



Tetranychus urticae Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)'de pyridaben direnç oranı ve estera, GST ve P450 monooksijenaz enzim ilişkileri

Relationships between pyridaben resistance ratio and esterase, GST and P450 monooxygenase enzyme in Tetranychus urticae Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)

Gizem BERBER TORTOP^{1*} , Sibel YORULMAZ² 

¹Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bilecik, Türkiye

²Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-3090-3705>; ²<https://orcid.org/0000-0003-3836-5673>

To cite this article:

Berber Tortop, G. & Yorulmaz, S. (2024). *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (acari: tetranychidae)'de pyridaben direnç oranı ve estera, gst ve p450 monooksijenaz enzim ilişkileri. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(2): 201-208

DOI: 10.29050/harranziraat.1416292

*Address for Correspondence:

Gizem BERBER TORTOP

e-mail:

gizem.berber@bilecik.edu.tr

Received Date:

08.01.2024

Accepted Date:

16.05.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

ÖZ

İki noktalı kırmızıörümcek [*Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)], çeşitli bitki türlerinde beslenen ve tarım ürünlerinde ekonomik kayıp oluşturan zararlı organizmalardan biridir. Bu zararlının mücadelesinde sıklıkla sentetik kimyasalların kullanımı tercih edilmektedir. METI akarisitleri, yaygın olarak kullanılan kimyasal maddeler arasındadır. Yapılan çalışmada, *T. urticae* (GSS) popülasyonu pyridaben ile 10 kez selekte edilmiştir. Denemelerde LC₅₀ değerleri, 1 kontrol+7 konsantrasyon, her konsantrasyon için 3 tekerrür ve her tekerrürde 25 birey olacak şekilde belirlenmiştir. Ölü canlı sayımları 24 saat sonra yapılmıştır. Ayrıca, laboratuvar koşullarında pyridaben ile selekte edilmiş *T. urticae* bireylerinde mikro plaka okuyucu kullanarak estera, P450 monooksijenaz ve glutatyon S-transferaz (GST) enzim aktiviteleri belirlenmiştir. *T. urticae* (GSS) popülasyonunun pyridaben ile 10 kez selekte edilmesi sonucu direnç oranının 64.2 kat arttığı tespit edilmiştir. Başlangıç, Seleksiyon 5 (S5) ve Seleksiyon 10 (S10) popülasyonlarında estera aktiviteleri sırasıyla 10.38, 11.45, 17.82 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein; P450 monooksijenaz aktiviteleri 0.0018, 0.0033 ve 0.0068 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein; GST aktiviteleri ise 3.0, 3.1 ve 3.5 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, zararlının pyridaben etken maddesine karşı direnç geliştirmesinde estera ve monooksijenaz enzimlerinin rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Zararlı organizmaların duyarlılık düzeylerinin düzenli olarak izlenmesi ve direncin kontrol altına alınması, tarımsal üretimde verimliliği ve bitki sağlığını korumak adına oldukça önemli bir adımdır.

Anahtar Kelimeler: Detoksifikasyon enzimleri, direnç, kimyasal mücadele, METI akarisitleri, *Tetranychus urticae*

ABSTRACT

The two-spotted spider mite [*Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae)] is a pest organism that feeds on various plant species and has become a serious problem in the agricultural sector. Chemical control methods are often preferred in the control against this pest. METI acaricides are among the commonly used chemicals. In the study, the *T. urticae* (GSS) population was selected 10 fold with pyridaben. In the experiments, LC₅₀ values were determined as 1 control + 7 concentrations, 3 replicates for each concentration and 25 individuals in each replicate. Dead live counts were determined after 24 hours. In addition, esterase, P450 monooxygenase and glutathione S-transferase (GST) enzyme activities were determined in pyridaben-selected *T. urticae* under laboratory conditions using a microplate reader. It was found that the resistance rate increased 64.2-fold when the *T. urticae* (GSS) population was selected 10 folds with pyridaben. The esterase activities were 10.38, 11.45, 17.82 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein; P450

monooxygenase activities were 0.0018, 0.0033 and 0.0068 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein; GST activities were 3.0, 3.1 and 3.5 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein, respectively, in the initial, Selection 5 (S5) and Selection 10 (S10) populations. These results suggest that esterase and monooxygenase enzymes may play a role in the pest's resistance to pyridaben. Regular monitoring of the susceptibility levels of pest organisms and controlling resistance is an important step to maintain productivity and plant health in agricultural production.

Key Words: Detoxification enzymes, resistance, chemical control, METI acaricides, *Tetranychus urticae*

Giriş

İki noktalı kırmızıörümcek *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae), dünyada yaygın olarak görülen en önemli zararlı türlerden biridir. Geniş konukçu dizilimi ve küresel ölçekte yaygınlığı nedeniyle tarım sektöründe yüksek düzeyde ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Assouguem ve ark., 2022).

Sentetik kimyasallardan akarisitler, fitofag akar popülasyonlarının yönetiminde kritik bir rol oynayarak birçok tarımsal üründe ortaya çıkabilecek önemli verim kayıplarını azaltmada etkili olmaktadır (Van de Vrie ve ark., 1972; Jeppson ve ark., 1975; Nauen ve ark., 2001). METI (Mitokondriyal Elektron Taşıma İnhibitörü) akarisitler, fenazaquin, fenpyroximate, pyridaben ve tebufenpyrad gibi bileşenleri içerir ve bu akarisitler 1990'lı yıllarda geliştirilmiş olup tetranychid, tarsonemid ve eriophyid akar türlerinin tüm aşamalarına karşı etkili bir kontrol sağlamaktadırlar (Kim ve ark., 2006; Tomlin, 2003). METI-akarisitlerin özelliği, mitokondriyal solunum zincirinin kompleks I'ini (NADH: ubikinon oksidoredüktaz) engelleyerek çalışmalarıdır (Hollingworth ve Ahammadsahib, 1995; Wood ve ark., 1996). Bu etki, akarların enerji üretim mekanizmasını hedef alarak, popülasyonlarını kontrol etmek için etkili bir strateji sunmaktadır. Böylece, tarım ürünlerinde verim kaybını önlemek ve fitofag akarların olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla METI-akarisitler yaygın olarak kullanılmaktadır. Pyridaben, 1984 yılında Nissan Chemical tarafından keşfedilen bir piridazin bileşiğidir. Ticarileştirilmesi ise 1991 yılında gerçekleşmiştir (Dekeyser, 2005). Ancak, pyridaben gibi METI akarisitlerinin yaygın kullanımı, bazı akar popülasyonlarında direnç gelişimine neden olmuştur. Bu direnç mekanizmalarının anlaşılması, etkili kontrol

stratejilerinin geliştirilmesi için önemlidir. Direnç yönetimi, sürdürülebilir tarım uygulamaları ve çeşitli pestisit kullanım stratejilerini içerir.

Tetranychidae üyelerinde pestisit direnci genellikle genetik olarak sabit mekanizmalar aracılığıyla ortaya çıkar. Bu mekanizmaların başında, pestisitleri etkisiz hale getiren metabolik detoksifikasyon enzimleri gelmektedir. Bu enzimler içerisinde sitokrom P450 monooksijenazlar (P450), esterazlar (EST) ve glutatyon-S-transferazlar (GST) yer almaktadır. Bunun yanı sıra, pestisitlerin etkilediği belirli hedef bölgelerdeki genetik mutasyonlar da direnç gelişimine katkı sağlamaktadır (Knowles, 1997; Van Pottelberge ve ark., 2009). Model organizmalarda METI I akarisitleri ile yapılan genetik çalışmalarda nokta mutasyonların PSST ve 49 kDa alt ünitelerinde meydana geldiği belirlenmiştir (Lümmen, 2007). Bajda ve ark., (2017) yaptıkları çalışmada ilk defa METI I (pyridaben, tebufenpyrad ve fenpyroximate) akarisit dirençli *T. urticae*'de PSST alt ünitesinde dirençten sorumlu olan H92R mutasyonunu belirlemişlerdir. Bu mutasyonun *T. urticae*'de artan METI direncinden sorumlu olduğu belirlenmiştir. *Tetranychus urticae*'de artan karboksil esteraz aktivitesinin pyridaben direnci ile ilişkili olduğu bildirilmiş (Van Pottelberge ve ark., 2009) olmasına rağmen genellikle P450 ile detoksifikasyonun pyridaben direncinin başlıca mekanizması olduğu sıklıkla rapor edilmiştir (Kim ve ark., 2006; Stumpf ve Nauen, 2001; Sugimoto ve Osakabe, 2014).

Direnç mekanizmaları, zararlı popülasyonunun pestisitlere karşı direncini artırarak, bu organizmaların kontrolünü zorlaştırır. Bu nedenle, pestisit kullanımıyla ilgili stratejiler geliştirilirken, direnç mekanizmalarının anlaşılması büyük bir önem taşır. Hedef akarların akarisitlere maruz

kalmayla ilgili güvenilir temel verilere sahip olmak, akarisit kullanımının düzenlenmesinde temel bir faktördür (Badawy ve ark., 2022). Bu yüzden seleksiyon çalışmaları yapılarak direnç mekanizmalarını araştırmak önem kazanmaktadır. Yapılan çalışmada, laboratuvar koşullarında pyridaben ile sekte edilmiş *T. urticae* bireylerinde duyarlılık düzeyi ile EST, GST ve P450 enzimleriyle ilişkileri değerlendirilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Tetranychus urticae popülasyonunun orijini ve yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan hassas *T. urticae* German Susceptible Strain (GSS) popülasyonu Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü iklim odalarında 2001 yılından itibaren herhangi bir pestisite maruz kalmadan 26±1°C sıcaklıkta, %60-65 orantılı nem ve 16:8 saat ışıklandırma periyodunda yetiştirilmektedir.

İnsektisit

Çalışmada pyridaben etken maddesi içeren PUZZLE 20 WP (Hektaş, Türkiye) ticari preparatı kullanılmıştır.

Seleksiyon çalışmaları

Seleksiyon çalışmalarında Yorulmaz Salman ve Sarıtaş, (2014) tarafından uygulanan metot kullanılmıştır. *Tetranychus urticae*'nin hassas popülasyonu pyridaben seleksiyonu için başlangıç popülasyonu olarak kullanılmıştır. Seleksiyon işlemi için öncelikle *T. urticae* popülasyonunda pyridabene karşı LC₅₀ değeri belirlenmiştir. LC₅₀ denemeleri 1 kontrol+7 konsantrasyon, her konsantrasyon için 3 tekrür olacak şekilde kurulmuştur. Pyridaben uygulama konsantrasyonu belirlenirken ilk konsantrasyonda %90'dan az kontrol grubunda ise %10'dan fazla ölüm olmaması dikkate alınmıştır. Deneme süresinde yaprağın nem ihtiyacını karşılayabilmesi amacıyla Petri içerisindeki pamuklar düzenli olarak ıslatılmıştır. Pamuk üzerine ise 3 cm çapında fasulye yaprak diskleri konulmuştur. Her

tekrür için 9 cm çapındaki Petriler içerisinde 25 adet *T. urticae* ergin dişi eklenmiştir. Her konsantrasyon için %50 seyreltilerek hazırlanan ilaç konsantrasyonları ile Petriler ilaçlama kulesi (Burkard Scientific, İngiltere) yardımıyla 1 bar basınçta yaprak yüzeyine 2 mL (1,95 ± 0,05 mg akarisit çözeltisi/cm²) ilaç gelecek şekilde ilaçlama yapılmıştır. Ölü- canlı sayımları 24 saat sonra yapılmıştır. Bu verilerden yararlanılarak kırmızıörümcek popülasyonlarının LC₅₀ değerleri PoloPlus bilgisayar paket programında hesaplanmıştır. *T. urticae* popülasyonu için seleksiyon konsantrasyonu olarak LC₆₀ değerleri kullanılmıştır. Yine Yorulmaz Salman ve Sarıtaş (2014) tarafından uygulanan metota göre seleksiyon işlemi için, tabanında pamuk bulunan 9 cm çapındaki Petriler üzerindeki yaprak disklere 50 adet *T. urticae* bireyi aktarılmıştır. LC₆₀ konsantrasyonu Petriler ilaçlama kulesinde 1 bar basınç altında yaprak üzerine 2 mL olacak şekilde uygulanmıştır. Petriler 26±1°C sıcaklıkta %60-65 nem ve 16:8 (A/K) fotoperiyot koşullarında 24 saat süreyle bırakılmıştır. Uygulamadan 24 saat sonra canlı kalan bireyler temiz fasulye bitkisi üzerine aktarılmıştır. LC₆₀ konsantrasyonu her seleksiyon popülasyonu için yeniden belirlenerek popülasyonlar seleksiyon baskısına maruz bırakılarak direnç kazandırılmıştır (Seleksiyon araları ortalama olarak 20-30 gün arasındadır).

EST, P450 ve GST enzimlerinin belirlenmesi

EST aktivitesinin belirlenmesinde; Stumpf and Nauen (2002) yöntemi kullanılmış; 100 µL sodyum fosfat tampon (0.1M, pH7.5) hazırlanarak içerisinde % 1 oranında Triton X-100 eklenmiştir. Çözelti içerisinde 20 adet kırmızıörümcek dişi eklenerek homojenize edilmiştir. İçerisinde dişi bireylerin ezildiği çözelti daha sonra 10000 g ve +4°C'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Su ile 10 kez seyreltilen supernatant ve fosfat tampondan (0.2 M, pH 6) ayrı ayrı olmak üzere 25'er µL mikropolanın hücrelerine konulmuştur. Çalışmada reaksiyon 200 µL substrat solüsyonunun (Substrat solüsyonu 30 mg fast blue RR tuzunun 50 ml 0.2 M sodyum fosfat buffer'da çözülmesi ve bu karışıma 500 µl 100 Mm α - naphthyl acetate'ın eklenmesiyle elde

edilmiştir) eklenmesiyle başlatılmıştır. EST enzim aktivitesi Versamax kinetik mikropilaka okuyucuda (Molecular Devices) 23°C'de ve 450 nm'de 10 dakika ölçülmüştür.

Stumpf and Nauen (2002) yöntemi kullanılarak GST enziminde ise öncelikle 300 µL Tris HCL tampon (0.05M, pH:7.5) hazırlanmıştır. Bu çözelti içerisine otuz adet dişi birey eklenmiştir. Dişi bireyler bu çözelti içerisinde homojenize edilmiştir. Karışım 10000g, +4°C'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Mikropilaka hücrelerine 100 µL supernatant, 100 µL 1-kloro-2,4- dinitrobenzen (CDNB) ve 100 µL glutathion (GSH) konulmuştur. Final konsantrasyonda hücrelerde 0.2 mM GSH ve 0.4 mM CDNB bulunmaktadır. GST enzimi aynı cihazda kinetik olarak 340 nm, 25 °C'de, 5 dakika belirlenmiştir.

P450 enziminin belirlenmesinde substrat olarak pnitroanisol (PNOD) ve (Rose ve ark., 1995) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. Bu yöntem için öncelikle, 50 adet dişi birey 100 µl homojenizasyon tampon'da [0.05 M Tris-HCl + %1.15 KCl + 1mM EDTA pH (7.7)] plastik ezici ile ezilmiş ve homojenat +4°C 10000 g'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Mikropilaka hücrelerine 45 µL homojenizasyon tampon + 45 µL homojenat +100 µL (2mM) PNOD eklenerek karışım 30 ° C'de 5 dk inkübe edilmiştir. En son aşamada mikropilaka hücrelerine 10 µL 9.6 mM NADPH eklenerek P450 enzim aktivitesi aynı cihazda 405 nm 30 ° C'de 15 dk süreyle ölçülmüştür.

Biyokimyasal çalışmalarda, kontrol hücreleri ise homojenatsız olarak okunmuştur. Enzim

okumaları dört tekerrürlü olarak yapılmıştır. Tüm enzim aktiviteleri Softmax PRO software programında analiz edilerek sonuçlar mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein olarak verilmiştir. Örneklerin toplam protein miktarlarının belirlenmesinde (Bradford, 1976)'un total protein tayin yöntemi kullanılmış ve Bovine Serum Albumine (BSA) standart olarak alınmıştır.

İstatistiksel değerlendirme

Tetranychus urticae popülasyonlarının 24 saat sonra belirlenen ölüm verilerinden yararlanılarak POLO bilgisayar paket programında (LeOra, 1994) denenen insektisit/akaristinin LC₅₀ ve LC₆₀ değerleri belirlenmiştir. Enzim sonuçlarından elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi tekniği ile (Tek yönlü ANOVA) analiz edilmiş ve popülasyonlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

Pyridaben seleksiyonu sonucu elde edilen *T. urticae* popülasyonlarının LC₅₀ ve LC₆₀ değerleri ve direnç oranları çizelge 1'de verilmiştir. Başlangıç popülasyonunun LC₅₀ değerine göre ardışık seleksiyonlar sonrasında elde edilen direnç oranları sırasıyla 3, 4.1, 7.1, 9.5, 8, 15.1, 16.2, 24.7, 30.7 kat olarak belirlenmiştir. Son seleksiyon popülasyonunda 64.2 kat pyridaben direnci elde edilmiştir (bundan sonra S10 olarak ifade edilecektir).

Çizelge 1. *Tetranychus urticae*'de pyridabene karşı başlangıç ve seleksiyon popülasyonlarında belirlenen LC₅₀ ve LC₆₀ değerleri ve direnç oranları

Table 1. LC₅₀ and LC₆₀ values and resistance rates determined in the initial and selection populations against pyridabene in *Tetranychus urticae*

Popülasyon Population	n*	Eğim±sh Slope±se	LC ₅₀ g / 100 ml (Güven aralıkları confidence limits)	LC ₆₀ g / 100 ml (Güven aralıkları confidence limits)	df	χ ²	Direnç Oranı Resistance Rate
Başlangıç popülasyonu Initial population	600	2.511±0.218	0.019 0.008 - 0.033	0.024 0.012 - 0.046	5	38.507	-
S-1	600	2.825±0.220	0.058 0.048 - 0.069	0.071 0.059 - 0.086	5	5.7101	3
S-2	600	2.426±0.191	0.078 0.067 - 0.090	0.099 0.086 - 0.115	5	2.234	4.1
S-3	600	2.133±0.163	0.136 0.116 - 0.159	0.179 0.154 - 0.210	5	2.007	7.1
S-4	600	2.142±0.157	0.181 0.155 - 0.210	0.237 0.204 - 0.277	5	3.187	9.5
S-5	600	2.032±0.161	0.152 0.128 - 0.179	0.203 0.173 - 0.238	5	4.039	8
S-6	600	2.490±0.181	0.287 0.238 - 0.346	0.363 0.302 - 0.443	5	5.2375	15.1
S-7	600	2.315±0.170	0.308 0.266 - 0.355	0.396 0.344 - 0.460	5	3.040	16.2
S-8	600	3.023±0.228	0.471 0.416 - 0.533	0.571 0.505 - 0.652	5	3.916	24.7
S-9	600	3.424±0.328	0.585 0.477 - 0.706	0.694 0.574 - 0.850	5	6.8270	30.7
S-10	600	1.884±0.142	1.221 0.827 - 1.922	1.664 1.127 - 2.853	5	16.231	64.2

n*: Tekrar sayısı, sh: standart hata, df: serbestlik derecesi, χ²: ki-kare: S1: Seleksiyon 1, S2:Seleksiyon 2, S3: Seleksiyon 3, S4:Seleksiyon 4, S5: Seleksiyon 5, S6: Seleksiyon 6, S7: Seleksiyon 7 S8: Seleksiyon 8, S9: Seleksiyon 9: S10: Seleksiyon 10
n*: Number of replicates, se: standard error, df: degrees of freedom, χ²: chi-square :S1: Selection 1, S2: Selection 2, S3: Selection 3, S4: Selection 4, S5: Selection 5, S6: Selection 6, S7: Selection 7 S8: Selection 8, S9: Selection 9: S10 Selection 10

Tetranychus urticae'nin başlangıç, S5 ve S10 popülasyonları için EST, GST ve P450 enzimlerinin aktiviteleri Çizelge 2'de verilmiştir. EST enzim aktivitesi başlangıç ve S5 popülasyonlarında aynı istatistiksel grupta yer alırken S10 popülasyonu

farklı bir grupta yer almıştır. GST enzimi tüm popülasyonlarda (başlangıç, S5 ve S10) aynı grupta yer almıştır. P450 enziminin aktivitesi ise her bir popülasyonda istatistiksel olarak farklı gruplarda yer almıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. *Tetranychus urticae*'nin GSS, S5 ve S10 popülasyonlarında EST, GST ve P450 enzim aktiviteleri
 Table 2. *EST, GST and P450 enzyme activities in GSS, S5 and S10 populations of Tetranychus urticae*

Popülasyon Population	n*	Spesifik aktivite Specific activity mOD min ⁻¹ mg ⁻¹ protein	Spesifik aktivite Specific activity mOD min ⁻¹ mg ⁻¹ protein	Spesifik aktivite Specific activity mOD min ⁻¹ mg ⁻¹ protein
		EST	GST	P450
Başlangıç Initial	4	10.38b**	3.0a**	0.0018c**
S5	4	11.45b	3.1a	0.0033b
S10	4	17.82a	3.5a	0.0068a

* Tekerrür sayısı: ** Aynı sütünde yer alan aynı harfler istatistiksel olarak aynı grubu gösterir (P<0.05): S5: Seleksiyon 5, S10: Seleksiyon 10

* Number of replicates: **The same letters indicate the same group statistically (P<0.05): S5: Selection 5, S10: Selection 10

Tetranychus urticae popülasyonu ekonomik zarar eşiğinin altında tutulmadığı takdirde birçok üründe ciddi sorunlara neden olabilen, polifag ve kozmopolit bir zararlıdır (Jeppson ve ark., 1975). Bu sebeple yoğun akarisit kullanımına maruz kalmakta ve bunun sonucu olarak da direnç gelişimi görülmektedir. İnsektisit direncini yönetmek veya geciktirmek için direncin altında yatan mekanizmaların aydınlatılması gerekmektedir.

Bu çalışmada laboratuvar koşullarında pyridaben ile selekte edilmiş *T. urticae* popülasyonunun biyokimyasal mekanizmaları incelenmiş ve GSS (hassas popülasyon)'de pyridaben ile ardışık 10 seleksiyon sonucu 64.2 kat direnç gözlemlenmiştir. Literatür incelendiğinde, bir arazi popülasyonu olan *T. urticae*, 20 nesil boyunca art arda pyridaben ile seleksiyona maruz bırakılmış ve direnç oranını 240 olarak belirlemişlerdir (Kim ve ark., 2006). Koo ve ark. (2021)'i çalışmasında, *T. urticae*'nin pyridaben dirençli popülasyonunun duyarlı popülasyona göre 4109,6 kat daha yüksek direnç oranı bulunmuştur. Batı Avustralya'da, dört mevsim boyunca beş tebufenpyrad uygulamasına maruz bırakılan bir elma bahçesinden toplanan *T. urticae* popülasyonu, tebufenpyrad, pyridaben ve fenpyroximate'a karşı sırasıyla 63-, 210- ve 25 kat direnç göstermiştir (Herron ve Rophail, 1998). Belçika'da sıklıkla kullanılan tebufenpyrad, fenpyroximate, pyridaben ve fenazaquin ilaçlarına karşı *T. urticae*'nin arazi popülasyonu sırasıyla 184, 1547, 5971 ve 35 kat direnç göstermiştir (Van Pottelberge ve ark., 2009). Çin (Pinghe, Linhai ve Yidu)'den toplanan *Panonychus citri*

(McGregor) (Acari: Tetranychidae) popülasyonlarının, duyarlı bir popülasyonla karşılaştırıldığında pyridaben'e karşı sırasıyla 266,5-, 417,9- ve 601,5 kat dirence sahip olduğu bildirilmiştir (Hu ve ark., 2010). Çin'de 2017 yılında toplanan *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae) popülasyonu pyridaben'e karşı orta düzeyde bir direnç (31,9 kat) göstermiştir (Feng ve ark., 2020). Yapılan başka bir çalışmada, *Tetranychus kanzawai* Kishida (Acari: Tetranychidae)'nin arazi popülasyonu METI-I akarisitlerinden tebufenpyrad, fenpyroximate ve pyridaben'e karşı sırasıyla 97-, 1,300- ve 130 kat direnç geliştirmiştir (Goka, 1998). Yapılan çalışmalar incelendiğinde pyridaben aktif maddesinin de içerisinde yer aldığı METI akarisitlerine karşı tetranychidlerde birçok direnç çalışması yayınlanmış ve popülasyonların genetik çeşitliliği, zararlı türü ve pestisitlerin yapısı gibi özelliklerin direnç gelişimini etkilediği bildirilmiştir.

Tetranychus urticae'de pestisit direnci, artan metabolik detoksifikasyon aktivitesi (Van Leeuwen ve Tirry, 2007); P450, GST, CarE ve üridin difosfat-glikoziltransferazlar (UGT'ler)'in aşırı ekspresyonu dahil olmak üzere çoklu direnç mekanizmalarıyla ilişkilendirilmiştir (Khalighi ve ark., 2016; Riga ve ark., 2014; Wang ve ark., 2020; Wei ve ark., 2019; Xu ve ark., 2021; Zhang ve ark., 2022). 64.2 kat pyridaben dirençli popülasyonda (S10) GST enzim aktivitesinde başlangıca kıyasla az bir artış olmasına rağmen, iki popülasyonun enzim seviyeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. EST ve P450 enzim seviyeleri arasındaki fark ise istatistiksel olarak

anlamli bulunmuştur. *Panonychus citri*'nin pyridaben direncinde P450 önemli bir faktör olduğu bildirilmiştir (Alavijeh ve ark., 2020; Ding ve ark., 2013). Namin ve ark. (2020), yapmış oldukları çalışmada, yüksek seviyelerde pyridaben direncine ($LC_{30} > 10.000$ mg/L), hedef bölge mutasyonları dışındaki mekanizmalar (özellikle P450'ler) aracılığıyla ulaşılabileceğini belirtmişlerdir. *Tetranychus cinnabarinus*'un pyridaben direnci üzerine yapılan çalışmada, P450'lerin aktivitesinin araziden toplanan popülasyonlarda hassasa göre önemli ölçüde daha yüksek bulunduğunu; ancak GST'lerin ve CarE'lerin aktivitesinin, önemli ölçüde farklı olmadığını belirtmişlerdir (Feng ve ark., 2020). Yapılan çalışmanın sonuçlarına göre ve literatürde yer alan diğer çalışmalardan da yola çıkılarak *T.urticae*'nin pyridaben direncinde EST ve P450 enzimlerinin rol oynama potansiyeli olduğu düşünülmektedir.

Sonuçlar

Zararlılarla etkili bir kimyasal mücadele için duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi önemlidir. Bu çalışmada, laboratuvar seleksiyonları ile *T.urticae*'de pyridaben direnç mekanizması üzerine incelemeler yapılmıştır. Laboratuvarda yapılan bu çalışmaların her zaman arazi koşullarındaki direnci yansıtmadığını belirtmek gerekir. Bu nedenle laboratuvar koşullarında yapay seleksiyon dışında da çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte, sağlam direnç yönetimi programlarının uygulanabilmesi için çapraz direncin altında yatan mekanizmalar da incelenmelidir. Bu nedenle zararlıların duyarlılık düzeylerinin sık aralıklarla kontrol edilip belirlenmesi ve direncin önlenmesi veya geciktirilmesi için gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir.

Çıkar Çatışması: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması bulunmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

Kaynaklar

- Alavijeh, E. S., Khajehali, J., Snoeck, S., Panteleri, R., Ghadamyari, M., Jonckheere, W., Bajda, S., Saalwaechter, C., Geibel, S., Douris, V., Vontas, J., Van Leeuwen, T., & Dermauw, W. (2020). Molecular and genetic analysis of resistance to METI-I acaricides in Iranian populations of the citrus red mite *Panonychus citri*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 164, 73–84.
- Assouguem, A., Kara, M., Mechchate, H., Korkmaz, Y. B., Benmessaoud, S., Ramzi, A., Abdullah, K. R., Noman, O. M., Farah, A., & Lazraq, A. (2022). Current Situation of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in Northern Africa: The Sustainable Control Methods and Priorities for Future Research. *Sustainability*, 14(4), Article 4.
- Badawy, M. E. I., Mahmoud, M. S., & Khattab, M. M. (2022). Toxicity, joint action effect, and enzymatic assays of abamectin, chlorfenapyr, and pyridaben against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 83(1), 22.
- Bajda, S., Dermauw, W., Panteleri, R., Sugimoto, N., Douris, V., Tirry, L., ... & 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.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248–254.
- Dekeyser, M. A. (2005). Acaricide mode of action. *Pest Management Science*, 61(2), 103–110.
- Ding, T.-B., Niu, J.-Z., Yang, L.-H., Zhang, K., Dou, W., & Wang, J.-J. (2013). Transcription profiling of two cytochrome P450 genes potentially involved in acaricide metabolism in citrus red mite *Panonychus citri*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 106(1), 28–37.
- Feng, K., Ou, S., Zhang, P., Wen, X., Shi, L., Yang, Y., Hu, Y., Zhang, Y., Shen, G., Xu, Z., & 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.
- Goka, K. (1998). Mode of inheritance of resistance to three new acaricides in the Kanzawa spider mite, *Tetranychus kanzawai* Kishida (Acari: Tetranychidae). *Experimental & Applied Acarology*, 22(12), 699–708.
- Herron, G. A., & Rophail, J. (1998). Tebufenpyrad (Pyranica®) resistance detected in two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) from apples in Western Australia. *Experimental & Applied Acarology*, 22(11), 633–641.
- Hollingworth, R. M., & Ahammadsahib, K. I. (1995). Inhibitors of respiratory complex I. Mechanisms, pesticidal actions and toxicology. *Reviews in pesticide toxicology (USA)*.
- Hu, J., Wang, C., Wang, J., You, Y., & Chen, F. (2010).

- Monitoring of resistance to spirodiclofen and five other acaricides in *Panonychus citri* collected from Chinese citrus orchards. *Pest Management Science*, 66(9), 1025–1030.
- Jeppson, L. R., Keifer, H. H., & Baker, E. W. (1975). *Mites injurious to economic plants*. Univ of California Press.
- Khalighi, M., Dermauw, W., Wybouw, N., Bajda, S., Osakabe, M., Tirry, L., & Van Leeuwen, T. (2016). Molecular analysis of cyenopyrafen resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science*, 72(1), 103–112.
- Kim, Y., Park, H., Cho, J., & Ahn, Y. (2006). Multiple resistance and biochemical mechanisms of pyridaben resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of economic entomology*, 99(3), 954–958.
- Knowles, C. O. (1997). Mechanisms of Resistance to Acaricides. İçinde V. Sjut (Ed.), *Molecular Mechanisms of Resistance to Agrochemicals* (ss. 57-77). Springer.
- Koo, H.-N., Choi, J., Shin, E., Kang, W., Cho, S.-R., Kim, H., Park, B., & Kim, G.-H. (2021). Susceptibility to Acaricides and the Frequencies of Point Mutations in Etoxazole- and Pyridaben-Resistant Strains and Field Populations of the Two-Spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Insects*, 12(7), Article 7.
- LeOra, S. (1994). Polo-PC: Probit and Logit Analysis. *Berkeley, CA: LeOra Software*.
- Lümmen, P. (2007). "Mitochondrial electron transport complexes as biochemical target sites for insecticides and Acaricides", *Insecticides design using advanced technologies*, 197-215.
- Namin, H. H., Zhurov, V., Spenler, J., Grbić, M., Grbić, V., & Scott, I. M. (2020). Resistance to pyridaben in Canadian greenhouse populations of two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* (Koch). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 170, 104677.
- Nauen, R., Stumpf, N., Elbert, A., Zebitz, C. P. W., & Kraus, W. (2001). Acaricide toxicity and resistance in larvae of different strains of *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae). *Pest Management Science*, 57(3), 253–261.
- Riga, M., Tsakireli, D., Ilias, A., Morou, E., Myridakis, A., Stephanou, E. G., Nauen, R., Dermauw, W., Van Leeuwen, T., & Paine, M. (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.
- Rose, R. L., Barbhuiya, L., Roe, R. M., Rock, G. C., & Hodgson, E. (1995). Cytochrome P450-associated insecticide resistance and the development of biochemical diagnostic assays in *Heliothis virescens*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 51(3), 178–191.
- Stumpf, N., & 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., & Nauen, R. (2002). Biochemical markers linked to abamectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 72, 111–121.
- Sugimoto, N., & 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.
- Tomlin, C. (2003). The e-Pesticide Manual, Version 3.0., BCPC. *Crop Protection Publication: Cambridge, UK, CD-ROM*.
- Van de Vrie, M., McMurtry, J., & Huffaker, C. (1972). Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: A review: III. Biology, ecology, and pest status, and host-plant relations of tetranychids. *Hilgardia*, 41(13), 343–432.
- Van Leeuwen, T., & Tirry, L. (2007). Esterase-mediated bifenthrin resistance in a multiresistant strain of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science*, 63(2), 150–156.
- Van Pottelberge, S., Van Leeuwen, T., Nauen, R., & Tirry, L. (2009). Resistance mechanisms to mitochondrial electron transport inhibitors in a field-collected strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Bulletin of entomological research*, 99(1), 23–31.
- Wang, M., Liu, X., Shi, L., Liu, J., Shen, G., Zhang, P., Lu, W., & He, L. (2020). Functional analysis of *UGT201D3* associated with abamectin resistance in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). *Insect Science*, 27(2), 276–291.
- Wei, P., Li, J., Liu, X., Nan, C., Shi, L., Zhang, Y., Li, C., & He, L. (2019). Functional analysis of four upregulated carboxylesterase genes associated with fenpropathrin resistance in *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). *Pest Management Science*, 75(1), 252–261.
- Wood, E., Latli, B., & Casida, J. E. (1996). Fenazaquin acaricide specific binding sites in NADH: Ubiquinone oxidoreductase and apparently the ATP synthase stalk. *Pesticide biochemistry and physiology*, 54(2), 135–145.
- Xu, D., Zhang, Y., Zhang, Y., Wu, Q., Guo, Z., Xie, W., Zhou, X., & Wang, S. (2021). Transcriptome profiling and functional analysis suggest that the constitutive overexpression of four cytochrome P450s confers resistance to abamectin in *Tetranychus urticae* from China. *Pest Management Science*, 77(3), 1204–1213.
- Yorulmaz Salman, S., & Sarıtaş, E. (2014). Acequinocyl resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): inheritance, synergists, cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. *International Journal of Acarology*, 40(6), 428–435.
- Zhang, Y., Xu, D., Zhang, Y., Wu, Q., Xie, W., Guo, Z., & Wang, S. (2022). Frequencies and mechanisms of pesticide resistance in *Tetranychus urticae* field populations in China. *Insect Science*, 29(3), 827–839.