

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

İÇ ANADOLU BÖLGESİNDEKİ TETRANYCHID AKARLARIN (ACARI:
TETRANYCHIDAE) DNA BARKODLAMASI VE *Tetranychus urticae*
POPÜLASYONLARININ BAZI AKARİSİTLERE KARŞI DİRENÇ
DURUMLARININ BELİRLENMESİ

EMRE İNAK

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ANKARA
2021

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

İÇ ANADOLU BÖLGESİNDEKİ TETRANYCHID AKARLARIN (ACARI: TETRANYCHIDAE) DNA BARKODLAMASI VE *Tetranychus urticae* POPÜLASYONLARININ BAZI AKARİSİTLERE KARŞI DİRENÇ DURUMLARININ BELİRLENMESİ

Emre İNAK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet Güray FERİZLİ

Kırmızı örümcekler (Acari: Tetranychidae) tarımsal akarolojinin en yüksek ekonomik önemi olan akar familyası olarak kabul edilmektedir. Dünya genelinde kırmızı örümcek mücadelesinde en yaygın tercih edilen savaşım yöntemi kimyasal mücadeledir. Ancak, hem kırmızı örümceklerin yanlış teşhisi hem de akarisitlere karşı direnç oluşumu nedeniyle kimyasal mücadelede sıklıkla başarısızlıklar söz konusu olmaktadır. Bu çalışmada, kırmızı örümcek türlerinin moleküler karakterizasyonu sitokrom oksidaz I geni ve internal transcribed spacer gen bölgesi ile yapılmıştır. Her gen için 10 farklı türe ait 35 adet dizilim elde edilmiş ve her iki genin de tür teşhisinde başarılı bir şekilde kullanılabileceği (bazı istisnalar dışında) tespit edilmiştir. Ayrıca, İç Anadolu Bölgesi illerinden toplanmış 10 adet *Tetranychus urticae* popülasyonunda abamectin ve pyridaben direnci ve direnç mekanizması araştırılmıştır. Biyoassay denemeleri Potter spray kulesi kullanılarak ergin dişi akarlar üzerinde gerçekleştirilmiş ve sonuçlar probit analizine tabi tutularak LC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Test edilen popülasyonlar arasında 9-kat abamectin direnci tespit edilmiştir ve bütün popülasyonlar abamectine düşük oranda direnç göstermiştir. *T. urticae* popülasyonlarında 15-kata kadar pyridaben direnci tespit edilmiştir ve popülasyonların yarısından fazlasında ruhsatlı doz uygulamasında savaşımında başarısızlık beklenmektedir. Bu nedenle, pyridaben direnci tespit edilen bölgelerde, kimyasal savaşım farklı etki mekanizmasına sahip akarisitler ile rotasyonlu bir şekilde yapılmalıdır. Ayrıca başta biyolojik mücadele olmak üzere alternatif mücadele yöntemlerinin entegre bir şekilde kullanılması gerekmektedir. Popülasyonların hiçbirinde daha önce direnç ile ilişkilendirilen hedef-yeri mutasyonları tespit edilmemiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar tetranychid akarların hızlı ve doğru teşhisinde ve direnç yönetimi programları oluşturmada katkı sağlayacaktır.

Mart 2021, 111 sayfa

Anahtar Kelimeler: Tetranychidae, filogenetik analiz, akarisit direnci, abamectin, pyridaben

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

DNA BARCODING OF TETRANYCHID MITES (ACARI: TETRANYCHIDAE) IN
CENTRAL ANATOLIA AND DETERMINATION OF RESISTANCE STATUS OF
Tetranychus urticae POPULATIONS TO SOME ACARICIDES

Emre İNAK

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

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet Güray FERİZLİ

Spider mites (Acari: Tetranychidae) have been considered as the most economically important mite family in agricultural acarology. The most preferred method in spider mite management is chemical control all around the world. However, failure in chemical control of spider mites has often been reported because of both inaccurate species identification and resistance development against acaricides. In this study, molecular characterization of spider mite species have been performed using cytochrome oxidase I gene and internal transcribed spacer gene region. A total of 35 sequences for each gene belonging to 10 different species have been obtained and both gene sequences have been considered as suitable in the identification of spider mite species (with some exceptions). In addition, abamectin and pyridaben resistance and resistance mechanisms have been investigated in 10 *Tetranychus urticae* populations collected from Central Anatolia Region. 9-fold resistance ratio was determined among tested populations and all populations showed low resistance levels to abamectin. Up to 15-fold pyridaben resistance has been determined and it is expected that pyridaben application would fail at registered dose in more than half of the tested populations. Therefore, pyridaben should be used in rotation with other acaricide mode of action groups in these regions. In addition; alternative management methods, especially biological control, should be integrated in pest control programs. Previously reported target-site mutations have not been determined in *T. urticae* populations. The results of this study will contribute to both fast and accurate identification of tetranychid mites and create resistance management programs.

March 2021, 111 pages

Keywords: Tetranychidae, phylogenetic analysis, acaricide resistance, abamectin, pyridaben

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar beşeri ilişkilerde de engin fikirleriyle yetişme ve gelişmeye katkıda bulunan, doktora sürecime danışman hocam olarak başlayan ancak emekli olan Prof. Dr. Sultan ÇOBANOĞLU' na; tez sürecimin başından itibaren yanımda olan, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, bilimsel her konuda tartışma kültürümün gelişmesine katkı sağlayan ve doktora sürecimi danışmanlığında noktaladığım Prof. Dr. Ahmet Güray FERİZLİ' ye; her ihtiyacım olduğunda bilgi ve tecrübelerini bana sunan, tez konumun büyük bir kısmıyla kendisi sayesinde tanıştığım Doç. Dr. Emre KESKİN' e ve akademik hayatın yanı sıra özel hayatıyla ve davranışlarıyla de örnek aldığım Prof. Dr. Mevlüt EMEKÇİ' ye teşekkürlerimi sunarım.

Kritik öneri ve katkıları ile tezin eksiklerini görmemi sağlayan, tezin yazımının çok daha güçlü olmasını sağlayan jüri hocalarım Prof. İbrahim ÇAKMAK (Aydın Adnan Menderes Üniversitesi) ve Prof. Dr. Recep AY' a (Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi) teşekkür ederim.

Laboratuvar ekibine katılıp çalışmama izin veren Prof. Dr. Thomas Van LEEUWEN' e (Ghent Üniversitesi) teşekkür ederim [I would like to thank to Prof. Dr. Thomas Van LEEUWEN to allowing me to work in his lab in Ghent University (Belgium)]. Bazı türlerin teşhisinde yardımcı olan Dr. Philippe AUGER' e (INRA, Fransa) teşekkür ederim [I would like to thank to Dr. Philippe AUGER (INRA, France) for his help in species identification]. Doktora sürecim boyunca MOLEN laboratuvarının imkanlarını kullanımına açan Doç. Dr. Umut TOPRAK' a teşekkür ederim. Arazi çalışmalarım sırasında gerek eşlik ederek gerek örnek yollayarak, tezin kalitesinin artmasına destek sağlayan; Kürşat CÖNGER, Didem BORAN, Çağlar AÇIKGÖZ, Gökay TÜRKAY, Şahin TATLI, İsmail ATAY, Bayram BAYAR, Banu Çiçek TOKGÖZ, Kenan ERDOĞAN, Naciye Sena ÇAĞATAY, Canberk AY, Muhsin DERİCİ' ye teşekkür ederim.

Yaşadığım sürenin yarısından fazlasında iyi ve kötü her anımda yanımda olan, varlığını hep hissettiren Mehmet Ali TEMUR' a teşekkür ederim. Her çıkmaza girdiğimde bir telefon kadar yakında olan, yıllardır birlikte çalıştığım değerli dostum Yasin Nazım ALPKENT' e bütün emekleri ve ayırdığı tüm vakitler için teşekkür ederim. Önce staj arkadaşı, sonra sınıf arkadaşı, en son oda arkadaşlığını paylaştığım, akademik yıllarımın acı tatlı her anını birlikte geçirdiğim, birlikte çalışmalar yürüttüğümüz, gerektiğinde saatlerce bir konuda tartıştığımız, kısacası uzun yıllardır kahrımı çeken çok sevgili dostum Esengül ÖZDEMİR' e teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren, yetiştiren, büyüten, maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen annem Leyla İNAK ve babam Ali Nezih İNAK' a teşekkür ederim.

Bana bu mesleği seçtiren ve öğreten, emeklerini saymakla bitiremeyeceğim, kendisi olmasa bugünlere gelemeyeceğim abim Arda İNAK' a teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje no: 19L0447009).

Emre İNAK

Ankara, Mart 2021

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI

ETİK.....Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ÖZET.....ii

ABSTRACTiii

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....iv

KISALTMALAR DİZİNİvi

ŞEKİLLER DİZİNİvii

ÇİZELGELER DİZİNİviii

1. GİRİŞ.....1

2. KAYNAK ÖZETLERİ.....14

3. MATERYAL ve YÖNTEM27

3.1 Materyal27

3.2 Yöntem28

3.2.1 Tetranychid akarların DNA barkodlaması28

3.2.1.1 İç Anadolu Bölgesi illerinden akar örneklerinin toplanması28

3.2.1.2 Akar örneklerinin morfolojik teşhisi.....30

3.2.1.3 Akarların moleküler karakterizasyonu30

3.2.1.4 Veri analizi ve filogenetik ağaç31

3.2.2 Tetranychus urticae popülasyonlarında akarisit direnci ve nokta mutasyonlarının varlığının belirlenmesi34

3.2.2.1 Kırmızı örümcek popülasyonlarının toplanması34

3.2.2.2 Kırmızı örümcek popülasyonlarının teşhisi.....34

3.2.2.3 Akarisitler35

3.2.2.4 Biyoassay denemeleri37

3.2.2.5 Hedef-bölge nokta mutasyonlarının taranması.....39

4. BULGULAR ve TARTIŞMA40

4.1 Elde Edilen Tetranychid Türleri Hakkında Bilgiler40

4.2 Tetranychid Akar Türlerinin Barkodlaması ve Filogenetik Analizi.....47

4.3 İç Anadolu Bölgesi'nden Toplanan *Tetranychus urticae* Popülasyonlarında Direncin Belirlenmesi58

5. SONUÇ66

KAYNAKLAR68

EKLER.....Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

EK 1 ÇALIŞMA KAPSAMINDA ELDE EDİLEN COI SEKANSLARI.... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

EK 2 ÇALIŞMA KAPSAMINDA ELDE EDİLEN ITS SEKANSLARI..... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ÖZGEÇMİŞ.....Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
WP	: Islanabilir toz
SC	: Süspansiyon konsantre
°C	: Santigrad derece
LC ₅₀	: Popülasyonun %50'sini öldüren konsantrasyon
LC ₉₀	: Popülasyonun %90'nını öldüren konsantrasyon
METI	: Mitokondriyal elektron transfer inhibitörü
MFO	: Çoklu fonksiyonlu oksidazlar
µl	: Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Artropoda filogenetik ağacı ve Acari alt sınıfının filogenisi	2
Şekil 1.2 Acari taksonomik sınıflandırması	3
Şekil 1.3 Tetranychidae familyasının taksonomisi	4
Şekil 1.4 Tetranychidae sınıfının alt gruplarına morfolojik ayırım karakterleri	4
Şekil 1.5 <i>Tetranychus urticae</i> dışısının dorsal görünümü; tr, trochanter; fe, femur; ge, genu; ti, tibia; ta, tarsus	6
Şekil 1.6 <i>Tetranychus</i> sp. dişi birey Tarsus I setaları	6
Şekil 1.7 <i>Tetranychus urticae</i> türünün yaşam döngüsü	7
Şekil 3.1 Moleküler çalışmada kullanılan bazı cihazlar	27
Şekil 3.2 Direnç çalışmaları için örneklenen <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarının lokasyonları	36
Şekil 3.3 a-d) Biyoassay petrilerinin hazırlanması, e-h) Akarisit dozlarının hazırlanması ve uygulanması	38
Şekil 4.1 <i>Tetranychus urticae</i> aedagus şekli	41
Şekil 4.2 <i>Tetranychus turkestanii</i> aedagus şekli	42
Şekil 4.3 <i>Amphitetranychus viennensis</i> aedagus şekli	42
Şekil 4.4 <i>Panonychus ulmi</i> ergin dişi	43
Şekil 4.5 <i>Eotetranychus populi</i> aedagus şekli	44
Şekil 4.6 <i>Eotetranychus</i> sp. zararı ve aedagus şekli	44
Şekil 4.7 <i>Eurytetranychus buxi</i> zararı	45
Şekil 4.8 <i>Eutetranychus orientalis</i> ergin dişi şekli (Anonymous 2021)	46
Şekil 4.9 <i>Bryobia</i> cinsine ait ergin dişi birey (Deml 2013)	47
Şekil 4.10 Tetranychid akarların COI geni ile oluşturulan filogenetik ağacı	56
Şekil 4.11 Tetranychid akarların ITS gen bölgesi ile oluşturulan filogenetik ağacı	57
Şekil 4.12 İç Anadolu Bölgesi <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarının GluC11 aminoasit dizilimi	61
Şekil 4.13 İç Anadolu Bölgesi <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarının GluC13 aminoasit dizilimi	62
Şekil 4.14 İç Anadolu Bölgesi <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarının PSST alt ünitesi aminoasit dizilimi	64
Şekil 4. 15 Pyridaben direncine karşılık gelen H92R mutasyonunun kromograf incelemesi	65
Şekil 4. 16 Abamectin direncine karşılık gelen GluC11 G314D mutasyonunun kromograf incelemesi	65
Şekil 4. 17 Abamectin direncine karşılık gelen GluC13 G326E mutasyonunun kromograf incelemesi	65

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Türkiye’de tespit edilen tetranychid türleri.....	11
Çizelge 3.1 Çalışma kapsamında İç Anadolu Bölgesi illerinden yapılan örnekleme ve bilgileri	28
Çizelge 3.2 Türlerde kullanılan primer çiftleri ve fragment uzunlukları	32
Çizelge 3.3 Çalışmada kullanılan primerler ve hedef genleri	33
Çizelge 3.4 Direnç çalışmaları için toplanan popülasyonlar hakkında bilgiler	35
Çizelge 3.5 Akarisit hedef-yeri mutasyonlarını taramak için kullanılan primerler	39
Çizelge 4.1 Çalışma kapsamında örnekleme yapılan iller, konukçuları, örnekleme tarihi ve tespit edilen türler	50
Çizelge 4.2 Çalışmada tespit edilen tetranychid akar türlerine ait gen dizilimlerinin BLAST analizi sonuçları	52
Çizelge 4.3 Filogenetik ağaçta kullanılan tüm türlerin COI geni dizilimlerinin genetik uzaklığı	53
Çizelge 4.4 Filogenetik ağaçta kullanılan tüm türlerin ITS geni dizilimlerinin genetik uzaklığı	54
Çizelge 4.5 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarında abamectin aktif maddesine karşı belirlenen LC ₅₀ -LC ₉₀ değerleri ve direnç oranları.....	60
Çizelge 4.6 <i>Tetranychus urticae</i> popülasyonlarında pyridaben aktif maddesine karşı belirlenen LC ₅₀ -LC ₉₀ değerleri ve direnç oranları.....	63

1. GİRİŞ

Keliserata; içerisinde akrepler, örümcekler, akarlar, keneler ve nesli tükenmiş deniz akrepleri (eurypterida) gibi büyük grupları barındıran ve tahmini olarak kambriyen dönemde ortaya çıkmış bir artropoda altşubesidir (Dunlop ve Selden 2009, Dunlop 2010, Van Leeuwen ve Dermauw 2016) (**Şekil 1.1**). Böceklerden (Insecta) sonra en geniş tür çeşitliliğine sahip olan artropod grubu keliseratadır (Jeyaprakash ve Hoy 2009).

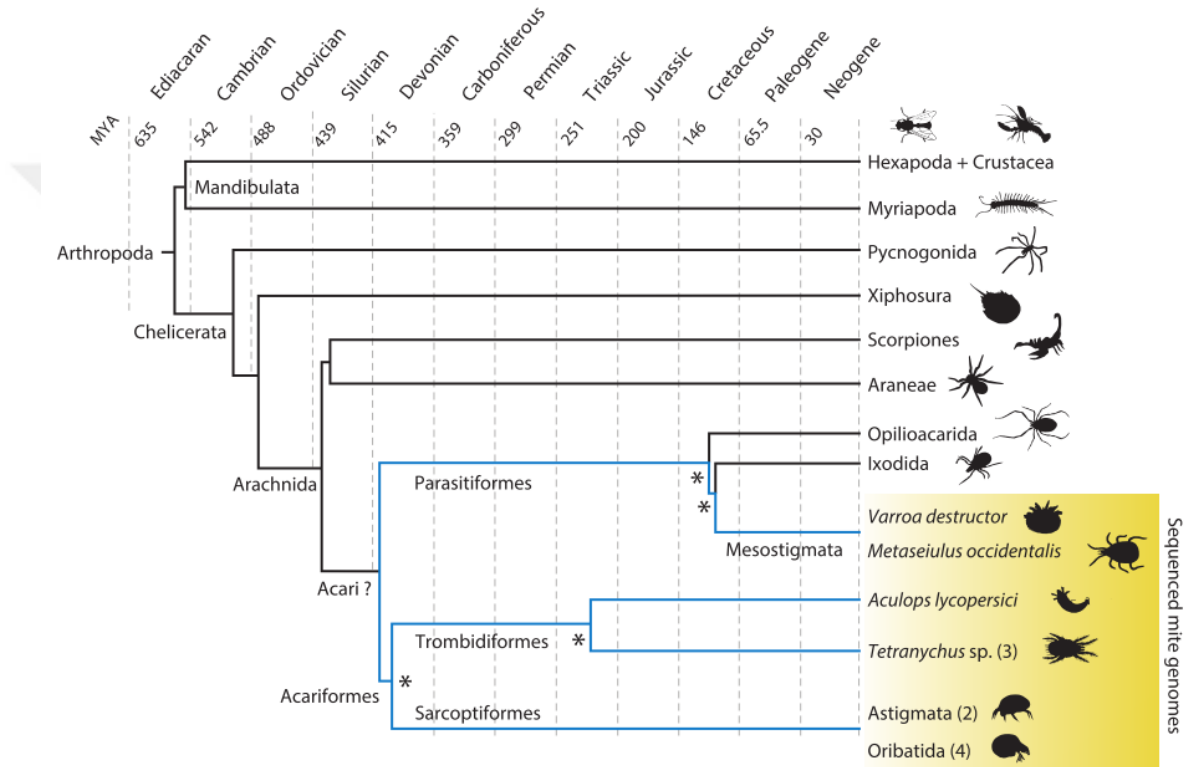
Acari ise Arachnida sınıfına bağlı olup, kene ve akarları içerisinde bulunduran ve bu sınıftaki en çok tür çeşitliliğine sahip olan altsnıftır. Akarlar, dünya genelinde hemen her karasal ve sucul ortamda bulunabilmektedirler (Van leeuwen vd. 2009). Günümüzde 55.000’ den fazla akar türü tanımlanmış, ancak gerçek sayının 0.5-1 milyon arasında olduğu tahmin edilmektedir (Hoy 2011, Walter ve Proctor 2013).

Acari grubu ile ilgili ilk tarihi kayıtlar insanlarda yüksek ateşe sebep olan kenelere ait olup, M.Ö. 1550 yılından kalma Mısır papirüslerinde tespit edilmiştir (de la Fuente 2003). Homeros, M.Ö. 850 yılında kenelerden bahsederken, Aristo ise çekirgelere parazit olan bazı akarları tanımlamıştır (Hoy 2011). Hipokrat, Plutarkhos, Aristofanes ve Pliny gibi bilim tarihinin önemli insanları da akarların varlığından bahsetmiştir. 1660 Yılına kadar akarlar “bit” ya da “küçük böcekler” gibi isimlerle hitap edilmiştir. Daha sonra “mite” ya da “Akari” terimleri ortaya çıkmıştır. Linnaeus’ un *Systema Naturae* kitabında ise jenerik bir isim olan *Acarus* cins ismi kullanılmıştır (*Acarus siro* L.) (Acari: Acaridae) (Hoy 2011). “Mite” kelimesinin ingilizce “minute (=küçük)” kelimesinden türediği de söylenmektedir (Gordh ve Headrick 2011).

Shimer (1868), zararlı popülasyonunu düşürdüğü farkedilen ilk akar türünü *Hemisarcoptes malus* (Shimer) (Acarina: Hemisarcoptidae) olarak bildirmiştir. *H. malus* türünün zeytin kabuklu biti, *Lepidosaphes ulmi* (L.) (Hemiptera: Diaspididae), popülasyonunu baskıladığı bildirilmiştir (Gerson vd. 2003).

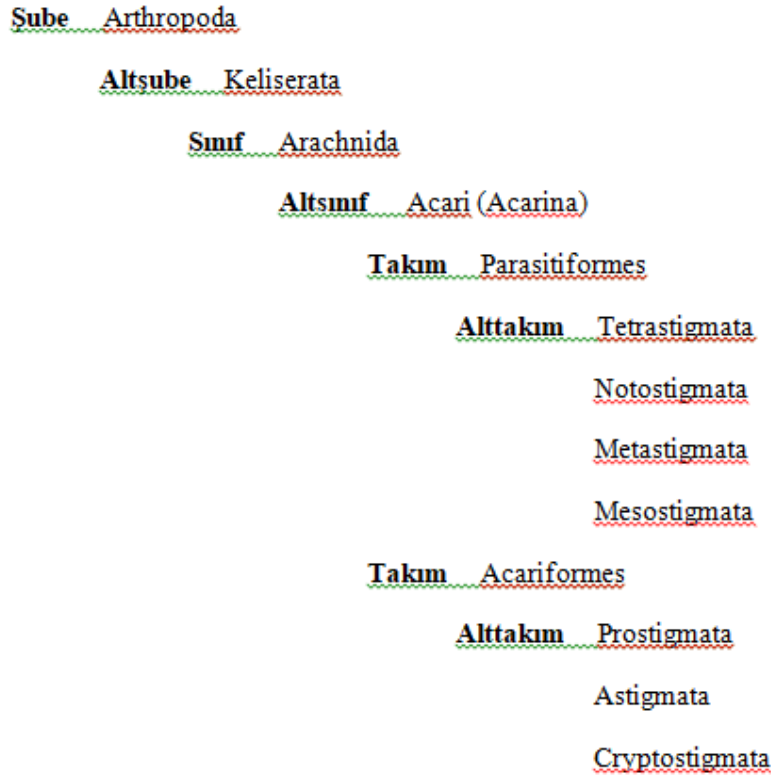
Akarlar, özellikle de bitki parazitleri ile birlikte insanlar ve hayvanlar için patojen mikroorganizmaları taşıyan keneler düşünüldüğünde büyük ekonomik öneme sahiptir

(Van Leeuwen vd. 2015). Tetranychidae, Tarsonomidae, Tenuipalpidae, Eriophyidae, Acaridae gibi bitkilerde zarar oluşturan çok önemli akar familyalarının yanında, Ixodidae familyası gibi insan hastalıkları taşıyabilen keneler de Acari içerisindedir. Bitki paraziti akarların ve diğer bazı mikroartropodların biyolojik mücadelesinde kullanılan predatör akarlar ise dünya genelinde doğa dostu bir mücadele için sıklıkla kullanılmakta ve en başarılı biyolojik mücadele ajanları arasında gösterilmektedir (Knapp vd. 2018).



Şekil 1.1 Artropoda filogenetik ağacı ve Acari alt sınıfının filogenisi (Van Leeuwen ve Dermauw 2016)

Acari taksonomik sınıflandırması **Şekil 1.2**'de verilmektedir. Buna göre, ilk olarak stigmalarının bulunduğu yere göre prostigmata (fitofag akarlar), mesostigmata (predatör akarlar), metastigmata (keneler), astigmata (depo akarları, ev tozu akarları) ve cryptostigmata (toprak akarları) olarak ayrılmaktadırlar (Hoy 2011).



Şekil 1.2 Acari taksonomik sınıflandırması (Hoy 2011)

Tetranychidae familyası, prostigmata alttakımına ait olup, “kırmızı örümcekler” olarak bilinmektedir ve çok sayıda bitki türünde ekonomik kayıplara yol açan türleri içerisinde barındırmaktadır. “Örümcek” olarak adlandırılmalarındaki sebep ise birçok üyesinin ağ örebilme yeteneğine sahip olmasıdır. Tetranychidae familyası; Bryobinae ve Tetranychinae olmak üzere iki alt familyadan oluşmaktadır (Şekil 1.3; Şekil 1.4) Günümüzde, Tetranychidae familyasına ait 1321 tür kayıt edilmiştir (Migeon ve Dorkeld 2020).

Familya: Tetranychidae

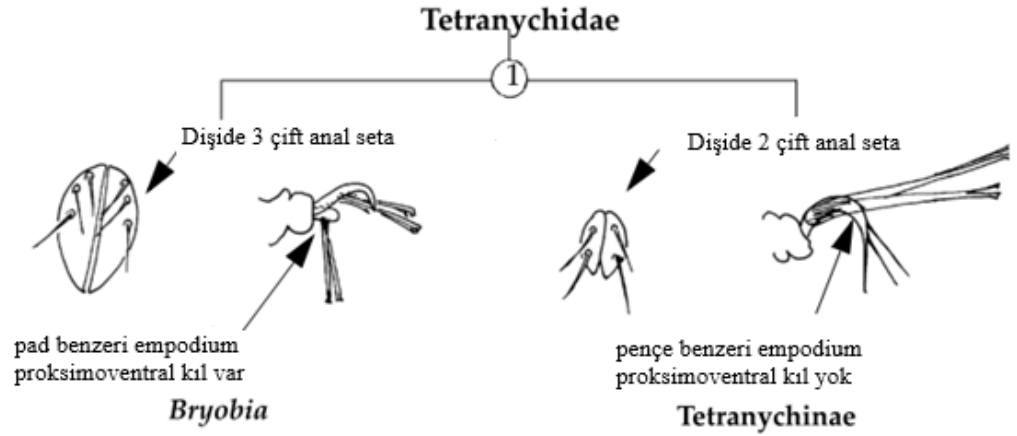
Altfamilya: Tetranychinae

Oymak: Tenuipalpoidini
Eurytetranychini
Tetranychini

Altfamilya: Bryobinae

Oymak: Bryobiini
Hystrichonychini
Petrobiini

Şekil 1.3 Tetranychidae familyasının taksonomisi



Şekil 1.4 Tetranychidae sınıfının alt gruplarına morfolojik ayırım karakterleri

Kırmızı örümceklerin morfolojik karakterleri

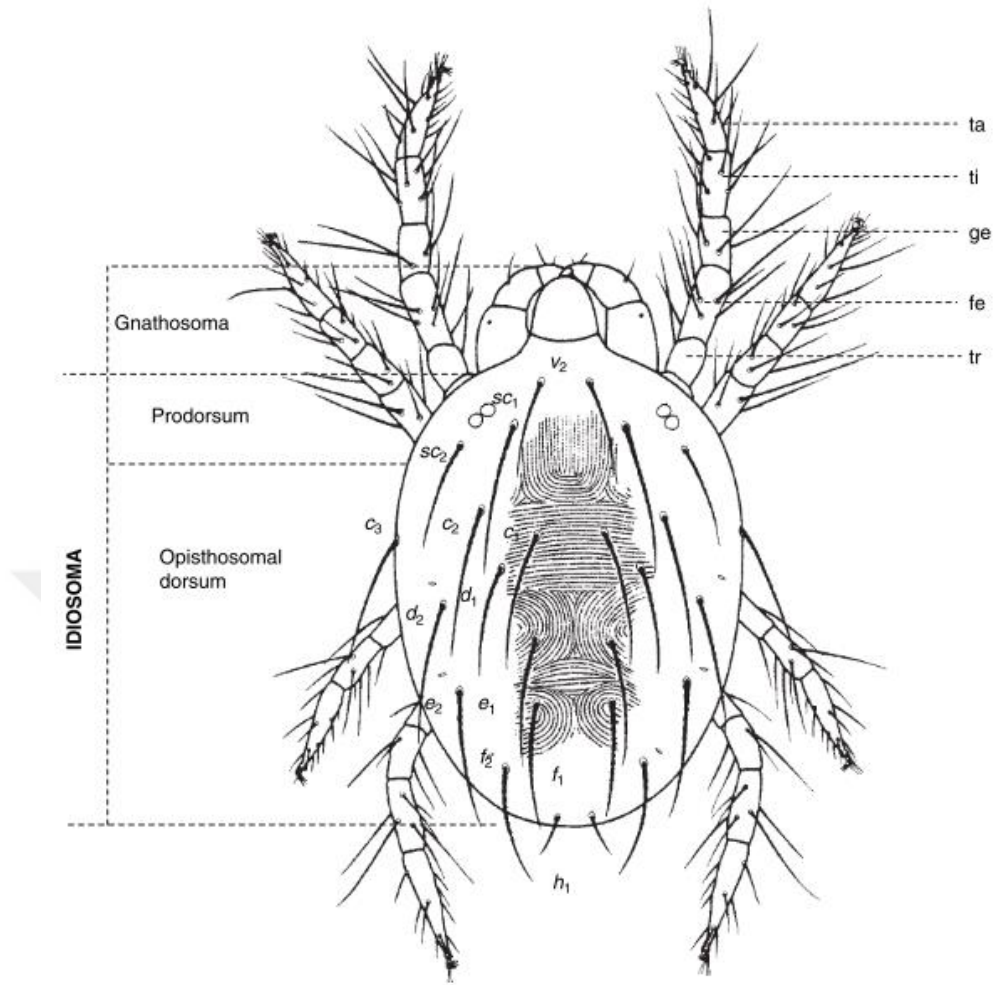
Kırmızı örümcekler yumuşak vücutlu, yaklaşık 400µm (dişi bireyler) uzunluğundadır. Vücutları gnathasoma ve idiosoma olmak üzere iki ana bölümden oluşmaktadır. Ağız parçalarından biri olan palp 5 segmentlidir ve ucunda parmak-tırnak şeklinde bir kompleks bulunmaktadır. Tetranychinae altfamilyasında palpusun tarsus segmenti birçok türde ağ örme yeri olan spinnereti oluşturacak şekilde genişlemiştir. Spinneret büyüklüğü

ve şekli tür teşhisinde kullanılan taksonomik karakterler içerisinde yer almaktadır. Bitki öz suyu emme işlevini gören stilet civarında bulunan peritremin çıktığı yerde bir çift stigma bulunmaktadır. Peritrem şekli de kırmızı örümcek teşhisinde sıklıkla kullanılan karakterlerdendir (Zhang 2003, Vacante 2010).

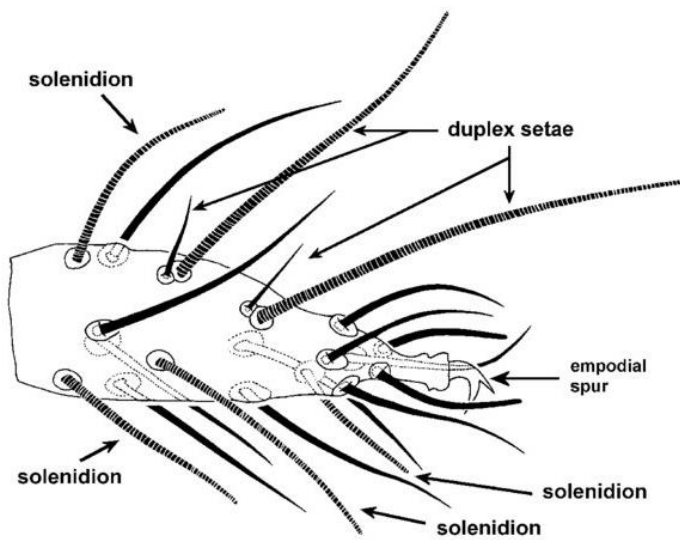
İdiosoma genellikle çizgili bir kütikula ile çevrilidir ve bu çizgilerin şekli tür teşhisinde ayırıcı olarak kullanılmaktadır. Özellikle dorsal kısımda birçok seta bulunmaktadır ve bu setalar çok önemli taksonomik karakterlerdir. Yine dorsal kısımda bir çift göz bulunmaktadır. Dorsal seta isimlendirilmesi **Şekil 1.5**'te verilmektedir.

Birinci ve ikinci çift bacağın tarsi bölgesinde dubleks seta (yan yana noktalardan çıkan bir uzun solenedion ve bir kısa normal dokunsal seta) bulunmaktadır (**Şekil 1.6**). Yine bacakların pre-tarsus segmentinde tırnaklar bulunmaktadır. Bu tırnakların yapısı ve sahip olduğu setalar morfolojik taksonomide rol oynamaktadır (Pritchard ve Baker 1955, Zhang 2003).

Erkekler, dişi bireylerden daha küçük ve “V” şeklindedir. Tetranychinae altfamilyasındaki bireyler için en önemli taksonomik kriter ise erkek bireylerin üreme organı olan “aedagus”un şeklidir.



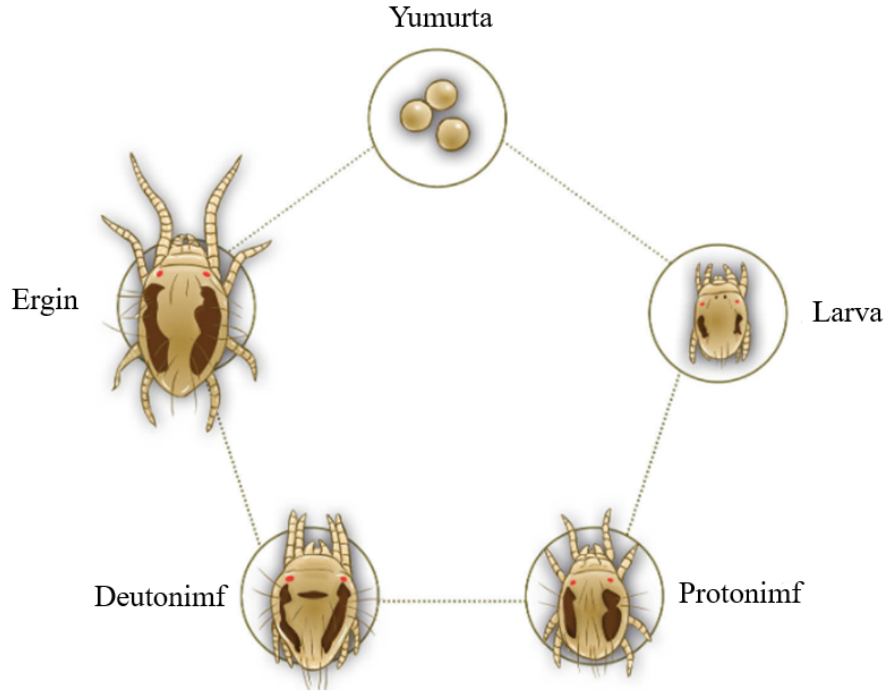
Şekil 1.5 *Tetranychus urticae* dişisinin dorsal görünümü; tr, trochanter; fe, femur; ge, genu; ti, tibia; ta, tarsus (Vacante 2010)



Şekil 1.6 *Tetranychus* sp. dişi birey Tarsus I setaları (Seeman ve Beard 2011)

Kırmızı örümceklerin yaşam şekli ve biyolojisi

Kırmızı örümcekler genel olarak; yumurta, larva, protonimf, deutonimf ve ergin olmak üzere toplam beş döneme sahiptirler (**Şekil 1.7**). Bütün aktif dönemlerin arasında bir durgun (quiescent) dönem geçirmektedirler ve bu dönemde deri değiştirme gerçekleşmektedir. Farklı çevre koşullarına göre değişmekle birlikte yumurtadan ergin olana kadar geçen süre 1-2 haftadır. Erkek bireyler dişilerden daha hızlı şekilde ergin olmaktadır (Helle ve Sabelis 1985).



Şekil 1.7 *Tetranychus urticae* türünün yaşam döngüsü (Anonymous 2020)

Erkek bireyler ergin olduktan sonra, durgun deutonimf döneminde olan dişileri bulurlar ve üstlerinde sabit şekilde durarak bir tür koruma gerçekleştirirler. Bu süreçte erkekler arasında kavgalar söz konusu olmaktadır. Bu kavgayı kazanan erkek birey, son deri değiştirmeyi tamamlayıp ergin olan dişi bireyle çiftleşmektedir (Saito 2009).

Özellikle Tetranychinae altfamilyasında haplodiploid (arrhenotoki) üreme görülmektedir. Yani, döllemsiz yumurtalardan haploid erkek bireyler meydana gelirken, döllemlı yumurtalardan diploid dişi bireyler meydana gelmektedir (Rodrigues vd. 2020). Ayrıca popölasyon içerisinde dişi bireyler erkek bireylerden sayıca daha fazla meydana gelmektedir (Mitchell 1972).

Birçok kırmızı örümcek türü yaprak altlarında bulunmayı tercih etmektedirler (doğrudan güneş ışığından kaçmak için) ve yaprakların parankima dokusu ile beslenmektedirler (Zhang 2003). Beslenmenin gerçekleştiğı alanlarda, klorofil eksikliğinden dolayı sarımsı-beyaz noktacıklar meydana gelmektedir. Özellikle genç yapraklarda nekroz görülebilmektedir. Eğer popölasyon çok yoğunsa yaprakta gevrekleşme, yaprak dökümü ve hatta bitki ölümü gerçekleşebilmektedir (Zhang 2003).

Kırmızı örümcekler kendi hareketleriyle yakın alanlara dağılabilmektedirler. Ayrıca; kıyafet ve alet-ekipmana bulaşarak da yeni alanları enfekte edebilmektedirler. Ancak, kırmızı örümceklerin uzun mesafeli dağılımında en önemli faktörlerden birisi “hava”dır (Clotuche vd. 2011, Clotuche vd. 2013). Özellikle çevre koşullarının istenilenin dışında olması ve/veya tüketecek besinin azalması durumunda, kırmızı örümcekler bitkinin üst kısmına yönelip ağılı bir topak oluşturmaktadırlar. Bu ağılı topak ile ilgili yapılan detaylı çalışma, akarların bitkinin üst kısmına yönlenmesinde genetik altyapılarının, biyolojik dönem ve cinsiyet gibi özelliklerinin önemli olmadığı ortaya konulmuştur (Clotuche vd. 2013). Bu davranışın rastgele olması nedeniyle, popölasyon için genetik çeşitlilik korunmaya devam etmektedir (Clotuche vd. 2013).

Genellikle ergin dişi halinde kışlayan kırmızı örümcekler, uygun koşulların sağlanması halinde diyapozdan çıkabilmekte ve beslenmeye devam edebilmektedir (Bryon vd. 2017). Seralarda ise yıl boyunca uygun koşullar olması nedeniyle genellikle kışlama görülmemektedir. Bazı kırmızı örümcek türleri (*Panonychus* spp. gibi) ise kışı yumurta formunda geçirmektedir (Cranham 1972).

Kırmızı örümceklerin teşhisinde moleküler temelli yaklaşımlar

Biyolojik olayların daha iyi anlaşılması amacıyla moleküler yaklaşımların kullanımı özellikle son 30 yıl içerisinde oldukça artmıştır (dos Santos ve Tixier 2016). Bu tekniklerin sistematik bilim dalında da kullanımı artmış ve canlıların sınıflandırılmasında, evrimsel süreçler de dikkate alınmaya başlanmıştır. DNA barkodlama, dünya genelinde yaygın kullanılan bir canlı teşhis yaklaşımıdır (Hebert vd. 2003). Hayvanlarda COI (Sitokrom oksidaz alt ünite I) geninin yaklaşık 655 baz çiftlik bir bölümü kullanılarak teşhis yapılabilmekte ve filogenetik ilişkiler ortaya konulabilmektedir (Keskin ve Atar 2013).

COI barkod bölgesinin, metazoan mitokondriyal genomu bakımından gözlenen farklılığın aynı tür içerisinde %3' ten küçük, türler arasında ise ortalama %10 ila %25 arasında farklılık göstermesi, teşhiste kullanılmasının en önemli nedenlerindendir (Hebert vd. 2003, Keskin ve Atar 2013).

DNA barkodlama çalışmalarında nükleer genom yerine, mitokondriyal COI geninin yaygın bir şekilde kullanılmasının nedenleri ise; rekombinasyona daha az maruz kalması, tüm hücrelerde yüksek kopya sayısının bulunması ve anneden yavrusuna doğrudan kalıtılması olarak açıklanmaktadır (Hebert vd. 2003). Ayrıca, mitokondriyal DNA' da tamir mekanizması nükleer DNA' ya göre daha zayıftır. Bu nedenle mitokondriyal DNA daha fazla sayıda mutasyona sahip olmakta (Larsen vd. 2005) ve böylelikle türler arasındaki farklılıklar daha fazla olmaktadır.

Tetranychid akarlar, tarımsal anlamda en ekonomik önemdeki akar familyası olmasına rağmen, doğru ve hızlı tür teşhisi istenilen seviyeye ulaşamamıştır. Morfolojik teşhisinde birçok zorluk bulunmaktadır; uzman taksonomist sayısının azlığı, teşhis için elzem olan erkek bireylerin doğada az bulunması, preparasyonda yaşanan zorluklar, çok küçük teşhis karakterlerinin görülmesindeki zorluklar ve aedagus yapıları birbirlerine çok benzer türlerin bulunması başlıca engeller arasındadır. Bu nedenle Tetranychidae, DNA-temelli yaklaşımlara en fazla ihtiyaç bulunan Acari familyasından bir tanesidir.

Ancak bütün önemine rağmen, günümüzde barkodu yapılan tetranychid tür sayısı sadece 88' dir (Ratnasingham ve Hebert 2007). Referans dizilim olmadan moleküler teşhis yapılamadığı göz önüne alındığında, Tetranychidae familyası üyelerinin moleküler karakterizasyonuna büyük ihtiyaç bulunmaktadır.

Günümüze kadar, akarların moleküler teşhisinde çeşitli moleküler markörler kullanılmıştır (Navajas ve Fenton 2000, Cruickshank 2002, Dabert 2006, Ros ve Breeuwer 2007, dos Santos ve Tixier 2016). Ayrıca, akaroloji ve diğer bilim dallarında yaygın kullanılan mitokondriyal genin yanında ikinci bir nükleer gen ile tür teşhisinin doğrulanması gerekliliği bilinmektedir (Galtier vd. 2009, dos Santos ve Tixier 2017). Akarların teşhisinde ilk kullanılan markörlerden bir tanesi de ITS (Internal Transcribed Spacer) gen bölgesidir (Navajas vd. 1992). ITS1, 5.8S ve ITS2 gibi 3 ayrı bölgeden oluşan ITS gen bölgesi, diğer akar gruplarında olduğu gibi (Cruickshank 2002, İnak vd. 2020), kırmızı örümceklerin teşhisinde de başarıyla kullanılabildiği bilinmektedir (Ben-David vd. 2007).

Ülkemizde 28 farklı tetranychid akar türü tespit edilmesine rağmen (**Çizelge 1.1**) moleküler teşhis ile ilgili bir çalışma gerçekleştirilmemiştir. Sadece bir direnç belirleme çalışmasında, 10 adet *Tetranychus urticae* popülasyonuna ait COI dizilimleri elde edilmiştir, ancak bu teşhis morfolojik teşhis ile doğrulanmamıştır (İnak vd. 2019b).

Bu tezde, İç Anadolu Bölgesi' nin farklı şehirlerinden toplanan kırmızı örümcek türleri morfolojik ve moleküler olarak teşhis edilerek, gen dizilimleri GenBank ve BOLD gibi uluslararası sistemlere yüklenmiştir. Moleküler karakterizasyonda mitokondriyal COI geninin yanında ITS gen bölgesi de kullanılmış ve filogenetik ağaçlar oluşturularak tetranychid türlerinin evrimsel geçmişlerine dair katkılar yapılmıştır. Ayrıca, her iki gen bölgesi tür teşhisi yapılabilmesi yönüyle karşılaştırılmış ve cins içi/cinsler arası genetik çeşitlilik belirlenmiştir.

Çizelge 1.1 Türkiye’de tespit edilen tetranychid türleri

Tür	Referanslar
<i>Amphitettranychus viennensis</i> (Zacher, 1920)	Düzgüneş 1961
<i>Bryobia berlesei</i> Eyndhoven, 1957	Düzgüneş 1963
<i>Bryobia dikmenensis</i> Eyndhoven & Vacante, 1985	Eyndhoven ve Vacante 1985
<i>Bryobia kissophila</i> Eyndhoven, 1955	Düzgüneş 1963
<i>Bryobia praetiosa</i> Koch, 1836	Düzgüneş 1954
<i>Bryobia rubrioculus</i> (Scheuten, 1857)	Düzgüneş 1954
<i>Eotetranychus carpini</i> (Oudemans, 1905)	Önuçar ve Ulu 1988
<i>Eotetranychus coryli</i> Reck, 1950	Özman ve Çobanoğlu 2001
<i>Eotetranychus populi</i> (Koch, 1838)	Düzgüneş 1965
<i>Eotetranychus pruni</i> (Oudemans, 1931)	Düzgüneş 1963
<i>Eotetranychus tiliarium</i> (Hermann, 1804)	Düzgüneş 1963
<i>Eotetranychus uncatus</i> Garman, 1952	Yanar ve Ecevit, 2005
<i>Eurytetranychus buxi</i> (Garman, 1935)	Çobanoğlu vd. 2014
<i>Eutetranychus orientalis</i> (Klein, 1936)	Jeppson vd. 1975
<i>Oligonychus aceris</i> (Shimer, 1869)	Önuçar ve Ulu 1988
<i>Oligonychus coffeae</i> (Nietner, 1861)	Gökçe vd. 2020
<i>Oligonychus coniferarum</i> (McGregor, 1950)	Ecevit 1977
<i>Oligonychus ununguis</i> Jacop, 1905	Yüksel ve Ulusoy, 2000
<i>Panonychus citri</i> (McGregor, 1916)	Düzgüneş 1952
<i>Panonychus ulmi</i> (Koch, 1836)	Düzgüneş 1963
<i>Petrobia (Petrobia) latens</i> (Müller, 1776)	Düzgüneş 1963
<i>Tetranychus desertorum</i> Banks, 1900	Düzgüneş 1962
<i>Tetranychus evansi</i> Baker & Pritchard, 1960	Kazak vd. 2017
<i>Tetranychus solanacearum</i> Cobanoğlu & Ueckermann, 2015	Çobanoğlu vd. 2015
<i>Tetranychus tumidellus</i> Pritchard & Baker, 1955	Düzgüneş 1959
<i>Tetranychus turkestanii</i> (Ugarov & Nikolskii, 1937)	Düzgüneş 1954
<i>Tetranychus urticae</i> Koch, 1835	Düzgüneş 1954
<i>Tetranychopsis horridus</i> (Canestrini & Fanzago, 1876)	Özman ve Çobanoğlu 2001

Kırmızı örümcekler ile mücadele ve insektisit direnci

Birçok tarımsal zararlıda olduğu gibi, kırmızı örümceklerle mücadelede de kültürel, fiziksel, biyolojik ve kimyasal mücadele olmak üzere farklı yaklaşımlar vardır. Bu yöntemlerin kombine edilerek kullanılmasına ise “entegre mücadele” denilmektedir (İnak vd. 2019a). Son yıllarda kırmızı örümcekler ile mücadelede (özellikle örtü altı

yetiştiricilikte) biyolojik mücadelenin kullanımı artış gösterse de, asıl mücadele hala kimyasal insektisit/akarisitler ile yapılmaktadır (İnak vd. 2019b).

Akarisit kullanımı oldukça yaygın olup, günümüzde dünya akarisit pazarının 1 milyar Avro' dan fazla olduğu tahmin edilmektedir (Van Leeuwen vd. 2015). Türkiye ise, dünyada en fazla akarisit kullanan 10. ülke olarak bildirilmiştir (Van Leeuwen vd. 2015). Ancak kimyasal mücadelede sıklıkla başarısızlıkla karşılaşmaktadır. Bunun en büyük nedeni ise kırmızı örümceklerin geliştirdiği insektisit direncidir (Van Leeuwen vd. 2010).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)' ne göre direnç “normal bir popülasyondaki bireylerin büyük çoğunluğunu öldürdüğü tespit edilen bir toksikantın belirli bir dozuna karşı, aynı türe ait başka popülasyonlardaki bireylerin tolerans kazanma yeteneğinin gelişmesi” olarak tanımlanmaktadır.

İnsektisit/akarisit direncine yol açan iki temel mekanizma; 1) ilacın hedef etki bölgesine ulaşmadan insektisit dozunun belirli mekanizmalar ile azaltılması (farmakokinetik direnç), 2) insektisit hedef etki yerinin yapısının değiştirilmesi (farmakodinamik direnç) olarak bilinmektedir (Van Leeuwen ve Dermauw 2016). Davranışsal direnç, penetrasyon ve/veya adsorpsiyonun azalması (kütikular kalınlaşma gibi), detoksifikasyon gibi mekanizmaların hepsi, hedef yerine ulaşan pestisit miktarının azalmasına katkı sağladığı için farmakokinetik direnç içerisinde değerlendirilmektedir. Farmakodinamik direncin en bilinen mekanizması ise hedef bölgede meydana gelen, aminoasit değişikliklerine yol açan mutasyonlardır. Böcek ve akar türlerinde rapor edilen insektisit direnci vakalarının %90' ından fazlası mutasyonlar ya da detoksifikasyon enzimleri aracılığıyla gerçekleşmektedir (Feyereisen 1995, Van Leeuwen vd. 2009, Van Leeuwen ve Dermauw 2016). Akarlar içerisinde, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), dünyada sayıca en fazla insektisit/akarisit aktif maddesine direnç geliştirmiş tür olarak bilinmekte (Van Leeuwen vd. 2010) ve bu nedenle “direnç şampiyonu” olarak anılmaktadır (Dermauw vd. 2013). Bir diğer tetranychid türü *Panonychus ulmi* (Koch) (Avrupa kırmızı örümceği) ve veteriner hekimlik açısından büyük öneme sahip *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Güney sığır kenesi) türleri de en dirençli 10 artropod türü

listesinde bulunan diğ er akar türleridir (Van Leeuwen vd. 2010, Mota-Sanchez ve Wise 2020).

Farmakokinetik ya da metabolik diren  te rol oynayan ana enzimler; esterazlar, sitokrom P450 monooksijenazlar ve glutatyon S-transferazlardır (GST) (Yorulmaz ve Ay 2010, İnak ve  obanoğlu 2018). Metabolik diren   sürecinin    fazdan oluştuğu kabul edilmektedir. Sitokrom P450 ve esteraz grubu enzimler (Faz I enzim grupları), belirli reaksiyonlar ile akarisitleri daha az toksik ve daha fazla suda çözünür hale getirirken, GST' ler (Faz II enzim grubu) konjugasyon sürecini hızlandırarak vücuttan kimyasalın atımını hızlandırmaktadır (Van Leeuwen vd. 2009, Kennedy ve Tierney 2013). Faz III' te ise, hücre membranlarında bulunan ABC taşıyıcılar (ATP Binding Cassette transporters= ATP bağlayan kaset taşıyıcılar), hücre içinde bulunan akarisiti hücre dışına pompalayarak ilacın hedef yerine ulaşmasını engellemektedirler (Dermauw ve Van Leeuwen 2014, Merzendorfer 2014, Gott vd. 2017).

Farmakodinamik diren   ise, akarisit hedef yerinin protein diziliminde yapısal değişikliklere yol açmakta ve ilacın reseptörüne bağlanmasını engellemektedir (Van Leeuwen ve Dermauw 2016). Bu yapısal değişikliğin yanı sıra, mutasyonlar gen ifadesinde artışa ya da azalışa neden olarakta dirence neden olabilmektedirler (Feyereisen vd. 2015).

Bu  alışmada, İç Anadolu Bölgesi illerinden toplanan *T. urticae* popülasyonlarında pyridaben ve abamectin direnci ve farmakokinetik diren   mekanizması araştırılmıştır. Çalışmanın yürütüldüğü bölgede bugüne kadar iki noktalı kırmızı örümcek direncine yönelik bir çalışma bulunmaması nedeniyle elde edilen bilgiler bölgede mevcut diren   durumunu ortaya koyacak ve bilinçli bir kimyasal mücadele yapılmasını sağlayacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Tetranychus urticae’ de insektisit/akarisit direnci

Beers vd. (1998), Pasifik Kuzeybatısı *T. urticae* popülasyonlarında düşük-orta seviyelerde abamectin direnci belirlerken, *T. mcdanieli* McGregor popülasyonlarının abamectine karşı *T. urticae* popülasyonlarına göre daha dayanıklı olduğunu bildirmişlerdir.

Devine vd. (2001), Avrupa kıtasında ilk defa METI-I (Mitokondriyal Kompleks I Elektron Taşıma Engelleyiciler) grubu akarisitlere direnç tespit ederken, direncin eksik baskın olarak kalıtıldığını bildirmişlerdir.

Stumpf ve Nauen (2001), *T. urticae* popülasyonlarında pyridaben direncinin P450 enzimiyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, pyridaben ve fenpyroximate direncinin eksik baskın olarak kalıtıldığını rapor etmişlerdir. Son olarak, aynı etki mekanizmasına sahip (METI-I inhibitörleri) pyridaben, fenpyroximate ve tebufenpyrad aktif maddeleri arasında çapraz direnç olduğunu tespit etmişlerdir.

Stumpf ve Nauen (2002), ilk defa *Tetranychus urticae* popülasyonlarında abamectin direncininin, GST (Glutasyon S-Transferaz) ve MFO (Mixed-function oxidase = Karışık Fonksiyonlu Oksidaz = P450 monooksijenaz) detoksifikasyon enzimleri ile ilişkisini ortaya koymuşlardır.

He vd. (2002), *T. cinnabarinus* türünün abamectin, fenprothrin ve pyridaben akarisitlerine 10 kat direnç oluşturabilmesi için, her akarisit için belirlenen LC₉₀ değeri ile sırasıyla 10, 6 ve 89 generasyon seleksiyon yapılması gerektiğini tespit etmişlerdir.

Lee vd. (2003), Kore gül seralarından elde edilen *T. urticae* popülasyonlarında abamectin direnci tespit etmişlerdir.

Sato vd. (2005), laboratuvar seleksiyonu yöntemi ile elde ettikleri abamectin-dirençli *T. urticae* popülasyonunda gerçekleştirdikleri çalışmada, abamectin ile yine aynı etki mekanizmasına sahip olan milbemectin aktif maddesi arasında çapraz direnç olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, seleksiyon baskısına maruz kalmayan popülasyonlarda abamectin direncinin altı ay içerisinde düştüğünü rapor etmişlerdir.

Ay vd. (2005), Isparta sebze seralarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarında sadece 2.9 kata kadar abamectin direnci tespit etmişlerdir. Bu düşük direnç seviyesini, Isparta ilinde seraların yakın zamanda kurulması ve dolayısıyla ilaç uygulamasının henüz çok fazla olmaması ile ilişkilendirmişlerdir.

Suh vd. (2006), Kore ülkesi seralarından 16 ve elma bahçelerinden 10 adet *T. urticae* popülasyonunda fenpyroximate ve pyridaben direncini araştırmışlardır. Seralarda tespit edilen orta düzey dirence karşın, elma bahçelerinde iki akar site karşı düşük düzeyde direnç tespit edilmiştir.

Kim vd. (2006a), pyridaben ile 20 generasyon selekte edilen *T. urticae* popülasyonunda, pyridaben direncinin özellikle P450 enzimiyle ilişkili olduğunu sinerjizm testleri ile ortaya koymuşlardır.

Kim vd. (2006b), fenpyroximate akar sitinin pyridabene göre daha kalıcı olduğunu bildirmişlerdir. Ancak, pyridaben uygulanmış bireylerde koyulan yumurta sayısı ve ergin olabilen genç dönem sayısı fenpyroximateye göre daha yüksek olarak belirlenmiştir. Aynı etki mekanizmasına sahip olmalarına rağmen, iki akar sitinin akar biyolojisinde farklı etkileri olduğu belirlenmiştir.

He vd. (2009a), *T. cinnabarinus* (Boiduval) popülasyonunda yaptıkları genetiksel çalışmada, abamectin direncinin eksik çekinik olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, abamectin direncinin poligenik olduğunu, yani birden fazla gen ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir.

He vd. (2009b), başlıca üç detoksifikasyon enzim grubunun (esterazlar, P450 monooksijenazlar ve GST'ler) abamectin direncinde belirli oranda rol oynadığını bildirmişlerdir.

Koh vd. (2009), Kore elma bahçelerindeki *T. urticae* popülasyonlarının bazı akarisitlere karşı direnç geliştirdiği belirlenirken, test edilen tüm popülasyonlarda abamectin direnci düşük olarak tespit edilmiştir.

Van Pottelberge vd. (2009), METI-I akarisitlere farklı oranlarda dayanıklılık gösteren *T. urticae* Belçika tarla popülasyonunda sitokrom P450 monooksijenaz enziminin 23,5 kat artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca, pyridaben direncinin P450 ve esteraz inhibitörü olan PBO (Piperonyl butoxide) ve DEF (S,S,S-tributyl phosphorotrithioate) sinerjistleri ile azaldığı bildirilmiştir. Pyridaben direncinin dominant ve monogenik olduğu da yapılan testler ile ortaya koyulmuştur.

Yorulmaz ve Ay (2009), Türkiye' den elde edilen *T. urticae* popülasyonunda abamectin seleksiyonu gerçekleştirmiş, direncin mekanizmasını ve kalıtımını araştırmışlardır. Abamectin direncinin P450 ve esteraz ile ilişkili olabileceği bildirilmiş ve abamectin direncinin eksik baskın genetiksel karakterde olduğunu bildirmişlerdir.

Nicastro vd. (2010), *T. urticae* popülasyonlarında milbemectin ve abamectin direnci arasında önemli bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Kwon vd. (2010a), abamectine dirençli iki *T. urticae* popülasyonunda biyokimyasal direnç mekanizmasını araştırmıştır. MFO ve esterazların abamectin direncinde rolü olmasına rağmen, yüksek abamectin direncini açıklamaya yetmediği, dolayısıyla yüksek abamectin direnci için diğer direnç mekanizmalarının da dahil olması gerektiği bildirilmiştir.

Kwon vd. (2010b), abamectin'in hedef etki yeri olan glutamat-kapılı klorid kanalındaki (GluCl1) bir mutasyonun (G323D) *T. urticae* popülasyonlarında abamectin direncine yol

açtığını bildirmişler ve geriye çaprazlama yöntemiyle elde ettikleri F₂ generasyonu bu bulguyu doğrulamışlardır.

Zhu vd. (2010), abamectin dirençli ve dirençsiz *T. urticae* popülasyonlarının abamectinin bir diğer hedef etki yeri olan gama-aminobütirik asit (GABA) içeriklerini karşılaştırmışlardır. Dirençli bireylerde önemli oranda artan GABA içeriği tespit edilmiştir. Bu durum, dirençli bireylerde akarisit hedef bölgesinin artmasına neden olmakta, dolayısıyla akarisit uygulamasında akarın hayatta kalmasına neden olmaktadır.

Khajehali vd. (2011), Hollanda gül seralarındaki *T. urticae* popülasyonlarının farklı akarisitlere karşı direnç durumunu araştırmışlardır. Test edilen sekiz farklı akarisit içerisinde en yaygın direncin abamectin direncinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca G323D mutasyonu taranmış, ancak hiçbir popülasyonda bu mutasyon tespit edilmemiştir.

Dermauw vd. (2012), glutamat-kapılı klorid kanalında (GluCl3) meydana genel G326E mutasyonunun *T. urticae*’ de yüksek seviyede abamectin direncine neden olduğunu bildirmişlerdir.

Tirello vd. (2012), İtalyan *T. urticae* popülasyonlarında 1300 kata kadar abamectin direnci tespit etmişlerdir.

Vassiliou ve Kitsis (2013), Güney Kıbrıs *T. urticae* popülasyonlarında 250-3800 kat abamectin direnci tespit etmişlerdir.

Memarizadeh vd. (2013), İran *T. urticae* popülasyonlarında yaklaşık 13000 kat direnç tespit etmişlerdir. Ancak çok yüksek direnç seviyesinden dolayı, sinerjistik kimyasallar ile denemeler gerçekleştirilememiştir.

Sugitomo ve Osakabe (2014), farklı etki mekanizması gruplarında olan pyridaben ile cyenopyrafen aktif maddelerinin arasında çapraz direnç olduğunu bildirmişlerdir. Bu

Çapraz direncin nedeninin her iki akarısidi de metabolize eden P450 enzimi olabileceği bildirilmiştir.

Riga vd. (2014), Yunanistan' dan elde edilen *T. urticae* popülasyonunda yüksek derecede abamectin direnci tespit etmişlerdir. Detaylı analizler, dirençli popülasyonda bir P450 geni olan CYP392A16' nin gen ifade seviyesinin yüksek olduğunu göstermiştir. Bu protein ile elde edilen rekombinant proteinin ise abamectini daha az toksik bir maddeye dönüştürdüğü bildirilmiştir. Böylece, abamectin direnci ile P450 enzimleri arasındaki ilişki ilk defa spesifik gen seviyesinde ortaya koyulmuştur.

Ferreira vd. (2015), Brezilya' dan topladıkları *T. urticae* popülasyonlarında yaygın olarak abamectin direnci tespit etmişlerdir.  nceki çalışmalara benzer şekilde, abamectin ve milbemectin arasında çapraz direnç olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, test edilen popülasyonda abamectin direncinin otozomal, kısmen dominant ve monogenik olduğunu tespit etmişlerdir.

Monteiro vd. (2015), San Francisco vadisi bağlarında abamectinin en çok kullanılan akarisit olduğunu ve *T. urticae* popülasyonlarında abamectin direncinin çok yaygın olduğunu bildirmişlerdir.

Pavlidı vd. (2015), *T. urticae*' de abamectin direncinin, delta sınıfı GST' lerden bir tanesi olan TuGSTd14 ile ilişkili olduğunu bildirmiştir.

Piraneo vd. (2015), Pasifik Kuzeybatı eyaletlerindeki *T. urticae* popülasyonlarında 6-115 kat abamectin direnci tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, abamectin direnci artan P450 enzim seviyesi ile ilişkilendirilmiş ve hedef etki yerinde bir mutasyon tespit edilememiştir.

Xu vd. (2016), *T. cinnabarinus* popülasyonunda artan P-glikoprotein seviyesi ile abamectin direnci arasında bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Ilias vd. (2017), Yunanistan ve Güney Kıbrıs *T. urticae* popülasyonlarında G314D ve G326E varlığını Taqman assay ile taramışlardır. İki popülasyonda her iki mutasyonda %97.5-100 sıklığında tespit edilirken, test edilen diğer dokuz popülasyonda ise her iki mutasyonda çok düşük frekansta bulunmuştur.

Riga vd. (2017), *T. urticae* türünde geriye çaprazlama yöntemiyle direnç ile ilgili mutasyonların tek başlarına hangi seviyede dirence karşılık geldiğini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, G314D ve G326E mutasyonlarının ayrı ayrı ya da kombinasyon halinde bile yüksek seviye abamectin direnci için yeterli olmadığını bildirmişlerdir. Ancak yine de bu mutasyonların dirençte sinerjistik bir rol oynadığı tahmin edilmektedir.

Mermans vd. (2017), G326E mutasyonunu fonksiyonel olarak doğrulamışlar ve bu mutasyonun makrosiklik laktonların agonistik etkisini ortadan kaldırdığını tespit etmişlerdir.

Xu vd. (2017), abamectin direncinde GABA artışının *T. cinnabarinus* bireylerinin yavaş hareket etmesine sebep olduğunu bildirmişlerdir. Bu sayede abamectin dirençli bireyler avcılar tarafından daha kolay yakalanmakta ve tüketilmektedir. Bu çalışma ile abamectin direncine sahip popülasyonlarda biyolojik mücadele yapılmasının entegre mücadele kapsamında çok önemli bir yeri olduğu belirtilmiştir.

Bajda vd. (2017), *T. urticae* mitokondriyal kompleks I' in bir alt ünitesi olan PSST geninde meydana gelen bir mutasyonun (H92R) METI-I akarisitlerine karşı dirence yol açtığını bildirmişlerdir.

Çağatay vd. (2018), Türkiye seralarından topladıkları *T. urticae* popülasyonlarında abamectin direnci ve direnç mekanizmasını araştırmışlardır. Test edilen popülasyonlarda 220-400 kat abamectin direnci tespit edilmiş ve bu direncin detoksifikasyon enzimleri ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Aynı popülasyonlarda daha önce tespit edilen direnç mutasyonları da taranmış, ancak herhangi bir mutasyona rastlanmamıştır.

Yalçın vd. (2018), Güney Türkiye çilek yetiştiricilik alanlarından topladığı *T. urticae* popülasyonunda 2.4-7.8 kat abamectin direnci tespit etmişlerdir. Bu direncin artan estera ve GST enzim aktiviteleri ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

Xu vd. (2018), Çin *T. urticae* popülasyonlarında 316-1320 kat abamectin direnci tespit etmişlerdir. Yine aynı popülasyonlarda, %28-64 oranında G314D (GluC11) ve %0-95 oranında G326E (GluC13) mutasyonu tespit edilmiştir.

Wu vd. (2019), ABD pasifik kuzeybatısında şerbetçi otu üretim alanlarından topladıkları *T. urticae* popülasyonlarının belirli akarisitlere karşı dayanıklılık durumu ve dayanıklılığın arkasındaki mekanizmaları araştırmışlardır. Metabolik detoksifikasyon enzim genlerinin seviyelerine göre test edilen 37 popülasyonun hepsi abamectin dirençli olarak bildirilmiştir. Daha önce abamectin direnci ile ilişkilendirilen mutasyonlar ise bu popülasyonlarda tespit edilememiştir.

İnak vd. (2019b), ülkemiz önemli sebze yetiştiricilik alanlarından topladıkları *T. urticae* popülasyonlarında farklı akarisitlerin ruhsatlı dozlarını test etmişlerdir. Test edilen 10 popülasyonun yarısı abamectine dirençli olarak tespit edilmesine rağmen, daha önceki çalışmalarda tespit edilen direnç mutasyonları tespit edilmemiştir. Ayrıca abamectin ve pyridaben dahil olmak üzere, birçok farklı akarisit hedef etki yerinde bilinen direnç mutasyonlarının olup olmadığı taranmış, ancak abamectin ve pyridaben direncine yol açan mutasyonlar tespit edilmemiştir.

Xu vd. (2019), abamectin direncine sahip *T. cinnabarinus* popülasyonunda intradiol ring-cleavage dioksigenaz geninde 7.7 kattan fazla artış tespit etmişlerdir. RNAi yöntemi ile hedef gen susturulduktan sonra ise abamectin toksisitesi önemli derecede artış göstermiştir. Böylelikle abamectin direnci ile ilgili yeni bir enzim geni bildirilmiştir.

Snoeck vd (2019), *T. urticae*' de METI-I akarisitlerine karşı direnç mekanizmalarını ortaya çıkarmak için yüksek çözünürlüklü QTL (quantitative character loci) haritalama yönetimini kullanmışlardır. Daha öncesinde tespit edilen H92R mutasyonunun

fenpyroximate, pyridaben ve tebufenpyrad direncinde rol oynadığı doğrulanırken, bir sitokrom P450 reduktaz olan CPR genindeki bir mutasyon daha dirençli popülasyonlarda ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca, QTL haritalaması pyridaben direncinde birden fazla genin rol oynadığı bildirilmiştir.

Wang vd. (2020), detoksifikasyonda rol oynayan bir diğer enzim olan üridin difosfat (UDP)-glikozil transferaz (UGTs) ile abamectin direncini ilişkilendirmiştir. Fonksiyonel analizler *T. cinnabarinus*' da UGT201D3 geni ile abamectin direnci arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur.

Adesanya vd. (2020), P450 ile abamectin direnci arasında korelasyon olduğunu bildirmiştir. Dahası, abamectin, bifenthrin ve fenproximate uygulamalarının bir P450 geni olan TuCPR geninin artışına sebep olduğu tespit edilmiştir. Yine TuCPR geninin RNAi yöntemi ile susturulması sonucu *T. urticae* popülasyonunun her üç akar site karşı daha hassas hale gelmesi ile bulgular doğrulanmıştır.

Solmaz vd. (2020), Türkiye kesme çiçek seralarındaki *T. urticae* popülasyonlarında 1.6-850 kat abamectin direnci tespit etmişlerdir. Test edilen popülasyonlarda özellikle GST ve P450 enzimlerinin yüksek olduğu belirlenirken, G314D mutasyonu hiçbir popülasyonda tespit edilmemiştir.

Xu vd. (2020), bir GABA reseptörü olan Rdl2 geninin abamectin direnci ile ilişkisi fonksiyonel olarak ortaya koymuştur.

Xue vd. (2020a), Avrupa *T. urticae* popülasyonlarında abamectin ve milbemectin direncini ve çapraz direncini araştırmışlardır. Test edilen popülasyonların üçte birinde yüksek-çok yüksek abamectin direnci tespit edilmiştir. Abamectin ile milbemectin arasında çapraz direnç olduğu bildirilmiş, ancak bu çapraz direnç sonucu milbemectin direncinin uygulamada başarısızlık yaratacak kadar artmadığı bildirilmiştir. Ayrıca, glutamat-kapılı klorid kanalında (GluCl3) abamectin direnci ile ilişkili olabilecek yeni bir mutasyon (I321T) bildirilmiştir.

Döker vd. (2020), güney Florida süs bitkilerindeki *T. urticae* popülasyonlarında sırasıyla 9.6 - 19.2 kat abamectin ve 12.3-34 kat pyridaben direnci tespit etmişlerdir.

Feng vd. (2020), *T. cinnabarinus* türünde bir P450 geni olan CYP389C16' nın cyflumetofen ile pyridaben arasında çapraz dirence neden olduğunu bulmuşlardır.

Namin vd. (2020), Kanada seralarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarında pyridaben direncinin yaygın olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, sinerjizm testleri ile pyridaben direnci ile P450 enzimi arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. Pyridabenin hedef etki yeri olan mitokondriyal kompleks I' in bütün alt üniteleri olası bir direnç mutasyonu için taranmıştır. Birçok aminoasit değişikliği tespit edilmesine rağmen, hiçbir pyridaben direnci ile net bir korelasyon gösterememiştir.

Choi vd. (2020), pyridaben ile selekte edilen *T. urticae* popülasyonunda delta sınıfı GST enziminin bir artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Xue vd. (2020b), abamectin dirençli popülasyonda meydana gelen I321T GluCl3 mutasyonun fonksiyonel karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak, bu mutasyonun tek başına yüksek abamectin direnci oluşturmakta yeterli olmadığı ancak abamectin direncinde sinerjistik bir rol oynayabileceği bildirilmiştir.

Akarlarda moleküler taksonomi

Navajas vd. (1992), farklı kırmızı örümcek türlerinde 300 bazlık ITS2 dizilimi ile filogenetik ağaç oluşturmuşlar ve bu ağacın morfolojik özellikler ile oluşturulan ağacı doğruladığını bildirmişlerdir.

Fournier vd. (1994), ilk defa bir kırmızı örümcek türünden, *T. urticae*, mitokondriyal DNA' yı izole etmiş, haritalamış ve COI geninin kısmi dizilimini elde etmişlerdir.

Navajas vd. (1994), farklı ülkelerden toplanan *Mononychellus progresivus* Doreste türlerinde, tür içi genetik varyasyonu tespit etmek amacıyla COI ve ITS dizilimlerini karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak, COI geninde %0-2.1, ITS geninde ise %0-0.4 olmak üzere düşük varyasyon tespit etmişlerdir.

Navajas vd. (1998), analiz edilen dört *Tetranychus* türünde ITS geninin COI geninden 2.5 kat daha hızlı evrimleştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca kuzey yarımküreden elde edilen örneklerde genetik varyasyonun güney yarım küreye göre çok düşük olduğunu, dolayısıyla kuzey yarım küredeki kolonizasyonun daha yakın zamanda olduğunu rapor etmişlerdir.

Navajas vd (1999), Japon ve Fransa’ dan toplanan *A. viennensis* türlerinin arasında COI sekanslarını karşılaştırmış ve yüksek genetik farklılık olduğunu bildirmişlerdir.

Navajas vd. (2001), çaprazlama testlerinin yanında ITS2 diziliminden yararlanarak *T. kanzawai* ve *T. hydrangeae* türlerinin sinonim olduğunu bildirmişlerdir.

Hinomoto ve Takafuji (2001), Japonya *T. kanzawai* Kishida türlerinin K ve T tiplerini ayırt etmek için ITS1 ve COI genlerini kullanmışlardır. Ancak bu genlerin iki tipi ayırt edemediği görülürken, filogenetik analizler T tipinin K tipinden doğduğu ileri sürülmüştür.

Hinomoto vd. (2001), *T. urticae* türünün yeşil ve kırmızı formlarının COI geniyle oluşturulan filogenetik ağaçta birbirinden ayrılmadığını, dolayısıyla bu formların aynı türe ait olduğunu rapor etmişlerdir.

Navajas ve Boursot (2003), *T. urticae* ve *T. turkestani* türlerini COI ve ITS2 gen dizilimi yardımıyla analiz etmişlerdir. COI geninde %3-4’ lük genetik varyasyona karşın, ITS2 diziliminde %0.5’ ten daha az varyasyon tespit edilmiştir. Ancak ITS2 dizisinin farklı yerlerinde bulunan 3 nükleotidin bu iki tür arasında farklılık gösterdiği tespit edilmiş ve bu nedenle ITS2’ nin tür ayrımında kullanılabileceği öne sürülmüştür.

Xie vd. (2006), Çin *T. urticae* popülasyonlarının genetik yapısını COI geni dizilimi ile araştırmışlardır. Ancak genetik farklılık ile coğrafi farklılığın net olarak korelasyon göstermediği bildirilmiştir.

Hinomoto vd. (2007), Kuzey Vietnam’ da bulunan kırmızı örümcek türlerini COI geni ile teşhis etmiştir. Özellikle *Tetranychus* cinsi içerisinde tür teşhisi için bu genin kullanışlı olduğu bildirilirken, örneklerin büyük kısmını *Tetranychus kanzawai* Kishida, *T. urticae* Koch ve *T. truncatus* Ehara türleri oluşturmuştur.

Ros ve Breeuwer (2007), kırmızı örümceklerin mitokondriyal COI geni ile gerçekleştirilen çalışmaları derlemiştir. Yapılan çalışmada GenBank’ a yüklenen dizilerde yanlışlıklar olduğu bildirilmiştir. Farklı *T. urticae* COI dizilimlerinde konukçu bitki ya da filocoğrafik olarak bir korelasyon tespit edilmemiştir. Ayrıca, mevcut veri seti ile *T. turkestanii* ve *T. urticae*’ yi aynı tür olarak tanımlamışlardır.

Ben-David vd. (2007), ITS2 dizilimi ile İsrail’ de bulunan 16 kırmızı örümcek türünü başarılı bir şekilde ayırt etmişlerdir. Tek istisna olarak, *T. urticae* ve *T. turkestanii* arasındaki düşük genetik varyasyon (%1.1-1.5) rapor edilmiştir. Ancak yine de, bu iki tür filogenetik ağaçta farklı dallarda konumlanmış ve birbirinden ayrılmıştır.

Xie vd. (2008), Çin’ den topladıkları *T. urticae* ve *T. cinnabarinus* türlerini ITS ve COI genleri ile analiz ederek, bu türlerin tek bir tür olduğunu bildirmişlerdir.

Ito ve Fukuda (2009), *Stigmaeopsis* (Acari: Tetranychidae) cinsine ait türleri COI geni ile analiz etmişlerdir. Sonuç olarak, bu cins içerisinde en az yedi farklı monofiletik grup tespit edilmesine rağmen, morfolojik karakterler ile gen dizilimleri sonuçları arasında bazı tutarsızlıklar bildirilmiş ve ileri çalışmaların gerçekleştirilmesi gerektiği rapor edilmiştir.

Li vd. (2010), nükleer ve mitokondriyal genler ile yaptıkları çalışmada, dokuz önemli tetranychid türünü filogenetik olarak analiz etmişlerdir. Sonuçlar,

Tetranychus, *Panonychus*, *Amphitetranychus* ve *Petrobia* cinslerinin morfolojik monofiletik yapısını doğrulamıştır. *T. cinnabarinus* türünün ise yakın türlerin birisinin kriptik bir türü olabileceğini ileri sürmüştür.

de Mendonça vd. (2011), *Tetranychus* cinsine ait DNA dizilimlerine eleştirel bir derleme yayınlamışlardır. GenBank’ ta bulunan COI ve ITS dizilerinin yaklaşık %30’ unun yanlışlıklar içerdiği bildirilirken, en fazla karışıklığın morfolojik olarak yakın türler olan *T. urticae*, *T. cinnabarinus*, *T. kanzawai* ve *T. truncatus* türlerinde olduğunu rapor etmişlerdir.

Auger vd. (2013), morfolojik ve moleküler kanıtlar ile *T. urticae* ile *T. cinnabarinus* türlerinin sinonim olduğunu bildirmişlerdir.

Matsuda vd. (2013), Japonya kırmızı örümceklerini iki farklı gen kullanarak teşhis etmeye çalışmışlardır. ITS bölgesiyle gerçekleştirilen çalışmada 13 türden 10’ unu teşhis edebilirken, COI geni ile yapılan çalışmalarda 13 türün tamamının teşhis edilebildiğini göstermişlerdir. Ayrıca, DNA temelli yaklaşımların çok yakın türler olan *T. kanzawai* ve *T. parakanzawai* türleri arasında ayırım yapmaya da olanak sağladığı bildirilmiştir.

Matsuda vd. (2014), Tetranychinae altfamilyasında yaptığı çalışmada 18 ve 28S genleri ile yapılan filogenetik ağacın COI tabanlı olana göre çok daha iyi gruplar oluşturduğunu bildirmişlerdir. Ortaya çıkan ağacın, morfolojik tabanlı ağaç ile uyuşmadığı, bu nedenle teşhiste morfolojik karakterlerin gözden geçirilmesi gerektiği savunulmuştur.

Zélé vd. (2018), geliştirdikleri multiplex PCR tekniğiyle, morfolojik olarak yakın ve Avrupa’ da en yaygın 3 tür olan *T. urticae*, *T. ludeni* ve *T. evansi* türlerinin hızlı teşhis edilmesine imkan sunmuşlardır.

Choi vd. (2018), Kore *A. viennensis* türlerinin genetik varyasyonun COI ve ITS2 genleri için sırasıyla %6.92 ve %4.02 olduğu bildirmişlerdir. Yazarlar, Kore’ de bu türün genetik olarak farklılaşmış iki grubu olduğunu öne sürmüştür.

Matsuda vd. (2018), 18+28S rRNA ile tetranychinae altfamilyasına ait 72 türü filogenetik olarak analiz etmişlerdir. *Schizotetranychus*, *Eotetranychus*, *Oligonychus* and *Tetranychus* cinsine ait türler parafiletik olarak belirlenmiştir. Önceki çalışmalara benzer bir şekilde, moleküler tabanlı filogenetik ağacın morfolojik tabanlı ağaçla örtüşmediği noktalar olduğu rapor edilirken, morfolojik karakterin tekrar değerlendirilmesi önerilmiştir.

Arabuli vd. (2019), *Amphitettranychus* türlerini ayırt etmek için COI geninin kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Sakamoto vd. (2019), *Oligonychus castaneae* Ehara & Gotoh türünde wolbachia ve cardinium enfeksiyonunun moleküler filogenide bir etkisi olup olmadığını araştırmışlardır. Sonuçlara göre, ITS filogenetik ağacında enfeksiyonun bir etkisi olmadığı, ancak COI tabanlı ağaçta wolbachia ve cardinium bulunduran bireylerin birbirinden ayrı dallarda toplandığı gösterilmiştir.

Mirza vd (2020), Suudi Arabistan *Eutetranychus orientalis* (Klein) bireylerinde moleküler ve fenotipik varyasyonu araştırmışlardır. Sonuçlar, varyasyonların coğrafik dağılımdan çok konukçu bitki ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tür teşhisinde fenotipik varyasyonun mutlaka göz önüne alınması gerektiği bildirilmiştir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmanın ana materyalini İç Anadolu Bölgesi illerinden elde edilmiş tetranychid akarlar oluşturmaktadır. Ayrıca; otomatik pipet seti (Eppendorf), termal döngüleyici (BioRad T100), mini santrifüj (FVL2400N, Biosan), santrifüj (mikro 200, Hettich), elektroforez (Biometra compact XS/S, Analytik Jena), 9 cm petri kapları, toprak, DNA izolasyon kiti (Qiagen), 1.5-2ml tüpler, 15-50ml falkon tüpleri, saf su cihazı (Miliphore), Etüv (Heraus), Otoklav (Nüve), -20 °C derin dondurucu, pamuk, pipet uçları oluşturmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Moleküler çalışmada kullanılan bazı cihazlar

3.2 Yöntem

Çalışmaların tamamı Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Akaroloji ve Moleküler Entomoloji (MOLEN) laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.1 Tetranychid akarların DNA barkodlaması

3.2.1.1 İç Anadolu Bölgesi illerinden akar örneklerinin toplanması

Tetranychid akar türlerinin DNA barkodlama çalışmaları amacıyla İç Anadolu Bölgesi illerinde sürveyler gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, İç Anadolu Bölgesi dışında bazı illerden de örnekleme yapılmıştır. İç Anadolu Bölgesi' ne ait 13 şehirden en az birer kez örnekleme yapılmıştır. Örneklemler özellikle Ankara, Eskişehir, Konya, Kırıkkale, Kırşehir, Çankırı, Aksaray, Nevşehir, Yozgat, Kayseri ve Nevşehir illerinde yoğunlaşmıştır (**Çizelge 3.1**).

Çizelge 3.1 Çalışma kapsamında İç Anadolu Bölgesi illerinden yapılan örneklemler ve bilgileri

No	Lokasyon	Konukçu	Tarih
1	Ankara / Ayaş / Merkez, Başbereket, Sincan Zir vadisi	Elma, yabancı ot, erik, orman ağaçları	17.05.2019
2	Ankara / Çamlıdere, Çamkoru	Erik	7.07.2019
3	Çankırı / Merkez	Elma, yabancı ot, erik	10.07.2019
4	Yozgat / Merkez	Elma	22.07.2019
5	Ankara / Haymana	Elma, asma, yabancı ot	2.08.2019
6	Sivas / Merkez	Elma, kiraz, yabancı ot	12.08.2019
7	Ankara / Çubuk	Fasulye, domates, asma	20.08.2019
8	Yozgat / Aydıncık, Kazankaya	Ceviz, erik, vişne, kiraz	8.09.2019
9	Ankara / AÜZF Bitki Koruma bölümü	Şimşir, çam, asma, elma	12.09.2019
10	Konya / Altınekin	Fasulye	10.09.2019
11	Konya / Çumra	Fasulye	15.09.2019
12	Ankara / Eymir gölü	Karışık örnekleme	1.10.2019
13	Eskişehir / Bilecik yolu	Çam, fasulye, yabancı ot	4.10.2019
14	Ankara / Beypazarı	Fasulye, domates	11.10.2019
15	Kayseri / Talas	Kayısı	15.10.2019
16	Kırşehir / Akçakent	Ceviz	17.10.2019
17	Yozgat / Merkez	Elma	26.10.2019

Çizelge 3.2 Çalışma kapsamında İç Anadolu Bölgesi illerinden yapılan örneklemeler ve bilgileri (devam)

18	Ankara / Çankaya	Duvar sarmaşığı	20.05.2020
19	Ankara / Nallıhan/ Akçabayı, Kuş cenneti	Bilinmeyen	21.05.2020
20	Eskişehir / Sarıcakaya	Fasulye, palmiye, nar	4.06.2020
21	Kırıkkale / Ballıseyh	Kiraz, Bakır ağaç	5.06.2020
22	Kayseri / Yerköy, Yahyalı ilçesi	Elma	8.06.2020
23	Niğde / Ömer Hasdemir Üni. Kampüs	Elma	9.06.2020
24	Kırıkkale / Merkez	Mısır, soğan	27.06.2020
25	Ankara / AÜZF kampüs	Meşe	2.07.2020
26	Ankara / Çankaya	Ihlamur	3.07.2020
27	Nevşehir / Merkez	Mısır, yabancı ot, kabak	10.07.2020
28	Konya / Meram	Buğday, fasulye, elma, yabancı ot	14.07.2020
29	Kırıkkale / Merkez	Ayçiçeğı, yabancı ot	16.07.2020
30	Kırşehir / Merkez	Arpa, asma, domates	25.07.2020
31	Kırıkkale / Merkez	Nohut, buğday, elma	25.07.2020
32	Aksaray / Merkez	Mısır, buğday, yabancı ot, fasulye	11.08.2020
33	Karaman / Merkez	Mısır, elma, yabancı ot, fasulye	15.08.2020
34	Kırşehir / Merkez	Şeker pancarı, buğday Fasulye, elma, yabancı ot	16.08.2020
35	Niğde / Merkez	ot	19.08.2020
36	Çankırı / Eldivan	Mısır, yabancı ot	22.08.2020
37	Nevşehir / Acıgöl	Fasulye, mısır, yabancı ot	25.08.2020
38	Nevşehir / Merkez	ot	26.08.2020
39	Aksaray / Merkez	Fasulye, Mısır, yabancı ot	27.08.2020

Örnekleme yapılan bitkiler lokasyon, konukçu, tarih ve varsa diğer notlar ile birlikte kayıt edilip, A.Ü.Z.F. Bitki Koruma Bölümü Akaroloji laboratuvarına getirilmiştir. Daha detaylı inceleme için örnekler stereo mikroskop (Olympus SZ61) ile incelenmiş ve varsa morfolojik teşhiste yardımcı olabilecek gerekli diğer veriler (renk, boy, zarar şekli vb.) kayıt edilmiştir. Akarlar fırça yardımıyla alkole ya da doğrudan laktik asite aktarılmıştır. Son olarak gözden kaçan akarların da elde edilmesi amacıyla örnekler Berlese hunilerine koyulmuş ve en az 48 saat bekletilmiştir. Berlese hunilerinde morfolojik çalışmalar için %70, moleküler çalışmalar için %96 alkol kullanılarak akarlar ekstrakte edilmiştir.

3.2.1.2 Akar örneklerinin morfolojik teşhisi

Akarlar morfolojik teşhis için %70'lik alkolde saklanmış ve preparasyon Düzgüneş (1980)' e göre yapılmıştır. Tetranychidae familyasına ait akarların morfolojik teşhisinde erkek bireyler gerekmektedir (*Bryobia* türleri hariç). Bu amaçla akarlar %70'lik alkolden %90'lık laktik asite aktarılmıştır. Laktik asit sayesinde akarların içerisinde bulunan iç organ ve diğer morfolojik teşhis kriterlerinin görülmesini engelleyen iç birimler uzaklaştırılıp akarın renginin açılması sağlanmıştır. Daha sonra mümkün olduğunca fazla sayıda erkek ve dişi birey preparatları, hoyer ortamı kullanılarak yapılmıştır. Erkek bireyler teşhis için en önemli organ olan aedagusun gözükmesi için lateral bir şekilde hoyer ortamına sabitlenmiştir. Yapılan preparatlar 40 - 50°C'lik etüvde en az bir hafta bekletilmiş ve etiketlenmiştir.

Morfolojik teşhis; Pritchard ve Baker (1955), Jeppson (1975), Hatzinikolis ve Emmanouel (1991), Zhang (2003), Auger vd. (2003) gibi kaynaklardan yararlanılarak Prof. Dr. Sultan ÇOBANOĞLU tarafından gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.3 Akarların moleküler karakterizasyonu

Akarların moleküler teşhisi için ise İnak vd. (2020)' nin kullanıldığı yöntem takip edilmiştir. İlk adım olarak, %96' lık alkolde saklanan akarlar önce filtre kağıdı üzerine konulup kurutulmuştur. Daha sonra ise Qiagen DNeasy Blood and Tissue Kit kullanılarak genomik DNA izolasyonu tek ergin dişi akardan bireysel olarak gerçekleştirilmiştir. İzolasyon için kitte belirtilen adımlar takip edilmiştir. Ancak kullanılan tüm kimyasallar yarı yarıya azaltılmıştır. Kısaca; içerisinde 100 µL ATL buffer ve 10 µL Proteinaz K bulunan 1.5 ml' lik tüpe ergin dişi akar aktarılmış ve önceden steril edilmiş plastik pestle aracılığıyla ezilmiştir. Ardından, 56 °C'de gece boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondaki tüpler çıkarılarak 100 µL Buffer AL eklenerek yine 56 °C'de 10 dakika daha inkübe edildikten sonra, 100 µL ethanol eklenerek tüm sıvı DNA tutma özelliği olan filtreye aktarılmıştır. 1 Dakika 8.000 rpm' de santrifüj uygulandıktan sonra sırasıyla 250 µL AW1 (ardından 1 dakika 8.000 rpm'de santrifüj) ve 250 µL AW2 bufferları ile yıkanmış ve en sonunda 3 dakika 13.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Son olarak ise 50

μ L elution buffer ile DNA 1.5ml'lik tüpe geçirilmiş ve gen çoğaltma işlemleri için hazır hale getirilmiştir. Akarların moleküler teşhisinde 2 farklı gen kullanılmıştır. Bu amaçla kullanılan primerler ve PCR döngülerinde kullanılan erime sıcaklıkları aşağıdaki verilmektedir (**Çizelge 3. 3; Çizelge 3.4**).

PCR işlemleri BioRad T100 termal döngüleyicide PCR mastermix (Solis Biodyne) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon; 6 μ L FIREPol Master Mix (Solis Biodyne) (MgCl, dNTP, DNA polimeraz içeren), 0.5 μ L her iki primerden (10 μ M), 18 μ L su ve 5 μ L DNA içeren toplam 30 μ L hacimde gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri dizileme işlemi öncesinde, %1.5'luk elektroforez jel (0.5x TAE) ile 50 dakika koşturularak kaliteleri kontrol edilmiştir. Dizileme işlemi için uygun olduğuna karar verilen örnekler HighPrep PCR clean-up system (MagBio Genomics Inc.) kullanılarak saflaştırılmış ve sekanslama hizmeti için Macrogen Inc. (Seoul, Korea) firmasına gönderilmiştir. Sekans sonuçları kromotograftan kontrol edilerek sadece temiz olarak değerlendirilen sekanslar ileri analizlerde kullanılmıştır. Barkodlama çalışmalarında sekanslama tek yönlü olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.4 Veri analizi ve filogenetik ağaç

Filogenetik ağaç oluşturmak amacıyla çalışmada elde edilen dizilerin yanı sıra, GenBankta daha önceden yüklenen ilgili dizilimler de kullanılmıştır. Tüm sekanslar elde edildikten sonra, MAFFT v.7 programında “auto” stratejisi kullanılarak hizalama gerçekleştirilmiştir (Kato vd. 2019). Hizalanan sekanslar BioEdit v.7.0.5 (Hall 1999) ile kesilerek düzenlenmiştir.

Filogenetik ağaç oluşturmak için Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA X) programı kullanılmıştır (Kumar vd. 2018).

COI ve ITS genleri için sırasıyla GTR+G+I ve T92+G modelleri MEGA programı tarafından en iyi uyan modeller olarak belirlenmiş (Tamura, 1992) ve 1000 bootstrap kullanılarak maksimum benzerlik (maximum likelihood) algoritması ile filogenetik

ağaçlar oluşturulmuştur. Filogenetik ağaçlar Interactive Tree Of Life (iTOL v4) ile görselleştirilmiştir (Letunic ve Bork 2019).

Cins içi ve cinsler arası genetik uzaklıklar MEGA X programı kullanılarak belirlenmiştir.

Çizelge 3. 3 Türlerde kullanılan primer çiftleri ve fragment uzunlukları

Tür	COI / Fragment uzunluğu (bp)	ITS / Fragment uzunluğu (bp)
<i>Tetranychus urticae</i>	COI_F4 + COI_R1 / 912	TuITS_F + TuITS_R / ~ 1050
<i>Tetranychus turkestani</i>	COI_F1 + COI_R1 / 432	TuITS_F + TuITS_R / ~ 1050
<i>Amphitetranychus viennensis</i>	COI_F4 + COI_R1 / 912	TuITS_F + TuITS_R / ~ 1050
<i>Eurytetranychus buxi</i>	COI_F3 + COI_R2 / 538	TuITS_F + TuITS_R / ~ 1050
<i>Eutetranychus orientalis</i>	COI_F3 + COI_R2 / 538	TuITS_F + TuITS_R / ~ 1050
<i>Eotetranychus populi</i>	COI_F1 + COI_R1 / 432	ITS_F + ITS_R / ~510
<i>Eotetranychus sp.</i>	COI_F1 + COI_R1 / 432	TuITS_F + TuITS_R / ~ 900
<i>Panonychus ulmi</i>	COI_F1 + COI_R1 / 432	ITS_F + ITS_R / ~500
<i>Bryobia rubrioculus</i>	COI_F1 + COI_R1 / 432	ITS_F + ITS_R / ~500
<i>Bryobia kissophila</i>	COI_F3 + COI_R2 / 538	ITS_F + ITS_R / ~450

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan primerler ve hedef genleri

Primer adı	Hedef Gen	Sekans	Erime sıcaklığı	Referans
ITS				
TuITS_F		AGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAG	50 °C	Navajas vd. 1999
TuITS_R		ATATGCTTAAATTCAGGGGG		
ITS_F		GTCACATCTGTCTGAGAGTTGAGA	51 °C	Ben-David vd. 2007
ITS_R		GTARCCTCACCTRMTCTGAGATC		
COI				
COI_F1		TGATTTTTTTGGTCACCCAGAAG	48 °C	Ros vd. 2008
COI_F3		WGTHTTAGCAGGAGCAATTACWAT		
COI_F4		GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCC		
COI_R1		TACAGCTCCTATAGATAAAAC		
COI_R2		AAWCCTCTAAAAATRGCRAATACR		

3.2.2 *Tetranychus urticae* popülasyonlarında akarisit direnci ve nokta mutasyonlarının varlığının belirlenmesi

3.2.2.1 Kırmızı örümcek popülasyonlarının toplanması

Çalışma kapsamında 10 adet *T. urticae* popülasyonu İç Anadolu Bölgesi'nin farklı lokasyonlarından toplanmış, laboratuvara getirilmiş ve çoğaltılmıştır (**Şekil 3.2; Çizelge 3.5**). Bütün popülasyonlar açık alan tarlalardan toplanmıştır. Ayrıca uzun yıllardır pestisite maruz kalmayan referans bir hassas popülasyon olan GSS (German Susceptible Strain) popülasyonu da Prof. Dr. Recep Ay (Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi)' dan temin edilmiş ve laboratuvarında yetiştirilmiştir. Laboratuvar koşullarına getirilen kırmızı örümcekler, $25\pm2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve 16:8 fotoperiyot koşullarındaki fasulye bitkileri üzerinde yetiştirilmiştir. Genetik çeşitliliğinin etkilenmemesi için, araziden en az 500-1000 birey laboratuvar ortamına getirilmiştir.

Bölge zirai ilaç bayileri ve üreticiler ile yapılan konuşmalar sonrasında, bölge illerinde kırmızı örümcek yoğunluğunun en fazla olduğu konukçu bitki olarak fasulye belirlenmiştir. Bu nedenle, arazi çalışmalarında özellikle fasulye üretim alanlarına öncelik verilmiştir.

3.2.2.2 Kırmızı örümcek popülasyonlarının teşhisi

Çalışma kapsamında toplanan iki noktalı kırmızı örümceklerin teşhisi hem morfolojik hem de moleküler yöntemlerle yapılmıştır. Klasik yöntem ile teşhis için Jeppson (1975)' dan faydalanılmıştır. Moleküler olarak ise mitokondriyal sitokrom oksidaz I (COI) gen bölgesi **Çizelge 3.4**'de belirtilen COI_F4 ve COI_R1 primerleri çoğaltılmış, GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) sisteminden BLAST yöntemi ile referans dizilimler ile karşılaştırılmıştır.

Çizelge 3.5 Direnç çalışmaları için toplanan popülasyonlar hakkında bilgiler

Popülasyon	Lokasyon	Renk	Konukçu	Tarih
KA	Konya-Altınekin	Yeşil	Fasulye	15.09.2019
KÇ	Konya-Çumra	Yeşil	Fasulye	10.09.2019
AÇ	Ankara-Çubuk	Yeşil	Fasulye	20.08.2019
AB	Ankara-Beypazarı	Yeşil	Fasulye	11.10.2019
ES	Eskişehir-Sarıcakaya	Yeşil	Fasulye	05.06.2020
N1	Nevşehir1-Acıgöl	Yeşil	Fasulye	25.08.2020
N2	Nevşehir2-Merkez	Yeşil	Fasulye	26.08.2020
N3	Nevşehir3-Merkez	Yeşil	Fasulye	26.08.2020
K1	Karaman- Merkez	Yeşil	Fasulye	28.08.2020
A1	Aksaray-Merkez	Yeşil	Fasulye	27.08.2020

3.2.2.3 Akarisitler

Toksisite çalışmalarında, ön çalışmalar sonucu bölgede en yaygın kullanıldığı bildirilen akarisitler olan abamectin (Agrimec 18 g l⁻¹ EC) ve pyridaben (Spider 20 WP) aktif maddelerinin ticari formülasyonları kullanılmıştır.

Abamectin etki mekanizması olarak IRAC 6 grubunda bulunup, glutamat-kapılı klorid kanalı allosterik modülatörü olarak hedef organizmayı etkilemektedir. Pyridaben ise IRAC 21A grubunda bulunup, mitokondriyal elektron taşıma sistemini birinci komplekste (METI-I) inhibe etmektedir.

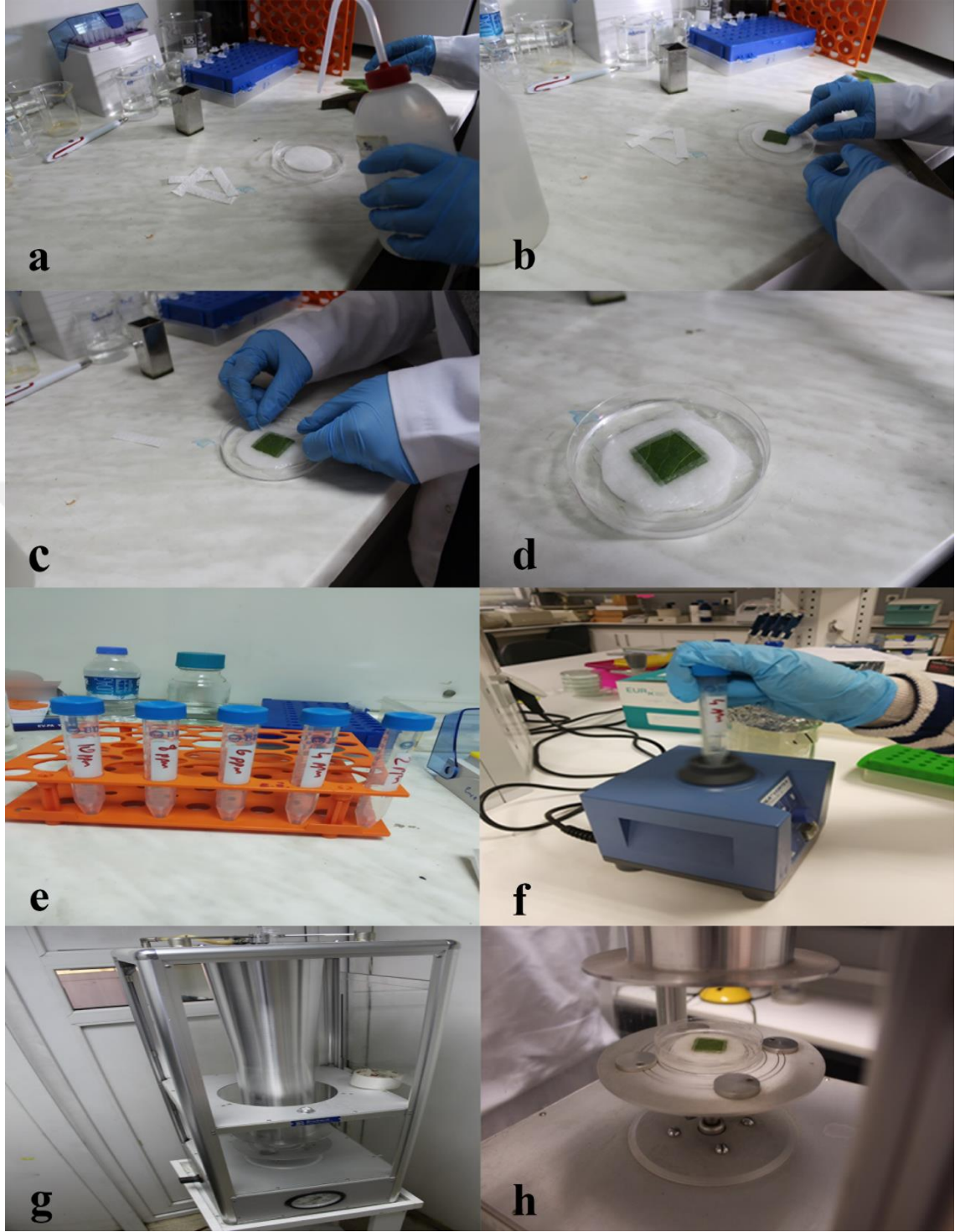


Şekil 3.2 Direnç çalışmaları için örneklenen *Tetranychus urticae* popülasyonlarının lokasyonları

3.2.2.4 Biyoassay denemeleri

Biyoassay denemeleri, IRAC (Insecticide Resistance Action Committee, <https://irac-online.org>) metodu modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir (**Şekil 3.3**). Biyoassay adımları;

- Petri kabının alt kısmında ıslatılmış pamuk ve onun üzerinde kare şekilde (9 cm²) kesilmiş fasulye/barbunya yaprağı yerleştirilmiştir.
- Kesilmiş fasulye yaprağının kenarları havlu kağıttan yapılmış bariyerler ile kapatıldıktan sonra, üzerine 20 adet ergin kırmızı örümcek aktarılmıştır. Denemelerde her doz için en az 3 tekerrür kullanılmıştır.
- Biyoassay denemelerinde en az 5 farklı doz kullanılmış ve bu dozlar petri kabındaki akarlar, ilaçlama kulesi (Burkard scientific, İngiltere) aracılığıyla püskürtülmüştür. Püskürtme işlemi 1 bar basınç altında ve 2ml' lik akarisit+su karışımı uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Uygulanan farklı dozlar ön denemelerde elde edilen sonuçlara göre belirlenmiştir. Kontrol petrilere ise sadece distile su uygulanmıştır. Kontrol grubunda ölüm hiçbir zaman %10' u geçmemiştir.
- Akarisit uygulaması yapılan petriler 25±2 °C sıcaklık ve 16:8 fotoperiyot koşullarına sahip iklim odasında bekletilmiştir. Akarisitin gereğinden çabuk parçalanmasını önlemek amacıyla, petriler doğrudan ışık altında tutulmamıştır. Ölü-canlı sayımları 24 saat sonunda gerçekleştirilmiştir. Fırçayla dokunulduğunda kendi boyunun 3 katı kadar yürüyemeyen akarlar ölü kabul edilmiştir.
- Elde edilen sonuçlar PoloPC paket programı ile probit analizine tabi tutulmuş, LC₅₀ (popülasyonun %50'sini öldürecek olan letal doz) ve LC₉₀ değerleri hesaplanmıştır.
- Güven aralıkları (%95) birbiriyle çakışmayan LC₅₀ değerleri istatistiki olarak farklı kabul edilmiştir.
- Direnç oranı; dirençli popülasyonun LC₅₀ değerinin, hassas popülasyonun LC₅₀ değerine bölünmesiyle elde edilmiştir.



Şekil 3.3 a-d) Biyoassay petrilerinin hazırlanması, e-h) Akarisit dozlarının hazırlanması ve uygulanması

3.2.2.5 Hedef-bölge nokta mutasyonlarının taranması

Hedef-bölge direnç mutasyonlarını belirlemek için yaklaşık 100 adet ergin dişi bireyden toplu şekilde DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA izolasyonu Bölüm 3.2.1.3’ de belirtilen şekilde Qiagen DNeasy Blood and Tissue kit ile gerçekleştirilmiştir. Farklı olarak, kimyasallar yarı dozda değil, kitte önerilen dozlarda kullanılmıştır. Popülasyonlarda taranan mutasyonlar ve kullanılan primerler **Çizelge 3.6**’te verilmiştir.

Çizelge 3.6 Akarisit hedef-yeri mutasyonlarını taramak için kullanılan primerler

Hedef bölge	Forward (5’-3’)	Reverse (5’-3’)	Referans
PSST (H92R)	ACAGGTCAGCCAATCGAATC	ATACCAAGCCTGAGCAGTGG	Bajda vd. 2017
GluCl1 (G314D)	TTGGATTGACCCTAACTCAGCA	TTGCACCAACAATTCCTTGA	Dermauw vd. 2012
GluCl3 (G326E)	CCGGGTCAGTCTTGGTGTTA	CACCACCAAGAACCTGTTGA	Dermauw vd. 2012

PCR işlemleri için PCR master mix (Solis Biodyne) kullanılmıştır. Reaksiyon; 6 µl FIREPol Master Mix (Solis Biodyne) (MgCl, dNTP, DNA polimeraz içeren), 0.5 µl her iki primerden, 21 µl su ve 2 µl DNA (70-130 ng µL⁻¹) içeren toplam 30 µl hacimde gerçekleştirilmiştir. PCR koşulları; 95°C’ de 3 dakikalık denatürasyon ardından, 35 döngü 95°C’ de 30 s, 55°C’ de 30 s ve 72°C’ de 45 s şeklinde gerçekleştirilmiştir. Son olarak 72°C’ de 5 dk uzama aşaması gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri dizileme işlemi öncesinde, %1.5’luk elektroforez jel (0.5x TAE) ile 60 dakika koşturularak kalitesi kontrol edilmiştir. Dizileme işlemi için uygun olduğuna karar verilen örnekler HighPrep PCR clean-up system (MagBio Genomics Inc.) kullanılarak saflaştırılmış ve hizmet alımı için Macrogen Inc. (Seoul, Korea) firmasına gönderilmiştir. Mutasyon tarama çalışmalarında sekanslama çift yönlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Hedef bölge mutasyonlarının varlığının tespiti için sekans kromatograf verilerinin ham halleri gözle kontrol edilmiştir (Khajehali vd. 2011, İnak vd. 2019b).

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Elde Edilen Tetranychid Türleri Hakkında Bilgiler

Çalışma kapsamında elde edilen türlerin konukçuları ve dağılımları Migeon ve Dorkeld (2020)' ye göre verilmektedir. Çalışmada elde edilen türlere ait bazı preparat görüntüleri, zarar şekilleri ve ergin görünüşleri Şekil 4.1-4.9' da verilmektedir.

Tür: *Tetranychus urticae* Koch, 1835

Taksonomi: Tetranychidae – Tetranychinae – Tetranychini

Dağılım: Afrotropikal, Avustralasya, Nearktik, Neotropikal, Oryantal, Palearktik

Konukçular (Familya): 1169 konukçu bitki türü. Acanthaceae, Actinidiaceae, Aizoaceae, Alstroemeriaceae, Amaranthaceae, Amaryllidaceae, Anacardiaceae, Annonaceae, Apiaceae, Apocynaceae, Aquifoliaceae, Araceae, Araliaceae, Araucariaceae, Arecaceae, Aristolochiaceae, Asparagaceae, Balsaminaceae, Berberidaceae, Betulaceae, Bignoniaceae, Boraginaceae, Brassicaceae, Bromeliaceae, Buxaceae, Calophyllaceae, Campanulaceae, Cannabaceae, Cannaceae, Capparaceae, Caprifoliaceae, Caricaceae, Caryophyllaceae, Celastraceae, Cistaceae, Cleomaceae, Clethraceae, Combretaceae, Commelinaceae, Compositae, Convolvulaceae, Cornaceae, Cucurbitaceae, Cupressaceae, Cyperaceae, Dipterocarpaceae, Ebenaceae, Elaeagnaceae, Equisetaceae, Ericaceae, Euphorbiaceae, Fagaceae, Garryaceae, Gentianaceae, Geraniaceae, Gesneriaceae, Goodeniaceae, Grossulariaceae, Heliconiaceae, Hydrangeaceae, Iridaceae, Juglandaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Leguminosae, Liliaceae, Linaceae, Lythraceae, Magnoliaceae, Malvaceae, Marantaceae, Meliaceae, Menispermaceae, Moraceae, Moringaceae, Musaceae, Myrtaceae, Nothofagaceae, Nyctaginaceae, Olacaceae, Oleaceae, Onagraceae, Orchidaceae, Paeoniaceae, Papaveraceae, Passifloraceae, Paulowniaceae, Pedaliaceae, Phyllanthaceae, Phytolaccaceae, Pinaceae, Pittosporaceae, Plantaginaceae, Platanaceae, Plumbaginaceae, Poaceae, Polemoniaceae, Polygonaceae, Pontederiaceae, Portulacaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Resedaceae, Rhamnaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Salicaceae, Sapindaceae, Saxifragaceae, Scrophulariaceae, Simaroubaceae, Solanaceae,

Strelitziaceae, Theaceae, Thymelaeaceae, Tropaeolaceae, Ulmaceae, Urticaceae, Verbenaceae, Violaceae, Vitaceae, Xanthorrhoeaceae, Zingiberaceae, Zygophyllaceae



Şekil 4.1 *Tetranychus urticae* aedagus şekli

Tür: *Tetranychus turkestani* Ugarov & Nikolskii, 1937

Taksonomi: Tetranychidae – Tetranychinae – Tetranychini

Dağılım: Afrotropikal, Avustralasya, Nearktik, Neotropikal, Oryantal, Palearktik

Konukçular (Familya): 271 konukçu bitki türü. Adoxaceae, Amaranthaceae, Apiaceae, Apocynaceae, Araliaceae, Aristolochiaceae, Asparagaceae, Balsaminaceae, Berberidaceae, Betulaceae, Bignoniaceae, Bixaceae, Brassicaceae, Campanulaceae, Cannabaceae, Caprifoliaceae, Caryophyllaceae, Celastraceae, Compositae, Convolvulaceae, Cucurbitaceae, Cyperaceae, Ebenaceae, Euphorbiaceae, Geraniaceae, Grossulariaceae, Hydrangeaceae, Iridaceae, Juglandaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Leguminosae, Magnoliaceae, Malvaceae, Meliaceae, Molluginaceae, Moraceae, Musaceae, Nyctaginaceae, Oleaceae, Onagraceae, Oxalidaceae, Papaveraceae, Phytolaccaceae, Pinaceae, Plantaginaceae, Poaceae, Polygonaceae, Primulaceae, Ranunculaceae, Rhamnaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Rubiaceae, Salicaceae, Sapindaceae, Scrophulariaceae, Simaroubaceae, Solanaceae, Ulmaceae, Urticaceae, Verbenaceae, Violaceae, Vitaceae, Zygophyllaceae



Şekil 4.2 *Tetranychus turkestanii* aedagus şekli

Tür: *Amphitetranynchus viennensis* (Zacher, 1920)

Taksonomi: Tetranychidae – Tetranychinae – Tetranychini

Dağılım: Oryantal, Palearktik

Konukçular (Familya): 70 konukçu bitki türü. Apocynaceae, Betulaceae, Caprifoliaceae, Compositae, Fagaceae, Grossulariaceae, Hydrangeaceae, Malvaceae, Moraceae, Oleaceae, Rosaceae, Salicaceae, Sapindaceae, Ulmaceae



Şekil 4.3 *Amphitetranynchus viennensis* aedagus şekli

Tür: *Panonychus ulmi* (Koch, 1836)

Taksonomi: Tetranychidae – Tetranychinae – Tetranychini

Dağılım: Afrotropikal, Avustralasya, Nearktik, Neotropikal, Oryantal, Palearktik

Konukçular (Familya): 151 konukçu bitki türü. Amaranthaceae, Anacardiaceae, Apiaceae, Apocynaceae, Araceae, Betulaceae, Bryophyta, Caprifoliaceae, Compositae, Convolvulaceae, Cucurbitaceae, Ebenaceae, Fagaceae, Grossulariaceae, Hydrangeaceae, Iridaceae, Juglandaceae, Juncaceae, Leguminosae, Malvaceae, Moraceae, Musaceae, Myricaceae, Myrtaceae, Oleaceae, Poaceae, Polemoniaceae, Polygonaceae, Rhamnaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Salicaceae, Sapindaceae, Solanaceae, Theaceae, Ulmaceae, Vitaceae



Şekil 4.4 *Panonychus ulmi* ergin dişi

Tür: *Eotetranychus populi* (Koch, 1838)

Taksonomi: Tetranychidae – Tetranychinae – Tetranychini

Dağılım: Nearktik, Oryantal, Palearktik

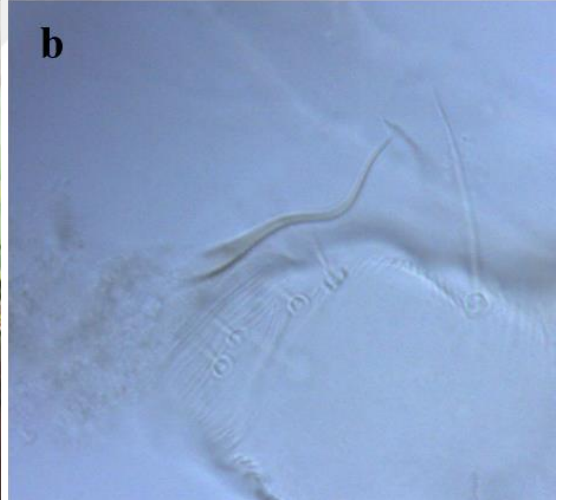
Konukçular (Familya): 31 konukçu bitki türü. Betulaceae, Hamamelidaceae, Leguminosae, Oleaceae, Poaceae, Rosaceae, Salicaceae



Şekil 4.5 *Eotetranychus populi* aedagus şekli

Tür: *Eotetranychus* sp.

Taksonomi: Tetranychidae – Tetranychinae – Tetranychini



Şekil 4.6 *Eotetranychus* sp. zararı ve aedagus şekli

Tür: *Eurytetranychus buxi* (Garman, 1935)

Taksonomi: Tetranychidae - Tetranychinae - Eurytetranychini

Dağılım: Nearktik, Palearktik

Konukçular (Familya): 4 konukçu bitki türü. Buxaceae, Pinaceae



Şekil 4.7 *Eurytetranychus buxi* zararı

Tür: *Eutetranychus orientalis* (Klein, 1936)

Taksonomi: Tetranychidae - Tetranychinae - Eurytetranychini

Dağılım: Afrotropikal, Avustralasya, Oryantal, Palearktik

Konukçular (Familya): 228 konukçu bitki türü. Aizoaceae, Amaranthaceae, Anacardiaceae, Annonaceae, Apocynaceae, Araceae, Araliaceae, Arecaceae, Asparagaceae, Bixaceae, Bromeliaceae, Cannabaceae, Caricaceae, Casuarinaceae, Celastraceae, Cleomaceae, Combretaceae, Compositae, Convolvulaceae, Cucurbitaceae, Cupressaceae, Ebenaceae, Euphorbiaceae, Fagaceae, Heliconiaceae, Juglandaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Leguminosae, Lythraceae, Magnoliaceae, Malvaceae, Meliaceae, Menispermaceae, Molluginaceae, Moraceae, Moringaceae, Muntingiaceae, Musaceae, Myrtaceae, Nelumbonaceae, Nyctaginaceae, Oleaceae, Oxalidaceae, Passifloraceae, Pedaliaceae, Poaceae, Pontederiaceae, Rhamnaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Salicaceae, Salvadoraceae, Santalaceae, Sapindaceae, Sapotaceae, Simaroubaceae, Solanaceae, Tamaricaceae, Verbenaceae, Vitaceae



Şekil 4.8 *Eutetranychus orientalis* ergin dişi şekli (Anonymous 2021)

Tür: *Bryobia rubrioculus* (Scheuten, 1857)

Taksonomi: Tetranychidae - Bryobiinae - Bryobiini

Dağılım: Afrotropikal, Avustralasya, Nearktik, Neotropikal, Oryantal, Palearktik

Konukçular (Familya): 87 konukçu bitki türü. Anacardiaceae, Berberidaceae, Betulaceae, Caprifoliaceae, Compositae, Cupressaceae, Fagaceae, Grossulariaceae, Juglandaceae, Leguminosae, Malvaceae, Moraceae, Oleaceae, Pinaceae, Poaceae, Rosaceae, Rutaceae, Salicaceae, Sapindaceae, Sarcobataceae, Ulmaceae, Vitaceae



Şekil 4.9 *Bryobia* cinsine ait ergin dişi birey (Deml 2013)

Tür: *Bryobia kissophila* Eynndhoven, 1955

Taksonomi: Tetranychidae - Bryobiinae - Bryobiini

Dağılım: Afrotropikal, Avustralasya, Nearktik, Neotropikal, Palearktik

Konukçular (Familya): 4 konukçu bitki türü. Araliaceae, Convolvulaceae, Malvaceae

4.2 Tetranychid Akar Türlerinin Barkodlaması ve Filogenetik Analizi

Kırmızı örümcekler ile mücadelede atılması gereken ilk adım doğru bir tür teşhisinin gerçekleştirilmesidir. Ancak, gerek küçük boyutları gerekse dünyada az sayıda uzman taksonomistin bulunması, akarlarda morfolojik tür teşhis yapılmasını zorlaştırmaktadır. Ek olarak, kırmızı örümceklerin teşhisinde genellikle erkek bireylerin kullanılması ve bu bireylerin lateral bir şekilde preparasyonun gerçekleştirilmesi gibi zorluklar bulunmaktadır. Ayrıca, teşhis anahtarlarının sadece ergin bireyler için olması, dolayısıyla yumurta ve genç dönemlerde teşhis yapılamaması klasik taksonominin dezavantajları olarak görülmektedir. Özellikle zararlı mücadelesinde erken teşhisin ne denli kritik olduğu düşünüldüğünde, bu dezavantajların önemi daha artmaktadır.

Henüz istenilen seviyeye ulaşmış olmasa da, klasik taksonomide karşılaşılan sorunların üstesinden gelmek için DNA-temelli yaklaşımların benimsenmesi günden güne artmaktadır. Ülkemizde tarımsal akaroloji alanında moleküler taksonomi konusunda çalışmalar yok denecek kadar azdır. Mevcut çalışmalar ise, biyolojik mücadelede önemli bir familya olan Phytoseiidae üzerinde gerçekleştirilmiştir (Döker vd. 2018, İnak vd. 2020). Tarımsal akarolojide, ekonomik anlamda en önemli konumda olan Tetranychidae familyasında ise herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Türkiye' nin farklı yerlerinden toplanan kırmızı örümcek türlerinin iki farklı gen ile (COI ve ITS) moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Moleküler teşhiste tür içi ve türler arası genetik varyasyonların tespit edilmesi ancak farklı coğrafik bölgelerden daha çok dizilim elde edilmesiyle mümkündür. Bu çalışmada elde edilen bütün dizilimlerin Türkiye için ilk olduğu düşünüldüğünde, moleküler akaroloji alanına olan katkısı daha iyi anlaşılmaktadır. Ayrıca, elde edilen dizilerin bazıları dünyada ilk defa elde edilmiş olup, araştırmacıların hızlı bir teşhis yapmasına olanak sağlayacaktır.

Bu çalışmada elde edilen ve iki farklı gen ile barkodlanan Tetranychidae familyasına ait 10 adet tür bulunmaktadır; *Tetranychus urticae* Koch, *Tetranychus turkestani* Ugarov & Nikolski, *Amphitetranychus viennensis* (Zacher), *Panonychus ulmi* (Koch), *Eotetranychus populi* (Koch), *Eotetranychus* sp., *Bryobia kissophila* Eyndhoven, *Bryobia rubrioculus* (Scheuten), *Eurytetranychus buxi* (Garman), *Eutetranychus orientalis* (Klein) (**Çizelge 4.1**).

Elde edilen türlerin BLAST analizi sonuçları ise **Çizelge 4.3**'de verilmiştir.

Sitokrom oksidaz I geni ile oluşturulan filogenetik ağaç **Şekil 4.10**'de verilmiştir. Oluşturan ağaca göre COI geni Tetranychidae familyasını cins seviyesinde ayırtmakta oldukça başarılı görülmektedir. Ayrıca, bazı istisnalar dışında, tür düzeyinde teşhise olanak sağladığı görülmektedir. Daha üst gruplarda ise yüksek bootstrap değerleri gözükmemektedir. Ancak dış grup olan Bryobinae altfamilyasının bootstrap değerlerine bakıldığında, bu grubu Tetranychinae altfamilyasından net bir şekilde ayırdığı tespit edilmiştir.

Farklı ülkelerden elde edilen *B. kissophila* sekansları, ülkemiz sekansları ile karşılaştırıldığında, iki farklı grup oluşmuştur. Bu grubun bir tanesinde Yunanistan (EU487081 *Bryobia kissophila* strain GR4) ve ülkemizden elde edilen bireyler bulunurken, diğerinde ise diğer Avrupa ülkelerinden elde edilen bireylerin sekansları bulunmaktadır. Coğrafi olarak ülkemize en yakın ülke ile birlikte gruplanması, COI genindeki varyasyonun coğrafi uzaklık ile korelasyon gösterdiğinin belirteci olabileceği düşünülmüştür.

Tetranychidae familyasına ait cinslerin içerisindeki ve diğer cinsler ile olan COI geni dizilimine ait genetik uzaklığı

Çizelge 4.4'te görülmektedir. En yüksek genetik varyasyon *Panonychus* türlerinde tespit edilmiştir. En düşük varyasyon *Eurytetranychus* ve *Eutetranychus* cinslerinde belirlenmiştir, ancak bu cinslere ait sadece bir tür ve kısıtlı sayıda birey bulunduğundan bu sonuç yanıltıcı olmamalıdır. Daha fazla tür dizilimi dahil edilerek, daha geniş analizlerin yapılması gerekmektedir.

Bryobia ve *Eurytetranychus* türlerinin diğer cinsler ile olan uzaklığı en fazla olarak belirlenirken (%20.5), *Eotetranychus* cinsinin diğer tetranychid cinsleriyle olan genetik uzaklığı ise en az (%14.1) olarak tespit edilmiştir

Çizelge 4.1 Çalışma kapsamında örnekleme yapılan iller, konukçuları, örnekleme tarihi ve tespit edilen türler

Tür ismi ve kodu	Lokasyon	Konukçu	Tarih	Aksesyon numarası	
				COI	ITS
<i>Tetranychus urticae</i> – KC	Konya/Çumra	Fasulye	10.09.2019	MW535081	MW534221
<i>Tetranychus urticae</i> – KA	Konya/Altınekin	Fasulye	15.09.2019	MW535080	MW534222
<i>Tetranychus turkestanii</i> – NalT1,NalT2,NalT3	Ankara/Nallıhan/ Akçabayı	Karışık	21.05.2020	MW535082, MW535083, MW535084	MW534220, MW534218, MW534219
<i>Tetranychus turkestanii</i> – NkusT2,NkusT4	Ankara/Nallıhan/Kuş cenneti	Karışık	21.05.2020	MW535085, MW535086	MW534217, MW534216
<i>Amphitetranynchus viennensis</i> – AEMT1-2-3-4-5	Ankara/Çankaya/ Eymir gölü	Erik	01.10.2019	MW535087, MW535088, MW535089, MW535090, MW535091	MW534210, MW534215, MW534214, MW534206, MW534211
<i>Amphitetranynchus viennensis</i> – YV2,YV5	Yozgat/Aydıncık/ Kazankaya	Vişne	08.09.2019	MW535097, MW535096	MW534205, MW534204
<i>Amphitetranynchus viennensis</i> – YK3	Yozgat/Aydıncık/ Kazankaya	Kiraz	08.09.2019	MW535098	MW534207
<i>Amphitetranynchus viennensis</i> – CK5,CK8	Ankara/Çamlıdere	Erik	07.07.2019	MW535094, MW535093	MW534212, MW534213
<i>Amphitetranynchus viennensis</i> – Bas4,Bas10	Ankara/Ayaş/ Başbereket	Erik	17.05.2019	MW535092, MW535095	MW534209, MW534208
<i>Eurytetranynchus buxi</i> - BK	Ankara/Keçiören/Bitki Koruma Bölüm Bahçesi	Şimşir	12.09.2019	MW535073	MW534201

Çizelge 4.2 Çalışma kapsamında örnekleme yapılan iller, konukçuları, örnekleme tarihi ve tespit edilen türler (devam)

<i>Eurytetranychus buxi</i> – BIS4	Bilecik/ Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi kampüsü	Şimşir	04.10.2019	MW535072	MW534200
<i>Eutetranychus orientalis</i> – PST2	Antalya/Kumluca	Portakal	10.08.2019	MW535071	MW534202
<i>Eutetranychus orientalis</i> – A1	Adana/Seyhan	Portakal	7.09.2019	MW535070	MW534203
<i>Eotetranychus populi</i> – Ihl3, Ihl5	Ankara/Çankaya	Ihlamur	3.07.2020	MW535075, MW535076	MW530357, MW530358
<i>Eotetranychus</i> sp. – Me1, Me2, Me3	Ankara/Keçiören/ Bitki Koruma Bölüm Bahçesi	Meşe	2.07.2020	MW535077, MW535078, MW535079	MW534197, MW534198, MW534199
<i>Panonychus ulmi</i> – AK1	Antalya/Kaş/Gömbe	Elma	30.06.2020	MW535074	MW530359
<i>Bryobia rubrioculus</i> – B1,2,3	Ankara/Ayaş/Başbereket	Elma	17.05.2019	MW535102, MW535103, MW535104	MW530360, MW530362, MW530361
<i>Bryobia kissophila</i> – CBr1,2,3	Ankara/Çankaya	Duvar sarmaşığı	20.05.2020	MW535099, MW535100, MW535101	MW530363, MW530364, MW530365

Çizelge 4.3 Çalışmada tespit edilen tetranychid akar türlerine ait gen dizilimlerinin BLAST analizi sonuçları

Tür	ITS ve AN*	COI ve AN*
Tetranychus_urticae_KA	99.36 - KP744525.1	99.34 MK508722.1
Tetranychus_urticae_KC	99.36 - KP744525.1	99.43 HQ732267.1
Tetranychus_turkestanı_NalT1	98.94 - AB738745.1	97.49 - GQ141913.1
Tetranychus_turkestanı_NalT2	99.12 - AB738745.1	97.28 - GQ141913.1
Tetranychus_turkestanı_NalT3	98.94 - AB738745.1	97.28 - GQ141913.1
Tetranychus_turkestanı_NKusT2	98.83 - AB738745.1	96.54 - GQ141913.1
Tetranychus_turkestanı_NKusT4	98.22 - AB738745.1	96.54 - GQ141913.1
Amphitetranynchus_viennensis_AEMT1	99.32 - AB257731.1	98.39 - X80861.1
Amphitetranynchus_viennensis_AEMT2	97.77 - AB257731.1	98.39 - X80861.1
Amphitetranynchus_viennensis_AEMT3	98.23 - AB257731.1	98.39 - X80861.1
Amphitetranynchus_viennensis_AEMT4	97.82 - AB257731.1	98.39 - X80861.1
Amphitetranynchus_viennensis_AEMT5	98.29 - AB257731.1	98.39 - X80861.1
Amphitetranynchus_viennensis_Bas4	98.16 - AB257731.1	99.16 - X80861.1
Amphitetranynchus_viennensis_Bas10	98.51 - AB257731.1	99.15 - X80861.1
Amphitetranynchus_viennensis_YV2	98.12 - AB257731.1	99.15 - X80861.1
Amphitetranynchus_viennensis_YV5	98.69 - AB257731.1	99.15 - X80861.1
Amphitetranynchus_viennensis_YK3	98.02 - AB257731.1	99.15 - X80861.1
Amphitetranynchus_viennensis_CK5	98.45 - AB257731.1	98.64 - X80861.1
Amphitetranynchus_viennensis_CK8	98.45 - AB257731.1	98.64 - X80861.1
Panonychus_ulmi_AK1	100 - FJ969824.1	98.52 - GQ141915.1
Eotetranychus_populi_Ihl3	-	-
Eotetranychus_populi_Ihl5	-	-
Eotetranychus_sp_Me1	-	-
Eotetranychus_sp_Me2	-	-
Eotetranychus_sp_Me3	-	-
Eurytetranychus_buxi_BK	-	-
Eurytetranychus_buxi_BIS4	-	-
Eutetranychus_orientalis_A1	99.40 - KP642049.1	99.76 - DQ656481.1
Eutetranychus_orientalis_PST2	99.46 - KP642049.1	99.76 - DQ656481.1
Bryobia_kissophila_CBr1	-	99.79 - EU487081.1
Bryobia_kissophila_CBr2	-	99.76 - EU487081.1
Bryobia_kissophila_CBr3	-	99.76 - EU487081.1
Bryobia_rubrioculus_B1	-	95.31 - EU487108.1
Bryobia_rubrioculus_B2	-	95.31 - EU487108.1
Bryobia_rubrioculus_B3	-	95.31 - EU487108.1

*BLAST sonucu elde edilen en yüksek % benzerlik oranı ve ilgili dizilimin aksesyon numarası

ITS gen bölgesi ile oluşturulan filogenetik ağaç **Şekil 4.11**' te görülmektedir. Bu gen ile oluşturulan filogenetik ağacın, COI genine benzer şekilde, Bryobinae ve Tetranychinae

altfamilyalarını yüksek bootstrap değerleri ile ayırdığı görülmektedir. Ayrıca, *Amphitetranynchus* ve *Tetranynchus* cinslerinin ayrımını da oldukça yüksek bootstrap değeri ile desteklemektedir. Bu yakın iki cinsi sınıflandırmada COI geni dizilimine göre daha yüksek bootstrap değerleri vermiştir. Bu nedenle cins düzeyinde evrimsel süreçlerin incelemesinde COI genine göre daha kullanışlı gözükmemektedir.

T. turkestanı türünün ayrımında morfolojik teşhis ile birlikte Navajas ve Boursot (2003) ve de Mendonça ve ark (2011) tarafından önerilen nükleotit değişimi temelli ayırım kullanılmıştır. COI genine benzer şekilde, ITS gen bölgesinin cins ve tür düzeyinde ayırım yapmayı sağladığı belirlenmiştir. Özellikle yakın zamanda türleştiği düşünülen *T. turkestanı* ve *T. urticae* gibi iki yakın türü ayırt edebildiği bu çalışma ile de doğrulanmıştır.

Çizelge 4.4 Filogenetik ağaçta kullanılan tüm türlerin COI geni dizilimlerinin genetik uzaklığı

Cins	Birey sayısı	Tür sayısı	Cins içi genetik uzaklık (ortalama $\pm$ SH)	Belirtilen cins ile diğer cinsler arasındaki genetik uzaklık (ortalama $\pm$ SH)
<i>Tetranynchus</i>	17	10	0.0715 $\pm$ 0.008	0.155 $\pm$ 0.014
<i>Eurytetranynchus</i>	2	1	0 $\pm$ 0	0.205 $\pm$ 0.021
<i>Eutetranynchus</i>	3	1	0.0019 $\pm$ 0.001	0.193 $\pm$ 0.019
<i>Eotetranynchus</i>	16	13	0.0835 $\pm$ 0.009	0.141 $\pm$ 0.012
<i>Amphitetranynchus</i>	13	1	0.0061 $\pm$ 0.002	0.145 $\pm$ 0.014
<i>Panonychus</i>	9	5	0.0846 $\pm$ 0.011	0.151 $\pm$ 0.014
<i>Bryobia</i>	19	4	0.0791 $\pm$ 0.008	0.205 $\pm$ 0.020

ITS-temelli genetik analizi sonucu cins-içi varyasyon *Eotetranynchus* türlerinde en yüksek olarak tespit edilmiştir (

Cins	Birey sayısı	Tür sayısı	Cins içi genetik uzaklık (ortalama $\pm$ SH)	Belirtilen cins ile diğer cinsler arası genetik uzaklık (ortalama $\pm$ SH)
------	--------------	------------	--	---

<i>Tetranychus</i>	26	11	0.0418 ± 0.003	0.614 ± 0.028
<i>Eurytetranychus</i>	2	1	0.0254 ± 0.005	0.607 ± 0.029
<i>Eutetranychus</i>	3	1	0.0042 ± 0.002	0.672 ± 0.033
<i>Eotetranychus</i>	7	3	0.3645 ± 0.032	0.652 ± 0.028
<i>Amphitetranychus</i>	13	1	0.0056 ± 0.001	0.563 ± 0.024
<i>Panonychus</i>	7	4	0.0922 ± 0.009	0.709 ± 0.039
<i>Bryobia</i>	6	2	0.2336 ± 0.023	1.10 ± 0.093

Çizelge 4.5). *Eotetranychus* türlerinin diğer cinslerle olan uzaklığı, cins-içi varyasyon ile kesişmediği için, ITS bölgesinin kullanımında bir risk görülmemesine rağmen, yapılan analizlerde yüksek genetik varyasyon göz önünde bulundurulmalıdır.

Çizelge 4.5 Filogenetik ağaçta kullanılan tüm türlerin ITS geni dizilimlerinin genetik uzaklığı

Cins	Birey sayısı	Tür sayısı	Cins içi genetik uzaklık (ortalama ± SH)	Belirtilen cins ile diğer cinsler arası genetik uzaklık (ortalama ± SH)
<i>Tetranychus</i>	26	11	0.0418 ± 0.003	0.614 ± 0.028
<i>Eurytetranychus</i>	2	1	0.0254 ± 0.005	0.607 ± 0.029
<i>Eutetranychus</i>	3	1	0.0042 ± 0.002	0.672 ± 0.033
<i>Eotetranychus</i>	7	3	0.3645 ± 0.032	0.652 ± 0.028
<i>Amphitetranychus</i>	13	1	0.0056 ± 0.001	0.563 ± 0.024
<i>Panonychus</i>	7	4	0.0922 ± 0.009	0.709 ± 0.039
<i>Bryobia</i>	6	2	0.2336 ± 0.023	1.10 ± 0.093

COI genindeki analize paralel olarak, cinsler arası en yüksek uzaklık *Bryobia* cinsi ile diğer cinsler arasında tespit edilmiştir. *Bryobia* cinsinin diğer türler gibi Tetranychinae altfamilyasına değil, Bryobinae altfamilyasına ait olduğu düşünüldüğünde, bu uzaklık normal olarak değerlendirilmiştir.

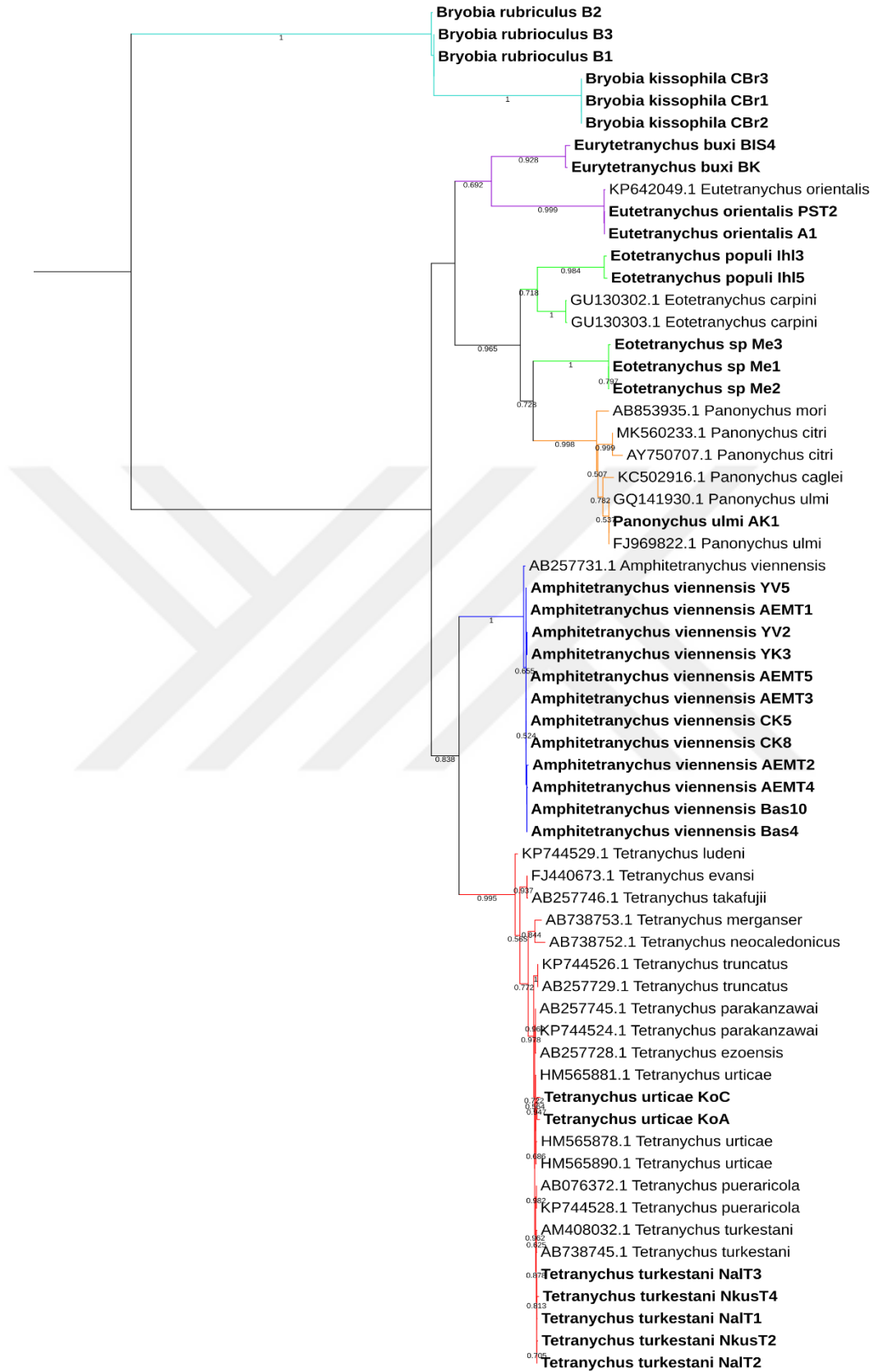
Bryobia rubrioculus, *Bryobia kissophila*, *Eotetranychus populi*, *Eotetranychus* sp. ve *Eurytetranychus buxi* türlerinin ITS dizilimleri ile *Eotetranychus populi* ve *Eotetranychus* sp. türlerinin COI dizilimleri dünyada ilk defa bu çalışma ile GenBank sistemine yüklenmiştir. GenBank sisteminde bulunan tetranychid akar gen dizilimlerinin %30'unun yanlış ya da başka sebeplerden dolayı güvenilirmez olduğu bildirilmiştir (de

Mendonça vd. 2011). Bu nedenle, daha güvenilir veri setleri oluşturmak için morfolojik ve moleküler tekniklerin entegre edilmesi gerekmektedir.

Daha önce yapılan detaylı çalışmalarda *Schizotetranychus*, *Eotetranychus*, *Oligonychus* ve *Tetranychus* cinslerinin parafiletik olduğu bildirilmiştir (Matsuda vd. 2014, Matsuda vd. 2018). Bu çalışmada ITS geni ile oluşturulan filogenetik ağaç, *Eotetranychus* için bu sonucu doğrulamaktadır. Tetranychidae familyasında yakın zamanda gerçekleştirilen moleküler taksonomi çalışmaları, morfolojik taksonomi ile uyuşmamaktadır. Bu nedenle klasik yöntem ile oluşturulan Tetranychid taksonomisi gözden geçirilmelidir. Benzer durum bir başka akar grubu olan Eriophyoidea için de bildirilmiş ve bu durum eriophyoid akarlarda bulunan homoplasmik evrim ile açıklanmıştır (Chetverikov vd. 2015).



Şekil 4.10 Tetranychid akarların COI geni ile oluşturulan filogenetik ağacı (Bu çalışmada elde edilen dizilimler koyu olarak yazılmıştır)



Şekil 4.11 Tetranychid akarların ITS gen bölgesi ile oluşturulan filogenetik ağacı (Bu çalışmada elde edilen dizilimler koyu olarak yazılmıştır)

4.3 İç Anadolu Bölgesi' nden Toplanan *Tetranychus urticae* Popülasyonlarında Direncin Belirlenmesi

Ülkemiz kırmızı örümcek popülasyonlarında akarisit (özellikle abamectin ve pyridaben) direnci belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalar genellikle Akdeniz ve Ege Bölgesi' nden elde edilen popülasyonlarda gerçekleştirilmiştir (Ay vd. 2005, Çağatay vd. 2018, İnak vd. 2019, Solmaz vd. 2020). Pestisitlerin en yoğun kullanıldığı ve örtü altı yetiştiriciliğin çok yaygın olduğu bu bölgelerde, kırmızı örümcek probleminin üst düzeyde olması nedeniyle yapılan çalışmalar direnç yönetim programlarının oluşturulması için çok önemlidir. Ancak diğer coğrafi bölgelerde kırmızı örümcek direncine ait veri bulunmaması, bu konudaki büyük açığı göstermektedir. Bu nedenle, bu çalışmada İç Anadolu Bölgesi' nden toplanan *T. urticae* popülasyonlarında, bölgede en yoğun kullanılan akarisitlerden olan abamectin ve pyridaben aktif maddelere karşı olan direnç durumu ve hedef bölge mutasyonlarının varlığı araştırılmıştır.

Toplanan tüm popülasyonlar morfolojik ve moleküler olarak *T. urticae* olarak teşhis edilmiştir. Elde edilen COI dizilimleri (Aksesyon numaraları: MW542505:MW542515), GenBank sisteminden BLAST edilmiş ve referans diziler ile >%99 oranında benzerlik göstermiştir.

Biyoassay denemeleri sonucu elde edilen sonuçlar **Çizelge 4.6** ve Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.'da verilmiştir. Toksisite denemelerinin sonucunda uzun yıllardır laboratuvar koşullarında herhangi bir pestisite maruz kalmadan yetiştirilen referans GSS popülasyonun her iki aktif maddeye de hassas olduğu tespit edilmiştir. Ancak hem abamectin hem pyridaben için de, GSS popülasyonundan daha hassas tarla popülasyonları tespit edilmiştir. Bu nedenle tarla popülasyonlarının direnç oranları (Resistance ratios = RR) hesaplanması, tarla koşullarını daha iyi yansıtmaları nedeniyle, çalışmada elde edilen en hassas tarla popülasyonuna oranlanarak gerçekleştirilmiştir. Guedes (2017), tarla koşullarında LC₈₀ değerinin bir insektisit/akarisit ruhsatlı dozundan büyük olması durumunda zararlı kontrolünde başarısızlık olacağını bildirmiştir. Çünkü, Brezilya hükümeti insektisit etki değerlendirmesinde en az %80 başarı istemektedir. Ülkemizde ise yazılı sabit bir değer olmamasına rağmen, T.C. Tarım

ve Orman Bakanlığı ve özel sektör temsilcileri ile yapılan konuşmalar sonrasında en az %90 etki talep edildiği öğrenilmiştir. Ayrıca, *T. urticae* türünün çok sayıda yumurta bırakması, döl sayısının fazla olduğu, gelişme süresinin çok hızlı olduğu göz önüne alındığında %90 etki değerinin daha doğru olacağı düşünülmüş ve bu nedenle popülasyonlara ait LC₉₀ değerleri hesaplanarak tarla koşullarında uygulama başarısızlığı oluşturma ihtimali tartışılmıştır.

Abamectin, toprak kökenli bir bakteri olan *Streptomyces avermitilis*' in fermantasyon ürününden elde edilen makrosiklon yapıda bir insektisit/akarisit olup (Fisher ve Mrozik 1989), ülkemizde yaklaşık 30 yıldır yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (İnak vd. 2019b). Abamectin aktif maddesinin birden fazla hedef yeri olduğu düşünülse de, en önemli etki mekanizması glutamat-kapılı klorid kanallarının aktivasyonudur (Lynagh ve Lynch 2012). Böcek ya da akarlarda gerçekleşen herhangi bir sinirsel iletim sonrası hücrelerin hiperpolarizasyonu için açılması gereken glutamat-kapılı klorid kanallarının, abamectin tarafından doğal yollar dışında aktive edilmesi böcek/akarda paralize neden olmaktadır (Wolstenholme 2012).

Ülkemiz güney bölgelerinden tarla ve örtü altı sebze alanlarından toplanan *T. urticae* popülasyonlarında abamectin direnci önceki çalışmalarda tespit edilmiştir (Çağatay vd. 2018, İnak vd. 2019b). Yine Türkiye' nin güney bölgelerindeki çilek alanlarındaki kırmızı örümceklerde 2.39-7.86 kat abamectin direnci tespit edilmiştir (Yalçın vd. 2018). Yürüttüğümüz bu çalışmada, yaklaşık 9 kata kadar abamectin direnci tespit edilmesine rağmen, bütün popülasyonların LC₅₀ oranlarının çok düşük seviyelerde olduğu belirlenmiştir (**Çizelge 4.6**). Test edilen popülasyonların abamectine karşı çok hassas olması nedeniyle tarla uygulamalarında herhangi bir başarısızlık beklenmemektedir. Yine de, *T. urticae*' nin polifag olması nedeniyle, akarısit maruz kalmayan komşu bitkilerde bireyler yaşamına devam edebilmekte ve akarısitin kontakt etkisi ortadan kaybolduğunda tekrar ilaçlanan alanları enfekte edebilmektedir. Bu nedenle, ilaca karşı oldukça hassas tespit edilmesine rağmen, birden fazla ilaçlama gerekebilmektedir ve üreticiye ek masraf yaratabilmektedir. Dirençli popülasyonların hassasiyet oranını düşürebilmek için hassas bireyler ile çiftleşmesi önemli bir stratejidir (Ridsdill-Smith vd. 2008). Test edilen tüm

Çizelge 4.6 *Tetranychus urticae* popülasyonlarında abamectin aktif maddesine karşı belirlenen LC₅₀ -LC₉₀ değerleri ve direnç oranları

Popülasyon	n	Eğim+SE ¹	LC ₅₀ (mg a.i./L) (95% CL ²)	LC ₉₀ (mg a.i./L) (95% CL)	x ²	df	RR ₅₀ (95% CL)
GSS	459	3.338 ± 0.296	0.153 (0.134 - 0.174)	0.370 (0.306 - 0.484)	18.3	15	-
KA	469	4.878 ± 0.390	0.219 (0.193 - 0.246)	0.400 (0.345 - 0.495)	22.1	13	7.82
KÇ	438	4.291 ± 0.369	0.251 (0.230 - 0.271)	0.470 (0.424 - 0.538)	12.7	13	8.96
AÇ	391	4.355 ± 0.432	0.164 (0.149 - 0.180)	0.323 (0.287 - 0.380)	3.6	16	5.85
AB	376	2.556 ± 0.278	0.086 (0.075 - 0.098)	0.175 (0.143 - 0.246)	17.4	13	3.53
ES	399	6.291 ± 0.602	0.028 (0.025 - 0.030)	0.051 (0.045 - 0.063)	15.8	13	1
N1	348	4.110 ± 0.475	0.078 (0.070 - 0.086)	0.159 (0.137 - 0.198)	3.5	13	2.78
N2	358	3.886 ± 0.531	0.062 (0.054 - 0.070)	0.133 (0.114 - 0.169)	4.0	13	2.21
N3	358	3.667 ± 0.483	0.068 (0.059 - 0.076)	0.152 (0.129 - 0.196)	5.2	12	2.42
K1	385	3.670 ± 0.334	0.124 (0.110 - 0.138)	0.277 (0.239 - 0.336)	11.3	13	4.42
A1	391	3.912 ± 0.347	0.122 (0.109 - 0.135)	0.259 (0.225 - 0.309)	9.7	13	4.35

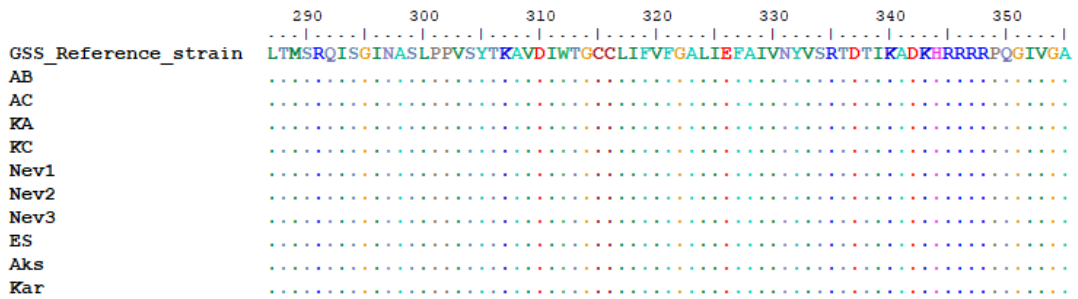
¹SE: Standart error - Standart hata

²CL: Confidence Limit – Güven aralığı

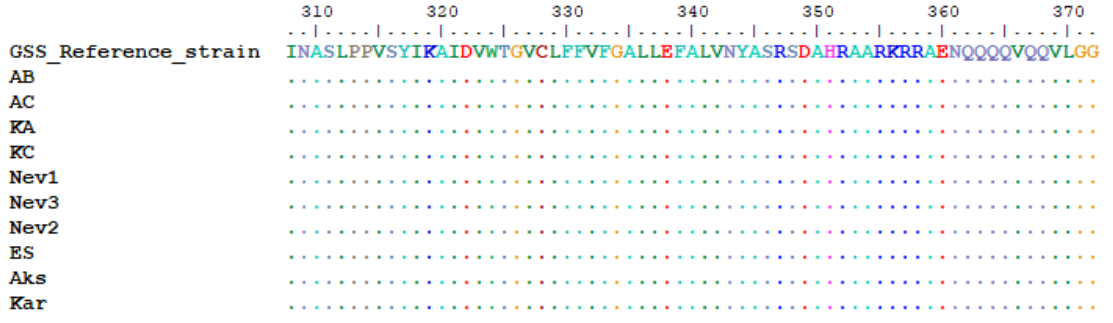
³RR: Resistance ratios – Direnç katı

popülasyonların çok hassas olarak tespit edilmesi, ilerde oluşabilecek direnç gelişimini de yavaşlatabileceğinden, elde edilen sonuçların önemi artmaktadır.

Abamectin direnci genellikle sitokrom P450 monooksijenaz enzimi ve glutamat-kapılı klorid kanalında (GluCl=Glutamate-gated chlorid chanel), G314D (GluCl1) ve G326E (GluCl3) mutasyonları ile ilişkilendirilmiştir (Stumpf ve Nauen 2002, Kwon vd. 2010b, Dermauw vd. 2012, Riga vd. 2014, Mermans vd. 2017). Tespit edilen mutasyonlar Avrupa *T. urticae* popülasyonlarında düşük yoğunlukta bulunurken (Ilias vd. 2014), ABD popülasyonlarında ise tespit edilememiştir (Piraneo vd. 2015). Çin popülasyonlarında ise sıklığı daha fazla olarak bildirilmiştir (Xu vd. 2018). Bu çalışmada elde edilen 10 popülasyonda hedef yeri mutasyonu tespit edilmemiştir (**Şekil 4.12-Şekil 4.13**). Test edilen popülasyonlarda düşük toksisite değerleri belirlendiği göz önüne alındığında herhangi bir hedef yeri mutasyonunun belirlenememesi normal görülmektedir. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda da abamectin direncine yol açan mutasyonlar taranmış, ancak tespit edilememiştir (Ilias vd. 2014, Çağatay vd. 2018, İnak vd. 2019).



Şekil 4.12 İç Anadolu Bölgesi *Tetranychus urticae* popülasyonlarının GluCl1 aminoasit dizilimi



Şekil 4.13 İç Anadolu Bölgesi *Tetranychus urticae* popülasyonlarının GluCl3 aminoasit dizilimi

Ayrıca yakın zamanda GluCl3 içerisinde tespit edilen I321T mutasyonunun abamectin direncine yol açtığı bildirilmiş ve farklı Avrupa ülkelerinde ve ülkemiz popülasyonunda tespit edilmiştir (Xue vd. 2020a). Ancak bu mutasyonun tek başına yüksek abamectin direnci oluşturmaya yetmediği, fonksiyel doğrulama çalışmasında bildirilmiştir (Xue vd. 2020b). Bu mutasyon ile ilgili geniş çaplı bir tarama ülkemizde henüz yapılmamıştır. Bu çalışmada incelenen popülasyonlarda ise I321T mutasyonuna rastlanmamıştır.

Pyridaben etki mekanizması olarak mitokondriyal elektron taşıma zinciri komplek I' de NADH: ubikinon oksidoredüktazı inhibe ederek, mitokondriyal elektron transport sistemini bozmaktadır (İnak ve Çobanoğlu 2016). Pyridaben IRAC grup 21A' da bulunan kontakt etkili bir akarısittir (Cloyd 2010). Kırmızı örümceklerin yanında eriophyoidler gibi bazı diğer akarılara karşı da ülkemizde ruhsatı bulunmaktadır (BKÜ 2020). Bu çalışma ile, İç Anadolu Bölgesi' nden toplanan *T. urticae* popülasyonlarında pyridaben direnci ilk defa belirlenmiştir. Hassas ve dirençli tarla popülasyonları karşılaştırıldığında 15 kata kadar direnç tespit edilmiştir (**Çizelge 4.7**). Karaman ve Aksaray popülasyonlarının pyridaben direncinin daha fazla olduğu görülmüştür. Pyridaben aktif maddesinin *T. urticae*' ye karşı ruhsatlı dozu 75ml/100lt su olup 150 ppm (part per million) değerine karşılık gelmektedir. Bir insektisit/akarisit ruhsatlı dozunda en az %90 ölüm gerçekleşmeyen durumlarda ilaçlamada başarısızlık olacağını bildirmektedir (Guedes, 2017' den modifiye edilmiştir). Bu nedenle LC₉₀ değeri 150 ppm'i aşan 7 popülasyonda (KA, KÇ, AÇ, ES, N3, K1, A1) tarla koşullarında savaşmada başarısızlık durumu olacağı belirlenmiştir. Pyridaben, fasulye bitkisinde ruhsatlı olmamasına rağmen görece yüksek direnç oranı belirlenmesinin nedenleri: (1) *T. urticae*' nin polifag oluşu nedeniyle çevre bitkilerden göç edebilmesi (2) pyridaben aktif maddesinin fasulyede

Çizelge 4.7 *Tetranychus urticae* popülasyonlarında pyridaben aktif maddesine karşı belirlenen LC₅₀ -LC₉₀ değerleri ve direnç oranları

Popülasyon	n	Eğim±SE ¹	LC ₅₀ (mg a.i./L) (95% CL ²)	LC ₉₀ (mg a.i./L) (95% CL)	x ²	df	RR ₅₀ (95% CL)
GSS	396	3.178 ± 0.374	68.151 (58.248 - 78.635)	172.481 (136.690 - 256.523)	15.9	13	-
KA	395	2.647 ± 0.367	54.713 (41.561 - 66.478)	166.789 (135.590 - 226.105)*	4.8	13	4.91
KÇ	662	2.956 ± 0.239	55.801 (50.704 - 61.799)	151.405 (126.792 -191.526)*	9.9	22	5.01
AÇ	372	2.685 ± 0.289	71.599 (61.645 - 82.529)	214.857 (172.474 - 294.210)*	10	13	6.43
AB	385	2.018 ± 0.242	27.836 (22.565 - 33.325)	120.157 (90.634 - 183.529)	7.7	13	2.50
ES	378	3.495 ± 0.370	89.110 (77.651 -100.809)	207.298 (175.936 - 259.840)*	2.8	13	8.00
N1	357	2.225 ± 0.242	32.075 (25.213 - 39.853)	120.789 (88.912 - 192.678)	15.1	13	2.88
N2	361	3.054 ± 0.363	11.137 (9.609 - 12.746)	29.265 (23.885 - 39.549)	6.3	13	1
N3	390	1.927 ± 0.184	68.480 (55.952 to 83.989)	316.640 (232.716 - 482.645)*	13.8	13	6.15
K1	378	2.069 ± 0.260	167.368 (140.645 - 200.414)	696.913 (500.917 - 1173.968)*	4.7	13	15.02
A1	367	2.970 ± 0.295	120.520 (99.740 - 141.885)	325.552 (263.048 - 443.934)*	16.4	13	10.82

¹SE: Standart error - Standart hata

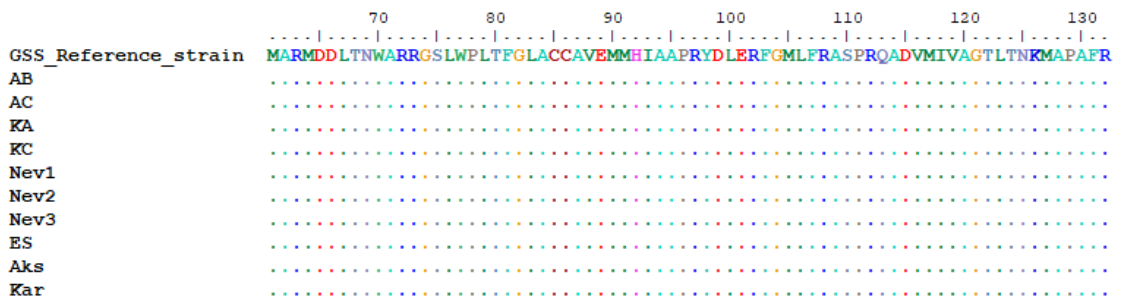
²CL: Confidence Limit – Güven aralığı

³RR: Resistance ratios – Direnç katı

* LC₉₀ > Ruhsatlı Doz (150 ppm) olduğundan tarla koşullarında uygulamada başarısızlık

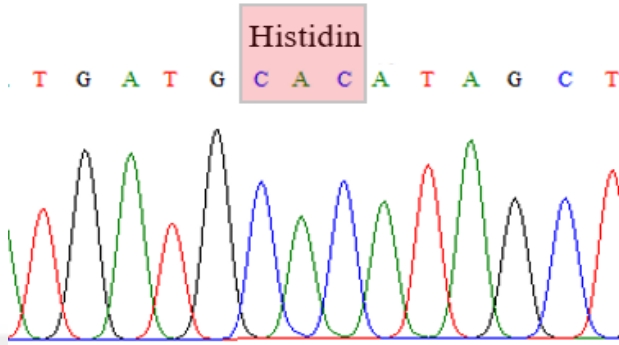
ruhsatlı olmamasına rağmen kullanılması (3) kullanılan diğer pestisitler nedeniyle çapraz direnç oluşması olarak düşünülmektedir. Ancak bölgede bulunan çiftçi ve ilaç bayiler ile konuşulduğunda 1 ve 2. nedenlerin öne çıktığı düşünülmektedir. Pyridaben ve aynı etki mekanizması grubuna ait diğer aktif maddeler olan fenpyroximate ve tebufenpyrad arasında çapraz direnç olduğu bilinmektedir (Kim vd. 2006b, Bajda vd. 2017).

Pyridaben direnci *T. urticae* popülasyonlarında artan P450, GST enzim aktiviteleri ile birlikte, hedef yeri olan mitokondriyal kompleks I bölgesinin PSST alt ünitesinde meydana gelen H92R mutasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Niu vd. 2011, Bajda vd. 2017, Choi vd. 2020, Feng vd. 2020, Namin vd. 2020). Yaptığımız çalışmada en yüksek direnç oranı bildirilen popülasyon dahil olmak üzere hiçbir popülasyonda H92R mutasyonu tespit edilmemiştir (**Şekil 4.14**). Bu nedenle tespit edilen direncin, enzim aktivitesi ile ya da henüz ortaya çıkarılmamış bir hedef-yeri mutasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Pyridaben ile cyflumetofen ve cyenopyrafen gibi akarisitler arasında çapraz direnç olduğu bildirilmiştir (Sugimoto ve Osakabe 2014, Feng vd. 2018, Feng vd. 2020). Ülkemizde cyflumetofen aktif maddesi 2015 yılının Aralık ayında ruhsat alırken, cyenopyrafen akarisiti henüz ruhsatlı değildir (BKÜ 2020). Bu nedenle pyridabene karşı oluşan dayanıklılık tespit edilmesi halinde, *T. urticae* mücadelesinde rotasyon olarak cyflumetofen kullanılmaması gerekmektedir.

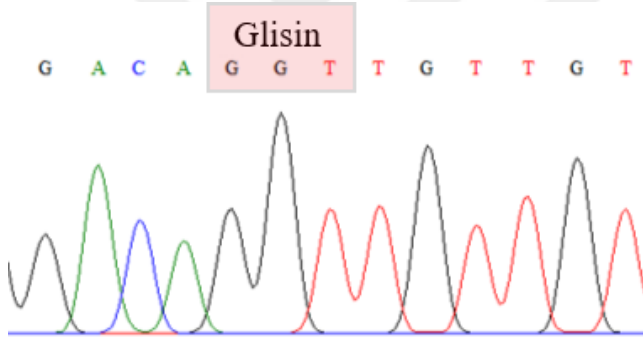


Şekil 4.14 İç Anadolu Bölgesi *Tetranychus urticae* popülasyonlarının PSST alt ünitesi aminoasit dizilimi

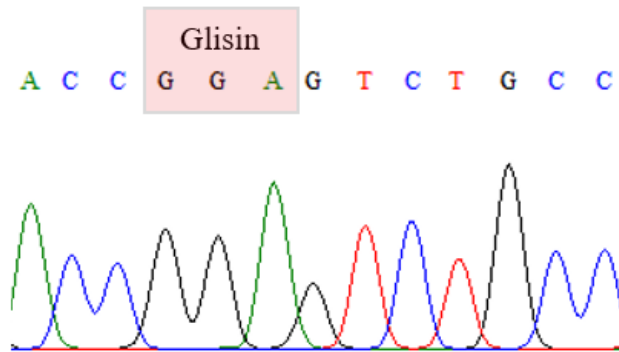
Sekans kromotografaları incelendiğinde, popülasyonlarda direnç mutasyonu tespit edilemediği için (Şekil 4. 15-Şekil 4. 17) frekans belirleme çalışmaları ve korelasyon analizi çalışmaları gerçekleştirilememiştir.



Şekil 4. 15 Pyridaben direncine karşılık gelen H92R mutasyonunun kromograf incelemesi



Şekil 4. 16 Abamectin direncine karşılık gelen GluC11 G314D mutasyonunun kromograf incelemesi



Şekil 4. 17 Abamectin direncine karşılık gelen GluC13 G326E mutasyonunun kromograf incelemesi

5. SONUÇ

Kırmızı örümcek türleri tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de en önemli tarımsal zararlı gruplardan bir tanesini oluşturmaktadır. Bu türlerin mücadelesinde biyolojik mücadele kullanımı özellikle seralarda artmasına rağmen, asıl mücadele akarisitler ile gerçekleştirilmektedir (Van Leeuwen vd. 2015). Ancak üreticiler kimyasal mücadelenin sıklıkla başarısızlıkla sonuçlandığı bildirmektedirler. Bu çalışmada kırmızı örümcek mücadelesinin ilk ve son basamağı olarak görülen, doğru teşhis ve kimyasal mücadele olanakları araştırılmıştır. Kırmızı örümceklerin morfolojik teşhisindeki zorluklar nedeniyle çoğu zaman üretici gözünden aynı tür gibi görülüp mücadele edilmektedir. Bu durum kimyasal mücadele başarısızlığının yanında üreticiye ek masraflara neden olmaktadır.

Yapılan çalışmada, mitokondriyal ve nükleer genlerin, çalışmada elde edilen kırmızı örümcek türlerinin büyük çoğunluğunu ayırt etmede başarılı olduğu ortaya konulmuştur. Elde edilen dizimlerden faydalanılarak ülkemiz ve dünyanın farklı yerlerindeki araştırmacılar akar türlerinin teşhisini ya da doğrulamasını yapabileceklerdir. Bu sayede, hızlı ve doğru bir teşhis ile zararlı mücadelesinin erken döneminde doğru bir mücadele yöntemi ortaya çıkarmak mümkün olmaktadır. Ülkemizde tespit edilen 25 tetranychid türü bulunmaktadır. Bu çalışmada 10 farklı türün DNA barkodlaması gerçekleştirilmiştir. Kalan türler için ise ileri çalışmalar yapılmalı ve ülkemiz kırmızı örümcek biyoçeşitliliği DNA yoluyla da karakterize edilmelidir.

Ek olarak, kimyasal mücadelede çok yaygın kullanılan iki akarisit olan abamectin ve pyridaben direnci ve farmakodinamik direnç mekanizması araştırılmıştır. Abamectin aktif maddesi, test edilen tüm popülasyonlarda yüksek etki göstermiştir. Ancak pyridaben uygulamasının, test edilen popülasyonların çoğunda tarla koşullarında başarısızlıkla sonuçlanacağı tespit edilmiştir. Her iki aktif madde için de, direnç yol açtığı bilinen hedef-yeri mutasyonu tespit edilmemiştir. Bu nedenle popülasyonların pyridaben direncinde metabolik direncin rol oynadığı düşünülmektedir. Son olarak, çalışmanın gerçekleştiği İç Anadolu Bölgesi'nde abamectin akarisitinin çok etkili olduğu tespit edildiğinden, *T. urticae* mücadelesinde önerilebilir.

Günümüzde teknoloji ve moleküler tekniklerin çok ilerlemesi nedeniyle biyoloji ile ilgili bilim dallarında büyük gelişmeler yaşanmıştır. Tarımsal akaroloji alanında ise birçok canlının genom ya da transkriptom verileri bulunmaktadır. Bu canlılar arasında; *Phytoseiulus persimilis*, *Neoseiulus barkeri*, *Metaseiulus occidentalis* gibi predatör akarların yanında (Hoy 2009, Cabrera vd. 2011, Ozawa vd. 2012, Hoy vd. 2013, Cong vd. 2016); *Tetranychus urticae* (Grbic vd. 2011); *Panonychus ulmi* (Bajda vd. 2016), *Panonychus citri* (Liu vd. 2011, Niu vd. 2012) gibi fitofag akarlar bulunmaktadır. Ayrıca, çok yakın tarihte *Aculops lycopersici* (Tryon) (Acari: Eriophyidae) genomu ortaya çıkartılmış ve bilinen en küçük artropod genomu ünvanına sahip olmuştur (Greenhalgh vd. 2020). Aynı grup altındaki canlılar hakkında verilerin artması, biyolojik açıdan daha detaylı ve doğru araştırma yapılmasına olanak sağlamaktadır. İleri çalışmalarda genotip-fenotip arasındaki bağlantıların daha iyi kurulması zararlı mücadele yöntemlerine ışık tutacaktır.

Özellikle akarisit direnci ile ilgili kırmızı örümcekte meydana gelen genotipik değişimler, genellikle model organizma olan *Drosophila* üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar ile doğrulanmaktaydı (Douris vd. 2016, Bajda vd. 2017, Xue vd. 2020b). Gen susturmanın (RNAi = RNA interference) yanında (Niu vd. 2018), yakın tarihte CRISPR-Cas9 gen düzenlemesinin kırmızı örümceklerde başarılı bir şekilde gerçekleştiğinin bildirilmesi (Dermauw vd. 2020), genotipik değişimlerin fenotip üzerinde meydana getirdiği değişimlerin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

Kırmızı örümcek mücadelesinde uygun direnç yönetim programları geliştirilmeli ve uygulanmalıdır. Direnç genlerinin frekansını düşürmek ve sürdürülebilir başarılı bir zararlı mücadelesi için, alternatif mücadele yöntemleri mutlaka entegre bir şekilde kullanılmalıdır. Biyolojik mücadelede kullanılan predatör akarların kırmızı örümceklerin kontrolündeki başarısı göz önüne alındığında, özellikle örtüaltı yetiştiricilik yapılan alanlarda kullanımının artırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Adesanya, A. W., Cardenas, A., Lavine, M. D., Walsh, D. B., Lavine, L. C., & Zhu, F. (2020). RNA interference of NADPH-Cytochrome P450 reductase increases susceptibilities to multiple acaricides in *Tetranychus urticae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 165, 104550.
- Anonymous 2020. Web Sitesi: <https://www.syngentaornamentals.co.uk/spider-mite-life-cycle>, Erişim Tarihi: 15.02.2021
- Anonymous 2021. Web Sitesi: <http://nrcb.res.in/album/Oriental%20red%20mite%2C%20Eutetranychus%20orientalis/index.html>, Erişim Tarihi: 11.03.2021
- Arabuli, T., Negm, M. W., Matsuda, T., Kitashima, Y., Abramishvili, T., Akimov, I. A., Zhovnerchuk, O.V., Popov, S.Y. and Gotoh, T. 2019. Morphological identification of *Amphitetranychus* species (Acari: Tetranychidae) with crossbreeding, esterase zymograms and DNA barcode data. *Plos one*, 14(9), e0221951.
- Auger, P., Migeon, A. and Flechtmann, C.H.W. 2003. A new species of *Eotetranychus* from France (Acari, Prostigmata: Tetranychidae). *Zootaxa*, 206(1), 1-7.
- Auger, P., Migeon, A., Ueckermann, E.A., Tiedt, L. and Navajas, M. 2013. Evidence for synonymy between *Tetranychus urticae* and *Tetranychus cinnabarinus* (Acari, Prostigmata, Tetranychidae): review and new data. *Acarologia*, 2013, 53(4), 383-415.
- Ay, R., Sökeli, E., Karaca, I. and Gürkan, M.O. 2005. Response to some acaricides of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) from protected vegetables in Isparta. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29(3), 165-171.
- Bajda, S., Dermauw, W., Greenhalgh, R., Nauen, R., Tirry, L., Clark., R.M. and Van Leeuwen, T. 2016. Transcriptome profiling of a spiroticlofen 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. and Van Leeuwen, T. 2017. A mutation in the PSST homologue of complex I (NADH: ubiquinone oxidoreductase) from *Tetranychus urticae* is associated with resistance to METI acaricides. *Insect biochemistry and molecular biology*, 80, 79-90.
- Beers, E.H., Riedl, H. and Dunley, J.E. 1998. Resistance to abamectin and reversion to susceptibility to fenbutatin oxide in spider mite (Acari: Tetranychidae) populations in the Pacific Northwest. *Journal of Economic Entomology*, 91(2), 352-360.

- Ben-David, T., Melamed, S., Gerson, U. and Morin, S. 2007. ITS2 sequences as barcodes for identifying and analyzing spider mites (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology*, 41(3), 169-181.
- BKÜ 2020. Bitki Koruma Ürünleri Veri Tabanı. Web Sitesi: <https://bku.tarimorman.gov.tr/>. Erişim tarihi: 20.12.2020
- Bryon, A., Kurlavs, A.H., Van Leeuwen, T. and Clark, R.M. 2017. A molecular-genetic understanding of diapause in spider mites: current knowledge and future directions. *Physiological Entomology*, 42(3), 211-224.
- Cabrera, A.R., Donohue, K.V., Khalil, S.M.S., Scholl, E., Opperman, C., Sonenshine, D.E., Roe, R.M. 2011. New approach for the study of mite reproduction: The first transcriptome analysis of a mite, *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *Journal of Insect Physiology*, 57(1):52–61.
- Çağatay N.S., Menault P., Riga M., Vontas J., Ay, R., 2018. Identification and characterization of abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch populations from greenhouses in Turkey. *Crop Protection*, 112, 112– 117.
- Chetverikov, P.E., Cvrković, T., Makunin, A., Sukhareva, S., Vidović, B. and Petanović, R. 2015. Basal divergence of Eriophyoidea (Acariformes, Eupodina) inferred from combined partial COI and 28S gene sequences and CLSM genital anatomy. *Experimental and Applied Acarology*, 67(2), 219-245.
- Choi, C.W., Shim, J.K., Jung, D.O. and Lee, K.Y. 2018. Genetic variation of the hawthorn spider mite *Amphitetranynchus viennensis* (Acari: Tetranychidae) in Korea. *Entomological Research*, 48(3), 165-173.
- Choi, J., Koo, H.N., Kim, S.I., Park, B., Kim, H. and Kim, G.H. 2020. Target-Site Mutations and Glutathione S-Transferases Are Associated with Acequinocyl and Pyridaben Resistance in the Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Insects*, 11(8), 511.
- Clotuche, G., Mailleux, A.C., Fernandez, A.A., Deneubourg, J.L., Detrain, C. and Hance, T. 2011. The formation of collective silk balls in the spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *PloS One*, 6(4), e18854.
- Clotuche, G., Navajas, M., Mailleux, A. C. and Hance, T. 2013. Reaching the ball or missing the flight? Collective dispersal in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *PLoS One*, 8(10), e77573.
- Cloyd, R.A. 2010. Pest management, Broad mites. (Web sayfası: http://www.oardc.ohio-state.edu/floriculture/images/10-10_Mites.pdf), (Erişim tarihi: 15.08.2019).
- Cong, L., Chen, F., Yu, S., Ding, L., Yang, J., Luo, R., Tian, H., Li, H., Liu, H. and Ran, C. 2016. Transcriptome and difference analysis of fenpropathrin resistant predatory mite, *Neoseiulus barkeri* (Hughes). *IJMS*. 17(6):704.

- Cranham, J.E. 1972. Influence of temperature on hatching of winter eggs of fruit-tree red spider mite, *Panonychus ulmi* (Koch). *Annals of Applied Biology*, 70(2), 119-137.
- Cruickshank R.H. 2002. Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. *Systematic and Applied Acarology*, 7(1), 3–14.
- Çobanoğlu, S., Erdoğan, T. and Yeşilayer, A. 2014. Türkiye’de *Buxus sempervirens* L.(Buxaceae) ve *Cupressus macrocarpa* Hartw.(Cupressaceae) üzerinde yeni kayıt zararlı bir akar; *Eurytetranychus buxi* (Garman)(Acari: Tetranychidae). *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 4(2), 97-105.
- Çobanoğlu, S., Ueckermann, E.A. and Kumral, N.A. 2015. A new *Tetranychus* Dufour (Acari: Tetranychidae) associated with solanaceae from Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 39(4), 565-570.
- Dabert, M. 2006. DNA markers in the phylogenetics of the Acari. *Biological Letters*, 43(2), 97–107.
- de la Fuente, J. 2003. The fossil record and the origin of ticks (Acari: Parasitiformes: Ixodida). *Experimental and applied acarology*, 29(3-4), 331-344.
- Deml, M. 2013. Web Sitesi: <https://www.biolib.cz/en/image/id211055>, Erişim tarihi: 10.03.2021
- de Mendonça, R.S., Navia, D., Diniz, I.R., Auger, P. and Navajas, M. 2011. A critical review on some closely related species of *Tetranychus* sensu stricto (Acari: Tetranychidae) in the public DNA sequences databases. *Experimental and Applied Acarology*, 55(1), 1-23.
- Dermauw, W. and Van Leeuwen, T. 2014. The ABC gene family in arthropods: comparative genomics and role in insecticide transport and resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 45: 89-110.
- Dermauw, W., Ilias, A., Riga, M., Tsagkarakou, A., Grbić, M., Tirry, L., Van Leeuwen, T. and Vontas, J. 2012. The cys-loop ligand-gated ion channel gene family of *Tetranychus urticae*: implications for acaricide toxicology and a novel mutation associated with abamectin resistance. *Insect biochemistry and molecular biology*, 42(7), 455-465.
- Dermauw, W., Wybouw, N., Rombauts, S., Menten, B., Vontas, J., Grbić, M., Clark, R.M., Feyereisen, R. and Van Leeuwen, T. 2013. A link between host plant adaptation and pesticide resistance in the polyphagous spider mite *Tetranychus urticae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(2), E113-E122.
- Dermauw, W., Jonckheere, W., Riga, M., Livadaras, I., Vontas, J. and Van Leeuwen, T. 2020. Targeted mutagenesis using CRISPR-Cas9 in the chelicerate herbivore *Tetranychus urticae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 103347.

- Devine, G.J., Barber, M. and Denholm, I. 2001. Incidence and inheritance of resistance to METI-acaricides in European strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*)(Acari: Tetranychidae). Pest Management Science: formerly Pesticide Science, 57(5), 443-448.
- dos Santos V.V. and Tixier, M.S. 2016. Which molecular markers for assessing which taxonomic level? The case study of the mite family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). Cladistics 33(3):251–267.
- dos Santos, V.V. and Tixier, M.S. 2017. Which molecular markers for assessing which taxonomic level? The case study of the mite family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata). Cladistics, 33(3), 251-267.
- Douris, V., Steinbach, D., Panteleri, R., Livadaras, I., Pickett, J. A., Van Leeuwen, T., Nauen, R. and Vontas, J. 2016. Resistance mutation conserved between insects and mites unravels the benzoylurea insecticide mode of action on chitin biosynthesis. Proceedings of the National Academy of Sciences, 113(51), 14692-14697.
- Döker, İ., Karut, K., Karaca, M.M., Cargnus, E. and Kazak, C. 2018. Internal Transcribed Spacer (ITS) sequences of some *Kampimodromus* (Acari: Phytoseiidae) species: Is *Kampimodromus ragusai* a valid species or a synonym of *Kampimodromus aberrans*? Systematic and Applied Acarology, 23(11), 2237-2243.
- Döker, İ., Revynthi, A.M., Mannion, C. and Carrillo, D. 2020. First report of acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from south Florida. Systematic and Applied Acarology, 25(7), 1209-1214.
- Dunlop, J.A. 2010. Geological history and phylogeny of Chelicerata. Arthropod structure & development, 39(2-3), 124-142.
- Dunlop, J.A. and Selden, P.A. 2009. Calibrating the chelicerate clock: a paleontological reply to Jeyaprakash and Hoy. Experimental and Applied Acarology, 48(3), 183.
- Duzgunes, Z.,1952. Citrus mites in Turkey. Bitki Koruma Bulteni, 1: 6-11.
- Düzgüneş Z (1962). Pamuk akarları (kırmızı örümcekler). Türkiye Ziraatına Zararlı Olan Böcekler ve Mücadelesi 6: 70–77.
- Duzgunes, Z. 1965. The variation in the peritreme of the genus *Eotetranychus* Oud.. Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura, 7: 15-18.
- Düzgüneş, Z. 1954. Orta Anadoluda Meyve Ağaçlarına Zarar Veren Tetranychidae Familyası Türleri Üzerinde Sistematik ve Biyolojik Çalışmalar ve Mücadele Denemeleri. Ziraat Vekaleti Neşriyat ve Haberleşme Müdürlüğü, 706
- Düzgüneş, Z. 1959. *Tetranychus tumidellus* “Yer-fıstığı akarı”. Bitki Koruma Bülteni 1: 10–14

- Düzgüneş, Z. 1961. Akdiken Akari. *Tetranychus viennensis* Zache. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi yilligi, 26: 389-396.
- Düzgüneş, Z. 1963. Türkiyede Yeni Bulunan Akarlar. Bitki Koruma Bulteni (N. S.), 3: 237-246.
- 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.
- Ecevit, O. 1977. *Oligonychus coniferarum* (Mcgregor) Acarina: Tetranychidae) Üzerinde Morfolojik Çalışmaları. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 8(1).
- Eyndhoven, G.L.V. and Vacante, V. 1985. The Berlese-Group of the genus *Bryobia* Koch (Acari, Tetranychidae). Redia, 68: 377-437.
- Feng, K., Wen, X., He, X., Wei, P., Shi, L., Yang, Y. and He, L. 2018. Resistant inheritance and cross-resistance of cyflumetofen in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). Pesticide biochemistry and physiology, 148, 28-33.
- Feng, K., Ou, S., Zhang, P., Wen, X., Shi, L., Yang, Y., Hu, Y., Zhang, Y., Shen, G., Xu, Z. and 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. and 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.
- Feyereisen, R. 1995. Molecular biology of insecticide resistance. Toxicological letters, 82/83: 83-90.
- Feyereisen, R., Dermauw, W. and Van Leeuwen, T. 2015. Genotype to phenotype, the molecular and physiological dimensions of resistance in arthropods. Pesticide biochemistry and physiology, 121, 61-77.
- Fisher, M.H. and Mrozik, H. 1989. Chemistry in ivermectin and abamectin. In: Campbell WC (ed) ivermectin and abamectin. Springer, 323 pp, New York.
- Fournier, D., Bride, J.M. and Navajas, M. 1994. Mitochondrial DNA from a spider mite: isolation, restriction map and partial sequence of the cytochrome oxidase subunit I gene. Genetica, 94(1), 73-75.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S. and Hurst, G.D.D. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. Molecular ecology, 18(22), 4541-4550.
- Gerson, U., Smiley, R.L. and Ochoa, R. 2003. Mites (Acari) for pest control. Blackwell Science, 539 pp, UK

- Gordh, G. and Headrick, D. 2011. A dictionary of entomology. CABI, 1526 pp, UK.
- Gott, R.C., Kunkel, G.R., Zobel, E.S., Lovett, B.R. and Hawthorne, D.J. 2017. Implicating ABC transporters in insecticide resistance: research strategies and a decision framework. *Journal of Economic Entomology*, 110(2), 667-677.
- Gokce, M.P., Karagoz, M., Faraji, F. and Cakmak, I. 2020. Mite species composition and their population densities on chestnut trees in Turkey. *International Journal of Acarology*, 1-7.
- Grbic, M., Van Leeuwen, T., Clark, R.M., Rombauts, S., Rouze, P., Grbic, V., Osborne, E.J., Dermauw, W., Cao Thi Ngoc, P., Ortego, F., Hernandez-Crespo, P., Diaz, I., Martinez, M., Navajas, M., Sucena, E., Magalhães, S., Nagy, L., Pace, R.M., Djuranovic, S., Smagghe, G., Iga, M., Christiaens, O., Veenstra, J.A., Ewer, J., Mancilla Villalobos, R., Hutter, J.L., Hudson, S.D., Velez, M., Yi, S.V., Zeng, J., Pires-daSilva, A., Roch, F., Cazaux, M., Navarro, M., Zhurov, V., Acevedo, G., Bjelica, A., Fawcett, J.A., Bonnet, E., Martens, C., Baele, G., Wissler, L., Sanchez-Rodriguez, A., Tirry, L., Blais, C., De-meestere, K., Henz, S.R., Gregory, T.R., Mathieu, J., Verdon, L., Farinelli, L., Schmutz, J., Lindquist, E., Feyereisen, R. and Van de Peer, Y. 2011. The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. *Nature*, 479, 487–492.
- Greenhalgh, R., Dermauw, W., Glas, J. J., Rombauts, S., Wybouw, N., Thomas, J., Alba, J.M., Pritham, E.J., Legarra, S., Feyereisen, R., Van de Peer, Y., Van Leeuwen, T., Clark, R.M. and Kant, M.R. 2020. Genome streamlining in a minute herbivore that manipulates its host plant. *Elife*, 9, e56689.
- Guedes, R.N.C. 2017. Insecticide resistance, control failure likelihood and the First Law of Geography. *Pest Management Science*, 73(3), 479-484.
- Hall, T.A. 1999 BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41:95–98.
- Hatzinikolis, E.N. and Emmanouel, N.G. 1991. A Revision of the Genus *Bryobia* in Greece (Acari: Tetranychidae). *Entomologia Hellenica*, 9, 21-34.
- He, L., Zhimo, Z., Xinping, D., Jinjun, W. and Yinghong, L. 2002. Selection and risk assessment of resistance to fenpropathrin, abamectin and pyridaben in *Tetranychus cinnabarinus*. *Acta Entomologica Sinica*, 45(5), 688-692.
- He, L., Gao, X., Wang, J., Zhao, Z. and Liu, N. 2009a. Genetic analysis of abamectin resistance in *Tetranychus cinnabarinus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 95(3), 147-151.
- He L., Xue C.H., Wang J.J., Li M., Lu W.C., Zhao Z.M. 2009b. Resistance selection and biochemical mechanism of resistance to two Acaricides in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval), *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93, 47–52.

- Hebert, P.D., Ratnasingham, S. and De Waard, J.R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(suppl_1), S96-S99.
- Helle, W. and Sabelis, M.W. 1985. Spider mites: their biology, natural enemies and control. Elsevier, 458 pp, Amsterdam.
- Hinomoto, N. and Takafuji, A. 2001. Genetic diversity and phylogeny of the Kanzawa spider mite, *Tetranychus kanzawai*, in Japan. *Experimental and applied acarology*, 25(5), 355-370.
- Hinomoto, N., Osakabe, M., Gotoh, T. and Takafuji, A. 2001. Phylogenetic analysis of green and red forms of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), in Japan, based on mitochondrial cytochrome oxidase subunit I sequences. *Applied entomology and zoology*, 36(4), 459-464.
- Hinomoto, N., Tran, D.P., Pham, A.T., Ngoc Le, T.B., Tajima, R., Ohashi, K., Osakabe, M. and Takafuji, A. 2007. Identification of spider mites (Acari: Tetranychidae) by DNA sequences: a case study in Northern Vietnam. *International Journal of Acarology*, 33(1), 53-60.
- Hoy, M.A. 2009. The predatory mite *Metaseiulus occidentalis*: mitey small and mitey large genomes. *Bioessays*. 31(5):581–590
- Hoy, M.A. 2011. *Agricultural acarology: introduction to integrated mite management*. CRC press, 430 pp, Boca Raton.
- Hoy, M.A., Yu, F., Meyer, J.M., Tarazona, O.A., Jeyaparakash, A. and Wu, K.. 2013. Transcriptome sequencing and annotation of the predatory mite *Metaseiulus occidentalis* (Acari: Phytoseiidae): a cautionary tale about possible contamination by prey sequences. *Experimental and Applied Acarology*, 59(3): 283–296.
- Ilias, A., Vontas, J. and Tsagkarakou, A. 2014. Global distribution and origin of target site insecticide resistance mutations in *Tetranychus urticae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 48:17–28.
- Ilias, A., Vassiliou, V. A., Vontas, J. and Tsagkarakou, A. 2017. Molecular diagnostics for detecting pyrethroid and abamectin resistance mutations in *Tetranychus urticae*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 135, 9-14.
- İnak, E. ve Çobanoğlu, S. 2016. Akarisitler ve etki mekanizmaları. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 6(4), 371-382.
- İnak, E. ve Cobanoğlu, S. 2018 Akarlarda direnç mekanizmaları. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 8(3), 61-75.
- İnak, E., Özdemir, E., Alpkent, Y. N., İnak, A. and Özkan, C. 2019a. Entegre zararlı yönetimi ve gelişmekte olan ülkelerdeki durumu. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 23(1), 120-130.

- İnak, E., AlpKent, Y.N., Çobanoğlu, S., Dermauw, W. and Van Leeuwen, T. 2019b. 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.
- İnak, E., Çobanoğlu, S., Sade, E. and Tixier, M.S. 2020. Molecular characterization of phytoseiid mites in Turkey based on the internal transcribed spacer (ITS) region, with a new record for the country. *Experimental and Applied Acarology*, 81, 201–213.
- Ito, K. and Fukuda, T. 2009. Molecular phylogeny of *Stigmaeopsis* spider mites (Acari: Tetranychidae) based on the Cytochrome Oxidase subunit I (COI) region of mitochondrial DNA. *Applied Entomology and Zoology*, 44(3), 343-355.
- Jeppson, L.R., Keifer, H.H. and Baker, E.W. 1975. Mites injurious to economic plants. Univ of California Press, 614 pp, California.
- Jeyaparakash, A. and Hoy, M.A. 2009. First divergence time estimate of spiders, scorpions, mites and ticks (subphylum: Chelicerata) inferred from mitochondrial phylogeny. *Experimental and Applied Acarology*, 47(1), 1-18.
- Katoh, K., Rozewicki, J. and Yamada, K.D. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in bioinformatics*, 20(4), 1160-1166.
- Kazak, C., Döker, İ. and Karut, K. 2017. First record of invasive tomato spider mite *Tetranychus evansi* (Acari: Tetranychidae) in Turkey. *International Journal of Acarology*, 43(4), 325-328.
- Kennedy, C.J. and Tierney, K.B. 2013. Xenobiotic protection/resistance mechanisms in organisms. In: *Environmental Toxicology*. Laws, E.A. (eds), Springer, 689-721, New York
- Keskin, E. ve Atar, H.H. 2013. DNA barkodlama: mitokondriyal COI geni kullanılarak moleküler tanımlama. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 6(2), 01-08.
- Khajehali, J., Van Nieuwenhuyse, P., Demaeght, P., Tirry, L. and Van Leeuwen, T. 2011. Acaricide resistance and resistance mechanisms in *Tetranychus urticae* populations from rose greenhouses in the Netherlands. *Pest management science*, 67(11), 1424-1433.
- Kim, Y.J., Park, H.M., Cho, J.R. and Ahn, Y.J. (2006a). Multiple resistance and biochemical mechanisms of pyridaben resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of economic entomology*, 99(3), 954-958.
- Kim, M., Sim, C., Shin, D., Suh, E. and Cho, K. (2006b). Residual and sublethal effects of fenpyroximate and pyridaben on the instantaneous rate of increase of *Tetranychus urticae*. *Crop Protection*, 25(6), 542-548.

- Knapp, M., van Houten, Y., van Baal, E. and Groot, T. 2018. Use of predatory mites in commercial biocontrol: current status and future prospects. *Acarologia*, 58, 72-82.
- Koh, S.H., Ahn, J., Im, J.S., Jung, C., Lee, S.H. and 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.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547-1549.
- Kwon, D.H., Seong, G.M., Kang, T.J. and Lee, S.H. 2010. Multiple resistance mechanisms to abamectin in the two-spotted spider mite. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 13(3), 229-232.
- Kwon, D.H., Yoon, K.S., Clark, J.M. and Lee, S.H. 2010b. A point mutation in a glutamate-gated chloride channel confers abamectin resistance in the two-spotted spidermite, *Tetranychus urticae* Koch. *Insect Molecular Biology*, 19:583–591.
- Larsen, N.B., Rasmussen, M. and Rasmussen, L.J. 2005. Nuclear and mitochondrial DNA repair: similar pathways?. *Mitochondrion*, 5(2), 89-108.
- Lee, Y.S., Song, M.H., Ahn, K.S., Lee, K.Y., Kim, J.W. and 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.
- Letunic, I. and Bork, P. 2019. Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. *Nucleic acids research*, 47(W1), W256-W259.
- Li, G.Q., Xue, X.F., Zhang, K.J. and 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.
- Liu, B., Jiang, G., Zhang, Y., Li, J., Li, X., Yue, J., Chen, F., Liu, H., Li, H., Zhu, S., Wang, J. And Ran, C. 2011. Analysis of transcriptome differences between resistant and susceptible strains of the citrus red mite *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae). *PLoS One* 6:e28516
- Lynagh, T. and Lynch, J.W. 2012 Ivermectin binding sites in human and invertebrate Cys-loop receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, 33(8):432–441
- Matsuda, T., Fukumoto, C., Hinomoto, N. and 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.
- Matsuda, T., Morishita, M., Hinomoto, N. and Gotoh, T. 2014. Phylogenetic analysis of the spider mite sub-family Tetranychinae (Acari: Tetranychidae) based on the

- mitochondrial COI gene and the 18S and the 5' end of the 28S rRNA genes indicates that several genera are polyphyletic. PloS one, 9(10), e108672.
- Matsuda, T., Kozaki, T., Ishii, K and Gotoh, T. 2018. Phylogeny of the spider mite sub-family Tetranychinae (Acari: Tetranychidae) inferred from RNA-Seq data. PloS one, 13(9), e0203136.
- Memarizadeh, N., Ghadamyari, M., Zamani, P. and 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. and Van Leeuwen, T. 2017. A G326E substitution in the glutamated chloride channel 3 (GluCl3) of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* abolishes the agonistic activity of macrocyclic lactones. Pest Management Science, 73(12):2413–2418.
- Merzendorfer, H. 2014. ABC transporters and their role in protecting insects from pesticides and their metabolites. In Advances in Insect Physiology. Cohen, E. (eds), Academic Press, (46, 1-72), USA.
- Migeon, A. and Dorkeld, F. 2020. Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae. Web sitesi: <http://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb>. Erişim Tarihi: 23.12.2020
- Mirza, J.H., Kamran, M., Saleh, A.A. and Alatawi, F.J. 2020. Molecular and phenotypic variations in *Eutetranychus orientalis* (Klein) populations from Saudi Arabia. PloS one, 15(5), e0233389.
- Mitchell, R. 1972. The sex ratio of the spider mite *Tetranychus urticae*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 15, 299–304.
- Monteiro, V.B., Gondim Jr, M.G., Oliveira, J.E.D.M., Siqueira, H.A. and 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.
- Mota-Sanchez, D. and J.C. Wise. 2020. The Arthropod Pesticide Resistance Database. Web sitesi: www.pesticideresistance.org. Erişim tarihi: 10.11.2020
- Namin, H.H., Zhurov, V., Spenler, J., Grbić, M., Grbić, V. and 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.
- Navajas, M., Cotton, D., Kreiter, S. and Gutierrez, J. 1992. Molecular approach in spider mites (Acari: Tetranychidae): preliminary data on ribosomal DNA sequences. Experimental and Applied Acarology, 15:211–218.
- Navajas, M., Gutierrez, J., Lagnel, J. and Boursot, P. 1996. Mitochondrial cytochrome oxidase I in tetranychid mites: a comparison between molecular phylogeny and

- changes of morphological and life history traits. *Bulletin of Entomological Research*, 86(4), 407-417.
- Navajas, M., Lagnel, J., Gutierrez, J. and Boursot, P. 1998. Species-wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial COI polymorphism. *Heredity*, 80(6), 742-752.
- Navajas, M., Gutierrez, J., Lagnel, J., Fauvel, G. and Gotoh, T. 1999. DNA sequences and cross-breeding experiments in the hawthorn spider mite *Amphitetranychus viennensis* reveal high genetic differentiation between Japanese and French populations. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 90(2), 113-122.
- Navajas, M., Fenton, B. 2000. The application of molecular markers in the study of diversity in acarology: a review. *Experimental and Applied Acarology*, 24(10-11):751-774.
- Navajas, M., Gutierrez, J., Williams, M. and 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.
- Navajas, M. and Boursot, P. 2003. Nuclear ribosomal DNA monophyly versus mitochondrial DNA polyphyly in two closely related mite species: the influence of life history and molecular drive. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(suppl_1), S124-S127.
- Nicastro, R.L., Sato, M.E. and 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.
- Niu, J.Z., Liu, G.Y., Dou, W. and 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.
- Niu, J.Z., Dou, W., Ding, T.B., Shen, G.M., Zhang, K., Smagghe, G. and Wang, J.J. 2012. Transcriptome analysis of the citrus red mite, *Panonychus citri*, and its gene expression by exposure to insecticide/acaricide. *Insect Molecular Biology*, 21:422-36
- Niu, J., Shen, G., Christiaens, O., Smagghe, G., He, L. and Wang, J. 2018. Beyond insects: current status and achievements of RNA interference in mite pests and future perspectives. *Pest Management Science*, 74(12), 2680-2687.
- Ozawa, R., Nishimura, O., Yazawa, S., Muroi, A., Takabayashi, J. and Arimura, G. 2012. Temperature-dependent, behavioural, and transcriptional variability of a tritrophic interaction consisting of bean, herbivorous mite, and predator. *Molecular Ecology*, 21(22):5624-5635.

- Ozman, S.K. and Cobanoglu, S. 2001. Current status of hazelnut mites in Turkey. *Acta Horticulturae*, 479-487.
- Önuçar, A. ve Ulu, O. 1988. Kestane ağaçlarında bulunan akar türleri hakkında kısa bilgiler. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 12(1), 33-38.
- Pavlidis, N., Tseliou, V., Riga, M., Nauen, R., Van Leeuwen, T., Labrou, N.E. and 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., Bull, J., Morales, M.A., Lavigne, L.C., Walsh, D.B., Zhu, F. 2015 Molecular mechanisms of *Tetranychus urticae* chemical adaptation in hop fields. *Scientific Reports*, 5:17090.
- Pritchard, A.E. and Baker, E.W. 1955. A Revision of the spider mite family Tetranychidae. Pacific Coast Entomological Society, 472 pp, California.
- Ratnasingham, S. and Hebert, P.D. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Molecular ecology notes*, 7(3), 355-364.
- Ridsdill-Smith, T.J., Hoffmann, A.A., Mangano, G.P., Gower, J.M., Pavri, C.C. and Umina, P.A. 2008. Strategies for control of the redlegged earth mite in Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(12), 1506-1513.
- Riga, M., Bajda, S., Themistokleous, C., Papadaki, S., Palzewicz, M., Dermauw, W., Vontas, J. and 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.
- Riga, M., Tsakireli, D., Ilias, A., Morou, E., Myridakis, A., Stephanou, E. G., Nauen, R., Dermauw, W., Van Leeuwen, T., Paine, M. and 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.
- Rodrigues, L.R., Figueiredo, A.R., Van Leeuwen, T., Olivieri, I. and Magalhães, S. 2020. Costs and benefits of multiple mating in a species with first-male sperm precedence. *Journal of Animal Ecology*, 89(4), 1045-1054.
- Ros, V.I. and Breeuwer, J.A. 2007. Spider mite (Acari: Tetranychidae) mitochondrial COI phylogeny reviewed: host plant relationships, phylogeography, reproductive parasites and barcoding. *Experimental and Applied Acarology*, 42(4), 239-262.
- Ros, V.I., Breeuwer, J.A. and Menken, S.B. 2008. Origins of asexuality in *Bryobia* mites (Acari: Tetranychidae). *BMC Evolutionary Biology*, 8(1), 153.
- Saito, Y. 2009. Plant mites and sociality: diversity and evolution. Springer, 187 pp, Japan.

- Sakamoto, H., Suzuki, R., Nishizawa, N., Matsuda, T. and Gotoh, T. 2019. Effects of Wolbachia/Cardinium Infection on the Mitochondrial Phylogeny of *Oligonychus castaneae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 112(2), 883-893.
- Sato, M.E., Silva, M.Z.D., Raga, A. and 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.
- Seeman, O.D. and Beard, J.J. 2011. Identification of exotic pest and Australian native and naturalised species of *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae). *Zootaxa*, 2961(1), 1-72.
- Snoeck, S., Greenhalgh, R., Tirry, L., Clark, R. M., Van Leeuwen, T. and Dermauw, W. 2017. The effect of insecticide synergist treatment on genome-wide gene expression in a polyphagous pest. *Scientific reports*, 7(1), 1-12.
- Solmaz, E., Çevik, B. and 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.
- Stumpf, N. and Nauen, R. 2001. Cross-resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 94(6), 1577-1583.
- Stumpf, N. and Nauen, R. 2002. Biochemical markers linked to abamectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 72(2), 111-121.
- Sugimoto, N. and 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.
- Suh, E., Koh, S.H., Lee, J.H., Shin, K.I. and Cho, K. 2006. Evaluation of resistance pattern to fenpyroximate and pyridaben in *Tetranychus urticae* collected from greenhouses and apple orchards using lethal concentration-slope relationship. *Experimental and applied acarology*, 38(2-3), 151-165.
- Tamura, K. 1992. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+ C-content biases. *Molecular Biology and Evolution*, 9(4), 678-687.
- Tirello, P., Pozzebon, A., Cassanelli, S., Van Leeuwen, T. and Duso, C. 2012. Resistance to acaricides in Italian strains of *Tetranychus urticae*: toxicological and enzymatic assays. *Experimental and applied acarology*, 57(1), 53-64.
- Vacante, V. 2010. Citrus mites: identification, bionomy and control. CABI, 392 pp, UK.

- Van Leeuwen, T. and Dermauw, W. 2016. The molecular evolution of xenobiotic metabolism and resistance in chelicerate mites. *Annual review of entomology*, 61: 475-498.
- Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A. and Tirry, L. 2009. Mechanisms of acaricide resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. In: *Biorational control of arthropod pests*, Ishaaya, I. and Horowitz, A. R. (eds), Springer, 347-393, Dordrecht.
- Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A., Dermauw, W. and Tirry, L. 2010. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: a review. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 40(8): 563-572.
- Van Leeuwen, T., Tirry, L., Yamamoto, A., Nauen, R. and Dermauw, W. 2015. The economic importance of acaricides in the control of phytophagous mites and an update on recent acaricide mode of action research. *Pesticide biochemistry and physiology*, 121, 12-21.
- Van Pottelberge, S., Van Leeuwen, T., Nauen, R. and Tirry, L. 2009. Resistance mechanisms to mitochondrial electron transport inhibitors in a field-collected strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Bulletin of entomological research*, 99(1), 23.
- Vassiliou, V.A. and Kitsis, P. 2013. Acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) populations from Cyprus. *Journal of Economic Entomology*, 106(4), 1848-1854.
- Walter, D.E. and Proctor, H.C. 2013. *Mites: ecology, evolution, and behaviour*. Springer, 494 pp, Netherlands.
- Wang, M.Y., Liu, X.Y., Shi, L., Liu, J.L., Shen, G.M., Zhang, P., Lu, W.C. and He, L. 2020. Functional analysis of UGT201D3 associated with abamectin resistance in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). *Insect Science*, 27(2), 276-291.
- Wolstenholme, A.J. 2012. Glutamate-gated chloride channels. *Journal of Biological Chemistry*, 287(48):40232–40238.
- Wu, M., Adesanya, A. W., Morales, M. A., Walsh, D. B., Lavine, L. C., Lavine, M. D. and Zhu, F. 2019. Multiple acaricide resistance and underlying mechanisms in *Tetranychus urticae* on hops. *Journal of Pest Science*, 92(2), 543-555.
- Xie, L., Hong, X.Y. and Xue, X.F. 2006. Population genetic structure of the twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from China. *Annals of the Entomological Society of America*, 99(5), 959-965.
- Xie, L., Xie, R.R., Zhang, K.J. and 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, Z., Shi, L., Peng, J., Shen, G., Wei, P., Wu, Q. and He, L. 2016. Analysis of the relationship between P-glycoprotein and abamectin resistance in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 129, 75-82.
- Xu, Z., Liu, Y., Wei, P., Feng, K., Niu, J., Shen, G., Lu, W., Xiao, W., Wang, J., Smagghe G.J., Xu, Q. and He, L. 2017. High gamma-aminobutyric acid contents involved in abamectin resistance and predation, an interesting phenomenon in spider mites. *Frontiers in Physiology*, 8, 216.
- Xu, D., He, Y., Zhang, Y., Xie, W., Wu, Q. and 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., Liu, P., Hu, Y., Hu, J., Qi, C., Wu, Q. and He, L. 2019. Characterization of an Intradiol Ring-Cleavage Dioxygenase Gene Associated With Abamectin Resistance in *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 112(4), 1858-1865.
- Xu, Z., Hu, Y., Hu, J., Qi, C., Zhang, M., Xu, Q. and 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.
- Xue, W., Snoeck, S., Njiru, C., Inak, E., Dermauw, W. and Van Leeuwen, T. 2020a. Geographical distribution and molecular insights into abamectin and milbemectin cross-resistance in European field populations of *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science*, 76, 2569-2581.
- Xue, W., Mermans, C., Papapostolou, K. M., Lamprousi, M., Christou, I. K., Inak, E., Douris, V., Vontas, J., Dermauw, W. and Van Leeuwen, T. 2020b. Untangling a Gordian knot: the role of a GluCl3 I321T mutation in abamectin resistance in *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science*.
- Yalçın, K., Döker, İ. and Kazak, C. 2018. Acaricide resistance in *Tetranychus urticae* red form (Acari: Tetranychidae) collected from strawberry in southern Turkey: Bioassay and biochemical studies. *Systematic and Applied Acarology*, 23(12), 2279-2287.
- Yanar, D. ve Ecevit, O. 2005. Tokat ilinde elma (*Malus communis* L.) bahçelerinde görülen bitki zararlısı ve predatör akar türleri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 20(1), 18-23.
- Yorulmaz, S. and 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. ve Ay, R. 2010. Akar ve böceklerde pestisitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan enzimler. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24(2): 137-148.

- Yüksel, B ve Ulusoy, H. 2000. Doğu Karadeniz Bölgesinde ladin örücü akarı (*Oligonychus ununguis* Jacobi)'nin zararı ve mücadelesi. Orman Mühendisliği, 36(9), 28-31.
- Zélé, F., Weill, M. and Magalhães, S. 2018. Identification of spider-mite species and their endosymbionts using multiplex PCR. Experimental and Applied Acarology, 74(2), 123-138.
- Zhang, Z.Q. 2003. Mites of greenhouses: identification, biology and control. CABI Publishing, 244 pp, UK.
- Zhu, X. J., Lu, W. C., Feng, Y. N. and He, L. 2010. High γ -aminobutyric acid content, a novel component associated with resistance to abamectin in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). Journal of insect physiology, 56(12), 1895-1900.

