

Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)'nin Değişik Populasyonlarının İki Selektif Akarisite Karşı Duyarlılıkları ve Duyarlılık Mekanizmaları Üzerinde Araştırmalar

Recep AY¹

M. Oktay GÜRKAN²

Geliş Tarihi: 07.02.2005

Öz: Adana, Antalya, İzmir ve Urfa'dan pamuk üzerinden toplanan 9 farklı *Tetranychus urticae* Koch populasyonunun iki selektif akarisite (dicofol ve bromopropylate) karşı duyarlılığı biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Rezidü biyoassay (petri kabı-ilaçlama kulesi) ile dicofol ve bromopropylate uygulanarak tüm populasyonlarda LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri belirlenmiştir. Standart hassas (GSS) populasyon ile karşılaştırılarak bulunan direnç oranlarının dağılımı dicofol ve bromopropylate için sırasıyla 1.112-2.497 ve <1.0-1.106 ve kat düzeylerinde olmuştur (LC₅₀'ye göre). Biyokimyasal analizlerde, *T. urticae*'nin esterez enzimi elektroforetik yöntemle incelenmiştir. Yapılan çalışmalarda Adana'dan toplanan iki populasyonda ve Urfa'dan toplanan bir populasyonda belirgin Est-4 bantı bulunmuştur. Ancak *T. urticae* populasyonlarının duyarlılık düzeyleri ile esteraze enzimi yoğunluğu arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Anahtar Kelimeler: *Tetranychus urticae*, duyarlılık, esterez, dicofol, bromopropylate, akarisit, pamuk

Investigations on Resistance and Resistance Mechanisms of Different Populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) Against two Selective Acaricide

Abstract: Nine different populations of *Tetranychus urticae* Koch were collected on cotton from Adana, Antalya, İzmir and Urfa. Their response against two selective acaricide (dicofol ve bromopropylate) was investigated using both conventional bioassay and biochemical assays. LC₅₀ and LC₉₀ values of dicofol and bromopropylate were determined for all populations using residual bioassay (petri dish-spray tower). Resistance ratios were determined by comparing the samples with standard susceptible strain, GSS, and for dicofol and bromopropylate were found to be 1.112-2.497 and <1.0-1.106 fold respectively (at LC₅₀). In biochemical assays, correlation between esterase enzyme and selective acaricide resistance were analyzed using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). Three populations which were collected from Adana (2) and Urfa (1) have Est-4 and high esterase activity. However, No correlation was found between susceptibility of *T. urticae* population and density of esterase enzyme (Est-4).

Key Words: *Tetranychus urticae*, susceptibility, esterase, dicofol, bromopropylate, acaricide, cotton

Giriş

Ülkemizde tarımda zararlılarla savaşımında üreticiler açısından en etkili ve tercih edilen yöntemlerin başında kuşkusuz kimyasal savaşım gelmektedir. Ancak tarım ilaçları bilinçsiz kullanıldıklarında birçok probleme neden oldukları da artık herkesçe bilinmektedir. İlaçların yoğun kullanımının neden olduğu önemli problemlerden biri de hedef zararlıların direnç kazanmasıdır. Genellikle direnç 'normal bir populasyonda bireylerin çoğunun lethal (öldürücü) dozda canlı kalma yeteneği geliştirmesi' olarak tanımlanmaktadır (Frenc-Constant ve Roush 1990). WHO (Dünya Sağlık Örgütü) insektisit uzmanlar komitesi 1957'de insektisitlere direnci, bir türün normal populasyonunda bireylerin çoğunu öldürdüğü ispatlanan bir insektisit dozuna, aynı böceğin diğer bir irkinin bu doza tolere etme yeteneğini geliştirmesi olarak tanımlamıştır (Brown 1958). FAO (1967)'ye atfen Watson ve Brown, (1977) direncin düşük düzeyde bile önemli olduğunu, LC₅₀'lerin artması ile ekonomik olmayan uygulama yapılacağını veya iyi bir etki sağlamak için uygulama sayısı veya doz artacağından rezidü ve toksikolojik zararın

artacağını bildirmiştir. Görüldüğü gibi ilaçlara karşı böcekler direnç geliştirdiğinde savaşımında önemli problemlere neden olmaktadır. Bu nedenle kimyasal savaşım yapılan veya yapılacak yerlerde mutlaka zaman içinde direnç kontrolü yapılmalıdır. Bu çalışmada ülkemizin yoğun pamuk üretim merkezlerinden, Çukurova, Antalya ve İzmir çevresinden, pamuk üzerinden toplanan *T. urticae* populasyonlarının dicofol ve bromopropylate göstermiş olduğu duyarlılık düzeyleri ve bu duyarlılık düzeyi ile esterez enzimi arasındaki ilişki incelenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Denemenin ana materyalini pamuk bitkisi üzerinden toplanmış iki noktalı kırmızı örümcek, *Tetranychus urticae* Koch. populasyonları ile tarım ilaçlarından iki selektif akarisit, dicofol ve bromopropylate oluşturmaktadır. Denemelerde kullanılan %85 lik saflıktaki dicofol teknik maddesi Hektaş Tic. A.Ş. den, %99.7 saflıktaki

* Bu araştırma TÜBİTAK tarafından desteklenen TARP-1899 nolu projenin ve ilk araştırmacının Doktora tezinin bir bölümüdür.

¹ .Süleyman Demirel Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölümü-Isparta

² Ankara Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölümü-Ankara

bromopropylate saf maddesi Novartis firması tarafından sağlanmıştır.

Biyoassay çalışmaları: *T. urticae* populasyonlarının seçilen ilaçlara göstermiş olduğu LC₅₀ ve LC₉₀ değerlerinin belirlenmesi için kuru rezidü yöntemi kullanılmıştır.

***T. urticae* populasyonları:** Çalışmada kullanılan örneklerin toplandıkları yerler ve tarihler çizelge1'de gösterilmiştir. Bütün *T. urticae* örnekleri pamuk bitkisi üzerinden toplanmıştır. Ayrıca Rothamstad Experimental Station (İngiltere)'den standart olarak kullanılmak üzere standart hassas (German susceptible strains, GSS), *T. urticae* populasyonu getirilmiştir. Bu populasyon 1965 yılından bu yana adı geçen laboratuvarda yetiştirilmektedir (Dennehy ve ark. 1993). Laboratuvar yetiştirmesinde konukçu bitki olarak fasulye bitkisi kullanılmıştır. Kültürler 26±2 °C sıcaklıkta % 50-60 oranlı nem ve florasan lambalarla 16 saatlik ışıklandırma, 8 saatlik karanlık sağlanan koşullarda yetiştirilmiştir

İlaç konsantrasyonlarının hazırlanması: Etkili madde aseton içerisinde çözülmüş ve asetonun buharlaşmasını önlemek ve homojen bir uygulama yapmak için daha sonra 1:1 oranında, %0.02'lik Triton X-100 içeren saf su ile seyreltilerek stok solüsyon hazırlanmıştır. Stok solüsyondan yapılan tüm seyreltmelerde ve kontrolde % 0.02'lik Triton X-100 içeren saf su kullanılmıştır. Denemelerde dicofol için 125.00, 100.00, 75.00, 62.50, 50.00, 62.50, 31.25, 25.00, 15.65, 7.81 mg/L ve bromopropylate için 800.00, 600.00, 500.00, 400.00, 200.00, 100.00 ve 50.00 mg/L dozları hazırlanmıştır.

İlaçların uygulanması: İlaçların uygulanmasında Kabir ve Chapman (1997) ve Campos ve ark. (1997) dan alınan kuru rezidü yöntemi kullanılmıştır. İlaç konsantrasyonları hazırlandıktan sonra ilaçlama kulesinde 5 cm çapındaki plastik petrinin alt ve üst kapağına 1 ml olmak üzere toplam 2 ml ilaçlı sıvı püskürtülmüştür. İlaçlama kulesi 10 atm. basınçta çalıştırılmıştır. Uygulama yapılan petrilere yaklaşık 1 saat kurumaya bırakılmıştır. Hazır hale gelen petrilere her birine bir fırça yardımı ile 20 adet dişi birey aktarılmış ve kapağı iyice kapatılmıştır. Daha sonra bu petrilere koşulları yukarıda belirtilen odaya bırakılmıştır. Ölüm ve canlı bireylerin sayımı 24 saat sonra stereomikroskop altında yapılmıştır. Denemelerde en az 1 kontrol +6 farklı ilaç konsantrasyonu kullanılmıştır. Denemeler 4 tekerrürlü olarak yürütülmüş ve her bir doz için 80 birey olmak üzere bir LC₅₀ değerinin belirlenmesi için en az 560 dişi *T. urticae* bireyi kullanılmıştır. *T. urticae*

populasyonlarının 24 saat sonra belirlenen ölüm verilerinden yararlanılarak POLO bilgisayar paket programında (LeOra Software 1994) LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri belirlenmiştir ve daha sonra dozların logaritması alınarak ve % ölüm miktarları ile WINDOWS EXCEL bilgisayar programı ile regresyon doğruları çizilmiştir ve doğru denklemleri belirlenmiştir.

Biyokimyasal çalışmalar *Poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) ile esteraz enziminin incelemesi: Esteraz enzimi bant sistemini belirlemek için mini vertical nondenaturing polyacrilamide jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. Elektroforez jeli iki farklı yoğunluktaki poliakrilamid jelden oluşmuştur. Yöntemde jelin 5.5 cm'lik taban kısmını oluşturan %7.5 lik poliakrilamid jel, potasyum ferrisiyanit ve %1.6 Triton X-100 içermektedir. Üst kısımdaki %3.5 lik jel ise %0.0005'lik riboflavin ve %1.6 lik Triton X-100 içermektedir. İki farklı yoğunluktaki poliakrilamid jel hazırlandıktan sonra elektroforez tankına yerleştirilmiş, alt ve üst tank elektrot buffer (Barbiton buffer) ile doldurulmuştur. Koşurma işlemi 150 V'da yapılmıştır. Koşurma işlemi bittikten sonra jel boyama solüsyonu hazırlanmıştır. Bunun için %2 oranında 100 mM α-naphtyl asetat içeren 0.2 M fosfat buffer ile %0.2 Fast Blue RR salt boya solüsyonu hazırlanmıştır. Jel bu boya solüsyonunda yaklaşık 15 dakika boyanmıştır. Boyama işlemi sonunda jel 0.2 M fosfat buffer ile yıkanmış ve takiben %7 lik asetik asitte 24 saat bekletilmiş ve fotoğrafı çekilmiştir.

Bulgular

Biyoassay sonuçları: Denemeye alınan populasyonların dicofol'a karşı göstermiş oldukları duyarlılık düzeyleri çizelge 2'de özetlenmiştir. Sonuçlardan da görüldüğü gibi bütün tarla populasyonların da belirlenen dicofol LC₅₀ değeri hassas populasyonda belirlenen dicofol LC₅₀ değerinden daha büyük olmuştur. Tarla populasyonlarının hassas populasyona oranla LC₅₀ değerlerine göre duyarlılık kayıpları incelendiğinde; dicofol'a karşı populasyonlar sırasıyla DEN 2.464, TİM 1.775, PAM 2.093, FET 2.117, TİR 2.203, SEL 2.112, MAN 1.688, URF 2.497 ve SER 1.612 kat duyarlılık kaybı göstermişlerdir. LC₉₀ değerlerine göre ise DEN 1.188, FET 1.009, TİR 1.068, SEL 1.175, URF 1.427 ve SER 1.002 kat duyarlılık kaybı göstermişlerdir.

*Rothamsted Experimental Station'ın laboratuvar prosedürü kullanılmıştır

Çizelge 1. *Tetranychus urticae* örneklerinin toplandığı yerler ve yıllar

Populasyon adı	Örneklerin toplandığı yer	Toplandığı yıl
GSS	Rothamstad Experimental Station (İngiltere)	02.08.1998
DEN	Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Deneme parseli	14.09.1998
TİM	Çukurova Tarım İşletmesi Müd. üretim parseli	14.09.1998
PAM	Adana, Pamuk Araştırma Enst. üretim parseli	15.09.1998
FET	Antalya, Fethiye üretici tarlası	20.09.1998
SER	Antalya, Serik üretici tarlası	19.07.1999
URF	Urfa üretici tarlası	02.09.1999
TİR	İzmir, Tire üretici tarlası	05.08.1999
SEL	İzmir, Selçuk üretici tarlası	05.08.1999
MAN	Manisa, Harmandalı üretici tarlası	06.08.1999

Çizelge 2. Tetranychus urticae populasyonlarına uygulanan dicofol'un LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri ve istatistiki analiz sonuçları

Populasyon	n*	Eğim±se	LC ₅₀ (mg/L) (0.95 güven aralığı)	LC ₉₀ (mg/L) (0.95 güven aralığı)	Regresyon doğrusu denklemi	LC ₅₀ Duyarlılık kaybı**	LC ₉₀ Duyarlılık kaybı**
GSS	560	2.805± 0.259	42.038 (19.744-86.411)	120.337 (65.178-1229.872)	Y=87.545X-92.141	-	-
DEN	560	9.159± 1.799	103.564 (91.172-112.549)	142.935 (126.936-206.745)	Y=285.86X-526.07	2.464 kat	1.188 kat
TİM	560	8.104± 1.254	74.659 (58.360-86.049)	107.454 (92.844-144.443)	Y=252.95X-423.79	1.775 kat	-
PAM	640	12.525± 1.631	88.004 (75.807-96.203)	111.384 (101.416-136.187)	Y=390.92X-710.15	2.093 kat	-
FET	640	9.503± 1.102	89.004 (80.286-96.743)	121.414 (110.014-144.269)	Y=296.6X- 528.2	2.117 kat	1.009 kat
TİR	560	9.016± 1.780	92.612 (82.063-99.285)	128.472 (119.159-147.658)	Y=281.41X-503.43	2.203 kat	1.068 kat
SEL	560	6.340± 1.145	88.791 (69.413-100.857)	141.417 (120.467-224.906)	Y=197.89X-335.56	2.112 kat	1.175 kat
MAN	560	9.594± 1.300	70.994 (57.918-80.628)	96.560 (84.847-121.994)	Y=299.46X-504.36	1.688 kat	-
URF	560	6.02± 1.313	104.987 (95.001-114.716)	171.661 (146.668-247.919)	Y=187.32X-328.61	2.497 kat	1.427 kat
SER	560	5.123± 0.768	67.777 (58.040-75.464)	120.566 (107.366-143.917)	Y=159.91X-242.8	1.612 kat	1.002 kat

n denemede kullanılan birey sayısı

**LC₅₀ veya LC₉₀ Duyarlılık kaybı =Tarla populasyonları için belirlenen dicofol LC₅₀ veya LC₉₀ / hassas populasyon için belirlenen dicofol LC₅₀ veya LC₉₀

Şekilde 1'de görüldüğü gibi populasyonların regresyon doğrusu denklemi ($y=bX+a$) ile çizilen log doz - % ölüm ilişkisini gösteren regresyon doğruları doz artışına göre farklı olmuştur. Regresyon doğrularının eğimi ve yeri populasyonların hassasiyeti ve populasyon yapılarına göre değişmiştir. Hassas populasyonun regresyon doğrusu şekilde 1'de görüldüğü gibi grafiğin en solunda yer almış ve tarla populasyonlarına oranla eğimi daha az olmuştur ve dolayısıyla birim doz artışına karşı en az ölüm artışı hassas populasyonda meydana gelmiştir. Tarla populasyonlarına ait regresyon doğruları ise hassas populasyona oranla grafiğin sağında yer almıştır ve hassas populasyona göre daha dik bir eğim göstermişlerdir. Ancak tarla populasyonlarının en az düzeydeki ölüm oranları bile hassas populasyona göre daha yüksek dozlarda meydana gelmiştir.

T. urticae populasyonlarının bromopropylate karşı göstermiş olduğu duyarlılık düzeyleri Çizelge 3'de özetlenmiştir. Populasyonların bromopropylate karşı LC₅₀ değerleri incelendiğinde; Akdeniz bölgesine ait DEN, TİM, PAM ve FET populasyonlarında belirlenen bromopropylate LC₅₀ değerleri, standart hassas populasyonda belirlenen bromopropylate LC₅₀ değerine göre yüksek olmuştur. Çizelge 3'de populasyonların duyarlılık kayıpları incelenirse, hem LC₅₀ hem de LC₉₀ değerlerine göre bütün tarla populasyonları bromopropylate karşı ya yaklaşık hassas populasyonla aynı düzeyde duyarlılık göstermiş yada daha fazla duyarlı olmuşlardır. LC₅₀ değerine göre TİR, SEL, MAN, URF ve SER populasyonları, LC₉₀ değerine göre ise sadece MAN populasyonu hassas populasyona göre bromopropylate karşı daha duyarlı olmuştur. Diğer populasyonlar bromopropylate karşı hemen hemen hassas populasyonla aynı düzeyde duyarlılık göstermişlerdir. Bu populasyonların duyarlılık

kayıpları LC₅₀ değerine göre 1.035-1.106 mg/L, LC₉₀ değerine göre 1.010-1.214 mg/L arasında değişmiştir.

Şekil 2.'de görüldüğü gibi bromopropylate uygulanan *T. urticae* populasyonlarının logaritmik doz artışına göre göstermiş oldukları % ölüm artışı birbirinden farklı olmuştur. Bromopropylate karşı LC₅₀ değerine göre fazla duyarlı olan MAN ve SER populasyonlarına ait regresyon doğruları hassas populasyonun regresyon doğrusuna göre grafiğin solunda yer almış ve eğimi diğerlerine oranla az olmuştur. Bu populasyonlarda birim doz artışına karşı ölüm oranındaki artış diğer populasyonlara oranla daha azdır (Çizelge 3). Bununla beraber diğer populasyonlara oranla daha düşük dozlarda dahi bu populasyonlarda önemli derecede ölüm meydana gelmiştir. Şekilde 2'de görüldüğü gibi MAN ve SER populasyonlarının dışındaki populasyonların % 50'sini öldüren logaritmik dozlar birbirine çok yakındır. GSS, TİM ve FET populasyonlarının regresyon doğruları en dik doğrular olmuştur. Bu populasyonlarda birim doz artışına karşı ölüm oranındaki artış yüksek olmuştur.

Biyokimyasal analiz sonuçları: Son yıllarda böceklerde insektisit direncini belirlemede biyoassay yöntemlerine ilave olarak biyokimyasal yöntemler de kullanılmaktadır. Bu yöntemle böceklerin insektisit direnci ile ilişkisi olduğu düşünülen bazı enzimlerin elektroforetik haritası çıkarılmakta veya kantitatif değerleri belirlenerek böceklerdeki direnç düzeyi ile ilişkilendirilmektedir. *T. urticae* populasyonlarının esteraz enzimi bantları Şekil 3'de gösterilmiştir. Genel olarak *T. urticae* populasyonlarında 5 esteraz bantı belirlenmiştir. Şekilde 3'de görüldüğü gibi esteraz enzimi yönünden populasyonlar arasındaki farklılıklar net olarak görülmektedir.

Şekil 1. Dicofol uygulanan *Tetranychus urticae* populasyonlarının logaritmik doz ve % ölüm eğrileriŞekil 2. Bromopropylate uygulanan *Tetranychus urticae* populasyonlarının logaritmik doz ve % ölüm eğrileriÇizelge 3. *Tetranychus urticae* populasyonlarına uygulanan bromopropylate'nin LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri ve istatistiki analiz sonuçları

Populasyon	n*	Eğim± se	LC ₅₀ (mg/L) (0.95 güven aralığı)	LC ₉₀ (mg/L) (0.95 güven aralığı)	Regresyon doğrusu denklemi	LC ₅₀ Duyarlılık kaybı**	LC ₉₀ Duyarlılık kaybı**
GSS	640	33.104±5.499	515.409 (484.209-547.403)	563.463 (535.171-685.890)	Y=1033.2X-2752	-	-
DEN	640	16.144±2.696	569.896 (510.919-613.517)	684.193 (630.749-887.684)	Y=503.89X-1338.6	1.106 kat	1.214 kat
TİM	640	33.468±4.829	548.999 (519.889-569.434)	599.602 (577.810-637.391)	Y=1044.6X-2811.8	1.065 kat	1.064 kat
PAM	640	21.372±3.712	533.580 (512.756-550.149)	612.582 (589.896-653.525)	Y=667.06X-1769.2	1.035 kat	1.087 kat
FET	640	37.784±5.906	526.239 (494.512-559.511)	568.895 (540.260-652.932)	Y=1179.3X-3159.1	1.021 kat	1.010 kat
TİR	640	11.062±1.379	510.348 (463.269-548.759)	666.373 (609.975-796.221)	Y=345.27X-884.94	-	1.183 kat
SEL	640	10.131±1.455	495.530 (447.803-531.545)	663.086 (609.973-773.669)	Y=316.21X-802.2	-	1.177 kat
MAN	640	6.364 ± 0.811	313.883 (271.622-347.064)	499.065 (459.220-552.018)	Y=198.62X-445.91	-	-
URF	640	8.111 ± 1.010	509.513 (451.285-557.861)	733.084 (653.685-922.157)	Y=253.17X-635.36	-	1.301 kat
SER	640	5.847 ± 0.970	366.104 (305.157-407.383)	606.459 (555.510-691.844)	Y=182.48X-417.82	-	1.076 kat

n denemede kullanılan birey sayısı

**LC₅₀ veya LC₉₀ Duyarlılık kaybı =Tarla populasyonları için belirlenen bromopropylate LC₅₀ veya LC₉₀/ hassas populasyon için belirlenen bromopropylate LC₅₀ veya LC₉₀

Tartışma

Tarımsal savaşında zararlıların ilaçlara karşı direnç geliştirmesi önemli bir problemdir. Saito ve ark. (1979), kırmızı örümceklerin birçok akarite karşı kısa sürede yüksek düzeyde direnç geliştirme yeteneğinde olduğunu ve bunun çoğunlukla çapraz direnç olduğunu belirtmiştir. Bu nedenle özellikle anahtar zararlılarla savaşında dikkatli olunmalı, doğru ve hızlı direnç kontrol yöntemleri mutlaka bilinmelidir. Bu çalışmada kırmızı örümceklerde direnç belirlemede kolay ve hızlı sonuç veren bioassay ve biyokimyasal yöntemler belirlenmeye çalışılmıştır.

Denemeye alınan ilaçlardan dicofol'a karşı denemeye alınan tarla populasyonlarında dicofol LC₅₀ değerlerine göre az da olsa duyarlılık kaybı belirlenmiştir. Dicofol'a karşı hassas populasyon (GSS) heterojen bir yapı gösterirken tarla populasyonları daha homojen bir yapı göstermiştir. Ancak hassas populasyonda çok düşük dozlarda dahi ölüm tespit edilmiştir ve en küçük dicofol LC₅₀ değerine sahiptir (Çizelge 2). Bu durum muhtemelen tarla populasyonlarının daha önce yoğun olmayan dicofol uygulamalarına maruz kalmalarından kaynaklanmaktadır. Yoğun olmayan uygulamalar nedeniyle hassas populasyonda görülen çok hassas bireyler tarla populasyonlarında elimine olduğu için tarla populasyonuna ait regresyon doğruları daha dik olmuştur. PAM populasyonun regresyon doğrusu önemli derecede diklik göstermektedir, bunu regresyon denkleminin eğim kat sayısı (12.525)'da kanıtlamaktadır (Çizelge 2). URF, SEL ve SER populasyonları ise PAM populasyonuna göre daha heterojen yapıya sahiptir. Bu populasyonlardan özellikle URF populasyonunda dicofol kullanılmaya devam ederse muhtemelen duyarlılık kaybı artacaktır. Çünkü bu populasyona ait regresyon doğrusu hem grafiğin sağında yer almıştır ve hem de eğimi diğerlerine göre daha azdır (Şekil 1). Logaritmik doz-% ölüm doğrusunun eğimi toksikanta karşı ölümün ölçüsüdür (Hoskins 1960). Populasyondaki bireylerin genetik özelliklerindeki varyasyon miktarı ne kadar az ise doz artışına karşı ölüm sayısı o ölçüde artacaktır veya azalacaktır. Eğer eğim dik ise, dozda hafif bir değişme ölümde büyük bir değişmeye sebep olur. Belli bir türün bir ilaca karşı dirençli hale gelmesi, mücadele yapılacak yöredeki orijinal populasyonun hassasiyetindeki varyasyon ile geniş ölçüde ilgilidir (Hoskins 1960). SER populasyonun regresyon doğrusu URF populasyonuna göre daha yatay olmasına rağmen bu populasyonun direnç geliştirme eğilimi daha azdır. Çünkü bu populasyonda dicofol ile belirlenen LC₅₀ ve LC₉₀ değeri hassas populasyonda belirlenen dicofol LC₅₀ ve LC₉₀ değerine yakın çıkmıştır ve regresyon doğrusu grafiğin solun da yer almıştır. Dennehy ve ark. (1988), *T. urticae* populasyonlarının dicofol'a karşı direnç geliştirmelerinin, populasyon yapısına (heterojen, homojen), buna bağlı olarak populasyonda dirençli bireylerin olmasına ve ilaçlama sıklığına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada, homojen hassas populasyonda dicofol LC₅₀ değerinin değişmediğini, populasyonun homojenliğinin gittikçe arttığını, buna karşın heterojen hassas bir populasyonda dicofol ile ilaçlamalar sonucunda direncin bir hayli arttığını belirtmişlerdir. *T. urticae* populasyonlarında direnç gelişimini önlemek için ilacın sürekli kullanılması yerine

alternatifleri ile rotasyonlu kullanılması yararlı olacaktır. Bu durum Avustralya'da açıkça ortaya konmuştur. Avustralya da 1990 yılında ruhsat alan dicofol, insektisit direnç yönetimi programı çerçevesinde alternatifleri ile rotasyona sokularak mevsim içinde belli dönemler kullanılmış ve bu güne kadar bu ilaca karşı her hangi bir direnç kaydına rastlanmamıştır (Wilson ve ark. 1995, Herron ve ark. 1998).

Ülkemizde 1986 yılında ruhsatlandırılan bromopropylate karşı denemeye alınan tarla populasyonları önemli ölçüde bir direnç göstermemişlerdir. Hatta populasyonlardan Ege bölgesine ait populasyonlarla URF ve SER populasyonları hassas populasyona oranla LC₅₀ düzeyinde daha duyarlı olmuşlardır. Özellikle MAN ve SER populasyonu heterojen bir yapı göstermiş, regresyon doğrularının diklik kat sayısı diğerlerine oranla önemli ölçüde küçük olmuştur (Çizelge 3). Hassas populasyonla birlikte TİM ve FET populasyonları bromopropylate karşı homojen bir yapı göstermişlerdir ve regresyon doğruları neredeyse dik bir doğrudur. Ülkemizin önemli pamuk üretim merkezlerinden toplanan *T. urticae* populasyonlarının (URF hariç) bromopropylate karşı direnç geliştirme ihtimalleri son derece düşüktür. Bir populasyon daha başlangıçta homojen ise bu populasyondan fazla dirençli bir ırk elde etmek zordur ve bir türün direnç geliştirmesi için önceden gerekliliği zorunlu olan şey, populasyonda dirence sebep olan karakter veya bu karakterleri genlerinde taşıyan bireylerin olması gerekir (Hoskins 1959).

Buraya kadar bildirilen sonuçlardan da görüldüğü gibi ülkemizin önemli pamuk üretim merkezlerinden toplanan *T. urticae*'de selektif akarisitlere (dicofol, bromopropylate) karşı önemli ölçüde bir duyarlılık kaybına rastlanmamıştır. Bu durum ülkemizde spesifik ilaçların çok fazla tercih edilmediğini, geniş spektrumlu ilaçların daha fazla tercih edildiğini işaret etmektedir. Çünkü bir çok ülkede özellikle dicofol'a karşı çok yüksek oranlarda direnç kayıt edilmiştir (Dennehy 1983, Dennehy ve ark. 1987, Dennehy ve ark. 1988, Ferguson-Kolmes ve ark. 1991, Wilson ve ark. 1995). Herron ve ark. (1998) direnç seleksiyonun genellikle pestisit kullanım sıklığı ile doğrudan ilişkili olduğunu ve pamukta kırmızı örümceklere karşı kullanılan organik fosforlu ilaçların çoğunun diğer zararlılarda da kullanıldığını ve bunun sonucunda *T. urticae* populasyonlarında bu ilaçların seleksiyon baskısının arttığını belirtmektedir. Sawicki ve Denholm (1987) 1960-1970 yıllarında Zimbabwe'de pamukta zararlı olan *T. cinnebarinus* ve *T. lombardini*'nin savaşımında sadece dimethoate kullanıldığını, bunun sonucu dimethoate karşı bu türlerin çok yüksek direnç (1000 katın üzerinde) geliştirdiğini ve diğer organik fosforlu akarisitlere de dirençli hale geldiklerini belirtmişlerdir.

Bu çalışmada *T. urticae* populasyonlarının denemede kullanılan ilaçlara göstermiş olduğu LC₅₀ değerleri ile biyokimyasal çalışmalarla belirlenen esteraz enzimi aktivitesi arasındaki ilişki de değerlendirilmiştir. Elektroforetik değerlendirmelerde diğer böceklerde olduğu gibi esteraz bantlarından Est-4 bantı dikkate alınmıştır. Populasyonların dicofol duyarlılığı ile biyokimyasal sonuçları birlikte değerlendirdiğimiz de sonuçlar aşağıdaki

gibi olmuştur. Tarla populasyonlarının hepsi dicofol'a karşı LC₅₀ değerine göre hassas popülasyona göre az da olsa duyarlılık kaybı göstermiştir. Fakat hiç bir popülasyonun duyarlılık kaybı düzeyi hassas popülasyona göre 2.5 katın üzerine çıkmamıştır. Popülasyonlar duyarlılık bakımından küçükten büyüğe (LC₅₀ değerine göre) doğru sıralaması GSS, SER, MAN, TİM, PAM, SEL, FET, TİR, DEN ve URF şeklinde olmuştur. Popülasyonların elektroforetik olarak belirlenen esteraz enzimi ile dicofol LC₅₀ düzeyleri arasında bir ilişki kurulamamıştır. Bütün popülasyonların Est-4 bantına sahip oldukları görülmektedir. Ancak, en yüksek duyarlılık kaybına sahip URF ve DEN popülasyonlarının Est-4 bantları koyu renkli boyanmasına rağmen üçüncü yüksek duyarlılık kaybı gösteren TİR popülasyonunda ve dördüncü yüksek duyarlılık kaybı gösteren FET popülasyonunda Est-4 bantı çok açık renkli olmuştur. Buna karşın altıncı yüksek duyarlılık kaybı gösteren PAM popülasyonunda ise Est-4 bantı oldukça koyu renkli şekilde görülmektedir (Şekil 3). Bu sonuçlar *T. urticae* popülasyonlarının dicofol direnci ile esteraz bantlarının yoğunluğu arasında bir ilişki olmadığını ve dicofol direncinin başka mekanizma ile kontrol edildiğini göstermektedir (Ferguson-Kolmes ve ark. 1991).

Bromopropylate karşı popülasyonlar önemli derecede bir duyarlılık kaybı göstermemişlerdir. LC₅₀ değerlerine göre popülasyonlardan sadece DEN, TİM, PAM ve FET popülasyonları hassas popülasyona göre çok az da olsa duyarlılık kaybı göstermişlerdir. Duyarlılık düzeyleri hem LC₅₀ hem de LC₉₀ değerlerine göre 1.5 katın

altında kalmıştır (Çizelge 3). Ancak elektroforez tekniği ile incelenen esteraz enzimi bant yoğunlukları ve şekilleri popülasyonlar arasında oldukça farklılık göstermiştir. DEN ve PAM popülasyonlarının Est-4 bantları koyu renkli boyanmıştır. Buna karşın TİM ve FET popülasyonlarının Est-4 bantlarının yoğunluğu daha az olmuştur. LC₅₀ değerlerine göre bromopropylate karşı diğer tarla popülasyonlarının tamamı hassas popülasyondan daha duyarlı olmuştur. Bununla beraber elektroforez yöntemi ile belirlenen esteraz enzimi bant yoğunlukları birbirinden farklılık göstermiştir. Örneğin URF popülasyonu hassas GSS popülasyonuna göre bromopropylate'ye duyarlı olmasına rağmen Est-4 bantı koyu renkli olarak boyanmıştır (Şekil 3). Buna karşın bromopropylate çok duyarlı olan MAN popülasyonunda ise çok açık renkli olarak boyanmıştır. Bu sonuçlara göre *T. urticae* popülasyonlarının bromopropylate duyarlılığı ile Est-4 arasında ilişki kurmak oldukça zordur. Esteraz enziminin organik fosforlu ve sentetik piretroid'li ilaçlarla olan ilişkisi bir çok araştırmada ortaya konmuştur. Esteraz enzimi organik fosforlu ve sentetik piretroidli ilaçları tutarak sinir sistemine ulaşmasını önlemektedir. Bennett ve ark. (1997) yaptığı çalışmada *A. gossypii* ekstratlarına monocrotophos ilavesi ile esteraz enzimi bantlarının yoğunluğunun azaldığını belirtmiştir. Kuwahara ve ark. (1982) de *T. kanzawa*'de organik fosforlu ilaçlara dirençli ırklarda direnç ile esteraz enzimi aktivitesi arasında pozitif ilişki bulmuştur. Owusu ve ark. (1996) organik fosforlu ilaçlara dirençli *A. gossypii*'de, Guerrero ve ark. (1999) diazinon'a

dirençli *Hematobia irritans irritans* (L.)'da yüksek oranda esteraz enzim tespit etmiştir. O'brien ve ark. (1992) *A. gossypii* ile yaptığı çalışmada chlorpyrifos, bifenthrin ve aldicarb'a karşı olan direnç ile esteraz bantlarından Est-4 olarak isimlendirilen karboksilesteraz enziminin yoğunluğu arasında pozitif bir ilişki olduğunu ve bu ilaçların detoksifikasyonuna bu enzimin neden olduğunu vurgulamışlardır.

Sonuç

Bu çalışmada farklı pamuk ekiliş alanlarından toplanan *T. urticae* populasyonlarının dicofol ve bromopropylate karşı göstermiş oldukları duyarlılık kaybı ile esteraz enzimi aktivitesi arasında bir ilişki kurulamamıştır.

Teşekkür

Bu çalışmada pamuk bitkisi üzerinden toplanan kırmızı örümceklerin teşhisini yapan Prof. Dr. Sultan Çobanoğluna teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Brown, A. W. A. 1958. Insecticide Resistance in Artropods. W.H.O., 240p. Genewe.
- Bennett, A. L., A. Claassen and C. L. N. Du Toit. 1997. Esterase activity as an indicator of relative insecticide resistance in *Aphis gossypii* (Glover) (Homoptera: Aphididae). African Plant Protection 3 (1):11-16.
- Campos, F., D. A. Krupa and R. Jansson. 1997. Evaluation of petri plate assay for assessment of abamectin susceptibility in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). J. Econ. Entomol., 90 (3): 742-746.
- Dennehy, T. J., J. Granett and T. Leigh. 1983. Relevance of slide-dip and residual bioassay comparisons to detection of resistance in spider mites. J. Econ. Entomol., 76: 1225-1230.
- Dennehy, T. J., E. E. Grafton-Cardwell, J. Granett and K. Barbour. 1987. Practitioner-assesable bioassay for detection of dicofol resistance in spider mites (Acari: Tetranychidae). J. Econ. Entomol., 80 (5): 998-1003.
- Dennehy, T. J., J. P. Nyrop, W. P. Reissig and R. W. Weires. 1988. Characterization of to dicofol in spider mites (Acari: Tetranychidae) from New York apple orchards. J. Econ. Entomol., 81 (6) : 1551-1561.
- Dennehy, T. J., A. W. Farnham and I. Denholm. 1993. The microimmersion bioassay: a novel method for the topical application of pesticides to spider mites. Pestic. Sci. 39: 47-54.
- Ferguson-Kolmes, L. A., J. G. Scot and T. J. Dennehy. 1991. Dicofol resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): Cross-resistance and Pharmacokinetics. J. Econ. Entomol., 84 (1): 41-48.
- Ffrench-Constant, R. H. and R. T. Roush. 1990. Resistance detection and documentation: the relative roles of pesticidal and biochemical assays. Pesticide Resistance in Arthropods (eds. By Roush and Tabashnik). Chapman and Hall, 303p, New York.

- Guerrero, F. D., J. H. Pruet, S. E. Kunz and D. M. Kammlah. 1999. Esterase Profiles of diazinon-susceptible and -resistant Horn flies (Diptera: Muscidae). J. Econ. Entomol., 92 (2): 286-292.
- Hoskins, W. M. 1959. Factors involved in the development of resistance to insecticide and some measures to reduce its effect. Reprinted from Mosquito News, Vol.19, no.2.
- Hoskins, W. M. 1960. Use of the dosage-mortality curve in quantitative estimation of insecticide resistance. Miscellaneous Publication of the Entomological Society of America, 2 (1): 85-91.
- Herron, G. A., V. E. Edge, L. J. Wilson and J. Rophail.1998. Organophosphate resistance in spider mites (Acari: Tetranychidae) from cotton in Australia. Experimental & Applied Acarology, 22: 17-30.
- Kabir, K. H. and R. B. Chapman. 1997. Operational and biological factors influencing responses of spider mites (Acari: Tetranychidae) to propargite by using the petri dish-potter tower method. J. Econ. Entomol., 90 (2): 272-277.
- Kuwahara, M., T. Miyata, T. Saito and M. Eto. 1982. Activity and substrate specificity of the esterase associated with organophosphorus insecticide resistance in the Kanzawa spider mite, *Tetranychus kanzawai* Kishida (Acarina: Tetranychidae). Appl. Ent. Zool., 17 (1): 82-91.
- LeOra Software. 1994. POLO-PC:a user's guide to probit or logit analysis. LeOra Software, 28 p., Berkeley, CA.
- O'brien, P. J., Y. A. Abdel-ALL, J. A. Ottea and J. B. Graves. 1992. Relationship of insecticide resistance to carboxylesterases in *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) from midsout cotton. J. Econ. Entomol., 85 (3): 651-657.
- Owusu, E. O., M. Horiike and C. Hirano. 1996. Poyacrylamide gel electrophoretic assessments of esterases in cotton aphid (Homoptera: Aphididae) resistance to dichlorvos. J. Econ. Entomol., 89 (2) :302-306.
- Saito, T., K. Tabata and S. Kohnno. 1979. Mechanisms of acaricide resistance with emphasis on dicofol. Pest Resistance to Pesticides (eds.by Georghiou, G. P.). Plenum press. P. 909, New York.
- Sawicki, R. M. and I. Denholm. 1987. Management of resistance to pesticides in cotton pests. Tropical Pest Manegement, 33 (4): 262-272.
- Watson, D. L. and A. W. Brown. 1977. Pesticide manegement and insecticide resistanse. Academic Pres. 638 p. New York.
- Wilson, L. J., G. A. Herron, T. F. Leigh and J. Rophail. 1995. Laboratory and field evaluation of the selective acaricides dicofol and propargite for control of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in Australian cotton. J. Aust. Ent. Soc., 34 : 247-252.

İletişim adresi:

Recep AY
Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bitki Koruma Bölümü-Isparta
Tel: 0 246 211 15 69
e-posta: recepay@ziraat.sdu.edu.tr