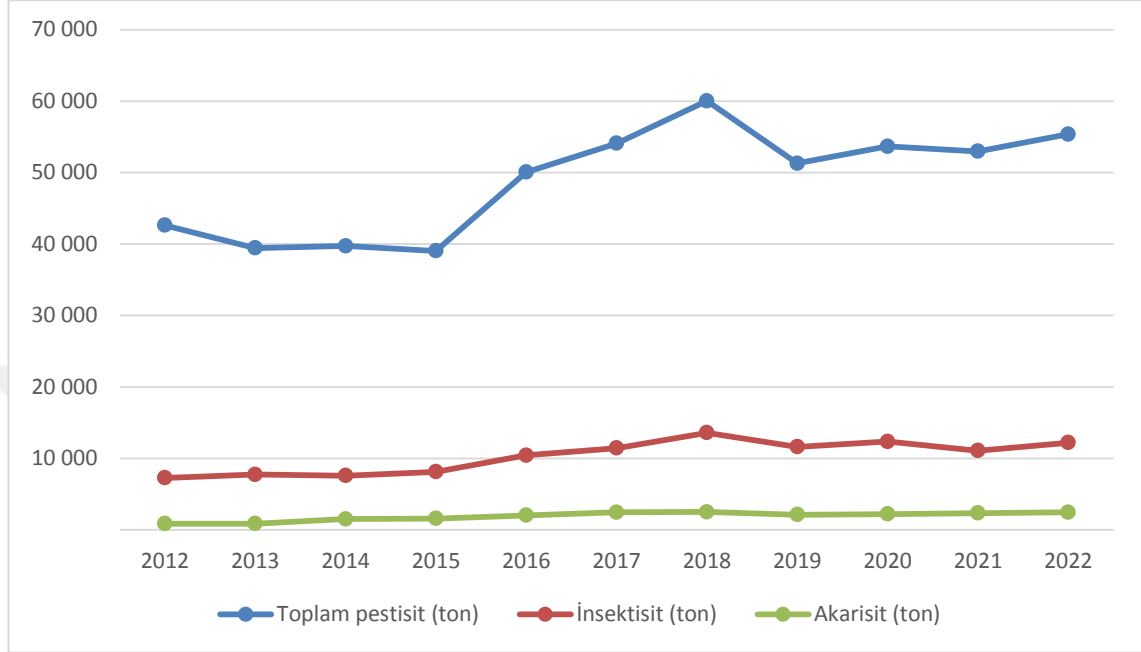
Kırmızı örümcekler stilet benzeri bir yapıya dönüşmüş keliserleri sayesinde bitki özsuğunu sokup emme sureti ile yapraklarda sararma, kuruma ve dökülme ile doğrudan zarar yapmaktadır (**Şekil 1.2**) (Van Leeuwen vd. 2005). *Tetranychus urticae* Koch, örtü altı ve açık bahçelerden süs bitkisi yetiştiriciliğine, pamuk ekim alanlarından meyve bahçelerine kadar 1100'den fazla bitki türüyle beslenebilmektedir (Migeon ve Dorkeld 2022). Özellikle örtüaltı yetiştiriciliğindeki izole çevre ve uygun yaşam koşulları bu alanlarda kırmızı örümcekleri daha tehlikeli bir hale dönüştürmektedir (Khajehali vd. 2011). Kırmızı örümcek mücadelesinde bazı bölgelerde özellikle örtüaltı alanlarda biyolojik mücadele ajanları her geçen gün daha fazla kullanılsa da (Attia vd. 2013; Van Lenteren vd. 2018), dünya çapında en önemli mücadele aracı akarisitler ve insektisit/ akarisitlerdir (Van Leeuwen vd. 2015). İki noktalı kırmızı örümcek, akarisitlere karşı hızlı direnç kazanma yeteneği, bu direnci hızla yeni bireylere aktarabilmesini sağlayan ekstrem üreme gücü ve partenogenetik üreme yeteneği (Croft ve van de Baan 1988) sebebi ile bu zararlının kimyasal mücadelesinde istenilen etki elde edilemeyebilmektedir.



Şekil 1.2 a-d) *Tetranychus urticae* ve zarar şekli

Dünyada 13.3 milyar euroluk pestisit pazarının 900 milyon euroluk kısmını spesifik akarisitler oluşturmaktadır (Van Leeuwen vd. 2015). Bu akarisitlerin en çok kullanıldığı zararlılar ise İki noktalı kırmızı örümcek (*Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)), Avrupa kırmızı örümceği (*Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae)) ve Turunçgil kırmızı örümceği (*Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae))'dir (Van Leeuwen vd. 2015). TÜİK verilerine göre 2022 yılında ülkemizde kullanılan toplam 55 374 ton pestisitın 2 462 tonunu (%4.4) sadece spesifik akarisitler oluşturmaktadır (TÜİK 2023).

Ülkemizden ve dünyanın çeşitli ülkelerinden pestisit kullanımına ait veriler **Şekil 1.3**'de verilmiştir.



Şekil 1.3 Türkiye’de 2012-2022 yılları arasında toplam pestisit, insektisit ve akarisit kullanımı (Ton) (TÜİK 2023)

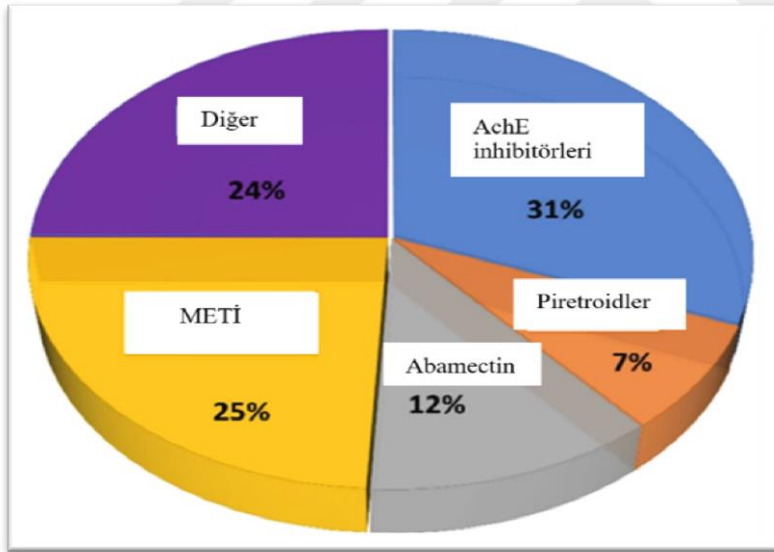
1.1 Akarlarda Direnç Mekanizmaları

Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) insektisit direncini bir zararlı türünün mücadelesinde kullanılan insektisit o zararlı türünde önerilen dozu uygulandığında beklenen kontrol seviyesine ulaşmada yaşanan ve tekrarlayan başarısızlık şeklinde tanımlanmıştır.

Akarlarda ve böceklerde dirence neden olan önemli iki mekanizma vardır. Bunlar, normal şartlarda hedef etki yerine ulaşp, bireylerde öldürücü etki yapacak olan pestisit dozunun canlının metabolizmasınca azaltılması (farmakokinetik) ve hedef etki yerinin

moleküler anlamda doğrudan değiştirilmesi (farmakodinamik) olarak açıklanabilir (Van Leeuwen ve Dermauw 2016).

Farmakokinetik dirence örnek olarak morfolojik olarak direnç geliştirmiş bir zararlının kütikulasının kalınlaşması nedeniyle daha az pestisit geçirmesi veya detoksifikasyon yoluyla pestisit dozunun azaltılması verilebilir. Farmakodinamik dirence örnek olarak ise hedef yerinde gerçekleşen nokta mutasyonları ile pestisit hedef proteine bağlanmasında yaşanan azalma veya bağlanmanın hiç gerçekleşmemesi verilebilir. Ayrıca gen duplikasyonu, hedef yeri geninin ifadesinde artış görülmesi ya da ekzon atlaması gibi mekanizmalar da farmadinamik dirence yol açmaktadır (Feyereisen vd. 2015). Raporlanmış direnç vakalarının büyük bir çoğunluğu hedef yeri mutasyonları ve metabolik direnç yani detoksifikasyon yolu ile gerçekleşmektedir.



Şekil 1.4 *Tetranychus urticae*'de raporlanmış akarisit direnci vakalarının etki şekline göre dağılımı (Mota-Sanchez ve Wise 2020)

1.1.1 Farmakokinetik direnç

Metabolik dirençte bazı enzimlerin rol oynadığı bilinmektedir. Bu enzimler genel olarak, esterazlar, glutatyon S-transferazlar (GST) ve sitokrom P450 monooksijenazlar (P450) olmak üzere üç farklı gruba ayrılmışlardır (**Şekil 1.5**) (İnak ve Çobanoğlu 2018).

Bu üç enzim grubu da kendi içlerinde fazlara ayrılarak incelenmektedir. Esterazlar ve monooksijenazlar faz I detoksifikasyon enzimleridir, GST ise faz II enzimi olarak bilinmektedir (İnak ve Çobanoğlu 2018). Esterazlar, bileşenin ester bağlarını keserek hidrolize eder, monooksijenazlar ise aktif maddenin eksi yüklü ve artı yüklü merkezlerine girerek, bileşiği tepkimeye girmeye daha uygun hale getirmektedir. Faz II kısmında ise GST enzimleri glutatyon konjugasyon eklentilerinin oluşumunu katalizleyerek, vücuttan atılımını kolaylaştırmaktadır (Van Leeuwen vd. 2009, Kennedy ve Tierney 2013).

Ek olarak sıfırıncı faz ya da faz III olarak bilinen ABC taşıyıcılarda (ATP Binding Cassette transporters) detoksifikasyon sürecinde rol oynamaktadır (Şekil 1.5). Bunlar toksik maddeyi doğrudan hücre dışına uzaklaştırarak etkisiz hale getirmektedirler (Dermauw ve Van Leeuwen 2014). Metabolik direncin tarımsal mücadelede en zorlayıcı özelliklerinden biri, etki mekanizması farklı dahi olsa insektisitler/akarisitler arasında çapraz dirence neden olabilmesidir (Van Leeuwen vd. 2010).

Esterazlar büyük bir grup olup ester bağlarını metabolize etmektedirler. Pek çok insektisit grubu esteraz hidrolizine karşı duyarlıdır. İnsektisit direnci ile ilgili bazı esteraz grupları sınırlı katalitik etkiye sahip olmasına rağmen, çok fazla miktarda üretilip insektisit hedefine ulaşmadan önce ona bağlanıp, miktarını düşürebilmektedir (Field vd. 1988)

Monooksijenazlar (P450 monooksijenazlar, karışık fonksiyonlu oksijenazlar, sitokrom P450 monooksijenazlar) içerisinde bulunan FEII – CO kompleksinin piki 450nm’ de gözlemlendiği için P450 olarak isimlendirilmişlerdir. Özellikle monooksijenaz rolleri

ile dirençte rol almaktadırlar (Feyereisen 2005). P450, CYP2, CYP3, CYP4 ve mitokondriyal CYP olmak üzere dört büyük gruptan oluşmaktadır (Van Leeuwen ve Dermauw 2016). İnsanlarda 57, böceklerde yaklaşık 100 adet P450 geni bulunurken, *Tetranychus urticae*' de ise 81 adet P450 geni tespit edilmiştir (Grbic vd. 2011).

GST, glutasyonu, çeşitli pozitif yüklü atomlara konjuge eden bir protein familyası olarak bilinmektedir (Strange vd. 2001). Glutasyonun, membranları kolayca geçmekte rolünün büyük olmasından dolayı böcek ve akarlarda konjuge edilen pestisitlerin hücreden, dolayısıyla organizmadan uzaklaştırılması daha kolaydır (Pavlidi vd. 2018).

İki noktalı kırmızı örümceklerde GST familyası bariz bir genişleme göstermiştir ve 32 adet GST bulunmaktadır. Ayrıca omurgalılara özgü olduğu sanılan Mu-sınıf GST'ler iki noktalı kırmızı örümcekte 12 adet tespit edilmiştir (Grbic vd. 2011).

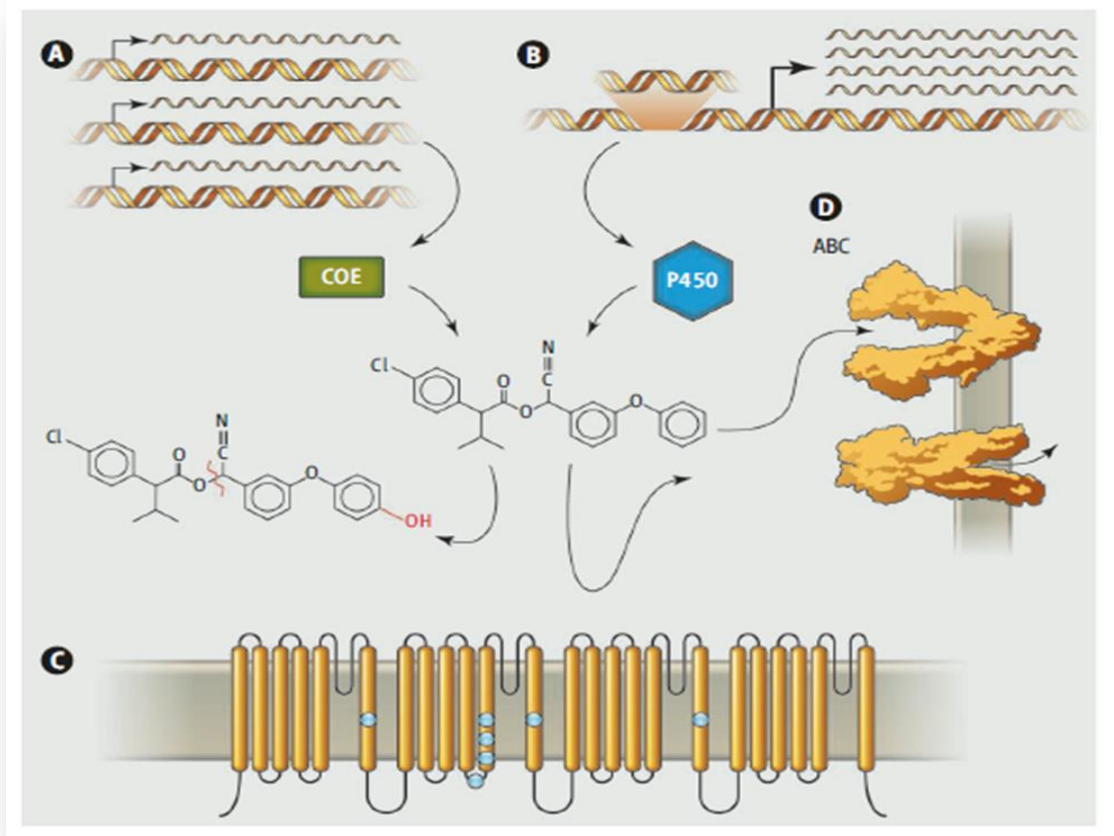
GST'lerin insektisit direncindeki rolü birkaç farklı şekilde karşımıza çıkabilmektedir. Doğrudan etkileri metabolize etme, sekestrasyon olurken, dolaylı etkileri zararlıyı insektisit/akarisitinin yarattığı oksidatif strese korumak olarak söylenebilir (Pavlidi vd. 2018).

ABC taşıyıcıları ise canlılar âlemindeki en önemli taşıyıcı familyalarından biridir. Bir ATP molekülü bu taşıyıcılara bağlanarak hidrolize olur ve membranlar arasından geçebilir hale gelir (Higgins ve Linton 2004). ABC taşıyıcılar seçici değildir ve bu özellikleri dirençte rol oynamalarına neden olur. Yani bu taşıyıcılara bağlanmış bir pestisit de aynı şekilde hücre dışına atabilmektedirler (Buss ve Callaghan 2008).

1.1.2 Farmakodinamik direnç

Insektisitlerin hedef aldığı bölgelerdeki mutasyonların neden olduğu yapısal değişiklikler, söz konusu insektisit veya akarisitinin beklenen etkisinde düşüşe dolayısıyla direnç neden olabilmektedir (**Şekil 1.5**) (Feyeriesen vd. 2015). Direnç gelişimine etki eden bir geni etkileyen farklı mutasyon sınıfları ayırt edilebilir ve genellikle üç ana

kategoriye ayrılabilir. Birinci kategori, genin kodlama dizisini etkileyen ve böylece gen ürününün yapısını değiştiren mutasyonları içermektedir. İkinci kategori, genin ifadesinde artışa yol açan mutasyonları kapsamaktadır. Üçüncü kategori ise genin ifadesinde azalmaya neden olan mutasyonları içermektedir (Feyeriesen vd. 2015). Bu durum mutasyonun, protein diziliminde farklılaşma anlamına geldiği, hedef yerinin ifade seviyesini etkileyerek de direnç yol açabileceği anlamına gelmektedir (Van Leeuwen ve Dermauw 2016). Hedef yeri mutasyonlarının tek başlarına veya bir arada bulunmalarına göre farklı seviyelerde direnç değerlerine karşılık geldikleri de pek çok kez raporlanmıştır (Van Leeuwen vd. 2008; Kwon vd. 2010; Fotoukiai vd. 2020; De Rouck vd. 2023).



Şekil 1.5 Direnç mekanizmalarından bazılarının şematize edilmiş gösterimleri (Heckel 2012)

1.1.3 Akarisitler ve etki mekanizmaları

İnsektisitlerin ve spesifik akarisitlerin kırmızı örümcek mücadelesinde birincil araç olarak görülmesi ile bu pazarda çeşitli etki mekanizmalarına sahip pek çok aktif madde üretilmiştir. II. Dünya Savaşı'nda çeşitli kimyasalların uyuz zararlısına karşı kullanıldığı bilinmektedir (Metcalf 1955). Ancak fitotoksik olmayan spesifik akarisitlerin geliştirilmesi de uzun sürmemiştir. Bu anlamda seralarda kullanılan ilk spesifik akarisit azobenzendir (Blauvelt 1946).

1940'ların sonundan günümüze kadar birçok aktif madde akar mücadelesinde kullanılmış ve birçoğu etki mekanizması açığa çıkarılmadan yasaklanmıştır (İnak ve Çobanoğlu 2016).

IRAC (Insecticide Resistance Action Committee)'ın akarisitleri etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması **Çizelge 1.2'**de verilmiştir.

Çizelge 1.2 Etki mekanizmalarına göre akarisitlerin sınıflandırılması

Sinir ve Kas Sistemi Etkililer Grup 1 Asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörleri 1A Karbamatlar (örn. Metomil), 1B Organofosfatlar (örn. Pirimiphos-methyl). Grup 2 GABA kapılı klorid kanalı antagonistleri 2A Siklodien Organoklorinler (örn. Endosulfan). Grup 3 Sodyum kanalı modülatörleri 3A Piretroidler, Piretrinler (örn. Bifenthrin, Halfenprox). Grup 6 Glutamat kapılı klorid kanalı (GluCl) allosterik modülatörleri Avermektinler, Milbemisiner (örn. Abamectin, Milbemectin). Grup 19 Oktopamin reseptör agonistleri Formamidinler (örn. Amitraz) Grup 32 Nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR) allosterik modülatörler, bölge II GS-omega/kappa HXTX-HV1a Peptidi
Solunum Etkililer Grup 12 Mitokondriyal ATP sentaz inhibitörleri 12A Diafenthuron, 12B Organotinler (örn. Azocyclotin, Fenbutatin oxide), 12C Propargite. Grup 13 Proton Gradientini Bozma Yoluyla Oksidatif Fosforilasyon Ayırıcılar Pyrrolier (Chlorfenapyr), Dinitrophenoller (DNOC) ve Sulfonamidler (Sulfluramid). Grup 20 Mitokondriyal kompleks III inhibitörleri 20B Acequinocyl, 20C Fluacrypyrim, 20D Bifenazate. Grup 21 Mitokondriyal kompleks I inhibitörleri 21A METI akarisitleri (örn. Fenazaquin, Pyridaben, Tebufenpyrad). Grup 25 Mitokondriyal kompleks II inhibitörleri 25A beta-Ketonitriller (Cyenopyrafen, Cyflumetofen), 25B Karboksanilidler (Pyflubumide).
Büyüme ve Gelişme Düzenleyiciler Grup 10 Akar Büyüme Engelleyiciler (CHS1'i etkileyenler) 10A Clofentezine, Hexythiazox, 10B Etoxazole Grup 15 Kitin Biyosentezini Engelleyiciler (CHS1'i etkileyenler) Benzoilüreler (örn. Flucycloxuron, Flufenoxuron). Grup 23 Lipid Biyosentezini Engelleyiciler Tetronik & Tetramik asit derivatları (örn. Spirodiclofen).
Etki Mekanizması Bilinmeyen Akarisitler Bu gruptaki akarisitlerin etki mekanizması ile ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle henüz sınıflandırılmamışlardır. Benzoximate, Bromopropylate, Chinomethionat, Dicofol

Günümüzde akar mücadelesinde özellikle avermektinler, sentetik piretroidler ve spiromesifen-spirodiclofen gibi asetil koa karboksilaz inhibitörleri sıklıkla tercih edilmektedir (İnak ve Çobanoğlu 2016). Akarlarla mücadelede bir diğer önemli grup ise solunum etkili akarisitlerdir.

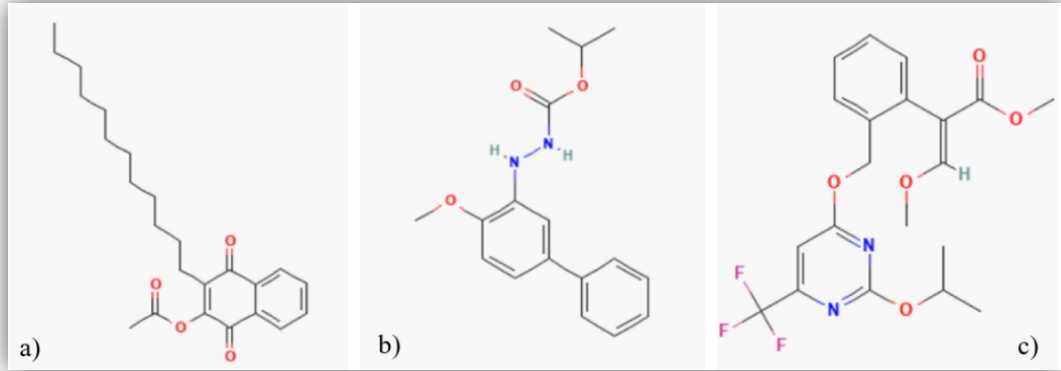
Mitokondri hücrenin “güç merkezi” olarak isimlendirilmiştir (Siekevitz 1957). Kendine ait DNA’ya sahip ve çift zarlı bir yapıya sahip olan bu organel üzerinde yapılan çalışmalar arttıkça bu organelin hücre içi dengelerin sağlanmasında önemli rolü olduğu anlaşılmıştır (Jensen 1966; Nolfi-Donagan vd. 2020). Mitokondrinin en önemli fonksiyonu elektron taşıma zinciri (ETZ) ve oksidatif fosforilasyon yolu ile enerji üretmektir. Bu üretimi de mitokondri içinde bulunan beş transmembran kompleks sayesinde gerçekleştirir. Bu kompleksler: kompleks I (NADH: ubikünon oksidoredüktaz), kompleks II (süksinat dehidrogenaz), kompleks III (sitokrom Q_o bc₁ kompleksi) ve kompleks IV (sitokrom c oksidaz) olarak isimlendirilir. Bu işlemler sonrasında oluşan proton gradyanı ATPaz (bazı kaynaklarda kompleks V) tarafından ATP üretimini sağlamaktadır.

Bu kompleksleri bozarak dolayısı ile ATP üretimine engel olarak zararlıları kontrol altında tutmayı hedefleyen akarisitler mitokondriyal elektron taşıma sistemi inhibitörleri (METI) olarak isimlendirilmektedir.

Bu komplekslerin her biri farklı grup akarisitler tarafından hedeflenmektedir. Solunum etkili akarisitler olarak bilinen bu grupta birçok aktif madde bulunmaktadır. Örneğin fenazaquin, fenpyroximate, pyridaben ve tebufenpyrad gibi akarisitler kompleks I’i inhibe etmektedir.

Cyflumetofen, cyenopyrafen, pyflubumide gibi akarisitler kompleks II’yi hedefler ve toplu olarak METI-II olarak adlandırılırlar. Acequinocyl ve bifenazate, METI-III’tür ve kompleks III’ün sitokrom b Q_o cebini inhibe eder (Van Leeuwen vd. 2008; Van Nieuwenhuysse vd. 2009). Propargite, diafenthiuron ve fenbutatin oxide, ATP sentazı inhibe etmektedir (Adesanya 2021).

Kompleks III inhibitörü bazı akarisitlerin kimyasal yapıları **Şekil 1.8**'de gösterilmektedir.

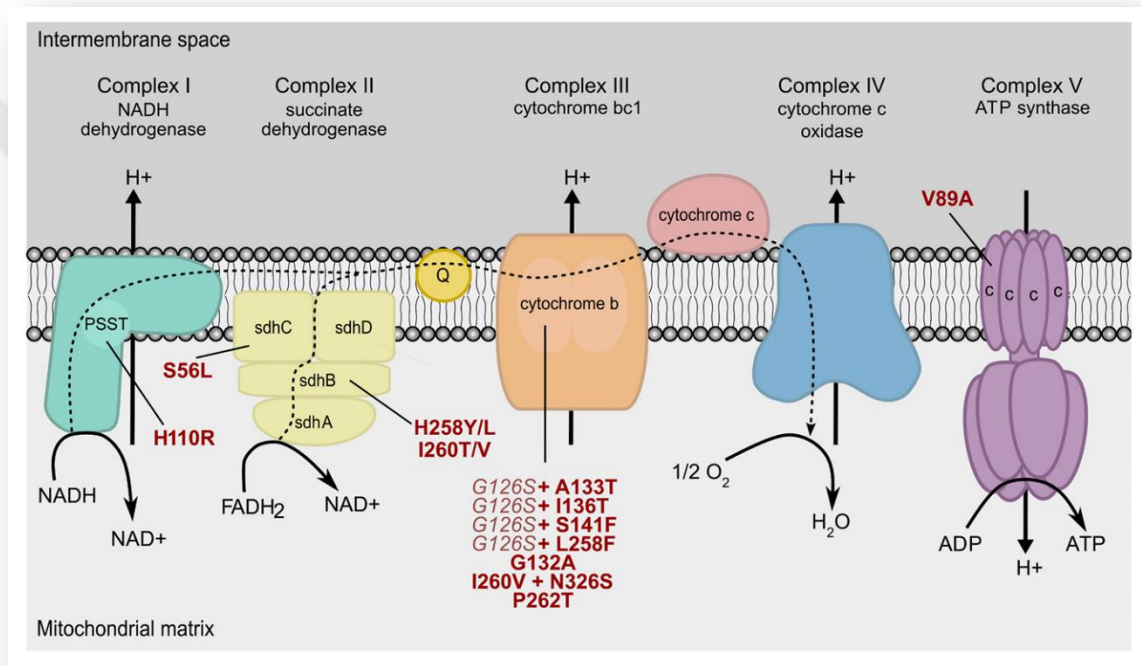


Şekil 1.6 Kompleks III inhibitörü akarisitlerin kimyasal yapıları a) acequinocyl, b) bifenazate, c) fluacyrpyrim (Anonymous 2023b)

Bu tezde üzerinde çalışılan METI akarisitlerinden kompleks III'ün inhibitörü olan acequinocyl, 1970'lerde DuPont tarafından geliştirilmiş bir bileşiktir (Bellina ve Fost 1977). Acequinocyl keşfedildikten yaklaşık yirmi yıl sonra Agro Kanesho tarafından 1999 yılında lisanslanıp ticarileştirilmiştir (Wakase ve Watanabe 1999). Acequinocyl birçok fitofag akar türünün mücadelesinde bütün gelişim dönemlerinde etkili bir şekilde kullanılmakta ve faydalı organizmalara toksisite göstermemesi nedeniyle entegre mücadelede önemli bir aktif madde olarak görülmektedir (Kim ve Yoo 2002). Bunlara ek olarak düşük memeli toksisitesi ve doğada çabuk parçalanması (DT_{50} 3 gün) gibi özellikleri ile öne çıkmaktadır (Dekeyser 2005). Bifenazate ise 1990 yılında Uniroyal Chemical tarafından keşfedilip 1999 yılında ticarileştirilmiş (Dekeyser ve McDonald 1994; Dekeyser ve McDonald 1996) bir başka kompleks III inhibitörü akarisittir. Bifenazate piyasaya ilk çıktığı zamanlarda sinir ve kas sistemi etkili bir akarisit olarak bilinirken, bifenazate direncinin tamamen maternal olarak yani anne tarafından kalıtılması ve bifenazate uygulaması sonrası ATP konsantrasyonundaki düşüşün bu aktif maddeyi METI akarisitleri sınıfına dâhil bir aktif madde olduğunu göstermiştir (Van Leeuwen vd. 2006). Daha sonra ise mitokondriyal sitokrom b'nin korunmuş Qo cebinde bulunan bir mutasyon ile bifenazate direnci ilişkilendirilmiştir (Van Leeuwen 2008). Bifenazate de tıpkı acequinocyl gibi hedef dışı organizmalara karşı toksik olmadığı rapor edilmiş bir akaristtir (Kim ve Yoo 2002). Bifenazate aktif maddesi

düşük memeli toksisitesi özelliğinin yanı sıra, bu aktif maddenin yarılanma ömrü bir günden daha kısadır (Dekeyser 2005).

Şekil 1.9'da Mitokondriyal elektron taşıma zincirinin şematize edilmiş hali ve kırmızı örümceklerin mitokondriyal komplekslerinde tespit edilmiş direnç mutasyonları gösterilmektedir.



Şekil 1.7 Kırmızı örümceklerin mitokondriyal elektron taşıma zincirinde tespit edilen mutasyonlar (De Rouck vd. 2023)

Sitokrom b’de tespit edilen mutasyonlara yalnızca kırmızı örümceklerde değil bazı avcı akarlarda da rastlanmıştır, örneğin I136T mutasyonu *Typhlodromus verrucosus*’da; S141F mutasyonu ise *Typhlodromus rhenanoides*, *Typhlodromus ilicis*, *Typhlodromus aestivalis*, *Typhlodromus laurae* ve *Typhlodromus exhilarates*’de tespit edilmiştir (Bajda vd. 2022; De Rouck vd. 2023)

2. KAYNAK ÖZETLERİ

METI akarisitlerinin *Tetranychus urticae* popülasyonlarındaki etkileri üzerine yapılan çalışmalar aşağıdaki gibidir.

Herron ve Rophail (1998), tarlada tebufenpyrad uygulaması başarısız olmuş bir *T. urticae* popülasyonunda 63 kat tebufenpyrad direnci, 210 kat pyridaben direnci ve 24.6 kat fenpyroximate direnci tespit etmişlerdir.

Devine ve Khambay (2001), Avrupa Kıtası'ndaki ilk METI-I (Mitokondriyal Kompleks I Elektron Taşıma Engelleyiciler) direncini tespit etmişler ve yaptıkları deneyler ile bu direncin eksik baskın olarak kalıtıldığını bildirmişlerdir.

Stumpf ve Nauen (2001), *T. urticae* popülasyonlarında P450 enzimi – pyridaben direncinin ilişkisini ortaya koymuşlardır. Buna ek olarak, pyridaben ve fenpyroximate direncinin eksik baskın olarak kalıtıldığını ve aynı etki mekanizmalı pyridaben, fenpyroximate ve tebufenpyrad akarisitleri arasında çapraz direnç bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Kim vd. (2006), pyridaben ile 20 jenerasyon boyunca seleksiyon gerçekleştirmiş ve bu *T. urticae* popülasyonunda yaptıkları sinerjizm testleri ile pyridaben direncinde P450 enzim familyasının rolünü ortaya koymuşlardır.

Van Leeuwen vd. (2008), bifenazate dirençli popülasyonlarda yaptıkları çalışmalarda sitokrom b'nin Q_o cep pozisyonunun yüksek oranda korunmuş cd 1 sarmalında dirençle ilişkili G126S, I136T, S141F ve P262T mutasyonlarını rapolarmışlardır.

Van Pottelberge vd. (2009), kompleks- I akarisitlerine farklı oranlarda duyarsızlığa sahip *T. urticae* popülasyonunda gerçekleştirdikleri çalışmada sitokrom P450 monooksijenaz enziminin 23.5- kat artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, pyridaben direncinin P450 ve esteraz inhibitörü olan PBO (Piperonyl butoxide) ve DEF (S,S,S-

tributyl phosphorotrithioate) sinerjistleri ile azaldığı bildirilmiştir. Pyridaben direncinin dominant ve monogenik olduğunu raporlamışlardır.

Van Nieuwenhuyse vd. (2009), bifenazate dirençli iki popülasyonda acequinocyl çapraz direnci raporlamışlardır.

Lee vd. (2010) on yıl boyunca laboratuvarında 450 kereden fazla bifenazate ile selekte ettikleri bir popülasyonda yaptıkları çalışmada, selekte ettikleri popülasyonun 855.9 kat bifenazate direnci kazandığını raporlamışlardır. Ayrıca selekte edilmiş popülasyonun 614 kat acequinocyl ve 9.1 kat chlorfenapyr direnci kazandığı da bildirilmiştir. Ek olarak Kore’de çeşitli bölgelerden topladıkları üç adet popülasyondan biri (KJ) 694.5-kat bifenazate direnci göstermiştir. KJ popülasyonu ve bifenazate ile selekte edilmiş popülasyonda daha önce tespit edilmiş G126S mutasyonu bulunduğunu da bildirmişlerdir.

Khajehali vd. (2011), Hollanda gül seralarından elde ettikleri *T. urticae* popülasyonları üzerinde çeşitli akarisitlerle yaptıkları denemelerde kompleks III inhibitörü acequinocyl ve bifenazate direncine karşılık geldiği daha önce bulunan mutasyonları, bu çalışmanın gerçekleştirildiği popülasyonlarda da tespit etmekle beraber, kombinasyon halinde G126S + S141F mutasyonları 100 kat acequinocyl direncine karşılık gelirken, G126S + I136T mutasyonunun acequinocyl direncinde rolü olmadığını bildirmişlerdir

Tirello vd. (2012), İtalya’da tarla popülasyonlarında yaptıkları toksisite denemelerinde bu popülasyonların bifenazate aktif maddesine karşı oldukça duyarlı olduklarını raporlamışlar ve yaptıkları moleküler analizlerde daha önce bifenazate direnci ile ilişkilendirilmiş hedef yeri mutasyonlarının hiçbirinin bu popülasyonlarda bulunmadığını bildirmişlerdir.

Yorulmaz ve Sarıtaş (2014), yaptıkları çalışmada 6 kez acequinocyl ile seleksiyon gerçekleştirdikleri *Tetranychus urticae* popülasyonunu, başlangıç seviyesinden 122- kat dirençli hale getirmişlerdir. Ardından elde ettikleri dirençli popülasyonda çeşitli

insektisitler ile çapraz direnç denemeleri gerçekleştirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre selekte edilmiş popölasyon, başlangıç popölasyonuna göre 15.3- kat bifenazate, 5.2- kat spiroadiclofen, 6.6- kat hexythiazox, 4.4- kat etoxazole ve 8.8- kat milbemectin direnci göstermiştir.

Khalighi vd. (2016), kompleks II'nin inhibitörleri olan cyflumetofen, cyenopyrafen ve pyflubumide arasında çapraz direnç olduğunu raporlamışlardır.

Riga vd. (2015), cyenopyrafen ve fenpyroximate akarisitlerinin CYP392A11 tarafından hidrolize edildiğı bildirmişlerdir.

Riga vd. (2017) tarafından yapılan geri çaprazlama deneyinde, G126S + S141F mutasyonlarının kombinasyon halinde bulunduğı geri çaprazlanmış popölasyon, hem bifenazate (2000 kat) hem de acequinocyl (29 kat) karşı ana popölasyona göre yüksek direnç seviyelerine yol açmıştır. Diğer yandan tek başına P262T mutasyonunun geriye çaprazlanması sonucu, 500 kat direnç bifenazate direncine karşılık gelse de acequinocyl direncine karşılık gelmediğini bildirmişlerdir.

Bajda vd. (2017), METI-I dirençli *T. urticae* popölasyonlarında kompleks I'in PSST homologunda H92R mutasyonunu rapor etmişlerdir.

Pavlidı vd. (2017), TuGSTd05 geninin cyflumetofen bileşığının detoksifikasyonunda önemli rolü olduğunu raporlamışlardır.

Snoeck vd. (2019), mitokondriyal elektron taşıma zincirinin kompleks I indeki direnç mekanizmalarını sitokrom P450 mono-oksigenazlar ve hedef yeri mutasyonları ile ilişkilendirmiş ve bu nedenle karmaşık olarak nitelendirmiştir. Fenpyroximate, pyridaben ve tebufenpyrad direncinde her üç aktif madde için de H92R mutasyonunun rolü olduğu raporlanırken, pyridaben ve tebufenpyrad direncinde P450'lerinde rolü ortaya konulmuştur.

İnak vd. (2019), gerçekleştirdikleri çalışmada Türkiye’de uzun yıllardır kullanılan abamectin, pyridaben ve bifenazate gibi aktif maddelere karşı *T. urticae*’nin direnç durumunu gözlemlemişlerdir. METI akarisitlerinden pyridaben ve bifenazate direncine karşılık gelen mutasyonların test edilen popülasyonlarda tespit edilmediğini raporlamışlardır.

Chen vd (2019), tarla popülasyonlarında ve laboratuvar seleksiyonu popülasyonlarda kimyasal yapıları birbirine benzeyen kompleks II’nin inhibitörleri cyenopyrafen ve SYP-9625 arasında çapraz direnç belirlenirken kompleks III inhibitörü bifenazate ile çapraz direnç gözlemlememişlerdir.

Shi vd. (2019), A269V mutasyonu ile bağlantılı düşük düzeyde bifenazate direnci rapor etmişlerdir.

Kim vd. (2019), 16 yıl boyunca laboratuvarında acequinocyl ile selekte ettikleri bir *T. urticae* popülasyonunda hassas popülasyona göre 4200- kat direnç tespit etmişlerdir. PBO (Piperonil Butoksit) ve TBP (S,S,S-tribütil-fosforotritiyoat) sinerjisitleri uygulanmış durumlarda toksisitenin önemli ölçüde arttığını da raporlamışlardır. Ayrıca bu popülasyonun bireylerinin %85.5-98.5’inde mitokondriyal sitokrom b’de I256V mutasyonu, %99’unda ise N321S mutasyonu tespit etmişlerdir.

Sugimoto ve Osakabe (2019), laboratuvarında selekte ettikleri bir *T. urticae* popülasyonunda, hassas bir popülasyona göre 19.8-38.1- kat acequinocyl direnci ve 15.9-37.5- kat bifenazate direnci gözlemlemişlerdir. Ayrıca bir P450 inhibitörü olan piperonil butoksit (PBO) ile acequinocyl direncinin güçlü bir sinerjizm gösterdiğini bildirmişlerdir. Hedef bölgede G126S mutasyonunu tespit etmişlerdir ancak acequinocyl-bifenazate çapraz direnci arasındaki ana etmenin bu mutasyon değil P450 enzimleri olduğunu rapor etmişlerdir.

Fotoukkaia vd. (2020), sitokrom b’nin Q₀ bölgesinde G132A ve daha önce *P. citri*’de acequinocyl ve bifenazate direncine neden olduğu raporlanmış G126S+A133T

mutasyonlarını *T. urticae*'de bildirmişlerdir. G132A mutasyonu yüksek düzeyde bifenazate direncine karşılık gelirken acequinocyl için aynı durumu gözlememişlerdir. G126S+A133T mutasyonu ise yüksek düzeyde acequinocyl direncine neden olduğu bildirilirken bifenazate için orta düzeyde dirence karşılık geldiği raporlanmıştır.

Choi vd. (2020), acequinocyl ve pyridaben ile yaptıkları çalışmada kullandıkları iki adet *T. urticae* popülasyonundan biri 1798.6- kat acequinocyl direnci, diğeri ise 5555.6-kat pyridaben direnci göstermiştir. Çalışmada baktıkları çapraz direnç durumunda ise acequinocyl dirençli popülasyon, pyridabene karşı direnç gösterirken; pyridaben dirençli popülasyon acequinocyl direnci göstermediğini raporlamışlardır. Acequinocyl dirençli popülasyonun, sitokrom b'de I256V ve N321S ve PSST'de H92R nokta mutasyonlarını bulundurduğu rapor edilirken, pyridaben dirençli popülasyonda H92R mutasyonu olmasına karşın I256V ve N321S nokta mutasyonları bulunmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca acequinocyl dirençli popülasyonda artışı gözlemlenen GST metabolizmasının ve GST-delta ekspresyonunun acequinocyl direncinde rolü olabileceğini bildirmişlerdir.

Alavijeh vd. (2020), *P. citri* üzerinde yaptıkları çalışmada 7 farklı popülasyonda fenpyroximate direncinin moleküler ve biyokimyasal mekanizmaları üzerinde durmuşlardır. Dirençli olarak belirlenen dört popülasyonda daha önce raporlanan H92R mutasyonunu bulundugunu bildirmişlerdir. Ayrıca bir adet popülasyonda H92R mutasyonuna ek olarak daha önce raporlanmamış bir mutasyon olan A94V mutasyonunu bildirmişlerdir. Yaptıkları geriye çaprazlama deneyi ile bu mutasyonun yaklaşık 10 kat dirence karşılık gelen bir mutasyon olduğunu da doğrulamışlardır. Ek olarak CRISPR-Cas9 yöntemi ile *D. melanogaster*'in PSST homologuna A94V mutasyonu yerleştirilmiş ancak bu değişiklik sineklerde fenpyroximate direncine karşılık gelmemiştir.

Simma vd. (2020), Etiyopya'da taradıkları popülasyonlarda kompleks III inhibitörü bifenazate direnci rapor etmezken, popülasyonların yarısında kompleks I'in PSST alt ünitesinde H92R mutasyonunu rapor etmişlerdir.

Bajda vd. (2021), *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot üzerinde bifenazate, cyflumetofen ve fenbutatin oxide uygulamaları gerçekleştirmiş ve bu üç akarisit de *P. persimilis* üzerinde toksik olmadığı ve yumurta koymasına engel olmadığını tespit etmişler, ayrıca yapılan moleküler analizler sonucunda *P. persimilis*'in sdhB alt ünitesinde I260M, sitokrom b'de ise I136T ve S141F mutasyonlarını raporlamışlardır.

Bergeron ve Schmidt-Jeffris (2021), çilek tarlalsından elde edilen *T. urticae* popülasyonunun bifenthrine karşı oldukça dirençli olduğu ve fenbutatin oxide'ye karşı duyarlılığının azaldığını tespit edilmiştir. Hexythiazox, etoxazole, acequinocyl, bifenazate, fenpyroximate, spiromesifen veya cyflumetofene direnç tespit edilememiştir.

Papapostolou vd. (2021), 28 kat pyridaben ve fenpyroximate direncine sahip bir *T. urticae* popülasyonun A55T mutasyonuna da sahip olduğu bildirilmiştir ancak bu mutasyonun fonksiyonel doğrulanması henüz yapılamamıştır.

Xue vd. (2021), 38 adet tarla popülasyonunu incelemişler ve daha önce bildirilmiş olan G126S mutasyonuna sahip 9 popülasyona bifenazate uygulaması yapmışlardır. Bifenazate uygulanan 9 popülasyonun hepsinin bifenazate duyarlı olduğunu raporlamışlardır. Bu da G126S mutasyonunun bifenazate direnci için tek başına yeterli olmadığını ve bifenazate direnci teşhisi için kullanılamayacağını ortaya çıkarmıştır. Ek olarak G126S mutasyonuna sahip 9 popülasyonun 6 tanesine acequinocyl uygulaması yapmışlar ve bu popülasyonların acequinocyl direncine de sahip olmadıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca G126S+S141F, G126S+I136T ve P262T mutasyonu taşıyan popülasyonların yüksek bifenazate direncine sahip olduğunu raporlamışlardır.

Xue vd. (2022), kompleks I'in PSST homologunda daha önce raporlanan H92R METI-I hedef yeri mutasyonunu, inceledikleri tebufenpyrad ve fenpyroximate dirençli popülasyonlarda yüksek frekanslar ile bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca tebufenpyrad ve fenpyroximate arasında bir çapraz direnç söz konusu olduğunu da raporlamışlardır. Yapılan sinerjizm denemeleri ile bu dirençte mutasyonun tek faktör olmadığını çoklu bir direnç mekanizmasının söz konusu olduğunu bildirmişlerdir.

Itoh vd. (2022), çok yüksek pyridaben direncinin oluşabilmesi için H92R mutasyonunun P450 enzimi artışı ile birlikte olması gerektiğini bildirmişlerdir.

İnak vd. (2022), *T. urticae*'nin cyflumetofen akarisitine karşı uzun dönemde direnç gelişimini gözlemledikleri çalışmada 28 adet tarla popülasyonunu incelemişlerdir. İlk dirençli popülasyonu cyflumetofen ruhsatlandıktan 3 yıl sonra 2019'da tespit etmişlerdir. Aynı yıl son derece yüksek seviyede dirençli (1722-kat) bir tarla popülasyonu daha tespit edilmiştir. Dirençli popülasyonun laboratuvarında bir yıl boyunca seleksiyon baskısı olmaksızın yetiştirilmesinin ardından direnç seviyesinde düşüş gözlenmemesi popülasyonda direnç kaynaklı uyum bedeli olmadığına dair bir kanıt olarak öne sürülmüştür. Sinerjizm denemeleri sonucunda, cyflumetofen direncinde P450 monooksijenazların rol oynadığını bildirmişlerdir. Son olarak, kompleks II'nin B alt biriminde yeni H258L mutasyonunu tarla popülasyonunda tespit etmişlerdir ancak fonksiyonel doğrulamasını henüz gerçekleştirmemişlerdir.

Njiru vd. (2022), kompleks II'nin SdhB alt ünitesinde oluşan H258Y mutasyonu cyenopyrafen ve pyflubumide akarisitlerinin bağlanmasını olumsuz etkilerken, aynı etki mekanizmasına sahip cyflumetofenin daha iyi bağlanmasına yol açtığı rapor etmişlerdir.

Lu vd. (2023), yaptıkları çalışmada acequinocyl ve bifenazate dirençli bir popülasyonda bu ilaçların hedef yerinde yeni L258F mutasyonunu bildirmişlerdir. Ayrıca söz konusu popülasyondaki dirençte bu mutasyonla beraber P450 CYP392A11 geninin bifenazate direncinde rolü olduğunu raporlamışlardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Araştırmanın ana materyalini Türkiye'nin çeşitli illerinden elde edilmiş *Tetranychus urticae* popülasyonları, acequinocyl ve bifenazate akarisitleri oluşturmaktadır. Ek olarak; otomatik pipet seti (Eppendorf), 500 mililitrelik piset, hidrofil rulo pamuk, disk pamuk, fasülye bitkisi, 9 santimetrelik petri kapları, toprak, stereo mikroskop, fırça, 1.5 mililitrelik tüpler, 15-50 mililitrelik falkon tüpleri, termal döngüleyici (BioRad T100), PCR master mix (Takara EmeraldAmp Max PCR mix), primerler, santrifüj (mikro 200, Hettich), mini santrifüj (FVL2400N, Biosan), elektroforez (Biometra compact XS/S, Analytik Jena), DNA izolasyon kiti (Qiagen Dneasy Blood and Tissue Kit), RNA izolasyon kiti (PureLink™ RNA Mini Kit Thermo Scientific) , kuru blok-çalkalayıcı (TS-100, Biosan), spektrofotometre (NanoDrop™ 2000, Thermo Scientific) saf su cihazı (Milipore), UV transillüminatör (SmartView MUVB-122 serisi), Etüv (Heraus, Thermo Scientific), Otoklav (Nüve), inkübatör (Nüve), ilaçlama kulesi, çeşitli akarisitler, sinerjistler, -20 derece dondurucu , -80 derece dondurucu ve pipet uçları, pestle gibi sarf malzemeleri kullanılmıştır (**Şekil 3.1**).



Şekil 3.8 a-j) moleküler çalışmalarda kullanılan bazı cihazlar ve sarflar.

3.2 Yöntem

Çalışma için toplanan popülasyonlar Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü iklim odalarında 25 ± 2 °C, %60 nem ve 16:8 aydınlık:karanlık kontrollü koşullarda yetiştirilmiştir. Toksisite denemeleri ilaçlama kulesi (Burkard scientific, İngiltere) ile ilaçlama odasında gerçekleştirilmiştir. Akar popülasyonlarını beslemek için fasülye bitkisi kullanılmıştır. Fasülye bitkileri de iklim odalarında saksılarda yetiştirilmiştir.

3.2.1 Akar popülasyonlarının elde edilmesi

Bu çalışmanın ana materyalini oluşturan 10 adet *Tetranychus urticae* popülasyonunun büyük çoğunluğu Akdeniz Bölgesi illeri Antalya ve Mersin'den elde edilmiştir. 1 adet popülasyon ise Ankara ilinden elde edilmiştir (**Çizelge 3.1**). Türkiye'de bu zararlının yoğun olarak konukçusu olduğu bitkilerin üretim yeri olan Antalya ve Mersin ilindeki ilaçlama yoğunluğu ve uygulanan akarisit çeşitliliğinden dolayı bu iller öncelikli olarak tercih edilmiştir. Bütün popülasyonlar sera ve kesme çiçek yetiştiriciliği yapan işletmelerden toplanmıştır. Ayrıca 1965'ten bu yana pestisite maruz kalmayan pek çok çalışmada referans bir hassas popülasyon olan GSS (German Susceptible Strain) popülasyonu da laboratuvarda yetiştirilmiştir. GSS popülasyonu Prof. Dr. Thomas Van Leeuwen (Gent Üniversitesi, Belçika) ve Dr. Ralf Nauen (Bayer AG, Monheim, Almanya) tarafından sağlanmıştır. Laboratuvar koşullarına getirilen kırmızı örümcekler iklim odalarında kontrollü koşullarda kültüre alınmıştır.

Laboratuvara getirilen popülasyonları kültüre almak için kullanılan Bugdorm (MegaView Science Co., Ltd., Tayvan) kafes ve kültüre alınmış bir *T. urticae* popülasyonu **Şekil 3.2**'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.3 Araziden toplanmış akar popülasyonları hakkında genel bilgiler

İsim	Konukçu	Lokasyon	Toplama tarihi
Tu1	Biber	Serik/Antalya	12/11/2021
Tu2	Biber	Aksu/Antalya	12/11/2021
Tu3	Domates	Etimesgut/Ankara	18/11/2021
Tu4	Karanfil	Kepez/Antalya	08/03/2022
Tu5	Domates	Korkuteli/Antalya	05/08/2022
Tu6	Fasülye	Gazipaşa/Antalya	06/05/2022
Tu7	Hıyar	Serik/ Antalya	04/09/2022
Tu8	Krizantem	Aksu/Antalya	15/09/2022
Tu9	Patlıcan	Tarsus/Mersin	25/01/2023
Tu10	Pamuk	Kepez/Antalya	10/08/2023



Şekil 3.2 Akar popülasyonlarının yetiştirildiği kafesler

3.2.2 Kırmızı örümcek popülasyonlarının teşhisi

Araziden toplanan akarların teşhisi Jeppson (1975)'de anlatılan klasik morfolojik yöntem ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.3 Akarisitler

Arazi popölasyonları üzerinde IRAC Grup 20B mitokondriyal solunum zinciri kompleks III'ün inhibitörü olan acequinocyl (Kanemite 156 g/L SC) ve aynı etki mekanizmasına sahip IRAC Grup 20D bifenazate (Floramite 240 g/L SC) denenmiştir. Her iki akarisit de öldürücü etkisini enerji metabolizmasını bozarak gerçekleştirdiği bilinmektedir. Diğer denemeler için kullanılan akarisitler ise abamectin (Torpedo®; 18 gL⁻¹ EC), spiromesifen (Fibon®; 240 gL⁻¹ SC) ve pyridaben (Puzzle®; 20% WP)'dir.

3.2.4 Biyoassay denemeleri

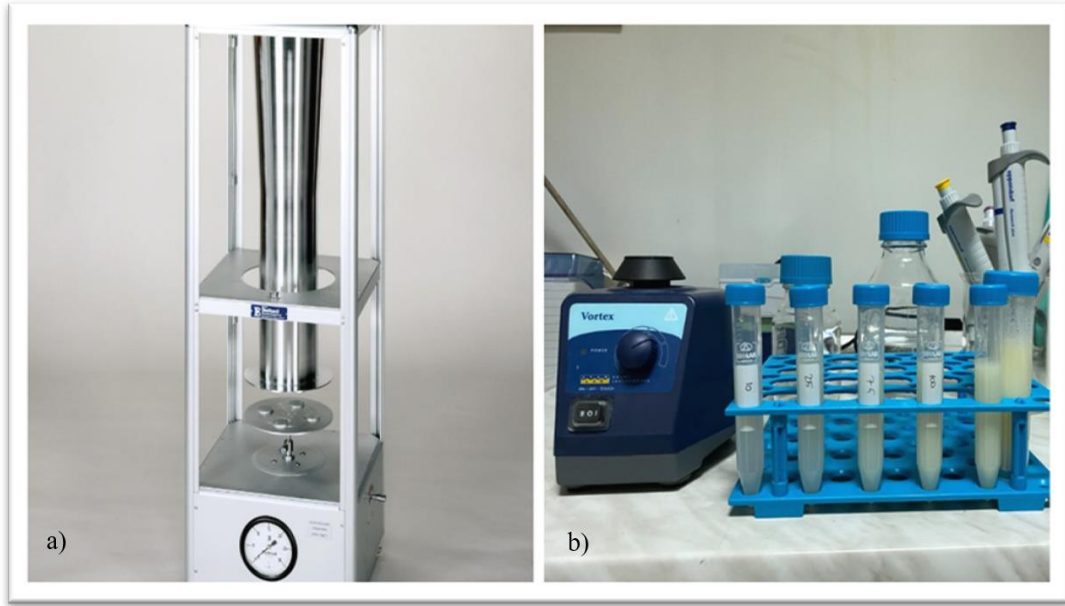
Biyoassay denemeleri, IRAC (<https://iraonline.org>) metodu referans alınmış olup, bu metod modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir.

Biyoassay adımları;

- Çapı 90 mm olan petri kaplarına disk pamuklar yerleştirilip ıslatılmıştır. Islak pamukların üzerine 9 cm²'lik kare şeklinde kesilmiş fasülye yaprakları yerleştirilmiştir.
- Fasülye yapraklarının dört kenarına da havlu kâğıttan şeritler halinde kesilmiş bariyerler yapıldıktan sonra bu yapraklara ince uçlu fırça yardımı ile en az 20 adet ergin *Tetranychus urticae* dişi aktarılmıştır.
- Uygulanacak dozlar belirlenirken, birbirinden uzak 3 doz (10-100-500 mg a.i./L) belirlenerek ön denemeler gerçekleştirilmiştir.
- Denemeler, her doz en az 3 tekerrür olacak ve yüzde olarak 5 farklı ölüm oranı veren doz olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan dozlar, petrilere ilaçlama kulesi (**Şekil 3.3**) ile (Burkard scientific, İngiltere) uygulanmıştır. Uygulama 1 atmosfer basınç altında 2 mililitre akarisit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her denemede mutlaka kontrol petrilere hazırlanmıştır ve bu petrilere yalnızca distile su uygulanmıştır. Hiçbir denemede, kontrol petrilelerindeki ölüm %10'u aşmamıştır.
- Uygulamanın ardından petrilere sayım gününe kadar büyük bir tepsi ile 25±2 °C sıcaklık ve 16:8 fotoperiyot koşullarına sahip iklim odalarına bırakılmıştır.

- Ölü canlı sayımları acequinocyl için 24. ve 72. saatte, bifenazate için ise sadece 24. saatte gerçekleştirilmiştir. Fırça ile dokunulduğunda kendi boyunun 2 katı mesafe kadar hareket edemeyen akarlar ölü olarak değerlendirilmiştir.
- Elde edilen sonuçların PoloPC paket programı ile probit analizi gerçekleştirilmiştir, popülasyonun yarısını (LC₅₀) ve yüzde doksanını (LC₉₀) öldürecek dozlar hesaplanmıştır.

Acequinocyl *Tetranychus urticae* yumurtaları üzerinde de etkili olduğu bilinen bir akarısittir. Bu çalışmada yer alan popülasyonlar içerisinde dirençli olarak belirlenen popülasyonlarda acequinocyl'in yumurtalar üzerindeki etkinliğini incelemek için deneme ortamları yukarıdaki gibi hazırlanmıştır ve deneme İnak vd. (2019) tarafından daha önce anlatıldığı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde kısaca ortamlara 6-7 adet ve 3-4 günlük ergin dişi *Tetranychus urticae* bireyleri aktarılmıştır ve 24 saat boyunca yumurtlamalarına izin verilmiştir. 24 saatin sonunda ergin bireyler ortamdaki uzaklaştırılmıştır ve ilaçlama kulesi (Şekil 3.3) ile acequinocyl uygulaması gerçekleştirilmiştir. Sadece su uygulanan kontrol grubu düzenli olarak gözlemlenmiş ve kontrol grubundaki yumurtaların tamamı açıldıktan sonra ölü canlı sayımları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçların PoloPC paket programı (Robertson vd. 1980) ile probit analizi gerçekleştirilmiştir, popülasyonun yarısını (LC₅₀) ve yüzde doksanını (LC₉₀) öldüren dozlar hesaplanmıştır.



Şekil 3.9 a) Çalışmada kullanılan ilaçlama kulesi, b) ilaç dozlarının hazırlanmış hali

3.2.5 Seleksiyon çalışmaları

Seleksiyon için seçilen popülasyon, stok kültüründen ayrı olarak yeni bir kültüre alınmıştır. Bu kültürü beslemek için kullanılacak fasülyelere çeker ocak altında 200 ml akarisit su karışımı bütün yapraklarının altına ve üstüne gelecek şekilde püskürtülerek, fasülyeler kurumaya bırakılmıştır. Tu4 popülasyonuna 500 mg a.i./L ile Tu8 popülasyonuna ise 1000 mg a.i./L acequinocyl uygulanarak seleksiyona başlanmıştır. Ardından gelen nesillerde daha yüksek dozlara ulaşılarak Seleksiyon sonunda ise LC_{50} verilerini belirlemek için İnak vd. (2023)'de belirtilen yöntem ile biyoassay gerçekleştirilmiştir. Kuruyan fasülyeler bu popülasyonu beslemek için kullanılmıştır. Popülasyonun çoğalma durumu gözlenmiş ve hiçbir zaman önceki akarisit konsantrasyonundan daha düşük bir doz ile seleksiyon yapılmamıştır.

3.2.6 Çapraz direnç denemeleri

Çapraz direnç, bir popülasyonun maruz kaldığı pestisite karşı kazandığı direncin, maruz kalmadığı bir başka pestisite karşı dirence karşılık gelmesidir (Tabashnik vd. 2014).

Çalışma için seçilen acequinocyl aktif maddesi ile aynı hedef yerine etki eden bifenazate ile de bütün popülasyonlara toksisite denemeleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca seleksiyon öncesi ve sonrası popülasyonlarda ülkemizde en sık kullanılan akarisitlerden abamectin (Torpedo®; 18 gL⁻¹ EC), spiromesifen (Fibon®; 240 gL⁻¹ SC) ve pyridaben (Puzzle®; 20% WP) ile direnç gelişimini belirlemek amacı ile çapraz direnç denemeleri gerçekleştirilmiştir. Abamectin ve pyridaben denemeleri acequinocyl gibi ergin kırmızı örümceklere yapılırken, spiromesifen denemesi İnak vd. (2023)'e göre larva dönemine yapılmıştır.

3.2.7 Sinerjizm denemeleri

Monooksijenazlar, esterazlar ve glutatyon s-transferazlar insektisit ve akarisitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan bazı enzimlerdir. Bu enzimlerin acequinocyl direncindeki etkinliğini ölçmek amacıyla sinerjizm denemeleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında monooksijenaz enzim inhibitörü PBO (piperonyl butoxide), esteraz enzimi inhibitörü DEF (S,S,S, tributyl phosphotriothioate) ve GST enzimi inhibitörü DEM (diethyl maleate); AlpKent (2020)'de tarif edildiği şekilde 1:1 oranında saf su ve aseton ile çözdürülmüştür. Çözdürülen sinerjisitler, akarisit uygulanacak bütün petri ortamlarına 2 ml olacak şekilde püskürtülmüştür. Akarisit uygulaması sinerjisit püskürtüldükten dört saat sonra gerçekleştirilmiştir.

3.2.8 Hedef-bölge nokta mutasyonlarının taranması

Direnç neden olduğu bilinen veya yeni hedef bölge nokta mutasyonlarını taramak için İnak vd. (2019)'da anlatıldığı şekilde en az 100 adet ergin dişi bireyden toplu şekilde DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonu Qiagen Dneasy Blood and Tissue kit (Hilden, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. DNA izolasyonu yapılırken aşağıdaki adımlar takip edilmiştir.

- 100 adet ergin dişi akar 1.5 mililitrelik steril tüplere alınmıştır.
- 180 µL buffer ATL ve 20 µL proteinaz K eklenip, akarlar ezici plastik çubuk yardımı ile ezilmiştir. Bu aşamanın ardından ezilmiş haldeki akarlar 55°C 'de bir gece inkübasyona bırakılmıştır.

- İnkübasyonun ardından tüplere 200 µL buffer AL eklenmiş ve vorteks ile çalkalanmıştır. Tekrardan 55°C’de 10 dakikalık bir inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon bittikten sonra 200 µL %100 ethanol eklenmiş ve mikropipet yardımı ile karışması sağlanmıştır. Ardından 1.5 mililitrelik tüpteki bütün sıvı, spin columnlara alınmıştır.
- DNA’yı alkolden arındırmak için 8000 devirde 1 dakika santrifüj yapılmıştır ve filtreden tüpün içine süzülen kısım atılmıştır.
- İlk yıkama sıvısı olan Buffer AW1’den 500 µL alınmış ve 8000 devirde 1 dakika boyunca santrifüj yapılmıştır. Yine tüpün içine süzülen kısım atılmıştır.
- İkinci yıkama sıvısı olan Buffer AW2’den 500 µL alınmış ve 13000 devirde 3 dakika boyunca santrifüj yapılmıştır. Tüpün içine süzülen kısım atılmıştır.
- Son adımda filtre kısmı steril bir başka tüpe alınmıştır ve 200 µL buffer AE eklenip 1 dakika oda sıcaklığında beklendikten sonra 8000 devirde 1 dakika boyunca santrifüj yapılmıştır.

İzolasyon sonrası elde edilen DNA’lar elektroforez ve nanodrop aracılığıyla kantite ve kalite açısından kontrol edilmiştir. PCR için uygun olduğuna karar verildikten sonra, uygun primerler ile DNA çoğaltılmıştır. Acequinocyl ve bifenazate hedef etki yeri olan cytb geninin çoğaltılmasında Van Leeuwen vd. (2008) tarafından bildirilen primerler ve pcr koşulları kullanılmıştır (**Çizelge 3.2**).

PCR reaksiyonu 15 µL master mix (Takara EmeraldAmp Max PCR mix), her iki primerden 1 µL, 11 µL steril su ve 2 µL DNA (50-200 ng µL⁻¹) olacak şekilde 30 µL hacimde kurulmuştur. PCR Koşulları; 94°C’ de 2 dakikalık denatürasyon ardından, 35 döngü 94°C’ de 20 saniye, 54°C’ de 30 saniye ve 72°C’ de 60 saniye ve son olarak 72°C’ de 3 dk uzama şeklindedir.

Çizelge 3.4 Sitokrom b hedef yerine ait primerler

Primer	Sekansı (5’ – 3’)	Referans
Cytdia2F	TTAAGAACTCCTAAAACCTTTTCGTTTC	PCR
Cytdia2R	GAAACAAAATTATTATTCCCCCAC	
		Van Leeuwen vd. 2008
cytbWTF	CGGAATAATTTTACAAATAACTCATGC	Sekans
cytbWTR	TGGTACAGATCGTAGAATTGCG	
PEWYF1	AAAGGCTCATCTAACCAAAATAGG	
PEWYR2	AATGAAATTTCTGTAAAAGGGTATTC	

PCR ürünleri 1x TBE buffer ile hazırlanmış elektroforez jelinde 40 dk koşturularak kalitesi kontrol edilmiştir. Ayrıca dizileme için saflaştırma dahil sekanslama hizmeti alınmıştır.

Sekansların analizi BioEdit v.7.0.5 (Hall, 1999) bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.9 Transkriptom analizi

Transkriptom analizi için seçilen popülasyonlara ait 200 bireyden RNA izolasyonu PureLink™ RNA Mini Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific) ile 4 tekerrürlü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

RNA izolasyonu aşamaları aşağıdaki gibidir

- 100-200 ergin dişi steril tüplere aktarıldıktan sonra tüpe 600 µL Lysis buffer eklenmiş ve ezici çubuk yardımı ile ezilmiştir. Ardından 12000 devir/dakikada 2 dakika santrifüj yapılmıştır.
- Santrifüj yapılan tüpten 400 µL örnek alınıp başka bir steril tüpe aktarılmış ve üzerine 400 µL %70'lik etanol eklenmiştir. 15 saniye boyunca vorteks ile karıştırdıktan sonra 700 µL'lik kısmı spin columna aktarılmış ve 12000 devir/dakikada 25 saniye santrifüj yapılmış ve altta kalan kısım atılarak filtreli kısım muhafaza edilmiştir.
- 700 µL WB1 ekleyip 12000 devir/dakikada 30 saniye santrifüj yapıp yıkama sağlanmış ve altta kalan kısım atılarak filtreli kısım muhafaza edilmiştir.
- 500 µL WB2 eklenip 12000 devir/dakikada 30 saniye santrifüj yapılarak ikinci yıkama gerçekleştirilmiştir. Bu adım iki kere yapılmıştır.
- Ardından filtreli kısım yeni bir toplama tüpüne alınarak boş şekilde 12000 devir/dakikada 2 dakika santrifüj yapılmıştır.
- Filtre steril bir 1.5 ml'lik tüpe alınıp direkt olarak filtrenin üzerine 30 µL Rnase-free su eklenmiş ve 1 dakika bekledikten sonra 12000 devir/dakikada 2 dakika santrifüj yapılmıştır.

Elde edilen RNA'ların kalitesi spektrofotometre (Nanodrop 2000, Thermo Scientific) ve % 1'lik jelde elektroforez yardımı ile ölçülmüş ve kaliteli RNA'lar transkriptom analizine kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Transkriptom analizi için Illumina TruSeq RNA Library Preparation Kit with polyA selection (Illumina, USA) kiti kullanılmış ve Illumina Novaseq 6000 ile okumalar gerçekleştirilmiştir. Genlerin ifade düzeyinde meydana gelen değişikliklerin belirlenmesi amacıyla biyoinformatik analizler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, okuma haritalamasından önce, okumaların kalitesi FASTQC versiyon 0.11.4 ile doğrulanmıştır (Andrews 2010). Daha sonra STAR 2.5.0. kullanılarak okumalar hizalanmıştır (Dobin vd., 2013). Genlerin okuma sayısı ise HTSeq programı ile belirlenmiştir (Anders vd. 2015). Farklı ekspresyon seviyesine sahip veriler Love vd. (2014)'a göre Deseq2 programı kullanılarak değerlendirilmiştir. PCA (Principal Component Analysis) analizi R programında Deseq2 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Log2 kat değişim ($\text{Log2FC} \geq 2$) ve a Benjamini-Hochberg değerine göre hesaplanmış p -değerinin < 0.05 olması halinde genlerin istatistiki olarak farklı ifade seviyelerinin olduğu kabul edilmiştir.

Arazi koşullarından çalışma kapsamında elde edilen popülasyonlara ek olarak tüm genom projesinde kullanılan ve hassas olduğu bilinen LONDON popülasyonun da transkriptom okumaları da NCBI veri bankasından elde edilmiş ve dirençli popülasyon ile karşılaştırılmıştır (aksesyon numaraları: SRX19731008; SRX19731009; SRX19731012; SRX19731014). Her iki hassas popülasyonda da ortak artış gösteren genler direnç için önemli adayları oluşturmaktadır. (Dirençli popülasyon= R, Araziden elde edilen hassas popülasyon= S, London= L), (Dirençli popülasyon ve hassas popülasyon karşılaştırması= RvsS, Dirençli popülasyon ve London karşılaştırması= RvsL)

4. BULGULAR

Çalışma bulguları, farklı yetiştiricilik alanlarından toplanan 10 adet *Tetranychus urticae* popülasyonu (Tu1 – Tu10) ve GSS (German Susceptible Strain) ile gerçekleştirilen denemelerden elde edilmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında acequinocyl akarisitini ile toksisite denemeleri gerçekleştirilmiştir ve popülasyonların direnç durumları belirlendikten sonra direnç mekanizmaları ve çapraz direnç paternleri araştırılmıştır.

Çalışma kapsamında elde edilen bütün bulgular ile *Tetranychus urticae* popülasyonlarında acequinocyl direncinin nedenleri açıklanmaya çalışılmıştır.

4.1 Biyoassay Bulguları

Bu çalışma kapsamında çeşitli illerimizden toplanan *Tetranychus urticae* popülasyonlarında, ülkemizde ruhsatlı acequinocyl akarisitini uygulanmış ve 24. ve 72. saatlerdeki LC₅₀ değerleri belirlenmiştir (Çizelge 4.1, 4.2, ve Şekil 4.1).

Çizelge 4.5 *Tetranychus urticae* popülasyonlarının acequinocyl aktif maddesine karşı 24. saatte belirlenen saat LC₅₀ – LC₉₀ değerleri

Popülasyon	Eğim ± SE ¹	LC ₅₀ * (95% CL ²)	LC ₉₀ (95% CL)	χ ² (df)	RR ³ ₅₀
GSS	5.654±0.598	1.9 (1.7 – 2.0)	3.2 (2.8 – 3.8)	11.8(16)	1
Tu1	2.675±0.252	13.6 (11.1 – 16.3)	41.1 (32.8 – 56.4)	14.9(13)	7.1
Tu2	3.279±0.395	20.1 (16.8 – 24.5)	49.5 (37.7 – 76.5)	13.9(13)	10.5
Tu3	5.095±0.571	5.9 (5.4 – 6.6)	10.7 (9.3 – 13)	5.5 (16)	3.1
Tu 4	1.431±0.168	291.5 (186.4 – 427.8)	2291.8 (1310.4 – 6212.3)	21.8(13)	153.4
Tu5	4.248±0.626	3.9 (3.1 – 4.5)	7.8(6.7 – 9.6)	2.0(19)	2
Tu6	4.372±0.446	12.4 (10.8 – 14.0)	24.3 (20.6 – 31.1)	15.6(13)	6.5
Tu7	3.846±0.405	3.0 (2.6 – 3.4)	6.5 (5.5 – 8.1)	3.7 (13)	1.5
Tu8	1.374±0.187	488.7 (382.8 – 630.2)	4188.1 (2508.1 – 9812.7)	9.8 (13)	257.2
Tu9	8.030±1.077	15.5 (13.5 – 17.4)	22.4 (19.8 – 26.3)	10.5(16)	8.1
Tu10	2.560±0.292	8 (6.6 – 9.3)	25.4 (20.7-33.9)	6.5(13)	4.2

SE¹: Standart error – Standart hata

CL²: Confidence Limit – Güven aralığı

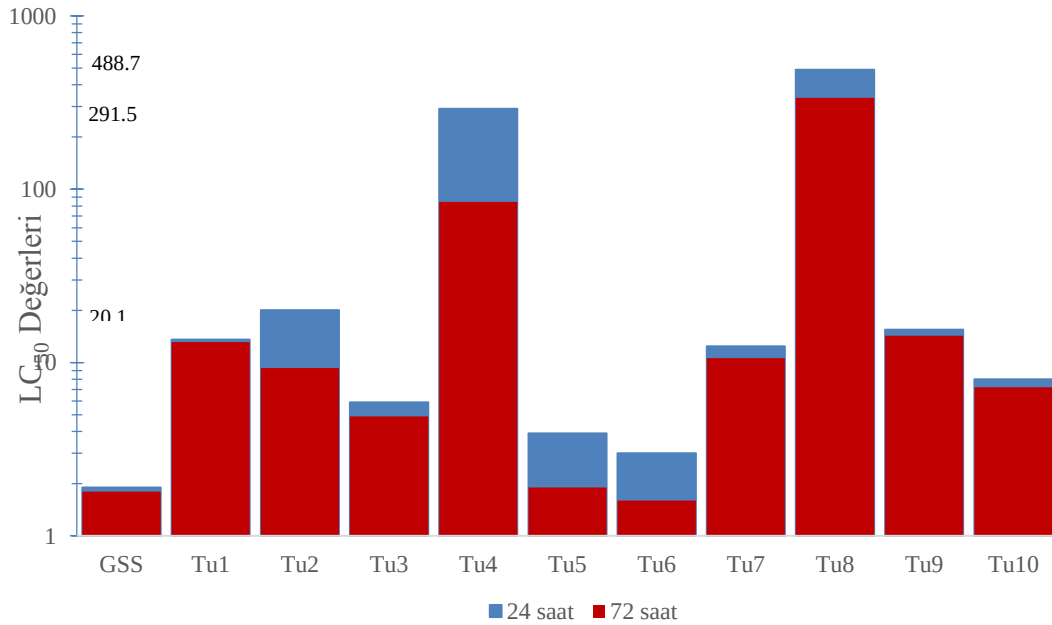
RR³: Resistance ratio – Direnç katı

LC₅₀* : (mg a.i./L)

Çizelge 4.6 *Tetranychus urticae* popülasyonlarının acequinocyl aktif maddesine karşı 72. saatte belirlenen LC₅₀ – LC₉₀ değerleri

Popülasyon	Eğim± SE ¹	LC ₅₀ * (95% CL ²)	LC ₉₀ (95% CL ²)	χ ² (df)	RR ³ ₅₀
GSS	5.755±0.592	1.8 (1.7 – 2.0)	3.1 (2.7 – 3.7)	11.3 (16)	1
Tu1	3.330±0.314	13.1 (10.7 – 15.8)	31.9 (25.6 – 43.9)	19.9 (13)	7.2
Tu2	5.543±0.681	9.3 (8.2 – 10.5)	15.9(13.8 – 19.4)	3.5 (13)	5.2
Tu3	5.886±0.700	4.9 (4 – 5.9)	8.2 (6.6 – 12.9)	54 (16)	2.7
Tu4	1.425±0.141	84.5 (48.4 – 129.7)	671.1 (421.2 – 1301.4)	20.8 (13)	46.9
Tu5	2.568±0.278	1.9 (1.5 – 2.4)	6.2 (4.9 – 8.4)	3(19)	1
Tu6	4.255±0.409	10.6 (9.5 – 11.8)	21.3 (18.6 – 25.7)	11.2 (13)	5.8
Tu7	3.396±0.405	1.6 (1.3 – 2)	3.9 (3.1 – 5.8)	18.5 (13)	0.8
Tu8	1.741±0.200	337.1 (270.3 – 411.3)	1836.5 (1323.4 – 2985.6)	10.8 (13)	187.2
Tu9	7.567±1.070	14.3 (12.3 – 16.4)	21.1(18.2 – 26.2)	16(16)	7.9
Tu10	2.638±0.308	7.2 (5.9 – 8.4)	22.2 (18.3 – 29.3)	6.4(13)	3.5

SE¹: Standart error – Standart hata
 CL²: Confidence Limit – Güven aralığı
 RR³: Resistance ratio – Direnç katı
 LC₅₀* : (mg a.i./L)



Şekil 4.10 Acequinocyl uygulamasının 24 saat ve 72 saat ardından gerçekleştirilen sayımların farkları

Uzun yıllardır pestisite maruz bırakılmadan laboratuvarında yetiştirilen GSS popülasyonunun acequinocyl'e karşı duyarlı olarak tespit edilmiştir. Direnç oranları (Resistance Ratio = RR) en hassas popülasyon olan GSS popülasyonuna oranlanarak hesaplanmıştır.

Araziden toplanan 10 popülasyon içinde 24. Saatin ardından yapılan sayımlarda elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde 2 adet popülasyonun referans popülasyona göre acequinocyl akarisitine karşı 100 ve daha fazla kat dirençli olduğu tespit edilmiştir. Tu4 popülasyonunun referans popülasyona göre 153.4 kat, Tu8 popülasyonunun ise 257.2 kat direnç seviyesine sahip olduğu gösterilmiştir. Diğer 8 popülasyon ise hassas olarak tespit edilmiş olup, LC₉₀ değerlerinin ise acequinocyl'in ruhsatlı dozunun (195 mg a.i./L) altında olduğu tespit edilmiştir.

Acequinocyl için 72. saatte gerçekleştirilen sayımlar değerlendirildiğinde ise ölüm oranlarının arttığı ve acequinocyl'in en az 3 gün boyunca öldürücülüğünün belirli oranda devam ettiği belirlenmiştir.

Acequinocyl akarisitinin önerilen tarla dozunun 195 mg/L olduğu bilinmektedir (BKÜ 2023). Buna göre Tu4 popülasyonunun %90'ını öldürmek için gerekli doz 24 saat için tarla dozunun 11.7 katı olarak hesaplanmıştır. Yine Tu8 popülasyonun %90'ını öldürmek için gereken doz ise tarla dozunun 21.4 katı olarak bulunmuştur.

Acequinocyl ile aynı etki mekanizmasına sahip bifenazate aktif maddesi de 10 adet tarla popülasyonu üzerinde test edilmiştir. On adet tarla popülasyonun bifenazate için gösterdiği sonuçlar, acequinocyl sonuçları ile benzerlik göstermektedir (**Şekil 4.2**). 24. saatte gerçekleştirilen sayımlarda elde edilen sonuçları değerlendirdiğimizde Tu1 popülasyona ait LC₉₀ değerinin bifenazate ruhsatlı dozundan (144 mg a.i./L) daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ancak aynı popülasyona ait LC₉₀ değeri acequinocyl için ruhsatlı dozun altında olarak belirlenmiştir. Acequinocyl aktif maddesine karşı dirençli olarak belirlenen Tu4 ve Tu8 popülasyonları bifenazate için de sırasıyla referans popülasyona göre 1330.5- ve 690.5-kat direnç seviyeleri göstermiştir. Tu8 popülasyonu acequinocyl'e karşı Tu4 popülasyonundan daha yüksek direnç seviyesine sahipken, Tu4

popülasyonu bifenazateye karşı Tu8 popülasyonundan daha yüksek direnç seviyeleri göstermiştir.

Çizelge 4.7 *Tetranychus urticae* popülasyonlarının bifenazate aktif maddesine karşı belirlenen LC₅₀ – LC₉₀ değerleri

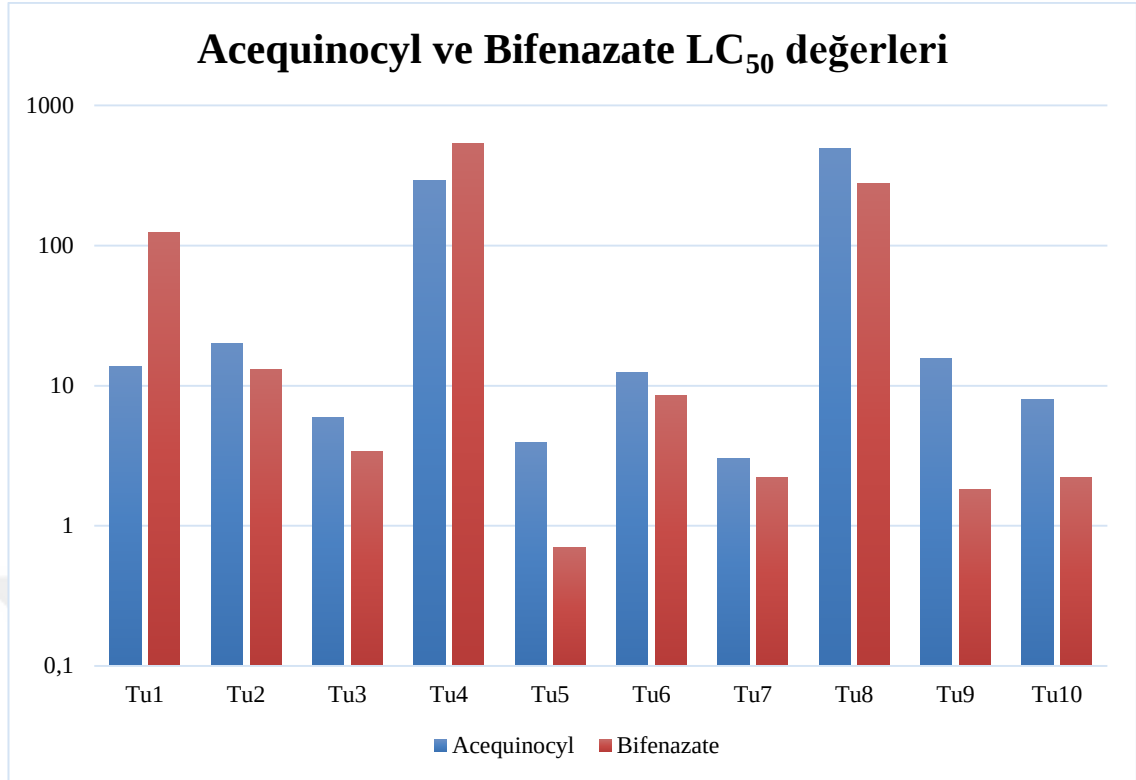
Popülasyon	Eğim±SE ¹	LC ₅₀ * (95% CL ²)	LC ₉₀ (95%CL)	χ ² (df)	RR ³ ₅₀
GSS	2.219±0.289	0.4 (0.2 – 0.6)	1.7 (1.3 – 2.4)	15.2 (13)	1
Tu1	1.781±0.153	123.1 (99.1 – 153.3)	645.4 (470.1 – 978.4)	17.4 (18)	307.7
Tu2	3.549±0.332	13.1 (9.1 – 17.5)	30.1 (21.9 – 54.0)	53.3 (13)	32.7
Tu3	4.950±0.462	3.4 (3.1 – 3.8)	6.2 (5.4 – 7.7)	21.1 (16)	8.5
Tu4	3.734±0.359	532.2 (476.3 – 588.4)	1173 (1021 – 1413.4)	12.5 (13)	1330.5
Tu5	5.366±0.579	0.7 (0.6 – 0.7)	1.2 (1 – 1.4)	11.4 (13)	1.7
Tu6	3.286±0.307	2.2 (1.8 – 2.6)	5.5 (4.5 – 7.1)	14.5 (13)	5.5
Tu7	3.607±0.312	8.5 (7 – 10.4)	19.4 (15 – 30.6)	40.1 (13)	21.2
Tu8	1.739±0.199	276.2 (207.3 – 356)	1507.7 (1027.1-2759.1)	14.7 (13)	690.5
Tu9	3.883±0.398	1.8 (1.5 – 2.1)	3.9 (3.2 – 5.1)	0.7 (13)	4.5
Tu10	2.107±0.222	2.2 (1.8 – 2.7)	9.1 (7 – 12.8)	9.8 (13)	5.5

SE¹: Standart error – Standart hata

CL²: Confidence Limit – Güven aralığı

RR³: Resistance ratio – Direnç katı

LC₅₀* : (mg a.i./L)



Şekil 4.11 *Tetranychus urticae* popülasyonlarına ait acequinocyl ve bifenazate akarisitlerinin 24. saat LC₅₀ değerleri

4.2 Seleksiyon Çalışmaları

Toksisite denemeleri sonucunda dirençli olarak belirlenen Tu4 ve Tu8 popülasyonlarında seleksiyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Dirence neden olan faktörlerin frekansını arttırmak amacı ile 5 nesil boyunca acequinocyl ile selekte edilmiştir (**Çizelge 4.3**). İlk aşamada Tu4 popülasyonu 500 mg a.i./L ile Tu8 popülasyonu ise 1000 mg a.i./L ile selekte edilmiştir. Ardından gelen nesillerde daha yüksek dozlara ulaşarak beşinci jenerasyonun sonucunda istenilen direnç seviyelerine ulaşılmıştır. Direnç seviyelerinde düşüş olmaması için popülasyonlar 5000 mg a.i./L akarisit seleksiyonunda yetiştirilmiştir.

Çizelge 4.8 Acequinocyl seleksiyonun ardından oluşan direnç durumu.

Popülasyon	Eğim± SE ¹	LC ₅₀ * (95% CL ²)	LC ₉₀ (95% CL ²)	χ ² (df)	RR ₅₀ ³
Tu4	1.431±0.168	291.5 (186.4 – 427.8)	2291.8 (1310.4 – 6212.3)	21.8 (13)	1
AceS_Tu4	1.760±0.297	19819.6 (14089.4-36339.2)	106007.5 (51824.1 – 426801.5)	8.9 (13)	67.9
Tu8	1.374±0.187	488.7 (382.8 – 630.2)	4188.1 (2508.1 – 9812.7)	9.8 (13)	1
AceS_Tu8	1.620±0.210	6281 (4599.2 – 9317.5)	38835.9 (20901.2 – 136422.8)	21.8 (13)	12.8

SE1: Standart error – Standart hata CL2: Confidence Limit – Güven aralığı

SR3: Resistance ratio – Direnç katı LC₅₀* : (mg a.i./L)

Seleksiyon çalışmaları sonunda başlangıç popülasyonuna kıyasla yaklaşık 68- ve 13- katlık dirence sahip olan iki yeni popülasyon ortaya çıkarılmıştır.

4.3 Çapraz Direnç Bulguları

Biyoassay sonuçlarına göre dirençli tespit edilen popülasyonlardan Tu4 popülasyonu ve laboratuvarında acequinocyl ile selekte ettiğimiz AceS_Tu4 popülasyonu ile ülkemizde sık kullanılan akarsitlerden abamectin, pyridaben ve spiromesifen ile çapraz direnç çalışmaları gerçekleştirilmiştir (**Çizelge 4.5**).

Çizelge 4.9 Tu4 popülasyonunun abamectin, pyridaben ve spiromesifen aktif maddelerine karşı belirlenen LC₅₀ -LC₉₀ değerleri

Popülasyon	Akarisit	Eğim ± SE ¹	LC ₅₀ * (95% CL ²)	LC ₉₀ (95%CL)	χ ² (df)	RR ₅₀ ³
Tu4	Abamectin	2.415±0.294	15.1 (10.2-20)	51.3 (35.4- 110.3)	32 (13)	1
AceS_Tu4	Abamectin	2.186±0.202	20.8 (17.1 – 24.9)	80.4 (63.1 – 110.6)	8.4 (13)	1.3
Tu4	Pyridaben	1.638±0.217	6884.5 (4818.1-11713.9)	41701.6 (20802.1 – 162821)	19.1 (13)	1
AceS_Tu4	Pyridaben		>10000			>1.5
Tu4	Spiromesifen	2.235±0.289	174.7 (140.4 – 249)	654.4 (392.1 – 2082.4)	26.9 (13)	1
AceS_Tu4	Spiromesifen	1.436±0.272	1538.4 (901.1 – 4571.5)	12011.3 (4174.9 – 115941.3)	3.1 (13)	8.8

SE1: Standart error – Standart hata CL2: Confidence Limit – Güven aralığı

SR3: Resistance ratio – Direnç katı LC₅₀* : (mg a.i./L)

Çapraz direnç çalışması sonucunda selekte edilen AceS_Tu4 popülasyonunun abamectin, pyridaben ve spiromesifen akarisitlerine karşı sırasıyla 1.3-, >1.5- ve 8.8-kat direnç geliştirdiği tespit edilmiştir.

4.4 *Tetranychus urticae*'nin Yumurtaları Üzeride Acequinocyl Akarisitinin Etkisinin Belirlenmesi

Acequinocyl dirençli tarla popülasyonu ve iki adet selekte edilmiş ve yüksek acequinocyl direnci gösteren *T. urticae* popülasyonunda yumurta biyoassayleri gerçekleştirilmiştir. Popülasyonların iki tanesinde, ergin bireylerin acequinocyl'e karşı direnç seviyeleri çok yüksek olsa da acequinocyl'in yüksek yumurta etkisi tespit edilmiştir. Diğer yandan AceS_Tu8 popülasyonun yumurtaları, ergin döneminin olduğu gibi dayanıklı olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.10 Acequinocyl akarisitinin yumurtalar üzerinde belirlenen LC₅₀ değerleri

Popülasyon	Eğim ± SE ¹	LC ₅₀ * (95% CL ²)	χ ² (df)
Tu4	1.165±0.124	10.7 (5.7 – 18)	23.8(13)
AceS_Tu4	0.479±0.078	9.5 (0.3 – 39.7)	24.4(13)
AceS_Tu8	0.522±0.075	1118 (355.7 – 6850.8)	36.9(13)

SE¹: Standart error – Standart hata

CL²: Confidence Limit – Güven aralığı

LC₅₀* : (mg a.i./L)

4.5 Sinerjizm Bulguları

Detoksifikasyon enzimlerinin rolünü anlamak amacı ile 2 adet dirençli ve 1 adet hassas popülasyonda gerçekleştirilen sinerjizm denemelerinin sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.11 Sinerjizm denemeleri sonucunda elde edilen belirlenen acequinocyl LC₅₀ - LC₉₀ değerleri

Popülasyon	Eğim ± SE ¹	LC ₅₀ * (95% CL ²)	LC ₉₀ (95%CL)	χ ² (df)	SR ³ ₅₀
Tu4	1.431±0.168	291.5 (186.4–427.8)	2291.8 (1310.4 – 6212.3)	21.8 (13)	1
Tu4+PBO	1.470±0.135	25 (16.4 – 35.2)	186.2 (125.9 – 314.2)	19 (15)	11.6
Tu4+DEM	1.718±0.175	505.5 (416.6 – 624)	2817.6 (1953.8 – 4764.7)	10.6 (16)	0.5
Tu4+DEF	2.052±0.226	185.4 (149.2 – 224.2)	781.1 (596 – 1147.1)	12.7 (13)	1.5
Tu7	3.846±0.405	3.0 (2.6 – 3.4)	6.5 (5.5 – 8.1)	3.7 (13)	1
Tu7+PBO	5.253±0.563	0.8 (0.7 – 0.9)	1.4 (1.2 – 1.8)	16.1 (13)	3.7
Tu7+DEM	2.775±0.270	2.4 (2 – 2.8)	6.9 (5.4 – 9.7)	10.5 (13)	1.2
Tu7+DEF	2.955±0.581	6.8 (5.3 – 11)	18.5 (11.3 – 54.1)	6.1 (13)	0.4
AceS_Tu4		>5000			
AceS +PBO		>5000			
AceS+DEM		>5000			
AceS+DEF		>5000			

SE¹: Standart error – Standart hata

CL²: Confidence Limit – Güven aralığı

SR³: Resistance ratio – Direnç katı

LC₅₀* : (mg a.i./L)

Çalışma sonucunda sinerjistlerden özellikle P450 inhibitörü olan PBO sinerjisinin acequinocyl toksisitesini arttırdığı belirlenmiştir. Ayrıca dirençli tarla popülasyonunda 11.6-kat PBO sinerjizm oranı belirlenmiş olup, 291.5 olan LC₅₀ değeri PBO etkisi sonrasında 25 olarak tespit edilmiştir.

4.6 Hedef-bölge Nokta Mutasyonlarının Taranması

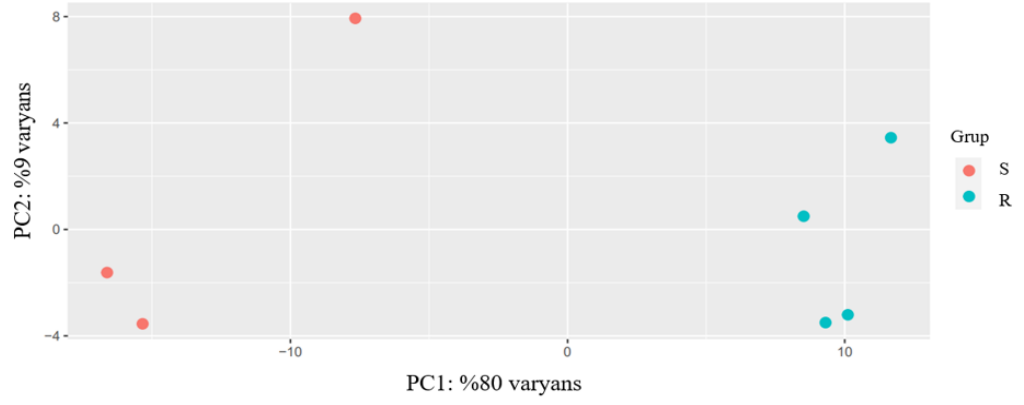
10 adet tarla popülasyonu ve 2 adet seleksiyon popülasyonuna ait DNA örnekleri ile hedef yeri nokta mutasyonları taraması gerçekleştirilmiştir. Toksisite denemeleri ile paralel olarak acequinocyl aktif maddesine karşı hassas olduğu belirlenen popülasyonlarda hedef yeri mutasyonlarına rastlanmamıştır. Dirençli olarak belirlenen ve seleksiyon popülasyonlarında ise daha önce raporlanmış direnç mutasyonlarına rastlanmamış olsa da oldukça korunmuş bir bölge olan sitokrom b'nin Q_o cebinde bulunan cd1- heliks'inde dünya için yeni bir mutasyon belirlenmiştir (Şekil 4.3).

		Qo -cd1											Qo -ef									
			M128T																			
<i>Tetranychus urticae</i>	124	P	W	G	Q	M	S	F	W	G	A	T	V	I	T	N	I	L	S	S	I	P
<i>Panonychus citri</i>	124	P	W	G	Q	M	S	F	W	G	A	T	V	I	T	N	I	L	S	S	I	P
<i>Gallus gallus</i>	135	P	W	G	Q	M	S	F	W	G	A	T	V	I	T	N	L	F	S	A	V	P
<i>Homo sapiens</i>	134	P	W	G	Q	M	S	F	W	G	A	T	V	I	T	N	L	L	S	A	I	P
<i>Venturia inaequalis</i>	135	P	Y	G	Q	M	S	L	W	G	A	T	V	I	T	N	L	M	S	A	I	P
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	135	V	Y	G	Q	M	S	H	W	G	A	T	V	I	T	N	L	F	S	A	I	P
<i>Arabidopsis thaliana</i>	141	P	W	G	Q	M	S	F	W	G	A	T	V	I	T	S	L	A	S	A	I	P
<i>Plasmodium falciparum</i>	129	P	W	G	Q	M	S	Y	W	G	A	T	V	I	T	N	L	L	S	S	I	P

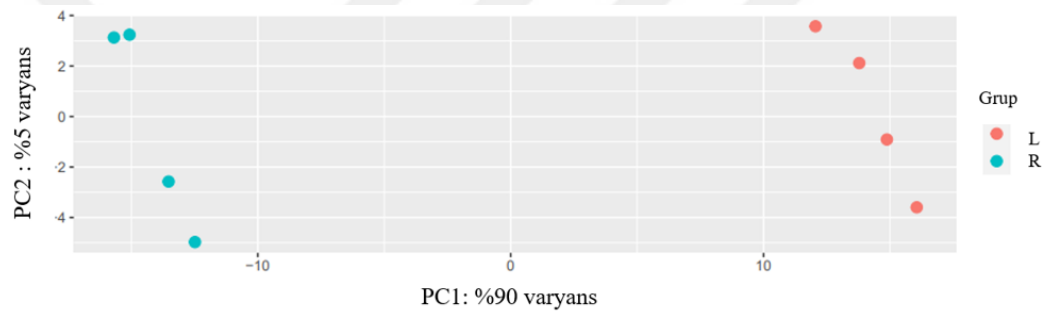
Şekil 4.12 Farklı organizmalara ait Sitokrom b geninin kısmi dizilimi. Kırmızı yuvarlaklar daha önceden tespit edilmiş mutasyonları, yıldız ise bu çalışmada bulunan M128T mutasyonunu göstermektedir. Aksesyon numaraları : *Tetranychus urticae* (EU345430), *Panonychus citri* (HM367068), *Gallus gallus* (AAO44995), *Homo sapiens* (AAX15094), *Arabidopsis thaliana* (CAA47966), *Plasmodium falciparum* (NP_059668), *Saccharomyces cerevisiae* (ABS28693), *Venturia inaequalis* (AAC03553)

4.7 Transkriptom Analizi

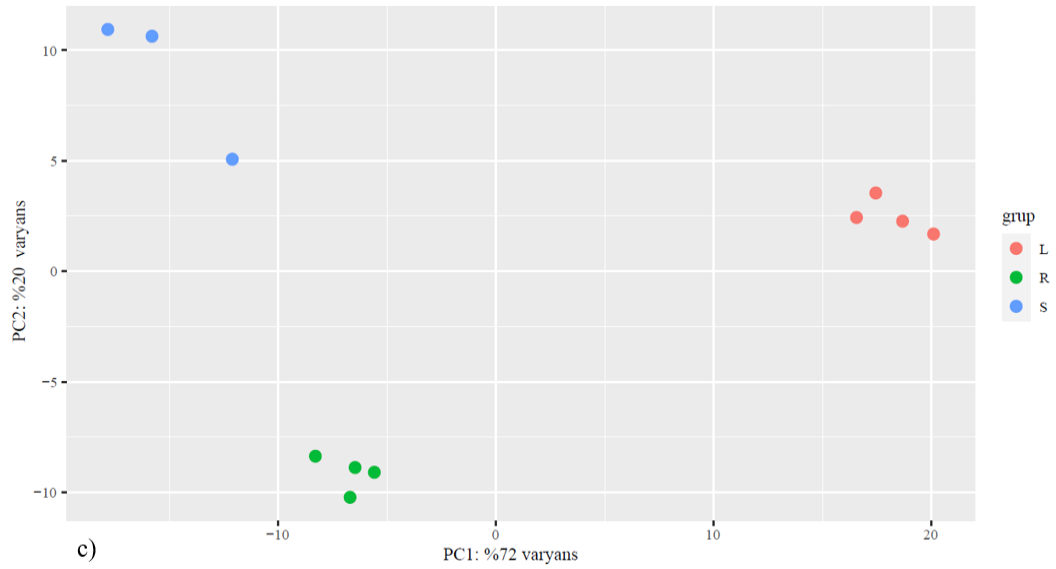
Toplam 8 adet RNA örneğine ait ham okumalar elde edilmiştir. Okumaların kalitesi fastQC programı ile incelenmiştir. Okumalara ait PCA analizi yapıldıktan sonra hassas popülasyona ait S2 örneğinin diğer örneklerden çok farklı olduğu belirlenmiş ve bu nedenle analizlerden çıkarılmıştır. 18.2 milyon okumalık RES1 ve 19.5 milyonluk S4 örneklerinin dışında tüm örnekler için 20 milyon ve üstü okuma elde edilmiştir. Örneklerin yaklaşık %78'i genoma göre haritalanmıştır. Temel bileşenler analizi (TBA = Principal component analysis = PCA) sonuçları Şekil 4.2 a, b ve c de görülmektedir.



a) S: Tarla Hassas
R: Dirençli



b) L: London Hassas
R: Dirençli



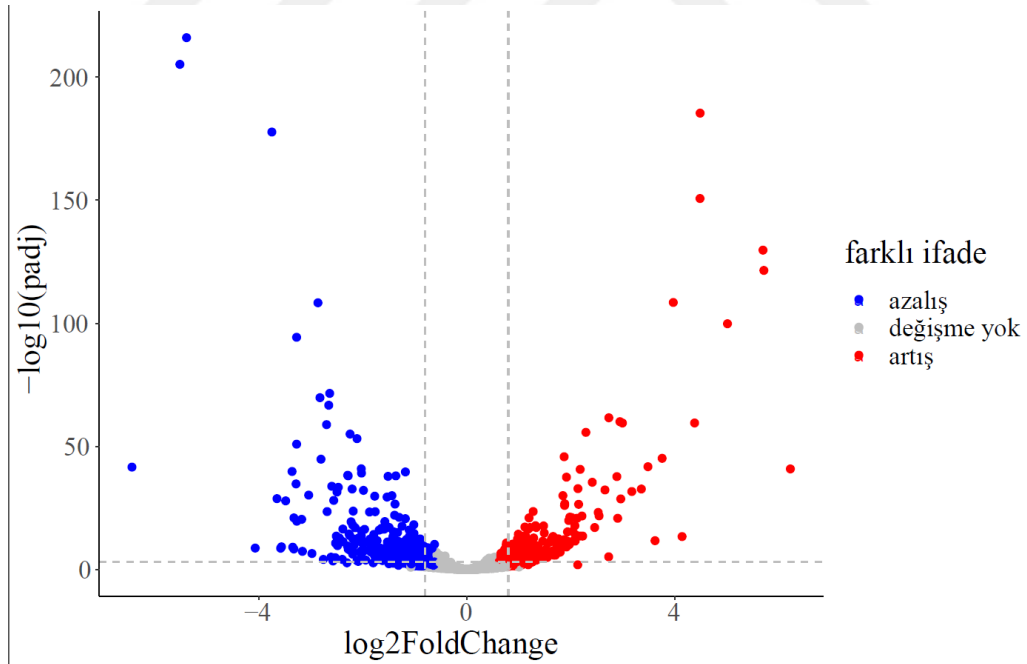
c)

Şekil 4.13 TBA analizi sonuçları a) R ve S b) R ve L c) R, S ve L örnekleri. R= acequinocyl dirençli tarla popülasyonu, S = hassas tarla popülasyonu, L= London popülasyonu

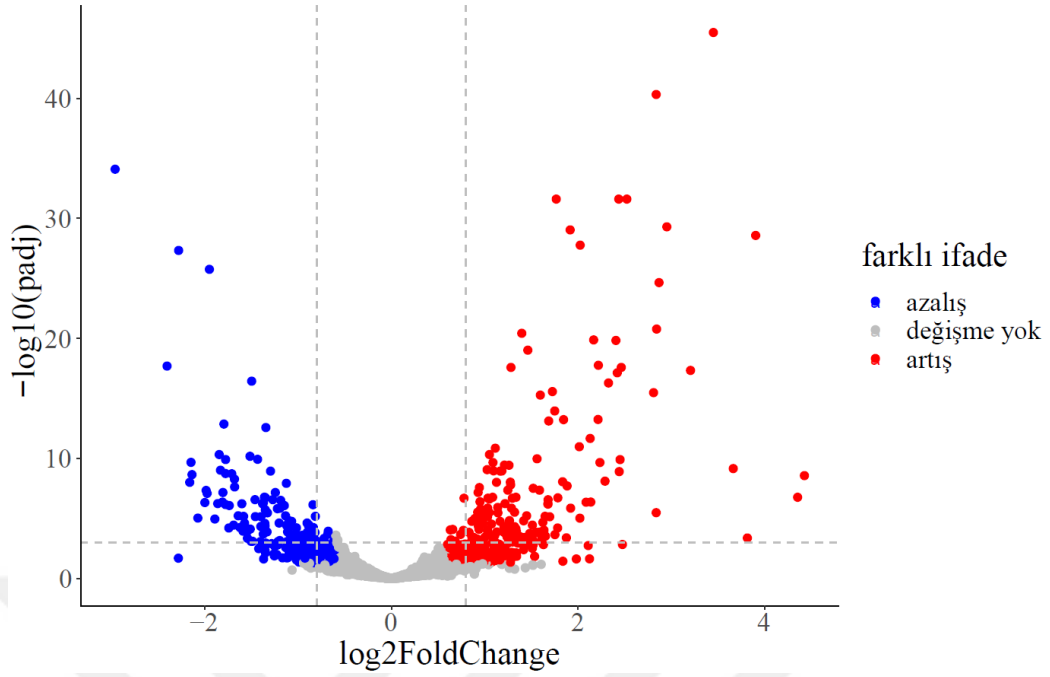
Buna göre gruplar birbirinden net bir şekilde ayrılmış ve sonuçları doğrulamaktadır.

AceS_Tu4 ve acequinocyle duyarlı Tu5 popülasyonlarında (R vs S) toplam 2006 adet gen farklı ifade seviyelerine sahip olarak belirlenmiştir (**Şekil 4.6**). Bu genlerin 1002 tanesinin ifadesinde artış tespit edilirken, 1004 adet genin ifade artışının R popülasyonunda azalma belirlenmiştir.

Analiz sonuçları, R vs L karşılaştırmasında toplam 1839 gen istatistiki önemli bir şekilde farklı ifade seviyesine sahip olduğunu göstermiştir. Bunlardan, 937 adedinin ifade seviyesinde artış görülürken, 902 adet genin ise R popülasyonunda daha az ifade olduğu tespit edilmiştir (**Şekil 4.5**).



Şekil 4.14 Farklı ifade seviyeleri gösteren genler (Rvs L)



Şekil 4.15 Farklı ifade seviyeleri gösteren genler (R vsS)

RvsL ve RvsS karşılaştırmalarında farklı ifade şekillerinde en çok değişim gösteren 100 genin listesi tezin EK kısmına eklenmiştir (**EK 1, EK 2, EK 3, EK 4**).

Transkriptom analizinde dirençli popülasyon ile *T. urticae*'nin genom çalışmasında kullanılan London popülasyonunun karşılaştırıldığı R vs L, dirençli popülasyon ile tarla hassası R vs S kıyaslamasına göre istatistiksel olarak daha anlamlı sonuçlar vermiştir. Hassas popülasyonun diğer akarisitlere karşı direnç durumu bilinmediğinden bazı gen düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar vermediği gözlemlenirken, RvsL popülasyonunda direnç ile alakalı genlerde anlamlı artışlar gözlemlenmiştir. (Çizelge 4.8) Akarisit direncindeki rolü daha önceden ortaya konulmuş olan UGT ve P450'lerin RvsL karşılaştırılmasında artış gösterdiği görülmüştür ve aday genler arasında olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.12 RvsL ve RvsS karşılaştırmasında Log2fold değişimine göre ifade seviyesinde artış gösteren direnç ile ilişkili genler.

<i>T. urticae</i> gn*	Gen adı	R vs S	R vs L
tetur11g06460 ^b	UGT204C1	2	1.7
tetur07g06480 ^b	CYP392A4	0.3	1.4
tetur37g00340 ^b	CCE68	0.2	1.2
tetur06g05620 ^b	CYP315A1	0.6	1.2
tetur23g00910 ^b	CCE51	0.09	1.1
tetur35g00210	CCE66	2	1
tetur10g02300	CPR 20	1.4	-0.03
tetur01g10760	CCE05	1.2	-1.3
tetur11g05990	ABCC-29	1.2	-0.4
tetur05g05710 ^b	UGT201E1	1.1	0.2
tetur18g03721 ^b	GR381	1.1	0.5

*: Gen numarası

b: Her iki karşılaştırmada da farkı ifade seviyesinde artış gösteren genler.

Çizelge 4.13 RvsL ve RvsS karşılaştırmasında Log2fold değişimine göre ifade seviyesinde azalış gösteren direnç ile ilişkili genler.

<i>T. urticae</i> gn*	Gen adı	R vs S	R vs L
tetur05g04680 ^c	UGT201C2	-0.06	-2.1
tetur17g03880	GR576	0.8	-1.6
tetur11g05040	ABCA-04	0.8	-1.3
tetur11g05030	ABCA-03	0.8	-1.2
tetur02g09850	UGT204B2	-	-1.2
tetur06g02430	UGT201F3	-2.1	0.3
tetur10g03900 ^c	CYP307A1	-1.8	-0.2
tetur07g06450 ^c	UGT201B14	-1.5	-0.8
tetur06g06100 ^c	UGT203A3	-1.1	-1.1
tetur22g02600 ^c	GR215	-0.8	0.6

*: Gen numarası

c: Her iki karşılaştırmada da farklı ifade seviyesinde azalış gösteren genler.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

İki noktalı kırmızı örümcek, *Tetranychus urticae*, dünya genelinde tarımsal alanlarda önemli ekonomik kayıplar meydana getiren en önemli zararlılardan birisidir. Ülkemizin de hemen her yerinde zarar meydana getirebilen bu zararlıda meydana gelen akarisit direnci ile ilgili çok sayıda çalışma olmasına rağmen (İnak vd. 2022, İnak vd. 2019 Çağatay vd. 2018, Ay vd. 2005), acequinocyl ve bifenazate aktif maddelerine karşı oluşan direnç ve direnç mekanizmaları konusunda kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

İki noktalı kırmızı örümcek, direnç rapor edilen 500'den fazla vaka ve 100'e yakın aktif madde ile ruhsatlı bütün akarisitlere direnç kazanmış durumdadır (**Çizelge 1.1**). Acequinocyl ve bifenazate özellikle Avrupa ve Asya'da yaygın olarak kullanılan iki akarisittir. Bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçlara göre test edilen on popülasyonun sekizinde acequinocyl ve bifenazate akarisitlerine karşı hassasiyet kaybına rastlanmamış olup, en yüksek LC₅₀ değeri acequinocyl için 20.1 mg a.i./L, bifenazate için ise 123.1 mg a.i./L olarak belirlenmiştir. Ancak kalıntı problemi olmayan ve zaman zaman yüksek dozlarda ve sıklıkla akarisit uygulaması gerçekleştirilen kesme çiçekçilik alanlarından elde edilen iki popülasyonda da acequinocyl ve bifenazate direnci gözlemlenmiştir.

Türkiye'de gerçekleştirilen önceki çalışmalarda Altıok (2012), test ettiği popülasyonlarda acequinocyl ve bifenazate dirençli bir popülasyona rastlamamıştır ve en yüksek acequinocyl LC₅₀ değerini 19.1, en yüksek bifenazate LC₅₀ değerini 8.3 olarak belirlemiştir. Kırışik (2017) ise yaprak daldırma yöntemi ile gerçekleştirdiği çalışmada en yüksek bifenazate LC₅₀ değerini 40 mg a.i./L olarak belirlemiştir. İnak vd. (2019), bifenazate akarisitini test ettikleri bütün popülasyonlarda etkili olarak belirlemişlerdir. Altıok (2012)'un yaptığı çalışmadan günümüze kadar on yıldan fazla zaman geçmiş olmasına rağmen acequinocyl ve bifenazate akarisitlerinin Türkiye'de özellikle sebze üretim alanlarında hala etkili olarak kullanılabileceği söylenebilir. Bununla beraber *Tetranychus urticae*'nin üreme gücü göz önüne alındığında, akarisit uygulamasının pratik tarla koşullarında başarılı olabilmesi için söz konusu akarisit ruhsatlı dozunun uygulanmasının ardından ölüm oranının en az %90 olması

gerekmektedir (Guedes 2017'den uyarlanmıştır). Kesme çiçek alanlarından elde edilen popülasyonların hem acequinocyl hem de bifenazate LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri, tavsiye edilen dozun yukarılarında seyrettiğinden bu alanlarda kimyasal mücadelede bir başarısızlık beklenmektedir. Yurtdışında gerçekleştirilen çalışmaların bazılarında ise Türkiye popülasyonları ile kıyaslandığında daha yüksek direnç seviyeleri gösteren popülasyonlar tespit edilmiştir. Örneğin; Van Nieuwenhuyse vd. (2009) bifenazate akarisitine karşı LC₅₀ değerleri 10000 mg a.i./L' den büyük popülasyonlar tespit etmişlerdir. Fotoukkaia vd. (2020) ise acequinocyl ve bifenazate akarisitlerine karşı orta ve yüksek düzeyde direnç geliştiğini bildirmişlerdir. Acequinocyl'in diğer ruhsatlı akarisitlere kıyasla görece az kullanılmasındaki bir neden ise görece yüksek fiyatları olabilmektedir. Ancak 2023 yılı itibariyle acequinocyl akarisitinin orijinal ürün ruhsatının üzerinden 10 yıl geçmesi nedeniyle emsalden ruhsatlandırmanın önü açılmıştır. Bu nedenle, emsal ilaçların fazlalaşmasından ötürü önümüzdeki yıllarda direnç hızla artabilir. İleri çalışmalarda direnç seviyesinin düzenli olarak takip edilmesi, bu akarisiti direnç yönetim programlarında daha etkin kullanmak için önemli bir rol oynamaktadır.

Acequinocyl aktif maddesinin kırmızı örümceklerin yumurta dönemi dahil bütün evreleri üzerinde de etkili olduğu bilinmektedir (Dekeyser 2005). Farklı biyolojik evrelerin hassasiyet farklarını test etmek amacıyla gerçekleştirilen yumurta denemelerinde elde edilen sonuçlara göre yumurta evresinin direnç seviyesinin ergin evreden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Özellikle AceS_Tu4 popülasyonu göz önüne alındığında, ergin döneminin sahip olduğu çok yüksek direnç seviyelerine rağmen, acequinocylin aynı popülasyonun yumurtalarına yüksek etkisi belirlenmiştir. Bu durum, acequinocyl akarisitinin erginlere karşı etkisiz olduğu durumlarda bile popülasyonun en azından yumurta dönemine hala etkili olabildiğini göstermektedir. Gelecekteki çalışmalarda larva ve nimf dönemlerindeki hassasiyet durumları da belirlenmelidir. Böylelikle popülasyon seviyesinde bir zararlı mücadelesi için önemli veriler ortaya koyulacaktır. Ancak bu durum farklı da olabilmektedir. AceS_Tu8 popülasyonunun yumurta dönemleri ergin döneme göre daha hassas olmasına rağmen, acequinocyl akarisitine karşı hassasiyeti oldukça düşüktür. Farklı popülasyonların yumurta dönemlerindeki bu hassasiyet farklarının popülasyonların sahip olduğu farklı direnç

mekanizmalarından ileri gelme ihtimali bulunmaktadır. Eğer mevcut direnç mekanizması yumurta dönemini de akaristten korumaya yetiyorsa, akaristinin etkisiz olması kaçınılmaz olacaktır. Yine de bu olası mekanizmaların araştırılıp daha net sonuçlar ile ortaya koyulması gerekmektedir.

Dirençli olarak belirlenen popülasyonların hedef yerlerini incelediğimizde ise sitokrom b'nin cd1 sarmalında M128T değişimi ilk kez bu çalışmada tespit edilmiştir. Sitokrom b'de raporlanmış mutasyonlar genellikle 126S haplotipli popülasyonlarda kombinasyon halinde bulunmuştur (Van Leeuwen vd. 2008; Kim vd. 2019; Fotoukkaai vd. 2020; Lu vd. 2023). P262T ve G132A mutasyonları kombinasyon olmaksızın tek başlarına bifenazate direncine karşılık gelirken, acequinocyl bileşiğine karşı duyarsızlık meydana getirmemektedir (Van Leeuwen vd. 2008; Fotoukkaai vd. 2020). Çalışmamızda tespit ettiğimiz M128T mutasyonunun ise herhangi bir kombinasyon ile değil tek başına bulunduğu tespit edilmiştir. Oldukça korunmuş bir bölgede bulunan M128T değişimine hassas popülasyonların hiçbirinde rastlanmamıştır. M128T mutasyonunun METI-III direncindeki rolünü ortaya koymak amacıyla ileri çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir. M128T dahil bir nokta mutasyonun dirençteki rolünü belirlemek amacıyla, markör yardımcı geriye çaprazlama ya da CRISPR-Cas9 teknolojileri en güvenilir yöntemler arasında yer almaktadır. Ayrıca, M128T'nin mitokondri tarafından kodlanan bir gende bulunması nedeniyle, çaprazlamalar ile direncin kalıtımı tespit edilip, mutasyonun dirençteki rolü daha net ortaya koyulabilir. Yeni çalışmalar ile bu direncin fonksiyonel karakterizasyonunun yapılması kritik önem taşımaktadır.

Detoksifikasyon enzimlerinin dirençteki rolünü belirlemek amacı ile gerçekleştirilen sinerjizm çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre acequinocyl toksisitesini en çok arttıran sinerjist P450 inhibitörü olan PBO olarak belirlenmiştir. Acequinocyl direnci ile P450 enzimleri arasındaki rol ise önceki çalışmalarda da ortaya koyulmuştur (Van Nieuwenhuysse vd. 2009; Sugimoto ve Osakabe 2019; Lu vd. 2023). P450 enzimlerinin diğer birçok akaristite karşı da dirence yol açması nedeniyle, acequinocyl ile bu akaristiler arasındaki çapraz direnç riski göz önünde bulundurulmalıdır. Sinerjizm sonuçlarına bakıldığında, Tu4 popülasyonunun sahip olduğu direncin önemli bir kısmı artan P450 enzim aktivitesi ile açıklanabilmektedir. Ancak AceS_Tu4 gibi çok dirençli

bir popülasyonda sinerjizm uygulanmasına rağmen LC_{50} değeri 5000 mg a.i/L altına inmemiştir. Bu da P450 enzimlerinin yanı sıra başka direnç mekanizmalarının varlığını göstermektedir. Çalışma kapsamında tespit edilen M128T mutasyonu ile P450 enzim aktivitesinin artış göstermesi bu yüksek direnç seviyesinin sorumlusu olabilir.

Dirençli Tu4 popülasyonu ile PBO arasında güçlü sinerjistik etki belirlenmiştir (11.6-kat). PBO'nun, acequinocyl aktif maddesine karşı hassas olan Tu7 popülasyonunun da hassasiyetini artırdığı gözlenmiştir (3.7-kat). Hassas Tu7 popülasyonu ile DEM arasında istatistiksel olarak önemli bir sinerjizm görülmemiştir. Tu4 popülasyonu ile DEF sinerjisti arasında ise PBO'ya göre görece düşük seviyede (1.5-kat) sinerjizm belirlenmiştir. DEF uygulamasının ardından Tu7 popülasyonundaki duyarlılık azalışı istatistiksel olarak önemli olarak belirlenmiştir (2.2-kat). Çalışmamızda acequinocyl ile selekte edilen ve transkriptom analizi yapılan AceS_Tu4 popülasyonunun seleksiyon sonrası LC_{50} değeri 19819.9 mg a.i./L olarak belirlenmiştir. Bu popülasyon üzerinde gerçekleştirilen sinerjizm denemeleri seleksiyon öncesi popülasyondan farklı seyretnmiştir. Tarla popülasyonu olan Tu4 ile PBO arasındaki sinerjizm, seleksiyon popülasyonunda gözlenmemiştir ($LC_{50} > 5000$ mg a.i./L). DEM ve DEF bileşikleriyle de istatistiksel olarak önemli bir etki gözlemlenmemiştir. Bu veriler Khajehali vd. (2009)'da bahsedildiği gibi, proakarisitlerin toksik hale gelebilmeleri için öncelikle metabolize olmaları gerektiğini ve bunu esterazlar yardımı ile gerçekleştirebileceği, bu sebeple DEF uygulanan Tu7 popülasyonunda gözlemlenen hassasiyet azalışının beklenebilir olduğunu açıklamıştır. Ayrıca DEF uygulanmış dirençli Tu4 popülasyonunun acequinocyl duyarlılığı artmış olsa da bu yüksek seviyelerde değildi. DEM ve Tu4 popülasyonu arasındaki tersine etki de proakarisitlerin özellikleriyle açıklanamıyor olsa da düşük düzeyde de olsa ters etki daha önceki çalışmalarda da (Yorulmaz ve Sarıtaş 2014; Lu vd. 2023) gözlemlenmiştir.

Transkriptom analizinde, RvsS karşılaştırmasında direnç ile ilgili detoksifikasyon genlerinin ifadesindeki artış/azalış düzeyleri görece az olarak tespit edilmiştir. Bunun en olası nedeni, acequinocyle hassas olmasına rağmen karşılaştırma yapılan popülasyonun (S) bir tarla popülasyonu olması ve diğer akarisitlere karşı direnç durumunun bilinmemesidir. Bu popülasyon arazi koşullarında birçok akarisite maruz kalmış olabilir.

ve gen ifadesinde artış meydana gelmiş olabilir. R vs L kıyaslamasına bakıldığında, bu hipotezin kısmen doğruluğu görülmektedir. Çünkü ifade seviyelerindeki artış daha fazla olarak tespit edilmiştir. Karşılaştırmada kullanılan popülasyonun (London) hemen hemen tüm akarisitlere karşı hassas olduğu bilinmektedir, bu nedenle bu karşılaştırmada ifade seviyelerindeki farklılık daha fazla ortaya çıkmıştır. Gen ifadesinde artışın çok fazla olmamasındaki bir diğer neden ise, çalışma kapsamında tespit edilen hedef bölge mutasyonun seleksiyon gerçekleştirilen ilaç dozuna karşı akarların hayatta kalması için yeterli olması ve bu nedenle diğer mekanizmalara ihtiyaç duyulmaması da olabilir. Acequinocyl dirençli popülasyonda, detoksifikasyonda önemli role sahip UGT'ler ve P450'ler en çok artış gösteren genler olarak belirlenmiştir. Özellikle UGT204C1 ve CYP392A4 genleri en çok artışa sahip genler arasında yer almıştır. Daha önce Lu vd. (2023) tarafından bifenazate direncinde rol oynadığı tespit edilen CYP392A16 geni, çalışmamız kapsamında istatistiki önemli olarak artış gösteren genler arasında yer almamıştır. Bu da direncin farklı popülasyonlarda farklı mekanizmalarla ortaya çıktığını göstermektedir.

Tu4 popülasyonu abamectin aktif maddesine karşı dirençli olarak belirlenmiştir ancak acequinocyl ile selekte edilen popülasyonda istatistiksel olarak önemli bir direnç artışı gerçekleşmemiştir. Pyridaben aktif maddesi de seleksiyon öncesi ve sonrası popülasyona karşı oldukça etkisiz olarak belirlenmiştir. Pyridaben direnci seleksiyon sonrası artış göstermiş olsa da başlangıç popülasyonun da yüksek derecede pyridaben direncine sahip olması, çapraz dirence dair yorum yapmayı zorlaştırmaktadır. Ayrıca seleksiyon popülasyonu için elde edilen cDNA kütüphaneleri taranmış ve pyridabenin hedef yeri olan mitokondriyal kompleks I'in PSST altünitesinde pyridaben direncine karşılık geldiği bilinen H110R (Bajda vd. 2015) mutasyonunun popülasyonda sabitlendiği tespit edilmiştir. Itoh vd. (2022) yaptıkları çalışmada H110R mutasyonunun orta seviyede pyridaben direncine karşılık geldiğini ve bu mutasyon ile kombine olarak CYP392A3 geninin artışının yüksek seviyede pyridaben direncine karşılık geldiğini bildirmişlerdir. Transkriptom sonuçlarımızda en fazla artış gösteren CYP geni ise CYP392A3 genine oldukça benzer olan CYP392A4 olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle seleksiyon popülasyonunda tespit edilen çok yüksek pyridaben direncinin yine bir hedef yer mutasyonu + P450 kombinasyonundan dolayı ortaya çıkmış olma ihtimali

göz ardı edilmemelidir. Spiromesifen aktif maddesi de LC₅₀ değeri olarak görece düşük direnç seviyelerinde olsa da bir direnç gelişimi olduğu göz ardı edilmemelidir. Çapraz direnç denemeleri sonucunda tarladan elde edilen Tu4 popülasyonunun pek çok aktif maddeye karşı dirençli olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak seleksiyon popülasyonunun pyridaben ve spiromesifen aktif maddelerine maruz kalmamasına rağmen bu iki aktif maddeye karşı direnç seviyesinde artış meydana gelmiş olması etki mekanizmaları farklı da olsa aktif maddeler arasında direnç gelişebileceğinin bir örneği olmuştur (Tabashnik vd. 2014). Çapraz direnç neden olan en önemli mekanizma detoksifikasyon enzimleri olsa da bu durumu doğrulamak için birden fazla tekrür hakkında bilgi sahibi olunmalıdır. Yeterli sayıda tekrür ile gerçekleştirilmeyen çapraz direnç çalışmalarında göz önünde bulundurulması gereken bir diğer mekanizma ise genetik sürüklenmedir (İnak vd. 2023). Özellikle farklı etki mekanizmasına sahip bileşiklere karşı direncin açıklanmasında detoksifikasyon enzimleri ile birlikte önemli olan bu faktör, evrimsel sürecin de en önemli mekanizmaları arasındadır. Her ne kadar tarladan elde edilmiş popülasyonlar olsa da tarladaki genetik çeşitliliği barındırmayacağı ve sürekli olarak dirençli bireylerin seçilmesinden kaynaklanan bu durum ortak detoksifikasyon genlerinin veya mutasyonların, çapraz direnç gelişimi ile örtüşmediği durumlarda devreye giren bir kavramdır.

Entegre Zararlı Yönetimi (EZY), tarım sektöründe sürdürülebilir ve çevre dostu bir yaklaşım sunan, kimyasal mücadele yöntemlerini kontrollü kullanmayı amaçlayıp direnç gelişimini yavaşlatmayı hedefleyen bir zararlı yönetimi stratejisidir. Gıda güvenliği ile kaygılar ve direnç gelişimi sorunları ile birlikte tarım ilacı üreten şirketler, mücadelede kullanılacak yeni kimyasallar keşfetmenin, üretmenin ve ruhsatlamamanın hem maliyet olarak büyük yükleri olması hem de zaman olarak uzun süreler gerektirmesi gibi sorunlar ile de karşı karşıya kalmış durumdadır (Van Leeuwen vd. 2020). EZY, zararlı organizmalarla mücadelede biyolojik, kültürel ve fiziksel yöntemleri bir araya getirerek entegre bir çözüm sunar. Bu strateji, biyolojik mücadele ile doğal düşmanların kullanımını, bitki çeşitliliğini artırmayı, ekosistem dengeleyicilerini korumayı ve uygun tarım uygulamalarını içerir. EZY, zararlı popülasyonlarında direnç gelişimini azaltarak, uzun vadeli tarım verimliliğini ve çevresel sürdürülebilirliği destekler. Bu yöntem, üreticilere çeşitli araçları ve stratejileri

entegre etme esnekliği sağlar, böylece çevresel etkileri en aza indirirken aynı zamanda ekonomik getiriye artırabilir. Son yıllarda geliştirilen yenilikçi teknolojiler, dirençle mücadelede çeşitli yenilikler de vadetmektedir. RNA interferans (RNAi) ve CRISPR-Cas9 gibi gen düzenleme teknikleri, belirli genleri hedef alarak zararlı organizmalardaki direnç mekanizmalarını etkisiz hale getirebilir. RNAi, gen ifadesini baskılayan RNA moleküllerinin kullanımını sağlar. Bu, özellikle belirli genlerin ifadesini düşürerek, dirençle ilişkilendirilen genlerin etkisiz hale getirilmesinde etkili olabilir ve çeşitli zararlıların mücadelesinde kullanılmaktadır (Baustita vd. 2009; Lopez vd.2019) CRISPR-Cas9 ise, genomda belirli noktalara müdahale ederek genetik materyali düzeltebilir veya değiştirebilir. Bu, özellikle dirençle ilişkilendirilen genlerdeki spesifik mutasyonları düzeltme veya değiştirme potansiyeli sunar. Bu teknolojiler, geleneksel insektisit ve akarisit kullanımına alternatif olarak, daha çevre dostu bir mücadele yöntemi sunabilir. Ayrıca bu teknolojinin sağladığı avantajları yalnızca tarım zararlılarına karşı kullanımı açısından değil halk sağlığı için önemli tehdit oluşturan çeşitli virüs ve hastalık vektörleri sivrisinekler ve hamamböcekleri gibi oldukça dirençli böcekler için de değerlendirmek gereklidir. Ancak, bu teknolojilerin kullanımıyla ilgili etik ve çevresel endişeler de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, entegre zararlı yönetimi, modern tarımın temel unsurlarından biri olarak kabul edilmekte ve tarımın gelecekteki zorluklarına daha sürdürülebilir ve etkili çözümler sunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Adesanya, A. W., Lavine, M. D., Moural, T. W., Lavine, L. C., Zhu, F., and Walsh, D. B. 2021. Mechanisms and management of acaricide resistance for *Tetranychus urticae* in agroecosystems. *Journal of Pest Science*, 94, 639-663.
- Alavijeh, E. S., Khajehali, J., Snoeck, S., Panteleri, R., Ghadamyari, M., Jonckheere, W., Bajda, S., Saalwaechter, C., Geibel, S., Douris, V., Vontas, J., Van Leeuwen, T. and Dermauw, W. 2020. Molecular and genetic analysis of resistance to METI-I acaricides in Iranian populations of the citrus red mite *Panonychus citri*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 164, 73-84.
- Alpkent, Y. N., İnak, E., Ulusoy, S., and Ay, R. 2020. Acaricide resistance and mechanisms in *Tetranychus urticae* populations from greenhouses in Turkey. *Systematic and Applied Acarology*, 25(1), 155-168.
- Anders, S., Pyl, P. T. and Huber, W. 2015. HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *bioinformatics*, 31(2), 166-169.
- Andrews, S. 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data.
- Anonymous 2023a. Web sitesi: <https://www.koppertus.com/news-information/news/the-various-stages-of-the-spider-mite/> Erişim tarihi: 10.09.2023
- Anonymous 2023b. Web sitesi: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> Erişim tarihi: 14.11.2023
- Attia, S., Grissa, K. L., Lognay, G., Bitume, E., Hance, T., and Mailleux, A. C. 2013. A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides: Biological approaches to control *Tetranychus urticae*. *Journal of Pest Science*, 86, 361-386.
- Ay, R., Sökeli, E., Karaca, I., and Gürkan, M. O. 2005. Response to some acaricides of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) from protected vegetables in Isparta. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29(3), 165-171.
- Bajda, S., Dermauw, W., Panteleri, R., Sugimoto, N., Douris, V., Tirry, L., Osakabe, M, Vontas, J. and Van Leeuwen, T. 2017. A mutation in the PSST homologue of complex I (NADH: ubiquinone oxidoreductase) from *Tetranychus urticae* is associated with resistance to METI acaricides. *Insect biochemistry and molecular biology*, 80, 79-90.

- Bajda, S. A., De Clercq, P., and Van Leeuwen, T. 2022. Selectivity and molecular stress responses to classical and botanical acaricides in the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* Athias- Henriot (Acari: Phytoseiidae). *Pest Management Science*, 78(3), 881-895.
- Bautista, M. A. M., Miyata, T., Miura, K., & Tanaka, T. 2009. RNA interference-mediated knockdown of a cytochrome P450, CYP6BG1, from the diamondback moth, *Plutella xylostella*, reduces larval resistance to permethrin. *Insect biochemistry and molecular biology*, 39(1), 38-46.
- Bellina, R. F., and Fost, D. L. 1977. Acaricidal and aphicidal 2-higher alkyl-3-hydroxy-1, 4-naphthoquinone carboxylic acid esters. German Patent DE, 641, 343
- BKÜ,2023.Websitesi:<https://bku.tarimorman.gov.tr/Kullanim/TavsiyeArama?csrt=17347414737760227715> Erişim tarihi: 14.11.2023
- Blauvelt, W.E., 1946. Azobenzene for red spider on roses. *Bullettin of New York State Flower Growers*, 2: 6.
- Buss, D.S. and A. Callaghan, 2008. Interaction of pesticides with p-glycoprotein and other ABC proteins: a survey of the possible importance to insecticide, herbicide and fungicide resistance. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 90: 141-153.
- Chen, J. C., Gong, Y. J., Shi, P., Wang, Z. H., Cao, L. J., Wang, P., and Wei, S. J. 2019. Field-evolved resistance and cross-resistance of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, to bifenazate, cyenopyrafen and SYP-9625. *Experimental and Applied Acarology*, 77, 545-554.
- Choi, J., Koo, H. N., Kim, S. I., Park, B., Kim, H., and Kim, G. H. 2020. Target-site mutations and glutathione S-transferases are associated with acequinocyl and pyridaben resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Insects*, 11(8), 511.
- Croft, B. A. and Van de Baan, H. E. 1988. Ecological and genetic factors influencing evolution of pesticide resistance in tetranychid and phytoseiid mites. *Experimental & Applied Acarology*, 4(3), 277-300.
- Çağatay, N. S., Menault, P., Riga, M., Vontas, J., and Ay, R. 2018. Identification and characterization of abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch populations from greenhouses in Turkey. *Crop Protection*, 112, 112-117.
- De Rouck, S., İnak, E., Dermauw, W., and Van Leeuwen, T. 2023. A review of the molecular mechanisms of acaricide resistance in mites and ticks. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 103981.

- de Souza, R. M., Seibert, D., Quesada, H. B., de Jesus Bassetti, F., Fagundes-Klen, M. R., and Bergamasco, R. 2020. Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. *Process Safety and Environmental Protection*, 135, 22-37.
- Dekeyser MA and McDonald PT, Insecticidal phenylhydrazine derivatives, US Patent US 5 367 093 1994.
- Dekeyser MA, McDonald PT, Angle GW Jr and Moore RC, D2341—a novel agent to control spider mites, in *Proc Brighton Crop Prot Conf—Pests Dis*, BCPC, Farnham, Surrey, UK, pp 487–492 1996.
- Dekeyser, M. A. 2005. Acaricide mode of action. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 61(2), 103-110.
- Dobin, A., Davis, C. A., Schlesinger, F., Drenkow, J., Zaleski, C., Jha, S., Batut, P., Chaisson, M. and Gingeras, T. R. 2013. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*, 29(1), 15-21.
- Feyereisen, R. 2005. Insect cytochrome P450. *Comprehensive molecular insect science*, 1-77.
- Feyereisen, R., Dermauw, W., and Van Leeuwen, T. 2015. Genotype to phenotype, the molecular and physiological dimensions of resistance in arthropods. *Pesticide biochemistry and physiology*, 121, 61-77.
- Field, L.M., Devonshire, A.L. and Forde, B.G. 1988 Molecular evidence that insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae* Sulz.) results from amplification of an esterase gene. *Biochem J* **251**: 309–312.
- Fotoukiai, S. M., Tan, Z., Xue, W., Wybouw, N., and Van Leeuwen, T. 2020. Identification and characterization of new mutations in mitochondrial cytochrome b that confer resistance to bifenazate and acequinocyl in the spider mite *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science*, 76(3), 1154-1163.
- Grbic, M., Van Leeuwen, T., Clark, R.M., Rombauts, S., Rouze, P., Grbic, V., Osborne, E.J., Dermauw, W., Cao Thi Ngoc, P., Ortego, F., Hernandez-Crespo, P., Diaz, I., Martinez, M., Navajas, M., Sucena, E., Magalhães, S., Nagy, L., Pace, R.M., Djuranovic, S., Smagghe, G., Iga, M., Christiaens, O., Veenstra, J.A., Ewer, J., Mancilla Villalobos, R., Hutter, J.L., Hudson, S.D., Velez, M., Yi, S.V., Zeng, J., Pires-daSilva, A., Roch, F., Cazaux, M., Navarro, M., Zhurov, V., Acevedo, G., Bjelica, A., Fawcett, J.A., Bonnet, E., Martens, C., Baele, G., Wissler, L., Sanchez-Rodriguez, A., Tirry, L., Blais, C., De-meestere, K., Henz, S.R., Gregory, T.R., Mathieu, J., Verdon, L., Farinelli, L., Schmutz, J., Lindquist, E., Feyereisen, R. and Van de Peer, Y. 2011. The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. *Nature*, 479, 487–492.

- Guedes, R. N. C. 2017. Insecticide resistance, control failure likelihood and the First Law of Geography. *Pest Management Science*, 73(3), 479-484.
- Hall, T. A. (1999, January). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series* (Vol. 41, No. 41, pp. 95-98)
- Heckel, D. G. 2012. Insecticide resistance after silent spring. *Science*, 337(6102), 1612-1614.
- Helle, W., and Sabelis, M. W. (Eds.). 1985. Spider mites: their biology, natural enemies and control (Vol. 1, pp. 141-160). Amsterdam: Elsevier.
- Herron, G. A., and Rophail, J. 1998. Tebufenpyrad (Pyranica®) resistance detected in two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) from apples in Western Australia. *Experimental & applied acarology*, 22, 633-641.
- Higgins, C. F., and Linton, K. J. 2004. The ATP switch model for ABC transporters. *Nature structural & molecular biology*, 11(10), 918-926.
- Itoh, Y., Shimotsuma, Y., Jouraku, A., Dermauw, W., Van Leeuwen, T., & Osakabe, M. 2022. Combination of target site mutation and associated CYPs confers high-level resistance to pyridaben in *Tetranychus urticae*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 181, 105000.
- İnak, E. ve Çobanoğlu, S. 2016. Akarisitler ve etki mekanizmaları. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 6(4), 371-382.
- İnak, E. ve Cobanoğlu, S. 2018 Akarlarda direnç mekanizmaları. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 8(3), 61-75.
- İnak, E., AlpKent, Y. N., Çobanoğlu, S., Dermauw, W., and Van Leeuwen, T. 2019. Resistance incidence and presence of resistance mutations in populations of *Tetranychus urticae* from vegetable crops in Turkey. *Experimental and Applied Acarology*, 78, 343-360
- İnak, E., Demirci, B., Vandenhoe, M., Söylemezoğlu, G., Van Leeuwen, T., and Toprak, U. 2023. Molecular mechanisms of resistance to spirodiclofen and spiromesifen in *Tetranychus urticae*. *Crop Protection*, 172, 106343.
- Jensen, P. K. 1966. Antimycin-insensitive oxidation of succinate and reduced nicotinamide-adenine dinucleotide in electron-transport particles I. pH dependency and hydrogen peroxide formation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Enzymology and Biological Oxidation*, 122(2), 157-166.

- Jeppson, L. R., Keifer, H. H., and Baker, E. W. 1975. Mites injurious to economic plants. Univ of California Press.
- Kennedy, C.J. and K.B. Tierney, 2013. Xenobiotic protection/resistance mechanisms in organisms. In: Environmental Toxicology. Laws, E.A. (eds), Springer, 689-721, New York
- Khajehali, J., Van Nieuwenhuysse, P., Demaeght, P., Tirry, L., and Van Leeuwen, T. 2011. Acaricide resistance and resistance mechanisms in *Tetranychus urticae* populations from rose greenhouses in the Netherlands. Pest management science, 67(11), 1424-1433.
- Khalighi, M., Dermauw, W., Wybouw, N., Bajda, S., Osakabe, M., Tirry, L., and Van Leeuwen, T. 2016. Molecular analysis of cyenopyrafen resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. Pest Management Science, 72(1), 103-112.
- Kim, S. S., and Yoo, S. S. 2002. Comparative toxicity of some acaricides to the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* and the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae*. BioControl, 47, 563-573.
- Kim, Y. J., Park, H. M., Cho, J. R., and Ahn, Y. J. 2006. Multiple resistance and biochemical mechanisms of pyridaben resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Journal of economic entomology, 99(3), 954-958.
- Kim SI, Koo H, Choi Y, Park B, Kim HK and Kim G, Acequinocyl resistance associated with I256V and N321S mutations in the two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). J Econ Entomol 112: 835–841 2019.
- Kwon, D.H., J.S. Im, J.J. Ahn, J.H. Lee, J.M. Clark and S.H. Lee, 2010. Acetylcholinesterase point mutations putatively associated with monocrotophos resistance in the two-spotted spider mite. Pesticide Biochemistry and Physiology, 96: 36-42.
- Lee, K. R., Koo, H. N., Yoon, C. M. and Kim, G. H. 2010. Cross resistance and point mutation of the mitochondrial cytochrome b of bifenthrin resistant two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. The Korean Journal of Pesticide Science, 14(3), 247-254.
- Love, M. I., Huber, W. and Anders, S. 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. Genome biology, 15(12), 1-21.
- Lopez, S. B. G., Guimarães-Ribeiro, V., Rodriguez, J. V. G., Dorand, F. A., Salles, T. S., Sá-Guimarães, T. E., and Alvarenga, E. S. L., Melo, A. C. A., Almeida, Rodrigo. V., Moreira, M. F. (2019). RNAi-based bioinsecticide for *Aedes* mosquito control. *Scientific reports*, 9(1), 4038.

- Lu, X., Vandenhole, M., Tsakireli, D., Pergantis, S. A., Vontas, J., Jonckheere, W. and Van Leeuwen, T. 2023. Increased metabolism in combination with the novel cytochrome b target-site mutation L258F confers cross-resistance between the Qo inhibitors acequinocyl and bifenthrin in *Tetranychus urticae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 192, 105411.
- Metcalf, R. L. 1955. *Organic Insecticides. Their Chemistry and Mode of Action.* Organic Insecticides. Their Chemistry and Mode of Action., (9 1/4 x 6 ins.).
- Migeon, A., and Dorkeld, F. 2021. Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae. URL: <http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb>.
- Mota-Sanchez, D. and J.C. Wise. 2023. The Arthropod Pesticide Resistance Database. Michigan State University. On-line at: <http://www.pesticideresistance.org>
- Njiru, C., Saalwaechter, C., Gutbrod, O., Geibel, S., Wybouw, N., and Van Leeuwen, T. 2022. A H258Y mutation in subunit B of the succinate dehydrogenase complex of the spider mite *Tetranychus urticae* confers resistance to cyenopyrafen and pyflubumide, but likely reinforces cyflumetofen binding and toxicity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 144, 103761.
- Nolfi-Donagan, D., Braganza, A., and Shiva, S. 2020. Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox biology*, 37, 101674.
- Oerke, E. C. 2006. Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43.
- Papapostolou, K. M., Riga, M., Charamis, J., Skoufa, E., Souchlas, V., Ilias, A., Dermauw, W., Ioannidis, P., Van Leeuwen, T. and Vontas, J. 2021. Identification and characterization of striking multiple- insecticide resistance in a *Tetranychus urticae* field population from Greece. *Pest Management Science*, 77(2), 666-676.
- Parven, A., Khan, M. S. I., Prodhan, M. D. H., Venkateswarlu, K., Megharaj, M., and Meftaul, I. M. 2021. Human health risk assessment through quantitative screening of insecticide residues in two green beans to ensure food safety. *Journal of Food Composition and Analysis*, 103, 104121.
- Pavlidis, N., Khalighi, M., Myridakis, A., Dermauw, W., Wybouw, N., Tsakireli, D., Stephanou, E. G., Labrou, N. E., Vontas, J. and Van Leeuwen, T. 2017. A glutathione-S-transferase (TuGSTd05) associated with acaricide resistance in *Tetranychus urticae* directly metabolizes the complex II inhibitor cyflumetofen. *Insect biochemistry and molecular biology*, 80, 101-115.

- Pavlidis, N., Vontas, J., Van Leeuwen, T. 2018. The role of glutathione S-transferases (GSTs) in insecticide resistance in crop pests and disease vectors. *Current Opinion in Insect Science* 27: 97-102
- Riga, M., Myridakis, A., Tsakireli, D., Morou, E., Stephanou, E. G., Nauen, R., Van Leeuwen, T., Douris, V. and Vontas, J. 2015. Functional characterization of the *Tetranychus urticae* CYP392A11, a cytochrome P450 that hydroxylates the METI acaricides cyenopyrafen and fenpyroximate. *Insect biochemistry and molecular biology*, 65, 91-99.
- Riga, M., Bajda, S., Themistokleous, C., Papadaki, S., Palzewicz, M., Dermauw, W., Vontas, J. and Leeuwen, T. V. 2017. The relative contribution of target-site mutations in complex acaricide resistant phenotypes as assessed by marker assisted backcrossing in *Tetranychus urticae*. *Scientific reports*, 7(1), 9202.
- Robertson, J.L., Russell, R.M., Savin, N.E., 1980. *POLO: a User's Guide to Probit Or LOGit Analysis*, vol. 38. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Southwest Forest and Range Experiment Station.
- Schmidt-Jeffris, R., Snipes, Z., Bergeron, P. 2021. Acaricide efficacy and resistance in South Carolina tomato populations of twospotted spider mite. *Florida Entomologist*, 104(1), 1-8.
- Scoones, I. 2007. Sustainability. *Development in practice*, 17(4-5), 589-596.
- Serrão, J. E., Plata-Rueda, A., Martínez, L. C. and Zanuncio, J. C. 2022. Side-effects of pesticides on non-target insects in agriculture: A mini-review. *The Science of Nature*, 109(2), 17.
- Sharma, S., Kooner, R., Arora, R. 2017. Insect pests and crop losses. *Breeding insect resistant crops for sustainable agriculture*, 45-66.
- Shi, P., Cao, L. J., Gong, Y. J., Ma, L., Song, W., Chen, J. C., Hoffmann, A. A. and Wei, S. J. 2019. Independently evolved and gene flow- accelerated pesticide resistance in two- spotted spider mites. *Ecology and Evolution*, 9(4), 2206-2219.
- Siekevitz, P. 1957. Powerhouse of the cell. *Scientific American*, 197(1), 131-144.
- Snoeck, S., Kurlavs, A. H., Bajda, S., Feyereisen, R., Greenhalgh, R., Villacis-Perez, E., Kosterlitz, O., Dermauw, W., Clark, R. M. and Van Leeuwen, T. 2019. High-resolution QTL mapping in *Tetranychus urticae* reveals acaricide-specific responses and common target-site resistance after selection by different METI-I acaricides. *Insect biochemistry and molecular biology*, 110, 19-33.

- Stumpf, N. and Nauen, R. 2001. Cross-resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 94(6), 1577-1583.
- Strange, R. C., Spiteri, M. A., Ramachandran, S. and Fryer, A. A. 2001. Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 482(1-2), 21-26.
- Sugimoto, N. and Osakabe, M. 2019. Mechanism of acequinocyl resistance and cross-resistance to bifenazate in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Applied entomology and zoology*, 54, 421-427.
- Tabashnik, B. E., Mota-Sanchez, D., Whalon, M. E., Hollingworth, R. M., and Carrière, Y. 2014. Defining terms for proactive management of resistance to Bt crops and pesticides. *Journal of economic entomology*, 107(2), 496-507.
- Tilman, D., Balzer, C., Hill, J., and Befort, B. L. 2011. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proceedings of the national academy of sciences*, 108(50), 20260-20264.
- Tirello, P., Pozzebon, A., Cassanelli, S., Van Leeuwen, T. and Duso, C. 2012. Resistance to acaricides in Italian strains of *Tetranychus urticae*: toxicological and enzymatic assays. *Experimental and applied acarology*, 57, 53-64.
- TÜİK, 2023. Web sitesi: <https://www.tuik.gov.tr/> Erişim tarihi: 14.11.2023
- Van Leeuwen, T., Van Pottelberge, S. and Tirry, L. 2005. Comparative acaricide susceptibility and detoxifying enzyme activities in field- collected resistant and susceptible strains of *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 61(5), 499-507.
- Van Leeuwen, T., Tirry, L., Nauen, R. 2006. Complete maternal inheritance of bifenazate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and its implications in mode of action considerations. *Insect biochemistry and molecular biology*, 36(11), 869-877.
- Van Leeuwen, T., Van Pottelberge, S., Nauen, R. and Tirry, L. 2007. Organophosphate insecticides and acaricides antagonise bifenazate toxicity through esterase inhibition in *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 63(12), 1172-1177.
- Van Leeuwen, T., Vanholme, B., Van Pottelberge, S., Van Nieuwenhuyse, P., Nauen, R., Tirry, L. and Denholm, I. 2008. Mitochondrial heteroplasmy and the evolution of insecticide resistance: non-Mendelian inheritance in action. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(16), 5980-5985.

- Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A. and L. Tirry, 2009. Mechanisms of acaricide resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. In: Biorational control of arthropod pests, Ishaaya, I. and Horowitz, A. R. (eds), Springer, 347-393, Dordrecht.
- Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A., Dermauw, W. and Tirry, L. 2010. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: a review. *Insect biochemistry and molecular biology*, 40(8): 563-572.
- Van Leeuwen, T., Van Nieuwenhuyse, P., Vanholme, B., Dermauw, W., Nauen, R. and Tirry, L. 2011. Parallel evolution of cytochrome b mediated bifenthrin resistance in the citrus red mite *Panonychus citri*. *Insect Molecular Biology*, 20(1), 135-140.
- Van Leeuwen, T., Tirry, L., Yamamoto, A., Nauen, R. and Dermauw, W. 2015. The economic importance of acaricides in the control of phytophagous mites and an update on recent acaricide mode of action research. *Pesticide biochemistry and physiology*, 121, 12-21.
- Van Leeuwen, T. and Dermauw, W. 2016. The molecular evolution of xenobiotic metabolism and resistance in chelicerate mites. *Annual review of entomology*, 61, 475-498.
- Van Leeuwen, T., Dermauw, W., Mavridis, K. and Vontas, J. 2020. Significance and interpretation of molecular diagnostics for insecticide resistance management of agricultural pests. *Current opinion in insect science*, 39, 69-76.
- van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J. and Urbaneja, A. 2018. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, 63, 39-59.
- Van Nieuwenhuyse, P., Van Leeuwen, T., Khajehali, J., Vanholme, B. and Tirry, L. 2009. Mutations in the mitochondrial cytochrome b of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) confer cross-resistance between bifenthrin and acequinocyl. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(4), 404-412.
- Van Pottelberge, S., Van Leeuwen, T., Nauen, R. and Tirry, L. 2009. Resistance mechanisms to mitochondrial electron transport inhibitors in a field-collected strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Bulletin of entomological research*, 99(1), 23-31.
- Wakasa, F., and Watanabe, S. 1999. Kanemite (acequinocyl): a new acaricide for control of various species of mites. *Agrochem. Jpn*, 75(1).

- Whalon, M. E., Mota-Sanchez, D., and Hollingworth, R. M. 2008. Analysis of global pesticide resistance in arthropods. In *Global pesticide resistance in arthropods* (pp. 5-31). Wallingford UK: CABI.
- Xue, W., Wybouw, N., Van Leeuwen, T. 2021. The G126S substitution in mitochondrially encoded cytochrome b does not confer bifenazate resistance in the spider mite *Tetranychus urticae*. *Experimental and Applied Acarology*, 85, 161-172.
- Xue, W., Lu, X., Mavridis, K., Vontas, J., Jonckheere, W. and Van Leeuwen, T. 2022. The H92R substitution in PSST is a reliable diagnostic biomarker for predicting resistance to mitochondrial electron transport inhibitors of complex I in European populations of *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science*, 78(8), 3644-3653.
- Yorulmaz Salman, S., and Sarıtaş, E. 2014. Acequinocyl resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): inheritance, synergists, cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. *International Journal of Acarology*, 40(6), 428-435.
- Yu, S. J., 2008. *The toxicology and biochemistry of insecticides*, (p. 276). Boca Raton, FL: CRC Press

EKLER

EK 1 RvsL Karşılaştırmasında İfade Seviyesi En Çok Artış Gösteren 50 Gen

	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
tetur32g02000	910,2169	6,183956	0,342437	18,05868	6,74E-73	1,13E-70
tetur01g02280	498,062	5,673745	0,279773	20,27981	1,94E-91	4,45E-89
tetur02g90630	380,1741	5,660634	0,25024	22,6208	2,71E-113	7,10E-111
tetur17g00830	669,0831	4,453335	0,245985	18,10412	2,96E-73	5,43E-71
tetur01g91119	1275,594	4,452475	0,18458	24,12222	1,46E-128	8,95E-126
tetur18g03310	149,5643	4,345971	0,267425	16,25118	2,19E-59	2,24E-57
tetur09g03100	4781,423	4,103301	0,473892	8,65872	4,77E-18	1,02E-16
tetur02g03260	956,2396	3,934932	0,166567	23,62376	2,20E-123	6,73E-121
tetur23g01920	128,0293	3,723258	0,287118	12,9677	1,87E-38	1,11E-36
tetur03g03750	11017,6	3,5843	0,445215	8,050712	8,23E-16	1,51E-14
tetur15g00880	119,4116	3,450827	0,256395	13,45902	2,73E-41	1,73E-39
tetur05g92603	111,884	3,324132	0,252009	13,19053	9,95E-40	6,10E-38
tetur06g04000	77,5305	3,140237	0,258792	12,13421	6,96E-34	2,97E-32
tetur13g00830	176,1495	2,959555	0,175782	16,83651	1,32E-63	1,73E-61
tetur37g00210	91,22724	2,925958	0,248919	11,75466	6,68E-32	2,51E-30
tetur12g01070	693,1538	2,912362	0,212714	13,69144	1,14E-42	8,40E-41
tetur06g00580	115,9386	2,869866	0,316289	9,073568	1,15E-19	2,71E-18
tetur17g01920	599,5102	2,851797	0,210272	13,56244	6,69E-42	4,39E-40
tetur06g05950	327,2002	2,698595	0,156357	17,25914	9,55E-67	1,35E-64
tetur05g92638	288,1265	2,693208	0,508311	5,298346	1,17E-07	7,84E-07
tetur08g02590	157,2514	2,624105	0,225642	11,62951	2,92E-31	1,07E-29
tetur17g03750	59,18289	2,511022	0,243841	10,29778	7,21E-25	2,04E-23
tetur13g03880	432,0979	2,494604	0,231868	10,75871	5,39E-27	1,65E-25
tetur13g00950	75,63904	2,425343	0,274403	8,838613	9,69E-19	2,17E-17
tetur10g03050	1180,273	2,378563	0,18829	12,63248	1,40E-36	7,56E-35
tetur01g11570	441,7349	2,256954	0,148602	15,18792	4,25E-52	3,72E-50
tetur38g00090	117,4053	2,195657	0,286488	7,664043	1,80E-14	2,90E-13
tetur16g04139	217,4584	2,180307	0,196782	11,07982	1,57E-28	5,45E-27
tetur41g00080	431,1079	2,146532	0,175162	12,25454	1,59E-34	6,95E-33
tetur36g91061	38,24161	2,14625	0,265288	8,090264	5,95E-16	1,14E-14
tetur20g01870	158,9392	2,116995	0,198431	10,66869	1,43E-26	4,23E-25
tetur27g00570	159,8245	2,105386	0,171493	12,27682	1,21E-34	5,41E-33
tetur04g92286	85,07349	2,089064	0,208504	10,0193	1,25E-23	3,39E-22
tetur16g01760	73,30937	2,056213	0,286839	7,16853	7,58E-13	1,03E-11
tetur12g04160	51,34527	2,049405	0,260934	7,854099	4,03E-15	7,05E-14
tetur09g02010	137,8279	2,047978	0,259359	7,896313	2,87E-15	5,23E-14
tetur05g03890	52,2635	2,033451	0,287957	7,061653	1,65E-12	2,13E-11
tetur07g06550	113,4454	2,001642	0,248443	8,056754	7,83E-16	1,45E-14

	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
tetur03g04000	201,2681	1,985613	0,315839	6,286788	3,24E-10	3,22E-09
tetur20g01290	884,8139	1,946996	0,231989	8,392611	4,75E-17	9,60E-16
tetur03g08240	58,73603	1,939459	0,278395	6,966579	3,25E-12	4,03E-11
tetur26g02570	643,8095	1,925818	0,257436	7,480779	7,39E-14	1,07E-12
tetur10g02240	55,963	1,910116	0,296077	6,451408	1,11E-10	1,18E-09
tetur04g03780	75,26707	1,90589	0,220111	8,658771	4,77E-18	1,02E-16
tetur07g03210	33,06614	1,885078	0,292346	6,448102	1,13E-10	1,20E-09
tetur16g01270	355,821	1,884841	0,149609	12,59843	2,15E-36	1,07E-34
tetur16g04036	190,929	1,85116	0,173264	10,68407	1,21E-26	3,64E-25
tetur01g13990	302,7705	1,849166	0,17125	10,79807	3,52E-27	1,13E-25
tetur14g02610	57,04498	1,842208	0,262193	7,026144	2,12E-12	2,69E-11
tetur38g00150	4227,125	1,838727	0,134279	13,69331	1,11E-42	8,40E-41



EK 2 RvsL Karşılaştırmasında İfade Seviyesi En Çok Azalış Gösteren 50 Gen

	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
tetur02g13460	398,5111	-2,05505	0,16574	-12,3993	2,64E-35	1,24E-33
tetur21g00280	113,7543	-2,05661	0,266388	-7,72037	1,16E-14	1,89E-13
tetur08g08289	337,1359	-2,06018	0,163207	-12,6231	1,57E-36	8,04E-35
tetur17g01100	46,9628	-2,06255	0,270621	-7,62156	2,51E-14	3,90E-13
tetur27g01750	65,31743	-2,07137	0,352123	-5,88252	4,04E-09	3,42E-08
tetur28g00790	55,86562	-2,11131	0,286508	-7,3691	1,72E-13	2,45E-12
tetur01g04390	69,47914	-2,12107	0,416538	-5,09214	3,54E-07	2,24E-06
tetur05g04680	622,4634	-2,14128	0,138928	-15,4128	1,34E-53	1,23E-51
tetur12g01820	89,94977	-2,14637	0,390574	-5,49543	3,90E-08	2,91E-07
tetur17g02300	69,50781	-2,17515	0,244046	-8,91288	4,97E-19	1,13E-17
tetur11g02200	102,0613	-2,21418	0,201098	-11,0104	3,40E-28	1,16E-26
tetur28g01760	91,80631	-2,22142	0,293218	-7,576	3,56E-14	5,46E-13
tetur04g07470	61,35412	-2,22281	0,244598	-9,08759	1,01E-19	2,42E-18
tetur37g00120	142,6627	-2,23369	0,184814	-12,0861	1,25E-33	5,22E-32
tetur33g90833	185,0088	-2,25449	0,250699	-8,99284	2,41E-19	5,54E-18
tetur05g04610	1079,275	-2,27323	0,137537	-16,5282	2,30E-61	2,49E-59
tetur18g03020	68,22352	-2,28037	0,289233	-7,88422	3,17E-15	5,70E-14
tetur02g12810	88,34975	-2,29415	0,281028	-8,16341	3,26E-16	6,30E-15
tetur11g01820	145,8326	-2,30953	0,168783	-13,6834	1,28E-42	8,76E-41
tetur11g01700	81,98863	-2,31275	0,368905	-6,26924	3,63E-10	3,57E-09
tetur02g90674	142,5277	-2,31636	0,212824	-10,8839	1,38E-27	4,60E-26
tetur08g04930	77,39517	-2,32566	0,34232	-6,79383	1,09E-11	1,31E-10
tetur15g01970	122,1233	-2,33921	0,600598	-3,89481	9,83E-05	0,000372
tetur01g16200	104,9501	-2,40977	0,315399	-7,64038	2,17E-14	3,40E-13
tetur08g03180	132,0368	-2,42822	0,557244	-4,35756	1,32E-05	5,91E-05
tetur09g05410	115,2297	-2,50258	0,218401	-11,4586	2,13E-30	7,67E-29
tetur30g01430	70,67849	-2,51714	0,373734	-6,73513	1,64E-11	1,93E-10
tetur03g09300	3325,783	-2,56395	0,590916	-4,33895	1,43E-05	6,40E-05
tetur23g00740	138,3301	-2,58972	0,217908	-11,8844	1,43E-32	5,58E-31
tetur21g02180	251,9192	-2,59578	0,591543	-4,38816	1,14E-05	5,16E-05
tetur02g04280	143,4021	-2,6242	0,203974	-12,8653	7,05E-38	4,05E-36
tetur26g02780	278,4127	-2,6654	0,140942	-18,9113	9,21E-80	1,88E-77
tetur40g00210	485,2204	-2,68385	0,162125	-16,5542	1,49E-61	1,72E-59
tetur01g02540	135,4491	-2,71616	0,255482	-10,6315	2,13E-26	6,20E-25
tetur18g03040	33458,63	-2,72734	0,252927	-10,7831	4,14E-27	1,31E-25
tetur03g06910	206,5537	-2,79229	0,578136	-4,82981	1,37E-06	7,68E-06
tetur05g07860	227,882	-2,85319	0,171597	-16,6273	4,42E-62	5,42E-60
tetur10g05690	1137,228	-2,89227	0,121956	-23,7157	2,49E-124	9,14E-122
tetur19g02170	134,8677	-3,01109	0,502004	-5,99814	2,00E-09	1,76E-08
tetur17g01040	78,60814	-3,06981	0,257291	-11,9313	8,13E-33	3,32E-31
tetur05g01730	479,3829	-3,1942	0,52654	-6,06639	1,31E-09	1,20E-08

	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
tetur07g03150	126,7526	-3,30063	0,209631	-15,7449	7,44E-56	7,20E-54
tetur03g91550	467,0972	-3,3033	0,189833	-17,4011	8,10E-68	1,24E-65
tetur43g00420	100,7979	-3,31252	0,264132	-12,5411	4,45E-36	2,15E-34
tetur08g05020	101,7097	-3,35611	0,343343	-9,77481	1,44E-22	3,85E-21
tetur15g91241	100,3305	-3,38904	0,247687	-13,6828	1,29E-42	8,76E-41
tetur08g00400	136,2059	-3,67983	0,338267	-10,8785	1,46E-27	4,79E-26
tetur23g91453	1152,536	-3,77842	0,156991	-24,0678	5,44E-128	2,50E-125
tetur08g04270	112,5743	-4,09945	0,572711	-7,15797	8,19E-13	1,11E-11
tetur12g02250	568,4836	-5,41616	0,175611	-30,8418	7,21E-209	1,33E-205
tetur03g05500	763,0175	-5,54545	0,187366	-29,5969	1,64E-192	1,50E-189



EK 3 RvsS Karşılaştırmasında İfade Seviyesi En Çok Artış Gösteren 50 Gen

	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
tetur18g92102	20641,5629	4,425544928	0,68146074	6,494203799	8,35E-11	2,71E-09
tetur03g09300	760,979892	4,352791432	0,752398358	5,785221862	7,24E-09	1,73E-07
tetur04g90896	191,026388	3,903460907	0,333436816	11,7067484	1,18E-31	2,64E-29
tetur13g92975	770,422635	3,663235288	0,544828215	6,723651951	1,77E-11	7,00E-10
tetur12g01070	946,668581	3,4502595	0,233223834	14,79376892	1,61E-49	3,24E-46
tetur39g00660	271,742465	3,205286761	0,35000088	9,157939146	5,29E-20	4,63E-18
tetur18g03310	219,61574	2,951633581	0,248727026	11,86695963	1,76E-32	5,06E-30
tetur08g91626	3358,36547	2,868119293	0,263623617	10,87959921	1,44E-27	2,24E-25
tetur18g03040	7345,08253	2,842217386	0,283447154	10,02732731	1,16E-23	1,66E-21
tetur14g01470	3464,26872	2,837643302	0,203833753	13,92136122	4,70E-44	4,73E-41
tetur22g02050	845,35591	2,83752463	0,545980589	5,197116321	2,02E-07	3,32E-06
tetur03g03430	59,4374446	2,809477754	0,324318393	8,662714832	4,61E-18	3,32E-16
tetur01g91119	1881,15969	2,523264503	0,204860763	12,31697308	7,34E-35	2,46E-32
tetur05g01730	81,1486807	2,476025757	0,671191154	3,689002367	0,000225135	0,001492261
tetur23g91453	134,903816	2,463696977	0,266993704	9,227547108	2,77E-20	2,62E-18
tetur01g91103	89,4143384	2,450547861	0,350736428	6,9868644	2,81E-12	1,26E-10
tetur07g00620	43,8357739	2,44165933	0,368862742	6,619425206	3,61E-11	1,25E-09
tetur13g92950	623,733888	2,436476152	0,197375408	12,3443755	5,22E-35	2,46E-32
tetur26g02570	801,988585	2,420618318	0,265907236	9,103243488	8,77E-20	7,36E-18
tetur07g04810	123,576463	2,405952333	0,245763031	9,789724361	1,25E-22	1,48E-20
tetur17g01340	120,722175	2,326606487	0,262003006	8,880075558	6,68E-19	5,18E-17
tetur13g01340	44,1579069	2,289406688	0,361821792	6,327442792	2,49E-10	7,85E-09
tetur13g02950	54,3756562	2,234834518	0,32391236	6,899503676	5,22E-12	2,19E-10
tetur43g90790	12110,2128	2,218238301	0,238938983	9,283701958	1,64E-20	1,74E-18
tetur06g00730	67,5680365	2,214655269	0,27534073	8,043326057	8,74E-16	5,68E-14
tetur01g09820	145,700267	2,167585044	0,221047797	9,805956346	1,06E-22	1,34E-20
tetur37g00690	32,9889216	2,136818926	0,381175521	5,60586608	2,07E-08	4,30E-07
tetur13g03190	78,3009288	2,130185832	0,281592128	7,564791833	3,88E-14	2,17E-12
tetur21g02180	62,7576454	2,123455591	0,778515738	2,727569253	0,006380286	0,023262984
tetur15g01970	35,3023877	2,109373787	0,583215776	3,616798233	0,00029827	0,001826788
tetur32g01180	209,896251	2,086527018	0,372796471	5,596960213	2,18E-08	4,44E-07
tetur35g00210 = TuCCE66	304,77021	2,023363843	0,175357728	11,53849257	8,44E-31	1,70E-28
tetur04g02070	52,6442879	2,020087821	0,40633	4,971544852	6,64E-07	9,56E-06
tetur11g06460 = UGT	107,876054	2,013819177	0,273898988	7,352415552	1,95E-13	1,06E-11
tetur11g02500	536,31294	1,982291367	0,728901095	2,719561517	0,006536853	0,023773943
tetur18g03340	48,9282488	1,920988163	0,357886461	5,367591048	7,98E-08	1,40E-06

	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
tetur16g01190	592,967603	1,915962663	0,162279864	11,80653356	3,61E-32	9,10E-30
tetur01g03440	120,047416	1,883459156	0,305378857	6,167614792	6,93E-10	1,97E-08
tetur12g00850	56,0154243	1,875606518	0,461861424	4,060972447	4,89E-05	0,000413742
tetur05g04220	158,456455	1,84531789	0,229651328	8,035302482	9,33E-16	5,88E-14
tetur06g04800	88,0936029	1,837747926	0,726571565	2,529341933	0,011427664	0,03690183
tetur20g00910	86,832973	1,835325269	0,2909902	6,307172097	2,84E-10	8,81E-09
tetur03g01750	164,404786	1,784337788	0,309650716	5,762421001	8,29E-09	1,92E-07
tetur08g07180	27,6526193	1,781726829	0,392193657	4,542977167	5,55E-06	6,26E-05
tetur38g00150	5273,85073	1,766910174	0,14329154	12,33087576	6,18E-35	2,46E-32
tetur11g02570	34,324168	1,752650352	0,414713797	4,226168418	2,38E-05	0,00022382
tetur23g91456	574,645378	1,750443634	0,212299536	8,245159945	1,65E-16	1,11E-14
tetur37g00010	161,015394	1,725806939	0,198583533	8,690584339	3,61E-18	2,69E-16
tetur03g02470	50,4803611	1,696540268	0,337368722	5,028742017	4,94E-07	7,26E-06
tetur38g00310	309,324182	1,686321248	0,210798302	7,999690848	1,25E-15	7,62E-14

EK 4 RvsS Karşılaştırmasında İfade Seviyesi En Çok Azalış Gösteren 50 Gen

	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
tetur02g08380	58,131525	-1,371932392	0,322385297	-4,255567502	2,09E-05	0,000201037
tetur09g01570	70,2219546	-1,378592316	0,249236003	-5,531272773	3,18E-08	6,04E-07
tetur10g02630	241,941081	-1,396715259	0,277505181	-5,033114179	4,83E-07	7,15E-06
tetur25g01340	52,4402143	-1,398387823	0,30306601	-4,614136113	3,95E-06	4,65E-05
tetur12g00790	45,497243	-1,402439635	0,363000151	-3,86346846	0,000111788	0,000853534
tetur21g00380	31,8586232	-1,420658712	0,413363932	-3,436823106	0,00058858	0,003303589
tetur06g00940	266,181522	-1,432916177	0,204665721	-7,001251461	2,54E-12	1,19E-10
tetur12g01120	45,7441628	-1,456912816	0,289170345	-5,038251128	4,70E-07	7,06E-06
tetur38g00090	167,035672	-1,460300458	0,256510402	-5,692948307	1,25E-08	2,73E-07
tetur16g03896	32,2612546	-1,486865155	0,383054103	-3,881606128	0,000103769	0,000801127
tetur16g04139	309,948358	-1,496203063	0,167677617	-8,923093564	4,53E-19	3,65E-17
tetur19g02530	33,1410112	-1,502728372	0,387110093	-3,881914728	0,000103637	0,000801127
tetur21g00280	75,2377675	-1,511786956	0,336300975	-4,495339194	6,95E-06	7,69E-05
tetur07g06450	346,335182	-1,514100679	0,213595443	-7,088637554	1,35E-12	6,66E-11
tetur30g00150	33,5484424	-1,541998934	0,381644036	-4,040411453	5,34E-05	0,000447981
tetur08g04270	27,0812185	-1,544066131	0,352251621	-4,383418103	1,17E-05	0,000122612
tetur28g00210	35,5460916	-1,572129649	0,329973511	-4,764411684	1,89E-06	2,48E-05
tetur03g08440	38,223494	-1,582911665	0,313478884	-5,049500121	4,43E-07	6,71E-06
tetur05g01930	31,1842089	-1,585856668	0,341207588	-4,647776669	3,36E-06	4,07E-05
tetur05g04770	27,4113705	-1,588486583	0,361140023	-4,398533759	1,09E-05	0,000115581
tetur05g06830	84,5412962	-1,601515147	0,289303761	-5,535756409	3,10E-08	6,00E-07
tetur01g91118	56,0355267	-1,620585271	0,355148563	-4,56311933	5,04E-06	5,80E-05
tetur15g03710	71,0909799	-1,640380381	0,322883445	-5,080410299	3,77E-07	6,00E-06
tetur14g92990	87,9017389	-1,678760773	0,273607104	-6,135662222	8,48E-10	2,37E-08
tetur05g07990	89,2873204	-1,680586617	0,262955893	-6,391135015	1,65E-10	5,27E-09
tetur02g10020	79,5917281	-1,689339672	0,361116745	-4,678098408	2,90E-06	3,62E-05
tetur12g02250	65,1742116	-1,709362529	0,260885201	-6,552163641	5,67E-11	1,90E-09
tetur02g13790	80,5866	-1,736093419	0,317592365	-5,466420514	4,59E-08	8,41E-07
tetur19g02590	40,2164854	-1,740932883	0,383254988	-4,542492436	5,56E-06	6,26E-05
tetur05g08680	120,17102	-1,77548031	0,253939774	-6,991737768	2,72E-12	1,24E-10
tetur03g91533	118,023953	-1,776372507	0,270700592	-6,562130117	5,30E-11	1,81E-09
tetur01g08360	66,563358	-1,776741758	0,322836697	-5,503530968	3,72E-08	6,95E-07
tetur11g06100	617,556874	-1,793531401	0,226360063	-7,923356151	2,31E-15	1,37E-13
tetur07g01490	82,2456897	-1,804182648	0,303378392	-5,946971483	2,73E-09	6,93E-08
tetur03g04440	40,7220611	-1,809247365	0,323033149	-5,600810232	2,13E-08	4,39E-07
tetur07g03850	143,168062	-1,830595534	0,274383764	-6,671661287	2,53E-11	9,62E-10

	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
tetur01g10510	115,537834	-1,843974411	0,258223833	-7,140992336	9,27E-13	4,77E-11
tetur41g00540	51,9782777	-1,859905458	0,3353906	-5,545490712	2,93E-08	5,79E-07
tetur10g03900	40,6844483	-1,890740539	0,382940125	-4,937431248	7,92E-07	1,12E-05
tetur05g04610	737,442966	-1,949115207	0,175335145	-11,11651179	1,04E-28	1,75E-26
tetur18g03230	41,3575035	-1,973519676	0,333570236	-5,916354228	3,29E-09	8,19E-08
tetur29g00250	92,1049411	-1,984112712	0,329753993	-6,016948254	1,78E-09	4,65E-08
tetur04g07950	34,3540157	-1,997889796	0,357853469	-5,582982892	2,36E-08	4,76E-07
tetur01g03980	78,0949643	-2,072669805	0,416371725	-4,977931215	6,43E-07	9,32E-06
tetur43g00420	46,7180034	-2,135343072	0,327223904	-6,525632901	6,77E-11	2,24E-09
tetur06g02430	2555,01517	-2,146182172	0,310593226	-6,909945203	4,85E-12	2,12E-10
tetur10g04160	46,3515442	-2,159800274	0,343732966	-6,2833667	3,31E-10	9,82E-09
tetur01g04720	257,14822	-2,278643072	0,199133851	-11,4427711	2,56E-30	4,68E-28
tetur09g02350	43,4512249	-2,281458317	0,819505386	-2,783945484	0,005370206	0,02053314
tetur03g05500	111,79318	-2,40295118	0,259436286	-9,262201592	2,00E-20	2,02E-18
tetur03g91550	292,274948	-2,959088322	0,230725598	-12,82514101	1,19E-37	7,96E-35