

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

PAMUK EKİM ALANLARINDA ZARARLI *Tetranychus urticae* KOCH  
(ACARI: TETRANYCHIDAE) POPÜLASYONLARININ BAZI  
AKARİSİTLERE DİRENÇ DURUMUNUN ARAŞTIRILMASI

YASİN NAZİM ALPKENT

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ANKARA  
2022

Her hakkı saklıdır

## ÖZET

Doktora Tezi

PAMUK EKİM ALANLARINDA ZARARLI *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) POPÜLASYONLARININ BAZI AKARİSİTLERE DİRENÇ DURUMUNUN ARAŞTIRILMASI

Yasin Nazım ALPKENT

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet Güray FERİZLİ

Pamuk bitkisinde ana zararlılardan biri olan *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) kırmızıörümcek popülasyonlarında, yoğun kullanılan bazı akarisitlere karşı direnç durumu biyoassay, biyokimyasal ve moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda pamuk üretiminin yoğun olarak gerçekleştirildiği Aydın, Adana, Şanlıurfa ve Diyarbakır illerindeki pamuk üretim alanlarından toplanılan kırmızıörümcek popülasyonlarının teşhisleri hem moleküler olarak nükleer gen olan ITS bölgesine bakılarak hemde morfolojik olarak yapılarak doğrulanmıştır. Bakılan 46 popülasyondan iki tanesinin *Tetranychus atlanticus* McGregor (Acari:Tetranychidae) olduğu belirlenmiştir. Toplamda 44 adet popülasyona bakılarak ayırıcı dozu geçen ve dirençli kabul edilen popülasyonların, Glutamat kapılı klor kanalları düzenleyici ve METI gurubu akarisit ve insektisitlere karşı LC (lethal konsantrasyon) değerleri belirlenmiştir. Abamectin etken maddesinde yüksek dirençli (LC<sub>50</sub> 33.80 mg/l ile 156 kat) popülasyonun 2 numara ile Diyarbakır'dan alınan popülasyon olduğu, bifenazate (LC<sub>50</sub> 57 mg/l ile 84.80 kat) ve tebufenpyrad (LC<sub>50</sub> 96.4 mg/l ile 12 kat) etken maddesinde ise sırasıyla orta düzeyde dirençli 4 numaralı popülasyon ile Aydın ilinden toplanan *T. urticae* popülasyonu olduğu tespit edilmiştir. Yaptığımız biyokimyasal çalışmalar sonucu karboksilesteraz ve P-450 enzimlerinin yüksek çıktığı, GST enziminin ise direnç gelişiminde düşük katkısı olabileceği sonucuna varılmıştır. Hedef bölge direncinde bakılan Glutamat kapılı klor kanallarında (GluCl üniteleri), Mitokondriyal elektron taşıma engelleyicisi METI 1 (PSST) ve METI 3 (Cytb) bölgelerinde kanıtlanmış olan herhangi bölge mutasyonuna rastlanılmamıştır. Bu çalışma ile etken maddelerden abamectin'de çok sayıda popülasyonda direnç gelişimi gözlenirken, diğer etken maddelerinde ise az sayıda popülasyonda direnç gelişimi görülmüştür. Abamectin'de 28 popülasyonun, bifenazate'de 42 popülasyonun ve tebufenpyrad'da ise 43 popülasyonun ruhsat dozunun altında kalan değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Örtüaltı kontrollü alanda yapılan farklı ürün gurupları ile karşılaştırıldığında, tarlada oluşan direncin çok yükselemediği toplanılan popülasyonlar ile gözlemlenmiştir.

**Şubat 2022, 160 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Ayırıcı doz, cytb, GluCl, mutasyon, pamuk, psst, tebufenpyrad

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### INVESTIGATIONS OF RESISTANCE STATUS TO SOME ACARICIDES OF *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) POPULATIONS IN COTTON GROWING AREAS

Yasin Nazım ALPKENT

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

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet Güray FERİZLİ

Resistance to some intensely used active substances of mite *Tetranychus urticae* populations have been tested through bioassay, biochemical and molecular methods. In our study, diagnosis of spider mite populations collected from cotton production areas in Aydın, Adana, Şanlıurfa and Diyarbakır Provinces, where cotton production is intensively taken place, have been verified morphologically and by molecular investigating nuclear ITS gene region. Totally in 46 populations have been tested and two of examined populations have been detected to be *Tetranychus atlanticus* McGregor (Acari:Tetranychidae). Afterwards, LC values of the populations, surpass discriminating dose and were accepted to be resistant, have been determined against glutamate-chloride channel modulators and group of Mitochondrial complex electron transport inhibitors (METI) acaricide and insecticides. It was found the population collected from Diyarbakır (No 2) exhibited high resistance (LC<sub>50</sub> 33.8 mg/l and 156 fold) against abamectin, the population collected from Aydın (No 4) exhibited medium level resistance against bifenazate (LC<sub>50</sub> 57 mg/l and 84.8 fold) and tebufenpyrad (LC<sub>50</sub> 96.4 mg/l and 12 fold). As a result of our biochemical studies, it is concluded carboxylesterase and p-450 enzyme levels are high and GST level has slight effect on resistance development. In Glutamate gated chloride channel (GluCl sub-units), researched in target site resistance, it is not found any verified target site mutation in Mitochondrial electron transport inhibitor METI 1 (PSST) and METI 3 (Cytb) regions. With this study, while resistance development is seen against one active substance (abamectin) in numerous populations in the other active substances tested, resistance development is determined in a couple of populations. 28 populations in abamectin, 42 populations in bifenazate, 43 populations in tebufenpyrad were determined to be under registered rate. In comparison to different crops, grown in greenhouses and semi-closed greenhouse, it is observed through the collected populations that the resistance couldn't increase in field conditions.

**February 2022, 160 page**

**Key words:** Diagnostic dose, cytb, GluCl, mutation, cotton, psst, tebufenpyrad

## ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Ülkemiz pamuk ekim alanlarının yoğunlaştığı Güneydoğu, Akdeniz ve Ege bölgesinde hasat edilen pamuk, hem iç tüketimde hemde dünyada rağbet gören en önemli endüstriyel ürünlerden bir tanesidir. Ülkemiz pamuk yetiştiriciliğinde % 56'lık bir pay ile Güneydoğu Anadolu bölgesi birinci sırada yer almaktadır. Üretim alanı bakımından Şanlıurfa başı çekmektedir. Yoğun yetiştiriciliği yapılan bölgelerde en uygun koşulların sağlandığı doğada, pamuk bitkisi pek çok zararlının baskısına maruz kalmaktadır. Ana zararlı durumunda bulunan iki noktalı kırmızıörümcek *Tetranychus urticae* Koch,1836 (Acari: Tetranychidae) verimi olumsuz yönde etkileyen önemli zararlılar arasındadır. *Tetranychus urticae* çok döl veren, kısa sürede gelişen ve çok sayıda ve farklı konukçusu olan polifag bir zararlıdır. Mücadelede kesin ve kısa sürede etkisini göstermesi sebebiyle sentetik pestitiler tercih edilmektedir. Ancak sık ve yoğun kullanılan aynı etki mekanizmasına sahip akarisit ve insektisitlerde, zararlının direnç geliştirme sorunları ile karşılaşmaktadır. Bu nedenle direnç düzeylerinin belli aralıklarla tespiti gerekmektedir.

Bu amaçla çalışma 2018 – 2021 yılları arasında yürütülmüş olan bu proje çerçevesinde Diyarbakır, Şanlıurfa, Adana ve Aydın illeri pamuk yetiştiriciliği yapılan bölgelere gidilerek toplanan popülasyonların bölgede en eski ve en çok kullanılan akarisit ve insektisit özelliği gösteren kimyasalların, zararlı popülasyonlar üzerindeki hassasiyet kaybına ve son durumuna bakılmıştır. Proje çalışmaları Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'nün desteğiyle gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarım boyunca ilgi ve desteğini gördüğüm, tezimin planlanmasında yardımcı olan, nezaketini hiçbir zaman kaybetmeyen doktora sürecimin başladığı ve danışman hocam olarak bir süre devam eden ancak sonrasında emekliye ayrılan değerli hocam Prof. Dr. Sultan ÇOBANOĞLU 'na, bana her konuda desteğini esirgemeyen, fikirlerinden, bilgisinden ve bakış açısından faydalanarak kendimi geliştirdiğim, çalışmanın yürütülmesinde yakından alakadar olan, bu çalışmada ve çalışma haricinde dahi her konuda benim yanımda olduğunu hissettiren, derslerini büyük bir keyif ile dinlediğim ve faydalandığım değerli tez hocam Prof. Dr. Ahmet Güray FERİZLİ 'ye, doktora projemin her aşamasında ve tez izleme toplantılarında katkı, bilgi ve önerilerini esirgemeyen Prof. Dr. Nabi Alper KUMRAL ve Prof. Dr. Mevlüt EMEKCİ 'ye ayrı ayrı teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerini benden esirgemeyen, yanımda olduklarını bildiğim değerli hocalarım ve arkadaşlarım Prof. Dr. Recep AY, Dr. Esengül ÖZDEMİR, Dr. Filiz Randa ZELYÜT, Dr. Narin GÖK ve Dr. Ahmet HİKMET 'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu uzun süreçte ve dahi öncesinde bana beraber çalışma fırsatı veren, farklı bakış açısından bakmayı gösteren, her türlü katkı, bilgi ve desteğini gördüğüm, her süreçte eğlencesine tanık olduğum, hayatını gülerken, neşeli ve mutlu geçirmesini dilediğim değerli kardeşim ve hocam Dr. Emre İNAK 'a teşekkürlerimi sunarım.

Arazi ve laboratuvar çalışmalarım sürecinde her türlü zorlukta desteklerini esirgemeyen, değerli ve pek kıymetli dostlarım Durmuş MADENTAS, Dr. Emrah KAYIŞ, Dr. Cahit KAYA, Dr. Başak ÇINKUL ve Dr. Selçuk ULUSOY 'a, moleküler laboratuvarını neredeyse bana tahsis eden, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, bu süreçte moleküler kısmında anlama düzeyimi arttıran ve bana zaman ayıran değerli dostum Ali Ferhan MORCA 'ya, desteğini ve güler yüzünü esirgemeyen çok değerli Doç. Dr. Mustafa ÖZDEMİR 'e, bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli Dr. Okray OREL, Dr. Yasemin SABAHOĞLU ve Dr. Arzu AYDAR'a, fikir ve desteklerinin yanımda olduğunu bildiğim bilgilerinden yararlandığım Dr. Aysel TAKKABULAN, Mustafa SEZGEN, Sıtkı USTA ve Ankara Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü idaresine, bu süreçte sonradan katılan ve desteğini hiçbir zaman çekmeyen, her türlü yardıma koşan, laboratuvar, arazi ve yol arkadaşım, pek çok konuda beraber fikir birliği ve fırtınası yapabildiğim, hayatta sonsuz mutluluğun ve neşenin peşini bırakmamasını dilediğim pek kıymetli kardeşim ve dostum Dr. Haşim AKBAY 'a teşekkürlerimi sunarım.

Bana hayatım boyunca güvenen ve her türlü maddi ve manevi desteğini gördüğüm, hiçbir zaman olumsuzluk nedir, yorulmak nedir bilmeyen güler yüzlü koca çınar canım ağabeyciğim Hakan ALPKENT 'e, dualarıyla bugüne geldiğim manevi desteğini hiçbir zaman eksiltmeyen uyku nedir, sabırsızlık nedir bilmeyen canım anneciğim Meryem ALPKENT 'e sonsuz teşekkürlerimi sunarken, bu çalışmamı beni göremeyen canım babacığim Muhittin ALPKENT 'in ruhuna atfediyorum.

Bu tez çalışması Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğümüz Proje Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje no: TAGEM/BSAD/A/21/A2/P2/3938)

Yasin Nazım ALPKENT  
Ankara, Şubat 2022

## İÇİNDEKİLER

### TEZ ONAYI

ETİK.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	44
3.1 Materyal.....	44
3.2 Yöntem.....	45
3.2.1 Arazi çalışmaları.....	45
3.2.1.1 Pamuk alanlarından <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarının temini.....	45
3.2.2 Laboratuvar çalışmaları.....	47
3.2.2.1 Temiz bitki yetiştirilmesi.....	47
3.2.2.2 Pamuk üretim alanlarından temin edilen popülasyonların kültüre alınması.....	48
3.2.2.3 Akarların teşhisi ile ilgili çalışmalar.....	48
3.2.3 Biyoassay çalışmaları.....	50
3.2.3.1 Denemede kullanılan akarisit konsantrasyonlarının hazırlanması.....	50
3.2.3.2 Kullanılan akarisitlere ait genel özellikler.....	51
3.2.3.3 Kullanılan bitki koruma ürünlerinin etki mekanizması.....	58
3.2.3.4 Ayırıcı doz ve lethal konsantrasyonlarının belirlenmesi.....	58
3.2.4 Biyokimyasal çalışmalar.....	60
3.2.4.1 Microplate assay ile toplam karboksilesteraz enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	61
3.2.4.2 Glutathion S-transferaz (GST) enziminin kinetik olarak belirlenmesi.....	62
3.2.4.3 Microplate assay ile Sitokrom P-450 monooksijenaz enziminin aktivitesinin kinetik olarak belirlenmesi.....	62
3.2.5 Moleküler çalışmalar.....	63

3.2.5.1 Total DNA ekstraksiyonu .....	63
3.2.5.2 Hedef bölge mutasyonlarının taranması .....	63
3.2.5.3 Sonuçların değerlendirilmesi .....	68
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>70</b>
4.1 Akarların Teşhisi.....	70
4.1.1 Morfolojik karakterlere göre teşhis .....	70
4.1.2 Moleküler yöntemle teşhis .....	73
4.2 Biyoassay Çalışmaları.....	75
4.2.1 Ayırıcı doz denemeleri .....	75
4.2.2 Popülasyonlara ayırıcı doz uygulama ve yüzde ölümler .....	79
4.2.3 Ayırıcı doz sonrası popülasyonların akarisitlere karşı toksisitesi ve direnç katsayıları .....	79
4.3 Biyokimyasal Analizler .....	93
4.3.1 Toplam karboksilesteraz enzim aktivitesinin belirlenmesi .....	93
4.3.2 Gluthation s-transferase enzim aktivitesinin belirlenmesi (GST enzimi kinetik okuma sonuçları).....	97
4.3.3 Sitokrom P-450 (monooksijenaz, cyp veya mixed function oxidase) enzimi kinetik okuma sonuçları (P-450 enzim aktivitesinin belirlenmesi).....	100
4.4 Moleküler Çalışmalar .....	103
4.4.1 Hedef bölge nükleotid dizilerinin incelenmesi .....	103
<b>5. SONUÇ.....</b>	<b>113</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>117</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>136</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>

## KISALTMALAR DİZİNİ

ABC	: ABC kaset taşıyıcıları (ATP-binding cassette transporter)
AchE	: Asetilkolin esterase
ADP	: Adenozin difosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
A.P.R.D.	: Eklembacaklı pestisit direnç veritabanı (Arthropod Pesticide Resistance Database)
B.K.Ü.	: Bitki koruma ürünü
BSA	: Bovine serum (Bovine Serum Albumine)
B.ç.	: Baz çifti (base pair)
Buffer	: Tampon çözelti
CCE	: Karboksilkolin esterase
CDNB	: 1-chloro-2,4-dinitrobenzene
ChE	: Kolinesteraz
Cl	: Klor
COE	: Karboksilesteraz
CoQ	: Koenzim q
Cytb	: Sitokrom b (Cytochrome b)
DEF	: S,S,S, tributyl phosphotriothioate
DEM	: Diethyl maleate
DNA	: Deoksi ribonükleik asit (Deoxy ribonucleic acid)
dNtp	: Dinükleotittrifosfatlar (deoxynucleotide triphosphate)
DT	: Toprakta kalıcılık
EC	: Emülsiyeye olabilen konsantre (emulsifiable concentrate)
EC <sub>50</sub>	: Bir pestisit'in maksimum etkisinin % 50'ini oluşturan doz veya konsantrasyon (Effective concentration)
ETC	: Elektron taşıma zinciri (electron transport chain)
FADH	: Flavin adenin dinükleotidi
<i>g</i>	: G kuvveti

GABA	: Gama-aminobütirik asit
gr	: Gram
GSH	: Glutasyon (reduced glutathione)
GSS	: Alman Hassas ırkı (German Susceptible Strain)
GST	: Glutasyon s-transferaz (Gluthation S transferase)
H+	: Hidrojen
HCl	: Hidroklorik asit
ICAC	: Uluslararası pamuk danışmanları komitesi (International Cotton Advisory Committee)
IRAC	: İnsektisit direnç eylem komitesi (Insecticide Resistance Action Committee)
K+	: Potasyum
L	: Litre
LC	: Öldürücü konsantrasyon (lethal concentration)
LC <sub>50</sub>	: Popülasyonun % 50 'sini öldüren konsantrasyon
LC <sub>90</sub>	: Popülasyonun % 90 'ını öldüren konsantrasyon
LC <sub>99</sub>	: Popülasyonun % 99 'unu öldüren konsantrasyon
M	: Molar
METI	: Mitokondriyal elektron taşıma inhibitörleri (engelleyicileri)
MFO	: Çoklu fonksiyonlu oksidazlar
mg	: Miligram
MgCl	: Mağnezyum klorür
µg	: Mikro gram
µL	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
min	: Dakika
mOD	: Mili optik yoğunluk
Na+	: Sodyum
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotit

NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NCBI	: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information)
nm	: Nanometre
nmol	: Nanomol
O.D.	: Optik yoğunluk (optic density)
PBO	: Piperonil bütoksit (Piperonyl butoxide)
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
P-450	: Sitokrom P-450 (MO: monooksijenaz, MFO (Mixed function oxygenases, Cytochrom p450 Monooxygenase)
ppm	: Milyonda bir birim (parts per million)
rpm	: Dakikada devir sayısı (Revelution Per Minute)
R.R.	: Direnç oranı (resistance ratio)
Sekans	: Dizilim
SC	: Akıcı konsantre / Süspansiyon konsantre (suspension concentrate/ flowable concentrate)
SNP	: Tek nükleotid değişikliği (Single nucleotide polymorphism)
Taq	: Termofilik (sıcağa dayanıklı) bir bakteriden ( <i>Thermus aquaticus</i> ) elde edilen enzim. Tak polimeraz enzim
T.D.	: Tarla dozu
TPP	: Triphenyl phosphate
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
U.V.	: Ultra viyole
WP	: Islanabilir toz (wetable powder)
$\alpha$ -NA	: Alfa naftil asetat (1-NA)
$\beta$ -NA	: Beta naftil asetat (1-NB)
$\gamma$	: Gama
4-NPA	: 4-nitrophenyl acetate
4-NPB	: 4-nitrophenyl butyrate

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 <i>Tetranychus urticae</i> yaşam döngüsü soldan sağa doğru: yumurta, larva, protonimf, deutonimf, ergin .....	2
Şekil 3.1 Pamuk alanlarından görüntü.....	45
Şekil 3.2 Temiz fasülye bitkilerinin yetiştirilmesi .....	47
Şekil 3.3 Böcek yetiştirme odasında kültüre alınan akarların yetiştirme küvvetlerinden bir görünümü .....	48
Şekil 3.4 Molekül yapısı ve kapalı formülü $C_{18}H_{24}ClN_3O$ 'dur. (Anonymous 2021g) ...	53
Şekil 3.5 Molekül yapısı ve kapalı formülü $C_{17}H_{20}N_2O_3$ 'dur (Leeuwen vd. 2015). .....	55
Şekil 3.6 Molekül yapısı ve kapalı formülü $C_{95}H_{142}O_{28}$ 'dur (Kolberg vd. 2009).....	57
Şekil 3.7 Denemeye hazırlanmış petri ve akar aktarımı .....	60
Şekil 3.8 İlaç püskürtmesinde ve kurutulmasında kullanılan ilaçlama kulesi ve çekeroçak .....	60
Şekil 3.9 İklim dolabına deneme petrilerinin yerleştirilmesi .....	60
Şekil 4.1 (a) <i>Tetranychus atlanticus</i> erkeği aedeagus, (b) <i>Tetranychus urticae</i> erkeği aedeagus lateral görünüm.....	72
Şekil 4.2 Hassas GSS popülasyonunda abamectin, bifenazate ve tebufenpyrad ile yapılan denemede tespit edilen doz-tepki eğrisi .....	76
Şekil 4.3 Karboksilesteraz aktivite protein transformasyon sonrası değerler (nmol/dk/mg protein) .....	93
Şekil 4.4 $\alpha$ -naphthol standart eğrisi.....	97
Şekil 4.5 Gluthation S-Transferase enzim aktivitesinin protein transformasyon sonrası değerler (nmol/dk/mg protein) .....	97
Şekil 4.6 Sitokrom P-450 enzim aktivitesinin protein transformasyon sonrası değerler (nmol/dk/mg/ protein) .....	104
Şekil 4.7 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonları GluCl1 bölgesi konsensus karşılaştırmaları .....	104
Şekil 4.8 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonları GluCl3 bölgesi konsensus karşılaştırmaları .....	108
Şekil 4.9 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonları cytb bölgesi konsensus karşılaştırmaları.....	108
Şekil 4.10 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonları PSST bölgesi konsensus karşılaştırmaları.....	110

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Aydın, Adana, Şanlıurfa ve Diyarbakır illerinde toplanan <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarına ait bilgiler .....	46
Çizelge 3.2 Teşhis işleminde kullanılan ITS primerleri (Navajas vd. 1999).....	49
Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan akarisitlere ait bilgiler .....	50
Çizelge 3.4 Tebufenpyrad 'ın ruhsatlandığı ürün ve zararlılar ile son ilaçlama süresi ve hasat arası bekleme süresi (Anonim 2019c) .....	52
Çizelge 3.5 Bifenazate 'ın ruhsatlandığı ürün ve zararlılar ile son ilaçlama ve hasat arası bekleme süresi (Anonim 2019c) .....	55
Çizelge 3.6 Abamectin'in ruhsatlandığı ürün ve zararlılar ile son ilaçlama ve hasat arası bekleme süresi (Anonim 2019c) .....	57
Çizelge 3.7 Çalışmada kullanılan primer isimleri ve dizilimleri, gen ve mutasyon bölgesi .....	66
Çizelge 3.8 GluCl ve PSST bölgeleri; 1 PCR ürünü için gerekli olan ürün ve miktarlar .....	67
Çizelge 3.9 GluCl ve PSST bölgeleri; 1 PCR ürünü için gerekli olan mix ve miktarlar .....	67
Çizelge 3.10 CYTB bölgesi; 1 PCR ürünü için gerekli olan ürün ve miktarlar .....	67
Çizelge 3.11 GluCl, PSST ve CYTB bölgeleri için PCR reaksiyon koşulları.....	68
Çizelge 4.1 Pamuk bitkisinden toplanan tarla popülasyonlarında tespit edilen akarlar..	70
Çizelge 4.1 Pamuk bitkisinden toplanan tarla popülasyonlarında tespit edilen akarlar (devam) .....	71
Çizelge 4.2 Sekans sonucu belirlenen akar türleri .....	73
Çizelge 4.2 Sekans sonucu belirlenen türler (devam).....	74
Çizelge 4.3 Hassas GSS popülasyonunda tespit edilen ayırıcı doz (LC <sub>99</sub> ) ve LC <sub>50, 90</sub> değerleri.....	76
Çizelge 4.4 <i>Tetranychus urticae</i> 'nin tarla popülasyonlarında abamectin, bifenazate ve tebufenpyrad için ayırıcı dozlarda gerçekleşen ölüm (%).....	80
Çizelge 4.5 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarında abamectin uygulamasında hesaplanan LC <sub>50</sub> , LC <sub>90</sub> değerleri ve hesaplanan direnç oranları .....	82
Çizelge 4.6 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarında bifenazate uygulamasında hesaplanan LC <sub>50</sub> , LC <sub>90</sub> değerleri ve hesaplanan direnç oranları .....	86
Çizelge 4.7 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarında tebufenpyrad uygulamasında hesaplanan LC <sub>50</sub> , LC <sub>90</sub> değerleri ve hesaplanan direnç oranları .....	90
Çizelge 4.8 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarında esterase enzim aktivite değerleri ve direnç oranları .....	94
Çizelge 4.9 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarında GST enzim aktivite değerleri ve direnç oranları .....	98

Çizelge 4. 10 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarında P-450 enzim aktivite değerleri ve direnç oranları .....	101
Çizelge 4.11 Abamectin ile ilişkili hedef bölge duyarsızlığının oluşmasına katkı sağlayan SNP bölgelerinin Sanger sekansı hedef bölge mutasyonları açısından incelenmesi.....	105
Çizelge 4.12 Bifenazate ile ilişkili hedef bölge duyarsızlığının oluşmasına katkı sağlayan SNP bölgelerinin Sanger sekansı hedef bölge mutasyonları açısından incelenmesi.....	109
Çizelge 4.13 Tebufenpyrad ile ilişkili hedef bölge duyarsızlığının oluşmasına katkı sağlayan SNP bölgelerinin Sanger sekansı hedef bölge mutasyonları açısından incelenmesi.....	112



## 1. GİRİŞ

Pamuğun anavatanı tam olarak bilinmese de, Asya, Amerika ve Afrika'da yetiştiği, buradan da dünyaya yayılmış olabileceği düşünülmektedir. Pamuk; lifi ile tekstil, kâğıt ve birçok sanayi endüstrisinde kullanımı, çekirdeği ile yağ sanayisinde (rafine, margarin, sabun), tohum üzerindeki selülozun bol miktarda elde edildiği linter adı verilen kısa tüyler ile yatak, dolgu, mobilya endüstrisinde kullanımı yanı sıra kimya ve savaş endüstrisine katkısı, kapçık ve küspesi ile hayvan yem sanayisi gibi birçok alanda katkısı bulunmaktadır. Ayrıca, ihracatı ile ülkeye milli gelir sağlayan ve bu sektörde yoğun istihdam sağlama kapasitesi ile katma değer oluşturan önemli bir stratejik üründür (Anonim 2018a, Anonim 2019a).

Dünyada ortalama 32.1 milyon ha alanda pamuk ekimi yapılmakta ve ekimden ortalama 24.4 milyon ton pamuk lifi elde edilmektedir. Dünyada 2017/18 sezonu içerisinde en çok pamuk üreten ilk 5 ülke Hindistan, Çin, A.B.D., Pakistan ve Brezilya olurken, tüketimde ise Çin, Hindistan, Pakistan, Türkiye ve Bangladeş yer almıştır. Yine bu sezonda birim alandan elde edilen en yüksek verimde ilk beş ülke Avustralya, İsrail, Türkiye, Çin ve Meksika olmuştur. Bu dönemde en çok pamuk ithalatı yapan ilk beş ülkenin; Vietnam, Çin, Bangladeş, Türkiye ve Endonezya olması, en çok ihracat yapan ilk beş ülkenin ise sırasıyla; ABD, Hindistan, Brezilya, Avustralya ve Özbekistan olduğu tahmin edilmektedir (Anonymous 2019a). Uluslararası pamuk danışmanları komitesi (ICAC)'ne göre Türkiye pamuk ekim alanı olarak dünyada dokuzuncu, birim alandan elde edilen lif pamuk verimi yönünden üçüncü, pamuk üretim miktarı yönünden yedinci, pamuk tüketimi yönünden dördüncü, pamuk ithalatı yönünden dördüncü ülkedir (Anonymous 2018, Anonymous 2019b).

Ülkemizde pamuk ekimi 2017 yılında 501853 ha alanda iken 2018 yılında bu oran 518634 ha alana çıkmıştır. Üretim miktarına bakıldığında 2017 yılında 2450000 ton 2018 yılında ise 2570000 tona yükselmiştir. Yaklaşık % 4.90 'luk artış gerçekleşen pamukta verime bakıldığında ise bu oran 488 kg/da' dan 496 kg/da seviyesine çıkmıştır (Anonim 2019b). Dünya pamuk üretiminin 2017 yılında payımız % 3.60 iken bu oran 2018 yılında % 4 'e

yükselmiştir. Pamuk üretim bölgelerine göre ülkemizde 2017 yılında pamuğun % 56 'sı Güneydoğu Anadolu, % 22 'si Ege, % 18 'i Çukurova bölgesinde üretilmiştir. Üretilen iller açısından ise % 41.97 ile Şanlıurfa ilk sırada yer alırken sırasıyla Diyarbakır (% 8.80), Aydın (% 13.52), Adana (% 6.87) ve diğer iller (toplamı % 28.77) izlemiştir (Anonim 2018a).

Üretim esnasında iklim, çevre ve pek çok zararlı organizma gibi nedenlerden dolayı verimde düşüşler kalite ve kantitede kayıplar oluşmaktadır. Pamuk bitkisinin ekim ile hasat arasında pek çok zararlı ile karşı karşıya kalması sonucu; çiçek tomurcuğu, yeni tepe sürgünü ve olgunlaşma sürecine girecek olan koza zarar görmekte ve pamuk verimi azalmaktadır (Aslam vd. 2004). Bu zararlı organizmalar arasında ise ana zararlı *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) yer almaktadır.

Kırmızıörümceklerin bitkide beslenmeleri ile ortaya çıkan zarar bitkide zayıflama, klorofil azalması ve hızlı bir şekilde yaprakları kurutarak verimde kayıplar oluşturması şeklindedir. Ekonomik önemi yüksek olan bu zararlı ile mücadele edilmediği takdirde, zararlı pamuk bitkisini kurutarak yok olmasına neden olmaktadır. Kışı tarla kenarında yabancı otlar üzerinde veya çalılıklarda geçiren kırmızıörümcekte ergin dişi ömrü boyunca 100 - 150 yumurta koyar. Bir neslini 10-20 gün arasında tamamlar ve yılda yaklaşık 10-21 arası döl vererek devamlılığını sürdürür (Anonim 2018b).



Şekil 1.1 *Tetranychus urticae* 'nin yumurta (a), larva (b), protonimf (c), deutonimf (d), ergin (e) evresi

İki noktalı kırmızıörümcek gelişme sürecinde beş dönem geçirir. Bunlar yumurta, larva, protonimf, deutonimf ve ergindir. Yeni bırakılan yumurtalar yuvarlak, yaklaşık 0.14 mm çapında, yarı saydam beyaz renktedir. Zamanla rengi saman rengine doğru çevrilir. Yumurtanın açılması 15 ve 30 °C 'de sırasıyla 14.3 ve 2.8 gün sürer (Tjosvold ve Karlık 2003). Yumurtanın açılması ile içinden göz lekeleri kırmızı renkli olan, altı bacaklı şeffaf

beyazımsı larva çıkar. Larva gelişim süreci sıcaklık farkına bağlı olarak 15 ve 30 °C'de sırasıyla 6.7 gün ve 1.3 gün arasında değişir. Larva beslendikten sonra rengi koyulaşır ve vücudun üst kısmında orta yanlarında iki karakteristik koyu leke oluşur (Tjosvold ve Karlik 2003). Larva bir süre durgun bir aşamadan sonra daha büyük olan sekiz bacaklı protonimf olarak adlandırılan döneme geçer. Protonimf dönemini 15 ve 30 °C sıcaklıkta sırasıyla 5.3 ve 1.2 gün arasında tamamlanır. Protonimf larvaya göre daha büyük ve bacak sayısı dört çifttir (Tjosvold ve Karlik 2003). Protonimfler beslendikten sonra durgun döneme geçer ve daha uzun bacakları olan deutonimf dönemine geçer. Deutonimf dönemi ergin olmadan önceki son nimf evresidir. Bu aşamayı sıcaklık farklılıklarına bağlı olarak 15 ve 30 °C arasında sırasıyla 6.6 ve 1.4 gün arasında tamamlar. Erkek ve dişiler genellikle bu dönemde ayırt edilebilir. Yaşam döngüsündeki bir sonraki dönemi ise ergin dönemidir (Tjosvold ve Karlik 2003). Deutonimf döneminde belli bir süre beslendikten sonra son bir durgunluk evresi geçirir ve sonra ergin ortaya çıkar. Ergin olan dişi belirli bir bekleme süresinden (yaklaşık 3 gün kadar) sonra yetişkin dişi olarak yumurta bırakmaya başlar. Yumurtlama ilk başta hızlıdır ve daha sonra canlı yaşlandıkça yumurta verimi zamanla azalır. Yumurtaların bırakıldığı süre 10 gün (34 °C) ila 40 gün (15 °C) arasında değişiklik gösterebilir (Tjosvold ve Karlik 2003). Akarın gelişme süresi sıcaklık, orantılı nem, konukçu bitki, yaprak yaşı ve diğer faktörlere göre değişmekle birlikte, en önemli faktör sıcaklıktır. Gelişme için alt eşik yaklaşık 12 °C ve üst sınır yaklaşık 40 °C'dir. Yaşam döngüsü en uygun sıcaklıklarda genellikle 10 gün ila 2 hafta arasında değişmektedir (Tjosvold ve Karlik 2003).

Bu zararlı, bitkinin tüm aksamında bulunur. Özellikle taze ve kuvvetli yaprakları tercih eder, bu yaprakların alt yüzünde yaprak ayası ve sapı arasında beslenir. Beslenme sonucunda yaprak üst yüzeyinde serpiştirilmiş sarı noktaların oluşumu karakteristiktir. Daha sonra klorofilin kalmaması veya azalması ile yaprak yüzeyi sarımsı renkten bronz renge dönüşür. Yaprak dokusuna zarar verilmesi ile mezofil tabaka zarar görür ve dehidrasyona neden olur (Jeppson vd. 1975). Sonuçta koruyucu hücre tabakasında turgor basıncı azalır. Yapraklar bu şekilde zamanından önce kuruyarak yere dökülür. Bitkide taraklanmadan önce yoğun olarak beslenirse taraklanma gecikir. Taraklanmadan sonra yoğun olarak beslenir ise tarak, çiçek ve kozaların dökülmesine neden olmaktadır. Ayrıca

kozaların gelişmemesine ve küçük kalmasına neden olur (Anonim 2017, Anonymous 2019b).

Kırmızıörümceğin transgenik pamuklardaki zararı ile ilgili yapılan bir çalışmada, meyve oluşum dönemindeyken % 30-35 arasında zarara neden olduğu bildirilmektedir (Gore vd. 2013). Daha sıcak bölgelerde (Kaliforniya, Avustralya) kurak geçen zamanlarda ise pamukta % 90 'dan fazla verim kaybına neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, çalışmada pamuğun gelişme zamanında kırmızıörümceğin istilası sonucu bodurlaşma görüldüğü tespit edilmiştir (Gore vd. 2013). Amerikada 2011 yılında kırmızıörümceklerin pamuk üreticilerine verdiği zarar yaklaşık 12000 ton ürün kaybıdır. Bu zarar ise 24 milyon dolardan daha fazla bir rakama karşılık gelmektedir (Williams 2012). Pamuk bitkisi üç yapraklı döneme girdiğinde kırmızıörümcekler bitkiyi istila etmeye başlamaktadır. İki hafta gibi kısa bir sürede yoğunluğu yükselen akar popülasyonu sonucunda pamuk bitkisinin zayıfladığı ve veriminde kayıplara neden olduğu bildirilmiştir (Gore vd. 2013). Missisipi (ABD)'de yapılan çalışmada kırmızıörümceğin üç yapraklı döneminde % 45 verim kaybına neden olduğu tespit edilmiştir (Smith 2010). Kaliforniya (ABD)'de ise kırmızıörümceğin her bir metrekarede % 21-27 arasında verim kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Canerday ve Arant 1964). Wilson (1993) yaptığı çalışmada pamuğun farklı dönemlerinde kırmızıörümceklerin % 78 'e kadar verim kaybına neden olduğunu ve elyaf kalitesini de düşürdüğünü bildirmektedir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada Aydın pamuk ekim alanlarında zararlı türlerin popülasyon değişimlerine bakıldığında deneme süresince *Tetranychus* spp. 'lerde 2012 yılında en yüksek yoğunluğa 9.59 adet/yaprak ile ulaşıldığı, 2013 yılında ise 8.65 adet/yaprak seviyesinde gözlemlendiği kaydedilmiştir (Kılıç ve Gençsoylu 2016). Pamuk alanlarında bitki su stresine girdiğinde kırmızıörümcek yoğunluk oluşturabilmektedir. Bu nedenle, sulamaya dikkat edilerek, zararlının hızla çoğalmasının engellenebildiği bildirilmektedir (Kılıç ve Gençsoylu 2016). Bu zararlı ile savaşmada kültürel mücadelenin sınırlı kalması, mücadelenin dikkatli bir şekilde yapılmasını gerektirmektedir. Hasattan sonra tarla sürülerek, zararlının tarla içinde kışı geçireceği ortamları (yabancı ot, bitki artıkları) toprağa karıştırmak veya ateş ile yok etmek önemlidir. *Tetranychus urticae* 'nin 1100 'den fazla konukçu bitki (Grbic vd. 2011, Balcı vd. 2020) ile beslenmesi, özellikle

ekim öncesi tarla hazırlığı sürecinde, tarlanın yabancı ottan ari olmasına özen gösterilmesi kültürel önlemlerin başında gelmektedir (Anonim 2017).

Alternatif mücadele olanaklarının kısıtlı olması ve kimyasal mücadele ile kısa sürede daha hızlı sonuç alınması, *T. urticae* mücadelesinde akarisit kullanımının tercih edilmesine yol açmıştır. Tarım ve Orman Bakanlığı Zirai Mücadele Teknik talimatına göre pamukta mücadele zamanının belirlenmesi için bitkiler 4-6 yapraklı olduktan sonra sürveylere başlanır. Ekonomik zarar eşiği 10 adet ergin + nimf/yaprak olduğunda mücadeleye başlanması önerilmektedir (Anonim 2017). İki noktalı kırmızıörümcek yoğunluğu öncelikle tarla kenarlarında ve bitkide bölgesel görülmektedir. Bu yerlerin ilaçlanmasında şerit şeklinde ilaçlama önerilmektedir. Ancak, bu durum yüksek popülasyonlarda ve tarla geneline bulaşan zararlı yoğunluğu için ekonomik zarar eşiği dikkate alınarak mücadelenin yapılması gerekliliğini doğurmaktadır. Akarisit kullanımındaki artışın nedenleri arasında düşük doz uygulaması, sırt pulvarizatör veya ilaçlama tanklarındaki meme başlıklarının optimizasyonun yapılmaması, kalibrasyon hataları ve bunların fazla veya az püskürtmesi ile yüksek doz uygulaması, çevrede uzun süre kalıcılığı olan ilaçların kullanılması, uygulama yapılan zamanın veya çevre şartlarının uygun olmaması, tavsiye dışı kullanımlar, etki mekanizması aynı gruptan akarisitlerin art arda kullanılması gibi nedenler çiftçilerin mücadelede kullandıkları akarisitlerin dozunun ya da uygulama sayısının artmasına neden olmaktadır. Sonuçta, insan sağlığına olumsuz etkileri, çevre yönüyle makro ve mikro habitatta ekotoksik zararları, faydalılara, polenleyici arı, sinek ve arıcıklara yan etki gibi birçok soruna sebep olmaktadır. Ayrıca, sık uygulamalar sonucu üründe kalıntı sorununa da neden olabilmektedir.

Zararlı organizmalarda direnç oluşumu akarisitlerin etkinliğinin kısa sürede kaybedilmesine neden olmaktadır. Yapılan bir araştırmada dünyada yeni molekül geliştiren ülkelerin piyasaya süreceği pestisitlerin keşif ve geliştirme süresinin 1995 yılında 8.3 yıldan, 2010-2014 yılları arasında bu sürenin 11.3 yıla uzadığı bildirilmiştir (Mcdougall 2016). Bu süreye ilaveten çevre toksikolojisi, tarla denemeleri, akut toksikoloji denemeleri, biyoloji çalışmaları, kimyasalın fiziksel ve kimyasal stabilite denemeleri gibi işlemlerden geçmesi ve son olarak da ruhsat aşamalarını da içeren maliyetlere bakıldığında, 1995 yılında 152 milyon dolardan, 2010-14 yılları arasında bu

maliyetin 286 milyon dolara çıktığı bildirilmiştir (Mcdougall 2016). Bir yandan yeni moleküllerin geliştirilme maliyet ve süreçleri, diğer yandan ise AB ile uyum süreci kapsamında pek çok etken maddenin yasaklanması, elde kalan akarisitlerin bilinçli bir şekilde daha uzun sürelerce etkin olarak kullanılma gerekliliğini doğurmuştur.

Ülkemiz, dünya genelinde en fazla akarisit kullanan 10. ülke konumundadır (Van Leeuwen vd. 2015). Pamukta toplamda 6 farklı etki mekanizmasına sahip, ruhsatlı 11 adet farklı etken madde (clofentezine, etoxazole, hexythiazox, abamectin, spiromesifen, lambda-cyhalothrin, bifenthrin, bifenazate, tebufenpyrad, fenbutatin oxide, azadirachtin) ve toplamda 182 adet ürün bulunmaktadır (Anonim 2019c). Toplam kullanılan pestisit miktarının 2018 yılında 60.020 ton olduğu; bunun içinde akarisitlerin 2.486 tonluk tüketim miktarı ile yer aldığı bildirilmektedir (Anonim 2019b).

Az sayıda etki mekanizmasına sahip sınırlı sayıdaki ruhsatlı maddenin, uzun yıllar kullanılması akarılarda akarisitlere karşı direnç gelişimini mümkün kılabilir. Direncin erken dönemde tespit edilmesi ve direnç yönetim programlarının oluşturulabilmesine yönelik verilerin elde edilmesi tarımsal üretim açısından önem arz etmektedir.

IRAC (Insecticide Resistance Action Committee)'a göre direnç, pestisit zararlı organizmaya uygulama dozunda kullanıldığında, istenen veya beklenen mücadele düzeyinin gerçekleşmemesi sonucu oluşan ve mücadelesinde başarısızlığa neden olan, organizmanın hassasiyetinde meydana gelen değişikliği direnç olarak tanımlanmıştır (Nauen vd. 2012, Sparks ve Nauen 2015, Fotoukkaai 2020).

Zararlıda direnç oluşumuna neden olan detoksifikasyon enzimleri ve ilgili gen bölgelerindeki baz değişimleri sonucu meydana gelen mutasyonlar, pestisitlere karşı organizmada giderek duyarlılığının azalmasına neden olmaktadır. Sık ve yoğun kullanılan akarisit ve insektisitler aynı etki mekanizmasına sahip ise zararlılar hızlı direnç geliştirme yetisine sahip olmakta ve mücadelesi de oldukça zorlaşmaktadır (Sawicki ve Denholm 1987, Herron ve Rophail 1998).

Eklembacaklıların Pestisit Direnci Veritabanı (A.P.R.D.) 'na göre fitofag akarlarda 700 'den fazla akarisit direnci rapor edilmiştir. Bunların % 93 'ü kırmızıörümcek direnci ile alakalı olup, bunun da neredeyse yarısı seraların önemli bir zararlısı olan *T. urticae* ile ilgilidir. A.P.R.D. uzmanlarının sunduğu “dünyadaki dirençli ilk 20 eklembacaklı” listesinde 3 akar türü yer bulmuş ve buna göre en önemli zararlı eklembacaklı olarak listede birinci sırayı *T. urticae* almıştır (Anonymous 2019c). İki noktalı kırmızıörümcek pek çok (akarisit/insektisit grubuna karşı) organikfosforlu, karbamatlı, piretroit, pirazoller, piridazinonlar ve ketoenoller dahil toplamda 92 etken maddeye karşı direnç geliştirmiş durumdadır (Van Leeuwen vd. 2010).

Tarla popülasyonlarındaki direncin hızlı bir şekilde tespiti amacı ile pek çok çalışmada “ayırt edici doz” kullanılmıştır. Ayırt edici doz, popülasyon içinde hassas bireylerin ölümüne neden olarak geriye dirençli bireylerin kalmasına neden olan dozdur. Ayırt edici doz, kullanılacak pestisite karşı hassas popülasyonun başlangıç toksisitesinin % 95'i ile 99'u arasındaki değerle ifade edilir (Monteiro vd. 2015). Yapılan bir çalışmada ayırıcı doz olarak LC<sub>90</sub> 'ın iki katı alınmıştır (Kwon vd. 2015). Çok sayıdaki çalışmada ayırıcı doz olarak LC<sub>95</sub> ve LC<sub>99</sub> seçilmiştir (Knight vd. 1990, Campos vd. 1996, Nauen vd. 2001, Stumpf ve Nauen 2002). Bazı çalışmalarda ise ayırıcı doz olarak LC<sub>99</sub> 'un 1.30 katı, 1.60 katı, 2 katı, 2.60 katı veya 3 katı ayırıcı doz olarak alınmıştır (Shah vd. 2002, Khajehali vd. 2011). Ancak bu tür çalışmaların, yüksek dozlarda seçiciliğe zorlanan tarla popülasyonlarında direnç seviyesinin tespit edilmesinde eksikliklere neden olabileceği vurgulanmıştır (Shah vd. 2002). Araştırmacılar ayırıcı doz olarak uygulanan yüksek dozların, popülasyon içerisinde var olan daha dirençli bireylerin öldürülerek elemine edilmesine neden olabileceğini, sonuçta da çalışmanın eksik yürütülmesine yol açacağını savunmaktadırlar (Shah vd. 2002). Yine aynı şekilde Log-doz probit eğrisinin, mevcut verilere dayanan tahminlere göre yorumlanmasında hataya neden olabileceği düşünülmektedir (Kwon vd. 2015, Anonymous 2021a). Dennehy vd. (1983) yaptıkları çalışmada kullandıkları ayırıcı dozun (LC<sub>99</sub>) iki-üç katının dirençli bireylerin % 98 'inden fazlasını öldürmüş olabileceğinden bahsetmektedirler. Bir başka çalışmada ise araştırmacı, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından ayırıcı doz oluşturmada, hassas popülasyonun % 100 'ünü öldüren en düşük dozunun 2 katının alınmasının tavsiye edildiğini bildirmektedir (Graca vd. 2005).

Araştırcılar popülasyonların dirençli veya hassas oluşunu, popülasyonlara ayırıcı dozun uygulanmasından sonra, ölüm oranının % 80 'den düşük görülmesi durumunda popülasyonları dirençli olarak kabul edilmesi gerektiğinden bahsetmektedirler (Davidson ve Zahar 1973, Ay 2005, Monteiro vd. 2015).

Ülkemizde pamukta zararlı *T. urticae* için mücadele olanakları, bu zararlıda pestisitlere karşı direnç oluşumları veya hassasiyet kayıpları gibi çalışmalar çok fazla bulunmamaktadır. Dünyada ise konunun önemi artan küresel sıcaklıklar ve pamuğun endüstriye olan önemli katkısından dolayı kırmızıörümcekler üzerinde yapılan çalışmalar giderek önem kazanmaktadır. Çalışmamızın ana hedefi pamuk üretiminin yoğun olarak gerçekleştirildiği Aydın, Adana, Şanlıurfa ve Diyarbakır illerindeki pamuk üretim alanlarında ana zararlı *T. urticae* popülasyonlarının toplanarak hassasiyetlerinin ortaya konulmasıdır. Pamuk yetiştirilirken en fazla kullanılan “glutamat kapılı klor kanalları düzenleyici” akarisit insektisit ve METI grubu akarisitlere karşı direnç durumları klasik yöntemlerle araştırılmıştır. Biyokimyasal metotlar kullanılarak direnç mekanizmasına katkıda bulunan detoksifikasyon enzimleri kinetik olarak ölçülmüştür. Hedef bölgenin bulunduğu gen bölgesinde, nükleotit değişiklikleri hassas popülasyon ile karşılaştırılarak moleküler düzeyde mutasyonlar taranmış, direnç durumu karakterize edilmeye çalışılmıştır.

Bu çalışmada *T. urticae* 'nin pamukta yaygın olarak kullanılan üç farklı akarisit insektisite (abamectin, bifenazate ve tebufenpyrad) karşı direnç durumunun belirlenmesi ile insan ve çevre sağlığını olumsuz yönde etkileyen sık ve yoğun pestisit kullanımının azaltılmasına yönelik olarak, söz konusu akarisitlerde direnç yönetimine ilişkin temel verilerin de elde edilmesi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kaynak özetleri “Biyoassay ve biyokimyasal direnç” ve “Moleküler” konuları kapsamında, iki farklı kısımda verilmiştir.

### 2.1 Biyoassay ve Biyokimyasal Direnç Konusu İle İlişkili Kaynaklar

Hoy ve Conley (1987), toplamış oldukları 3 adet *T. urticae* ve 2 adet *Tetranychus pacificus* McGregor, 1941 (Acari: Tetranychidae) popülasyonunu laboratuvar ve serada abamectine karşı selekte etmişlerdir. *Tetranychus urticae* 'de seleksiyon öncesi baz aldıkları değerde, seleksiyon sonrasında önemli bir değişiklik oluşmadığını bildirmektedirler. Aynı şekilde *T. pacificus* popülasyonunda seleksiyon öncesi değerlere göre önemli bir farklılık oluşmadığı da bildirilmiştir. Sonuçların *T. urticae* ve *T. pacificus* popülasyonlarında abamectin'e karşı direnç gelişme olasılığını ortadan kaldırmayacağını, denemeye alınan diğer pestisitlerde propargite, cyhexatin ve fenbutation oxide karşı çapraz direnç oluşturmayacağını bildirmişlerdir.

Campos vd. (1996), çalışmalarında topladıkları ondört *T. urticae* popülasyonunun abamectine karşı kontakt ve rezidü yöntemi ile hassasiyetini araştırmışlardır. Sonuçlarını hassas popülasyon ile karşılaştırdıklarında direnç oranlarının popülasyonlar arasında 1 - 84 kat arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Devine vd. (2001) şerbetçi otu üzerinden topladığı *T. urticae* popülasyonunu METI akarisitlerden dördüne karşı daldırma yöntemini kullanarak denemişlerdir. Sonuçta, tebufenpyrad, pyridaben, fenazaquin ve fenpyroximate 'ye karşı direnç oranlarını sırasıyla 46, 346, 168 ve 77 kat olarak belirlemişlerdir. Direnç düzeylerinin tebufenpyrad'a maruz kalmaması durumunda değişmediğini, fakat tebufenpyrad'a maruz kalsa da direnç düzeylerini yükseltmediğini bildirmektedirler.

Kim ve Seo (2001) yaptıkları çalışmada armut ağacından elde ettikleri *T. urticae* ve avcı *Amblyseius womersleyi* Schicha, 1975 (Acari: Phytoseiidae) üzerinde bazı akarisitlerin ergin, yumurta, larvaya toksisitesi ve dişilerin yumurta bırakma kapasitesini araştırmışlardır. Milbemectin uygulamasında kullandıkları ergin dişilerde uygulama

dozunda (10 ppm) *T. urticae* popülasyonunda dört farklı uygulama süresinde hayatta kalma oranını belirlemiştir. Araştırmada en kısa süre olan 24 saat sonra erginlerin % 100 'ünün öldüğü belirlenmiştir. Bifenazate ve acequinocyl uygulamasında ergin *T. urticae* dişilerinde 118 ve 150 ppm dozlarının ikisinde de 24 saat sonra (en kısa uygulama süresi) % 100 ölüm tespit edilmiştir. METII grubu fenazaquin'in etkinliği 67 ppm dozunda ergin *T. urticae* dişilerinde 24 saat sonra % 100 ölüm olarak tespit edilmiştir.

Nauen vd. (2001), WI popülasyonun (hassas) % 95'ini öldüren doz olarak belirledikleri ayırıcı dozu diğer popülasyonlara uygulamışlardır. Hassas popülasyon ile kıyasladıklarında, AU ve AK popülasyonlarını sırasıyla 1.60 kat ve 2.70 kat dirençli bulduklarını bildirmektedirler. AU ve AK popülasyonlarında pyridaben için sırasıyla 13 kat ve 2000 kat; fenpyroximate için de sırasıyla 4.80 ve >4000 kat direnç bulunduğunu bildirmişlerdir. AK popülasyonunun 4 sene boyunca ilaca maruz bırakılmadan yetiştirildiğinde ise, 4 yılın sonunda stabilitesinde değişiklik olmadığını belirtmektedirler. Bu stabilitenin değişmemesininde, yazarlar popülasyonun laboratuvar ortamında gelişimsel dezavantajlara ve bu grup akarisitlerin baskın yapısından kaynaklanabildiğini bildirmişlerdir.

Kim ve Yoo (2002) yaptıkları çalışmayı predatör akar [*Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot,1957) (Acari: Phytoseiidae)] ve fitofag akar *T. urticae* üzerinde yürütmüşlerdir. Gül seralarından toplanan ve fasulye üzerinde yetiştirilen *T. urticae* popülasyonlarında sekiz adet akarisitlerin ergin fitofag ve predatörlerin canlı kalma oranına etkisini belirlerken, yumurta üzerine etkisini de araştırmışlardır. Çalışılan akarisitlerden milbemectin'in uygulama dozunda *T. urticae* erginlerinde 24 saatlik uygulama sonunda % 100 ölüme neden olduğu bildirilmiştir.

Stumpf ve Nauen (2002) abamectin' e karşı *T. urticae* 'nin larva evresinde araştırma yapmışlardır. Direnç oranları hassas çıkan WI popülasyonu ile diğer popülasyonları kıyasladıklarında (GSS, AU, Akita, NL-00 ve COL-00 popülasyonları) en yüksek 54 ve 26 kat direnç oranı ile NL-00 ve COL-00 popülasyonları belirlenmiştir. Detoksifikasyon enzimlerinden esteraz 'da yüksek bir artış olmadığı, popülasyonların okuma değerleri hassas GSS (German Susceptible Strain) ile kıyaslandığında birbirine yakın direnç

oranları belirlendiği kaydedilmiştir. Diğer taraftan, GST enziminde artış olduğu, abamectinin fluorometrik analizine MCB substratı ile bakıldığında NL-00, COL-00 ve BR3-00 popülasyonlarında okuma değeri aktivitelerinde sırasıyla 11 kat, 5.80 kat ve 7.70 kat direnç belirlendiği kaydedilmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak, esteraz enziminin abamectin direncinde çok etkin olamayacağını GST enziminin ise dirençte rol oynayabileceğini bildirmişlerdir.

Lee vd. (2003) yazarlar çalıştıkları kimyasallar arasında abamectin, emamectin-benzoate ve milbemectin' i *T. urticae* 'nin ergin evresine karşı denemişlerdir. Abamectin' e karşı iki popülasyonun hassas popülasyona göre daha hassas olduğunu, ancak diğer popülasyonlarda 1.70 kat ile 19.50 kat arasında direnç olduğunu bildirmişlerdir. Emamectin-benzoate için sekiz tarla popülasyonunda LC<sub>50</sub> oranı en düşük 0.36 ppm en yüksek 11.30 ppm olarak belirlenmiştir. Abamectin sonuçları kıyaslandığında popülasyonların hassasiyetlerinin değiştiğini ve farklı popülasyonların aynı grupta bulunan emamectin-benzoate 'a karşı yüksek hassasiyet göstermiş olduğunu vurgulamışlardır.

Ay vd. (2005) dört sera ve bir açık alandan toplanan, toplamda 5 farklı *T. urticae* popülasyonlarının bazı akarisitlere karşı hassasiyetini araştırmışlardır. Yazarlar, belirledikleri LC<sub>50</sub> oranlarını hassas popülasyon ile kıyasladığında direnç oranının 1.10 ila 2.90 kat arasında değiştiğini bildirmektedirler.

Ay ve Gürkan (2005a,b) pamuk bitkisi üzerinden topladıkları dokuz farklı *T. urticae* popülasyonunun üç selektif akarisite (dicofol, bromopropylate ve bifenthrin) karşı duyarlılığını biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle incelemişlerdir. Rezidü biyoassay yöntemi kullanılarak dicofol, bromopropylate ve bifenthrin uygulanan tüm popülasyonlarda LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> değerleri belirlenmiş ve hassas (GSS) popülasyon ile kıyaslanarak direnç oranları dicofol, bromopropylate ve bifenthrin için sırasıyla (LC<sub>50</sub>'ye göre) 1112-2497 ve < 1-1106 ve < 1-669 kat olarak tespit edilmiştir.

Sato vd. (2005) Sao Paulo'da ticari çilek bahçelerinden topladıkları *T. urticae* popülasyonunu abamectin'e karşı selekte ederek hassas ve dirençli popülasyon elde

etmişlerdir. Seleksiyonu 6 ay boyunca, 5 defa yaparak nihayetinde LC<sub>50</sub> 58.10 mg/l olarak belirlenirken; seleksiyon ile hassas hale gelen popülasyonda LC<sub>50</sub> 0.17 mg/l olarak belirlenmiştir. Sonuçta, hassas ile dirençli hale getirilen popülasyon kıyaslandığında 342 kat direnç belirlendiği bildirilmiştir.

Van Leeuwen vd. (2005) hassas laboratuvar popülasyonu LS-VL ile dirençli popülasyon MR-VL popülasyonunda bazı akarisitlerin direnç durumunu araştırmışlardır. Abamectin'e karşı LS-VL ile MR-VL popülasyonlarında LC<sub>50</sub> oranının 0.31 mg/l olduğu kaydedilmiştir.

Yu vd. (2005) yaptıkları çalışmada 2000 yılında gül yetiştirilen seralardan topladıkları *T. urticae* popülasyonunu hem kalıtım hem de diğer etken maddelere karşı çapraz direncine bakmışlar. Topladıkları OC popülasyonunu dört sene boyunca bifenazate 'a karşı 150'nin üzerinde seleksiyon ile dirençli popülasyon (R) haline getirmişler ve hassas popülasyon ile kıyasladıklarında, OC popülasyonunda ergin için sırasıyla 6 kat direnç, R popülasyonunda ise 249 kat direnç geliştiğini tespit etmişlerdir.

Van Leeuwen vd. (2006) bifenazate ile selekte edilen dirençli BR-VL popülasyon ve hassas LS-VL popülasyonu ile çalışmışlardır. Acequinocyl etken maddesinde BR-VL ve LS-VL popülasyonlarının LC<sub>50</sub> oranlarını kıyasladıklarında direnci 11.50 kat olarak belirlemişlerdir.

Fahnbulleh (2007) yaptığı tez çalışmasında GSS hassas popülasyon ve iki Norveç popülasyonunu (NOR4-NOR5) abamectin, fenazaquin ve fenpyroximate karşı hassasiyetlerini araştırmıştır. NOR4 ve NOR5 popülasyonlarında abamectin için 2.10 ve 1.70 kat direnç belirlenmiş; NOR4 ve NOR5 popülasyonları için sadece NOR4 popülasyonunda çok yüksek olmayan bir direnç tespit edilmiştir.

Ochiai vd. (2007) yaptıkları çalışmada hassas *T. urticae* popülasyonunu akarisit uygulanmamış alandan topladıklarını, tebufenpyrad dirençli popülasyonu ise elma ağaçlarından topladıklarını belirtmişlerdir. Çalışmada, bazı akarisitler ve METI3 gurubundan bazı etken maddelere hassasiyeti araştırılmıştır. Bifenazate ve acequinocyl

için dirençli popülasyonunun LC<sub>50</sub> dozu hassas popülasyonun değerleri ile kıyaslandığında bifenazate ve acequinocyl için sırasıyla 1.23 ve 1.87 kat direnç olduğu belirlenmiştir.

Van Leeuwen vd. (2007) bifenazate'in karbamatlı akarisit olduğunu ve tetranychid akar türleri ile mücadelede etkili olduğunu bildirmektedirler. Bu etkinin görülebilmesi için S,S,S-tributyl-phosphorotrithioate (DEF) mekanizması ile aktif hale getirilmesi gerektiği belirtilmiştir. Yaptıkları çalışmada, organikfosforlu ve karbamatlı grup ile bifenazate 'ı inhibe etme yeteneklerine bakılmıştır. Sonuçta, bileşiğe bağlı olarak değişen esteraz inhibisyonu, akarisit aktivasyonunda karboksilesteraz aktivitesini inhibe ederek bifenazate'in etkinliğinin azaldığı bildirilmiştir.

Sökeli vd. (2007) çalışmalarında elmada iki noktalı kırmızıörümceklere kullanılan bazı akarisitlerin direnç düzeylerine bakmışlardır. Yöntem olarak kullandıkları ilaçlama kulesinde abamectin'e karşı LC<sub>50</sub> değerini 6.41 – 15.13 µl/l olarak bulduklarını bildirmişler. Toplanan *T. urticae* popülasyonlarında direncin çok gelişmediği ve bu etken maddeye karşı duyarlı olarak nitelendirmişler.

He vd. (2009) börülce alanından topladıkları *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval, 1867 (Acari: Tetranychidae) (*T. urticae* kırmızı formu) popülasyonunu kırk iki kez abamectin 'e karşı selekte etmişlerdir. Seleksiyon öncesi popülasyonun abamectin'e karşı hassasiyeti ile sonrası oluşan direncin 8.70 kat olarak belirlendiği kaydedilmiştir.

Khajehali vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada, *T. urticae* WI popülasyonunun pek çok organikfosforlu ve karbamatlıya karşı hem tek başına hem de bifenazate ile karışım halindeki hassasiyet düzeyleri belirlenmiştir. Chlorpyrifos ile beraber bifenazate uygulanmış denemede, bifenazate toksisitesinin araştırılan popülasyonlarda düştüğü bildirilmiştir. Yüksek esteraz aktivitesine sahip popülasyonda, antagonistik etkinin iki gün sonra düştüğü kaydedilmiştir. Sonuçta, yazarlar organikfosforlu bileşiklerle bifenazate 'in beraber kullanılmasının bifenazate etkisini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Koh vd. (2009) *T. urticae* popülasyonlarında abamectin ve milbemectin için buldukları LC değerlerini hassas KRICT popülasyonu ile kıyasladıklarında abamectin için en düşük 1.40 kat ile en yüksek 3.30 kat arasında direnç oranının değiştiğini tespit etmişler. Milbemectin ile karşılaştırıldığında ise popülasyonlar arasında 1.70 – 6.40 kat arasında direnç geliştiğini bildirmektedirler. Denemede fenazaquin ve tebufenpyrad 'a karşı popülasyonların hassasiyetine baktıklarında fenazaquin için 1.70 kat ile 55 kat arasında tebufenpyrad için en düşük 2.90 kat ile en yüksek 154.60 kat arasında değişen direnç oranları tespit etmişlerdir.

Lin vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada, *T. cinnabarinus* popülasyonu 42 kez abamectin karşı selekte edilmiştir. Seleksiyon sonrası hassas popülasyon ile kıyaslandığında 8.70 katı direnç belirlenmiştir. Araştırmada esteraz enziminin dirençli popülasyondaki oranı hassas popülasyondaki ile kıyaslandığında 2.70 kat enzim direnç katsayısı kaydedilmiştir. GST enziminin seviyesi hassas popülasyon ile kıyaslandığında 3.37 katı direnç tespit edilmiştir. P-450 enzim değerinin hassasa göre 1.43 kat yüksek çıktığını bulmuşlardır. Yazarlar, oluşan abamectin direncinde GST enziminin rolünün olduğunu, esteraz ve P-450 enzim değerlerine de bakarak abamectin direncine katkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir

Negm vd. (2009) *T. urticae* popülasyonunu abamectin 'e karşı kırk döl boyunca yaprak daldırma yöntemine göre selekte etmişlerdir. Seleksiyon öncesi kırmızıörümceğin değerleri ile kıyaslandığında oluşan direncin 41.3 katı olduğu tespit edilmiştir. Esteraz enziminin seleksiyon öncesi 0.77 µg/akar/dakika, seleksiyon sonrası dirençli hale gelen popülasyonda ise 2.08 µg/akar/dakika olduğu bildirilmiştir. Başlangıçtaki hali ile kıyasladıklarında enzimde 2.70 kat direnç oluştuğunu tespit edilmiştir. Çalışmada, sitokrom P-450 monooksijenaz enziminin popülasyonun başlangıçtaki hali ile seleksiyon sonrasında hali sırasıyla 11.30 ile 47.90 µg/akar/dakika olarak kaydedilmiştir. Popülasyon başlangıçtaki durumu ile kıyaslandığında 4.30 kat P-450 enziminde direnç oluştuğu belirlenmiştir. Yazarlar, sonuçta abamectin 'e karşı oluşan direncin sitokrom P-450 enziminden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Van Nieuwenhuyse vd. (2009) bifenazate ve acequinocyl ile yaptıkları çalışmada toksisite denemesi, çapraz direnç ve mutasyonu aramışlardır. *T. urticae* LS-VL hassas popülasyonunda bifenazate, fluacrypyrim ve acequinocyl için LC<sub>50</sub> oranı sırasıyla 1.60, >10000 ve 10.7 mg/l olarak tespit edilmiştir. Hassasiyet oranın bifenazate ve acequinocyl 'de GSS 'den çok daha düşük çıktığı kaydedilmiştir. WI popülasyonunda bifenazate, fluacrypyrim ve acequinocyl için LC<sub>50</sub> oranı sırasıyla 8.70, 3 ve 26.50 mg/l olarak belirlenmiştir. Fluacrypyrim için hassas popülasyona kıyasla LC<sub>50</sub> değerinin daha düşük çıktığı kaydedilmiştir. MR-VL ve MR-VP popülasyonlarında bifenazate direnç oranları sırasıyla 2.90 kat ve 2 kat olarak belirlenmiştir. Aynı popülasyonlarda fluacrypyrim 'de direnç oranları sırasıyla 4.40 kat ve >1515 kat olarak tespit edilmiştir. Acequinocyl için hassas popülasyon ile kıyaslandığında ise 1.40 kat ve 2.70 kat direnç tespit edildiği bildirilmektedir. BR-VL popülasyonunda bifenazate, fluacrypyrim ve acequinocyl için direnç oranları hassas ile kıyaslandığında sırasıyla >2780 kat, >1515 kat ve 105 kat daha dirençli olarak belirlenmiştir. BEL1 popülasyonunda aynı ilaç sıralamasında >10000, >10000 ve 548 mg/l LC<sub>50</sub> oranı tespit edilmiştir.

Van Pottelberge vd. (2009a) Belçikadan topladıkları arazi popülasyonu olan (MR-VP) *T. urticae* popülasyonunu METI gurubu akarisitlere dirençli popülasyon olarak bildirmektedirler. GSS popülasyonunu 1965 'den beri hiçbir pestisite maruz bırakılmadan yetiştirilmiş olduğunu ve kıyaslama amacıyla kullandıklarını ifade etmektedirler. Dirençli MR-VP popülasyonunu tebufenpyrad, fenpyroximate, pyridaben ve fenazaquin karşı test edip hassas popülasyon ile kıyasladıklarında sırasıyla 184, 1547, 5971 ve 35 kat dirençli olduğunu bildirmektedirler.

Van Pottelberge vd. (2009b) yaptıkları çalışmada hassas LS-VL popülasyon ile bu hassas popülasyonu spirodiclofen ile selekte ederek yeni SR-VP popülasyonunu çalışmada kullanmışlardır. Denemede kullandıkları abamectin etken maddesine LS-VL ve SR-VP popülasyonları için LC<sub>50</sub> değerini sırasıyla 0.40 ve 0.52 mg/l olarak bulmuşlar, elde ettikleri sonuçları hassas popülasyon ile kıyasladıklarında 1.30 kat direnç belirlemişlerdir.

Yorulmaz ve Ay (2009), Antalya ilinden fasülye seralarından topladıkları BEYO2 *T. urticae* popülasyonunun abamectin ile selekte etmişler ve popülasyon adını ABA15

olarak kaydetmişlerdir. Seleksiyon sonucu oluşan direnç katsayısı hassas popülasyon (GSS) ile kıyaslandığında 35 kat abamectin direnci geliştiği belirlenmiştir. Biyokimyasal analizde ise esteraz enzimi okuma değerlerinin hassas popülasyona kıyasla yüksek çıktığı bildirilmiştir. Ayrıca, GST spesifik enzim aktivitesi için okuma değerlerinin hassas popülasyona kıyasla düşük çıktığı bildirilmiştir. Sitokrom P-450 enzimi okuma değerleri hassas popülasyon ile kıyaslandığında ise BEYO2 ve ABA15 popülasyonu için enzimde 1 ve 2.43 kat direnç belirlenmiştir. Sonuçta yazarlar, esteraz, GST ve P-450 enziminin direnç gelişiminde rol oynayabileceğini vurgulamışlardır.

Khajehali (2010) yapmış olduğu çalışmada bifenazate 'ın LC<sub>50</sub> oranlarını LS-VL ve SR-VP popülasyonları için sırasıyla 1.20 ve 2.40 mg/l olarak; acequinocyl için ise 7.70 ve 29.6 mg/l olarak belirlemişlerdir. Hassas popülasyon LS-VL ile kıyaslandığında, bifenazate 'ın 2 kat ve acequinocyl için ise 3.80 kat direnç geliştiği tespit edilmiştir. Tebufenpyrad 'ın LC<sub>50</sub> değeri sırasıyla 63.50 ve 137.40 mg/l; pyridaben 'in ise 156 mg/l ve 135 mg/l olduğu bildirilmiştir. Hassas popülasyon LS-VL ile kıyaslandığında tebufenpyrad için 2.20 kat direnç belirlenirken, pyridaben için direnç gelişmediği tespit edilmiştir. Yazar, bu etken maddelere karşı spirodiclofene dirençli popülasyonun çapraz direnç geliştirmediğini de ifade etmektedir.

Khajehali (2010) dört popülasyonda (2 hassas ve 2 dirençli) spesifik enzim aktivitesini araştırmıştır. Esteraz enzim aktivitesine 1-naphtyl acetate (1-NA) substratı ile bakıldığında SAMB, GSS, CREV eg-bf ve ATHRos-bf popülasyonları için sırasıyla 131, 120, 315 ve 167 mOD min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein değerinde oldukları bildirilmiştir. Esteraz enziminin her iki dirençli popülasyondaki oranı hassas popülasyonlara kıyasla yüksek olduğu bildirilmiştir. Daha hassas olan SAMB popülasyonunda GSS popülasyonuna kıyasla esteraz enzim aktivitesinin yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde, daha dirençli olan ATHRos-bf popülasyonunda CREV eg-bf popülasyonuna kıyasla esteraz enzim aktivitesinin yaklaşık olarak yarı yarıya düştüğü bildirilmiştir.

Kwon vd. (2010a), çalışmalarında abamectin 'e hassas AbaS popülasyonu ile dirençli AbaR popülasyonunu kıyaslamışlardır. Hassas popülasyon ile kıyaslandığında direnç oranı 17.90 kat olarak belirlenmiştir. Spesifik esteraz enzim aktivitesinde kullandıkları 1-

naphthyl acetate, 1-naphthyl butyrate, 4-nitrophenyl acetate substratlarının hiçbirinde anlamlı bir sonuç çıkmadığını belirtmektedirler. P-450 için kinetik enzim aktivitesinde fark tespit edilmediği bildirilmiştir. Araştırmacılar, enzim değerlerinin düşük seviyede olduğunu farmakokinetik etkinin olmadığını hedef bölge duyarsızlığının (farmakodinamik) olabileceğini ifade etmektedirler.

Kwon vd. (2010b) araştırmalarında abamectine hassasiyet çalışmasında LC<sub>50</sub> değerini UD ve PyriF popülasyonları için sırasıyla 0.10 ppm ve 0.43 ppm olarak belirlemişlerdir. Spesifik enzim aktivitesi için bakılan karboksilkolin esteraz 'da 1-NA ve 1-NB (1-naphthyl butyrate) substratlarının değerleri hassas popülasyonun değerleri ile kıyaslandığında hidroliz aktivitelerinde önemli fark belirlenmediği; 4-NPA (4-nitrophenyl acetate) ve 4-NPB (4-nitrophenyl butyrate) substratları ile bakıldığında ise esteraz enzim aktivitesinin arttığı ve farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu bildirilmiştir (P < 0.05). Yazarlar, esteraz enziminin abamectin 'e direnç oluşumunda rolünün olduğunu bildirmişlerdir. GST enzimi aktivitesinde önemli bir farklılığın oluşmadığı, P-450 spesifik enzim aktivitesinde ise abamectine karşı direnç gelişiminde rolünün olabileceğini bildirmişlerdir.

Nicastro vd. (2010), Brezilya'da ticari kasımpatı alanlarından *T. urticae* popülasyonları toplamışlardır. Bunların bir kısmının milbemectin 'e karşı 6 kez selekte edilerek dirençli hale getirmişler; diğer kısmını hassas popülasyon haline getirmek için 5 kez selekte etmişlerdir. Sonuçta, dirençli hale gelen popülasyon ile hassas hale getirilen popülasyon arasında 403 kat direnç ortaya çıktığı belirlenmiştir. Direncin stabilitesi 7 ay boyunca izleyerek değerlendirmeye almışlardır. Popülasyon içindeki bireylerde direncin % 75 'den % 14.50 'e düştüğü bildirilmiştir.

Stavrines vd. (2010) Kaliforniya'da bağlarda *T. pacificus* mücadelesinde başarısızlıkların yaşandığı, bağ alanlarından topladıkları popülasyonların bazı akarisitlere karşı hassasiyetlerini incelemişlerdir. Bulunan değerler hassas popülasyon ile kıyaslandığında ortaya 3.10 ila 7.10 kat arasında değişen direnç oranlarının tespit edildiği bildirilmiştir. Popülasyonlardan ikisinde hassas popülasyona kıyasla LC<sub>50</sub> değerinin daha düşük çıktığı, fakat bu farklılığın istatistiki olarak önemli düzeyde olmadığı bildirilmiştir.

Vostşel (2010) yaptığı bir çalışmada Çek Cumhuriyeti'nde 2006 ve 2007 yılları arasında topladığı yirmi popülasyonda bifenazate 'a karşı hassasiyetleri araştırmıştır. Kullanılan en düşük uygulama dozunda % 84 ölüm belirlenirken, bifenazate'in çok etkili olduğu ifade edilmiştir.

Ay ve Kara (2011) tarafından yapılan bir araştırmada Antalya ilinde 2003 yılı haziran ayında ticari bir fasülye serasından toplanan BEYO2 popülasyonu 3 sene boyunca hiçbir pestisite maruz bırakılmadan yetiştirilmiştir. BEYO2 popülasyonu METI1 grubu olan fenpyroximate karşı 14 defa selekte edilerek oluşan dirençli bireyler FPY14 olarak isimlendirilmiştir. BEYO2 popülasyonunda fenpyroximate karşı LC<sub>50</sub> oranı 3.51 mg/l olarak belirlenirken, FPY14 popülasyonunda bu oran 213.36 mg/l olarak belirlenmiştir. GSS popülasyonunda fenpyroximate karşı başlangıçta 1 kat olarak belirlenen direncin, sonrasında 64.43 kat seviyesine çıktığı bildirilmiştir.

Khajehali vd. (2011) gül seralarından topladıkları *T.urticae* popülasyonlarına karşı milbemectin ve abamectin 'in TD/5 (tarla dozundan 5 kat düşük), TD ve 5TD (tarla dozunun 5 katı) dozlarının etkinliğini belirlemiştir. Çalışmada, GSS için milbemectin 'de TD/5 dozunda % 24, TD uygulamasında % 88 ve 5TD denemesinde % 100 ölüm tespit edilmiştir. Ayrıca, abamectinde TD/5 dozunda % 100 ölüm tespit edilmiştir. Çalışılan 15 popülasyonda milbemectin için, TD/5 dozunda % 0.10 ila % 93 ölüm kaydedilmiştir. Milbemectin 'in TD seviyesinde % 17 ila % 100 ölüm belirlenmiştir. 5TD uygulamasında ise en düşük % 86 ölüm kaydedilmiştir. Abamectin için popülasyonlarda TD/5 dozunda % 2 ila % 100 ölüm, TD seviyesinde % 4 ila % 100 ölüm; 5TD uygulamasında ise en düşük % 34 ölüm tespit edildiği bildirilmiştir.

Niu vd. (2011) araştırmalarında, dokuz farklı narenciye alanından topladıkları *Pananychus citri* McGregor, 1916 (Acari: Tetranychidae) popülasyonlarının pyridaben 'e karşı hassasiyetini çalışmışlardır. Hassas Jiangijn popülasyonunun pyridaben 'e karşı LC<sub>50</sub> konsantrasyonu 0.20 mg/l olarak tespit edilmiştir. Diğer popülasyonlarda belirlenen LC<sub>50</sub> konsantrasyonlarının hassas popülasyonun LC<sub>50</sub> konsantrasyonu ile kıyaslanmasıyla 2.50 kat ila 154.50 kat arasında değişen direnç oranları belirlenmiştir.

Ullah vd. (2011) yaptıkları araştırmada iki farklı akar türünün bazı akarisitlere hassasiyetini belirlemişlerdir. Çalışmada hassas *Tetranychus kanzawai* Kishida,1927 (Acari: Tetranychidae) popülasyonu Tk-JN Nippon Soda Co. (Japan) şirketinden temin edilmiştir. *T. kanzawai* türünün hassas ve tarla popülasyonunda Milbemectin 'e ait LC<sub>50</sub> konsantrasyonları, sırasıyla 0.08 ve 0.56 mg/l olarak belirlenmiştir. Sonuçta, yazarlar 7 kat direnç olduğunu belirlemişlerdir.

Kumari vd. (2012) ay akarına karşı az sayıda ruhsatlı akarisit bulunan Hindistan 'da 2008 - 2009 yıllarında bifenazate 'in çay bahçelerindeki akarlara karşı etkinliğini araştırmışlardır. ay bahçesinde haziran ayında çay akarlarının pik yaptığını bildirmektedirler. Birinci deneme sezonunda uygulanan 250 g/ha dozunun 35 gün süresince etkili olduğunu bildirmişlerdir. İkinci sezonda uygulanan 250 ve 200 g/ha dozunun, benzer şekilde, 35 güne kadar etkili kontrol sağladığını bildirmişlerdir.

Tirello vd. (2012) alışmalarında, hassas BOSA popülasyonunu ilaçlama yapılmayan sebze alanlarından; diğer iki popülasyonu ise (SAN, PSE) gül yetiştirilen seradan toplamışlardır. Abamectin'e karşı BOSA popülasyonunda LC<sub>50</sub> konsantrasyonu 0.01 mg/l, tarla popülasyonlarında ise SAN ve PSE için sırasıyla 0.16 ve 10.13 mg/l olarak belirlenmiştir. Direnç oranları hassas popülasyon ile kıyaslandığında sırasıyla 20.70 ve 1294 kat olarak tespit edilmiştir.

Memarizadeh vd. (2013) tarafından yapılan araştırmada, abamectin'de en yüksek konsantrasyonda dirençli ISR popülasyonunda ölüm oranı % 4.70 olarak tespit edilmiştir. LC<sub>50</sub> değerinin hesaplanmasının imkansız olduğu, tahmini direnç faktörünün >12755 kattan daha büyük olabileceği bildirilmiştir. Spesifik enzim aktivitesinde esteraz enzimi için, ̢-NA değer düşükken ̡-NA (1-NA) substratı ile bakılan enzim aktivitesinde daha yüksek okuma değerleri tespit edilmiştir. Enzim değerleri kıyaslandığında 1.35 kat direnç tespit edilmiştir. Neticede, esteraz enziminin direnç oluşumuna katkısının düşük olabileceği bildirilmiştir. Spesifik GST enzimine CDNB substratı ile bakıldığında enzim değerinin hassas popülasyona göre 1.22 kat daha fazla aktivite değerine olduğu bildirilmiştir.

Nicastro vd. (2013) araziden topladıkları *T. urticae* popülasyonunu bazı akarisitlere karşı hassasiyetini araştırmış ve ardından chlorfenapyr 'e karşı selekte etmişlerdir. Seleksiyon sonrasında bazı etken maddelere karşı çapraz direnç ve negatif direnç araştırılmıştır. Abamectin ve milbemectin 'de LC<sub>50</sub> konsantrasyonları dirençli (R) popülasyonda sırasıyla 3.48 ve 36.62 mg/l olarak tespit edilmiştir. Hassas olarak selekte edilen popülasyon ile kıyaslandığında abamectin ve milbemectin için, sırasıyla 3.88 ve 1.10 kat direnç tespit edilmiştir. Sonuçta, abamectin'e karşı pozitif çapraz direnç görülürken milbemectin'e ise çapraz direnç gelişmediği bildirilmiştir. Fenpyroximate de LC<sub>50</sub> konsantrasyonu dirençli (R) popülasyonda 6.41 mg/l olarak belirlenirken; hassas olarak selekte edilen popülasyon ile kıyaslandığında 1.30 kat direnç oranı tespit edilmiştir. Yazarlar, fenpyroximate'e çapraz direnç gelişmediğini bildirmişlerdir.

Piraneo (2013) çalışmasında hassas popülasyonun on defa seleksiyon sonunda dirençli hale geldiğini ve LC<sub>50</sub> konsantrasyonunun 11.99 mg/l olduğunu bildirmiştir. Başlangıçtan itibaren bifenazate karşı 14.63 kat direnç oluştuğu kaydedilmiştir. Abamectin'e karşıda seleksiyon sonrasında gelişen direnç 26.70 kat olarak tespit edilmiştir. Tarladan toplanan popülasyonlarda bifenazate ve abamectin hassasiyeti araştırılmış; sonuçta bifenazate 'a karşı 96.30 kat'a kadar, abamectin 'e karşı da 107.60 kata kadar direnç tespit edilmiştir.

Yorulmaz vd. (2013) abamectin ile aynı grupta ve aynı etki mekanizmasına sahip olan milbemectin'i Isparta'da elma bahçelerinden topladıkları üç *Neoseiulus californicus* McGregor, 1954 (Acari: Phytoseiidae) popülasyonuna etkinliğini araştırmışlardır. Eğirdir, Eyüpler ve Gelendost'tan toplanan üç popülasyonda LC<sub>50</sub> oranları kıyaslandığında, sırasıyla 7.20, 6.52 ve 7.35 kat direnç geliştiği bildirilmiştir. Esteraz spesifik enzim aktivitesinin en yüksek Eğirdir popülasyonunda görüldüğü; ancak bu üç popülasyonunda istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı (P<0.05), GST enzim aktivitesinin ise en yüksek Eyüpler popülasyonunda kaydedildiği, fakat istatistiki olarak fark bulunmadığı bildirilmiştir.

Vassiliou ve Kitsis (2013) Kıbrıs'ta açık alan ve seralardan toplanan 5 farklı kırmızıörümcek popülasyonlarını beş farklı etken maddeye karşı hassasiyetlerini

araştırmırlardır. Abamectin'e popülasyonlar arasında en düşük 248 kat ve en yüksek 3822 kat direnç tespit edildiği kaydedilmiştir.

Latheef ve Hoffmann (2014), çalışmalarında pamuk bitkilerinin bulunduğu bir serada yetiştirilen temiz fasulyeye bulaşan akar popülasyonuna karşı bazı akarisitlerle denemeler yürütmüşlerdir. Araştırmada "glass viyal" yöntemi ile akarlara karşı kontakt toksisite değerleri belirlenmiştir. Abamectin ile yapılan denemede LC<sub>50</sub> konsantrasyonunun 0.014 µg/viyal olduğu tespit edilmiştir. Sonuçta, propargite ve dicofol etken maddeleri kıyaslandığında sırasıyla 1000 kat ve 490 kattan daha fazla toksik olduğu bildirilmiştir. Bifenazate ve abamectine ilişkin sonuçlar kıyaslandığında bifenazate'de abamectin'e göre 8 kat daha düşük toksik etki tespit edilmiştir.

Riga vd. (2014) çalışmalarında gül seralarından dirençli Mar-ab popülasyonu toplamışlar. Mar-ab popülasyonunu her iki nesilde bir 10 mg/l abamectin ile seleksiyona tabi tutmuşlar ve Londra hassas popülasyonu ile kıyaslamışlar. Tespit edilen LC<sub>50</sub> konsantrasyonları hassas popülasyon ile kıyaslandığında 1632 kat direnç geliştiği kaydedilmiştir. Spesifik esteraz enzim 1-NA substratı ile hassas popülasyon dirençli Mar-ab popülasyonuna kıyasla okuma değerlerinin daha yüksek çıktığı bildirilmiştir. Fakat, β-NA ile belirlenen değerde önemli bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir. Spesifik GST enzim monocloro-bimane substratı ile okuma değerleri hassas popülasyon ile kıyaslandığında 5.29 kat direnç bulunduğu bildirilmiştir.

Sugimoto ve Osakabe (2014) pyridaben ve cyenopyrafen hassasiyetinin belirlenmesi için NO popülasyonunu pyridaben'e (5 kez) dirençli hale getirilmiştir. Seleksiyon dozları pyridaben için 200, 1000, 10000, 10000 ve yine 10000 mg/l olarak uygulanmıştır. Oluşan dirençli pyridaben popülasyonuna NPR adı verilmiştir. Çalışmada önce hassas ve tarla popülasyonlarının hassasiyeti belirlenmiştir. Kıyaslama yapıldığında ise pyridaben'e tarla popülasyonunun daha hassas olduğu ve direnç oluşmadığı tespit edilmiştir. Seleksiyon sonrasında pyridabene >13158 kattan daha yüksek direnç olduğu tespit edilmiştir. Çapraz direnç olarak NPR popülasyonunda pyridaben için 2584 kattan daha yüksek direnç geliştiği, cyenopyrafene karşı ise 178 kat direnç geliştiği tespit edilmiştir.

Tang vd. (2014a) araştırmalarında abamectin'e hassas popülasyonda yumurta, larva ve ergin hassasiyetini belirlemişlerdir. Hassasiyet sıralamasında en hassas olarak larva evresi bulunmuş; bunu yumurta ve ergin evresi izlemiştir. Çin'de Shandong bölgesinde abamectin ve pyridaben'e karşı yüksek direncin geliştiği ve sürekli kullanılan diğer akarisitlere karşı da direncin arttığı bildirilmiştir. Bifenazate'e hassas popülasyonda yumurta, larva ve ergin hassasiyeti araştırılmış; hassasiyet sıralamasında en hassas evre olan larva evresini yumurta ve ergin evreleri takip etmiştir. Çalışmada, direnç oranlarının 1.06 ila 1.26 kat arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Ferreira vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada Brezilya'nın farklı bölgelerinden toplanan tarla popülasyonlarına karşı çok sayıda pestisit etkinliği araştırılmıştır. Abamectin için belirlenen en yüksek LC<sub>50</sub> konsantrasyonu 326 mg/l olarak tespit edilmiştir. Hassas popülasyon ile kıyaslandığında direnç oranları en düşük 8 kat, en yüksek 295270 kat olarak *Chrysanthemum* bitkisinden topladıkları Bonito popülasyonunda tespit edilmiştir.

Kwon vd. (2015) çalışmalarında daha önceden elde ettikleri popülasyonların bazı akarisitlere hassasiyetlerini deneme kaplarında rezidü kontakt yöntemi ile belirlemişlerdir. Hassas PyriF popülasyonunda abamectin için LD<sub>50</sub> değeri 0.002 µg<sup>-1</sup>cm<sup>2</sup> olarak belirlenmiştir. Bifenazate için LD<sub>50</sub> değeri 0.083 µg<sup>-1</sup>cm<sup>2</sup>, pyridaben ve tebufenpyrad için ise sırasıyla, 1 ve 0.054 µg<sup>-1</sup>cm<sup>2</sup> olarak tespit edilmiştir.

Monteiro vd. (2015) Brezilya'da yapmış oldukları çalışmada iki yıl boyunca iki farklı bağ alanında abamectin'e *T. urticae* popülasyonlarının direncini belirlemişlerdir. Toplamda 35 örnek alınmış, bunlardan 20 popülasyonun devamlılığı sağlanmışır. Ayırıcı doz olarak 1 mg/l (LC<sub>50</sub>) ve 9 mg/l (LC<sub>95</sub>) abamectin kullandıkları belirtilmiştir. Abamectin uygulanan popülasyonların % 45'inde % 80'den daha düşük ölüm belirlenmiş ve bu popülasyonları abamectin'e dirençli olarak kabul etmişlerdir. Ayırıcı doz olarak 9 mg/l uygulanmış, canlı kalan popülasyonları ayrı denemeye almışlar ve LC<sub>50</sub> konsantrasyonlarını belirlemişlerdir. Popülasyonlar arasında LC<sub>50</sub> konsantrasyonunun 1.66 ila 5.61 mg/l arasında değiştiği, hassas popülasyon ile kıyaslandığında en düşük 2406 kat ve en yüksek 8272 kat arasında direnç belirlendiği bildirilmiştir.

Wang vd. (2015) topladıkları popülasyonlarda farklı akarisit ve insektisitlere hassasiyeti araştırmışlardır. Hassas popülasyonda abamectin’de LC<sub>50</sub> konsantrasyonunu 0.079 mg/l olarak tespit etmişlerdir. Popülasyonlar arasında abamectin hassasiyeti incelendiğinde LC<sub>50</sub> konsantrasyonları 4.30 ila 122.10 mg/l arasında tespit edilmiştir. Hassas kabul edilen popülasyon ile kıyaslandığında direncin 55 ila 1545.60 kat arasında olduğu belirlenmiştir.

Eziah vd. (2016), Ghana’da dört bölgeden topladıkları popülasyonların beş farklı etken maddeye hassasiyetlerini araştırmışlardır. Hassas popülasyon ile kıyaslandığında arazi popülasyonlarının emamectin benzoate’a 7 ila 11 kat arasında dirençli bulunduğu bildirilmiştir.

Bajda vd. (2017) METI1 gurubu akarisitlerin yüksek oranda kompleks I (METI1 grubu akarisitler) quinon bağlanma yerine hareket eden “Mitokondriyal Elektron Taşınımını” engellediği, özellikle de P-450 monooksijenazların aşırı faaliyetinden dolayı direncin geliştiğini bildirmişlerdir.

Brown vd. (2017) pamuk bitkilerinden toplanan *T. urticae* popülasyonlarının abamectin’e toksisitesini araştırmışlardır. En yüksek direnç oranlarını, Concordia ve Catahoula popülasyonları için sırasıyla, 630 ve 1415 kat olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada, en düşük direnç oranı ise 11.10 kat ile Mississippi’den toplanan popülasyonda tespit edilmiştir.

Li vd. (2017) Çin’de *T. urticae* laboratuvar popülasyonunda bifenazate’in sublethal etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada dişilerin yumurta bırakma sayısı, yumurtlama süresi (gün), ömür uzunluğu gibi farklı parametreler incelenmiştir. Bifenazate uygulanan popülasyonda LC<sub>10</sub> ve LC<sub>20</sub> değerlerinin sırasıyla % 9 ve % 13 oranında ölüme yol açtığı bildirilmiştir. Dişilerin ömür uzunluğu kontrolde 22 gün iken LC<sub>10</sub> ve LC<sub>20</sub> uygulamasında sırasıyla 5 gün ve 3.87 gün olarak tespit edilmiştir

Namin (2017) çalışmasında hıyar serasından toplanılan FS popülasyonunu pyridaben ile senede iki defa olmak üzere üç sene boyunca LC<sub>90</sub> oranında selekte etmiş ve yeni popülasyona SFS adını vermiştir. Hassas olarak Londra popülasyonunu kullanmıştır. Araştırmada direnç, metabolik ve moleküler olarak irdelenmiştir. Biyokimyasal olarak P-450 enziminin katkısını bulmayı amaçlayan araştırıcı, enzim inhibitörü PBO (piperonyl butoxide)'yu selekte ettiği SFS popülasyonunda denemiştir. Pyridaben ile selekte edilen SFS popülasyonunun seleksiyon öncesi hali ile kıyaslandığında toplamda 3300 kat dirençli olduğu belirlenmiştir. DEF (EST inhibitörü), DEM; diethyl maleate (GST inhibitörü), PBO (P-450 inhibitörü) sinerjisti ile yaptığı kombinasyonlu denemelerde DEF ve DEM sinerjistleri ile etki tespit edilmediği, PBO ile yapılan denemede muhtemel metabolik direnç mekanizmasının P-450 olduğu ve toksisiteyi arttırdığı kaydedilmiştir.

Çağatay vd. (2018), yapmış oldukları çalışmada Antalya ve Muğla'daki seralarından toplamış oldukları *T. urticae* popülasyonlarının abamectin'e hassasiyetini araştırmışlardır. Toplanan üç popülasyonda direncin 222.30 ila 403.70 kat arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bu üç popülasyonda incelenen detoksifikasyon enzimlerinden esteraz enziminin, dirençli bireylerdeki oranının hassas popülasyona kıyasla yüksek olduğu bildirilmiştir. Ancak, hassas hariç diğer popülasyonlar arasında istatistiki olarak bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (P<0.05). GST enzim aktivitesi ile ilgili olarak Fethiye 1 ve Antalya popülasyonları ile GSS popülasyonu arasında önemli bir fark tespit edilmediği bildirilmiştir. Benzer şekilde, Fethiye 2 popülasyonunda GST aktivitesinde hassas popülasyon ile kıyaslandığında istatistiki olarak kayda değer bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (P<0.05).

Liang vd. (2018) *T. urticae* popülasyonu üzerinde iki farklı maddenin tek tek ve belirli oranlarda birlikte toksisitesini araştırmışlardır. LC<sub>50</sub> değeri bifenazate uygulandığında LC<sub>50</sub> oranı 13.03 mg/l, propargite uygulandığında ise 25.61 mg/l olarak tespit edilmiştir. Farklı oranlarda karışım pestisitlerden bifenazate + propargite (5:1) uygulamasında LC<sub>50</sub> değerinin 10.32 mg/l 'ye düştüğü ve sinerjist etki olduğu bildirilmiştir. Bifenazate + propargite 1:1 ve 1:5 oranda uygulandığında LC<sub>50</sub> oranının daha yüksek tespit edildiği, bu dozlarda toksisitenin düşük olduğu bildirilmiştir.

Massoud vd. (2018), 2015-2016 yılları arasında, çilek bahçesinde çok sayıda akarisit ile çalışmışlardır. Araştırmada, her sezon 15 gün aralıklarla pestisit uygulanarak, 24, 48 ve 72 saat sonrası etkinlik belirlenmiştir. Sonuçta, sezona göre değişmekle birlikte her iki sezonda da en etkili ilk iki akarisit abamectin veya milbemectin olduğu bildirilmiştir. METI3 gurubundan en etkili 3. akarisit ise her sezonda bifenazate olduğu, METI1 gurubundan ise en etkili 4. akarisit her sezonda fenpyroximate olduğu kaydedilmiştir.

Sharma ve Bhullar (2018) çalışmalarında hassas popülasyonu laboratuvarında yirmi beş döl boyunca hiçbir akarite maruz bırakmadan yetiştirmişlerdir. Hassas popülasyon toplanılan diğer popülasyonlar ile kıyaslandığında fenpyroximate'e karşı 2.20 ila 10.15 kat arasında direnç olduğu, fenazaquin'e karşı ise 6.70 ila 24.60 kat arasında direnç geliştiği tespit edilmiştir.

Xu vd. (2018) çalışmalarında *T. urticae*'ye ait hassas popülasyonu 2009 yılında Shandong eyaletindeki bir elma bahçesinden toplamışlardır. Çalışmada toplamda 7 tarla popülasyonunun ise 4 farklı şehirden toplandığı bildirilmiştir. Araştırmada toplanan popülasyonları çok sayıdaki etken maddeye, yaprak daldırma yöntemiyle, hassasiyet çalışılmıştır. Abamectin'e karşı hassas popülasyonun LC<sub>50</sub> oranı 0.55 mg/l olarak tespit edilirken; toplanan diğer popülasyonlarda ise LC<sub>50</sub> oranları en düşük 174.20 mg/l ila en yüksek 995.20 mg/l arasında olduğu bildirilmiştir. Veriler hassas popülasyon ile kıyaslandığında 316.70 kat ila 1809.50 kat arasında direnç oranı belirlenmiştir.

Chen vd. (2019) altı tarla popülasyonu ve hassas popülasyonunun kompleks 3 (METI3) bifenazate ve kompleks 2 (METI2) engelleyicisi cyenopyrafen ve aynı yapıya sahip olan yeni bir aktif madde olan SYP-9625'e karşı hassasiyetini araştırmışlardır. Bifenazate için hassas popülasyonda LC<sub>50</sub> oranı 17.96 mg/l; tarla popülasyonlarında en düşük hassasiyete sahip popülasyonun LC<sub>50</sub> oranı 191.23 mg/l, en düşük LC<sub>50</sub> oranının ise 39.80 mg/l olduğu tespit edilmiştir. Hassas popülasyon ile kıyaslandığında direnç oranının 2.20 ila 10.65 kat arasında değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca, kompleks 3 ve kompleks 2 arasında çapraz direnç oluşmadığı bildirilmiştir.

Diaz-Arias vd. (2019) Meksika’da kesme gül yetiştiriciliği yapılan ve abamectin’in etkisizliği bilinen seralardan 2017 yılında dört popülasyon toplamışlardır. Hassas popülasyon Colegio de Postgraduados Montecillo kampüsünde üç yıldır ilaçlama yapılmayan alandan toplanmıştır. Popülasyonlar arasında en yüksek LC<sub>50</sub> değeri 25.37 mg/l olarak bulunurken, direnç oranlarının hassas popülasyon ile kıyaslandığında en yüksek 21141 kat’a kadar değiştiği belirlenmiştir.

İnak vd. (2019) Türkiye’nin güneyinden topladıkları *T. urticae* popülasyonlarına abamectin etken maddesini uygulama dozunun beşte biri, uygulama dozu ve uygulama dozunun beş katı olarak uygulamıştır. GSS popülasyonunda abamectin uygulama dozunun beşte birinde % 98.50 ölüm belirlenirken; tarla popülasyonlarında beşte bir tarla dozu uygulamasında en düşük % 2.40 ve en yüksek % 73.90 ölüm tespit edilmiştir. Uygulama dozunda tarla popülasyonlarında en düşük ölüm oranı % 9.60 ve en yüksek ölüm oranı ise % 100 olarak bildirilmiştir.

Rameshgar vd. (2019) yürüttükleri çalışmada Doğu Azerbaycan, Batı Azerbaycan ve İsfahan bölgesi elma ağaçlarından topladıkları on iki *Pananychus ulmi* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae) popülasyonunun abamectin’e karşı toksisitesini araştırmışlardır. Çalışmada 12 popülasyonun LC<sub>50</sub> değerlerinin 1.57 mg/l ila 5.50 mg/l arasında belirlendiği, hassas popülasyon ile kıyaslandığında direncin 46 kat’a kadar değiştiği kaydedilmiştir. Esteraz enzimi baskılayıcısı TPP sinerjisti kullanıldığında ise spesifik esteraz enzim aktivitesinde direnç oranları arasında fark bulunmamış ve hassas popülasyon ile benzer olduğu bildirilmiştir.

Sugimoto ve Osakabe (2019) çilek bahçesinden topladıkları popülasyonu (SoKg1) acequinocyl’e karşı on dört gün aralıklarla ve artan uygulama dozlarında (75, 75, 150, 150 ve 150 mg/l) selekte etmiştir. Selekte edilen popülasyona SoKg-AceR adı verilmiş ve hassas popülasyon ise Bölge Ziraat Araştırma Merkezinden temin edilmiştir. Getirilen hassas popülasyonda acequinocyl ve bifenazate’in etkinliği belirlenmiştir. SoKg1 popülasyonunda bu iki etken maddeye karşı LC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 79.20 mg/l ve 32.10 mg/l olarak tespit edilmiştir. SoKg-AceR popülasyonunda acequinocyl ve bifenazate için LC<sub>50</sub> oranı sırasıyla, 152 mg/l ve 75.40 mg /l olarak tespit edilmiştir. Hassas popülasyon

ile kıyaslandığında acequinocyl SoKg1 ve SoKg-AceR popülasyonlarında sırasıyla 19.80 ve 38.10 kat, bifenazate'de ise SoKg1 ve SoKg-AceR popülasyonları için sırasıyla 31.40 ve 73.90 kat direnç oranı belirlenmiştir.

Wu vd. (2019) şerbetçiotu bitkilerinden topladıkları *T. urticae* arazi ve hassas popülasyonlarına bazı pestisitlerin etkinliğini araştırmışlardır. Fenpyroximate için hassas popülasyonda LC<sub>50</sub> oranı 9.50 mg/l; toplanan popülasyonlardan 28 tanesinin LC<sub>50</sub> oranları 25 ila 228.50 mg/l arasında bildirilmiştir. Direnç oranlarının 2.63 ila 24.05 katı arasında olduğu, direncin popülasyonlarda orta ve düşük düzeyde görüldüğü tespit edilmiştir.

Namin vd. (2020) seradan toplanan GH1, GH2, GH3, GH4, GH5 ve GH6 popülasyonuna hassas popülasyonda belirlenen LC<sub>90</sub> dozu uygulanmış ve ölüm oranları tespit edilmiştir. Hassas popülasyonda abamectin'e LC<sub>90</sub> değeri 4.40 ppm olarak belirlenmiştir. Sera popülasyonlarında hassasta belirlenen LC<sub>90</sub> konsantrasyonu uygulanmış ve % ölümler belirlenmiştir. Abamectin için altı sera popülasyonunda en düşük % 24 ve en yüksek % 96.30 ölüm tespit edilmiştir. Acequinocyl'de altı sera popülasyonunda en düşük % 22.60 ve en yüksek % 100 ölüm belirlenirken; bifenazate'de % 0 - % 100 aralığında ölüm tespit edilmiştir.

Simma vd. (2020) hassas standart popülasyon için abamectin ve emamectin-benzoate'de en düşük doz olan tarla dozunun beş katı düşük dozda (TD/5) sırasıyla, % 97.40 ve % 100 ölüm tespit etmişlerdir. Tarla ve seralardan topladıkları popülasyonlar için abamectin ve emamectin-benzoate ile tarla dozunun beş kat düşük doz (TD/5) (7.20 mg/l ve 2.30 mg/l) uygulamasında en düşük ölüm oranı sırasıyla % 37.50 ve % 53.10 olarak belirlenmiştir. En yüksek dozda (180 mg/l) abamectin için popülasyonların çoğunda % 100 ölüm belirlenmiş olsa da, bir popülasyonda % 74.20 ölüm belirlenmiştir. Emamectin-benzoate 'de en yüksek dozda (57.80 mg/l) % 100 ölüm belirlenmiş olsa da, bazı popülasyonlarda en yüksek % 72.20 düzeyinde ölüm tespit edilmiştir. Fenpyroximate'in en düşük dozu olan tarla dozunun beş katı düşüğü (10 mg/l) uygulamasında hassas standart popülasyonda % 7.50 ölüm tespit edilmiştir. Tarla ve seralardan toplanan popülasyonlarda fenpyroximate'nin tarla dozunun beş kat düşüğü (10 mg/l)

uygulamasında sırasıyla en düşük % 0 ve en yüksek % 45 ölüm tespit edilmiştir. Fenpyroximate'nin en yüksek dozunda (250 mg/l) hassas standart popülasyonda ölüm oranı % 45 olarak belirlenirken, diğer popülasyonlarda ise en düşük % 6.20, en yüksek % 67.50 ölüm belirlenmiştir.

Solmaz vd. (2020) Antalya ilinde kesme çiçek üretim seralarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarında abamectin'e hassasiyet araştırılmıştır. Popülasyonlarda toksisite incelendiğinde direnç oranlarının 1.60 ila 850 kat arasında değiştiği bildirilmiştir. Biyokimyasal olarak değerlendirildiğinde esterez, GST ve P-450 enzimidaki yüksek aktivitenin popülasyonlar arasında değiştiği bildirilmiştir. Abamectin direncinin hedef bölge olmayıp, enzim kaynaklı olduğu bildirilmiştir.

Xue vd. (2020) Avrupanın farklı alanlarından topladıkları 32 adet *T. urticae* popülasyonlarından on tanesinin abamectin'e karşı 30 ila 1600 katı arasında değişen direnç oranlarına sahip olduğu, milbemectin'e ise en dirençli popülasyonlarda 203 kata kadar yükseldiğini bildirmişlerdir. Çalışmada dirençli beş popülasyon, fasulye yaprakları üzerinde yaklaşık 1 sene boyunca pestisitle müdahale edilmeden yetiştirilmiş ve direncin stabilitesi araştırılmıştır. Abamectin ve milbemectin için toksisite yeniden bakıldığında abamectin için bazı popülasyonların kararlı olduğu ve LC oranlarının yükseldiği, hatta bir popülasyonda direnç stabilitesinin 5 kata kadar arttığı, bir popülasyonda ise düştüğü kaydedilmiştir. Milbemectin direncinde ise stabilite düşüşünün az olduğu (3 popülasyonda), genel olarak kararlı yapı gösterdiği, 2 popülasyonun ise LC<sub>50</sub> oranlarının yükseldiği ve direncin kararlı olduğu bildirilmiştir.

Papapostolou vd. (2021) yaptıkları çalışmada hassas popülasyonlar olarak S-1 (Londra) popülasyonunun Kanada 'dan S-2 (BC2018-14) popülasyonunu da İspanya'dan temin etmişlerdir. Tarla popülasyonu Trizina (Trz) Yunanistan'dan, bifenazate ve abamectin uygulanmış tarladan toplanmıştır. Abamectin'e karşı S-1 ve Trz popülasyonunun probit ölüm verilerine göre Trz popülasyonunda 89.90 kat direnç geliştiği bildirilmiştir. Bifenazate karşı Trz popülasyonunda hassas ile kıyaslandığında 13.20 kat direnç geliştiği tespit edilmiştir. Pyridaben ve fenpyroximate'e karşı dirençli Trz tarla popülasyonunda sırasıyla 28 kat ve 27.10 kat direnç tespit edilmiştir.

## 2.2 Moleküler Konu İle İlişkili Kaynaklar

Kwon ve Ishikawa (1992) yaptıkları araştırmada bezelye yaprak afiti *Acyrtosiphon pisum* Haris,1776 (Hemiptera: Aphididae) 'un rDNA ITS 1 ve ITS 2 bölgesinin 229 ve 280 nükleotitten oluştuğu ve bu nükleotitlerin G+C içerikleri sırasıyla % 70 ve % 74 olduğu bildirilmiştir. ITS 1 ve ITS 2 bölgeleri için oluşturulacak yapısal modellerin, türlerin farklılığından doğan nükleotit dizilim farklılığına rağmen bu bölgelerde yapısal kısımların korunduğu bildirilmiştir.

Wesson vd. (1992) sivrisinek *Aedes aegypti* Linnaeus,1762 (Diptera: Culicidae)'nin ITS (ITS1 ve ITS2) bölgesini sekans etmişler ve altı türün (*Aedes simpsoni* Theobald,1905 (Diptera: Culicidae), *Aedes albopictus* Skuse,1895 (Diptera: Culicidae), *Aedes vexans* Meigen,1830 (Diptera: Culicidae), *Aedes triseriatus* Say,1823 (Diptera: Culicidae), *Haemagogus mesodentatus* Komp & Kumm,1938 (Diptera: Culicidae) ve *Psorophora ferox* von Humboldt,1819 (Diptera: Culicidae) 'un ITS2 dizilerini bildirmişlerdir. *Aedes aegypti* ITS1 bölgesindeki varyasyonun üç bireyden aldıkları dört klon arasında % 1.07 olduğu ve ITS2'de ise dört bireyden aldıkları 15 klon arasında % 1.17 çıktığı bildirilmiştir.

Navajas vd. (2001) yedi *T. kanzawai* ve *Tetranychus hydrangeae* Pritchard & Baker,1955 (Acari: Tetranychidae) akar örneğinde ITS2 bölgesini çoğaltarak benzerliklerini araştırmışlardır. Morfolojik farklılık bulamadıkları, moleküler olarak inceledikleri ITS2 diziliminde ise, topladıkları Avustralya ve Endonezya örnekleri arasında % 0.20 'lik küçük bir baz farklılığı haricinde, benzerlik bulunduğu bildirilmiştir. Bu iki farklı tür arasında geri çaprazlama yapıldığında üreme uyumluluğu görülmüş ve melezlerin oluştuğu bildirilmiştir. *T. hydrangeae* ve *T. kanzawai* 'nin her açıdan birbiri ile çok benzer oldukları bildirilmiştir.

Shaw vd. (2002) Avustralya'da 17 bölgeden toplanan *Ixodes holocyclus* Neumann,1899 (Acarina: Ixodidae) 'u incelemiş, ITS2 bölgesinin 793 b.ç. uzunluğunda olduğu bildirilmiştir. Karşılaştırılan popülasyonların 588 nükleotid diziliminin sekizinde (% 1.40) varyasyon bulunduğu bildirilmiştir. Dizilimde sekiz farklı nükleotitin bulunduğu,

nükleotit diziliminin 197. konumunda adenin bazına rastlandığı; ancak diğer popülasyonlarda bunun yerine guanin bulunduğu tespit edilmiştir.

Osakabe vd. (2002) teşhis için DNA marker tasarlamış, dört *Tetranychus* türünde ITS1, 5.8S ve ITS2 dahil olmak üzere bölgelerini sıralamış ve kestirme yaparak teşhis bölgelerini analiz etmişlerdir. PCR-RFLP kullanılarak *T. kanzawai*, *T. urticae*, *T. pueraricola* Ehara et Gotoh,1996 (Acari: Tetranychidae) ve *Tetranychus ludeni* Zacher,1913 (Acari:Tetranychidae) 'nin ayırt edilmesinde genetik kriterler ortaya konulmuştur.

Noge vd. (2005) toplamda 73 astigmat 'ın farklı takım ve familyalarından rDNA ITS2 bölgesini çoğaltarak DNA dizilimine bakmışlardır. Bu bölgenin uzunluğunun 282 ila 592 baz çifti arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Konsensüs sekanslara bakıldığında türler arası varyasyonun % 4.10 'den yüksek olduğu; ancak bireyler arasında varyasyonun % 0 ila 5.70 arasında olduğu kaydedilmiştir. Farklı bölgelerden gelen popülasyonlar arasında ise % 0 ila % 3.20 arasında varyasyon ile karşılaşıldığı bildirilmiştir. Yazarlar, ITS2 bölgesinin astigmat türlerinde dizilemelerin her birinin türe özgü olduğunu bildirmişlerdir.

Ben-David vd. (2007) nükleer ribozomal DNA (rDNA-ITS2) bölgesini kullanarak İsrail'de 16 akar türü (Acari: Tetranychidae) arasında etkili bir şekilde ayırım yaptıklarını bildirmişlerdir. *Tetranychus urticae* ve *Tetranychus turkestani* Ugarov and Nikolski,1937 (Acari: Tetranychidae) arasında 0.011 – 0.015 (% 1.10 – 1.50) düşük sapma olduğu; fakat türlerin beş nükleotit diziliminin farklı yerde olması ile rDNA-ITS2 teşhislerinin kolaylaştığı bildirilmiştir. Araştırmacılar, sonuç olarak, rDNA-ITS2 dizi barkodlarının akar türlerinin tanımlanması için etkili bir şekilde kullanılabileceğini bildirmiştir.

Tsagkarakou vd. (2007) yürüttükleri bir çalışmada, *Tetranychus evansi* Baker and Pritchard,1960 (Acari: Tetranychidae)'yi, Yunanistan'da, *Solanum nigrum* (köpek üzümü) üzerinde ilk kez tespit etmişlerdir. Çalışmada, tür tanımlaması morfolojik ve moleküler olarak yapılmıştır. ITS2 bölgesi PCR'da çoğaltarak sekansı alınmıştır. Bu

sekans verileri, Brezilya *T. evansi* sekansı ile ve ayrıca NCBI (GenBank) elde ettikleri yakın iki tetranychid türü'nün ITS2 sekansı ile kıyaslanmıştır.

Nelson vd. (2008) çalışmalarında *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) cinsi sineklerin tanımlanmasında Mitokondriyal genetik marker yerine, çalışmada nükleer bir genetik marker'ın kullanımı araştırılmıştır. Bu cinsin Avustralya'da bilinen dokuz *Chrysomya* türünün (Diptera: Calliphoridae) Ribozomal DNA (rDNA) ITS2 bölgesi çoğaltılarak sekansa gönderilmiş ve dizileme yapılmıştır. Beş kesim enzimi (DraI, BsaXI, BcIV1, AseI ve Hinf) ile bu cins üyelerinin çoğu PCR-RFLP kullanılarak farklılıkları ortaya konmuştur. *Chrysomya latifrons* Malloch, 1927, *Chrysomya semimetallica* Malloch, 1927, *Chrysomya incisuralis* Macquart, 1851 *Chrysomya rufifacies* Macquart, 1844 dışındaki türlerde kesim sağlamış *Chrysomya incisuralis* ile *Chrysomya rufifacies* ITS bölgesinin çoğaltılması ile boyut farkıyla ayırt edilebildiği bildirilmiştir. Yazarlar, PCR-RFLP gibi DNA temelli yaklaşımlar, morfolojik karakterlerin güvenilir olmadığı durumlarda entomolojik türlerin tanımlanmasında faydalı olduğunu kaydetmişlerdir.

Xie vd. (2008) Çin'de *T. cinnabarinus*'un (Boisduval) popülasyon yapısını, sitokrom oksidaz I (COI, 453b.ç.)'i kodlayan mitokondriyal DNA geninin bir kısmı ve rDNA da bulunan ITS2 bölgesinin bir kısmı (645b.ç.) çoğaltılarak, araştırmışlar. Farklı bölgelerden toplanmış 19 *T. cinnabarinus* popülasyonunun COI dizileri ile ITS2 dizileri karşılaştırıldığında, ITS2 dizilerinde az bir farklılık olduğu bildirilmiştir. ITS2 bölgesinde sapmanın az olmasının nedenlerini ise, atalardan gelen polimorfizmin COI bölgesine göre daha az olabileceğinden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Araştırmada, COI ve ITS2 bölgesinden elde edilen dizilimler ağaca dönüştürüldüğünde filogenetik göstergenin, coğrafik ilişkilere dayalı olduğu kaydedilmiştir. Çalışmada, mtDNA ve rDNA bölgeleri analizleri sonucu *T. cinnabarinus* ve *T. urticae*'nin farklı olmadığı tespit edilmiştir.

Alasaad vd. (2009) 13 hayvan popülasyonundan topladıkları 9 *Sarcoptes scabiei* von hominis türünü incelemişler; 5.8S ve 28S rDNA kısmını çoğaltarak dizilimleri elde etmişlerdir. 404 b.ç. uzunluğunda toplam 148 ITS-2 dizisine sahip olduğu kaydedilmiştir. Sonuçta, toplam 67 değişken bölge belirlenmiştir. Yazarlar, ITS-2 bölgesinin akar

popülasyonları arasındaki genetik çeşitliliği incelemeye uygun olmadığını bildirmişlerdir.

Kwon vd. (2010b) çalışmalarında *T. urticae*'de sinerjistleri kullanarak abamectin direncine neden olan mekanizmayı ortaya koymaya çalışmıştır. Denenen esteraz (est) enzim tutucusu TPP (triphenyl phosphate) ve P-450 engelleyicisi PBO sinerjistlerinin abamectin direncinde bu enzimlerin metabolik olarak rol aldıklarını tespit edilmiştir.

Li vd. (2010) *Tetranychus* cinsi içinde türlerin yakın morfolojik benzerlikler göstermeleri nedeniyle teşhislerinde güçlüklerle karşılaşıldığını bildirmektedir. Çalışmada, mitokondriyal (sitokrom c oksidaz alt ünite 1) ve nükleer (ITS1 ve 2 ribozomal RNA geni) dizilerine bakılarak Tetranychidae türlerinin ilişkileri incelenmiştir. Sonuçta, *Tetranychus*, *Panonychus*, *Amphitetranychus* ve *Petrobia*'nın monofili olduğu doğrulanmış; *Tetranychus truncatus* Ehara, 1956 (Acari: Tetranychidae) *T. turkistani* ve *T. urticae* türleri arasındaki genetik uzaklığın yeniden gözden geçirilmesi gerekliliği vurgulanmıştır. Özellikle *T. cinnabarinus*'ta sitokrom oksidaz 1 ve ITS1 ve 2 dizilerinin büyük coğrafik farklılıkları göstermesinin ardında; daha tanımlanmamış veya farklı türlerin varlığı düşünüldüğü kaydedilmiştir.

Ho vd. (2011) araştırmacılar *Tetranychus okinawanus* Ehara, 1995 (Acari: Tetranychidae) türünün ribozomal ITS2 bölgesini, polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltmışlar ve sekanslamışlar. Çıkan dizilemelere göre adenin timin içeriğinin (% 67.70) yüksek oranda olduğu; çalıştıkları bireyler arasında aynı olduğunu kaydedilmiştir.

Marinho vd. (2011) ITS2 bölgesinin nükleer rDNA kümesi içerisinde kodlanmayan küçük bir bölge olduğunu bildirmiştir. ITS2 dizilimi değişkenliği türleri ayırt etmede ve genetik çeşitlilik bilgilerinin bulunduğu alanlar olduğunu vurgulamışlardır. Araştırmada Calliphoridae 'de bu bölge göre filogenetiği çıkarılmış, intragenomik değişkenliklerin küçük dizilim tekrarlamalarından oluştuğu; yalnız bunun tür düzeyinde filogenetik işaretleme üzerine çok etkili olmadığını bildirilmiştir.

Yuan vd. (2011) Çin'de üç farklı narenciye bölgesinden topladıkları 15 *P. citri* popülasyonunun genetik yapısı ve çeşitliliğini karakterize etmek için ITS1 bölgesini kullanmışlardır. Kullanılan program ile (AMOVA) UMYR, YGP ve SC popülasyonları arasında genetik yapı olarak uzak olduğu; ancak coğrafi olarak uzak bulunan bazı popülasyonlar arasında, yüksek bir gen akışının bulunduğu bildirilmiştir. Coğrafi izolasyonun genetik farklılaşmaya neden olan temel faktör olduğu, yapılan Mantel testi ile ortaya konmuştur. *P. citri* 'nin popülasyon yapısına devam eden gen akışının, geçmiş atalarının polimorfizimlerini taşımalarına ve doğal seçilimin katkısının olduğu bildirilmiştir.

Arimoto vd. (2012), çalışmada diyapozdaki ergin dişi, ergin öncesi ve yumurta dönemlerindeki akarların teşhisi için ITS bölgesi ve 5.8S nükleik ribozomal DNA bölgesini kullanarak PCR RFLP ile araştırmışlardır. Çalışmada, diyapozdaki dişiler ve deutonimfler cam çubukla ezilerek DNA'ları elde edilmiştir. *Tetranychus urticae*'nin tüm evrelerinde DNA çoğaltılması sonrasında, endonükleazlarla kestirilmesi ve elektroforez sonrası ayırt edici bantların görüldüğü bildirilmiştir. ITS bölgesinde PCR-RFLP analizi ile *Tetranychus* türlerinin, diyapozdaki dişilerinin, ergin öncesi dönemlerin ve yumurtaların tür tespiti için kullanılabileceği yazarlar tarafından bildirilmiştir.

Wang vd. (2012) narenciye kırmızı akarı *P. citri* 'nin konukçulara bağlı olarak popülasyonlarda genetik yapısını karakterize etmişler. Bu amaçla, popülasyonlar arası gen akışı, genetik farklılaşma ITS1 bölgesi kullanılarak bulunmaya çalışılmıştır. Sonuçlara göre aynı konukçu ailesi ile beslenen *P. citri* popülasyonlarında yüksek düzeyde gen akışının olduğu tespit edilmiştir. Rutaceae ve Oleaceae familyası konukçu bitkilerinde beslenen popülasyonlarda genetik farklılaşma ve düşük düzeyde gen akışı tespit edilmiştir.

Matsuda vd. (2013) *Tetranychus* türlerinin morfolojik olarak benzediğini, erkeklerde aedeagal çapların tanımlamada zor olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, bu durumun zararlı türün mücadelesine ve karantina önlemleri için çok önemli olduğu bildirilmiştir. Çalışmalarında *Tetranychus* türlerini, nükleer ribozomal DNA'nın ve mitokondriyal DNA'nın sitokrom c oksidaz alt birim 1 genini kullanarak türleri tanımlamayı

amaçlamışlardır. ITS bölgesini kullanılarak onüç *Tetranychus* türünden on tanesinin tanımlanabildiği, sitokrom c oksidaz alt birimi 1 bölgesi ile 13 *Tetranychus* türünden tamamın tanımlanabildiği bildirilmiştir.

Ilias vd. (2014) çalışmalarında *T. urticae*'nin mücadelesinde moleküler çalışmaları ele alarak, coğrafik bölgelere dağılımını değerlendirmişler. En az üç bağımsız mutasyon geninin 36 dirençli popülasyon ve 6 hassas popülasyonunda allellerinin belirlendiği kaydedilmiştir. Direnç ile ilgili mutasyonların değişken aralıklarda frekanslara sahip olduğu, coğrafi dağılımlarının değiştiği bildirilmiştir.

Kwon vd. (2014) *T. urticae*'deki abamectin'e karşı oluşan direncin ilgili hedef bölgesi glutamat-kapılı klor kanalında (TuGlu: G323D)] hassasiyetlerinin azalması ile sağlandığını bildirmiştir. Popülasyon tabanlı genotiplemede *T. urticae*'de mutasyon frekanslarının belirlenmesi için kantitatif sıralama (QS) protokolü geliştirilmiştir. Araştırmada, standart tahmin denklemi ile yüksek korelasyon katsayıları tespit edilmiş ve meydana gelen nükleotit değişiminin sinyal oranına bakılarak allel frekansları karşılaştırıldığında yüksek düzeyde orantılı olduğu tespit edilmiştir.

Riga vd. (2014) hedef bölge direncinin meydana gelen direnç vakalarında direncin açıklanmasında yeterli olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca genetik kaynaklı ve transkriptomik verilerin abamectin'e dirençli fenotipik bireylerinde başka mekanizmalarında rol alabileceğinden bahsetmektedirler. Çalışmada, abamectin direncinin Sitokrom P-450 ile metabolize edilip edilmediği konusunu araştırma yapmak için Yunanistan'dan elde edilen dirençli popülasyonun abamectin direncinde 3 adet (CYP392A16, CYP392D8 ve CYP392D10) sitokrom P-450 geninin aşırı çoğaldığı tespit edilmiştir.

Pavlidis vd. (2015) glutathione S-transferaz (GST) enzim bölgesinde birkaç tane genin aşırı çoğalması (overekspresyon)'nın insektisit/akarisit direnci ile ilgili olduğunu tespit etmiştir. TuGSTd14 'ün abamectin'e karşı en fazla direnen gen ve engelleme etkisi (inhibisyon) olduğu gözlemlenmiştir. Yazarlar, bu akarisit enzim H bölgesine bağlanabildiğini göstermiştir.

Piraneo vd. (2015) alışmalarında tarladan topladıkları popülasyonları hassas bir popülasyon ile kıyasladıklarında hem direnç oranlarını ve hemde dirençle alakalı çok sayıda mutasyonunun dağılımını araştırmışlardır. Sonuçta, *T. urticae* popülasyonlarının % 35'inde sitokrom b gen'inde cytb (G126S) bir mutasyon olduğu, test edilen glutamat kapılı klor kanallarının alt ünitelerinde ise mutasyona rastlanmadığı; dolayısıyla abamectin direncinde önemli olmayabileceği bildirilmiştir.

Riga vd. (2015) sitokrom P-450 genleri CYP392A11 ve CYP392A12'nin METI (mitokondriyal elektron akışını engelleme) direncinin gelişiminde kuvvetli ilişkili olduğunu tespit etmiştir. CYP392A11 genine sahip olan ve hiç cyenopyrafen 'e maruz bırakılmamış çoklu dirence sahip *T. urticae* popülasyonunda mikroarray çalışması yapılarak qPCR ile önemli düzeyde çapraz direnç olduğu tespit edilmiştir.

Bajda vd. (2017) yapmış oldukları çalışmada METI 1 gurubundan etken maddeye seleksiyonu sonrası meydana gelen nokta mutasyonunu (H92R) bulmuşlar. Bu dirençli *T. urticae* popülasyonda tespiti, önce *Thermus thermophilus* Yoshida and Oshima,1971 bakterisi kullanılarak geni aktardıklarını, sonrasında geriye çaprazlamalar ve farklı tekniklerle (QTL analizi ve CRISPR-Cas9 genom düzenleme ile) incelenerek tespit ettiklerini bildirmektedirler.

Ilias vd. (2017) alışmalarında *T. urticae* popülasyonlarında hızlı mutasyon teşhisini ve popülasyonlarda hangi düzeylerde olduğunu bulmak için yaptıkları çalışmada, Kıbrıs ve Yunanistan'dan avarmectin ve sentetik piretroit uygulanmış bölgelerden topladıkları on bir kırmızı örümcek popülasyonunda dirence neden olduğu kanıtlanmış mutasyonların sıklığını araştırmışlardır. Abamectin'e dirence neden olan G314D ve G326E mutasyonlarını, sıklığı iki popülasyonda sabitlenmiş (G314D için > % 97.50 ve G326E içinse % 100) bir mutasyon oranı tespit edilmiştir. Üç popülasyonda ise dşuk sıklık denilecek (% 5 – 12.50) şekilde tespit edilmiş, diğer altı popülasyonda ise tespit edilememiştir.

Mermans vd. (2017) makrosiklik laktonların mücadelede yoğun kullanıldığını ve hızla direncin geliştiğini vurgulamıştır. *Xenopus laevis* Daudin,1802 (Anura: Pipidae) yumurtaları kullanılarak GluCl alt birimlerinde oluşan direncin genetik olarak tespit edildiği ve G326E mutasyonunun fonksiyonel olarak doğrulandığı bildirilmiştir.

Namin (2017) çalışmasında hıyar serasından topladığı popülasyon (FS) üzerinde, FS popülasyonunu METI gurubundan pyridaben ile senede iki defa üç sene boyunca LC<sub>90</sub> oranında pyridaben ile selekte ederek adına SFS popülasyonunu vermiştir. Hassas olarak on senedir pestisite maruz kalmadan yetiştirilen Londra popülasyonu kullanılmıştır. SFS popülasyonunda METI gurubu akarisitlerin neden olduğu H92R nokta mutasyonunu gen sekansı sonucu bulamadığı; arazi popülasyonu FS ve seleksiyon popülasyonunda (SFS) ND1 ve ND5 alt ünitelerinde üç ve on dört mutasyon tanımlandığı bildirilmiştir. Ancak, bu mutasyonların hiçbirinin dirence katkıda bulunmadığı, moleküler olarak bir korelasyon olmadığı, fakat metabolik olarak dirence katkı sağladığı bildirilmiştir.

Riga vd. (2017) akarlarda avermektin, piretroidliler, akar büyüme engelleyiciler ve mitokondriyal kompleks III inhibitörlerine (QoI) dirençle ilişkilendirilen dokuz mutasyonu araştırmışlardır. Toksisite testleri sonucu voltaj kapılı sodyum kanalı, kitin sentez 1 ve sitokrom b kanallarında görülen mutasyon kaynaklı olarak yüksek düzeyde dirençli çıktıkları, hatta sabitlenen mutasyon görülen popülasyonlarda tek etken madde kullanılan sahada başarısızlığa neden olabileceği bildirilmiştir.

Shi vd. (2017) direnç mekanizmalarından biri olan detoksifikasyon enzim gruplarının dirence katkısı olan ve bu enzimlerin artışını sağlayan düzenleyicileri araştırmışlar. Araştırmacılar *T. cinnabarinus* 'un fenpropatrin 'e dirençli popülasyonda P-450 genlerinde ekspresyonu (artışı veya azalışı) düzenleyen 6 farklı transkripsiyon genini tanımlamışlar ve karakterize etmişlerdir.

Çağatay vd. (2018) sebze seralarında üç *T. urticae* popülasyonu toplamış ve abamectin'e karşı hassasiyetlerini araştırmıştır. Hassas popülasyon ile kıyaslama yapıldığında 223 ila 404 katı arasında değişen direnç oranı tespit edilmiştir. Yazarlar, hassas popülasyona kıyasla est, GST ve P-450 'nin oranının yüksek olduğunu ancak hedef bölge

duyarsızlığına (G314D ve G326E) baktıklarında ise mutasyon tespit edilemediğini bildirmiştir. Sonuçta, abamectin'e karşı oluşan direncin bu popülasyonlarda hedef bölge duyarsızlığında değil de metabolik enzimlerden kaynaklandığı bildirilmiştir.

Sharma vd. (2018) Hindistan'da iki noktalı kırmızıörümceğin mücadelesinde fenazaquin kullanıldığını ve bu maddenin (MET11) direnç gelişimini kolaylaştırdığını bildirmiştir. Artan MFO (Çoklu fonksiyonlu oksidazlar) aktivitesine sahip dirençli popülasyonda CYP392A11, CYP392A12 'de 2 kat artışın görüldüğü tespit edilmiştir. Hedef bölge mutasyonlarında düşük ve orta düzeyli direnç gelişiminde çok etkili olmadığı; ancak yine de direnç gelişiminde mRNA 'da meydana gelen ekspresyonların direncin tespitinde hızlı ve güvenilir bir yöntem olduğu bildirilmiştir.

Xu vd. (2018) çalışmalarında elmalardan toplanan 7 tarla popülasyonunu 11 pestisite karşı direnci araştırmış ve bu kimyasalların ilgili hedef gen bölgesine bakarak mutasyon ve sıklıklarını tespit etmiştir. Çalışmada tarla popülasyonlarının tümünün abamectin'e karşı yüksek ve aşırı yüksek dirençli, bifenazate'e düşük veya orta derece dirençli ve pyridaben'e ise düşük düzeyde dirençli olduğu tespit edilmiştir. Hedef bölge ile ilişkili bakılan bazı gen bölgelerinde, abamectin direncinde bakılan glutamat kapılı klor kanallarında gen 1 'de (GluC11) mutasyon tespit edilmiş ve bulunma sıklığı % 28.33 – 63.64 arasında değiştiği, diğer gen 3 (GluC13)'te bulunma sıklığının ise % 0 - 95 arasında değiştiği bildirilmiştir. Araştırmada, bifenazate'e dirençle ilişkili sitokrom b geninde (Cytb) mutasyon tespit edilmemiştir.

Feng vd. (2019) cyflumetofene dirençli CyR popülasyonunda GST aktivitelerinin dirençte rol aldığını bildirmiştir. Rekombinant TcGSTm02 cyflumetofeni güçlü bir şekilde ayrıştırdığı ve GSTyi katalize ederek cyflumetofenle beraber konjuge ettiğini bildirilmiştir.

İnak vd. (2019) Türkiye'de sebze alanlarından topladıkları on adet *T. urticae* popülasyonunda bazı akarisitlerin toksisitesine ve hedef bölge direncine bakmıştır. Popülasyonların yarısının abamectin'e karşı dirençli olduğu; fakat pyridaben, abamectin ve bifenazate 'ın sorumlu olduğu mutasyonlar tespit edilmediği bildirilmiştir.

Kim vd. (2019) çalışmada *T. urticae* popülasyonuna 2001 yılından itibaren 16 sene boyunca selekte (LSAR16) ettikleri METI 3 gurubundan olan acequinocyl 'de kalıtım, direnç oranı, mekanizma ve mutasyon araştırmışlardır. Hassas popülasyon ile kıyaslandığında acequinocyl'e 4237 kat direnç olduğu, kalıtımın maternal, dominant ve monogenik olduğu tespit edilmiştir. Mekanizmaya incelendiğinde ise PBO ve DEF sinerjistlerinin önemli oranda toksisitesini arttırdığı bildirilmiştir. Bireyler arasında sitokrom b bölgesinde % 85.50 – 98.50 oranında I256V mutasyonu ve % 98 - 99 oranında ise N321S mutasyonu tespit edildiği; bu nokta mutasyonların acequinocyl'e dirençte önemli oranda katkıda bulunduğu bildirilmiştir.

Rameshgar vd. (2019) İran'dan ve doğu ve batı Azerbaycan bölgelerindeki elmadan topladıkları *P. ulmi* popülasyonları üzerine araştırma yapmışlardır. PuGluC11, PuGluC12 ve PuGluC13 bölgeleri (GluCl bölgelerini) en dirençli olan Mahabad popülasyonunda incelenmiş; fakat bakılan nokta mutasyonlarını bulunmadığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar, detoksifikasyon enzimlerinde artışın var olması, fakat hedef bölge direncinin görülmemesinin, abamectin direncinde birden fazla (çoklu) mekanizmanın rol oynadığını bildirmişlerdir.

Snoeck vd. (2019a) araştırmalarında akarların yeni bir konukçu bitkiye adaptasyon ya da alışma sürecinde veya akarisitlere dirençli akar popülasyonlarında eksprese edilen sekiz UGT gen takımını belirlemiştir. Abamectin'e dirençli bir *T. urticae* popülasyonunda, hem doğal zenobiyotik bileşiklerin, hem de sentetik (abamectin) bileşenin detoksifikasyonunda, iki UGT tarafından glikozile edilerek detoksifikasyonda potansiyel rol oynadığı bildirilmiştir.

Snoeck vd. (2019b) çalışmada METI 1 akarisitlerin yapısal farklılıklarının olmasına rağmen, meydan gelen çaraz direnci araştırmışlardır. H92R hedef bölge mutasyonunun sitokrom P-450 redüktaz (CPR) kısmını içeren genomik bölgenin pyridaben ve tebufenpyrad'a oluşan dirençle ilişkili olduğu bildirilmiştir. CPR genomik bölgesi içinde, nüklear hormon reseptörü 96 (NHR96) gen ailesi tespit edilmiştir. NHR96 geninin DNA bağlama bölgesi (DBD)'ni kodlamadığı ve her eklembacaklıda görülmediği bildirilmiştir.

Wei vd. (2019a) karboksilesterazların pestisit direncinde önemli rol oynadığını bildirmiştir. *T. cinnabarinus*'ta uyarı etkisi ile aşırı çoğalmış dört CarE geni taranmış ve rolleri RNAi ve protein ekspresyonu ile analizleri yapılmıştır. Dört gene sahip dsRNA ile beslenen akar geninde (down regülasyon) çoğalma sayısında düşüşler görülmüş, esteraz enzim aktivitesinde azalma tespit edilmiş; ve bundan dolayı dirençte azalmaya neden olduğu bildirilmiştir.

Wei vd. (2019b) gen bölgesinde çoğalmanın (eksprese olmuş) veya nokta mutasyonların arttığı karboksil/kolinesteraz (CCE) bölgesinin insektisit veya akarisitlere direnç kazanımında rol aldıklarını bildirmiştir. Sinerjistlerden S,S,S-tributylphosphorotrithioate (DEF) ile muamele edilmiş hassas ve dirençli popülasyonda yapılan çalışmada, cyflumetofen 'in hidrolize olmaya ihtiyaç duyduğu ortaya çıkmış. Bu sinerjist uygulamasının ise cyflumetofeni inhibe ettiğini ortaya çıkarmışlar.

Wu vd. (2019) abamectin, fenpyroximate ve spiroticlofen için *T. urticae* popülasyonlarında meydana gelen ilişkili metabolik detoksifike bölge gen ekspresyonunun da sırasıyla % 100, % 50 ve % 20 olarak tespit etmişler. Bifenazate ve etoxazole pestisitlerine karşı baktıkları bütün popülasyonlarda sırasıyla G126S ve I1017F mutasyonlarını tespit etmişler. Bifenazate ile ilişkili 5 mutasyon (G126S, I136T, S141F, D161G ve P262T) noktasına bakılmıştır. G126S mutasyonunu toplamda baktıkları 36 popülasyonda % 72 (26 popülasyonda) oranında varlığını tespit edilmiştir. Ayrıca diğer cytb mutasyonlarının veya kombinasyonlarının yüksek seviyeli bifenazate direncinde rol oynadığı; ancak bakılan bu mutasyonların popülasyonlarında görülmediği ifade edilmiştir.

Alavijeh vd. (2020) araştırmalarında *P. citri* zararlısına karşı mücadelesinde en fazla kullanılan MET11 kompleksinde var olan akarisitlere karşı denemeler yapmışlardır. Özellikle fenpyroximate 'de biyokimya ve hedef bölge direnci incelenmiştir. İranın kuzeyinden toplanmış 7 popülasyonda direnç oranları tespit edilmiş ve fenpyroximate 'de 75 kata kadar direnç tespit edilmiştir. Pyridaben ve tebufenpyrad ile çapraz direnç tespit edilmemiştir. Gen analizi yaptıkları P-450 monooksijenazların dirençte fazla bir ilişkisinin olmadığı bildirilmiştir. Dirençli *P. citri* popülasyonunda H92R mutasyonu

tespit edilmiştir. Fenpyroximate de orta düzeyde dirençli popülasyonda yüksek allel frekanslı A94V mutasyonu tespit edilmiştir. Geri çaprazlamada hassas popülasyonda kullanılan yardımcı markör ile bakıldığında, yeni keşfettikleri A94V mutasyonunun dirence potansiyel katkısının olduğu ortaya konmuştur. Ancak CRISPR-Cas9 kullanılarak *Drosophila melanogaster* Meigen,1830 (Diptera: Drosophiladae) 'in PSST homologuna A94V mutasyonu eklenerek bakıldığında dirençli *D. melanogaster* oluşmadığı tespit edilmiştir.

Chen vd. (2020) Avustralya'da pamuk ekim alanlarında en zararlı akar türünün *T. urticae* olduğu; ancak pamuk içinde *T. ludeni* Zacher ve *T. lambi* Pritchard & Baker (Acari: Tetranychidae)'ninde bulunduğunu bildirmiştir. Bu türlerin morfolojik olarak ayırt edilmesinin zor olması nedeniyle, bu türlerin tanımlanmasında hızlı bir tanı testi geliştirmişlerdir. Tasarımın üç türe özel Tagman probuna göre evrensel primer çifti (nükleer ribozomal DNA) ITS1'e dayandığı bildirilmiştir.

Choi vd. (2020) çalışmalarında *T. urticae* türünde GST gen bölgesi alt sınıflarına (delta, omega, mu, zeta ve kappa) bakmışlar. Acequinocyl 'e dirençli AR (acequinocyl resistant) popülasyonunda GST genlerinin ekspresyonunun, pyridaben 'e dirençli PR (pyridaben resistant) ve hassas popülasyona göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. AR dirençli popülasyonunun pyridaben 'e karşı çapraz direnç gördüklerini ancak pyridaben dirençli PR popülasyonunda çapraz direncin görülmediğini ifade etmektedirler. Hatta AR popülasyonda Cytb (I256V, N321S) ve PSST (H92R) nokta mutasyonlarının olduğu, PR popülasyonunda ise H92R mutasyonun görüldüğü, diğerlerinin bulunmadığı bildirilmiştir. Artmış GST metabolizmasının GST delta ekspresyonunun *T. urticae*'de acequinocyl direnci ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

Feng vd. (2020) yaptıkları *T. cinnabarinus* çalışmasında cyflumetofen 'in hidroksilasyon sonucu olan AB-1 metabolitini, cyflumetofen'in kendisini ve pyridaben 'i, oluşturdukları rekombinant CYP389C16 geninde metabolize etme yeteneğine araştırmışlardır. Buna göre 2 saatlik bir süreçte verdikleri cyflumetofen 'i % 25 oranında, pyridaben 'i % 39 ve metaboliti olan AB-1 'i ise % 69 oranında parçaladığı tespit edilmiştir. Sonuçta,

çalışmada aşırı eksprese edilen CYP389C16 geninin cyflumetofen ile pyridaben arasında çapraz dirençte rol oynadığı tespit edilmiştir.

Khanjani vd. (2020) topladıkları *T. urticae* popülasyonlarının fenpyroximate direncini biyoassay, biyokimyasal ve moleküler olarak araştırmışlardır. Mahallat ve Karaj popülasyonları için LC<sub>50</sub> oranlarının 92 ve 2.10 mg/ml ve aralarında 43.80 kat direnç olduğu tespit edilmiştir. Enzimlerden esteraz'a ( $\alpha$ -NA kullanıldığında) bakıldığında popülasyonlar arasında 2.50 kat direnç tespit edilmiştir. P-450 enzimi için ise yine Mahallat popülasyonunun Karaj'a kıyasla 1.37 kat daha dirençli olduğu, GST aktivitesinde ise önemli bir fark olmadığı belirtilmiştir. Moleküler olarak qPCR yöntemi ile fenpyroximate direncine neden olduğu ileri sürülen CYP392A11 genine (P-450 geni) bakmışlar. Ekspresyon sonucu Mahallat popülasyonunun Karaj popülasyonuna kıyasla CYP392A11 geni 3.52 kat daha fazla eksprese olduğu bildirilmiştir. Sonuçta, esteraz ve sitokrom P-450'nin *T. urticae* 'de fenpyroximate direncinde rol aldığı tespit edilmiştir.

Maeoka vd. (2020) çalışmalarında direnç gelişiminin hızlı ve doğru bir şekilde anlaşılabilmesi için direnç oluşumuna neden olan genlerin izlenmesi ve gen frekansına dayalı tahmin yöntemini geliştirmeyi hedeflemişlerdir. Kullandıkları 9 *T. urticae* popülasyonunda mitokondriyal sitokrom b ve PSST genlerinin alt birimlerine yönelik allel primer setlerin kantitatif real time PCR kullanarak, yeni tanısal yöntem olan gen frekans tahmin metodunu oluşturmuşlardır.

Solmaz vd. (2020) Antalya'da kesme çiçek üretim seralarından topladıkları *T. urticae* popülasyonlarda abamectin'de biyoassay, biyokimya ve hedef bölge direncinde rol oynayan G314D nokta mutasyonunun varlığını araştırmışlardır. Toplanan popülasyonlarda direnç oranlarının 850 kata kadar değiştiği, esteraz, GST ve P-450 enzimlerinde aktivitenin farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Kullanılan qPCR metodunda proplar ile glutamat kapılı klor kanallarında (GluCl) G314D nokta mutasyonu araştırılmış; ancak hiçbir popülasyonda mutasyon tespit edilmemiştir. Oluşan abamectin direncinin hedef yeri değişimden olmadığı; ancak detoksifikasyon enzim kaynaklı olabileceği bildirilmiştir.

Wang vd. (2020) yürüttükleri çalışmada UGT inhibitörünün (5-nitrouracil) abamectin'in etkisini arttırdığını bildirmiştir. AbR dirençli popülasyonunda UGT201D3 geninde yüksek ekspresyon tespit edilmiş, bu geni susturarak UGT'lerin aktivitesi düşürülmüş ve abamectin'e hassasiyetin arttığı tespit edilmiştir.

Xu vd. (2020) çalışmalarında *T. cinnabarinus* mücadelesinde çevrede yaygın olarak kullanılan akarisitlerin  $\gamma$ -aminobütirik asit reseptörünü (GABAR) hedef aldığını bildirmiştir. Çalışmada, GABA içeriğinin birikimi sonucunda abamectin direncine neden olduğu tespit edilmiştir. *T. cinnabarinus*'un GABAR 'ı RDL2 gen kısmını *Xenopus* oositlerine aktarılmış ve abamectin'e duyarlılığı araştırılmıştır. Sonuçta, GABAR'ın abamectin direncinde hedef bölge olduğu ve GABA birikiminin ise akar direnç mekanizmasında rol aldığı tespit edilmiştir.

Xue vd. (2020) milbemectin ve abamectin direnci üzerine yaptıkları önceki çalışmada GluCl kanallarındaki G314D ve G326E mutasyonları ile bağlantılı olduğunu öne sürmüştür. Araştırmada, toplanan popülasyonlarda baktıkları G314D (GGT- > GAT) ve G326E (GGA- > GAA) mutasyonları IT2 popülasyonunda sabitlenirken, G326E mutasyonunun ise UK6 popülasyonunda sabitlendiği tespit edilmiştir. Çalışmada, GLUCL3 bölgesi I321T (ATT- > ACT) yeni dirençle ilişkili olabileceği düşünülen mutasyon tanımlanırken, ES1 popülasyonunda üç ayırıcı mutasyon, I321T (ATT- > ACT), V327G (GTC- > GCC) ve L329F (CTT- > TTT) olabileceği bildirilmiştir.

Yu vd. (2020) amitraz'a dirençli *P. citri* popülasyonunda geriye çaprazlama, detoksifikasyon enzimleri ve detoksifikasyonda rol oynayan 23 gen üzerinde moleküler çalışmalar yapmışlar. Geriye çaprazlama sonucu amitrazdan kaynaklı direncin kalıtımının tam baskın olmadığı ve kromozom üzerindeki poligenlerin katkısı olabileceğini bildirilmiştir. Sinerjizm çalışmaları sonucunda P-450 ve esteraz enzimlerinin amitraz'ın detoksifikasyonunda önemli rol oynadığı tespit edilmiştir. Real time PCR ile bakılan genlerde P-450'lerin, ABC taşıyıcıların (ATP kaset bağlayıcılarının) amitraz'ın detoksifikasyonunda *P. citri* tarafından kullanıldığı ve direncin gelişiminde katkısının olabileceği kaydedilmiştir.

Xu vd. (2021) Çin’de yaptıkları çalışmalarında abamectin direncinin hangi genlerden kaynaklı olabileceğini tespit etmek için iki dirençli bir hassas *T. urticae* türünün RNA sekansını kullanarak genom çapında transkriptom profillemesi yapmışlardır. Transkriptom verilerini qPCR ile baktıkları P-450 genlerinde eksprese edilme durumları belirlenmiştir. Buna göre, 7 genin aşırı bir şekilde eksprese edildiği; dahası CYP389C10, CYP392D8, CYP392A11 ve CYP392A12 genlerinin susturulması ile abamectin de ölüm oranlarının önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir. Bu bulgu ile direnç gelişiminde bu genlerin rol alabileceği kanısına varılmıştır.

Papapostolou vd. (2021) Yunanistan’da süs bitkisi seralarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarının bazı akarisitlere karşı hassasiyetlerini araştırmıştır. Daha sonra, sinerjistle yaptıkları analizlerde cyflumetofen ve spiroadiclofen hariç abamectin ’in detoksifikasyon enzimlerinin rol aldığı belirlenmiştir. RNAseq analizlerinde detoksifikasyon enzimlerini kodlayan özellikle P-450 ve UDP-glikoziltransferaz genlerinde aşırı çoğalma görülmüş ve bunlarında akarisit direncinde rol aldığını gösteren pek çok çalışma bulunduğu bildirilmiştir. Hedef bölge direncinde, bilinen direnç mutasyonlarından asetilkolinesteraz, kitin sentez1 ve PSST gibi bölgelerde hedef yeri direncine rastlandığı, glutamat kapılı klor kanallarının 3. alt ünitesinde yeni direnç mutasyonu tespit edildiği bildirilmiştir. Ancak dönüşümlü kullanılan etken maddelerin pestisit baskısını ortadan kaldırdığı ve piretroitlilere ve bifenazate karşı herhangi bir mutasyonun tespit edilemediği bildirilmiştir.

Yaghoobi vd. (2021) çalışmada İran’daki elma bahçelerinden toplanmış *P. ulmi* popülasyonlarında fenpyroximate’ye karşı hassasiyetlerini araştırmışlardır. Popülasyonlar arasında orta ve yüksek düzeyde direnç belirlenmiştir. Bu popülasyonlarda MET11 direnci ile ilişkili 2 tane mutasyon (H92R, A94V) noktasına bakılmıştır. Taranan popülasyonların hiçbirinde PSST mutasyonlarının varlığı tespit edilmemiştir. Popülasyonlarda görülen yüksek fenpyroximate direncinin ise büyük bir olasılıkla artan GST detoksifikasyon enziminden kaynaklandığı bildirilmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Projenin ana materyalini pamuk üretiminin yoğun olarak yapıldığı Aydın, Adana, Şanlıurfa ve Diyarbakır illerinden toplanan *T. urticae* ile bulaşık pamuk bitki örnekleri, standart hassas *T. urticae* popülasyonu olan GSS (German Susceptible Strain), fasulye tohumu, ince uçlu (0 no'lu) samur fırça, kese kağıdı, küresel konumla sistemi (GPS) kodu alan telefon, stereomikroskop (Leica SP-MZFLIII-TS), syracus kabı, laktofenol, Hoyer ortamı, lam, lamel, kağıt havlu, pamuk, saksılar, etüv, buzluk çanta, buz kasetler, plastik küvetler, toprak, 9 cm çaplı petri kapları, parafilm, 100 ml'lik ölçü silindiri, cam şişeler, beherler, mikropipet ve uçları (Eppendorf), hassas tartı (Mettler Toledo ME 204), 1 no'lu filtre kağıt (Whatman), aseton, falkon tüpler, saf su cihazı, biyokimyasal çalışmalarda kullanılan çeşitli kimyasallar, Kinetik Mikroplate okuyucu (Molecular Devices VERSAmax, USA), 96 kuyulu düz tabanlı microplate'ler, manyetik karıştırıcı, vorteks (Ika 2, UK), pH metre (Mettler Toledo, Germany), ultrasonik banyo (Bandalin Sonorex), soğutmalı santrifüj (Nüve NF 1200), kimyasallar ve cam ile plastik malzemeler oluşturmuştur. Kullanılan ruhsatlı (glutamat kapılı klor kanalları düzenleyici insektisit-akarisit) abamectin ile bifenazate ve tebufenpyrad (METI gurubu akarisitler) etken maddesini içeren bitki koruma ürünleri (B.K.Ü.), ilaçlama kulesi, pipet, parafilm ve diğer laboratuvar malzemeleri oluşturmuştur. Moleküler çalışmalarda ise ekstraksiyon kiti (Qiagen Blood and Tissue kit), ezici çubuk (pestle), elektroforez (Thermoscientific Owl EasyCast B2), eppendorf tüp, primerler, ultra safsu (Miliphore), mastermix (5XFIREPol, Solis BioDyne), nanodrop (Thermo 2000), PCR thermocycler (Eppendorf mastercycler Nexus), santrifüj (Mikro 200, Hettich) ve çeşitli kimyasal maddeler kullanılmıştır.

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Arazi çalışmaları

#### 3.2.1.1 Pamuk alanlarından *T. urticae* popülasyonlarının temini

Denemelerde kullanılan *T. urticae* popülasyonları Aydın, Adana, Şanlıurfa ve Diyarbakır illerinde kimyasal mücadelenin yoğun olarak yapıldığı ve zararın göz ile bariz olarak görülebildiği pamuk yapraklarından en az 10 popülasyon olacak şekilde pamuk tarlalarından toplanmıştır (Çizelge 3.1). Toplanan bitki yaprakları, kese kağıdı içerisinde, buz kutularına yerleştirilerek laboratuvara getirilmiştir (Şekil 3.1). Akarların toplandığı yer örnekler üzerine kaydedilmiştir. Laboratuvara getirilen örnekler, böcek yetiştirme odalarında, su küvetleri içinde bulunan temiz fasulye bitkileri üzerinde kültüre alınmıştır. Böcek yetiştirme odaları çalışma süresince  $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de sıcaklık, % 50–65 orantılı nem ve 16/8 saat aydınlık/karanlık koşullara sahip olmuştur.

*Tetranychus urticae*'nin standart hassas GSS popülasyonu Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünden temin edilmiştir.



Şekil 3.1 Örneklemeye yapılan pamuk tarlası (Harran/Şanlıurfa)

Çizelge 3.1 Aydın, Adana, Şanlıurfa ve Diyarbakır illerinde toplanan *Tetranychus urticae* popülasyonlarına ait bilgiler

Popülasyon no	Örnekleme yapılan lokasyonlar (Mahalle/İlçe/İl)	Toplama tarihi	Renk
1	Belenli / Çınar / Diyarbakır	02.06.2019	Kırmızı - Yeşil
2	Belenli / Çınar / Diyarbakır	02.06.2019	Yeşil
3	Nazilli / Aydın	05.06.2019	Kırmızı
4	Nazilli / Aydın	05.06.2019	Kırmızı
5	Harran / Şanlıurfa	13.06.2019	Kırmızı
6	Harran / Şanlıurfa	13.06.2019	Kırmızı
7	Yardımcı Köyü / Şanlıurfa	13.06.2019	Kırmızı
8	Karaali / Şanlıurfa	13.06.2019	Kırmızı
9	Helvacı Yakını / Karataş/ Adana	23.06.2020	Kırmızı
10	SolaklıCumhuriyet/ Yüreğir / Adana	23.06.2020	Kırmızı
11	Nazımbey / Ceyhan / Adana	24.06.2020	Kırmızı
12	Ceyhan / Adana	24.06.2020	Kırmızı
13	Toktamış / Ceyhan / Adana	24.06.2020	Yeşil
14	Yeşilbahçe / Ceyhan / Adana	24.06.2020	Yeşil
15	Çevretepe / Ceyhan / Adana	24.06.2020	Kırmızı
16	Çevretepe / Ceyhan / Adana	24.06.2020	Kırmızı
17	Çukurkamış / Karataş / Adana	23.06.2020	Kırmızı
18	Çekçek / Haliliye/ Şanlıurfa	25.06.2020	Kırmızı - Yeşil
19	Haliliye / Şanlıurfa	25.06.2020	Kırmızı - Yeşil
20	Kıyas / Haliliye / Şanlıurfa	25.06.2020	Kırmızı
21	Yeşiltepe / Haliliye / Şanlıurfa	25.06.2020	Kırmızı
22	Akören / Eyyübiye / Şanlıurfa	25.06.2020	Kırmızı
23	Akören/ Eyyübiye / Şanlıurfa	25.06.2020	Kırmızı
24	Bakırtaş / Eyyübiye / Şanlıurfa	25.06.2020	Yeşil
25	Karataş / Çimeli / Adana	27-31. 07.2020	Yeşil
26	Yemişli / Adana	27-31. 07.2020	Yeşil
27	Şükürlü / Çınar / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Yeşil
28	Akçomak / Çınar / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Kırmızı
29	Aralık / Bismil / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Kırmızı
30	Aktepe / Çınar / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Kırmızı
31	Tepe / Bismil / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Yeşil
32	Şükürlü / Çınar / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Yeşil
33	Babahaki / Bismil / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Yeşil
34	İncirtepe / Çınar / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Kırmızı
35	Türkmenhacı / Bismil / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Kırmızı
36	İsalı/bismil / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Yeşil
37	Dumlupınar / bismil / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Kırmızı
38	Aralık/Bismil / Diyarbakır	27-31. 07.2020	Yeşil
39	Efeler / Aydın	06.08.2020	Kırmızı
40	Efeler / Aydın	06.08.2020	Kırmızı
41	İncirlioiva / Aydın	06.08.2020	Yeşil
42	İncirlioiva / Aydın	06.08.2020	Yeşil
43	İncirlioiva / Aydın	06.08.2020	Kırmızı
44	Germencik / Aydın	06.08.2020	Yeşil
45	Germencik / Aydın	06.08.2020	Yeşil
46	Germencik / Aydın	06.08.2020	Yeşil

Akarların toplandığı yer, tarih ve renkleri kaydedilmiştir (Çizelge 3.1). Toplanan popülasyonların tamamı T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü ve A.Ü. Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde temiz fasülye bitkisi üzerine alınarak popülasyonların kültürü devam ettirilmiştir. Toplanan popülasyonlar böcek yetiştirme odalarında  $26 \pm 1$  °C 'de sıcaklık, 16 – 8 saat aydınlık/karanlık koşullarına sahip iklim odalarında temiz fasülye bitkisi üzerine alınarak yetiştirilmiştir. Hassas popülasyonlar 2016 yılında Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma bölümünden temin edilmiştir.

### 3.2.2 Laboratuvar çalışmaları

#### 3.2.2.1 Temiz bitki yetiştirilmesi

Temiz bitkilerin yetiştirilmesi için önce toprak karışımı hazırlanmıştır. Perlit (3x), vermikülit (3x) ve torftan (4x) oluşan toprak karışımına ekilen fasülyelerin çıkışı 4 gün içinde gerçekleşmiştir. Ekimler 4 günde bir 12 küvet (1 küvet=7 saksı) olacak şekilde düzenlenmiştir. İklim odası çalışma süresince  $26 \pm 1$  °C sıcaklık, 16/8 saat aydınlık/karanlık koşullarda çalıştırılmıştır (şekil 3. 2).



şekil 3.2 Temiz fasülye bitkilerinin yetiştirilmesi

### 3.2.2.2 Pamuk üretim alanlarından temin edilen popülasyonların kültüre alınması

Araziden toplanan ve *T. urticae* ile bulaşık pamuk yaprakları, plastik küvetlerde içerisinde su bulunan fasülye bitkisi üzerine konularak, akarların temiz bitkilere geçişi sağlanmıştır. Popülasyonlar, bulaşmaları önlemek için, belli bir seviyeye kadar su ile doldurulmuş biri büyük diğeri küçük iç içe iki küvetten küçük olan küvet içindeki fasülye saksılarında sürdürülmüştür. Dıştaki büyük küvetin üst kısmına ve büyük küvetlerin konulduğu zeminde küvetler arasındaki alanlara bulaşmaları önlemek için vazelin uygulanmıştır. *T. urticae* kültürleri  $26 \pm 1$  °C 'de sıcaklık, 16 – 8 saat aydınlık karanlık koşullarına sahip iklim odalarında fasülye bitkisi üzerinde çoğaltılmıştır (Şekil 3. 3).



Şekil 3.3 Böcek yetiştirme odasında kültüre alınan akarların yetiştirme küvetleri

### 3.2.2.3 Akarların teşhisi ile ilgili çalışmalar

Akar teşhisleri morfolojik ve moleküler olarak yapılmıştır. Morfolojik teşhislerde (Düzgüneş 1980) pamuk alanlarından toplanan akarlar preparat haline getirilmiştir. Bu amaçla Syracuse cam kabına dökülen % 90 laktik asit içerisinde erkek ve dişi akarlar etüvde oda sıcaklığında bekletilmiştir. Akarların renginin açıldığı görüldükten sonra, lamelin üzerine hoyer ortamı (damıtık su 50cc, arapzankı 30 gr, kloralhidrat 200 gr ve gliserin 20 gr) damlatılarak erkek veya dişi bireyler aktarılmış ve üzerine lam konularak

kapatılmıştır (Zhang 2003). Mikroskop altında vücut şekline pozisyon verilmiştir. Erkek bireyler lateral dişi bireylere ise dorso-ventral ve lateral olarak şekil verilerek, 50 °C 'deki etüve aktarılmıştır. Hazırlanan 2 erkek ve 1 dişi içeren preparatlar etüvde iki hafta bekletilerek, mikroskop altında teşhis edilmeye hazır hale getirilmiştir. Tür teşhisleri Prof. Dr. Sultan ÇOBANOĞLU tarafından Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde Jeppson vd (1975), Pritchard ve Baker (1955) ve Çobanoğlu vd (2015) 'den faydalanılarak erkek bireylerde aedeagus şekilleri, dişi bireylerde ise dorsal chaetotaxy, ventral chaetotaxy, empodium yapıları, peritrem şekli, palpus, tibiada dublex setaların uzunlukları, birbirine oranları ve pozisyonları dikkate alınarak yapılmıştır.

Moleküler çalışmada, kırmızıörümcek 'lerin tür teşhisinde nükleer ITS (Internal Transcribed Spacer) gen bölgesi kullanılmıştır. Bu bölge 1 - 3 baz nükleotit 'de 18S ribozomal RNA, 4 - 510 baz nükleotit 'de ITS1, 511 - 660 baz nükleotit 'de 5.8S RNA, 661 - 1.141 baz nükleotit 'de ITS2 ve 1.142-1.163 baz nükleotit 'de 28S RNA kısımlarını kapsamaktadır (Ge vd. 2013). Kullanılan F ve R primerler Çizelge 3.2 'de verilmiştir (Navajas vd. 1999).

Çizelge 3.2 Teşhis işleminde kullanılan ITS primerleri (Navajas vd. 1999)

Primer adı	Primer çifti nükleotid uzunluğu	Primer dizisi (5'-3')	Fragment uzunluğu (b.ç.)
TuITS F	24	AGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAG	1200
TuITS R	20	ATATGCTTAAATTCAGGGGG	1200

Teşhis için kullanılan yöntemde toplamda 30 µl 'lik hacimde PCR mix hazırlanmıştır. Bunun 6 µl 'sini mastermix (MgCl<sub>2</sub>, Taq DNA polimeraz, tampon çözelti (Tris-HCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Tween-20), dNTP), 0.5 µl 'sini F ve R primerler, 21 µl su, en son olarak DNA 'lardan 2 µl konulmuş ve PCR mix bu şekilde hazırlanmıştır. Örnekler PCR 'da 94 °C 'de 4 dk. boyunca denatüre edilmiş ve ardından 35 defa 1dk 93 °C 'de ayrılma 1 dk. 50 °C 'de bağlanma ve 1dk. 72 °C 'de uzama yaptırılarak çoğaltılmıştır (Navajas vd. 1999).

Daha sonra, PCR 'dan çıkan örnekler önceden hazırlanan % 1.5 agaroz jelde (100 ml tampon, 1.5 gr agaroz) koşurulmuştur. Birinci kuyucuğa (5 µl) ladder (100-1500 b.ç.), diğer kuyulara ise 5 µl 'lik PCR ürünleri yüklenmiştir ve 100 V 'ta 45 dk. boyunca koşurulmuştur. Jelde 1000 ile 1200 baz arası bant veren ürün UV transilluminator cihazı ile görüldükten sonra geri kalan PCR ürünü pürifikasyon ve sekans analizi için BMLab firmasına gönderilerek hizmet alımı gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.3 Biyoassay çalışmaları

#### 3.2.3.1 Denemede kullanılan akarisit konsantrasyonlarının hazırlanması

Pestisit konsantrasyonları saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Her bir popülasyon için ön çalışmalar yapılarak (1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm aralıkları) konsantrasyonlar belirlenmiştir. Çalışmada kontrol grubuna sadece saf su uygulanmıştır.

Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan akarisitlere ait bilgiler

Etken madde	Etken madde oranı (g/l)	Formülasyon şekli	Ruhsat tarihi	Etki mekanizması
abamectin	18	EC	1991	Glutamat kapılı klor kanalı allosterik düzenleyicisi
bifenazate	240	SC	2007	Mitokondriyal elektron taşıma engelleyicisi-3
tebufenpyrad	200	WP	1996	Mitokondriyal elektron taşıma engelleyicisi-I

### 3.2.3.2 Kullanılan akarisitlere ait genel özellikler

Tebufenpyrad (Çizelge 3.3) 1987'de Mitsubishi Kasei tarafından keşfedilen ve 1992'de ticarileştirilen bir pyrazol bileşiğidir. Bu grup kimyasallar, METI olarak bilinen mitokondride elektron taşıma engelleyici (METI) grup şeklinde ortaya çıkmıştır. Pyrazol grubunda keşfedilen ikinci bileşiktir (Kyomura vd. 1990). Akarların tüm dönemlerine karşı geniş bir akarisidal aktiviteye sahiptir. Bunun haricinde yaprakbitlerine, beyazsineklere, thrips ve yaprakpirelerine karşı da etkilidir (Inoue ve Fukuchi 1994). Akar predatörlerine karşı iyi bir seçicilik gösterir. Memeli toksisitesi düşük ve topraktaki kalıcılığı (DT<sub>50</sub> 30 gün) orta düzeydedir. Kompleks 1 sınıfındaki etki mekanizmasına ait bir bileşiktir (Hollingworth ve Ahammadsahib 1995). Bu gruba ait kimyasal bileşikler 1991-1993 yılları arasında fenpyroximate (pyrazole-oxime), tebufenpyrad (pyrazole-carboxamide), pyridaben (pyridazinone) ve fenazaquin (quinazoline) olarak piyasaya sürülmüştür (Dekeyser 2005, Marcic 2012). METI 1 grubu olarak bilinen bu bileşikler, uzun süreli etkiye sahip geniş spektrumlu akarisitlerdir. Bu akarisitler 1107/2009 (AB 2011) sayılı yönetmeliğe göre onay almıştır. Fenpyroximate ayrıca EPA (Birleşmiş Milletler Çevre Koruma Örgütü 2011) 'da düşük riskli ve organikfosforllulara alternatif pestisitler listesinde yer almaktadır (Marcic 2012).

IRAC sınıflandırmasında 21. grupta A sınıfında yer alan, mitokondriyal kompleks 1 elektron taşıma inhibitörü olarak tanımlanmıştır. Enerji metabolizmasında etki gösterir. Renksiz kristallerden oluşur. Moleküler ağırlığı 333.90 g/mol'dür. En iyi çözücüleri hexan (255 g/l), toluene (772 g/l), dichloromethane (1044 g/l), aseton (819 g/l), acetonitrile (785 g/l) ve methanol (818 g/l)'dür. Sistemik olmayan bir akarisit olup, kontakt ve yeme yoluyla etkilidir. Translaminar etki göstermektedir. Kırmızıörümceklerde, pamuk bitkisinde larva, nimf ve ergine etkilidir (E pesticide manual 2011, Anonymous 2021f, Anonymous 2021g).

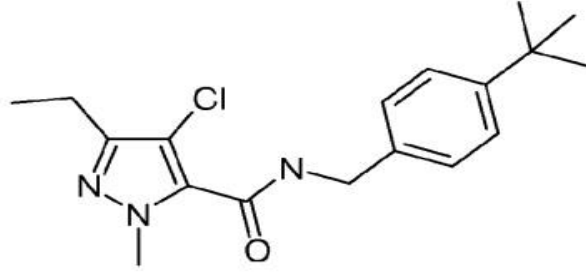
### Toksikoloji, ekotoksikoloji ve çevresel akıbeti

Akut oral dişi sıçanlarda LD<sub>50</sub> =997 mg/kg, Akut dermal sıçanlarda LD<sub>50</sub>> 2000 mg/kg, tavşanlarda cilt ve göz tahrişi yoktur. İnhalasyon sıçanlarda LC<sub>50</sub> > 3090 mg/m<sup>3</sup>. Mutajenik değildir (E pesticide manual 2011, Anonymous 2021g, Anonymous 2021h). Kuşlarda beyaz bıldırcın akut oral LD<sub>50</sub> > 2000 mg/kg, balıklarda gökkuşağı alabalığı (96saat) LC<sub>50</sub> = 0.030 mg/l. Su piresi *Daphnia* sp. (48 saat) EC<sub>50</sub> = 0.046 mg/l. Alglerde (72 saat) E<sub>b</sub>C<sub>50</sub> = 0.54 mg/l. Balarılarını için düşük toksisiteye sahiptir. Toprak solucanları (14 gün) LC<sub>50</sub> = 68 mg/kg (E pesticide manual 2011, Anonymous 2021g, Anonymous 2021h). Hayvanlarda (24 saatte % 80'den fazla) hızla emilir, vücutta büyük ölçüde hidroksile ve karboksilatlı ürünlere metabolize edilir. Vücuttan 7 gün içinde % 90'ı hızla atılır. Toprakta yarılanma DT<sub>50</sub> 19-56 gündür. Suda fotoliz pH 7'de DT<sub>50</sub> 187 gündür (Anonymous 2021g, Anonymous 2021h).

Çizelge 3.4 Tebufenpyrad 'ın ruhsatlandığı ürün ve zararlılar ile son ilaçlama süresi ve hasat arası bekleme süresi (Anonim 2019c)

Zararlı	Ruhsat aldığı ürünler	Son ilaçlama ve hasat arası bekleme süresi (Gün)	*MRL değerleri mg/kg	Ruhsatlı Doz (mg/L)
<i>Cacopsylla pyri</i>	Armut	7	0.20	200
<i>Pananyhus ulmi</i>	Elma	7	0.20	60
<i>Tetranychus spp.</i>	Karanfil	7	0.10	120
<i>Tetranychus spp.</i>	Pamuk	7	0.05	120
<i>Tetranychus spp.</i>	Hıyar	7	0.30	80
<i>Tetranychus spp.</i>	Gül	7	0.10	120
<i>Tetranychus spp.</i>	Bağ	7	0.50	100
<i>Tetranychus spp.</i>	Fasülye	7	1	150
<i>Tetranychus spp.</i>	Çilek	7	1	120
<i>Tetranychus spp.</i>	Domates (tarla)	7	0.80	150
<i>Pananyhus citri</i>	Narenciye	7	0.60	40

\*Maksimum kalıntı miktarı



Şekil 3.4 Tebufenpyrad molekül yapısı ve kapalı formülü  $C_{18}H_{24}ClN_3O$ 'dur. (Anonymous 2021g)

#### Bifenazate etken maddesine ait bilgiler

Bifenazate (D2341, N'-(4-metoksi-bifenil-3-yl) hidrazinkarboksilik asit izopropil ester), 1990 yılında Uniroyal Chemical tarafından keşfedilmiş hidrazin türevi grubuna ait yeni bir hidrazin karbazat bileşiğidir (Çizelge 3.3). Dünyada ilk olarak 1999 yılında Crompton şirketi tarafından ruhsatı alınarak piyasaya sürülmüştür. Kontakt etki ile hızlı knockdown görülür (Dekeyser vd. 1996, Dekeyser 2005, Grosscurt ve Avella 2005, Van Leeuwen vd. 2009). Akarların hareketli dönemlerine ve aynı zamanda yumurta gibi sabit dönemine karşıda etkili bulunmuştur. Laboratuvar çalışmaları bifenazate 'ın predatör akarları etkilemediğini göstermiştir (Kim ve Yoo 2002). Düşük memeli toksisitesine ( $LD_{50}=5000\text{mg/kg}$ ) sahip ve çevrede kalıcılığı ( $DT_{50} < 1\text{gün}$ ) kısa olan (Dekeyser 2005), METI 3 (kompleks 3 'te yer alan) grubu D sınıfında bulunur. Mitokondride kodlanmış sitokrom b 'nin Qo bölgesine etkili yeni bir akarisitir (Van Leeuwen vd. 2009, Van Leeuwen vd. 2010). Çevrede kalıcılığı kısa ve memelilere düşük riskli olan bifenazate ilk çıktığında nörotoksin olarak görülmüş, daha sonra yeni çalışmalar (Van Leeuwen vd. 2008, Van Nieuwenhuysse vd. 2009) ile hedef bölge olarak kompleks III 'ü gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda mitokondriyal sitokrom b (cytb) bölgesi mutasyonu ve Qo cytb kompleks 3 elektron taşıma bölgesi ile ilişkili olduğu ve bu maddeninde mitokondride sitokrom bc1 yapısını engelleme etkisi gösterdiği bulunmuştur. Cytb ubihidrokinon: sitokrom c oksiredüktaz enzim kompleksinin bir parçası olup (bc1 veya kompleks3), protonların bölgesel olarak bulunduğu alanda hassas popülasyon ile dirençli popülasyonun sekansları hizalandırılmış, dirençli popülasyonda mutasyonların korunmuş Qo protein bölgesinde ve özellikle cd1 sarmalında (helix) olduğu görülmüştür (Van

Leeuwen vd. 2009). Dolayısıyla bifenazate 'ın Qo inhibitörü olarak davrandığı ortaya konmuştur (Lümmen 2007, Van Leeuwen vd. 2008, Van Leeuwen vd. 2009). Bu ester bağının hidrolizi yoluyla yani koparılarak aktif edilen bir pro-akarisitir (Van Leeuwen ve Tirry 2007). Bifenazate'in pro-akarisit olmasından dolayı akarlarda etkili olabilmesi için önce ester hidrolizine maruz kalması gerekmektedir (Van Leeuwen vd. 2010). Bifenazate, düşük riskli pestisit olarak sınıflandırılır ve EPA (Birleşmiş milletler çevre koruma örgütü) 1107/2009 sayılı yönetmelik kapsamında onaylanmıştır (Marcic 2012).

IRAC sınıflandırmasında 20. grupta D sınıfında yer alır. Mitokondriyal kompleks 3 elektron taşıma inhibitörü olarak tanımlanmıştır. Enerji metabolizmasında elektron taşınmasını inhibe ederek etki gösterir. Beyaz kokusuz kristallerden oluşur. Bifenazate'ın moleküler ağırlığı ise 300.40 g/mol 'dür. En iyi çözücüsü asetonitril (95.60 g/l), ethyl asetat (102 g/l) ve methanol (44.70 g/l)'dir. Sistemik olmayan kontakt ve kısa kalıcılık etkisi gösterir. Kırmızıörümceklerde, pamuk bitkisinde larva, nimf ve ergine etkilidir (e-pesticide manual 2011, Van Leeuwen vd. 2015).

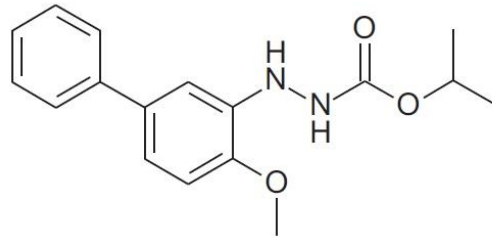
#### Toksikoloji, ekotoksikoloji ve çevredeki akıbeti

Akut oral sıçanlarda  $LD_{50} > 5000$  mg/kg, Akut dermal sıçanlarda  $LD_{50} > 5000$  mg/kg tavşanlarda hafif cilt tahrişi yapar. İnhalasyon sıçanlarda  $LC_{50} > 4.4$  mg/l. Ames testinde mutajenik değildir. Tavşan denemelerinde teratojenik değildir. Sıçanlarda karsinojenik olmadığı açıklanmıştır (Anonymous 2021c, Anonymous 2021d). Kuşlarda beyaz bıldırcın akut oral  $LD_{50} = 1142$  mg/kg, mavi güneş balığı  $LC_{50} = 0.58$  mg/l. Su piresi *Daphnia* sp. (48 saat)  $EC_{50} = 0.50$  mg/l, Alglerde (72 saat)  $E_bC_{50} = 0.30$  mg/l. Balarılarını oral (48 saat)  $LD_{50} > 100$  µg/arı, toprak solucanlarında (14 gün)  $LC_{50} > 1250$  mg/kg 'dır. Bazı faydalı (*Chrysoperla carnea* Stephens, 1836 (Neuroptera: Chrysopidae), *Encarsia formosa* Gahan, 1924 (Hymenoptera: Aphelinidae) organizmalara zararsızdır (e-pesticide manual 2011, Anonymous 2021c, Anonymous 2021d). Hayvanlarda dozun çoğu dışkı ile atılır. Sistemik olmayan ürün mahsul yüzeyinde kalır ve çoğunlukla metabolize edilmez. Aerobic topraklar  $DT_{50} = 7$  saat, anaerobic  $DT_{50} < 1$  gün, Fotoliz  $DT_{50} = 17$  saat (25 °C, pH5 ) (e-pesticide manual 2011, Anonymous 2021c, Anonymous 2021d).

Çizelge 3.5 Bifenazate 'ın ruhsatlandığı ürün ve zararlılar ile son ilaçlama ve hasat arası bekleme süresi (Anonim 2019c)

Zararlı	Ruhsat aldığı ürünler	Son ilaçlama ve hasat arası bekleme süresi (Gün)	*MRL değerleri mg/kg	Ruhsatlı doz (mg/L)
<i>Tetranychus urticae</i>	Karanfil	1	0.05	144
<i>T. urticae</i>	Pamuk	42	0.30	144
<i>T. urticae</i>	Hıyar	1	0.50	144
<i>T. urticae</i>	Biber	1-3	3	144
<i>T. urticae</i>	Bağ	14	0.01	144
<i>T. urticae</i>	Patlıcan (sera)	1	0.50	144
<i>T. urticae</i>	Çilek	1	3	144
<i>T. urticae</i>	Domates (tarla, sera)	1	0.50	144
<i>Pananychus citri</i>	Portakal	14	0.90	192

\*Maksimum kalıntı miktarı



Şekil 3.5 Bifenazate molekül yapısı ve kapalı formülü C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 'dur (Van Leeuwen vd. 2015).

#### Abamectin etken maddesine ait bilgiler

Avermektinler ve milbemisiner makrosiklik laktonlar sınıfına aittir ve toprak mikroorganizmaları *Streptomyces avermitilis* (Streptomycetales: Streptomycetaceae) ve *Streptomyces hygroscopicus* (Streptomycetales: Streptomycetaceae)'tan türetilerek elde edilir (Van Leeuwen vd. 2010). Toprak aktinomisetlerinden izole edilen, makrosiklik lakton olan abamectin (avermektinler B1a ve B1b karışımı) *S. avermitilis*'in fermentasyon

ürünüdür (Marcic 2012). Mikrobiyolojik kökenli bir böcek öldürücüdür. Piyasaya 1980'lerin sonunda ve 1990'ların başında sürülen bu ürün, kırmızıörümcek'lere ve eriyofid akarlara karşı etkili nörotoksik bir akarisitir (Marcic 2012). Abamectin'in % 80 B<sub>1a</sub> ve % 20'yi geçmeyen B<sub>1b</sub>'nin avermectin bileşiminden oluşmaktadır (Anonymous 2020a, Anonymous 2011). Etkili bir akarisit olup ve çoğunlukla  $\gamma$ -aminobütrik asit (GABA) ve glutamat kapılı klor kanallarında duyarsızlık şeklinde etki gösterirler (Van Leeuwen vd. 2010). Klor kanalı aktivatörüdür. Akarlarda klor kanalının elektrik aktivitesinin aktarılmasını engeller (Anonymous 2011). Abamectin 1107/2009 sayılı Yönetmelik kapsamında Avrupa Birliğinde 2011'de onaylanmıştır (Marcic 2012).

IRAC sınıflandırmasında 6. grupta yer alan Glutamat kapılı klor kanalları düzenleyici olarak tanımlanmıştır. Sinir ve kaslarda etki gösterir. Renksiz soluk sarıya doğru değişen kristallerden oluşur. Avermectin B<sub>1a</sub> 873.10 moleküler ağırlık (mw.), Avermectin b<sub>1b</sub> ise 859.1 mw sahiptir. Abamectin'inin moleküler ağırlığı ise 1732.10 g/mol'dür. Doğal olarak oluşan bir toprak Actinomiseti olan *S. avermitilis*'in fermentasyonundan izole edilmiştir. B<sub>1a</sub> ve b<sub>1b</sub>'nin belli oranlarda karışımından oluşur. İnhibitör bir nörotransmitter olan  $\gamma$ -aminobütrik asit salınımını uyararak hareket eder ve böylece klor kanallarını aktive eder. Kontakt temas veya mide zehiri etkilidir. İnsektisit, akarisit ve nematisit özelliği vardır. Bitkilerde sınırlı sistemik etkiye sahip, genel olarak translaminar hareket sağlar. Yaprak galeri sinekleri, nematodlar, akarlar, patates böceği, emici sinek ve böcekler vb. zararlıların mücadelesinde kullanılır. Pamuk bitkisinde kırmızıörümceklerin yumurta, larva, nimf ve erginlerine etkilidir (E pesticide manual 2011, Anonymous 2021e, Anonymous 2021f).

#### Toksikoloji, ekotoksikoloji ve çevredeki akıbeti

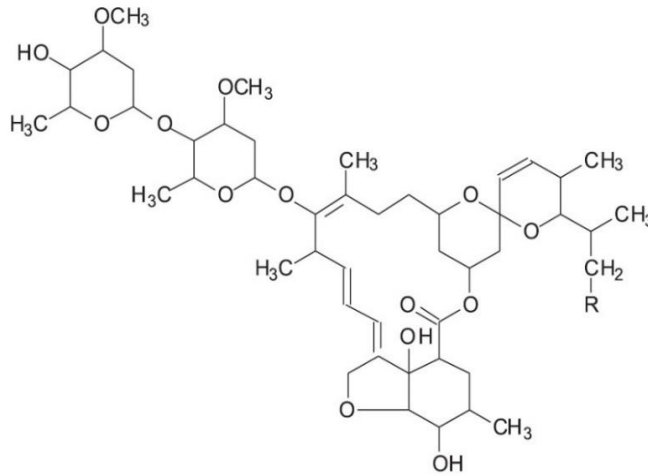
Akut oral sıçanlarda LD<sub>50</sub> = 10 mg/kg, akut inhalasyon LC<sub>50</sub> = 1100 mg/m<sup>3</sup> (1100 mg/kg), deri de hassasiyet çalışması tavşanlarda LD<sub>50</sub> > 2000 mg/kg şeklindedir. Orta derecede tavşanlarda göz tahrişi yapar (E pesticide manual 2011, Anonymous 2021e, Anonymous 2021f). Kuşlarda akut oral LD<sub>50</sub> = 84.60 mg/kg. Gökkuşuğu alabalığında LC<sub>50</sub> = 3.20 ug/l. Su piresi *Daphnia* sp. (48 saat) EC<sub>50</sub> = 0.61 ppb, Alglerde (72 saat) EC<sub>50</sub> = 100 mg/l'dir. Balarılarında toksiktir LD<sub>50</sub> > 100  $\mu$ g/arı. Toprak solucanlarında (28 günlük) LC<sub>50</sub> = 28 mg/kg toprak'dır (Anonymous 2021e, Anonymous 2021f). Bozunma (parçalama) /

metabolizma fotoliz yolu ile bitki yüzeyinde parçlanır. Toprak mikroorganizmaları tarafından hızlı bir şekilde bozundurulur ve toprağa sıkıca bağlanır. Biyoakümülyasyon (doğada birikme) yoktur. Hayvanlarda dışkı yoluyla (96 saat içinde) % 80 - 100 arasında atılır (Anonymous 2021e, Anonymous 2021f).

Çizelge 3.6 Abamectin'in ruhsatlandığı ürün ve zararlılar ile son ilaçlama ve hasat arası bekleme süresi (Anonim 2019c)

Zararlı	Ruhsat aldığı ürünler*	Son ilaçlama ve hasat arası bekleme süresi (Gün)	*MRL değerleri mg/kg	Ruhsatlı doz (mg/L)
<i>Pananychus ulmi</i>	Elma	7	0.03	13.5
<i>Cacopsylla pyri</i>	Armut	-	0.03	13.5
<i>Agonoscena pistaciae</i>	Antepfıstığı	7	0.01	18
<i>T. urticae</i>	Biber (sera)	3	0.07	4.5
<i>T. urticae</i>	Hıyar (sera)	3	0.04	4.5
<i>T. urticae</i>	Domates	3	0.09	4.5
<i>T. urticae</i>	Çilek	3	0.15	4.5
<i>T. urticae</i>	Patlıcan (sera)	3	0.09	4.5
<i>T. urticae</i>	Pamuk	21	0.01	9
<i>T. urticae</i>	Turunçgiller	7	0.015	-
<i>Liriomyza trifolii</i>	Turunçgiller	7	0.015	4.5

\*Maksimum kalıntı miktarı



Şekil 3.6 Molekül yapısı ve kapalı formülü C<sub>95</sub>H<sub>142</sub>O<sub>28</sub>'dur (Kolberg vd. 2009).

### **3.2.3.3 Kullanılan bitki koruma ürünlerinin etki mekanizması**

Glutamat kapılı klor kanalları düzenleyici GluCl (abamectin, emamectin benzoate, lepimectin, milbemectin) ve mitokondriyal elektron taşıma inhibitörleri METI 1 (fenazaquin, fenpyroximate, pyridaben, pyrimidifen, tebufenpyrad, tolfenpyrad) ve METI 3 (bifenazate, fluacrypyrim, acequinocyl, hydramethylnon) gurubu akarisit ve insektisitlerin etki şekli akarlar ve böceklerde benzer şekildedir. Kısaca elektron taşıyıcılara etki şekli yani etki mekanizması; Mitokondriyal solunum yolunda kompleks 1 ve 3 (NADH- : ubikuinon oksidoredüktaz ve sitokrom C redüktaz) bölgelerinde, ilgili elektron taşıma partiküllerinin bir alt ünitesine bağlanarak inhibe etmesi şeklindedir (Van Pottelberge vd. 2009a).

Glutamat kapılı klor kanallarına etkili olan abamectin, emamectin benzoate, lepimectin, milbemectin gibi klor kanallarının yüksek dozda aktivasyonuna neden olur. Bunun sonucunda sinir ve kas hücrelerindeki uyarıların iletilmesini engeller yani iletim dengesini bozar (Casida 1993, Simon 2014). Etkenin hedef bölgedeki reseptöre tutunması ile kanalların açık kalmasına neden olur. Klor kanallarının açık kalmasından dolayı hücre içerisine bol miktarda klor veya sodyum ve kalsiyum iyonlarının girmesi ile sonuçlanır. Klor iyonunun girmesi ile içeride negatiflik artar ve iletimi engeller. Sodyum ve kalsiyum iyonların girmesi durumunda ise aşırı pozitif yüklü ortam oluşumundan kaynaklı uyarıların sinir sisteminde sürekliliğine neden olur. Kontrolsüz bir şekilde hücre içine akışı devam eden iyonlar, hiper polarizasyon (aşırı kutuplaşma)'a yol açar (Wang ve Pong 1982, Casida 1993, Gant vd. 1998). Bu kutuplaşma sinir hücrelerinde meydana gelen herhangi uyarının iletilmemesine neden olarak uyarıları baskılar. Uyarıların baskılanması ile akarlar hareketsizleşir (Daş ve Aksoy 2016). Bu ise paralize veya ölüme sebep olur.

### **3.2.3.4 Ayırıcı doz ve lethal konsantrasyonlarının belirlenmesi**

Çalışmanın ilk basamağı olarak, tez kapsamında kullanılan her üç akarisit için ayırıcı dozlar belirlenmiştir. Bu dozların belirlenmesi için Herron ve Rophail (1998) tarafından belirlenen metod modifiye edilerek kullanılmıştır.

Ayırıcı doz belirleme çalışması referans hassas bir laboratuvar popülasyonu olan ve 2001 yılında itibaren ülkemizde yetiştirilmeye devam edilen GSS (German susceptible strain) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her üç akarisit için GSS popülasyonun LC<sub>99</sub> değerleri belirlenmiştir ve bu dozlar tüm popülasyonlara uygulanmıştır. Ayırıcı doz uygulanan popülasyonlarda % 80' den az ölüm oranına sahip olanlar ile tam doz denemeler kurularak LC<sub>50</sub> değerleri tespit edilmiştir. LC<sub>50</sub> değerlerinin belirlenmesinde IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) tarafından önerilen toksisite deneme düzeni kullanılmıştır. Ayırıcı doz çalışmasında % 80 üzerinde ölüm oranlarına sahip popülasyonlarda ise, ölüm oranları kayıt edilmiştir.

Toksisite denemeleri IRAC Metot 004 'e göre modifiye edilerek yapılmıştır (Anonymous 2020b). Petri kabının alt kısmında ıslatılmış pamuk ve onun üzerinde yuvarlak kesilmiş olan fasulye yaprağı yerleştirilmiştir. Akarların kaçmasını engellemek için yaprağın kenarları kağıt havlu kesilerek kapatılmıştır (Şekil 3.7). Kesilmiş fasulye yaprağının üzerine 20 - 25 adet ergin (1 – 3 günlük) dişi kırmızıörümcek konulmuş ve akarisit solüsyonları ilaçlama kulesi (Burkard Scientific, İngiltere) ile püskürtülmüştür (Şekil 3.7, 3.8). Püskürtme işlemi 1 bar basınç altında ve toplam 2 ml' lik akarisit solüsyonları (1.75 ± 0.05 mg cm<sup>-2</sup>) uygulanarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.8). Denemeler kontrol hariç en az 5 doz ve her doz için üçer tekerrür ile gerçekleştirilmiştir. Bu farklı dozlar ön denemeler sonucuna göre belirlenmiş ve istatistiki analizler için popülasyonda % 10 - 90 arasında ölüm oranları olan en az 5 farklı doz tespit edilmiştir.

İlaç uygulaması yapılan petriyer çekerocakta kurutulduktan sonra 26 ± 1 °C sıcaklık, % 50 - 65 nem ve 16:8 fotoperiyot koşullarına sahip iklim dolabına konulmuştur (Şekil 3.9). Ölü - canlı sayımları ilaç uygulamasından 24 saat sonra yapılmıştır. Fırça ile dokunulduğunda vücut boyu kadar ilerlemeyen akarlar ölü kabul edilmiştir.



Şekil 3.7 Denemeye hazırlanmış petri ve akar aktarımı



Şekil 3.8 İlaç püskürtmesinde ve kurutulmasında kullanılan ilaçlama kulesi ve çekerocek



Şekil 3.9 İklim dolabına deneme petrilerinin yerleştirilmesi

### 3.2.4 Biyokimyasal çalışmalar

Çalışmamızda üç farklı enzim (esteraz, GST ve P-450) grubuna bakılarak metabolik detoksifikantların etkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır.

### 3.2.4.1 Microplate assay ile toplam karboksilesteraz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Toplam karboksilesteraz enzim aktivitesi tespiti için Stumpf ve Nauen (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. Buna göre popülasyonlara ait kırmızıörümceklerden 20 adet ergin dişi % 0.10 Triton X - 100 içeren 100 µl sodyum fosfat tamponu (0.10 M, pH 7.5) içinde eppendorf tüplerde homojenize edilmiştir. Soğutmalı santrifüjde 10000 g kuvveti döngüsünde ve +4 °C'de 5 dakika santrifüj edilen homojenat saf su ile 10 kat seyreltilerek supernatant enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Supernatant ve 0.20 M fosfat tamponu (pH:6)' dan 25' er µl mikropolanın hücrelerine konulmuştur. Çalışma 200 µl substrat solüsyonunun eklenmesiyle başlatılmıştır. Substrat solüsyonu 30 mg Fastblue RR tuzunun 50 ml 0.20 M sodyum fosfat tamponunda çözülmesi ve bu karışıma 500 µl 100 mM α – naphthylacetate'ın ilavesiyle elde edilmiştir. VERSAmax Kinetik Mikropolaka Okuyucu (Molecular Devices)'da Enzim aktivitesi 25 °C ve 450 nm' de 10 dakika süreyle 3 tekrür olacak şekilde okunmuştur. Kontrol hücreleri ise yine aynı şekilde homojenat yerine tampon konularak okutulmuştur.

Esteraz enzim aktivitesinin hesaplanması ve karşılaştırmasında ekstinsiyon katsayısı bulabilmek için α-naphtol standart eğrisi (şekil 4.4) hazırlanmıştır (Kranthi 2005). Stok solüsyon için 21.63 mg α-naphtol'den alınarak 7.5 ml aseton içinde çözündürülmüştür. Boyama maddesi olarak % 1'lik fast blue BB salt, 0.04 M fosfat tampon içerisinde çözümüştür. Stok çözeltiden alınarak eşit aralıklarla 9 tekrür hazırlanmış ve üzerlerine fosfat buffer ile (0.04 M pH: 6. 8) 1 ml olacak şekilde tamamlanarak standart solüsyon oluşturulmuştur. Kontrol hücrelere yalnızca sodyum fosfat tamponu eklenmiştir. Daha sonra kontrol dahil hazırlanan her tekrürden 1 ml alınıp üzerine 3 ml sodyum fosfat tamponuyla tamamlanmıştır. Okutmaya geçmeden üzerine hazırlanan boya solüsyonundan 1 ml eklenerek versamax kinetik okuyucu içerisinde oda sıcaklığında 20 dk. bekletilmiş ve sonrasında 590 nm'de okutulmuştur.

$$\epsilon \text{ (ekstinsiyon katsayısı)} = 0.0121 \text{ mM/cm}$$

$$[\delta \text{ ( Absorbans )} / \delta \text{ ( Dakika )}] \times [ V_t \text{ ( Toplam örnek) } / V_s \text{ (Konulan örnek)}$$

$$\times \epsilon \times 1 \text{ cm}] \times 10^6 = \text{pmol/min/ml}$$

$$\text{Spesifik aktivitenin hesaplanmasında} = (\text{pmol/min/ml}) / (\text{mg protein / ml})$$

### 3.2.4.2 Glutathion S-transferaz (GST) enziminin kinetik olarak belirlenmesi

GST enziminin kinetik olarak belirlenmesinde Stumpf ve Nauen (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. 30 ergin dişi 300 µl Tris HCL tampon (0.05 M, pH:7.5) içinde homojenize edilmiştir. Supernatant 10000 g, +4 °C'de 5 dk santrifüj edilmiştir. 100 µl supernatant, 100 µl 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) ve 100 µl reduced glutathione (GSH)'dan oluşan toplam hacim mikrolaka hücrelerine konulmuştur. CDNB % 0.10 ethanolde hazırlanmış ve en son konsantrasyonda hücrelerde 0.40 mM CDNB bulunmuştur. Absorbanstaki değişim 340 nm, 25 °C'de ve 5 dk'da 3 tekerrür olacak şekilde okunmuştur. Kontrol hücreleri ise yine aynı şekilde homojenat yerine tampon konularak okutulmuştur.

$\epsilon$  (ekstinsiyon katsayısı) = 8.6 mM/cm (Srigiriraju 2008)

$[\delta (\text{Absorbans}) / \delta (\text{Dakika})] \times [V_t (\text{Toplam örnek}) / V_o (\text{Konulan örnek}) \times$

$\epsilon \times 1 \text{ cm}] \times 10^6 = \text{pmol/min/ml}$

Spesifik aktivitenin hesaplanmasında = ( pmol/min/ml ) / ( mg protein / ml)

### 3.2.4.3 Microplate assay ile Sitokrom P-450 monooksijenaz enziminin aktivitesinin kinetik olarak belirlenmesi

Sitokrom P-450 monooksijenaz enziminin belirlenmesinde Hansen ve Hodgson (1971) uygulamış olduğu metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Buna göre 150 adet ergin dişi birey 1.50 ml eppendorf tüp içinde 500 µl % 0.10 triton X-100 içeren fosfat tampona (0.10 M pH:7.5) içinde plastik ezici ile homojenize edilmiştir. Süpernatant 10000 g'de, +4 °C'de ve 5 dk santrifüj edilmiş, üstte kalan supernatant kullanılmıştır. Mikrolaka hücrelerinin herbirine 90 µl enzim kaynağı, substrat olarak 100 µl 2 mM p-nitroanisole (PNOD) ilave edilerek karıştırılmıştır. Daha sonra 30 °C 'de 15 dk inkübe edilerek üzerine 10 µl (9.6 mM) NADPH ilave edilmiş ve reaksiyona başlanılmıştır. Enzim aktivitesi mikroplate okuyucuda 27 °C ve 405 nm dalga boyunda 10 dakika boyunca 10 saniye aralıkla ölçülmüştür. Kontrol hücreleri ise yine aynı şekilde homojenat yerine tampon konularak okutulmuştur.

$\epsilon$  (ekstinsiyon katsayısı) = 3.32 mM/cm (Srigiriraju 2008)

$[\delta (\text{Absorbans}) / \delta (\text{Dakika})] \times [V_t (\text{Toplam örnek}) / V_o (\text{Konulan örnek}) \times$

$\epsilon \times 1 \text{ cm}] 10^6 = \text{pmol/min/ml}$

Spesifik aktivitenin hesaplanmasında = ( pmol/min/ml ) / ( mg protein / ml)

### 3.2.5 Moleküler çalışmalar

#### 3.2.5.1 Total DNA ekstraksiyonu

DNA izolasyonu için Qiagen Blood and Tissue kiti kullanılmıştır. Kitte belirtilen şekilde ve modifiye edilerek deneme hazırlanmıştır. Buna göre, 1.5 ml 'lik eppendorf tüp içerisine alınan 150 *T. urticae* dişi bireyi üzerine 180 µl ATL tampon konularak homojenizatör çubuk ile akarlar ezilmiştir. Ardından 20 µl Proteinaz K enzimi ekledikten sonra vortekslenip, hafifçe spin yapılarak bir gece kuru blok ısıtıcıda 56 °C 'de bekletilmiştir. Karışım 24 saat beklemiş ve üzerine 200 µl AL tampona eklenip vortekste çalkalandıktan sonra 200 µl ethanol (% 96 - 100) ilave edilerek döndürülmüştür (spin). Bu karışım yeni 2 ml 'lik collection tüplere aktarılmıştır. Ardından 8000 rpm 'de 1 dk. boyunca santrifüjden geçirilmiştir. Santrifüjden alınan tüplerin alt parçası temizleri ile değiştirilmiştir. Yine bu tüplerin üzerine 500 µl AW1 tampon eklendikten sonra tekrar 8000 rpm 'de 1 dk santrifüjlenmiştir. Tekrar alttaki tüpler değiştirilerek bu sefer üzerine 500 µl AW2 tampon eklenmiş ve 14000 rpm 'de 3 dk. boyunca santrifüjden geçirilmiştir. Daha sonra santrifüjden çıkan tüplerin üzerine 200 µl AE tampon eklendikten sonra 1 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından son kez altına 1.50 ml 'lik yeni eppendorf tüpler konularak bu sefer 8000 rpm 'de 1dk. santrifüjlenmiştir. Elde edilen DNA 'lar PCR işlemlerinde kullanılmak üzere -20 °C 'deki derin dondurucuda saklanmıştır.

#### 3.2.5.2 Hedef bölge mutasyonlarının taranması

Mutasyonlar DNA ya da kromozomların yapısında meydana gelen değişiklikler veya değişiklik oluşturan baz değişimi temelli olaylar sonucudur.

Elde ettiğimiz popülasyonların DNA 'ları (-20 °C) ve sipariş edilen aşağıda çizelgede (Çizelge 3.7) verilen primerler, ürün veya mix ve koşulları üretici firmanın kullanım

önerisi doğrultusunda ve/veya değiştirilerek (Çizelge 3.8, 3.9, 3.10, 3.11) PCR yapılmıştır.

Sekansa gönderilecek PCR ürünlerinin NCBI gen bankası ile eşleştirildiğinde dizilimdeki farklılığın görülebilmesi için gelen sekansın hatasız olması beklenir. Bu yüzden çalışmamızda herhangi bir aksilik oluşturmaması için hem mix hemde ürün şeklinde iki yönlü çalışılmıştır. GluCl ve PSST bölgelerine PCR ürünü hazırlamak için Mastermix'ten ve üründen yola çıkılarak hazırlanmıştır. Bu aşamada üründen yola çıkacak olursak 1 PCR üründe 25 µl hacim hazırlamak için su 12.85 µl, tampon 6 µl, MgCl 1.2 µl, dNTP 0.7 µl, F ve R primerler için 1'er µl, Taq polimeraz enziminden 0.25 µl alınarak ependorf içine katılmıştır. Kısa bir vorteks 'te çalkalama (shake) yapılmış ve yine kısa olacak şekilde 10 sn santrifüj yapılarak tabana çöken ürün alınıp 0.2 µl 'lik PCR tüpü içerisine 23 µl aktarılmıştır. Son olarak üzerine 2 µl DNA konulmuştur. Kontrol için ise aynı şekilde işlem yapılmış ancak son işlemde içerisine DNA yerine su konulmuştur. Bu PCR tüpü hızlı bir şekilde koşulları değişmekle beraber Çizelge 3.11 'te verilen değerlere göre hazırlanan PCR içine konulmuştur. PCR içerisinde ayrılma, bağlanma ve uzaması yapılarak çoğaltılmıştır. Son sıcaklığı 10 °C gelince PCR ürünleri makineden alınarak jel tankına aktarılmıştır. Bunun için jel hazırlanırken 1.5 gr Pronadisa marka elektroforez için agaroz alınarak erlene aktarılmıştır. Hazır 1x TAE tamponundan 100 ml alınmış ve erlen içine katılmıştır. Üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak hafifce çalkalandıktan sonra mikrodalgaya konulmuş ve 60 sn erimesi beklenilmiştir. Daha sonra mikrodalgadan alınarak hafifce çalkalanan erlen 5 sn daha 1 taşım olacak şekilde son defa mikrodalga fırında ısıtılmış ve alınmıştır. Alınan erlen su altına yaklaşık 1 dk tutularak hızlıca soğuması sağlanmıştır. Daha sonra erlen içine ethidium bromide göre daha güvenli Safe-T stain 'den 5 µl aktarılmış ve hafifce çalkalanmıştır. Soğuyan jel tanka dökülerek ilk kuyucuğa Solis Bio Dyne marka 100 b.ç. boyalı DNA ladder 'dan aktarılmış ve diğer kuyucuklara kontrol ve örnekler aktarılmıştır. En son 50 dk. 100 V.'ta koşturulan jel işlem bitince U.V. transilluminator cihazı ile görüntülenmiştir. Güzel çıkan PCR örnekleri sekansa gönderilmiştir. Gelen sonuçlar neticesinde hassas popülasyon referans alınmış, mutasyon noktaları karşılaştırma yapılarak bakılmıştır. Çalışmada kullanılan primerler ve koşulları (Khajehali vd. 2011, Bajda vd. 2017, Riga vd. 2017) aşağıda Çizelge 3.7 ve 3.11 'de verilmiştir.

Son olarak LC<sub>99</sub> ayırıcı dozu geçen bir popülasyon seçilmiş ve abamectin de LC<sub>50</sub> dozu tespit edildikten sonra LC<sub>60</sub> ve LC<sub>80</sub> dozu ile selekte edilerek her birinde LC<sub>50</sub> oranları not alınmıştır. Daha sonra bu popülasyonun DNA'sı alınarak GluCl1 ve GluCl3 bölge mutasyonlarına bakılmıştır.



Çizelge 3.7 Çalışmada kullanılan primer isimleri ve dizilimleri, gen ve mutasyon bölgesi

Primer adı	Gen bölgesi	Primer dizilimi (5'-3')	Fragment büyüklüğü (b.ç.)	Mutasyon bölgesi	Referans
Tu_GluCl1_diag_F	Glutamat kanalı	TTGGATTGACCCTAACTCAGCA	263	G314D	
Tu_GluCl1_diag_R	Glutamat kanalı	TTGCACCAACAATTCCTTGA	263	G314D	
Tu_GluCl3_diagF	Glutamat kanalı	CCGGGTCAGTCTTGGTGTTA	251	G326E	Riga vd. 2017
Tu_GluCl3_diagR	Glutamat kanalı	CACCACCAAGAACCTGTTGA	251	G326E	
Cytdia2F	Mitokondriyal sitokrom b	TTAAGAACTCCTAAAACCTTTTCGTTTC	1577	G126S, I136T, P262T, S141F, D161G	
Cytdia2R	Mitokondriyal sitokrom b	GAAACAAAAATTATTATTCCTCCCAAC	1577	“	
PEWY F	Mitokondriyal sitokrom b	AAAGGCTCATCTAACCAAATAGG	397	Cytb (P262T)	Khajehali vd. 2011, Riga vd. 2017
PEWY R	Mitokondriyal sitokrom b	AATGAAATTTCTGTAAAAGGGTATTC	397	Cytb (P262T)	
CybtWT F	Mitokondriyal sitokrom b	CGGAATAATTTTACAAATAACTCATGC	589	Cytb (G126S, S141F)	
CybtWT R	Mitokondriyal sitokrom b	TGGTACAGATCGTAAAATTGCG	589	Cytb (G126S, S141F)	
PSST_Exon_New	Mitokondriyal kompleks 1	ACAGGTCAGCCAATCGAATC	600	H92R	
PSST_Exon_New	Mitokondriyal kompleks 1	ATACCAAGCCTGAGCAGTGG	600	H92R	Bajda vd.2017

### DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılması

PCR reaksiyonu için aşağıda verilen protokoller uygulanmıştır.

Çizelge 3.8 GluCl ve PSST bölgeleri; 1 PCR ürünü için gerekli olan ürün ve miktarlar...

Ürün	Miktar ( µl )
H <sub>2</sub> O	12.85
Tampon	6
MgCl	1.2
dNTP	0.7
F	1
R	1
Taq	0.25
DNA	2

Çizelge 3.9 GluCl ve PSST bölgeleri; 1 PCR ürünü için gerekli olan mix ve miktarlar

Ürün	Miktar ( µl )
H <sub>2</sub> O	20
Mastermix	6
F	0.5
R	0.5
DNA	3

Çizelge 3.10 CYTB bölgesi; 1 PCR ürünü için gerekli olan ürün ve miktarlar

Ürün	Miktar ( µl )
H <sub>2</sub> O	15.25
Tampon	2.5
MgCl	2
dNTP	1
F	1
R	1
Taq	0.25
DNA	2

Çizelge 3.11 GluCl, PSST ve CYTB bölgeleri için PCR reaksiyon koşulları

Bölge	Basamaklar	Sıcaklık °C / süre (dk veya sn)	Döngü sayısı	Referans
GluCl	Sıcak çalıştırma	94 / 2'	-	Riga vd. 2017
	Ayrılma	94 / 30"	35	
	Bağlanma	53 / 40"		
	Uzama	72 / 1'		
	İlave uzama	72 / 5'	-	
	Bekleme	21/ ∞	-	
PSST	Sıcak çalıştırma	94 / 2'	-	Bajda vd.2017
	Ayrılma	94 / 20"	34	
	Bağlanma	55 / 30"		
	Uzama	72 / 1.30'		
	İlave uzama	72 / 5'	-	
	Bekleme	21/ ∞	-	
CYTB	Sıcak çalıştırma	95 / 5'	-	Khajehali vd. 2011, Riga vd. 2017
	Ayrılma	95 / 45"	34	
	Bağlanma	52 / 45"		
	Uzama	72 / 1'		
	İlave uzama	72 / 10'	-	
	Bekleme	21/ ∞	-	

### 3.2.5.3 Sonuçların değerlendirilmesi

Biyoassay denemelerinden elde edilen ölü – canlı sayımlarına ilişkin veriler Abbott formülüne göre düzeltilmiştir (Abbot 1925). Elde edilen veriler ile probit analizi (Polo – Plus paket programı) yapılarak lethal konsantrasyonlar hesaplanmıştır (LeOra Software 1994). Direnç oranı denemeye alınan bütün popülasyonlar için belirlenen LC<sub>50</sub> değerlerinin hassas popülasyon için belirlenen LC<sub>50</sub> değerlerine oranlaması ile her bir akarisit için popülasyonların direnç oranları hesaplanmıştır. Kontrol gurubunda ölümlerin >% 10 olması durumunda, denemeler yeniden kurulmuştur. LC<sub>50</sub> değerlerindeki istatistiki farklılıklar güven aralıklarının çakışma durumuna göre belirlenmiştir.

Biyokimyasal çalışmalarda, enzim okumaları dört tekerrürlü olarak yapılmıştır. Tüm enzim aktiviteleri Softmax PRO programında analiz edilerek sonuçlar nmol/dk/mg protein olarak verilmiştir. Örneklerin toplam protein miktarlarının belirlenmesinde Bradford (1976)'un total protein tayin yöntemi kullanılmış ve Bovine Serum Albumine (BSA) standart olarak alınmıştır. Okuma 620 nm dalga boyunda endpoint olarak yapılmıştır.

Enzim sonuçlarından elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi tekniği ile (One-Way ANOVA) analiz edilmiş ve popülasyonlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır (Winer vd 1991).

Sekansa gönderilen PCR rnleri ise çift yönlü olarak okutulmuştur. Gelen sekans sonuçları BioEdit version 7.0.5.3 (Hall 1999) ile gelen sekans kromotografları incelenirken ve MEGA X version 10.1.7 (Kumar vd. 2018) programı kullanılarak dizilmiş, clustal w ile hizalanarak irdelenmiştir. İleri ve geri okuma sonuçlarından konsensus dizileri elde edilmiştir. Bu diziler alt alta hizalanarak hassas ve dirençli popülasyonlardaki hedef yeri mutasyonları taranmıştır. Ayrıca her bir okuma için sekans kromotografları tek tek incelenmiş ve daha önce dirençle ilişkilendirilen mutasyonların olup olmadığı bakılmıştır.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 Akarların Teşhisi

#### 4.1.1 Morfolojik karakterlere göre teşhis

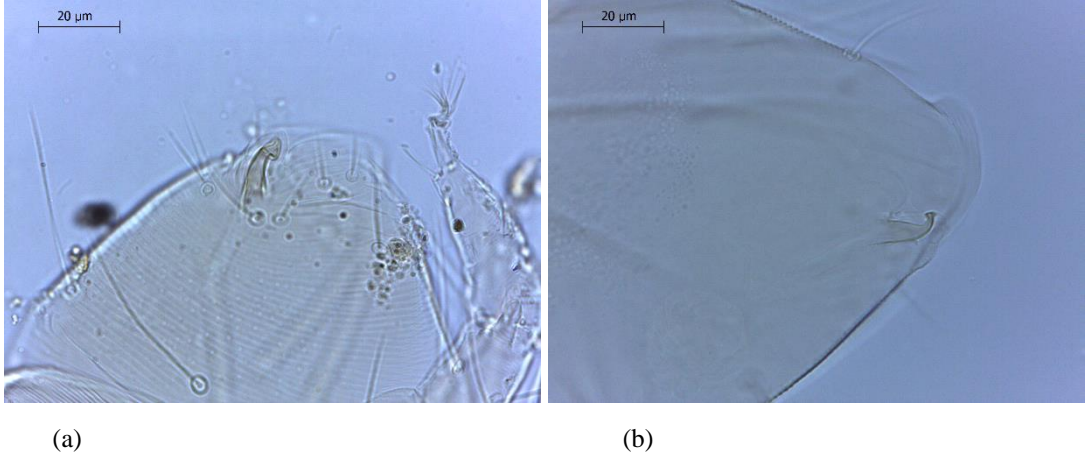
Pamuk bitkisinden toplanan tarla popülasyonlarında tespit edilen akarların teşhisleri yapılmış ve Çizelge 4.1 'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Pamuk bitkisinden toplanan tarla popülasyonlarında tespit edilen akarlar

Örnek no	Cinsiyet	Toplanılan yer	Toplanma Tarihi	Tür Teşhisi
1	♂ ♂ ♀	Diyarbakır	02.06.2019	<i>T. atlanticus</i>
2	♂ ♂ ♀	Diyarbakır	02.06.2019	<i>T. urticae</i>
3	♂ ♂ ♀	Aydın	05.06.2019	<i>T. urticae</i>
4	♂ ♂ ♀	Aydın	05.06.2019	<i>T. urticae</i>
5	♂ ♂ ♀	Şanlıurfa	13.06.2019	<i>T. urticae</i>
6	♂ ♂ ♀	Şanlıurfa	13.06.2019	<i>T. urticae</i>
7	♂ ♂ ♀	Şanlıurfa	13.06.2019	<i>T. urticae</i>
8	♂ ♂ ♀	Şanlıurfa	13.06.2019	<i>T. urticae</i>
9	♂ ♂ ♀	Adana	23.06.2020	<i>T. urticae</i>
10	♂ ♂ ♀	Adana	23.06.2020	<i>T. urticae</i>
11	♂ ♂ ♀	Adana	24.06.2020	<i>T. urticae</i>
12	♂ ♂ ♀	Adana	24.06.2020	<i>T. urticae</i>
13	♂ ♂ ♀	Adana	24.06.2020	<i>T. urticae</i>
14	♂ ♂ ♀	Adana	24.06.2020	<i>T. urticae</i>
15	♂ ♂ ♀	Adana	24.06.2020	<i>T. urticae</i>

Çizelge 4.1 Pamuk bitkisinden toplanan tarla popülasyonlarında tespit edilen akarlar (devam)

16	♂♂♀	Adana	24.06.2020	<i>T. urticae</i>
17	♂♂♀	Adana	23.06.2020	<i>T. urticae</i>
18	♂♂♀	Şanlıurfa	25.06.2020	<i>T. urticae</i>
19	♂♂♀	Şanlıurfa	25.06.2020	<i>T. urticae</i>
20	♂♂♀	Şanlıurfa	25.06.2020	<i>T. urticae</i>
21	♂♂♀	Şanlıurfa	25.06.2020	<i>T. urticae</i>
22	♂♂♀	Şanlıurfa	25.06.2020	<i>T. urticae</i>
23	♂♂♀	Şanlıurfa	25.06.2020	<i>T. urticae</i>
24	♂♂♀	Şanlıurfa	25.06.2020	<i>T. atlanticus</i>
25	♂♂♀	Adana	9.9.2020	<i>T. urticae</i>
26	♂♂♀	Adana	9.9.2020	<i>T. urticae</i>
27	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
28	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
29	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
30	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
31	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
32	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
33	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
34	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
35	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
36	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
37	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
38	♂♂♀	Diyarbakır	27-31. 07.2020	<i>T. urticae</i>
39	♂♂♀	Aydın	06.08.2020	<i>T. urticae</i>
40	♂♂♀	Aydın	06.08.2020	<i>T. urticae</i>
41	♂♂♀	Aydın	06.08.2020	<i>T. urticae</i>
42	♂♂♀	Aydın	06.08.2020	<i>T. urticae</i>
43	♂♂♀	Aydın	06.08.2020	<i>T. urticae</i>
44	♂♂♀	Aydın	06.08.2020	<i>T. urticae</i>
45	♂♂♀	Aydın	06.08.2020	<i>T. urticae</i>
46	♂♂♀	Aydın	06.08.2020	<i>T. urticae</i>



Şekil 4.1 (a) *Tetranychus atlanticus* ve (b) *Tetranychus urticae* erkeğinde aedeagus

Toplanan tarla popülasyonlarından 1 (Diyarbakır) ve 24 (Şanlıurfa) numaralı popülasyonların moleküler ve klasik teşhisleri sonucu, türün *T. atlanticus* olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

#### 4.1.2 Moleküler yöntemle teşhis

Sekansları yapılan akarların blast edilmesi sonucu tür teşhisleri moleküler olarak yapılmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Sekans sonucu belirlenen akar türleri

Popülasyon Numarası	Tür	% Yakınlık oranı
1	<i>T. atlanticus</i>	% 99
2	<i>T. urticae</i>	% 100
3	<i>T. urticae</i>	% 100
4	<i>T. urticae</i>	% 100
5	<i>T. urticae</i>	% 100
6	<i>T. urticae</i>	% 99
7	<i>T. urticae</i>	% 100
8	<i>T. urticae</i>	% 100
9	<i>T. urticae</i>	% 100
10	<i>T. urticae</i>	% 100
11	<i>T. urticae</i>	% 100
12	<i>T. urticae</i>	% 100
13	<i>T. urticae</i>	% 100
14	<i>T. urticae</i>	% 100
15	<i>T. urticae</i>	% 99.85
16	<i>T. urticae</i>	% 100
17	<i>T. urticae</i>	% 100
18	<i>T. urticae</i>	% 100
19	<i>T. urticae</i>	% 100
20	<i>T. urticae</i>	% 100
21	<i>T. urticae</i>	% 100
22	<i>T. urticae</i>	% 100
23	<i>T. urticae</i>	% 100
24	<i>T. atlanticus</i>	% 99.55
25	<i>T. urticae</i>	% 100
26	<i>T. urticae</i>	% 99.7
27	<i>T. urticae</i>	% 100
28	<i>T. urticae</i>	% 100

Çizelge 4.2 Sekans sonucu belirlenen türler (devam)

29	<i>T. urticae</i>	% 100
30	<i>T. urticae</i>	% 100
31	<i>T. urticae</i>	% 100
32	<i>T. urticae</i>	% 100
33	<i>T. urticae</i>	% 99.7
34	<i>T. urticae</i>	% 100
35	<i>T. urticae</i>	% 100
36	<i>T. urticae</i>	% 99.8
37	<i>T. urticae</i>	% 99.9
38	<i>T. urticae</i>	% 100
39	<i>T. urticae</i>	% 100
40	<i>T. urticae</i>	% 99.88
41	<i>T. urticae</i>	% 99.9
42	<i>T. urticae</i>	% 99.85
43	<i>T. urticae</i>	% 100
44	<i>T. urticae</i>	% 100
45	<i>T. urticae</i>	% 99.9
46	<i>T. urticae</i>	% 99.5

Sekans sonuçlarına göre 1 ve 24 numaralı popülasyonlar  $\geq$  % 99 *T. atlanticus* olup, diğerleri *T. urticae* olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2). *T. urticae* ile *T. cinnabarinus* 'un aralarında yüksek farklılıkların olmadığı (%0.01 – %1.21) tespit edilmiştir. Yapılan pekçok araştırmada ITS 1, 5.8s veya ITS 2 geninin birlikte veya tek başına kullanımı ile türlerin tanımlanabilmesinde kolaylık sağlandığı hatta türlerin genetik yapı ve çeşitliliklerinin karakterize edilmesinde başarı sağlandığı vurgulanmaktadır (Kwon ve Ishikawa 1992, Wesson vd. 1992, Navajas vd. 2001, Shaw vd. 2002, Osakabe vd. 2002, Noge vd. 2005 Ben-David vd. 2007, Tsagkarakou vd. 2007, Xie vd. 2008, Alasaad vd. 2009, Li vd. 2010, Ho vd. 2011, Marinho vd. 2011, Yuan vd. 2011, Arimoto vd. 2012, Matsuda vd. 2013, Chen vd. 2020).

## 4.2 Biyoassay Çalışmaları

### 4.2.1 Ayırıcı doz denemeleri

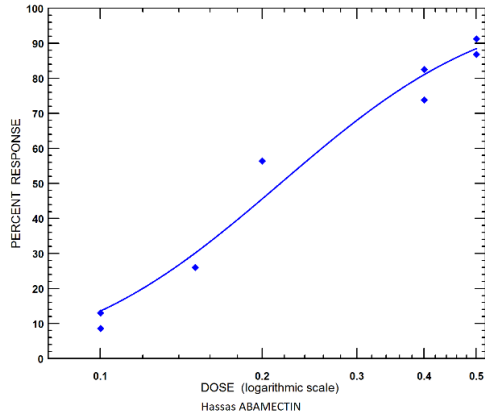
Ayırıcı doz olarak her bir akarisit için (abamectin, bifenazate ve tebufenpyrad) hassas popülasyonda ayrı ayrı LC<sub>99</sub> değeri belirlenmiş ve bu ayırıcı doz araziden toplanan popülasyonlara uygulanmıştır. Bu uygulamada % 80 'den daha düşük etkinliğin gözlemlendiği popülasyonlar seçilerek daha ayrıntılı biyoassay çalışmaları için yetiştirmeye alınmıştır.

Abamectin, bifenazate ve tebufenpyrad ile yapılan denemelerde hassas popülasyonda LC<sub>99</sub> değerleri 1.10, 1.972 ve 38.190 mg/l olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Probit analizinde heterojenite değeri 1'den büyük olması popülasyonun karışıklığını (heterojenite) veya 1'den küçük olması ise tek yüzeliğini (homojenite) göstermektedir (LeOra Software 1994). Abamectin, bifenazate ve tebufenpyrad ile yapılan deneme sonuçlarına göre heterojenite değeri 0.51, 0.67 ve 0.21 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Hassas popülasyonun abamectin içeren Bitki Koruma Ürünü (B.K.Ü.) ile belirlediğimiz ayırıcı doz değerinin, çalışmadaki diğer etken maddelere göre toksisitesinin yüksek çıktığı görülmüştür (Çizelge 4.3).

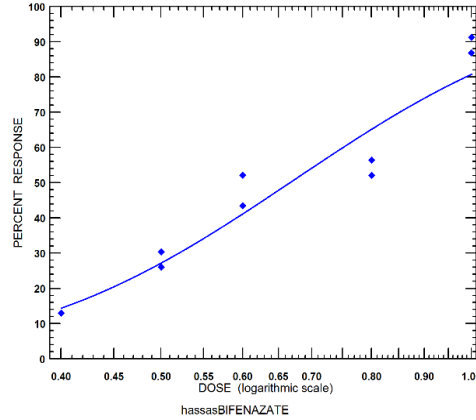
Çizelge 4.3 Hassas GSS popülasyonunda tespit edilen ayırıcı doz (LC<sub>99</sub>) ve LC<sub>50,90</sub> değerleri

Etken madde	Formülasyon	Eğim ± SH	LC <sub>50</sub> (mg/L) 0.95 Güven aralıkları	LC <sub>90</sub> (mg/L) 0.95 Güven aralıkları	LC <sub>99</sub> (mg/L) 0.95 Güven aralıkları	Heterojenite	Uygulama dozu (mg/L)
abamectin	EC	3.29 ± 0.34	0.22 (0.19-0.24)	0.53 (0.44- 0.69)	1.10 (0.82 – 1.69)	0.51	9
bifenazate	SC	4.98 ± 0.62	0.67 (0.63- 0.72)	1.22 (1.05-1.53)	1.97 (1.56 – 2.88)	0.67	144
tebufenpyrad	WP	3.29 ± 0.33	7.49 (6.58 – 8.44)	18.37 (15.58 – 23.00)	38.19 (29.28 – 56.05)	0.21	120

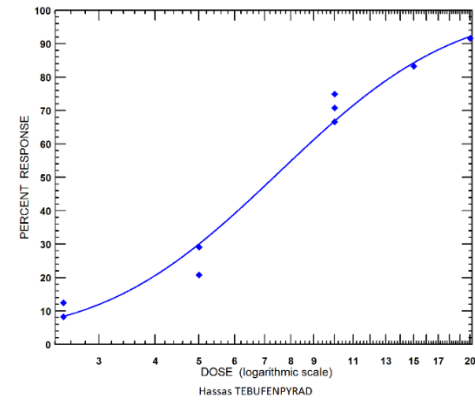
76



a. abamectin



b. bifenazate



c. tebufenpyrad

Şekil 4.2 Hassas GSS popülasyonunda abamectin, bifenazate ve tebufenpyrad ile yapılan denemede tespit edilen doz-tepki eğrisi

Literatürde abamectin, bifenazate ve tebufenpyrad için düşük LC<sub>50</sub> oranına sahip olan GSS ve doğadan toplanan diğer hassas popülasyonlar üzerinde yapılan çalışmalarda, farklı hassasiyetler tespit edildiği bildirilmiştir. Hassas GSS popülasyonu üzerinde yapılan bu çalışmada birçok araştırmacının bulduğu sonuçlar ile benzer ve birbirine yakın sonuçlar belirlenmiştir. Her ne kadar milbemectin ve emamectin benzoate gibi akarisitlerin moleküler yapıları değişse de etki mekanzimaları aynı olduğu için, çalışmamızda kıyaslamalara dahil edilmiştir. GSS veya tarladan toplanan ve hassas olarak kabul edilen popülasyonlarda abamectin ile yaptığımız çalışmalarda bulduğumuz LC<sub>50</sub> değerine (0.22 mg/l) yakın değerler diğer araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir (Piraneo vd. 2015, Çağatay vd. 2018, Papapostolou vd. 2021). Bazı araştırmacılar, doğadan topladıkları hassas popülasyonlarda abamectine karşı, bizim bulduğumuz sonuçlar ile yakın değerler tespit etmişken, bazıları da daha yüksek değerler tespit etmiştir. Örneğin, bazı çalışmalarda 1.4 - 9.48 mg/l gibi daha yüksek LC<sub>50</sub> değerleri tespit edilmiştir (Stumpf ve Nauen 2002, Fahnbulleh 2007, Khajehali 2010, Kwon vd. 2010a, Memarizadeh vd. 2013, Yorulmaz vd. 2013, Riga vd. 2014, Farahani vd. 2018). Bunun yanısıra, bazı araştırmacılar çalışmamızda tespit edilen LC<sub>50</sub> değerinin 2 ila 1000 katı arasında daha düşük değerler tespit edildiğini bildirmektedirler (Campos vd. 1996, Nauen vd. 2001, Lee vd. 2003, Sato vd. 2005, He vd. 2009, Koh vd. 2009, Lin vd. 2009, Kwon vd. 2010b, Khajehali vd. 2011, Vassiliou ve Kitsis 2013, Ferreira vd. 2015, Monteiro vd. 2015, Eziah vd. 2016, Diaz-Arias vd. 2019, Rameshgar vd. 2019). Çalışmamızda tespit edilen LC<sub>50</sub> değerinden daha yüksek veya düşük olarak belirlenmesinin sebepleri arasında akarın polifag olması nedeniyle doğadan toplanan hassas ırkların farklı konukçularda beslenmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Kendini savunma ve direnebilmesi için konukçu bitki tarafından salgılanan allelokimyasalları, akarlar tarafından beslenme sırasında vücutlarına alınmaktadır (Brattsten 1988, Mithöfer ve Boland 2012). Bitkilerde beslenen fitofag akarların vücutlarına aldıkları bileşiklerin nesiller boyu genetiklerinde veya metabolik aktivitelerindeki değişimi (artması/azalması) tetikleyebileceği düşünülmektedir. Dişi tarafından genetik aktarımla sonraki nesillerde de yabancı maddelere direnç kazandırabileceği düşünülebilir. Diğer taraftan, hassas akarların doğrudan veya dolaylı olarak hassas veya dirençli bireylerle çiftleşmesi de nedenler arasında düşünülmektedir. Ayrıca, akarisite maruziyet ve baskısı altından kurtulan popülasyonların da kendi içinde hassaslaştığı bildirilmektedir (Nicastro vd. 2010). Diğer

tarafından, yapılan başka bir çalışmada ise direnç düzeyi önceden tespit edilmiş akarların, 1 seneyi aşkın akarisit baskısına maruz kalmadan yetiştirilmesinin ardından yapılan direnç stabilitesinin bazı popülasyonlarda kararlı yapı gösterdiği kaydedilmiştir. Araştırılan popülasyonlarda LC<sub>50</sub> düzeyinin yükseldiği, bazı popülasyonlarda ise bir miktar düşüşün belirlendiği kayıtlıdır (Xue vd. 2020).

Hassas GSS popülasyonlarına bifenazate'nin etkinliğine ilişkin çalışmamızda, bifenazate ile yürütülmüş fazla çalışma bulunmadığı için kıyaslamalara acequinocyl etken maddesi de dahil edilmiştir. Her ne kadar acequinocyl molekülü farklı bağlanma yapısına sahip olsa da etki mekanizması aynıdır. Çalışmamızda bifenazate LC<sub>50</sub> düzeyi 0.67 mg/l olarak tespit edilmiştir. Tespit edilen bu değer, Piraneo vd. (2015)'nin tespit ettiği değere yakındır. Bazı araştırmalarda doğadan toplanmış hassas ırkta bifenazate için LC<sub>50</sub> değerinin çalışmamızda tespit edilenden daha yüksek (1 – 17.96 mg/l) olduğu belirlenmiştir (Lee vd. 2003, Yu vd. 2005, Khajehali 2010, Khajehali vd. 2011, Chen vd. 2019, Papapostolou vd. 2021). Çalışmamızda bifenazate için belirlenen LC<sub>50</sub>'nin daha düşük olmasının nedeni olarak GSS popülasyonunun 50 seneden fazla süredir laboratuvarında ve benzer bitkiler (fasülye çeşitleri) ile beslenmesi sayılabilir. Ayrıca, bazı araştırmacılar doğadan toplanan hassas ırklarda direncin yüksek düzeyde çıkmasının sebebi olarak, akarların beslendikleri farklı bitkilerden vücutlarına aldıkları ksenobiyotiklerin bazı etkili maddelere hassasiyetlerinde düşüşe neden olabileceğini öne sürmektedir. Bifenazate'in sıcakkanlılara toksisitesi çalışmamızdaki diğer akarisitlere kıyasla en düşük (> 5000 mg/kg) olması da etkenlerden sayılabilir.

Çalışmamızda GSS hassas popülasyonuna etkinliği belirlenen tebufenpyrad için çok sayıda araştırmada, bulduğumuz sonuçlar ile benzer veya yakın sonuçlar tespit edilmiştir. Her ne kadar pyridaben, fenazaquin, fenpyroximate gibi etkili maddeler farklı molekül bağlanma yapısı gösterebilir, etki mekanizmaları aynı olduğu için farklı türlerde yapılan çalışmalar da kıyaslamaya dahil edilmiştir. Bazı çalışmalarda doğadan toplanmış hassas popülasyonda tebufenpyrad ile yapılan denemelerde bulduğumuz sonuçlara yakın değerlerde sonuçlar tespit edilmiştir (Koh vd. 2009, Van Pottelberge vd. 2009a). Bunun yanı sıra, birçok çalışmada ise aynı etken madde veya aynı etki mekanizmasına sahip etken maddeler ile yapılan çalışmalarda daha yüksek (13.20 – 156 mg/l) LC<sub>50</sub> değeri

belirlenmiştir (Herron ve Rophail 1998, Van Leeuwen vd. 2005, Fahnbulleh 2007, Khajehali 2010, Papapostolou vd. 2021). Aksine, bizimkinden daha düşük değerde LC<sub>50</sub> tespit edilmiş (0.20 – 6.48 mg/l) araştırmalarda bulunmaktadır (Nauen vd. 2001, Stumpf ve Nauen 2001, Ay ve Kara 2011, Niu vd. 2011, Sugimoto ve Osakabe 2014). Tebufenpyrad'ın yapısı gereği piretroitlilerdeki gibi memelilere toksisitesinin (997 mg/kg) düşük olması, LC<sub>50</sub> düzeylerini yükselttiği düşünölmektedir. Bu nedenle abamectin'e kıyasla LC<sub>50</sub> düzeyinin çok daha yüksek çıkmasının sebebi, toksisitesinin düşük olması olarak düşünölmektedir.

#### **4.2.2 Popölasyonlara ayırıcı doz uygulama ve yüzde ölümler**

LC<sub>99</sub> konsantrasyonunda belirlenen ölüm oranları Çizelge 4.4'da verilmiştir. Ayırıcı dozu geçen ve seçilen bazı popölasyonların bu kimyasallara karşı olan toksisitesini belirleyebilmek için LC oranlarının tespiti için biyoassay çalışmalarına ve probit analizlerine geçilmiştir.

#### **4.2.3 Ayırıcı doz sonrası popölasyonların akarisitlere karşı toksisitesi ve direnç katsayıları**

Pamuk tarlalarından toplanan popölasyonlarda yürütölen biyoassay çalışmalarını sonucu abamectin için hesaplanan LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> değeri Çizelge 4.5 'de verilmiştir. Çizelge 4.5 incelendiğinde farklı popölasyonlarda hesaplanan LC<sub>50</sub> değeri verilmiştir. Çalışmamızda abamectinin LC<sub>50</sub> değeri en düşük olarak 11 numaralı popölasyonda (7.344 mg/l) ve en yüksek olarak 2 no 'lu popölasyonda (33.812 mg/l) tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). Toplanan popölasyonlarda abamectin'e karşı hassasiyetin düştüğü ve direnç kazanmaya başladıkları, ancak yinede bazılarının ayırıcı dozu geçtiği halde düşük LC değeri gösterdiği popölasyonlar 'da görölmüştür. Bu 10, 12, 13, 14, 25 no.'lu popölasyonların diğer popölasyonlara göre daha hassas olduğu LC değeri anlaşılmıştır. Abamectin'in toksisitesinin hassas GSS popölasyonunda yapılan çalışmalar

sonunda diğerk iki etkili maddeye kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.4 *Tetranychus urticae*'nin tarla popülasyonlarında abamectin, bifenazate ve tebufenpyrad için ayırıcı dozlarda gerçekleşen ölüm (%)

Popülasyon no	Ayırıcı dozda gerçekleşen ölüm oranı (%)		
	Abamectin (LC <sub>99</sub> :1.099 mg/l)	Bifenazate (LC <sub>99</sub> :1.972 mg/l)	Tebufenpyrad (LC <sub>99</sub> :38.19 mg/l)
2	0	0	87.5
3	3	54	100
4	0	0	19
5	0	100	100
6	0	67	96.5
7	0	74.5	96
8	0	35.5	73.5
9	0	71	95.5
10	66.5	81	98
11	0	71	97
12	78.5	94	90
13	62	96	98.5
14	61	98	98
15	14	98	92.5
16	1.5	68	100
17	7	89	98.5
18	46	89	100
19	25	75	100
20	34	69	96
21	5	76	98.5
22	13.5	75	96
23	4	72	98.5
25	76	97.5	100
26	85	98.5	100
27	100	98	83
28	0	17	79.5
29	45	88	100
30	36	56.5	100
31	100	98	100
32	100	100	93.5
33	98	95	86
34	3.5	38	84
35	50	94	100
36	100	100	98
37	47	95	100
38	95.5	100	92.5
39	38	93	100
40	53	95	100
41	92.5	98	100
42	100	100	98
43	3	100	96
44	100	100	98
45	88	100	99
46	90	100	98

Yapılan bazı çalışmalarda *T. urticae* popülasyonlarının abamectin ve bifenazate 'a karşı dirençli olup olmadığı veya direncin düzeyi ile ilgili veriler tespit edilmiştir. Piraneo vd. (2015) yapmış oldukları çalışmada direnç düzeyini; düşük direnç (Direnç oranı <10), orta düzeyde direnç (10 > Direnç oranı > 100) ve yüksek direnç (direnç oranı > 100) olarak üç sınıfa ayırmıştır. Abamectin 'in hem akarisit hemde insektisit olması farklı zararlıların mücadelesinde kullanılmasına ve diğer zararlılar ile aynı ortamı paylaşan akarlar açısından birden fazla uygulamaya maruz kalmasına neden olmaktadır. Yıl içerisinde tavsiye edilen doz ve bekleme süresi dikkate alınmaksızın aynı etkili madde ile tekrarlı olarak ilaçlama yapılabilir. İklim koşullarına bağlı olarak kısa zamanda döl veren ve her bir dölünü sıcaklığa bağlı olarak 10 ile 20 gün arasında tamamlayabilen *T. urticae*, aktinomisetlerin fermentasyon ürünü olan bakteri kökenli bu kimyasal ile karışık evrelerinin (yumurta, nimf, larva, ergin) karşılaşması kaçınılmaz olmakta, neticede erken evrim gerçekleşebilmektedir. Dişilerde partenogenetik üremenin olması ve genetik materyalin aktarımın dişiden olması bunu dahada kolaylaştırmaktadır. Arthropod Pesticide Resistance Database (A.P.R.D.) kaynağına göre zararlılar arasında en fazla direnç kaydedilen ve dünya çapında 700'den fazla direnç kaydı bulunan zararlı *T. urticae* 'dir (Anonymous 2019c).

Abamectin ile yapılan çalışmada, Kwon vd. (2010b) gül seralarından toplanmış popülasyonlarda > 4753 kat 'a kadar direnç tespit etmişler. Vassiliou ve Kitsis (2013) Kıbrısta açık alan ve seralardaki güllerden toplanan popülasyonlarda 3822 kat direnç tespit etmişlerdir. Tang vd. (2014a) Çin'de elma ve çilek bahçelerinden toplanan popülasyonlarda 4989 kata kadar direnç tespit etmişlerdir. Monteiro vd. (2015) bağ alanlarından toplanan popülasyonlarda 8272 kat'a kadar direnç tespit etmişler. Diaz-Arias vd. (2019) gül seralarından topladıkları popülasyonlarda 21141 kat 'a kadar direnç tespit ettiklerini bildirmektedirler. Çalışmamızda pamuk tarlalarından toplanmış *T. urticae* popülasyonları arasında abamectin'e karşı en az 34 kat ve en yüksek 156.50 kat direnç tespit edilmiştir. Çalışmamız verileri Piraneo vd. (2015)'nin hazırlamış oldukları ölçeğe göre değerlendirildiğinde, 7 popülasyonda orta düzeyde direnç belirlenirken (34-82 kat), 3 popülasyonda ise yüksek düzeyde direnç (109 – 156.50 kat) belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Diğer popülasyonlar içerisinde direnç oranının genel anlamda orta düzeyde olduğu;

ancak 3 popülasyonun (2, 4 ve 28 no'lu) direnç oranının büyük oranda düşük olduğu tespit edilmiştir. Direnç oranı yüksek olan popülasyonlar Diyarbakır ve Aydın ilinden toplanan popülasyonlardır. Hassas GSS popülasyonuna abamectin uygulamasında LC<sub>50</sub> (Çizelge 4.3) 0.22 mg/l olarak belirlenmiştir. Ayrıca, hassas popülasyonda denenen etkili maddeler arasında en yüksek toksisiteyi gösteren abamectin olmuştur.

Çizelge 4.5 *Tetranychus urticae* popülasyonlarında abamectin uygulamasında hesaplanan LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub> değerleri ve hesaplanan direnç oranları

Popülasyon no	n	Eğim±SH <sup>1</sup>	LC <sub>50</sub> (mg a.i./l) (0.95 Güven aralıkları)	LC <sub>90</sub> (mg a.i./l) (0.95 Güven aralıkları)	x <sup>2</sup>	df	*Direnç Oranı
2	400	2.56 ± 0.29	33.81 a (27.99 – 41.05)	107.27 (80.25 – 167.57)	12.2	12	156.54
4	392	4.98 ± 0.90	23.55 a (16.28 – 28.19)	42.60 (33.32 – 145.87)	38.2	12	109.00
5	392	4.18 ± 0.46	11.44 d (10.23 – 12.73)	23.18 (19.67 – 29.88)	13.1	12	52.96
6	380	3.29 ± 0.46	13.26 cd (11.07- 15.73)	32.49 (24.92 – 53.71)	15.6	12	61.37
7	383	2.55 ± 0.25	17.91 c (15.25 – 20.83)	56.95 (45.70 – 77.05)	8.8	12	82.90
8	381	2.93 ± 0.31	9.08 d (7.99 – 10.32)	24.82 (20.16 – 33.36)	7.3	12	42.04
9	372	3.03 ± 0.33	10.15 d (8.38 – 12.62)	26.92 (19.61 – 48.22)	23.2	12	47.00
11	372	3.60 ± 0.37	7.34 e (6.42 – 8.24)	16.66 (14.39 – 20.28)	10.2	12	34.00
16	511	2.52 ± 0.33	7.50 e (6.45 – 8.84)	24.12 (17.54 – 42.83)	13.9	12	34.71
28	391	3.13 ± 0.31	24.49 b (21.59 – 27.70)	62.88 (52.13 – 81.60)	11.8	12	113.36
Hassas (GSS)	399	3.29 ± 0.34	0.22 f (0.19-0.24)	0.53 (0.44- 0.69)	6.1	12	-

\*Direnç oranı: Tarla popülasyonu (LC<sub>50</sub>) / Hassas (GSS) popülasyonu (LC<sub>50</sub>)

Ayrıncı dozu geçen ve denemeye alınan 10 popülasyonun (2, 4 ve 28 no'lu popülasyonlar) LC değerleri hesaplanan verileri ile hassas popülasyon verileri kıyaslandığında; bunların bariz olarak yüksek direnç oranına sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Popülasyonların LC<sub>50</sub> güven aralıkları incelendiğinde istatistiki kıyaslamaları sonucu 6 ve 7 numaralı popülasyonlar istatistiki olarak farklı bir grupta (c

ve cd) yer almakla birlikte ancak güven aralıklarının çakıştığı görülmüştür. Diğer popülasyonlardan 2 ve 4 numaralı (a) aynı grup içerisinde, 5, 8 ve 9 numaralı popülasyonların (d) aynı grup içerisinde bulunduğu, 11 ve 16 numaralı popülasyonların (e) aynı grupta bulunduğu, 28 numaralı (b) ve hassas popülasyonun (f) ise farklı gruplarda yer aldığı tespit edilmiştir. Ayırıcı doz dikkate alındığında, 44 popülasyondan 12'sinin ayırıcı dozu geçemediği belirlenmiştir. Abamectin'e karşı kırmızıörümceklerin hassasiyetinin düştüğü ve önerilen arazi uygulama dozu (9 ppm) 'nu geçtikleri görülmektedir. Yapılan iki senelik bir çalışmada denenen 6 akarisit içinde bir sene abamectin 'in diğer sene milbemectin 'in en yüksek etkili (1. sırada) akarisit olduğu belirlenmiştir (Massoud vd. 2018).

Çalışmamızda diğer tarla popülasyonların (7 tanesinde) 'da abamectin'e hassasiyetin halen devam ettiği belirlenmiştir. Toplanan tarla popülasyonlarında hassas popülasyona kıyaslandığında direncin düzeyinin orta (5, 6, 7, 8, 9, 11 ve 16) ve yüksek (2, 4 ve 28 numaralı) seviyede olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızın sonuçları ile farklı araştırmacıların sonuçları (farklı konukçularda ve aynı etki mekanizmasına sahip milbemectin ve emamectin benzoate etken maddeleride dahil edildiğinde) aşağıda kıyaslanmıştır. Piraneo vd. (2015) yapmış oldukları ölçeğe göre çalışmamızda belirlenen direncin orta ve yüksek düzeyde olduğu görülmektedir (Campos vd. 1996, Kim ve Seo 2001, Stumpf ve Nauen 2002, Lee vd. 2003, Sato vd. 2005, Negm vd. 2009, Yorulmaz ve Ay 2009, Kwon vd. 2010a, Kwon vd. 2010b, Nicastro vd. 2010, Tirello vd. 2012, Piraneo 2013, Vassiliou ve Kitsis 2013, Latheef ve Hoffmann 2014, Riga vd. 2014, Tang vd. 2014a, Ferreira vd. 2015, Monteiro vd. 2015, Wang vd. 2015, Çağatay vd. 2018, Xu vd. 2018, Diaz-Arias vd. 2019, Yorulmaz ve Özata 2019, Xue vd. 2020, Papapostolou vd. 2021). Çalışmamızda akarisitler püskürtme şeklinde uygulanmış olup, daldırma metoduna göre yapılanlar ile farklılıklar bulunması beklenebilir. Bu konuda yüksek direnç oranının görülmesini pek çok faktöre bağlayabiliriz. Örneğin yapılan çalışmaların rezidü yöntemine veya daldırma dediğimiz yöntemine göre yapılması sonuçların yanıltıcı olarak pozitif direnç şeklinde çıkmasına neden olabilir. Örneğin *T. urticae*'de bitkisel ekstrakt ile yapılan çalışmada püskürtme yönteminin ölüm oranının, yaprak daldırma yöntemine göre daha yüksek olduğunu bildirmektedir (Erdogan vd. 2018). Zararlıların yaşam alanları dikkate alındığında, sera veya kapalı alanlarda (ilaçlamanın fazla olduğu) direncin yüksek

çıkması tarla koşullarına kıyasla normal olabilir. Ancak, çalışmamız açık alandaki pamuk bitkisinden alınan kırmızıörümceklerle yürütülmüştür. Pamuk bitkisinde farklı zararlılara farklı sayıda pestisit uygulanmış olsa da, bu zararlıların ortamdaki doğrudan veya dolaylı olarak uzaklaşması nispeten kolay olabilir. Böylece kimyasal baskısına maruz kalmadığı ortamlara geçme olasılığı nedeniyle direnç düzeyinin düşmesi beklenebilir. Doğada açık alanda yabancı ot veya kültür bitkisi üzerinden gelen hassas bireyler ile çiftleşmesi sonucu akarların hassaslaşabileceği kabul edilmektedir. Pestisite maruz kalmayan, dolayısıyla seleksiyon baskısından kurtulan popülasyonlarda 7 ay gibi kısa bir süre sonunda, direncin stabilitesinin düştüğünün bildirildiği bir çalışmada benzer gerçeklerden bahsedilmiştir (Xue vd. 2020). Zararlının beslendiği bitki türünün de önemli olduğu düşünülmektedir. Özellikle kesme çiçek, gül, bağ, çilek, elma vb. gibi fazla pestisit uygulamalarına maruz kalan bitkilerde bu zararlıların direnç kazanma olasılığı yüksek olabilir. Aynı şekilde domates vb. konukçularda zararlılara karşı bitki savunma sistemleri faaldir. Beslenen akar popülasyonlarında konukçu tarafından salgılanan allelokimyasallar akar vücuduna girdikten sonra zararlının hayatta kalması için enzimler vasıtasıyla parçalanır. Bu ksenobiyotik maddelerin, akarların hayatta kalmasına yardımcı olduğu ve bu şekilde zararlının direncine katkısı olduğu düşünülmektedir (Van Leeuwen ve Dermauw 2016). Diğer taraftan, popülasyonların kıyaslanmasında kullanılan ve standart hassas olarak adlandırılan bireylerin bizim kullandığımız referans popülasyona göre farklı çıkabileceği de unutulmamalıdır. Abamectinle yapılan çalışmamız sonuçları (Çizelge 4.5) irdelendiğinde LC<sub>50</sub> değeri orta düzeyde olan (7.34, 7.50, 9.08, 10.15, 11.43, 13.25 ve 17.90 mg/l) toplamda 7 popülasyon olduğu, 3 popülasyonda (23.54, 24.84 ve 33.81 mg/l) yüksek düzeyde direncin ortaya çıktığı belirlenmiştir. Orta düzeyde direnç görülen popülasyonlar Aydın, Şanlıurfa ve Adana ilinden, yüksek dirençli popülasyonlar ise Diyarbakır ve Aydın 'dan temin edilmiştir (Çizelge 4.5). Diyarbakır popülasyonunda hassasiyet kaybı veya yüksek direnç çıkması yakın zamanda yapılan başka bir çalışma ile desteklenmiştir. Yorulmaz ve Özata (2019)'un inceledikleri 15 popülasyondan 3'ünde 57-97 kat direnç; geri kalan popülasyonlarda ise yüksek direnç (116-342 kat) oranı tespit etmişlerdir. Çalışmamızda diğer popülasyonlarda orta ve düşük düzeyde belirlenen direnç durumunun, birçok araştırmacı ile paralel sıklıkta çıktığı tespit edilmiştir (Hoy ve Conley 1987, Nauen vd. 2001, Lee vd. 2003, Ay vd. 2005, Van Leeuwen vd. 2005, He vd. 2009, Koh vd. 2009, Lin vd. 2009, Van Pottelberge vd. 2009b, Khajehali 2010, Nicastro vd.

2013, Eziah vd. 2016, Namin vd. 2020). Farklı türdeki akarlarda yapılan çalışmalarda yine düşük ve orta düzeyde direnç belirlendiği değişik araştırmacılar tarafından kaydedilmiştir (Kim ve Yoo 2002, Ullah vd. 2011, Yorulmaz vd. 2013, Rameshgar vd. 2019). Fakat, düşük düzeyde direnç tespit edilmiş popülasyonların bir kısmı faydalı faunada bulunan akarlardan ibarettir. Çalışmamızda, abamectin uygulamasında hassas popülasyon (GSS) için LC<sub>50</sub> değeri 0.22 mg/l olarak tespit edilmiştir. Tarladan toplanan 12 popülasyon ise ayırıcı dozu geçememiş; ayırıcı dozu geçen popülasyonların (32 tanesi) LC<sub>50</sub> değeri hassas popülasyonda belirlenen LC<sub>50</sub> değerine kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir. Abamectin ile ilgili direnç kıyaslamasında kapalı alan, beslendiği bitki gibi faktörler etkili olabilir. Ancak, kıyaslama olarak kullanılan standart hassas popülasyonun çalışmalarda (GSS, London veya tarla hassası) aynı olmaması ve farklı yöntemlerin (rezidü, püskürtme vs.) uygulanmış olması gibi nedenler ile “dirençli” deyimini kullanılması yanıltıcı olabilir. Dirençli denilen popülasyonlarda diğer mekanizmaların (enzim, mutasyon) araştırılmış olmaması da ikileme neden olabilmektedir.

Yapılan bu çalışmada 44 popülasyondan 16 tanesinin uygulama dozunda % 80’den az ölüm gösterdiği, bunlardan ise 6 tanesinin düşük dirençli, diğer 10 popülasyondan 3’ünün yüksek dirençli ve 7’sinin orta düzeyde abamectine dirençli olduğu tespit edilmiştir. Böylece, 44 popülasyondan yaklaşık 3 ’te birinin (% 36) hassasiyetinde düşüş belirlenmiştir. Bu bulgular abamectin’in sıcakkanlılara yüksek toksisiteye (oral toksisite 10 mg/kg) sahip olduğu dikkate alındığında popülasyonlarda hassasiyet kaybı görüldüğü belirlenmiştir. Kısa sürede çoğalabilen akarlar karşı bu akarisit art arda kullanılmaması, bir başka ifade ile seçilen akarisitlerde münavebe yapılması önerisi akarlar ile savaşmada etkili olabilir. Ayrıca direnç gelişimini engellemenin diğer bir yolu kırmızı örümcekler gibi doğal düşmanları olan bu zararlı türlerin kontrolünde biyolojik mücadeleye önemin verilmesi ve seçilecek akarisitlerin doğal düşmanlara karşı seçici olanlarının tercih edilmesidir.

Bifenazate için yürütülen biyoassay çalışmaları sonucu popülasyonlarda elde edilen LC<sub>50</sub> ve LC<sub>90</sub> değerleri Çizelge 4.6 ’de verilmiştir. Çizelge 4.6 incelendiğinde popülasyonlar arasında LC<sub>50</sub> değerlerinin farklı düzeylerde olduğu görülmüştür. Popülasyonlar arasında bifenazate ’ın diğer etken maddelere göre halen etkisini koruduğu Çizelge 4.6’dan

anlaşılmaktadır. Düşük LC değerinin en fazla Çizelge 4.6'da olması ve daha fazla popülasyonda bulunması toksisitesinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu popülasyonlar arasında 4 ve 2 no.'lu popülasyonların diğer popülasyonlara göre daha dirençli olduğu anlaşılmaktadır. Hassasiyeti en yüksek popülasyonun 6 no.'lu, en düşük ise 4 no'lu popülasyon olduğu LC oranlarında ortaya çıkmıştır. Sonraki en yüksek toksik etki görülen iki popülasyon ise 20 ve 16 no'lu popülasyonlar olduğu, bunlarında yüksek hassasiyete sahip olduğu sonuçlardan anlaşılmaktadır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 *Tetranychus urticae* popülasyonlarında bifenazate uygulamasında hesaplanan LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub> değerleri ve hesaplanan direnç oranları

Popülasyon no	n	Eğim±SH <sup>1</sup>	LC <sub>50</sub> (mg a.i./l) (0.95 Güven aralıkları)	LC <sub>90</sub> (mg a.i./l) (0.95 Güven aralıkları)	x <sup>2</sup>	df	*Direnç Oranı
2	394	10.13±1.05	30.17 b (29.14 – 31.29)	40.37 (37.98 – 44.06)	11.4	12	44.90
3	378	2.71±0.33	1.81 d (1.48 – 2.11)	5.36 (4.26 – 7.83)	13.4	12	2.69
4	390	4.98±0.62	57.01 a (51.67- 62.73)	89.67 (77.87- 117.73)	27.4	12	84.84
6	377	4.28±0.65	1.55 e (1.34 – 1.77)	3.097 (2.49 – 4.93)	17.3	12	2.31
8	377	4.02±0.46	2.45 cd (2.05 – 3.04)	5.10 (3.82 – 9.83)	35.5	12	3.64
16	394	6.44±1.90	1.67 e (1.16 – 1.82)	2.64 (2.33 – 4.54)	12.3	12	2.48
20	394	6.26±0.87	1.64 e (1.49 – 1.81)	2.63 (2.26 – 3.53)	16.6	12	2.45
28	394	5.66±0.86	2.87 c (2.56 – 3.10)	4.83 (4.35 – 5.73)	8.1	12	4.26
30	392	3.85±0.47	1.78 e (1.58 – 1.97)	3.84 (3.32 – 4.79)	10.8	12	2.66
34	392	4.64±0.61	2.30 d (2.11 – 2.53)	4.35 (3.69 – 5.67)	11.1	12	3.42
Hassas (GSS)	391	4.98±0.62	0.67 f (0.62- 0.72)	1.22 (1.05-1.53)	8	12	-

\*Direnç oranı: Tarla popülasyonu (LC<sub>50</sub>) / Hassas (GSS) popülasyonu (LC<sub>50</sub>)

Bifenazate 'li B.K.Ü. uygulamasında Çizelge 4.6 incelendiğinde popülasyonlar arasında tümünde olmasa da yakın düzeylerde direnç oranları seyrettiği görülmektedir. Buna göre LC<sub>50</sub> değeri en düşük (1.55 mg/l) 6 numaralı popülasyonda, en yüksek (57.01 mg/l) ise 4

numaralı popülasyonda ortaya çıktığı görülmektedir. Denemede *T. urticae* popülasyonlarının bifenazate 'a karşı en düşük 2.31 kat ve en yüksek ise 84.84 kat arasında direnç geliştirdikleri görülmüştür. Buna göre LC<sub>50</sub> değeri düşük düzeyde olan (1.55, 1.64, 1.67, 1.78, 1.81, 2.30, 2.45 ve 2.87 mg/l) toplamda 8 popülasyon olduğu, 2 popülasyonda (30.17 ve 57.01 mg/l) ise orta düzeyde direncin ortaya çıktığı görülmektedir. LC<sub>50</sub> güven aralıkları istatistiki kıyaslamaları sonucu 2 numaralı popülasyonun (b) başka bir grupta yer aldığı, 4 numaralı popülasyonun (a) başka bir grup içerisinde bulunduğu, 6, 16, 20 ve 30 numaralı popülasyonların ise (e) aynı grupta yer aldığı bulunmuştur. Bakılan diğer popülasyonlardan 3 ve 34 numaralı popülasyonların (d) aynı grupta yer aldığı ancak 8 numaralı popülasyonun (cd) farklı bir grupta yer almasına rağmen güven aralıklığının çakıştığı belirlenmiştir. Hassas ve 28 numaralı popülasyonun ise sırasıyla (f), (c) farklı grupta yer aldığı bulunmuştur.

Dünyada pamuk bitkisinde bu zararlıya karşı fazla çalışmanın olmaması ve bu etken madde de çalışmanın az olmasından dolayı sonuçlarımızı, araştırmacıların yaptığı farklı konukçulardaki ve farklı etken maddeli (aynı etki mekanizmasına sahip acequinocyl de dahil edildiğinde) çalışmalar ile karşılaştıracak olursak yüksek direnç ile çok karşılaşamadığı görülmektedir. Yapılan çalışmalarda bazı uygulama dozlarında düşük ölüm görüldüğü bildirilmektedir (Kim ve Seo 2001, Papapostolou vd. 2021). Bunlardan bazılarının kapalı alanlardan elde edilen ve ticari gül ve çilek alanlarındaki akarlarda olduğu görülmektedir (Yu vd. 2005, Sugimoto ve Osakabe 2019). Örtüaltı alanlarının kontrollü şartlar dahilinde olmasından dolayı buraya yapılan ilaç uygulamasının tarla uygulamalarına göre daha fazla olması normaldir. Bu alanlarda ise doğada görülen normal seviyenin değil, ilaç baskısı altında kalan alanlarda görülen ortalama üzeri direncin görülmesi beklenir.

Yaptığımız çalışma ile araştırmacıların (Piraneo vd. 2015) yapmış olduğu ölçeği göz önüne aldığımızda, *T. urticae* popülasyonları arasındaki bifenazate 'li B.K.Ü. 'ye karşı 8 popülasyonda düşük direnç görüldüğü (2.31 – 4.26 kat), 2 popülasyonun ise orta düzeyde direnç (44.90 ve 84.80 kat) görülmüştür (Çizelge 4.6). Farklı konukçularda ve aynı etki mekanizmasında sahip acequinocyl 'de yapılan denemelerin bulduğumuz sonuçlar ile aynı düzeyde gittiği hatta daha düşük direnç oranlarının görüldüğü çalışmalarda

bildirilmektedir (Lee vd. 2003, Van Leeuwen vd. 2005, Van Leeuwen vd. 2006, Ochiai vd. 2007, Van Pottelberge vd. 2009b, Khajehali 2010, Tirello vd. 2012, Piraneo 2013, Latheef ve Hoffmann 2014, Tang vd. 2014a, Wang vd. 2015, Xu vd. 2018, Chen vd. 2019). Bu sonuçlardanda anlaşılacağı üzere konukçuların ilaçlanma sıklığının düşük olması ve acequinocyl gibi başlangıç toksisitesinin yüksek olması etkilidir. Bifenazate içeren B.K.Ü 'nde direnç oranlarının 2 popülasyon hariç (2 ve 4 numaralı) düşük düzeyde seyrettiği ortaya konmuştur. Bu ise popülasyonlar arasında hassasiyetin halen yüksek görüldüğünü ancak 2 popülasyonda hassasiyetin düştüğünü göstermektedir. Hassasiyeti düşen popülasyonların Diyarbakır ve Aydın illerinden toplanan popülasyonlar olduğu belirlenmiştir. Ruhsatlı uygulama dozu (144 ppm) yönünden bakılacak olunursa, denemeye alınan 44 popülasyondan hiç birinin bu dozu geçemediği görülmektedir. Hassas popülasyon ile karşılaştırılması yapıldığında ise dirençli görülen bu bireylerin, uygulama dozunda halen bu etken maddenin kırmızıörümceklerde etkin olduğunu görmekteyiz. Sonuçlar uygulama dozunun etkisini koruduğu ve halen etkinliğin üst seviyede olduğunu bu popülasyonlarda bize göstermektedir. Bifenazate 'in karbazat grubu akarisit olduğu, bunun ise esteraz enzim mekanizması ile etkili maddenin aktif hale getirildiği bildirilmiştir (Van Leeuwen vd. 2007). Araştırmacılar bu bileşiğin değişen esteraz inhibisyonunun akarisit aktivasyonunda rol oynadığını ve buna bağlı etkinliğinin düştüğünü bildirmektedirler (Van Leeuwen vd. 2007). Yapılan bir çalışmada başka akarisitlerle karışım halinde kullanılan bifenazate 'in yalnız başına kullanımına göre etkisinin düşük olduğunu bildirmektedirler (Khajehali vd. 2009). Bifenazate maddesinin sıcakkanlılardaki toksisitesinin abamectin ve tebufenpyrad etken maddesine göre düşük toksik grupta yer aldığı bilinmektedir. Buna rağmen tarla popülasyonlarında toksisitenin yüksek görülmesi, öncesinde yapılan farklı konukçulara ilaçlamalardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Yaptığımız çalışmada pamuk tarlalarından toplanan popülasyonların birçok ilaçlamaya maruz kaldığı bilinmektedir. Bulduğumuz sonuçlara göre popülasyonların toplanması öncesinde çiftçiler tarafından yapılan ilaçlamaların enzimleri (esteraz) yükselttiği düşünülmektedir. Neredeyse her hafta başka bir ilaçlamanın olduğu thrips, yaprakbiti, yaprakpiresi, kırmızıörümcek, beyazsinek, *lygus*, pembekurt, yeşilkurt ve dikenlikurt gibi emici ve kemirici zararlılara karşı bitkileri savunmak için yapılan ilaçlamaların, akarların metabolik aktivitesinde etkili olduğu ve arttırdığı

düşünülmektedir. Bu nedenle toplanan popülasyonlarda bifenazate 'ın etkili olduğu kanaati oluşmaktadır.

Araştırmacılar bir çalışmada 6 akarisit bifenazate 'ın uygulamada en etkili 3. akarisit olduğunu bildirmektedirler (Massoud vd. 2018). Çalışmamızda ise toplamda kullanılan 3 etken madde içinde bifenazate 'ın en etkili olduğu belirlenmiştir. Ayırıcı dozu geçen popülasyon sayısının abamectin 'den sonra en düşük 2. sırada yer aldığı belirlenmiştir. Ancak hassas popülasyonda yapılan ayırıcı doz etkinliğe bakıldığında en etkili 2. ilaç olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3). Başka bir çalışmada bifenazate'in Türkiyede ruhsatlı uygulama dozunun beşte birinde (28.80 ppm) yapılan uygulamada % 98.70 ölümün görüldüğü (İnak vd. 2019), yine farklı bir ülkede uygulama dozunun beş kat düşüğünde (19.20 ppm) en yüksek % 100 ölümün görüldüğünü araştırmacılar bildirmektedir (Simma vd. 2020). Bu çalışmaların yaptığımız çalışmayı doğrular nitelikte olup, ülkemizdeki uygulama dozunun beşte birini (28.80 ppm) dikkate aldığımızda 2 popülasyon haricinde ölüm oranının bütün popülasyonlarda % 100 olduğu görülmektedir.

Bifenazate için hassas GSS popülasyon uygulamasında LC<sub>50</sub> değeri 0.67 mg/l olarak çıkmıştır. Yaptığımız çalışmada hassas popülasyonun LC<sub>50</sub> değeri abamectin ile yapılan çalışmaya göre daha yüksek çıkmış, toksisitesi ise abamectine göre düşük olmuştur (Çizelge 4.3). Bu durum sıcakkanlılardaki düşük toksisitesine (5000 mg/kg) göre normaldir. Hassas popülasyonda yaptığımız bifenazate uygulamasında diğer etken maddelerin LC<sub>50</sub> oranına baktığımızda en yüksek toksisite gösteren ikinci madde olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3). Denemede düşük düzeyde direnç görülen popülasyonların Şanlıurfa, Adana ve Diyarbakır illerinden olduğu, orta dirençli popülasyonların ise Diyarbakır ve Aydın illerine ait olduğu görülmektedir (Çizelge 4.6). Yaptığımız çalışmada tarla popülasyonlarından 27 tanesi ayırıcı dozu geçememiş, ayırıcı dozu geçen popülasyonların (17 tanesi) ise hassas popülasyonun LC<sub>50</sub> değerine göre daha yüksek çıkmıştır. Tarla popülasyonlarında bifenazate 'ın toksisitesi abamectin ve tebufenpyrad etken maddelerinin tarla popülasyonlarındaki toksisiteye göre yüksek çıkmıştır. Ancak direnç katsayısı ve LC<sub>50</sub> oranları abamectin 'e göre düşük çıkmıştır. Özetle yaptığımız çalışmanın araştırmacıların yapmış olduğu çalışmalar ile benzer şekilde sonuçlar verdiği görülmektedir. Ayırıcı dozu geçen ve denemeye alınan 10 popülasyon (2, 3, 4, 6, 8, 16,

20, 28, 30 ve 34 no.'lu popülasyonlar) hassas popülasyon ile kıyaslandığında 2 popülasyonda orta düzeyde direnç seviyesi belirlenirken diğer popülasyonlarda da başlangıç düzeyinde direnç gözlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.7 *Tetranychus urticae* popülasyonlarında tebufenpyrad uygulamasında hesaplanan LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub> değerleri ve hesaplanan direnç oranları

Popülasyon no	n	Eğim±SH <sup>1</sup>	LC <sub>50</sub> (mg a.i./l) (0.95 Güven aralıkları)	LC <sub>90</sub> (mg a.i./l) (0.95 Güven aralıkları)	x <sup>2</sup>	df	*Direnç Oranı
4	391	2.26±0.28	96.39 a (81.37 – 114.20)	355.97 (264.85 – 563.55)	10.5	12	12.87
8	387	3.40±0.32	24.73 b (21.47 – 28.44)	58.97 (48.14 – 79.46)	14.6	12	3.30
28	390	3.33±0.47	21.82 b (19.03 – 24.81)	52.90 (42.67 – 75.56)	10	12	2.91
Hassas (GSS)	411	3.29±0.33	7.49 c (6.58 – 8.43)	18.37 (15.58 – 23.00)	2.4	12	-

\* Direnç oranı: Tarla popülasyonu (LC<sub>50</sub>) / Hassas (GSS) popülasyonu (LC<sub>50</sub>)

Çizelge 4.7 incelendiğinde 3 popülasyon arasında farklı düzeylerde MET11 gurubundan tebufenpyrad direnç oranlarının elde edildiği görülmektedir. Buna göre LC<sub>50</sub> değeri en düşük (21.82 mg/l) 28 no.'lu popülasyonda, en yüksek (96.39 mg/l) ise 4 numaralı popülasyonda gözlenmiştir. Denemedeki LC<sub>50</sub> güven aralıkları istatistiki karşılatırmaları dikkate alındığında 4 numaralı ve hassas popülasyonun (a ve c) farklı gruplandırmada yer aldığı, 8 ve 28 numaralı popülasyonun ise (b) aynı grup içerisinde yer aldığı belirlenmiştir. Denememizde *T. urticae* popülasyonları arasındaki tebufenpyrad 'a karşı en az 2.90 kat ve en yüksek 12.90 kat direnç görülmüştür. Çalışmamızı Piraneo vd. (2015) tarafından yapılan ölçeği ile karşılaştırdığımızda, *T. urticae* popülasyonları arasındaki tebufenpyrad içeren B.K.Ü.'ne karşı LC<sub>50</sub> değeri 21.82 ve 24.73 mg/l olan 2 popülasyonda zayıf direnç görüldüğünü (2.90 – 3.30 kat), diğer popülasyonun ise 96.39 mg/l LC<sub>50</sub> değeri ile orta düzeyde dirençli olduğunu (12.90 kat) ortaya çıkarmıştır (Çizelge 4.7). Çalıştığımız kültür bitkisinde ve kullanılan tebufenpyrad etken maddesinde çok fazla çalışma bulunmamasından dolayı aynı etki mekanizmasına sahip olan pyridaben, fenazaquin, fenpyroximate gibi maddelerin kullanıldığı farklı kültür bitkilerinden toplanarak yapılan direnç çalışmaları ile karşılaştırmalar yapılmıştır. Buna

göre çalışmalarda düşük dirençli (1-3 kat) bulunan popülasyonların (Fahnbulleh 2007, Van Pottelberge vd. 2009b, Khajehali 2010, Nicastro vd. 2013, Xu vd. 2018) az sayıda olduğu, orta dirençli bulunan popülasyonların (Devine vd. 2001, Ay ve Kara 2011, Tirello vd. 2012, Sharma ve Bhullar 2018, Wu vd. 2019, Papapostolou vd. 2021) ise 24 – 74 kat arasında değiştiği bildirilmektedir. Tebufenpyrad 'ta yüksek direnç görülsede (Ochiai vd. 2007, Koh vd. 2009, Van Pottelberge vd. 2009a, Tirello vd. 2012) farklı etken maddelerde (pyridaben, fenazaquin, fenpyroximate gibi) direnç oranlarının çok daha yüksek olduğu (55 - 5971 kat) bildirilmektedir (Devine vd. 2001, Nauen vd. 2001, Koh vd. 2009, Van Pottelberge vd. 2009a). Araştırmacıların yapmış olduğu çalışmada fenpyroximate etken maddesinin 6 akarisit içinde en etkili 4. sırayı aldığını bildirmektedirler (Massoud vd. 2018). Çalışmamızda tebufenpyrad etken maddesinde ayırıcı dozu ancak 3 popülasyon geçmiştir. Bu oran diğer 2 etken maddeye göre en iyi koruyuculuğu sağlayan etken madde olduğunu göstermektedir. Ancak hassas popülasyon değilde uygulama dozu olarak kıyaslanacak olunursa, uygulama dozunun 120 ppm olduğu, bu ayırıcı dozu geçen 3 dirençli popülasyonun da uygulama dozunu geçmediğini ve tebufenpyrad etken maddesinin diğer etken maddeler arasında koruyuculuğunu sağladığı görülmektedir. Fakat yukarıda belirtilen araştırmacıların çalıştığı uygulama dozunun yüksek olması ile 6 akarisit içerisinde en etkili 4. akarisitinin olması, çalışmamızı doğrulamakta ve 3 akarisit içinde etkin bulunmuş ancak uygulama dozundan dolayı 2. en etkin olduğu görülmüştür. Farklı guruptan abamectin 'e (9 ppm) göre uygulama dozuyla karşılaştırıldığında toksisitesinin düşük olduğu görülmektedir.

Popülasyonlar arasında tebufenpyrad etken maddesinin diğer etken maddelerine göre halen etkili olduğu, ayırıcı dozda % 80'den az ölüm görülen popülasyonların LC denemelerine baktığımızda direncinde yükselme olmadığı anlaşılmaktadır. Ele alınan pek çok popülasyondan (44 popülasyon) yalnız bu üç popülasyonun diğerlerine göre dirençli olduğu LC denemeleri sonucunda belirlenmiştir. Bu üç popülasyon için karşılaştırma yapılacak olunursa; ayırıcı dozu geçen ve LC denemesine aldığımız da hassasiyeti en yüksek popülasyonun 28 no.'lu, en düşüğün ise 4 no'lu popülasyon olduğu LC<sub>50</sub> oranlarından görülmektedir.

Piraneo vd. (2015) ölçeğine göre guruplandığımızda popülasyonlarımızda hassasiyet kaybının orta düzeyde ve başlangıç seviyesinde olduğu görülmektedir. Popülasyonlar arasında hassasiyette genel anlamda çok kayıp olmadığı görülmüştür. Çünkü bakılan 44 popülasyondan yalnızca 3 popülasyon ayırıcı dozu geçebilmiştir (Çizelge 4.4). LC<sub>50</sub> oranlarının arttığı ve etken maddenin toksisitesinin düştüğü popülasyonların Aydın, Şanlıurfa ve Diyarbakır illerimizden toplanan popülasyonlar olduğu belirlenmiştir. Hassas popülasyon (GSS) 'da yaptığımız tebufenpyrad uygulamasında LC<sub>50</sub> (Çizelge 4.3) 7.49 mg/l olarak belirlenmiştir. Hassas popülasyonun ayırıcı doz çalışmasında denenen etken maddeler içinde en yüksek LC<sub>50</sub> oranı ile en düşük toksisite gösteren etken madde tebufenpyrad olmuştur (Çizelge 4.3).

Kısaca tebufenpyrad için hassas popülasyonu dikkate alarak direnç oranlarını gözden geçirdiğimizde, popülasyonlar arasında hassasiyetin halen yüksek olarak görüldüğü yalnız 1 popülasyonda düştüğü belirlenmiştir. Bu hassasiyeti düşen popülasyonun Aydın ilinden toplanan popülasyon olduğu tespit edilmiştir.

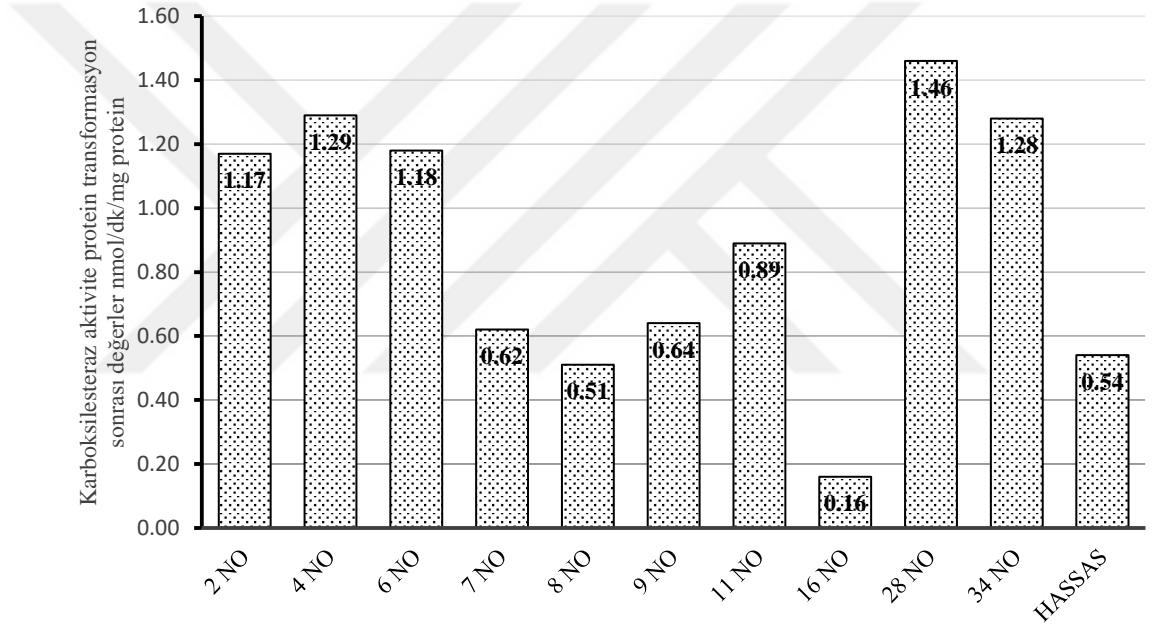
Çalışmamızda abamectin'in tarla popülasyonlarındaki toksisitesinin bifenazate ve tebufenpyrad'a kıyasla daha düşük düzeylerde olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla, uygulama dozunu geçen en fazla popülasyon abamectin uygulamasında tespit edilmiştir. Benzer şekilde, ayırıcı dozu geçen en fazla popülasyon abamectin uygulamasında belirlenmiştir. Çalışmamızda araştırılan 3 akarisitte etkinlik sıralaması yapılacak olursa, abamectin en sonuncu sırada yer almıştır. Ancak, hassas popülasyonda yapılan ayırıcı doz çalışmasında ise toksisitenin yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Biyoassay denemeleri sonrası yürütülecek moleküler çalışmalar ve biyokimyasal analizler için popülasyonlar arasındaki dirençli görülen önemli popülasyonlar seçilmiştir. Bu popülasyonların seçiminde ise ayırıcı doz uygulamasında belirlenen abamectin için 1.099 ppm (mg/l), bifenazate için 1.972 ppm (mg/l) ve tebufenpyrad için 38.190 ppm (mg/l) dozunun uygulanması sonrası % 80 altında canlı kalan ve en düşük ölüm oranına sahip olan popülasyonlar içinden seçilmiştir.

### 4.3 Biyokimyasal Analizler

#### 4.3.1 Toplam karboksilesteraz enzim aktivitesinin belirlenmesi

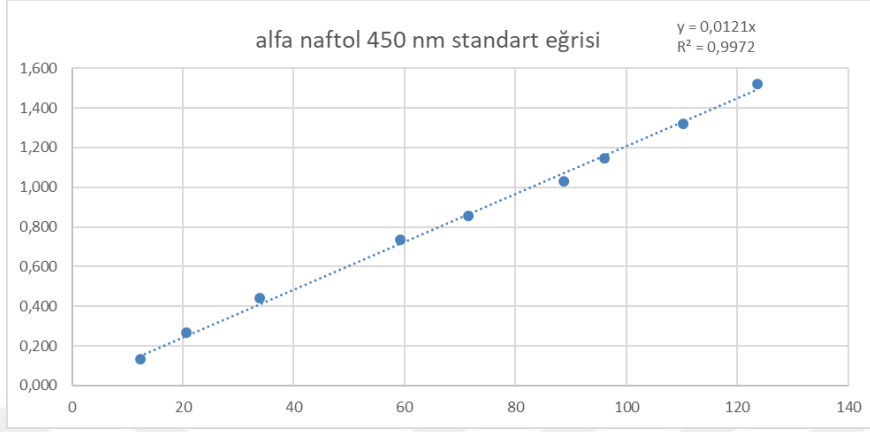
Çalışmamızda karboksilesteraz kinetik enzim aktivitesinin protein transformasyonu sonrasında 4 ve 28 nolu popülasyonda en yüksek düzeyde olduğu, 8 ve 16 nolu popülasyonda ise hassas popülasyonda belirlenen değerden daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Toplam karboksilesteraz aktivite protein transformasyon sonrası değerler (nmol/dk/mg protein)

Popülasyonların mOD değerleri proteine çevrilip, hassas popülasyon ile kıyaslanarak direnç katsayısı belirlenmiştir. Dolayısıyla, 28 ve 4 nolu popülasyonları hassas popülasyon ile kıyaslandığında 2.70 ve 2.38 kat enzim aktivite artışı belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Diğer popülasyonlarda, en yüksek direnç oranına 34 (2.37 kat), 6 (2.18 kat) ve 2 (2.16 kat) nolu popülasyonların sahip olduğu tespit edilmiştir. Direnç oranının 7, 9 ve 11 nolu popülasyonlarda (1.15, 1.18 ve 1.65 kat) birbirine yakın çıktığı belirlenmiştir.

Çalışmada 8 ve 16 numaralı popülasyonlar hassas popülasyon ile kıyaslandığında hassas popülasyon verilerinin altında kalan değerlere sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8).



Şekil 4.4  $\alpha$ -naftol standart eğrisi

Çizelge 4.8 *Tetranychus urticae* popülasyonlarında esteraz enzim aktivite değerleri ve direnç oranları

Popülasyon	n *	U / ml	nmol/dk/mg protein	D/H**	Abamectin LC <sub>50</sub> direnç oranı	Bifenazate LC <sub>50</sub> direnç oranı	Tebufenpyrad LC <sub>50</sub> direnç oranı
( Ort $\pm$ Std. Hata)							
2	3	0.30	1.17 $\pm$ 0.04b	2.16	156.50	44.90	-
4	3	0.54	1.29 $\pm$ 0.08b	2.38	109.00	84.84	12.86
6	3	0.21	1.18 $\pm$ 0.02b	2.18	61.30	2.30	-
7	3	0.26	0.62 $\pm$ 0.005d	1.15	82.90	2.06	-
8	3	0.32	0.51 $\pm$ 0.02d	0.94	42.00	3.64	3.30
9	3	0.33	0.64 $\pm$ 0.05d	1.18	47.00	2.02	-
11	3	0.42	0.89 $\pm$ 0.02c	1.65	34.00	1.73	-
16	3	0.18	0.16 $\pm$ 0.01e	0.30	34.70	2.48	-
28	3	0.24	1.46 $\pm$ 0.04a	2.70	113.30	4.26	2.91
34	3	0.25	1.28 $\pm$ 0.02b	2.37	18.09	3.42	-
Hassas	3	0.15	0.54 $\pm$ 0.07d	-	-	-	-

\* Tekerrür sayısı

\*\* D/H: Dirençli/ Hassas popülasyon enzim aktivite oranı

Aynı sütun içindeki aynı harfi içeren ortalamalar arasındaki fark Tukey testine göre istatistiki olarak önemli değildir (P=0.05)

Çalışmada *T. urticae* popülasyonları mikropilaka hücrelerinde kinetik okuma sonucu belirlenen toplam esteraz enzim aktivitesi sonuçları Çizelge 4.8 'da verilmiştir. Esteraz enzim aktivite sonuçları irdelendiğinde, pamuk alanlarından toplanan popülasyonlarda esteraz enzim aktivitelerinin sayısal değerleri GSS 'de, 8 ve 16 numaralı popülasyonlara kıyasla yüksek olarak belirlenmiştir. *Tetranychus urticae* popülasyonlarında esteraz enzim aktivitesinin sayısal değerleri 0.62 – 1.46 nmol dk/mg/protein değerleri arasında değişmiştir (Çizelge 4.8). En yüksek esteraz enzim aktivitesi 1.46 nmol dk/ mg/ protein okuma değeriyle 28 nolu popülasyonda belirlenmiştir. Varyans analizi sonucu 28 nolu popülasyon diğer popülasyonlarla kıyaslandığında istatistiki olarak (a) farklı grupta yer aldığı tespit edilmiştir (F=109.763; df=10; P<0.01). Diğer popülasyonların esteraz enzimlerinin sayısal değerleri istatistiki olarak farklı gruplar içerisinde yer almıştır (F=109.763; df=10; P<0.01).

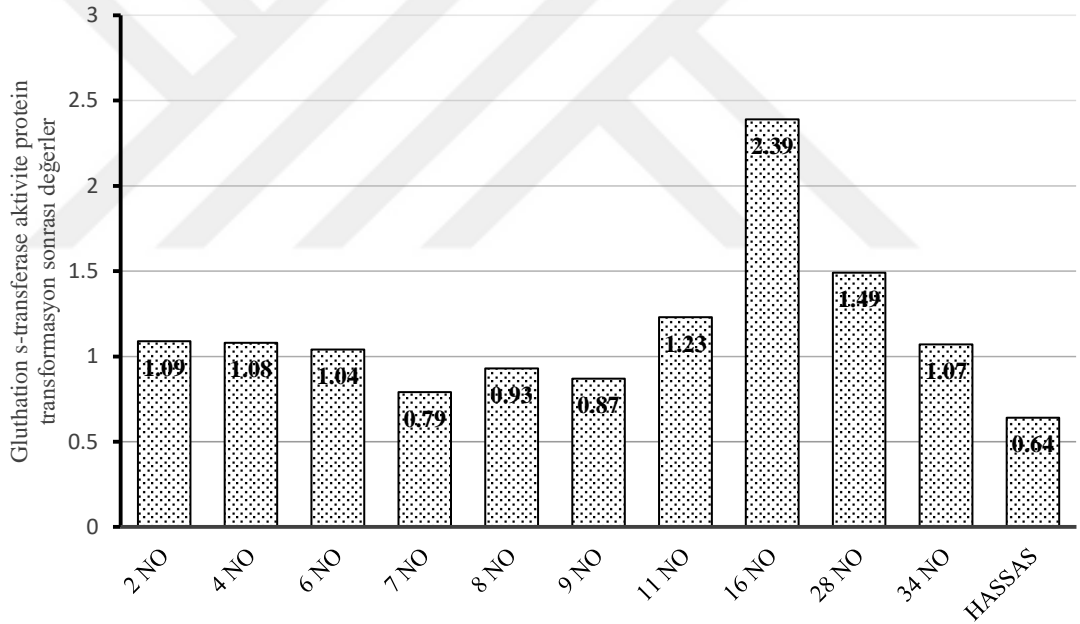
Esteraz enzim sonuçlarına göre popülasyonlar arasında etken maddelere karşı oluşan dirençte, bu enzimin 8 ve 16 nolu popülasyon haricinde, hassas popülasyona göre kıyaslandığında toplamda beş popülasyonda 2 katın üzerinde; diğer popülasyonlarda ise 1 katın üzerinde aktivite oranı görülmüştür. Okuma değerlerinin hassas popülasyon değerleri ile kıyaslandığında enzimin canlı bünyesinde etken maddelere karşı zararlıının hayatta kalmasına etkisinin yüksek olduğu; dolayısıyla esteraz enziminin pestisitlere direnç gelişiminde rol alabileceği düşünülmektedir. Çalışmamız sonuçları, çok sayıda yazar tarafından tespit edilen sonuçlarla paralel olmuş; abamectin direncinde, esteraz enziminin direnç gelişiminde katkısının olabileceği bu araştırmacılar tarafından da kaydedilmiştir (Lin vd. 2009, Negm vd. 2009, Kwon vd 2010b, Yorulmaz vd. 2013, Çağatay vd. 2018, Solmaz vd. 2020). Bazı araştırmacılar karboksil/kolin (CCE)' in insektisit veya akarisitlere direnç kazanmada bu bölgelerin rol aldığını söylemişlerdir (Wei vd. 2019a, Wei vd. 2019b). Aksine, yapılan bazı araştırmalarda ise abamectine direnç gelişiminin esteraz enzimi ile ilgili olmadığı; bunun yerine, hedef bölge veya diğer enzim gurupları ile ilgili olabileceği bildirilmiştir (Stumpf ve Nauen 2002, Kwon vd. 2010a, Riga vd. 2014, Rameshgar vd. 2019). Bazı araştırmacılar ise abamectin kaynaklı direnç gelişiminde esteraz enziminin, istatistiki olarak bir fark bulunmamasına rağmen, katkısının olabileceğini bildirmiştir (Yorulmaz ve Ay 2009, Memarizadeh vd. 2013).

Bifenazate ile yapılan çalışmalar sonucu, 2 popülasyon (4 ve 2 nolu) haricinde, diğer popülasyonlarda direncin düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. Bu enzimin bifenazate'ye direnç gelişiminde katkısının bariz olmadığı çalışmamız sonucunda belirlenmiştir. Bifenazate ile yapılan biyoassay çalışmaları sonucu şayet direnç gelişimi yüksek düzeyde olsaydı, 2 kattan fazla çıkan esteraz okuma aktivitelerinin katkısının olabileceği düşünülebilirdi. Ancak, esteraz enzim aktivitesi yüksek çıkan popülasyon (28 nolu popülasyonda 2.70 kat) irdelendiğinde biyoassayda (28 nolu popülasyonda 4 kat direnç) düşük direnç katsayısına sahip olduğu, diğer 4 numaralı popülasyonun 84 ve 2 numaralı popülasyonun da 44 kat direnç oranı gözlemlenirken bu popülasyonların ise hassas popülasyona göre yüksek ancak popülasyonlar arasında ise düşük esteraz enzim katsayısına sahip olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.8). Esteraz enziminin bifenazate'ye direnç gelişiminde rol almadığını bildiren pek çok çalışma mevcuttur (Van Leeuwen vd. 2006, Van Nieuwenhuyse vd. 2009, Liang vd. 2018). Tebufenpyrad ile ilgili olarak, benzer şekilde, yüksek dirençli popülasyonun ortaya çıkmadığı, denemeye aldığımız 44 popülasyondan sadece 3 popülasyonun dirençli olduğu tespit edilmiştir. Biyoassay çalışmalarında en yüksek dirençli 4 nolu popülasyonun 13 kat direnç oranına sahip olduğu; 2. derecedeki dirençli bulunan popülasyonun (8 no.'lu) ise 3.30 katı olduğu tespit edilmiştir. Ancak, esteraz enzimine bakıldığında 4 no.'lu popülasyonda 2.38 kat daha fazla esteraz enziminin çalıştığı, 8 no.'lu popülasyonda ise hassas popülasyondan daha düşük enzim kat sayısı olduğu tespit edilmiştir. Esteraz enziminin tebufenpyrad'a direnç gelişiminde rolünün veya katkısının düşük olacağı düşünülmektedir. Benzer şekilde, aynı etki mekanizmasına sahip, farklı etkili madde veya aynı etkili madde ile yapılan çalışmalarda direnç gelişimine esteraz enziminin katkısının olmadığı veya düşük olabileceği şeklinde tespitler bulunmaktadır (Van Pottelberge vd. 2009a, Tirello vd. 2012). Aksine, bu enzimin direnç geliştirmede katkısının bulunabileceği şeklinde tespitler de bulunmaktadır (Ay ve Kara 2011).

Kısaca, 8 ve 16 numaralı popülasyonlar hariç, enzim okuma değerleri hassas popülasyonla kıyaslandığında enzimlerin arttığı tespit edilmiştir. Diğer bir enzim olan GST enzimi ile kıyaslandığında ise esteraz seviyelerinde artış oranının daha yüksek olduğu, P-450 enzimine kıyasla ise düşük kaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10).

#### 4.3.2 Gluthation s-transferase enzim aktivitesinin belirlenmesi (GST enzimi kinetik okuma sonuçları)

GST kinetik enzim aktivitesi protein dönüşümü sonrasında 7 numaralı popülasyonun hassas popülasyona göre hafif yüksek çıkmış ancak popülasyonlar arasında düşük aktivitesi (0.79 nmol/dk/mg protein) olduğu belirlenmiştir. En yüksek aktivitenin ise 16 no.'lu popülasyonda (2.39 nmol/dk/mg protein) olduğu belirlenirken, ardından 28 no.'lu (1.49 nmol/dk/mg protein) popülasyonunda en yüksek 2. enzim aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4. 5).



Şekil 4. 5 Gluthation S-Transferase aktivite protein transformasyon sonrası değerler (nmol/dk/mg protein)

Popülasyonlarda belirlenen mOD değerleri proteine çevrilip hassas popülasyon ile kıyaslandığında oluşan direnç katsayısı kıyaslanmıştır (Çizelge 4.9). En yüksek direnç 3.73 kat ile en yüksek etki 16 no.'lu popülasyonda belirlenmiştir. Diğer popülasyonların 1 kat üzerinde direnç oranına sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 *Tetranychus urticae* popülasyonlarında GST enzim aktivite değerleri ve direnç oranları

Popülasyon	n *	U / ml	nmol/dk/mg protein	D/H**	Abamectin LC <sub>50</sub> direnç oranı	Bifenazate LC <sub>50</sub> direnç oranı	Tebufenpyrad LC <sub>50</sub> direnç oranı
( Ort ± Std. Hata)							
2	3	3.19	1.09±0.02d	1.70	156.50	44.90	-
4	3	5.00	1.08±0.02d	1.68	109.00	84.84	12.86
6	3	2.02	1.04±0.02d	1.62	61.30	2.30	-
7	3	1.33	0.79±0.03f	1.23	82.90	2.06	-
8	3	2.35	0.93±0.01e	1.45	42.00	3.64	3.30
9	3	1.80	0.87±0.02ef	1.36	47.00	2.02	-
11	3	2.35	1.23±0.01c	1.92	34.00	1.73	-
16	3	4.84	2.39±0.01a	3.73	34.70	2.48	-
28	3	3.27	1.49±0.01b	2.32	113.30	4.26	2.91
34	3	3.05	1.07±0.001d	1.67	18.09	3.42	-
Hassas	3	1.94	0.64±0.03g	-	-	-	-

\* Tekerrür sayısı

\*\* D/H: Dirençli/ Hassas popülasyon enzim aktivite oranı

Aynı sütun içindeki aynı harfi içeren ortalamalar arasındaki fark Tukey testine göre istatistiki olarak önemli değildir (P=0.05)

Yaptığımız GST enzim çalışması sonuçları diğer araştırmacıların yaptığı çalışma sonuçları ile benzerlikler göstermektedir. GST enzim aktivite sonuçları irdelendiğinde, pamuk alanlarından toplanan popülasyonların GST enzim aktivitelerinin sayısal değerlerinin GSS popülasyonları hariç 1.23 – 3.73 kat arasında olduğu belirlenmiştir. *Tetranychus urticae* popülasyonlarında GST enzim aktivitesinin sayısal değerleri 0.79 – 2.39 nmol dk/mg protein arasında değişmiştir. Popülasyonlar içerisinde 2.39 nmol dk/ mg protein okuma değeriyle en yüksek GST enzim aktivitesi 16 numaralı popülasyonda belirlenmiştir. Yapılan varyans analizi sonucu 16 numaralı popülasyonun diğer popülasyonlarla kıyaslandığında istatistiki olarak (a) farklı grupta yer almıştır (F=384.883; df=10; P<0.01). Diğer popülasyonların GST enzimlerinin sayısal değerlerinde farklılıklar çıkmış ve popülasyonlar istatistiki olarak farklı gruplar içerisinde yer almıştır ( F=384.883; df=10; P<0.01) (Çizelge 4.9).

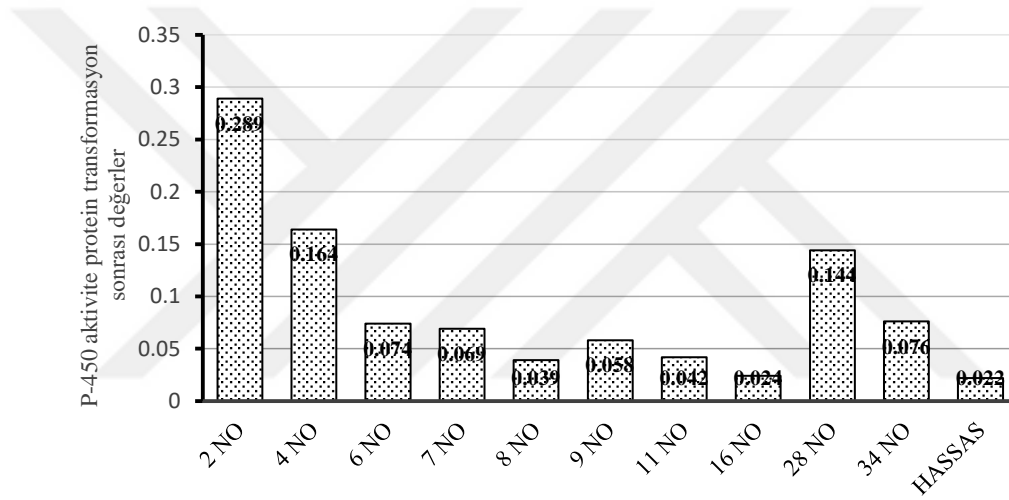
GST enzim sonuçları şekil 4.5 'e bakıldığında, popülasyonlar arasında denemede kullanılan kimyasallara karşı oluşan dirençte hassas popülasyona göre hafif yüksek olsada popülasyonlar arasında bu 2 popülasyon (16 ve 28 numaralı) haricinde aktivitenin çok yükselmediği tespit edilmiştir. Popülasyonların okuma değerlerinin hassas popülasyon değerlerine bölündüğünde etkinin çok yükselmediği düşük düzeyde kaldığı belirlenmiştir. Ancak yinede enzim okuma değerleri hassas popülasyonla kıyaslandığında enzimlerin azda olsa arttığı hassas popülasyona göre istatistiksel olarak farklı gruplarda yer aldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.9).

Yaptığımız çalışmanın sonuçları çok sayıdaki araştıracının tespit ettikleri sonuçlarla paralellik göstermekte ve araştıracıların abamectin 'e direnç geliştirmede GST enziminin katkısının olamayacağı yönündeki tespitleri ile uyuşmaktadır (Yorulmaz ve Ay 2009, Kwon vd. 2010b, Memarizadeh vd. 2013, Çağatay vd. 2018, Rameshgar vd. 2019). Fakat, bazı araştıracıların, abamectin veya aynı etki mekanizmasına sahip milbemectin'e direnç gelişiminin GST enzimi ile ilgili olduğunu bildirdikleri çalışmalar da mevcuttur (Stumpf ve Nauen 2002, Lin vd. 2009, Khajehali 2010, Yorulmaz vd. 2013). Bifenazate ile yapılan biyoassay denemesi sonuçlarında 2 popülasyon (4 ve 2 no.'lu pop.) haricinde diğer popülasyonların bifenazate'a direnci düşük düzeyde olarak belirlenmiştir. Sonuçlarımıza göre GST enziminin popülasyonlarda gösterdiği enzim yüksekliği iki popülasyon haricinde benzer gitmiş ve popülasyonlar arasında düşük düzeyde ancak hassas popülasyona göre hafif yüksek olmuştur. 4 ve 2 no.'lu popülasyonlarda görülen yüksek direncin GST enzimiyle ilişkisine (Çizelge 4.9) bakıldığında en yüksek enzim aktivitesine sahip olmadıkları tespit edilmiştir. Çalışmamızda GST enziminin diğer esterez ve P-450 enzimine kıyasla popülasyonların direnç oranlarıyla birlikte düşük olması, destekleyici olmuştur. Ancak, en yüksek direnç katsayısına (84.84 kat) sahip 4 ve (44.90 kat) 2 numaralı popülasyonun popülasyonlar arasında GST enzim aktivitelerinin sırasıyla 5. ve 4. sırada yer aldığı belirlenmiştir. Yapılan bir araştırmada bifenazate direncinin GST enziminin yüksekliğinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Van Nieuwenhuysse vd. 2009). Dolayısıyla, sonuçlarımıza göre GST enziminin bifenazate direnç gelişiminde yüksek katkısının olmadığı düşünülmektedir. Tebufenpyrad etkili maddesinde GST enziminin benzer şekilde direnç gelişiminde katkısının yüksek olmadığı

düşünülmektedir. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar da bulduğumuz sonucu destekler niteliktedir (Van Pottelberge vd. 2009a, Ay ve Kara 2011, Niu vd. 2011, Tirello vd. 2012).

#### 4.3.3 Sitokrom P-450 (monooksijenaz, cyp veya mixed function oxidase) enzimi kinetik okuma sonuçları (P-450 enzim aktivitesinin belirlenmesi)

Sitokrom P-450 enzim aktivitesinin protein transformasyon sonrasında 2 numaralı popülasyonun ilk sırada geldiği, 16 numaralı popülasyonların ise hassas popülasyona yakın değerlere sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.6).



Şekil 4. 6 Sitokrom P-450 aktivite protein transformasyon sonrası değerler (nmol/dk/mg protein)

Popülasyonların aktivite değerleri proteine çevrilip hassas popülasyon ile karşılaştırıldığında oluşan aktivite değerleri kıyaslanmıştır. Buna göre 2 numaralı popülasyonun hassas popülasyon ile karşılaştırmasından 13.14 kat enzim aktivitesinde artış olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.10). Diğer popülasyonlara baktığımızda en yüksek aktivite değeri 4 (7.45 kat) ve 28 (6.54 kat) numaralı popülasyonlardır. Aktivite değerleri 6, 7 ve 34 numaralı popülasyonlarda (3.30, 3.10 ve 3.40 kat) birbirine yakın çıkmıştır. En az aktivite ise hassas popülasyon ile kıyaslandığında hafif yüksek çıksada kendi içlerinde bakıldığında hassasa göre 8 ve 11 numaralı popülasyonların sırasıyla 1.77 ve 1.91 kat enzim aktivitesinin arttığı görülmektedir. 16 numaralı popülasyonun ise hassas

popülasyon ile kıyaslamasında yakın değerlere sahip olduğu ve istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4. 10 *Tetranychus urticae* popülasyonlarında P-450 enzim aktivite değerleri ve direnç oranları

Popülasyon	n *	U / ml	nmol/dk/mg protein	D/H**	Abamectin LC <sub>50</sub> direnç oranı	Bifenazate LC <sub>50</sub> direnç oranı	Tebufenpyrad LC <sub>50</sub> direnç oranı
( Ort ± Std. Hata)							
2	3	1.54	0.29±0.09a	13.14	156.50	44.90	-
4	3	0.62	0.16±0.07b	7.45	109.00	84.84	12.86
6	3	6.83	0.07±0.05d	3.36	61.30	2.30	-
7	3	1.69	0.07±0.05d	3.14	82.90	2.06	-
8	3	3.81	0.04±0.03f	1.77	42.00	3.64	3.30
9	3	1.33	0.06±0.04e	2.63	47.00	2.02	-
11	3	4.55	0.04±0.04f	1.91	34.00	1.73	-
16	3	9.31	0.02±0.03g	1.09	34.70	2.48	-
28	3	2.57	0.14±0.07c	6.54	113.30	4.26	2.91
34	3	2.87	0.07±0.05d	3.45	18.09	3.42	-
Hassas	3	3.58	0.02±0.03g	-	-	-	-

\* Tekerrür sayısı

\*\* D/H: Dirençli/ Hassas popülasyon enzim aktivite oranı

Aynı sütun içindeki aynı harfi içeren ortalamalar arasındaki fark Tukey testine göre istatistiki olarak önemli değildir (P=0.05)

P-450 enzim aktivite sonuçları incelendiğinde, pamuk alanlarından toplanan popülasyonların sitokrom enzim aktivitelerinin sayısal değerlerinin hassas GSS popülasyonuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir. *T. urticae* popülasyonlarında P-450 enzim aktivitesinin sayısal değerleri 0.02 – 0.28 nmol/dk/mg/protein değerleri arasında değişmiştir. Popülasyonlar içerisinde 0.28 nmol/dk/mg/protein okuma değeriyle en yüksek P-450 enzim aktivitesi 2 numaralı popülasyonda belirlenmiştir. Yapılan varyans analizi sonucu 6, 7 ve 34 numaralı popülasyonlar diğer popülasyonlarla karşılaştırıldığında istatistiki olarak (d) aynı grupta yer aldığı görülmektedir (F=1396.571; df=10; p<0.01). Popülasyonlardan 8 ve 11 numaralar istatistiki olarak (f)

aynı grupta bulunmuştur. Hassas ve 16 numaralı popülasyonlarında (g) aynı grup içerisinde yer aldığı belirlenmiştir. Diğer popülasyonların P-450 enzimlerinin sayısal değerlerinde farklılıklar çıkmış ve popülasyonların istatistiki olarak farklı gruplar içerisinde yer aldığı ( $F=1396.571$ ;  $df=10$ ;  $p<0.01$ ) tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

P-450 enzim sonuçları Çizelge 4.10 'de bakıldığında popülasyonlar arasında denemede kullanılan etken maddelere karşı oluşan dirençte bu enzimin 8, 11 ve 16 numaralı popülasyonlar haricinde popülasyonlarda aktivitelerinin yüksek seyrettiği, en düşük 2.5 katın üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Okuma değerleri hassas popülasyon değerine bölündüğünde etkinin yüksek olduğu, dolayısıyla P-450 enziminin pestisitlere direnç gelişiminde rol oynayabileceği söylenebilir. Yaptığımız çalışmayı yapılan diğer pek çok çalışma sonuçları ile kıyasladığımızda bulunan sonuçlar ile doğru orantılı gittiği ve benzer sonuçların elde edildiği tespit edilmiştir. Abamectin ile yapılan çalışmada gözlenen yüksek direncin sitokrom P-450 enziminin katkısı sonucu oluşabileceği düşünülmektedir. Bu konu ile alakalı yapılmış pek çok çalışma da bu düşüncemizi destekleyen sonuçlar tespit edilmiştir (Stumpf ve Nauen 2002, Lin vd. 2009, Negm vd. 2009, Yorulmaz ve Ay 2009, Kwon vd. 2010b, Tirello vd. 2012, Riga vd. 2014, Solmaz vd. 2020). Bazı araştırmacılar abamectin direncinin farmakokinetik olmayıp, farmakodinamik olabileceğini, bunların da hedef bölge veya P-450 genleri içinde olabileceğini bildirmişlerdir (Kwon 2010b, Riga vd. 2014). Bazıları ise, meydana gelen direncin P-450 enzimi ile alakalı olmadığını bildirmektedirler (Kwon vd. 2010a). Bifenazate'da 2 popülasyonda yüksek oranda direnç belirlenmiştir. Tespit edilen direncin oluşan yüksek P-450 enzim değerlerinin katkısından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. METI gurubuna dirençli popülasyonlarda P-450 enziminin etkili olabileceğini; esteraz enziminin ise düşük de olsa katkıda bulunabileceğini ifade eden tespitler bulunmaktadır (Van Pottelberge vd. 2009a, Tirello vd. 2012). Yapılan bir başka çalışmada ise P-450 enziminin bifenazate veya aynı etki mekanizmasına sahip acequinocyl'e oluşan dirençte rolünün olduğundan bahsedilmektedir (Van Leeuwen vd. 2006, Van Nieuwenhuyse vd. 2009). Bir diğer çalışmada ise P-450 enziminin bifenazate'ye karşı direnç geliştirmede rolünün olmadığı bildirilmiştir (Liang vd. 2018). Çalışmamız sonucu, esteraz ve P-450 enziminin bifenazate 'a direnç gelişiminde katkısının olabileceği düşünülmektedir. Tebufenpyrad etkili maddesine az sayıda

popülasyonda meydana gelen direncin P-450 enzimi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Meydana gelen direncin 4 numaralı popülasyonda P-450 enziminin en yüksek 2. enzime sahip olduğu tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışma pek çok araştırmacının bulduğu sonuçla paralellik içerisinde olmuş ve tebufenpyrad veya aynı etki mekanizmasına sahip diğer etkili maddelere direnç oluşumunun P-450 enzim kaynaklı olabileceğini bildirilmiştir (Van Pottelberge vd. 2009a, Ay ve Kara 2011, Tirello vd. 2012, Bajda vd. 2017). Kısaca 16 numaralı popülasyon hariç, enzim okuma değerleri hassas popülasyonla kıyaslandığında enzimlerin arttığı belirlenmiştir. Diğer enzimler (GST, esteraaz) ile kıyaslandığında ise P-450 seviyelerindeki artış oranının daha yüksek olduğu görülmektedir.

## **4.4 Moleküler Çalışmalar**

### **4.4.1. Hedef bölge nükleotid dizilerinin incelenmesi**

Çalışmamızda kullanılan abamectin, bifenazate ve tebufenpyrad'a dirençli popülasyonların genomik DNA ekstraksiyonu sonrasında, mutasyon noktalarına bakılmak üzere hazır hale getirilen PCR ürünlerini Çizelge 3.8, Çizelge 3.9, Çizelge 3.10 'da verilen oranlarda 2 ml'lik eppendorf tüpünde karıştırarak her bir PCR tüpüne gerekli oranda (23 µl) aktarılmış ve popülasyonlardan elde edilen DNA'lar 2 µl olacak şekilde ilgili PCR tüpüne aktarılmıştır. Daha sonra PCR reaksiyonlarının gerçekleşebilmesi için istenilen koşullar (Çizelge 3.11) sağlanarak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Jel dökümü sonrasında çoğalan ve görülen PCR ürünleri hızlı bir şekilde sekansa gönderilmiştir. PCR aşamalarından sonra sırasıyla GluCl 1-3, cytb ve PSST bölgelerinin sekansı yapılarak nükleotid dizilimleri elde edilmiştir. Bu bölgelerde *T. urticae* hassas popülasyonunun sekans dizilimi NCBI üzerinden elde edilmiş ve dirençli popülasyonların SNP (Single nucleotide polymorphism) tekli nokta mutasyonları sırasıyla GluCl 1-3 alt domain bölgeleri için G314D ve G326E, cytb bölgesi için G126S, G132A, A133T, I136T, S141F/T, D161G, I260V, P262T ve PSST bölgesinde H92R nokta mutasyonlarının varlığına bakılarak hedef bölge duyarsızlığı araştırılmıştır.



düşünülen I321T mutasyonu ve buna ilaveten iki adet daha ayırıcı mutasyon V327G ve L329F araştırıcılar tarafından tanımlanmıştır (Xue vd. 2020).

Çizelge 4.11 Abamectin ile ilişkili hedef bölge duyarsızlığının oluşmasına katkı sağlayan SNP bölgelerinin Sanger sekansı hedef bölge mutasyonları açısından incelenmesi

Popülasyon adı	Mutasyon Noktaları	
	G314D*	G326E
2	G	G
4	G	G
5	G	G
6	G	G
7	G	G
8	G	G
9	G	G
11	G	G
16	G	G
28	G	G

\*G:glycine, D:aspartate, E:glutamate

Dirençli bulduğumuz popülasyonlarda 314 'den 326 'ya devam eden protein sıralaması aralığına bakıldığında herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Çizelge 4.11). GluCl1 kapısı için Hassas bireylerde G (glycine) aminoasiti varken dirençli bireylerde ise D (aspartate) 'e olduğu, GluCl3 kapısına bakıldığında ise hassas bireyde 326. pozisyonadaki glycine (G) 'nin glutamate (E) 'ye olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Riga vd. 2017). Yüksek direnç kategorisine giren iki Diyarbakır (156 kat, 113 kat) ve Aydın (109 kat) popülasyonlarında mutasyon tespit edilememiştir. Yaptığımız çalışma dünyadaki pek çok araştırmanın yapmış olduğu ve mutasyonları ortaya koyamadığı çalışmaları ile benzer çıkmıştır (Piraneo vd. 2015, Çağatay vd. 2018, İnak vd. 2019, Rameshgar vd. 2019, Solmaz vd. 2020). Bazı çalışmalarda ortaya çıkan 400 – 800 katsayılarına ulaşan yüksek direnç oranlarının bulunmasına rağmen mutasyon noktaları tespit edilememiştir (Piraneo vd. 2015, Çağatay vd. 2018, Solmaz vd. 2020).

Abamectin direnci oluşturan mutasyonlara bu çalışmada rastlanılmamıştır. Yapılan çalışmalar, abamectin direnciyle ilişkilendirilen mutasyonların (G314D ve G326E) tek başlarına sadece düşük düzeyde dirence karşılık geldiği bildirilmiştir (Riga vd. 2017). Bu

nedenle, ülkemiz popülasyonlarında, diğer mekanizmaların araştırılmasının gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca, her iki mutasyonun da *T. urticae*'nin yaşam parametrelerini olumsuz etkilediği bilinmektedir (Bajda 2018). Bu nedenle seleksiyon baskısı kalktığında, dirençli görülen bireylerde mutasyon frekansı, popülasyon içerisinde hızla düşmektedir. Bazı çalışmalarda araştırmacılar detoksifikasyon enzimlerinde artışın var olmasını ve hedef bölge direncinin görülmemesini abamectin direncinde birden fazla, yani çoklu mekanizmanın rol oynayabileceğini bildirmektedirler (Rameshgar vd. 2019). Bununla ilgili son zamanlarda ortaya çıkan yeni bir mekanizma olan ve bazı çalışmalarda hem sentetik hemde doğal ksenobiyotik olarak adlandırılan bileşiklerin detoksifikasyonunda UGT denilen yapıların devreye girmesinden bahsedilmektedir. Akar vücuduna giren ksenobiyotiklerin, UGT tarafından glikolize edilerek abamectin 'de oluşan dirençte potansiyel rolünün olduğundan bahsettikleri yeni bir mekanizmadan söz etmektedirler (Snoeck vd. 2019a, Papapostolou vd. 2021). Üridin difosfat (UDP) glikosiltransferazlar (UGT'ler), UDP şekerlerinin küçük hidrofobik moleküllere eklenmesini katalize ederek onları daha fazla suda çözünür metabolitlere dönüştürdüğünü bildirmektedirler. Detoksifikasyondaki rollerinin omurgalılar için önceden bilindiğini ancak eklem bacaklıların UGT'sinin, bitki toksinlerini ve insektisitlerin detoksifikasyonunda veya tutulumuyla yakın zamanda ilişkilendirildiğini bildirmektedirler (Snoeck vd. 2019a). Bir başka çalışmada UGT inhibitörünün (5-nitrouracil) abamectin'in etkisini arttırdığı vurgulanmıştır (Wang vd. 2020). Dirençli popülasyonda bulunan UGT201D3 geninde yüksek ekspresyon tespit edilmiş; genin direnç oluşumunda görev aldığını, bu genin susturarak UGT'lerin aktivitesinin azaldığı ve abamectin'e karşı hassasiyetin arttığı tespit edilmiştir (Wang vd. 2020). Bazı çalışmalarda toksik maddeyi hücre dışına attığı düşünülen ve yapısı itibarıyla taşıyıcı olarak bilinen ABC taşıyıcılarının (ATP-binding cassette transporter) abamectin 'e direnç oluşumunda etkili olamayacağı ifade edilmektedir (Kwon vd. 2010b). GluCl ünitelerinde mutasyon bulunamayan çalışmalarda araştırmacılar, direncin metabolik kaynaklı olabileceğini bildirmektedirler (Kwon vd. 2010b, Çağatay vd. 2018, Solmaz vd. 2020, Xu vd. 2021). Direncin metabolik olarak bulunabileceğini bildiren araştırmacıları takip eden ve detoksifikasyon genlerinde doğrulamasını yapan çalışmalarda mevcuttur. Riga vd. (2014) abamectin 'e oluşan direncin CYP392A16 geni tarafından hidrosilasyonu katalizlediği ve çıkan ürün kısmi olarak saflaştırılıp incelendiğinde daha düşük bir

toksikant bileşige dönüştürdüğünü belirlemiştir. Xu vd. (2021) çalışmasında CYP389C10, CYP392D8, CYP392A11 ve CYP392A12 genlerini susturması sonucunda abamectin'e karşı popülasyonda ölüm oranlarının arttığını bildirmektedir. Bir başka çalışmada ise TuGSTd10, TuGSTd14 ve TuGSTm09 genlerinin abamectin ve diğer akarisitlerin direnç oluşumunda rol aldıklarını, yaptıkları transkriptomal doğrulama çalışmaları ile ortaya konmuştur. Bunda ise abamectin'e en fazla TuGSTd14 geninin direnç engelleme etkisi oluşturduğunu gözlemlemiştir (Pavlidis vd. 2015). Çalışmamızda 3 farklı etkili madde arasından en fazla abamectin'e karşı zararlılığın hassasiyetini kaybettiği tespit edilmiştir. Enzim oranlarındaki (P-450 ve esterez) yüksekliğin abamectin'e direnç gelişimine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

Son olarak LC<sub>50</sub> si 3.80 mg/l olarak belirlenen bir popülasyonda önce LC<sub>60</sub> dozu uygulanmış ve ardından yeniden LC<sub>50</sub> dozu belirlenmiştir. LC<sub>50</sub> dozu 12.18 mg/l çıkan popülasyona ardından LC<sub>80</sub> dozu hesaplanarak uygulanmış ve seleksiyon tamamlanmıştır. Ardından LC<sub>50</sub> dozuna yeniden bakıldığında 39.84 mg/l olarak tespit edilmiştir. İlk baştaki ile son durumdaki hali arasında 10.5 kat direnç geliştirdiği tespit edilmiştir. DNA'ları alınan popülasyonun GluCl1 ve GluCl3 bölgesinde oluşabilecek herhangi bir mutasyonun varlığına bakılmıştır. Gelen sekans sonuçlarının bakıldığında GluCl (1 ve 3) alt ünitelerinde hiçbir değişikliğe rastlanılmamıştır.



Bir diğer mutasyon bölgesi olan METI kompleks 3 alt ünitesi cytb (G126S, G132A, A133T, I136T, S141F/T, D161G, I260V, P262T) (Şekil 4.9) bölgesinde tanımlanmış pek çok mutasyon noktası bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda bu bölge üzerinde çalışmaların yoğunlaştığı ve bazı mutasyonların tespit edildiği yayınlarda bildirilmektedir (Piraneo vd. 2015, Riga vd. 2017, Kim vd. 2019, Wu vd. 2019, Choi vd. 2020). Bakılan popülasyonlar arasında 2 popülasyonun orta düzeyde direnç gösterdiği diğerlerinin ise ayırıcı dozda % 80'den az ölüm görülen ancak LC kıyaslamaları sonucu düşük direnç (Piraneo vd. 2015) olarak adlandırdığımız sınıfta bulunan popülasyonlardan oluştuğu görülmektedir. Bifenazate bakılan hedef bölgelerin ortaya konması zor olmaktadır. Bu bölgenin programlarda bakılması kolay olmayabilir ve dirençli bireylerde mutasyon noktaları bulunamayabilmektedir. Yaptığımız çalışmada diğer araştırmacıların yaptıkları çalışmalar ile benzer sonuçlara ulaşılmış olup dirençli bireylerin hiç birinde mutasyon noktalarına rastlanılamamıştır (Xu vd. 2018, İnak vd. 2019, Simma vd. 2020, Papapostolou vd. 2021).

Çizelge 4.12 Bifenazate ile ilişkili hedef bölge duyarsızlığının oluşmasına katkı sağlayan SNP bölgelerinin Sanger sekansı hedef bölge mutasyonları açısından incelenmesi

Popülasyon	Mutasyon Noktaları							
	G126S*	G132A	A133T	I136T	S141F/T	D161G	I260V	P262T
2	G	G	A	I	S	D	I	P
3	G	G	A	I	S	D	I	P
4	G	G	A	I	S	D	I	P
6	G	G	A	I	S	D	I	P
8	G	G	A	I	S	D	I	P
16	G	G	A	I	S	D	I	P
20	G	G	A	I	S	D	I	P
28	G	G	A	I	S	D	I	P
30	G	G	A	I	S	D	I	P
34	G	G	A	I	S	D	I	P

\*G:glycine, S:serine, A:alanine, T:threonine, I:isoleucine, V:valine, F: phenylalanine, D:aspartate, P:proline



çalışmalarda popülasyonlar üzerinde kurulan denemelerde ortaya çıkan direncin varlığı katsayısının yüksek olması ile tespit edilirken (Bajda vd. 2017, Snoeck vd. 2019b, Alavijeh vd. 2020, Choi vd. 2020, Papapostolou vd. 2021) bazı araştırmacılar ise orta ve yüksek direnç kategorisinde bulunan popülasyonlarda bu mutasyona rastlayamadıklarını belirtmektedirler (Namin 2017, İnak vd. 2019, Yaghoobi vd. 2021). Bazı araştırmacılar bölgede yeni bir mutasyondan kaynaklı direncin gelişebileceği ile alaklı yaptıkları yayınlarda buldukları A94V mutasyonunun çaprazlamalar ve çeşitli fonksiyonel doğrulama çalışmaları sonrası CRISPR-Cas9 yöntemini kullanarak *Drosophila melanogaster* 'in PSST homologuna bu mutasyonu eklemişler. Ancak dirençli *D. melanogaster* elde edemediklerini bildirmektedirler (Alavijeh vd 2020). Oluşan direncin hedef bölge değil de detoksifikasyon enzimlerinden veya bu bölgelerden kaynaklı hedef genlerden olduğunu söyleyen çalışmalar mevcuttur (Riga vd. 2015). Riga vd. (2015) etki mekanizması aynı olan fenpyroximate 'in etken maddesi ile yaptığı çalışmada, CYP392A11 geninin fenpyroximate 'da daha düşük toksisiteye sahip olan bir bileşiğe dönüşümünü katalize ettiğini vurgulamaktadır. Khanjani vd. (2020) aynı etki mekanizmasına sahip olan fenpyroximate de meydana gelen direncin esterez ve P-450 enzim kaynaklı olduğunu vurgulamaktadır. Bunu ise P-450 enzim gen bölgesinden CYP392A11 genine baktıklarında bu genin aşırı eksprese edildiğini ve dirence katkıda bulunduğunu belirtmektedir. Yaghoobi vd. (2021) bu bölgede mutasyona rastlayamadıklarını ancak oluşan yüksek direncin artan GST detoksifikasyon enziminden kaynaklanabileceğini bildirmektedir. Sharma vd. (2018) aynı etki mekanizmasına sahip fenazaquin ile ilgili çalışmada dirençli bireylerde sitokrom P-450 genlerinden CYP392A11, CYP392A12, CYP392D2 ve CYP392D10p 'de artış olduğunu ancak bunlardan da CYP392A11 ve CYP392A12 genlerinde 2 kat artış olduğunu belirtmiştir. Bazı araştırmacılar (Alavijeh vd. 2020) ise enzim kaynaklı direncin gelişmeyeceğini, düşük derecede katkısının olduğunu vurgulamaktadırlar. Tebufenpyrad ile aynı etki mekanizmaya sahip fenpyroximate ile yaptıkları çalışmada gen analizi ile belirledikleri P-450 monooksijenazların direnç oluşumunda fazla bir katkısının bulunmadığını bildirmektedirler (Alavijeh vd. 2020). Başka bir çalışmada ise yeni bir mekanizmanın dirence neden olabileceği ile alakalı bir gen bulduklarını ifade eden açıklamalar bulunmaktadır. Tebufenpyrad ile oluşan direncin sitokrom P-450 redüktaz (CPR) kısmını içeren genomik bölgeden kaynaklanabileceği söylenmektedir (Snoeck vd 2019b).

Araştırmacılar bu bölge içinde yer alan nükleer hormon reseptörü 96 (NHR96) gen ailesini bulmuşlar. Bu NHR96 geninin yeni bir mekanizma olabileceğinden ancak her eklem bacaklıda görülmediğinden de bahsetmektedirler (Snoeck vd 2019b).

Çizelge 4.13 Tebufenpyrad ile ilişkili hedef bölge duyarsızlığının oluşmasına katkı sağlayan SNP bölgelerinin Sanger sekansı hedef bölge mutasyonları açısından incelenmesi

Popülasyon adı	Mutasyon Noktası
	H92R*
2	H
4	H
8	H
28	H
33	H
34	H
36	H

\*H:histidine, R:arginine

Yaptığımız çalışmada belirlediğimiz ayırıcı dozu geçen 3 popülasyon olmasına rağmen LC<sub>50</sub> oranı düşük kalan popülasyonlardan seçilerek mutasyona bakılacak popülasyon sayısı arttırılmıştır. Ancak toksisite değerlerinden de anlaşılacağı üzere popülasyonların genel olarak tebufenpyrad 'a karşı hassas çıktığı, bir popülasyonun orta dirençli olduğu, diğer iki popülasyonunda ayırıcı dozu geçen ancak düşük direnç kategorisinde olduğu görülmektedir.

PSST bölgesi için Hassas bireylerde H (histidine) aminoasiti varken dirençli bireylerde ise R (arginine) olduğu çalışmalarda tespit edilmiştir (Bajda vd.2017). Baktığımız popülasyonların hiçbirinde aranılan bölgelerin sekans dizilimlerinde herhangi bir farklılığa rastlanılmamıştır (Çizelge 4.13). Bu araştırmada literatürde de belirtildiği üzere yeni bulunan farklı mekanizma üzerinde çalışılması gerektiği düşünülmektedir.

## 5. SONUÇ

Yapılan bu çalışma ile uzun yıllardır kullanılan farklı gruptan akarisit/insektisitlerde direnç durumu biyoassay yöntemi ile belirlenmiş, detoksifikasyon enzimlerine biyokimya çalışmaları ile bakılarak metabolik dirence, moleküler anlamda hedef bölge incelenerek mutasyon noktalarındaki son durumlar ortaya konmuştur.

Abamectin ile yapılan biyoassay 'lerde 156 ve 113 kat direnç oranı ile sırasıyla 2 (Diyarbakır) ve 28 (Diyarbakır) numaralı lokasyondan temin edilen *T. urticae* popülasyonlarında yüksek direnç tespit edilmiştir. Bifenazate'da ise 85 ve 45 kat ile 4 (Aydın) ve 2 (Diyarbakır) numaralı popülasyonlarda direnç tespit edilmiştir. Tebufenpyrad ile yürütülen denemelerde ise 12 kat direnç ile popülasyonlar arasındaki en yüksek direnç oranı 4 numaralı popülasyonda (Aydın) belirlenmiştir.

EST enzimi 4 (Aydın) ve 28 (Diyarbakır) numaralı popülasyonlarda 2.38 ve 2.70 kat daha yüksek olarak tespit edilmiştir. GST enzimi 16 (Adana) ve 28 (Diyarbakır) numaralı popülasyonlarda 3.73 kat ve 2.32 kat daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Son olarak, P-450 enziminin 2 (Diyarbakır) ve 28 (Diyarbakır) numaralı popülasyonlarda 13 ve 6.50 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada, detoksifiye enzimlerinden sitokrom P-450 enziminin diğer enzimlere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Metabolik aktivite bakımından en yüksek direncin Diyarbakır popülasyonlarında görüldüğü belirlenmiştir.

Bu çalışmada, moleküler olarak bakılan yüksek dirençli popülasyonların hiçbirinde mutasyonlara rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda pamuk üretim alanlarından toplanan kırmızıörümceklerin iki popülasyon haricinde diğerleri *T. urticae* olarak tespit edilmiştir. Bifenazate etkili maddenin ruhsatlı formülasyonu (480 g/l) 144 ppm dozunda pamuklarda, halen akarlara etkili bir doz olduğu, yapılan bu çalışma ile tespit edilmiştir. Ayırıcı dozda % 80'den az ölüm görülen ve hassas popülasyona göre en yüksek direnç oranına sahip olan iki popülasyonun LC<sub>90</sub> 'ı ancak 89 ve 40 ppm 'e kadar yükselmiştir. Diğer geri kalan 42 popülasyonda ise ayırıcı dozun % 80'den az ölüm görülen ancak en yüksek LC<sub>90</sub> oranına sahip olan popülasyonların 6 ppm 'in altında kaldığı tespit edilmiştir. Bu veriler ile bifenazate etkili

maddesinin kırmızıörümcekler ile mücadelede kullanımına devam edilebileceği kanısına varılmıştır.

Abamectin etkili maddesi içeren ruhsatlı formülasyonu (18 g/l) ile 9 ppm uygulama dozunda *T. urticae* ile pamukta mücadelenin başarısızlıkla sonuçlanabileceği; bu dozun üzerinde toplanan örneklerden çok sayıda popülasyonun yaşadığı belirlenmiştir. Abamectin'in ülkemizde 1991 yılından beri kullanılıyor olması, etkinliğini düşürmüş olabilir. Ayrıca, pek çok zararlı ile mücadelede ruhsatlı olarak kullanılıyor olması da ne yazık ki bu olguyu desteklediği kanaatini oluşturmaktadır. Yıl içerisinde tarla ve sera üretim alanlarında kullanılıyor olması, hatta sekonder (ekonomik önemi olmayan zararlıların) zararlıların mücadelesinde de kullanılıyor olması bu alandaki akarların daha erken direnç kazanmasına neden olabileceği düşünülmektedir. Kırmızıörümcekler polifag zararlı olduğundan, gerek tarla kenarlarındaki yabancı otlarda, gerek yakın kültür alanlarında doğrudan veya dolaylı yollarla yakın alanlara taşınmaktadır. Böylece, birçok alanda beslenirken farklı zararlılara karşı kullanılmış, farklı veya aynı etki mekanizmasına sahip akarisit/insektisit grupları ile de karşılaşmaktadırlar. Çalışmamızda, abamectin'in kırmızıörümcekler ile mücadelede halen etkili olduğu; toplanan popülasyonların % 36 'sının uygulama dozunu geçtiği tespit edilmiştir. Abamectin'in pamuk üretim alanlarında akarlarla mücadelede kullanımında farklı etkili maddeler ile rotasyon uygulanması gerektiği düşünülmektedir.

Pamukta tebufenpyrad etken maddeli B.K.Ü. 'nün ruhsatlı (200 g/l) 120 ppm uygulama dozu, akarlarla karşı etkisini koruyan en etkili madde olduğu tespit edilmiştir. Denemeye alınan bütün popülasyonlar arasından yalnızca üç popülasyonun ayırıcı dozda % 80'den az ölüm oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Bu ayırıcı doz sonrası popülasyonlarda yalnızca bir tanesinin ruhsatlı uygulama dozunun üzerinde çıktığı tespit edilmiştir. Bunun haricinde iki popülasyonun 59 ppm 'in altında kaldığı, diğer popülasyonların ise çok daha düşük oranlarda seyrettiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmada yüksek oranda abamectin'e karşı hassasiyet kaybının olduğu diğer etken maddelerin ise durumlarını koruduğu görülmüştür. Ancak bu etken maddelerin uygulama alanlarında halen yüksek etki gösterdiği veya ruhsatlı uygulama dozunu geçmemiş olması, etken maddenin etkililiğini halen başarılı olarak çalışmaya devam edeceği algısını oluşturmamalıdır. Aynı etki mekanizmanın art arda kullanımının başlaması ile bu hassasiyetin kaybının artacağı düşünülmektedir.

Abamectin geniş aralıkta hem böcekler için insektisit hem de kırmızı örümceklere akarisit olarak kullanılan bir etken maddedir. Diğer iki etken maddenin yalnızca akarisit etkili olması kullanım alanını daraltmış ve art arda kullanılması haricinde direnç gelişiminin daha yavaş olacağı düşünülmektedir. Selektif etki gösteren akarisitlerin böceklerde kullanılmaması ve bu etken maddelerin en kötü insektisit uygulamalarından sonra kullanılacağı düşünülürse bunları daha güvenilir kılmaktadır. Bazen çiftçilerin, diğer zararlıların mücadelesinde insektisit olarak kullandığı abamectin 'den sonra B.K.Ü. bayisi 'nin ilgisizliğinden dolayı ticari ismi değişmiş ancak tekrar abamectin etken maddeli başka bir ilaç verilmemesinin kırmızı örümceğe karşı ilacın hassasiyetini azalttığını düşünmekteyiz. Elbette tek sebep bu değildir. Yıllar (1991'den beri) içerisinde sürekli kullanımı, doz aşımı, farklı zararlıya atılmış olsa dahi kırmızı örümceğin o alana gelmesi veya bulunduğu alandan başka alanlara bulaşması da diğer sebeplerden başlıcalarıdır.

Ülkemizde tarımın yoğun yapıldığı alanlarda, ürün ve tesiste çiftçi veya çalışanların mücadelede seçimleri pestisit üzerine olmaktadır. Her ne kadar son dönemlerde buğdaygil, bağ, elma ve kapalı alanlar gibi ürünlerin mücadele uygulamalarında bazı zararlılara karşı bakanlık ve üniversite ile yapılan salım ve yayım çalışmalarında biyolojik mücadele etmenleri ortaya konsada, bu uygulamaların şuan için geride kaldığı yıllık tüketilen pestisit miktarlarından anlaşılmaktadır (Soyhan 2020). Bu seçimlerin, ortaya konmuş diğer mücadele seçeneklerinin önünde olması durumunda, tarımda verimliliği düşürücü etkiler, toprak alanlarında kirlilik ve ürünlerde kalıntı gibi problemlerin ortaya çıkması gibi sonuçları olacaktır. Toprağın çoraklaştığı bir alanda ekim ve üretimin yapılamayacağı gibi verimsizlik de maliyet oluşturacaktır.

Baskın bir zararlı durumu oluşmasının önüne geçebilmek için çeşitli tedbirlere uyulması gerekmektedir. Kimyasal uygulamaya geçilmeden önce ürünlerde EZE (ekonomik zarar eşikine) 'ye dikkat edilmelidir. Bu durumun yaygınlaştırılması ziraat mühendislerinin çiftçilere gösterebileceği en faydalı bilgi olacağı ortadadır. Ülke tarımı için entegre mücadelenin seçilmesi gereken önemli tercihlerden biri olduğu açıktır. Pek çok yöntemin uygulandığı bu alan için daha fazla ilgi çekilmeli ve uygulamaya özendirilmelidir. Pestisitlerin seçiminde mümkün olduğunca selektif olanlar tercih edilmelidir. Bu şekilde pamukta uygulanan mücadelede thrips, yaprakbiti, yaprakpiresi, kırmızı örümcek, beyaz sinek, *Lygus*, pembekurt, yeşilkurt ve dikenlikurt gibi emici ve kemirici zararlılara

karşı bitkileri savunmak için her hafta yapılan ilaçlamaların aynı guruptan olmaması ve etki mekanizmalarının farklı olmasına dikkat edilmez. Bir sonraki ilaçlamada yine tercih edilecek aynı zararlı sıralaması mücadelesinde farklı etki mekanizmasına sahip ilaçların rotasyonuna önem vermek direncin gelişimini geciktirebilecektir. Bu alanda akarisitlerin az olması (pamukta etki mekanizmasının sınırlı olduğu toplamda 6 farklı etki mekanizmasına sahip, ruhsatlı 11 adet farklı madde) yeni sinerjist maddelerin bulunması veya var olanlar ile seleksiyon baskısına uğramış dirençli bireylerin ortadan kaldırılmasında en etkili yöntemlerden biri olabileceği düşünülebilir. Kullanılacak olan pestisitlerin doz, uygulama yöntemi ve doğru uygulama zamanının seçilmesi de önemlidir. Zira pestisitlerin, zararlı organizma haricinde faydalılar, arıcıklar, parazitoit ve predatörler, insan ve çevre sağlığı ve hatta ekolojik olarak makro ve mikro habitat üzerinde tahribata neden olabileceği unutulmamalıdır. Toksikitesi sıcakkanlılara, çevreye, suya ve faydalı organizmalara düşük akarisitler seçiminde özen gösterilmelidir. Bu gibi önlemler toprakta var olan mikroorganizmaları destekler ve onların uygulama dozunda kullanılan bu kimyasalları, besin zincirine ekleyerek kendilerine enerji kaynağı şeklinde kullanmalarına neden olabilecektir. Buda faydalıların devamlılığı, çevrede oluşabilecek tahribatın engellenmesine ve temiz yer altı ve içme sularının sonraki nesillere miras olarak bırakılmasını sağlayabilecektir.

## KAYNAKLAR

- Abbott, W. S. 1925. A Method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18(2), 265-267.
- Alasaad, S. Soglia, D. Spalenza, V. Maione, S. Soriguer, R. C. Pérez, J. M. Rasero R. Ryser Degiorgis M.P. ve Rossi, L. 2009. Is ITS-2 rDNA suitable marker for genetic characterization of *Sarcoptes* mites from different wild animals in different geographic areas? Veterinary Parasitology, 159(2), 181-185.
- 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. ve 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.
- Anonim, 2017. <https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Pamuk%20Entegre-29.08.2017.pdf> (Erişim tarihi: 03.04.2019)
- Anonim, 2018a. [http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/d14aaf33bd26d4f\\_ek.pdf?tipi=42& turu=H &sube =0](http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/d14aaf33bd26d4f_ek.pdf?tipi=42& turu=H &sube =0) (Erişim tarihi: 03.04.2019)
- Anonim, 2018b. <https://samsun.tarim.gov.tr/Belgeler/Yayinlar/Lifletlerimiz/b-36.pdf> (Erişim tarihi: 30.11.2018)
- Anonim, 2019a. [http://www.upk.org.tr/User\\_Files/editor/file/pamuksektorraporu.pdf](http://www.upk.org.tr/User_Files/editor/file/pamuksektorraporu.pdf) (Erişim tarihi: 03.04.2019)
- Anonim, 2019b. Türkiye İstatistik Kurumu Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı. <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=kategorist> (Erişim tarihi: 03.04.2019)
- Anonim, 2019c. Bitki Koruma Ürünleri Veri Tabanı Programı. <https://bku.tarimorman.gov.tr> (Erişim tarihi:26.04.2019).
- Anonymous, 2011. <https://echa.europa.eu/documents/10162/f8b567f0-e610-2ec7-496b-3ec7720ff9e8> (Erişim tarihi: 20.03.2021)
- Anonymous, 2018. USDA Cotton: World markets and trade. Foreign Agricultural Service. <http://usda.mannlib.cornell.edu/MannUsda/viewDocumentInfo.do?documentID=1486> (Erişim tarihi: 03.04.2019)
- Anonymous, 2019a. ICAC: International Cotton Advisory Committee International Cotton Advisory Committee. <https://www.icac.org/Content/LearningCorner/Cotton%20Facts/Cotton%20Facts.pdf> (Erişim tarihi: 08.04.2019)
- Anonymous, 2019b. <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/13003.pdf> (Erişim tarihi: 07.05.2019)

- Anonymous 2019c. Arthropod Pesticide Resistance Database. A.P.R.D. <https://www.pesticideresistance.org/> (Erişim tarihi: 08.04.2019)
- Anonymous, 2020a. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/24d-captan/abamectin-ext.html#2> (Erişim tarihi: 27.07.2020)
- Anonymous, 2020b. <https://irac-online.org/the-irac-library-of-susceptibility-test-methods/> (Erişim tarihi: 27.07.2020)
- Anonymous, 2021a. WHO. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces (archived). Geneva, World Health Organization. 1998 (Erişim tarihi: 01.01.2021)
- Anonymous, 2021b. <https://www.biobestgroup.com/en/news/spotlight-on-two-spotted-spider-mite> (Erişim tarihi: 27.07.2021)
- Anonymous, 2021c. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bifenazate> (Erişim tarihi: 27.07.2021)
- Anonymous, 2021d. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.154052.html> (Erişim tarihi: 27.07.2021)
- Anonymous, 2021e. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Abamectin#section=Chemical-Co-Occurrences-in-Literature> (erişim tarihi: 09.07.2021)
- Anonymous, 2021f. [https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_cb2258634.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_cb2258634.htm)
- Anonymous, 2021g. <https://echa.europa.eu/documents/10162/d989f1d9-ec7c-2fec-fb7e-67448a5ad43e> (erişim tarihi: 13.07.2021)
- Anonymous 2021h. <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/63/Tebufenpyrad.svg> (erişim tarihi: 16.07.2021)
- Arimoto, M. Satoh, M. Uesugi, R. ve Osakabe, M. 2012. DNA preparation method in eggs, immature stages, and diapausing females of *Tetranychus* spider mites (Acari: Tetranychidae) for diagnostic PCR-RFLP. Applied entomology and zoology, 47(3), 295-300.
- Aslam, M. Razaq, M. Rana, S. Faheem, M. 2004. Efficacy of different insecticides against bollworms on cotton. Journal Research Science, 15(1): 17-22.
- Ay, R. 2005. Determination of susceptibility and resistance of some greenhouse populations of *Tetranychus urticae* Koch to chlorpyrifos (Dursban 4) by the petri dish–Potter tower method. Journal of Pest Science, 78(3), 139-143.
- Ay, R. ve Gürkan, M.O. 2005a. Resistance to bifenthrin and resistance mechanisms of different strains of the Two-Spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) from Turkey. Phytoparasitica 33, 237-244.

- Ay, R. ve Gürkan, M.O. 2005b. *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)'nin değişik populasyonlarının iki selektif akarısit'e karşı duyarlılıkları ve duyarlılık mekanizmaları üzerinde araştırmalar. Tarım Bilimleri Dergisi, 11 (2) 217-223
- Ay, R. Sökeli, E. Karaca, I. ve 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.
- Ay, R. ve Kara, F.E. 2011. Toxicity, Inheritance and Biochemistry of Clofentezine Resistance in *Tetranychus urticae*. Insect Science 18(5): 503-511
- Bajda, S. Dermauw, W. Greenhalgh, R. Nauen, R. Tirry, L. Clark R. M. ve Van Leeuwen. T. 2015. Transcriptome profiling of a spiroadiclofen susceptible and resistant strain of the European red mite *Panonychus ulmi* using strand-specific RNA-seq. BMC genomics 16(1):974
- Bajda, S. Dermauw, W. Panteleri, R. Sugimoto, N. Douris, V. Tirry, L. Osakabe M. Vontas J. ve 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. Riga, M. Wybouw, N. Papadaki, S. Ouranou, E. Fotoukkaia, S. M. Vontas, J. ve Van Leeuwen, T. 2018. Fitness costs of key point mutations that underlie acaricide target-site resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. Evolutionary applications, 11(9), 1540-1553.
- Bajda, S. 2018. Genetics and fitness costs of acaricide resistance in spider mites. PhD thesis. University of Amsterdam.
- Balcı, M. H. İnanıcı, M. A. ve AY, R. 2020. Laboratuvar Koşullarında *Tetranychus urticae* Koch ve Avcı Akar *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot'e Bazı Pestisitlerin Etkilerinin İncelenmesi. Journal of Tekirdag Agricultural Faculty, 17(2), 172-179.
- Ben-David, T. Melamed, S. Gerson, U. ve Morin, S. 2007. ITS2 Sequences as Barcodes for Identifying and Analyzing Spider Mites (Acari: Tetranychidae). Experimental and Applied Acarology, 41(3), 169-181.
- Bradford, M. M. 1976. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2), 248-254.
- Brattsten, L.B. 1988. Enzymic Adaptations in Leaf-Feeding Insects to Host-Plant Allelochemicals. Journal of Chemical Ecology 14, 1919- 1939.
- Brown, S. Kerns, D. L. Gore, J. Lorenz, G. ve Stewart, S. 2017. Susceptibility of twospotted spider mites (*Tetranychus urticae*) to abamectin in Midsouth cotton. Crop Protection, 98, 179-183.

- Campos, F. Krupa, D. A. ve Dybas, R. A. 1996. Susceptibility of populations of twospotted spider mites (Acari: Tetranychidae) from Florida, Holland, and the Canary Islands to abamectin and Characterization of abamectin Resistance. *Journal of Economic Entomology*, 89(3), 594-601.
- Canerday, T. D. ve Arant, F. S. 1964. The Effect of Spider Mite Populations on Yield and Quality of Cotton. *Journal of Economic Entomology*. 57: 553-556
- Casida, J. E. 1993. Insecticide action at the GABA-gated chloride channel: Recognition, progress, and prospects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 22(1-2), 13-23.
- Chen, J. C. Gong, Y. J. Shi, P. Wang, Z. H. Cao, L. J. Wang, P. ve 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(4), 545-554.
- Chen, Y. Woolley, L. Nguyen, D. Gupta, R. Chandler, G. T. Nehl, D. ve Herron, G. A. 2020. Development and use of a single real-time PCR assay to identify the three spider mite species *Tetranychus urticae*, *Tetranychus lambi* and *Tetranychus ludeni* (Acari: Tetranychidae). *Austral Entomology*, 59(3), 630-638.
- Choi, J. Koo, H. N. Kim, S. I. Park, B. Kim, H. ve 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.
- Çağatay, N. S. Menault, P. Riga, M. Vontas, J. ve Ay, R. 2018. Identification and characterization of abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch populations from greenhouses in Turkey. *Crop Protection*, 112, 112-117.
- Çobanoğlu, S. Ueckermann, E. A. ve Kumral, N. A. 2015. A new *Tetranychus Dufour* (Acari: Tetranychidae) associated with Solanaceae from Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 39(4), 565-570.
- Daş, Y. K. ve Aksoy, A. 2016. Pestisitler. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences- Pharmacology and Toxicology-Special Topics*, 2(2), 1-17.
- Davidson G ve Zahar A.R. 1973. The practical implications of resistance in malaria vectors to insecticides. *Bulletin World Health Organisation*. 49(5): 475-483
- Dekeyser, M. A. McDonald, P. T. Angle Jr, G. W. ve Moore, R. C. 1996. D2341-A novel agent to control spider mites. In Brighton Crop Protection Conference: Pests and Diseases-1996: Volume 2: Proceedings of BCP an International Conference, Brighton, Pest and Diseases 3: 487-492
- Dekeyser M.A. 2005. Acaricide mode of action. *Pest Manag Sci* 61:103-110.

- Dennehy T.J. Granett J. Leigh T.F. 1983. Relevance of slide-dip and residual bioassay comparisons to detection of resistance in spider mites. *Journal of Economic Entomology* 76: 1225-1230
- Devine, G. J. Barber, M. Denholm, I. 2001. Incidence and inheritance of resistance to METI-Acaricides in European strains of the Two-Spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Science*, 57(5), 443-448.
- Diaz-Arias, K. V. Rodríguez-Maciel, J. C. Lagunes-Tejeda, Á. Aguilar-Medel, S. Tejeda-Reyes, M. A. ve Silva-Aguayo, G. 2019. Resistance to abamectin in field population of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) associated with cut rose from state of Mexico, Mexico. *Florida Entomologist*, 102(2), 428-430.
- Düzgüneş, Z. 1980. Küçük Arthropodaların Toplanması, Saklanması ve Mikroskopik Preparatlarının Hazırlanması. T.C. Gıda-Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Zir. Müc. ve Kar. Gn. Müd. Yay. Ankara 77s
- E-pesticide manual BCPC (British Crop Production Council) V5.0 (Erişim tarihi: 22.05.2021)
- Erdogan, P. Hassan, E. Yılmaz, B. S. ve Saltan, G. 2018. Ethanol extraction of *Hyoscyamus niger* and *Hypericum calycinum* evaluated for acaricidal activity against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Journal of Food Science and Engineering* 8, 46-54
- Eziah, V. Y. Buba, R. B. ve Afreh-Nuamah, K. 2016. Susceptibility of two spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari; Tetranychidae) to some selected miticides in the Greater Accra Region of Ghana. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(4), 1473-1483.
- Farahani, S. Bandani, A. ve Eslami, S. 2018. Comparison of susceptibility of two Iranian populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) to spirodiclofen. *Persian Journal of Acarology*, 7(3), 279-287.
- Fahnbulleh, C.G.V. 2007. Acaricide resistance in Norwegian populations of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) (Acari: Tetranychidae). Ms thesis. 48pp
- Feng, K. Yang, Y. Wen, X. Ou, S. Zhang, P. Yu, Q. Zhang, Y. Shen, G. Xu, Z. Li, Ji. ve HE, L. 2019. Stability of cyflumetofen resistance in *Tetranychus cinnabarinus* and its correlation with glutathione-s-transferase gene expression. *Pest Management Science*. 75(10):2802-2809.
- Feng, K. Ou, S. Zhang, P. Wen, X. Shi, L. Yang, Y. Hu, Y. Zhang, Y. Shen, G. Xu, Z. ve He, L. 2020. The cytochrome P450 CYP389C16 contributes to the cross-resistance between cyflumetofen and pyridaben in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). *Pest Management Science*, 76(2), 665-675.
- Ferreira, C. B. Andrade, F. H. Rodrigues, A. R. Siqueira, H. A. ve Gondim Jr, M. G. 2015. Resistance in field populations of *Tetranychus urticae* to acaricides and

- characterization of the inheritance of abamectin resistance. *Crop Protection*, 67, 77-83.
- Fotoukiai, S. M. 2020. Genetic basis of acaricide resistance: Identification and characterization of the risk and mechanisms of resistance to bifenthrin, acequinocyl, and the novel acaricide pyflubumide in *Tetranychus urticae*. Universiteit van Amsterdam. 49pp.
- Gant, D. B. Chalmers, A. E. Wolff, M. A. Hoffman, H. B. ve Bushey, D. F. 1998. Fipronil: action at the GABA receptor. *Pesticides and the future: minimizing chronic exposure of humans and the environment*. 147-156.
- Ge, C. Ding, X. L. Zhang, J. P. ve Hong, X. Y. 2013. *Tetranychus urticae* (green form) on *Gossypium hirsutum* in China: two records confirmed by aedeagus morphology and RFLP analysis. *Systematic and Applied Acarology*, 18(3), 239 - 244.
- Gore, J. Cook, D. R, Catchot, A. L. Musser, F. R. Stewart, S. D. Leonard, B. R. Lorenz G. Studebaker G. Akın, D.S. Tindall K.V. Jackson, R. E. 2013. Impact of twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) infestation timing on cotton yields. *Journal of Cotton Science*, 17(1), 34-39.
- Graca Macoris, M. D. L. D. Macoris Andrighetti, M. T. Rodrigues Nalon, K. D. C. Garbeloto, V. C. ve Caldas Junior, A. L. 2005. Standardization of bioassays for monitoring resistance to insecticides in *Aedes aegypti*.
- Grbic, M. T. Van Leeuwen, R.M. Clark, S. Rombauts, P. Rouze, V. Grbic, E.J. Osborne, W. Dermauw, P. Cao Thi Ngoc, F. Ortego, P. Hernandez-Crespo, I. Diaz, M. Martinez, M. Navajas, E. Sucena, S. Magalhaes, L. Nagy, R.M. Pace, S. Djuranovic, G. Smagghe, M. Iga, O. Christiaens, J.A. Veenstra, J. Ewer, R. Mancilla Villalobos, J.L. Hutter, S.D. Hudson, M. Velez, S.V. Yi, J. Zeng, A. Pires-daSilva, F. Roch, M. Cazaux, M. Navarro, V. Zhurov, G. Acevedo, A. Bjelica, J.A. Fawcett, E. Bonnet, C. Martens, G. Baele, L. Wissler, A. SanchezRodriguez, L. Tirry, C. Blais, K. De-meestere, S.R. Henz, T.R. Gregory, J. Mathieu, L. Verdon, L. Farinelli, J. Schmutz, E. Lindquist, R. Feyereisen ve Y. Van de Peer, 2011. The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. *Nature*, 479: 487–492
- Grosscurt, A. C. ve Avella, L. 2005. Bifenazate, a new acaricide for use on ornamentals in Europe and Africa. In *Proceedings of the BCPC Int. Congress—Crop Science and Technology* (pp. 49-56).
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41:95–98.
- Hansen, L. ve Hodgson G. E. 1971. Biochemical characteristics of insect microsomes N- and O-demethylation. *Biochemical Pharmacology*, 20: 1569-1573.

- He, L. Gao, X. Wang, J. Zhao, Z. ve Liu, N. 2009. Genetic analysis of abamectin resistance in *Tetranychus cinnabarinus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 95(3), 147-151.
- Herron, G.A. ve Rophail, J. 1998. Tebufenpyrad Resistance Detected in Two –Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) from Apples in Western Australia. *Experimental and Applied Acarology*, 22: 633 – 641.
- Ho, C. C. Chang, S. C. Cheng, L. J. ve Wang, S. C. 2011. Morphological and molecular characteristics, host plants and natural enemies of the recently recognized *Tetranychus okinawanus* (Acari: Tetranychidae) in Taiwan. *Systematic and Applied Acarology*, 16(2), 160-168.
- Hollingworth, R.M. ve Ahammadsahib, K.I. 1995. Inhibitors of respiratory complex I: mechanisms, pesticidal actions and toxicology. *Rev Pesticide Toxicology* 3:277–302
- Hoy, M. A. ve Conley, J. 1987. Selection for abamectin resistance in *Tetranychus urticae* and *T. pacificus* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 80(1), 221-225.
- Ilias, A. Vassiliou, V. A. Vontas, J. ve Tsagkarakou, A. 2017. Molecular diagnostics for detecting pyrethroid and abamectin resistance mutations in *Tetranychus urticae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 135, 9-14.
- Ilias, A. Vontas, J. ve Tsagkarakou, A. 2014. Global distribution and origin of target site insecticide resistance mutations in *Tetranychus urticae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 48, 17-28.
- Inoue, K. ve Fukuchi, T. 1994. Pyranica (tebufenpyrad, MK-239), a new miticide. *Agrochemical Japan* 64:12–14
- İnak, E. Alpkent, Y. N. Çobanoğlu, S. Dermauw, W. ve 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(3), 343-360.
- Jeppson, L. R. Keifer H. H. ve Baker, E. W. 1975. *Mites Injurious to economic plants*, University of California Press, Berkeley, California
- Khajehali, J. Van Leeuwen, T. ve Tirry, L. 2009. Susceptibility of an organophosphate resistant strain of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) to mixtures of bifentazate with organophosphate and carbamate insecticides. *Experimental and Applied Acarology*, 49(3), 185-192.
- Khajehali, J. 2010. Biochemical and molecular mechanisms of acaricide resistance in *Tetranychus urticae*. PhD thesis. Ghent University, Ghent, Belgium (Doctoral dissertation, Ghent University).

- Khajehali, J. Van Nieuwenhuysse, P. Demaeght, P. Tirry L. Van Leeuwen, T. 2011. Acaricide resistance and resistance mechanisms in *Tetranychus urticae* populations from rose greenhouse in the Netherlands. *Pesticide Management Science*, 67: 1424-1433.
- Khanjani, M. Saberfar, F. Mirzaie-Asl, A. ve Sheikhi Garjan, A. 2020. Resistance mechanisms of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) populations to fenpyroximate. *Journal of Crop Protection*, 9(2), 337-345.
- Kim, S. S. ve Seo, S. G. 2001. Relative toxicity of some acaricides to the predatory mite, *Amblyseius womersleyi* and the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). *Applied Entomology and Zoology*, 36(4), 509-514.
- Kim, S.S. ve 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, S. I. Koo, H. N. Choi, Y. Park, B. Kim, H. K. ve Kim, G. H. 2019. Acequinocyl resistance associated with I256V and N321S mutations in the two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 112(2), 835-841.
- Kılıç, S. ve Gençsoylu, İ. 2016. Aydın’da ikinci ürün pamuk ekim alanlarında sokucu-emicilerin popülasyon değişimlerinin saptanması. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25 (Özel sayı-2):118-124.
- Knight, A. L. Beers, E. H. Hoyt, S. C. ve Riedl, H. 1990. Acaricide bioassays with spider mites (Acari: Tetranychidae) on pome fruits: evaluation of methods and selection of discriminating concentrations for resistance monitoring. *Journal of economic entomology*, 83(5), 1752-1760.
- Koh, S. H. Ahn, J. Im, J. S. Jung, C. Lee, S. H. ve Lee, J. H. 2009. Monitoring of acaricide resistance of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from Korean apple orchards. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 12(1), 15-21.
- Kolberg, D. I. S. Presta, M. A. Wickert, C. Adaime, M. B. ve Zanella, R. 2009. Rapid and accurate simultaneous determination of abamectin and ivermectin in bovine milk by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(7), 1220-1226.
- Kranthi, K. R. 2005. Insecticide resistance-monitoring, mechanisms and management manual. Central Institute for Cotton Research, PB, 2, 49-89.
- Kumar, S. Stecher, G. Li, M. Knyaz, C. ve Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549.

- Kumari, A. Kumar, A. Tewary, D. K. ve Nadda, G. 2012. Field evaluation of bifentazate (acaricide 50 WP) for control of tea mites. *Munis Entomology and Zoology*, 7, 780-786.
- Kwon, O. Y. ve Ishikawa, H. 1992. Nucleotide sequence and presumed secondary structure of the internal transcribed spacers of rDNA of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Comparative Biochemistry and Physiology. B, Comparative Biochemistry*, 103(3), 651- 655.
- Kwon, D. H. Yoon, K. S. Clark, J. M. ve Lee, S. H. 2010a. A point mutation in a glutamate - gated chloride channel confers abamectin resistance in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. *Insect Molecular Biology*, 19(4), 583-591.
- Kwon, D. H. Seong, G. M. Kang, T. J. ve Lee, S. H. 2010b. Multiple resistance mechanisms to abamectin in the two-spotted spider mite. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 13(3), 229-232.
- Kwon, D. H. Lee, S. W. Ahn, J. J. ve Lee, S. H. 2014. Determination of acaricide resistance allele frequencies in field populations of *Tetranychus urticae* using quantitative sequencing. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17(1), 99-103.
- Kwon, D. H. Kang, T. J. Kim, Y. H. ve Lee, S. H. 2015. Phenotypic-and genotypic-resistance detection for adaptive resistance management in *Tetranychus urticae* Koch. *PloS one*, 10(11), e0139934.
- Kyomura, N. Fukuchi, T. Kohyama, Y. ve Motojima S. 1990. Biological characteristics of new acaricide MK-239, in Proc Brighton Crop Prot Conf Pests Dis, BCPC, Farnham, Surrey, UK, 1, 55–62
- Latheef, M. A. ve Hoffmann, W. C. 2014. Toxicity of selected acaricides in a glass-vial bioassay to twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Southwestern Entomologist*, 39(1): 29-36.
- Lee, Y. S. Song, M. H. Ahn, K. S. Lee, K. Y. Kim, J. W. ve Kim, G. H. 2003. Monitoring of acaricide resistance in two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) populations from rose greenhouses in Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 6(1), 91-96.
- Leora Software 1994. POLO-PC: a user's guide to probit or logit analysis. LeOra Software, 28 p. , Berkeley, CA.
- Li, G. Q. Xue, X. F. Zhang, K. J. ve Hong, X. Y. 2010. Identification and molecular phylogeny of agriculturally important spider mites (Acari: Tetranychidae) based on mitochondrial and nuclear ribosomal DNA sequences, with an emphasis on *Tetranychus*. *Zootaxa*, 2647(1), 1-15.
- Li, Y. Y. Fan, X. Zhang, G. H. Liu, Y. Q. Chen, H. Q. Liu, H. ve Wang, J. J. 2017. Sublethal effects of bifentazate on life history and population parameters of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Systematic and Applied Acarology*, 22(1), 148-158.

- Liang, X. Chen, Q. Wu, C. ve Zhao, H. 2018. The joint toxicity of bifenthrin and propargite mixture against *Tetranychus urticae* Koch. *International Journal of Acarology*, 44(1), 35-40.
- Lin, H. Chuan-hua, X. Jin-jun, W. Ming, L. Wen-cai, L. ve Zhi-mo, Z. 2009. Resistance selection and biochemical mechanism of resistance to two acaricides in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93(1), 47-52.
- Lümmen P. 2007. Mitochondrial electron transport complexes as biochemical target sites for insecticides and acaricides. In: Ishaaya I, Nauen R, Horowitz AR (eds) *Insecticides Design Using Advanced Technologies*. 197-215 pp.
- Maeoka, A. Yuan, L. Itoh, Y. Saito, C. Doi, M. Imamura, T. Yamaguchi T. Imura T. ve Osakabe, M. 2020. Diagnostic prediction of acaricide resistance gene frequency using quantitative real-time pcr with resistance allele-specific primers in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* population (Acari: Tetranychidae). *Applied Entomology and Zoology*, 55(3), 329-335.
- Marcic, D. 2012. Acaricides in modern management of plant-feeding mites. *Journal of Pest Science*, 85(4), 395-408.
- Marinho, M. A. T. Junqueira, A. C. M. ve Azeredo-Espin, A. M. L. 2011. Evaluation of the internal transcribed spacer 2 (ITS2) as a molecular marker for phylogenetic inference using sequence and secondary structure information in blow flies (Diptera: Calliphoridae). *Genetica*, 139(9), 1189-1207.
- Massoud, M. A. Mesbah, H. A. Ebieda, A. M. M. ve Abdel-Hameed, A. R. 2018. Comparative field evaluation of certain acaricides against *Tetranychus urticae* on strawberry. *International Journal of Advance Agricultural Research (Fac. Agric. Saba Basha)* 23(2), 250-259
- Matsuda, T. Fukumoto, C. Hinomoto, N. ve Gotoh, T. 2013. DNA-based identification of spider mites: molecular evidence for cryptic species of the genus *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 106(1), 463-472.
- Mcdougall, P. 2016. The Cost of New Agrochemical Product Discovery, Development and Registration in 1995, 2000, 2005–8 and 2010–2014. R&D expenditure in 2014 and expectations for 2019. A Consultancy Study for CropLife International, CropLife America and the European Crop Protection Association. Consultancy Study for CroPLife International, CropLife America and the European Crop Protection Association. 41 p
- Memarizadeh, N. Ghadamyari, M. Zamani, P. ve Sajedi, R. H. 2013. Resistance mechanisms to abamectin in Iranian populations of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Acarologia*, 53(3), 235-246.
- Mermans, C. Dermauw, W. Geibel, S. ve Van Leeuwen, T. 2017. A g326e substitution in the glutamate-gated chloride channel 3 (gluc13) of the two-spotted spider mite

- Tetranychus urticae* abolishes the agonistic activity of macrocyclic lactones. *Pest Management Science*, 73(12), 2413-2418.
- Mithöfer A. ve Boland W. 2012. Plant defense against herbivores: chemical aspects. *Annual Review of Plant Biology*, 63: 431–450.
- Monteiro, V. B. Gondim Jr, M. G. Oliveira, J. E. D. M. Siqueira, H. A. ve Sousa, J. M. 2015. Monitoring *Tetranychus urticae* Koch (acari: Tetranychidae) resistance to abamectin in vineyards in the lower middle São Francisco Valley. *Crop Protection*, 69, 90-96.
- Namin, H. H. 2017. Characterization of Acaricide Resistance, Plant-Mediated RNAi Against Two-Spotted Spider Mites (*Tetranychus urticae* Koch), and Assessing Off-and Non-Target Effects. Ph D. thesis. The University of Western Ontario. 152 pp.
- Namin, H. H. Zhurov, V. Spenser, J. Grbić, M. Grbić, V. ve Scott, I. M. 2020. Resistance to pyridaben in Canadian greenhouse populations of two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* (Koch). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 170, 104677.
- Nauen, R. Stumpf, N. Elbert, A. Zebitz, C. P. W. ve Kraus, W. 2001. Acaricide toxicity and resistance in larvae of different strains of *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae). *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 57(3), 253-261.
- Nauen, R. A. Elbert, A. McCaffery, R. Slater ve T. C. Sparks. 2012. IRAC: insecticide resistance, and mode of action classification of insecticides. *Modern Crop Protection Compounds* 1(3):935-955.
- Navajas M. Lagnel J. Fauvel G. ve De Moraes G. 1999. Sequence variation of ribosomal internal transcribed spacers (ITS) in commercially important Phytoseiidae mites. *Experimental and Applied Acarology*, 23(11), 851-859
- Navajas, M. Gutierrez, J. Williams, M. ve Gotoh, T. 2001. Synonymy between two spider mite species, *Tetranychus kanzawai* and *T. hydrangeae* (Acari: Tetranychidae), shown by ribosomal ITS2 sequences and cross-breeding experiments. *Bulletin of Entomological Research*, 91(2), 117-123.
- Negm, S. Saleh, A. El-Hady, A. Bekheat, H. ve El-Wahab, A. 2009. Metabolic resistance mechanisms of different pesticides in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Tetranychidae: Acari). *Acarines: Journal of the Egyptian Society of Acarology*, 3(1), 45-53.
- Nelson, L. A. Wallman, J. F. ve Dowton, M. 2008. Identification of forensically important *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae) species using the second ribosomal internal transcribed spacer (ITS2). *Forensic Science International*, 177(2-3), 238-247.

- Nicastro, R. L. Sato, M. E. ve Da Silva, M. Z. 2010. Milbemectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): selection, stability and cross-resistance to abamectin. *Experimental and Applied Acarology*, 50(3), 231- 241.
- Nicastro, R. L. Sato, M. E. Arthur, V. ve Da Silva, M. Z. 2013. Chlorfenapyr resistance in the spider mite *Tetranychus urticae*: stability, cross-resistance and monitoring of resistance. *Phytoparasitica*, 41(5), 503-513.
- Niu, J. Z. Liu, G. Y. Dou, W. ve Wang, J. J. 2011. Susceptibility and activity of glutathione S-transferases in nine field populations of *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae) to pyridaben and azocyclotin. *Florida Entomologist*, 94(2), 321-329.
- Noge, K. Mori, N. Tanaka, C. Nishida, R. Tsuda, M. ve Kuwahara, Y. 2005. Identification of astigmatid mites using the second internal transcribed spacer (ITS2) region and its application for phylogenetic study. *Experimental and applied acarology*, 35(1), 29-46.
- Ochiai, N. Mizuno, M. Mimori, N. Miyake, T. Dekeyser, M. Canlas, L. J. ve Takeda, M. 2007. Toxicity of bifenazate and its principal active metabolite, diazene, to *Tetranychus urticae* and *Panonychus citri* and their relative toxicity to the predaceous mites, *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus*. *Experimental and Applied Acarology*, 43(3), 181-197.
- Osakabe, M. Hirose, T. ve Satô, M. 2002. Discrimination of four Japanese *Tetranychus* species (Acari: Tetranychidae) using PCR-RFLP of the inter-transcribed spacer region of nuclear ribosomal DNA. *Applied Entomology and Zoology*, 37(3), 399-407.
- Papapostolou, K. M. Riga, M. Charamis, J. Skoufa, E. Souchlas, V. Ilias, A. Dermauw, W. Ioannidis, P. Van Leeuwen T. ve 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.
- Pavliidi, N. Tseliou, V. Riga, M. Nauen, R. Van Leeuwen, T. Labrou, N. E. ve Vontas, J. 2015. Functional characterization of glutathione s-transferases associated with insecticide resistance in *Tetranychus urticae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 53-60.
- Piraneo, T. G. 2013. Acaricide resistance of the two-spotted spider mite (*T. urticae*) in pacific northwest hops. Master of Science. Washington State University
- Piraneo, T. G. Bull, J. Morales, M. A. Lavine, L. C. Walsh, D. B. ve Zhu, F. 2015. Molecular mechanisms of *Tetranychus urticae* chemical adaptation in hop fields. *Scientific Reports*, 5(1), 1-12.
- Pritchard, A.E. ve Baker, E.W. 1955. A Revision of the spider mite family Tetranychidae. Pacific Coast Entomological Society, 472 pp, California

- Rameshgar, F. Khajehali, J. Nauen, R. Dermauw, W. ve Van Leeuwen, T. 2019. Characterization of abamectin resistance in Iranian populations of European red mite, *Panonychus ulmi* Koch (Acari: Tetranychidae). *Crop Protection*, 125, 104903.
- Riga, M. Tsakireli, D. Ilias, A. Morou, E. Myridakis, A. Stephanou, E. G. Nauen R. Dermauw, W. Van Leeuwen, T. Paine, M. ve Vontas, J. 2014. Abamectin is metabolized by CYP392A16, a cytochrome p450 associated with high levels of acaricide resistance in *Tetranychus urticae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 46, 43-53.
- Riga, M. Myridakis, A. Tsakireli, D. Morou, E. Stephanou, E. G. Nauen, R. Van Leeuwen, T. Douris V. ve 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. ve Van Leeuwen, T. 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), 1-12.
- Sato, M. E. Silva, M. Z. D. Raga, A. ve Souza Filho, M. F. D. 2005. Abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): selection, cross-resistance and stability of resistance. *Neotropical Entomology*, 34(6), 991-998.
- Sawicki, R.M. ve Denholm, I. 1987. Management of Resistance to Pesticides in Cotton Pests. *Tropical Pest Management Science*, 33(4) : 262 – 272.
- Scott, J. A. 1995. The molecular genetics of resistance: resistance as a response to stress. *Florida Entomologist*, 78: 399-414.
- Shah, R. Worner, S. P. ve Chapman, R. B. 2002. Selection of a discriminating concentration (DC) for propargite-resistance detection in *Tetranychus urticae* (Koch). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 5(10), 1074-1076.
- Sharma, R. K. ve Bhullar, M. B. 2018. Status of acaricide resistance in field collected two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch from vegetable growing areas of Punjab, India. *Journal of Entomology and Zoological Studies*, 6, 328-332.
- Sharma, R. K. Bhullar, M. B. Singh, S. ve Jindal, V. 2018. Molecular analysis of fenazaquin selected resistant strain of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *Indian Journal of Biotechnology*, 17,602-610.
- Shaw, M. Murrell, A. ve Barker, S. 2002. Low intraspecific variation in the rRNA internal transcribed spacer 2 (ITS2) of the Australian paralysis tick, *Ixodes holocyclus*. *Parasitology Research*, 88(3), 247-252.
- Shi, L. Wang, M. Zhang, Y. Shen, G. Di, H. Wang, Y. ve He, L. 2017. The expression of P450 genes mediating fenpropathrin resistance is regulated by CncC and Maf in

- Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology, 198, 28-36.
- Simma, E. A. Hailu, B. Jonckheere, W. Rogiers, C. Duchateau, L. Dermauw, W. ve Van Leeuwen, T. 2020. Acaricide resistance status and identification of resistance mutations in populations of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* from Ethiopia. Experimental and Applied Acarology, 82(4), 475-491.
- Simon, J. Y. 2014. The toxicology and biochemistry of insecticides. CRC press. 380 p. ISBN 9781482210606
- Smith, J. F. 2010. Early-Season Management of Twospotted Spider Mite on Cotton and Impacts of Infestation Timing on Cotton Yield Loss. Ph.D. Dissertation/Thesis, Mississippi State University Mississippi State
- Snoeck, S. Pavlidi, N. Pipini, D. Vontas, J. Dermauw, W. ve Van Leeuwen, T. 2019a. Substrate specificity and promiscuity of horizontally transferred UDP-glycosyltransferases in the generalist herbivore *Tetranychus urticae*. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 109, 116-127.
- Snoeck, S. Kurlovs, A. H. Bajda, S. Feyereisen, R. Greenhalgh, R. Villacis-Perez, E. Kosterlitz, O. Dermauw, W. Clark, R.M. ve Van Leeuwen, T. 2019b. 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.
- Solmaz, E. Çevik, B. ve Ay, R. 2020. Abamectin resistance and resistance mechanisms in *Tetranychus urticae* populations from cut flowers greenhouses in Turkey. International Journal of Acarology, 46(2), 94-99.
- Soyhan, S. 2020. Türk tarım sektörünün sürdürülebilir gıda güvencesi açısından değerlendirilmesi: Veri zarflama analizi. Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncüyıl Üniversitesi, İktisat Anabilim Dalı, 89s, Van
- Sökeli, E. Ay, R. ve Karaca, I. 2007. Determination of the resistance level of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) populations in apple orchards in Isparta province against some pesticides.
- Sparks, T. C. ve R. Nauen. 2015. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. Pesticide Biochemistry and Physiology 121:122- 128.
- Srigiriraju, L, 2008. Quantification of Insecticide Resistance in the Tobacco- Adapted Form of the Green Peach Aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) Lakshmipathi, PhD thesis.
- Stavrinides, M. C. Van Nieuwenhuysse, P. Van Leeuwen, T. ve Mills, N. J. 2010. Development of acaricide resistance in Pacific spider mite (*Tetranychus pacificus*) from California vineyards. Experimental and Applied Acarology, 50(3), 243-254.

- Stumpf, N. 2001. Acaricide resistance in the phytophagous spider mites *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi*: Risk assessment and biochemical mechanisms. Der University Hohenheim, Boblingen, Germany. Doctorate Thesis
- Stumpf, N. ve 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.
- Stumpf, N. ve Nauen, R. 2002. Biochemical markers linked to abamectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 72(2), 111-121.
- Sugimoto, N. ve Osakabe, M. 2014. Cross-resistance between cyenopyrafen and pyridaben in the twospotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pest Management Science*, 70(7), 1090-1096.
- Sugimoto, N. ve Osakabe, M. 2019. Mechanism of acequinocyl resistance and cross-resistance to bifentazate in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Applied Entomology and Zoology*, 54(4), 421-427.
- Tang, X. Zhang, Y. Wu, Q. Xie, W. ve Wang, S. 2014a. Stage-specific expression of resistance to different acaricides in four field populations of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 107(5), 1900-1907.
- Tang, X. Wang, S. Zhang, Y. Wu, Q. ve Xie, W. 2014b. Abamectin resistance of *Tetranychus urticae* and detection for resistance-related gene by pasa technique. *Acta Phytophylacica Sinica*, 41(1), 67-73.
- Tirello, P. Pozzebon, A. Cassanelli, S. Van Leeuwen, T. ve Duso, C. 2012. Resistance to acaricides in Italian strains of *Tetranychus urticae*: toxicological and enzymatic assays. *Experimental and Applied Acarology*, 57(1), 53-64.
- Tjosvold S.A. ve Karlik J.F. 2003. Insects and Other Animals, *Encyclopedia of Rose Science*. Mite. 431-437
- Tsagkarakou, A. Cros-Arteil, S. ve Navajas, M. 2007. First record of the invasive mite *Tetranychus evansi* in Greece. *Phytoparasitica*, 35(5), 519-522.
- Ullah, M. S. Moriya, D. Kongchuensin, M. Konvipasruang, P. ve Gotoh, T. 2011. Comparative toxicity of acaricides to *Tetranychus merganser* Boudreaux and *Tetranychus kanzawai* Kishida (Acari: Tetranychidae). *International Journal of Acarology*, 37(6), 535-543.
- Van Leeuwen, T. Van Pottelberge, S. ve 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. ve Nauen, R. 2006. Complete maternal inheritance of bifentazate 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. ve Tirry, L. 2007. Organophosphate insecticides and acaricides antagonise bifentazate toxicity through esterase inhibition in *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 63(12), 1172-1177.
- Van Leeuwen, T. ve Tirry, L. 2007. Esterase-mediated bifenthrin resistance in a multi-resistant strain of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science* 63:150–156
- Van Leeuwen, T. Vanholme, B. Van Pottelberge, S. van Nieuwenhuyse, P. Nauen, R. Tirry, L. ve Denholm, I. 2008. Mitochondrial heteroplasmy and the evolution of insecticide resistance: non-Mendelian inheritance in action. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 105:5980 – 5985
- Van Leeuwen, T. Vontas, J. Tsagkarakou, A. ve Tirry, L. 2009. Mechanisms of acaricide resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. In *Biorational control of arthropod pests* (pp. 347-393). Springer, Dordrecht.
- Van Leeuwen, T. Vontas, J. Tsagkarakou, A. Dermauw, W. ve 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. Tirry, L. Yamamoto, A. Nauen, R. 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. ve Dermauw, W. 2016. The molecular evolution of xenobiotic metabolism and resistance in chelicerate mites. *Annual review of entomology*, 61, 475-498.
- Van Nieuwenhuyse, P. Van Leeuwen, T. Khajehali, J. Vanholme, B. ve Tirry, L. 2009. Mutations in the mitochondrial cytochrome b of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) confer cross-resistance between bifentazate and acequinocyl. *Pest Management Science*. 65(4):404–412
- Van Pottelberge, S. Van Leeuwen, T. Nauen, R. ve Tirry, L. 2009a. 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.
- Van Pottelberge, S. Van Leeuwen, T. Khajehali, J. ve Tirry, L. 2009b. Genetic and biochemical analysis of a laboratory-selected spirodiclofen-resistant strain of

- Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Pest Management Science: formerly Pesticide Science, 65(4), 358-366.
- Vassiliou, V. A. ve Kitsis, P. 2013. Acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) populations from Cyprus. Journal of economic entomology, 106(4), 1848-1854.
- VoŠtřel, J. 2010. Bifenazate, a prospective acaricide for spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) control in Czech hops. Plant Protection Science, 46(3), 135-138.
- Wang, C. C. ve Pong, S. S. 1982. Actions of avermectin B1a on GABA nerves. Progress in Clinical and Biological Research, 97, 373-395.
- Wang, B. J. Yuan, M. L. Wei, D. D. Niu, J. Z. Nan, G. Y. ve Wang, J. J. 2012. High divergence levels of *Panonychus citri* populations on Rutaceae and Oleaceae as indicated by internal transcribed spacer 1 (ITS1) sequences. International Journal of Acarology, 38(1), 66-73.
- Wang, L. Zhang, Y. Xie, W. Wu, Q. ve Wang, S. 2015. A bioassay for evaluation of the resistance of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) to selected acaricides. Systematic and Applied Acarology, 20(6), 579-590.
- Wang, M.Y. Liu, X.Y. Shi, L. Liu, J.L. Shen, G.M. Zhang, P. Lu, W.C. ve He, L. 2020. Functional analysis of UGT201D3 associated with abamectin resistance in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). Insect Science, 27(2), 276-291.
- Wei, P. Li, J. Liu, X. Nan, C. Shi, L. Zhang, Y. LI, C. ve HE, L. 2019a. Functional analysis of four upregulated carboxylesterase genes associated with fenpropathrin resistance in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). Pest Management Science, 75(1), 252-261.
- Wei, P. Chen, M. Nan, C. Feng, K. Shen, G. Cheng, J. ve HE, L. 2019b. Downregulation of carboxylesterase contributes to cyflumetofen resistance in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). Pest Management Science. 75(8):2166-2173
- Wesson, D. M. Porter, C. H. ve Collins, F. H. 1992. Sequence and secondary structure comparisons of ITS rDNA in mosquitoes (Diptera: Culicidae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 1(4), 253-269.
- Williams, M. R. 2012. Cotton Insect Losses 2011, pp. 1013-1057. In Proceedings, Beltwide Cotton Conferences, 3-6 January 2012, Orlando, FL. National Cotton Council, Memphis
- Wilson, L. J. 1993. Spider Mites (Acari: Tetranychidae) affect yield and fiber quality of cotton. Journal of Economic Entomology 86(2), 566-585.
- Winer, B.J. Brown, D.R. ve Michels, K.M. 1991. Statistical Principles In Experimental Design, New York 552 pp.

- Wu, M. Adesanya, A. W. Morales, M. A. Walsh, D. B. Lavine, L. C. Lavine, M. D. ve Zhu, F. 2019. Multiple acaricide resistance and underlying mechanisms in *Tetranychus urticae* on hops. *Journal of Pest Science*, 92(2), 543-555.
- Xie, L. Xie, R. R. Zhang, K. J. ve Hong, X. Y. 2008. Genetic relationship between the carmine spider mite *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) and the two-spotted mite *T. urticae* Koch in China based on the mtDNA COI and rDNA ITS2 sequences. *Zootaxa*, 1726(1), 18-32.
- Xu, D. He, Y. Zhang, Y. Xie, W. Wu, Q. ve Wang, S. 2018. Status of pesticide resistance and associated mutations in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, in China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 150, 89-96.
- Xu, Z. Hu, Y. Hu, J. Qi, C. Zhang, M. Xu, Q. ve He, L. 2020. The Interaction between abamectin and *rdl* in the carmine spider mite: a Target site and resistant mechanism study. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 164, 191-195.
- Xu, D. Zhang, Y. Zhang, Y. Wu, Q. Guo, Z. Xie, W. Zhou, X. ve Wang, S. 2021. Transcriptome profiling and functional analysis suggest that the constitutive overexpression of four cytochrome P450s confers resistance to abamectin in *Tetranychus urticae* from China. *Pest Management Science*, 77(3), 1204-1213.
- Xue, W. Snoeck, S. Njiru, C. İnak, E. Dermauw, W. ve Van Leeuwen, T. 2020. Geographical distribution and molecular insights into abamectin and milbemectin cross-resistance in European field populations of *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science*, 76(8), 2569-2581.
- Xue, W. Wybouw, N. ve Van Leeuwen, T. 2021. The G126S substitution in mitochondrially encoded cytochrome b does not confer bifenthrin resistance in the spider mite *Tetranychus urticae*. *Experimental and Applied Acarology*, 85(2), 161-172.
- Yaghoobi, R. Khajehali, J. Alavijeh, E. S. Nauen, R. Dermauw, W. ve Van Leeuwen, T. 2021. Fenpyroximate resistance in Iranian populations of the European red mite *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology*, 83(1), 69-79.
- Yorulmaz, S. ve Ay, R. 2009. Multiple resistance, detoxifying enzyme activity, and inheritance of abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33(4), 393- 402.
- Yorulmaz S. S. Yaman Y. Aydın F. ve AY R. 2013. Avcı Akar *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) popülasyonlarının milbemectin'e karşı direnç düzeyleri sinerjistleri ve detoksifikasyon enzimlerinin belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 19, 207-218
- Yorulmaz, S. S. ve Özata, E. B. 2019. Diyarbakır'da pamuk alanlarından toplanan *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) popülasyonlarında abamectin

duyarlılık düzeyleri ile esteraz ve GST enzim ilişkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 23(3), 917-921.

- Yu, J. S. Seo, D. K. Kim, E. H. Han, J. B. Ahn, K. S. ve Kim, G. H. 2005. Inheritance and cross resistance of bifenazate resistance in twospotted spider mite, *Tetranychus urticae*. Korean Journal of Applied Entomology, 44(2), 151-156.
- Yu, S. J. Cong, L. Liu, H. Q. ve Ran, C. 2020. Genetic analysis and screening of detoxification-related genes in an amitraz-resistant strain of *Panonychus citri*. Bulletin of Entomological Research, 110(6), 743-755.
- Yuan, M. L. Wang, B. J. Lu, F. Hu, C. X. Wei, D. D. Dou, W. ve Wang, J. J. 2011. Evaluation of genetic diversity and population structure of *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae) in China using ribosomal internal transcribed spacer 1 sequences. Annals of the Entomological Society of America, 104(4), 800 - 807.
- Zhang, Z.O. 2003. Mites of greenhouses, identification, biology and control, CAB International, ISBN 0-85199-590-X, Wallingford, UK

## **EKLER**

### **EK 1. Sekans Sonuçları**

1 no.'lu popülasyon

GATCATTAAACGTATTACCCTCTTATTATAAGAGAAATACAACCTTCAACAATCAAA  
CACTCTGCATAGTGATATTGTAGATGCTAATATGGTGAATGCAATTGAATTGTATTT  
GCAAGTCGAGTCGCAATTGTGAATGTTTAATGCAAACATTTAGCCATTGCAACATG  
ATTCTAACTTGCATTACATTCGTTTATTACATACATCCATCTTTTATTATCCAATGCAA  
CAAAGGGTGCGGGTTATCTAACGATAGCCATAATTTCTTTTTGCAAACAATTGTA  
GTTTATAATCAAAAGCCTGTCTTGCTACATACTTGGTACCTGTTTAAAGTCTTCAGCT  
TATGCTGACGGCAAGGTTTAAAGAAGGAAGTTTACACTTCTTCGCCTACCTAAGT  
AAAGACAACATATGGTTTTTATAAACTGCATACAATTGTTTTAACCTCTCAATGTAA  
ATTTAGGATACTTATTAAGTCCCACGGTGGCAAAAATACATCTTCAAGCGGTGG  
ATCACTCGAATTACCAATCGATGAAAAACGTAGCTGGCTACGATAATCGGTGCGAA  
TTGCAGGACACGCCGAGCACTTGAGCTTCCAACGCACATTGCGGCTTTCGGGTCTTT  
TCCGAGGTCACATCTGTCTGAGAGTTGAGATGTAAAATAATCAACAAAACACTTGC  
ATACTACCATATATGCATTG

2 no.'lu popülasyon

TTGATTAAGTTGATTAATGTTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTA  
CTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAA  
TGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAAC  
AGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC  
GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATACAATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGAT  
TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGG  
GTTTGAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGG  
CGAAGAAGTGTAACCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACT  
TGAACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTT  
TTGCAAAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGGATA

ATGAAAGATGGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAA  
TGGCTAAATGTTTGCAATAAACATTCACAATTGCGACTCTAATGCAAATACAATTC  
AATTGCATTACCATATTAGCATCTACAATATCACTATGCAGA

3 no.'lu popülasyon

ATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACTT  
TAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATG  
AAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGAC  
TAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAAT  
ATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACT  
AAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATAACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCGATTATC  
GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG  
TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGA

4 no.'lu popülasyon

TGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTAC  
TTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAAT  
GAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCG  
ACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAA  
ATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTA  
CTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCAT  
ATAAATATAACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTT  
GATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGC  
CGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCGATTATC  
TCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGA  
TGATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGT  
TGA

5 no.'lu popülasyon

GATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACTTTAATGTTT  
GCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATGAAATAGCT  
ACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAGGTTAGTTG  
ATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACTAACCTTA  
GAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATATGCATTG  
TACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTAAATTGCA  
ACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATATAAATATAC  
AATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGATTATTTTA  
CATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAAGCCGCAATGTGC  
GTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTTCGCACCGATTATCGTAGCTAG  
CTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATGTATCTTTG  
CCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGA

6 no.'lu popülasyon

TGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTAC  
TTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAAT  
GAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACA  
GGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCG  
ACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAA  
ATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTA  
CTAAATTGCAACGAATCGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCAT  
ATAAATATACAATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTT  
GATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAAGC  
CGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTTCGCACCGATTA  
TCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGA  
TGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGT  
TG

7 no.'lu popülasyon

TTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTA  
CTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAA  
TGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAAC  
AGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC

GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATACAATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGAT  
TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGG  
GTTTGAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGG  
CGAAGAAGTGTAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACT  
TGAACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTT  
TTGCAAAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGGATA  
ATGAAAGATGGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAA  
TGGCTAAATGTTTGCAATAAACATTCACAATTGCGACTCTAATGCAAATACAATTC  
AATTGCATTCACCATATTAGCATCTACAATATCACTATG

8 no.'lu popülasyon

GTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACTTTAATG  
TTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATGAAATA  
GCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAGGTTAGT  
TGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACTAACCT  
TAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATATGCAT  
TGACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTAAATTG  
CAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATATAAATAT  
ACAATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGATTATTT  
TACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCGCAATGT  
GCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGATTATCGTAGCT  
AGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATGTATCTT  
TGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTTGAAAA  
CAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCAT

9 no.'lu popülasyon

AAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACTTTAA  
TGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATGAAA  
TAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAGGTTA  
GTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACTAA

CCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATATG  
CATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTAAA  
TTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATATAAA  
TATAACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGATTA  
TTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCGCAA  
TGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTTCGCACCGATTATCGTAG  
CTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATGTATC  
TTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGA

10 no.'lu popülasyon

TGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAATCTACTTTAATGTT  
TGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATGAAATAGC  
TACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAGGTTAGTTG  
ATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACTAACCTTA  
GAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATATGCATTG  
TACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTAAATTGCA  
ACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATATAAATATAC  
AATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGATTATTTTA  
CATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCGCAATGTGC  
GTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTTCGCACCGATTATCGTAGCTAG  
CTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATGTATCTTTG  
CCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAG

11 no.'lu popülasyon

TGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAATCTACTTTAATGTT  
TGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATGAAATAGC  
TACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAGGTTAGTTG  
ATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACTAACCTTA  
GAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATATGCATTG  
TACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTAAATTGCA  
ACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATATAAATATAC  
AATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGATTATTTTA  
CATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCGCAATGTGC  
GTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTTCGCACCGATTATCGTAGCTAG  
CTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATGTATCTTTG  
CCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATT

12 no.'lu popülasyon

GATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAATCTACT  
TTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATG  
AAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGAC  
TAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAAT  
ATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACT  
AAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATACAATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCGATTATC  
GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG  
TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTT  
GAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGGCGA  
AGAAGTGTAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACTTGA  
ACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTTTTGC  
AAAAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGGATAATGA  
AAGATGGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAATGGC  
TAAATGTTTGCAATAAACATTCACAATTGCGACTCTTATGCAAATACAATTCAATTG  
CATTACCATATTAGCATCTACATATCACTATGC

13 no.'lu popülasyon

GTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAATCTACTTTAATG  
TTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATGAAATA  
GCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAGGTTAGT  
TGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACTAACCT  
TAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATATGCAT  
TGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTAAATTG  
CAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATATAAATAT  
ACAATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGATTATTT  
TACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCGCAATGT  
GCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCGATTATCGTAGCT  
AGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATGTATCTT  
TGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTTGAAAA  
CAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGGCGAAGAAGT

GTAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACTTGAACAGGT  
ACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTTTTGCAAAAG  
AAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTGTGTCATTGGATAATGAAAGAT  
GGATGTATGAATGAACGAATGTA

14 no.'lu popülasyon

TTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAATCTACTTTAATGT  
TTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATGAAATAG  
CTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAGGTTAGTT  
GATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACTAACCTT  
AGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATATGCATT  
GTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTAAATTGC  
AACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATATAAATAT  
ACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGATTATTT  
TACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCGCAATGT  
GCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGATTATCGTAGCT  
AGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATGTATCTT  
TGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTTGAAAA  
CAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGGCGAAGAAGT  
GTAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACTTGAACAGGT  
ACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTTTTGCAAAAG  
AAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTGTGTCATTGGATAATGAAAGAT  
GGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAATGGCTAAAT  
GTT

15 no.'lu popülasyon

TTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAATCTACTTT  
AATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATGA  
AATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAGG  
TTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACT  
AACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATA  
TGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTA  
AATTGCAACGAATCGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAATACCCGAAAGACG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGATTATC

GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG  
TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAG

16 no.'lu popülasyon

GATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACT  
TTAATGTTTGCACAAATTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATG  
AAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGAC  
TAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAAT  
ATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACT  
AAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTTCGCACCGATTATC  
GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG  
TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAG

17 no.'lu popülasyon

GATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACT  
TTAATGTTTGCACAAATTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATG  
AAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGAC  
TAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAAT  
ATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACT  
AAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTTCGCACCGATTATC  
GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG  
TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGT

18 no.'lu popülasyon

GATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACT  
TTAATGTTTGCACAAATTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATG  
AAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGAC

TAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAAT  
ATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACT  
AAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTTCGCACCGATTATC  
GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG  
TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTT  
GAAA

19 no.'lu popülasyon

TTTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCT  
ACTTTAATGTTGCACAAAATTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGA  
ATGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAA  
CAGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC  
GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTTCGCACCGAT  
TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGG  
GTTTGA

20 no.'lu popülasyon

TTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTA  
CTTTAATGTTTGCACAAAATTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAA  
TGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAAC  
AGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC  
GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTTCGCACCGAT

TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGG  
GTTGA

21 no.'lu popülasyon

GATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACT  
TTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATG  
AAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGAC  
TAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAAT  
ATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACT  
AAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCGATTATC  
GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG  
TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTG  
GAA

22 no.'lu popülasyon

ATTTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATC  
TACTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAG  
AATGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTA  
ACAGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAG  
GCGACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGAT  
GAAATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTC  
CTTACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCAT  
GCATATAAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTT  
TTGTTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGA  
AAGCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCG  
ATTATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTG  
AAGATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGA  
GGG

23 no.'lu popülasyon

TTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTA  
CTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAA  
TGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAAC  
AGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC  
GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATAACAATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGAT  
TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGG  
GT

24 no.'lu popülasyon

GATTAATGTATATTTGTGTTGTTTGCAGCAAGCAACGTAAATCTACTTTAAAGTTT  
GCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTCAACAGAATAAAATAGCT  
ACTATTTGTATGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCATTTAACAGGTTAGTTGA  
TCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACTAACCTTAG  
AATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATATGCATTGT  
ACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTAAATTGCA  
ACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATATAAATATAC  
AATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGATTATTTTA  
CATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAAGCCGCAATGTGC  
GTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGATTATCGTAGCTAG  
CTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATGTATCTTTG  
CCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTACATTGAGAGGGT

25 no.'lu popülasyon

GATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAGCAAGCAACGTAAATCTACT  
TTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATG  
AAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGAC

TAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAAT  
ATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACT  
AAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGATTATC  
GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG  
TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTT  
GAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGT

26 no.'lu popülasyon

TTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGAAGCAAGCAACGTAAATCTA  
CTTTAATGTTTGCACAAAATTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAA  
TGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAAC  
AGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC  
GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGAT  
TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGG  
GTTTGA

27 no.'lu popülasyon

GATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGAAGCAAGCAACGTAAATCTACT  
TTAATGTTTGCACAAAATTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATG  
AAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGAC  
TAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAAT  
ATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACT  
AAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGATTATC

GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG  
TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTT  
GAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGGCGA  
AGAAGTGTAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACTTGA  
ACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTTTTGC  
AAAAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGGATAATGA  
AAGATGGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAATGGC  
TAAATGTTTTGCAATAAACATTCACAATTGCGACTCT

28 no.'lu popülasyon

TTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTA  
CTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAA  
TGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAAC  
AGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC  
GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATACAATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGAT  
TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGG  
GTTTGAAAAC

29 no.'lu popülasyon

ATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACTT  
TAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATG  
AAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGAC  
TAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAAT  
ATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACT  
AAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATACAATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGATTATC  
GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG

TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTT  
GAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTGATTAGGCAA  
AAAATTGTAAAACCTTCCTTCTTTAAACCTTGCCG

30 no.'lu popülasyon

ATTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCT  
ACTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGA  
ATGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAA  
CAGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC  
GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATAACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGAT  
TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGG  
GT

31 no.'lu popülasyon

TTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTA  
CTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAA  
TGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAAC  
AGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC  
GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATAACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGAT  
TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGG  
GTTTGAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGG  
CGAAGAAGTGTAACCTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACT  
TGAACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGA

32 no.'lu popülasyon

TTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTA  
CTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAA  
TGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAAC  
AGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC  
GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATACAATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGAT  
TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGG  
GTTTGAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGG  
CGAAGAAGTGTAAAACTTCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACT  
TGAACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTT  
TTGCAAAAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGGATA  
ATGAAAGATGGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAA  
TGGCTAAATGTTTGCATAAACATTAC

33 no.'lu popülasyon

CAAATATTTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGT  
AAATCTACTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTT  
AACAGAATGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATC  
AGTTAACAGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAG  
ATAGGCGACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAG  
AGATGAAATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGAT  
TCTCCTTACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGAT  
TCATGCATATAAATATACAATCCTCTCAAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAG  
TGTTTTGTTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGAC  
CCGAAAGCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGC  
ACCGATTATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCG  
CTTGAAGATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATT  
GAGAGGGTTTGAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTA

GTTAGGCGAAGAAGTGTA AAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTG  
AAGACTTGAACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACA

34 no.'lu popülasyon

ATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACTT  
TAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATG  
AAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGAC  
TAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAAT  
ATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACT  
AAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGATTATC  
GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG  
TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTT

35 no.'lu popülasyon

ATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACTT  
TAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATG  
AAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAG  
GTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGAC  
TAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAAT  
ATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACT  
AAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATAT  
AAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGA  
TTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCG  
CAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGATTATC  
GTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATG  
TATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTT  
GAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTA

36 no.'lu popülasyon

TATTTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAAT  
CTACTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACA  
GAATGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTT  
AACAGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATA  
GGCGACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGA  
TGAAATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCT  
CCTTACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCA  
TGCATATAAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGT  
TTTGTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCG  
AAAGCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACC  
GATTATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTT  
GAAGATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAG  
AGGGTTTGAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTT  
AGGCGAAGAAGTGTAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAG  
ACTTGAACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATT  
GTTTTGCAAAAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGG  
ATAATGAAAGATGGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTG  
CAATGGCTAAATGTTTGCA

37 no.'lu popülasyon

TGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTAC  
TTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAAT  
GAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACA  
GGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCG  
ACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAA  
ATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTA  
CTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCAT  
ATAAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTTGTT  
GATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGC  
CGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGATTA  
TCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGA  
TGATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGT  
TTGAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGGCG  
AAGAAGTGTAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACTTG

AACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTTTT  
GCAAAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGGATAAT  
GAAAGATGGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAATG  
GCTAAATGTTTGCAATAAACATTCACAATTGCGACTCTAATGCAAATANAATTCAA  
TTGCATTCACCATATTAGCATCTACAATATCACTAT

38 no.'lu popülasyon

TTTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCT  
ACTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGA  
ATGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAA  
CAGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC  
GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGAT  
TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGG  
GTTTGAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGG  
CGAAGAAGTGTAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACT  
TGAACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTT  
TTGCAAAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGGATA  
ATGAAAGATGGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAA  
TGGCTAAATGTTTGCAATAAACATTC

39 no.'lu popülasyon

ATTTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATC  
TACTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAG  
AATGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTA  
ACAGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAG  
GCGACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGAT  
GAAATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTC  
CTTACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCAT  
GCATATAAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTT  
TTGTTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGA

AAGCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCG  
ATTATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTG  
AAGATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGA  
GGG

40 no.'lu popülasyon

GATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAGCAAGCAACGTAAATCTACTTTAATGTTT  
GCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATGAAATAGCT  
ACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAGGTTAGTTG  
ATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACTAACCTTA  
GAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATATGCATTG  
TACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTAAATTGCA  
ACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATATAAATATAC  
AATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGATTATTTTA  
CATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCGCAATGTGC  
GTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCGATTATCGTAGCTAG  
CTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATGTATCTTTG  
CCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTTGAAAACA  
ATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGGCGAAGAAAGTG  
TAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACTTGAACAGGTAC  
CAAGTATGTAGCAAGA

41 no.'lu popülasyon

TGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAGCAAGCAACGTAAATCTAC  
TTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAAT  
GAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATAACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACA  
GGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCG  
ACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAA  
ATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTA  
CTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCAT  
ATAAATATAACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTT  
GATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGC  
CGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCGATTA  
TCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGA  
TGATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGT  
TTGAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGGCG

AAGAAGTGTA AAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACTTG  
AACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTTTT  
GCAAAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGGATAAT  
GAAAGATGGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAATG  
GCTAAATGTTTG

42 no.'lu popülasyon

TTTGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCT  
ACTTTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGA  
ATGAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAA  
CAGGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGC  
GACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGA  
AATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTT  
ACTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGC  
ATATAAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTG  
TTGATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGAACCGAAA  
GCCGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGAT  
TATCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAA  
GATGTATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAG

43 no.'lu popülasyon

TGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTAC  
TTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAAT  
GAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACA  
GGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCG  
ACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAA  
ATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTA  
CTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCAT  
ATAAATATACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTT  
GATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGC  
CGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGTCTGCAATTCGCACCGATTA  
TCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGA  
TGATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGT  
TTGAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGGCG  
AAGAAGTGTA AAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACTTG

AACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTTTT  
GCAAAAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAAC

44 no.'lu popülasyon

TGATTAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTAC  
TTAATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAAT  
GAAATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACA  
GGTTAGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCG  
ACTAACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAA  
ATATGCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTA  
CTAAATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCAT  
ATAAATATAACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTT  
GATTATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGC  
CGCAATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCGATTA  
TCGTAGCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGA  
TGATCTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGT  
TTGAAAACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGGCG  
AAGAAGTGTAAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACTTG  
AACAGGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTTTT  
GCAAAAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGGATAAT  
GAAAGATGGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAATG  
GCTAAATGTTTGCAATAAACATTCACA

45 no.'lu popülasyon

CAAGTTGATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCAAGCAAGCAACGTAAATCTACTTTA  
ATGTTTGCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATGAA  
ATAGCTACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAGGTT  
AGTTGATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACTA  
ACCTTAGAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATAT  
GCATTGTACACAAAATTTATCATGTGAGACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTAA  
ATTGCAACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATATAA  
ATATAACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGATT  
ATTTTACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGGAAAAGACCCGAAAGCCGCA  
ATGTGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCGATTATCGTA  
GCTAGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATGTAT  
CTTTGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTTGAA

AACAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGGCGAAGA  
AGTGTA AAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACTTGAACA  
GGTACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTTTTGCAA  
AAGAAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGGATAATGAAA  
GATGGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAATGGCTA  
AATGTTTGCAATAAACATTCAACAATTGCGACTCTAATGCAAATACAATTCAATTGC  
ATTCA

46 no.'lu popülasyon

AATTAATGTTTATTTGTGTTGTTTGCTAGCAAGCAACGTAAATCTACTTTAATGTTT  
GCACAAATTTTGCCTTTGCATTACTTCTTAGGTCTGCTTTAACAGAATGAAATAGCT  
ACTATTTGTACGATTTATACAAGTGCAAGAAGATTCATCAGTTAACAGGTTAGTTG  
ATCACCATAGTTATCTGCAATACGACTTTAGCGTCGTCAGATAGGCGACTAACCTTA  
GAATCTCATGCTAGTATCTATTCATATATACTGCTTGCAGAGATGAAATATGCATTG  
TACACAAAATTTATCATGTGATAACAAGTAGATTTGAGATTCTCCTTACTAAATTGC  
AACGAATTGCAATTAAGAAAAGGAATAAAACATCAAGATTCATGCATATAAATAT  
ACAATCCTCTCAAACAATGCATATATGGTAGTATGCAAGTGTTTTGTTGATTATTT  
TACATCTCAACTCTCAGACAGATGTGACCTCGCGAAAAGACCCGAAAAACGCAATG  
TGCGTTGGAAGCTCAAGTGCTCGGCGTGCCTGCAATTCGCACCGATTATCGTAGCT  
AGCTACGTTCTTCATCGATTGGTAATTCGAGTGATCCACCGCTTGAAGATGTATCTT  
TGCCACCGTGGGACTTTTAATAAGTATCCTAAATCTGCATTGAGAGGGTTTGAAAA  
CAATTGTATGCAGTTTATAAAAACCATAGTTGTCTTTACTTAGTTAGGCGAAGAAGT  
GTA AAACTTCCTTCTTTAAACCTTGCCGTCAGCATAAGCTGAAGACTTGAACAGGT  
ACCAAGTATGTAGCAAGACAGGCTTTTCATTATAAACTACAATTGTTTTGCAAAAAG  
AAATTATGGCTATCGTTAGATAACCCTCACTCTTTGTTGCATTGGATAATGAAAGAT  
GGATGTATGAATGAACGAATGTAATGCAAATTAGAATCATGTTGCAATGGCTAAAT  
GTTTGCATA