



Tarım Bilimleri Dergisi
Tar. Bil. Der.

Dergi web sayfası:
www.agri.ankara.edu.tr/dergi

Journal of Agricultural Sciences

Journal homepage:
www.agri.ankara.edu.tr/journal

Avcı Akar *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) Popülasyonlarının Milbemectin'e Karşı Direnç Düzeyleri, Sinerjistleri ve Detoksifikasyon Enzimlerinin Belirlenmesi

Sibel YORULMAZ SALMAN^a, Yasemin YAMAN^a, Fatma AYDINLI^a, Recep AY^a

^aSüleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta, TÜRKİYE

ESER BİLGİSİ

Araştırma Makalesi—Bitkisel Üretim

Sorumlu Yazar: Sibel YORULMAZ SALMAN, E-posta: sibelyorulmaz@sdu.edu.tr, Tel: +90 (246) 211 48 66

Geliş Tarihi: 25 Haziran 2013, Düzeltmelerin Gelişi: 30 Temmuz 2013, Kabul:16 Ağustos 2013

ÖZET

Bu çalışmada, Isparta ili elma bahçelerinden 2012 yılında toplanan 3 *Neoseiulus californicus* popülasyonunun milbemectin'e karşı duyarlılık düzeylerinin ilaçlama kulesi-yaprak disk metoduyla belirlenmesi amaçlanmıştır. *N. californicus* popülasyonlarının milbemectin'e karşı duyarlılık düzeyleri tarla popülasyonlarının LC₅₀ değerinin hassas popülasyonun LC₅₀ değerine oranlanmasıyla bulunmuştur. Ayrıca milbemectin üzerinde piperonyl butoxide (PBO), S-Benzyl-O,O-diisopropyl phosphorothioate (IBP) ve diethylmaleate (DEM) sinerjistlerinin sinerjistik etkileri belirlenmiştir. Eğirdir, Eyüpler ve Gelendost popülasyonlarında milbemectin'e karşı sırasıyla 7.20, 6.52 ve 7.35 kat direnç oranları belirlenmiştir. Eğirdir, Eyüpler ve Gelendost popülasyonlarında PBO, IBP ve DEM sinerjistik etki oranları sırasıyla <1, 1.59 ve 1.85 kat; 1.81, 1.86 ve 1.82 kat ve 1.87, 1.52 ve 2.25 kat olarak belirlenmiştir. *N. californicus* popülasyonlarında glutathion S-transferaz (GST), monooksijenaz (P450) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimleri kinetik yöntemle, esteraz enzimi elektroforez ve kinetik yöntemlerle belirlenmiştir. *N. californicus* popülasyonlarının esteraz, glutathion S-transferaz (GST), monooksijenaz (P450) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzim seviyeleri sırasıyla 8.86-11.64, 2.11-3.82, 0.02-0.05 ve 0.01-0.02 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein arasında değişmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Neoseiulus californicus*; Milbemectin; Direnç; Sinerjist; Detoksifikasyon enzimleri

Determination of the Resistance Levels, Synergists and Detoxification Enzymes of the Predatory Mite *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) Populations to Milbemectin

ARTICLE INFO

Research Article—Crop Production

Corresponding Author: Sibel YORULMAZ SALMAN, E-mail: sibelyorulmaz@sdu.edu.tr, Tel: +90 (246) 211 48 66

Received: 25 June 2013, Received in Revised Form: 30 July 2013, Accepted: 16 August 2013

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the sensitivity levels of 3 *Neoseiulus californicus* populations collected from the apple orchards located in Isparta province in 2012 to milbemectin by using spray tower-leaf disk method. The sensitivity of *N. californicus* populations to milbemectin were calculated by proportioning the LC_{50} levels of the field populations to that of the susceptible population. Moreover, the synergistic effects of the piperonyl butoxide (PBO), S-Benzyl-O,O-diisopropyl phosphorothioate (IBP) and diethylmaleate (DEM) synergists on milbemectin were determined. Resistance ratios of Eğirdir, Eyüpler and Gelendost populations were determined to be 7.20, 6.52 and 7.35 fold to milbemectin, respectively. The synergistic effects of PBO, IBP and DEM in Eğirdir, Eyüpler and Gelendost populations were found as <1, 1.59 and 1.85 fold; 1.81, 1.86 and 1.82 fold; 1.87, 1.52 and 2.25 fold, respectively. Enzymes of glutathione S-transferase (GST), monooxygenase (P450) and acetylcholinesterase (AChE) in *N. californicus* populations were determined by using kinetic method; and the enzyme of esterase was determined by using the electrophoresis and kinetic methods. The enzyme levels of esterase, glutathione S-transferase (GST), monooxygenase (P450) and asetilkolinesterase (AChE) of *N. californicus* populations were changed from 8.86 to 11.64, 2.11 to 3.82, 0.02 to 0.05 and 0.01 to 0.02 mOD $min^{-1} mg^{-1}$ proteins, respectively.

Keywords: *Neoseiulus californicus*; Milbemectin; Resistance; Synergist; Detoxification enzymes

© Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi

1. Giriş

Zararlı kırmızı örümcekler dünya üzerindeki kültür bitkisi üretim alanlarında önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Tsagkarakou et al 1999). Kırmızı örümceklerin üreme potansiyellerinin yüksek, yaşam döngülerinin kısa olması ve pestisitlere karşı hızla direnç geliştirmeleri nedeniyle savaşmada alternatif mücadele yöntemlerine gerek duyulmaktadır (Stumpf & Nauen 2001; Van Leeuwen et al 2005). Phytoseiidae familyası içerisinde yer alan avcı akar türleri de seralarda, bağ alanlarında, meyve ve turunçgil bahçelerinde zararlı akar türlerini baskı altına alabilmektedir (Castagnoli & Falchini 1993; Gotoh et al 2006). Bu familya içerisinde bulunan *Neoseiulus californicus* alternatif besinlerinin bulunması nedeniyle fitofag akarların kontrolünde kullanılan etkin bir avcı akar türüdür (Castagnoli & Simoni 1999). *N. californicus*'un çeşitli ülkelerde ticari ırklarının bulunmasının yanı sıra Avrupa, Güney Afrika, Doğu Asya, Kuzey ve Güney Amerika gibi ülkelerde de doğal popülasyonları bulunmaktadır (Canlas et al 2006). *N. californicus*'un doğal popülasyonu, Türkiye'de ilk kez Aydın'ın Kuşadası ilçesinde çilek, şeftali, fasulye ve biber üzerinden bulunmuştur (Çakmak & Çobanoğlu 2006). Daha sonraki yıllarda Isparta'da

bulunan elma bahçelerinde de *N. californicus* varlığı tespit edilmiştir (Yorulmaz & Ay 2012).

Günümüzde zararlılarla savaşmada uygulanan entegre mücadele programları içerisinde alternatif savaşım yöntemleri kimyasal kullanımı ile desteklenmediğinde verimde ve ürün kalitesinde azalma meydana gelmektedir. Ancak akar mücadelesi için yoğun pestisit kullanılan alanlarda bulunan Phytoseiidae familyası içerisindeki avcı akar türleri de dolaylı olarak kimyasallardan etkilenmektedir. Uygulanan kimyasalların avcı akarlar üzerinde olumsuz yan etkileri olabileceği gibi, zaman zaman bu türlerin kimyasallara karşı direnç geliştirdikleri de bilinmektedir (Tirello et al 2012). Bonafos et al (2007) bağ alanlarından topladıkları *Typlodromus pyri* Scheuten ve *Amblyseius andersoni* (Acari: Phytoseiidae) popülasyonlarının deltamethrin, lamda-cyhalothrin ve chlorpyrifos-ethyl'e karşı orta düzeyden yüksek düzeye kadar değişen oranlarda dirençli bulmuşlardır. Laboratuvar koşullarında yapılan çalışmalarda doğal düşmanların seleksiyon baskısı sonucunda direnç geliştirebileceğini göstermektedir. Sato et al (2000) *Amblyseius womersleyi* Schicha (Acari:Phytoseiidae)'nin methidathion ile laboratuvarında 4 kez seleksiyon sonrası direncinin 311 kat arttığını belirlemişlerdir. Auger et al (2005) ise mancozeb ile 10 kere

seleksiyon yaptıkları *T. pyri*'nin popülasyonunda direncin 73 kat arttığını bulmuşlardır. Bazı pestisitlere karşı direnç geliştiren doğal düşmanların ileride entegre mücadele programları içerisinde kullanılabilecekleri düşünülmektedir. Çünkü entegre mücadelenin içerisinde yer alan pestisit direnç yönetim programlarında zararlı türlerde direnç gelişimi istenmezken; doğal düşmanların pestisitlere karşı dayanıklı olmaları istenmektedir (Dunley et al 1991).

Akarisitler içerisinde abamectin ile aynı grupta yer alan milbemectin toprak mikroorganizmalarından *Streptomyces avermitilis* ve *Streptomyces hygroscopicus*'dan elde edilmektedir (Fritz et al 1979; Clark et al 1995; Van Leeuwen et al 2010). Milbemectin abamectin ile benzer şekilde akarisit özelliğe sahiptir ve fitofag akarların yumurta, larva ve ergin dönemlerinde uygulanmaktadır (Bloomquist 2001; Dekeyser 2005; Nicastro et al 2010). Milbemectin ülkemizde sebze, süs bitkileri ve elma bahçelerinde *Tetranychus urticae* ve *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae)'ye karşı kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, zararlı kırmızı örümceklerin önemli bir avcısı olan *N. californicus*'un elma bahçelerinden toplanan popülasyonlarının milbemectin'e karşı duyarlılık düzeyleri biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle incelenerek direnç düzeyleri ve direnç mekanizmalarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının toplanması ve yetiştirilmesi

Çalışmanın ana materyalini 2012 yılında Isparta ili Eğirdir ve Gelendost ilçelerinden toplanan *N. californicus* popülasyonları oluşturmuştur (Çizelge 1). Laboratuvara getirilen popülasyonlar temiz barbunya bitkileri üzerine aktararak kültüre alınmıştır. Isparta ili Eğirdir ilçesinde bulunan Meyvecilik Araştırma İstasyon Müdürlüğündeki organik elma bahçesinden 2008 yılında toplanılarak Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi

Bitki Koruma Bölümünde bulunan iklim odasında yetiştirilen *N. californicus* popülasyonu hassas popülasyon olarak kullanılmıştır. *N. californicus* popülasyonları, avcı akarların beslenmesi amacıyla yetiştirilen *T. urticae* ve barbunya bitkileri 26±1 °C sıcaklıkta, % 60-65 nem ve 16:8 (A:K) fotoperiyot koşullarının sağlandığı iklim odalarında ve popülasyonların birbirleriyle bulaşmalarını engellemek amacıyla içerisinde su dolu kувetler bulunan kafesler içerisinde yetiştirilmiştir.

Çizelge 1- Elma bahçelerinden toplanan *Neoseiulus californicus* popülasyonları

Table 1- *Neoseiulus californicus* populations collected from apple orchards

Örneğin toplandığı yer	Tarih	Bitki
Eğirdir	27-06-2012	Elma
Eyüpler	27-06-2012	Elma
Gelendost	27-06-2012	Elma
Hassas	14-07-2008	Elma

2.2. Biyoassay çalışmaları

2.2.1. Toksikite testi

Milbemectin ile yapılan biyoassay çalışmalarını tamamında 0-24 saatlik *N. californicus* larvaları kullanılmıştır. Aynı dönem avcı akar larvalarını elde etmek amacıyla, tabanı ıslatılmış pamukla kaplı 9 cm çapındaki petripler üzerinde hazırlanan barbunya yaprak diskleri üzerine 15 adet ergin avcı akar dişisi aktarılmıştır. 15 adet hazırlanan petriplerden 24 saat sonra bırakılan yumurtalar temiz petrilere aktarılmıştır. Yumurtalar açıldıktan sonra aynı dönemdeki avcı akar larvaları denemelerde kullanılmıştır. Bu yöntemde seçilen ilaçlar saf su içinde çözdürülerek uygun dozlar hazırlanmıştır. Hazırlanan ilk dozdan itibaren ilaç konsantrasyonları % 50 seyreltilerek denemeler 1 kontrol+7 doz, 3 tekerrür olacak şekilde kurulmuştur. Nem sağlamak amacıyla ıslatılmış pamukla kaplı 9 cm çapındaki petripler üzerinde yaprak diskler hazırlanmıştır. Yaprak disk üzerine 25 adet 0-24 saatlik avcı akar larvaları binoküler altında yumuşak uçlu fırça yardımıyla aktarılmıştır. Petrilere ilaçlama kulesinde 1 atm basınç altında yaprak üzerine 2 mL olacak

şekilde ilaç püskürtülmüştür. Kontrole sadece saf su uygulanmıştır. Ayrıca yaprak disk üzerine av olarak kullanılmak üzere *T. urticae*'nin tüm yaşam dönemlerini içeren bireyler aktarılmıştır. Ölü-canlı sayımları 7. günde yapılmıştır. Elde edilen verilerden yararlanarak farklı avcı akar popülasyonlarının LC₅₀ değerleri POLO bilgisayar paket programında (LeOra Software 1994) hesaplanmıştır. Avcı akar popülasyonlarının belirlenen LC₅₀ değerlerinin hassas popülasyonun LC₅₀ değerine oranlanması ile direnç katları bulunmuştur.

2.2.2. Sinerjist + ilaç çalışmaları

Sinerjistlerin ilaçlar üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla monoooksijenaz enzim inhibitörü piperonyl butoxide (PBO) (2000 µL L⁻¹) (Van Leeuwen et al 2004), esteraz enzim inhibitörü S-Benzyl-O,O-diisopropyl phosphorothioate (IBP) (200 µL L⁻¹) (Kim et al 2004) ve GST enzim inhibitörü diethylmaleate (DEM) (2000 µL L⁻¹) (Van Leeuwen et al 2004) sinerjistleri kullanılmıştır. Sinerjist+ilaç çalışmalarında avcı akarın 0-24 saatlik larvaları kullanılmıştır. Denemeler biyoassay çalışmalarda anlatıldığı gibi 1 kontrol+7 doz ve 3 tekrür olarak kurulmuştur. Sinerjistler 1:1 oranında aseton:saf su içerisinde çözülmüştür. Hazırlanan sinerjist çözeltileri ilaçlama kulesinde petrilere 1 atm basınç altında 1 ml olarak püskürtülmüştür. Ayrıca yaprak disk üzerine av olarak kullanılmak üzere *T. urticae* aktarılmıştır. İçerisinde avcı akar bulunan petrilere 24 saat boyunca 26±1 °C sıcaklıkta % 60-65 nem ve 16:8 fotoperiyot koşullarının sağlandığı iklim odalarında bırakılmıştır. Sinerjist uygulamasından 24 saat sonra hazırlanan ilaç solüsyonları ile ilaçlama yapılmıştır. Kontrolde sadece sinerjist uygulanmıştır. Ölü-canlı sayımları 7. günde yapılmıştır. Elde edilen verilerden yararlanarak farklı akar popülasyonlarının LC₅₀ değerleri POLO bilgisayar paket programında hesaplanmıştır.

Sinerjistik etki oranı= Sinerjistsiz LC₅₀/ Sinerjistik LC₅₀

2.3. Biyokimyasal çalışmalar

2.3.1. Poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) ile esteraz enziminin incelenmesi

Elektroforez çalışmalarında Goka & Takafuji (1992), Ay & Gürkan (2005)'nin yöntemleri uyarlanarak kullanılmıştır. Elektroforez işlemi mini kasetli sistemde (Bio-Rad) % 7.5'lük ayırıcı ve % 3.5'lük yükleyici jel içeren kesikli doğal elektroforez metodu kullanılmıştır. 5 adet ergin dişi birey 50 µl homojenizasyon tamponunda (% 0.1 Triton X-100 içeren % 32'lik sukroz) içerisinde plastik ezici ile homojenize edilmiştir. Polimerizasyondan sonra her bir jel hücreğine 10 µl homojenat yüklenmiştir. Elektroforezde koşuturma işlemi 150 V'da yaklaşık 1.5 saat'de tamamlanmıştır. 0.2 M fosfat buffer (pH 6.5 ve % 1 aseton içeriyor) ile % 0.02 lik a-naphthyl asetat substrat solüsyonu hazırlanmıştır. Jel bu çözeltilerde esteraz enzimi inkübasyonu için 30 dk. bekletilmiştir. % 0.02'lik a-naphthyl asetat solüsyonu ile % 0.4 oranında fast blue BB salt boya solüsyonu hazırlanmış ve jel bu çözeltilerde 1 saat boyanmıştır. Boyama işlemi bittikten sonra jel % 7'lik asetik asit çözeltilisi içerisine alınmış ve 24 saat sonra görüntüleme cihazında fotoğrafı çekilmiştir.

2.3.2. *Neoseiulus californicus*'un toplam esteraz enziminin kinetik olarak belirlenmesi

Esteraz aktivitesinin kinetik olarak belirlenmesinde substrat olarak α-naphtyl acetate ve Stumpf & Nauen (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. 20 adet ergin dişi 100 µl sodyum fosfat buffer (0.1M, pH 7.5) (% 0.1 Triton X-100 içeren) içinde homojenize edilmiştir. Bu homojenat 10000 g, +4 °C'de ve 5 dk santrifüj edildikten sonra enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Enzim kaynağı olarak kullanılan supernatant 10 kez seyreltilmiştir. Mikropłakanın hücrelerine 25 mL supernatant+25 mL fosfat buffer (0.2 M, pH: 6) konulmuştur. Çalışma hücrelere 200 µL substrat solüsyonunun eklenmesiyle başlatılmıştır. 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-naphtyl acetate'ın eklenmesiyle elde

edilmiştir. Enzim aktivitesi 23 °C, 450 nm’de 10 dk süreyle okunmuştur.

2.3.3. *Neoseiulus californicus*’un glutathion *S*-transferaz (*GST*) enziminin kinetik olarak incelenmesi

GST enziminin kinetik olarak belirlenmesinde Stumpf & Nauen (2002)’in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. 30 ergin dişi 300 µL Tris HCl buffer (0.05M, pH:7.5) içinde homojenize edilmiştir. Supernatant 10000 g, +4 °C’de 5 dk santrifüj edilmiştir. 100 µL supernatant, 100 µL 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) ve 100 µL reduced glutathione (GSH)’dan oluşan toplam hacim mikropilaka hücrelerine konulmuştur. CDNB % 0.1 ethanolde hazırlanmış ve final konsantrasyonda hücrelerde 0.4 mM CDNB bulunmuştur. GSH, Tris HCl tamponda hazırlanmış ve final konsantrasyonda hücrelerde 4 mM GSH bulunmuştur. Absorbanstaki değişim 340 nm, 25 °C’de ve 5 dk’da okunmuştur.

2.3.4. *Neoseiulus californicus*’un monoksijenaz (*P450*) enziminin kinetik olarak incelenmesi

Sitokrom P450 monooksijenaz enziminin belirlenmesinde substrat olarak *p*-nitroanisole (PNOD) ve Rose et al (1995) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. 50 adet dişi birey 100 mL homojenizasyon bufferında (0.05 M Tris-HCl + % 1.15 KCl + 1mM EDTA, pH: 7.7) plastik ezici ile ezilerek +4 °C 10000 g’de 20 dk santrifüj edilmiştir. Mikropilaka hücrelerine 45 mL homojenizasyon buffer + 45 mL supernatant+100 mL 2mM PNOD eklenerek karışım 30 °C’de 5 dk inkübe edilmiştir. Reaksiyon mikropilaka hücrelerine 10 mL 9.6 mM NADPH eklenerek başlatılmıştır. P450 enzim aktivitesi Versamax kinetic microplate reader’da (Molecular Devices) 405 nm 30 °C’de 15 dk süreyle ölçülmüştür.

2.3.5. *Neoseiulus californicus*’un asetilkolinesteraz (*AChE*) enziminin kinetik olarak incelenmesi

Asetilkolinesteraz belirlenmesinde Stumpf et al (2001) yöntemi uyarlanarak kullanılmıştır. *N. californicus*’un 50 ergin dişisi eppendorf tüp içinde bulunan 500 mL % 0.1 Trion X-100 içeren fosfat

buffer (0.1 M pH: 7.5) içinde plastik ezici ile homojenize edilmiştir. Buz içinde 20 dk dokuların çözülmesi beklendikten sonra, homojenat 10 000 g, 4 °C’de ve 5 dk santrifüj edilerek elde edilen supernatant enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. *AChE* aktivitesini ölçmek için mikropilaka hücrelerine 100 mL acetylcholine iodide (*ATChI*), 100 mL 5.5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (*DTNB*) ve 100 mL enzim solüsyonu konmuştur. 300 mL’lik final konsantrasyonunda her bir maddenin miktarı 0.5 mM olmuştur. *AChE* aktivitesi kinetik mikropilaka okuyucuda 23 °C de 412 nm’de 20 dakikada ölçülmüştür.

Biyokimyasal çalışmalarda, kontrol hücreleri ise homojenatsız olarak okunmuştur. Enzim okumaları en az üç tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Tüm enzim aktiviteleri Softmax PRO software programında analiz edilmiş ve sonuçlar $\text{mOD min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ olarak verilmiştir. Örneklerin toplam protein miktarlarının belirlenmesinde Bradford (1976)’un total protein tayin yöntemi kullanılmış ve Bovine Serum Albumine (*BSA*) standart olarak alınmıştır. Enzim sonuçlarından elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi tekniği ile (One-Way ANOVA) analiz edilmiş ve popülasyonlar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır (Winer et al 1991).

3. Bulgular ve Tartışma

Bu çalışmada zararlı kırmızı örümceklerin önemli ve etkili bir avcısı olan *N. californicus*’un elma bahçelerinden toplanan popülasyonlarının milbemectin’e karşı direnç düzeyleri ve direnç mekanizmaları biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle belirlenmiştir.

3.1. Biyoassay sonuçları

3.1.1. Toksikite sonuçları

Isparta ili Eğirdir ve Gelendost ilçelerindeki elma bahçelerinden toplanan *N. californicus* popülasyonlarının milbemectin’e karşı duyarlılık düzeyleri Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2- *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının milbemectin'e karşı belirlenen LC₅₀ değerleri ve direnç oranları

Table 2- Resistance ratios and LC₅₀ levels determined from *Neoseiulus californicus* populations to milbemectin

Popülasyon	n*	Eğim±se	LC ₅₀ (mg a.i l ⁻¹) (% 95 CL)	R**
Eğirdir	600	1.35±0.12	2.45 1.87-3.13	7.20
Eyüpler	600	1.42±0.11	2.22 1.81-2.71	6.52
Gelendost	600	1.36±0.12	2.50 1.94-3.15	7.35
Hassas popülasyon	600	1.98±0.21	0.34 0.21-0.46	-

*, Denemede kullanılan birey sayısı; **, Direnç oranı

N. californicus popülasyonlarında milbemectin'e karşı en yüksek direnç oranı 7.35 kat ile Gelendost popülasyonunda belirlenmiştir. Eğirdir popülasyonunda milbemectin'e karşı 7.20 kat ve Eyüpler popülasyonunda ise 6.52 kat direnç belirlenmiştir. Hassas popülasyonla karşılaştırıldığında tarla popülasyonlarının tamamı milbemectin'e karşı LC₅₀ değerlerine göre dirençli bulunmuştur. Eğirdir, Eyüpler ve Gelendost popülasyonlarında 7.20, 6.52 ve 7.35 kat direnç belirlenmiştir. Sato et al (2005) 342 kat abamectin dirençli *T. urticae* popülasyonunda milbemectin'e karşı 16.3 kat çapraz direnç geliştiğini belirlemişlerdir. Suh et al (2006) sera ve elma bahçesinden toplanan *T. urticae* popülasyonlarında fenpyroximate ve pyridaben direnç oranlarını saptamışlardır. Sökeli et al (2007) Isparta ili ve çevresindeki elma üretimi yapılan alanlardan toplanan *T. urticae* popülasyonlarında propargite, chlorpyrifos ve abamectin için sırasıyla <1.0-1.046, 2.341-40.206 ve <1.0-1.387 kat direnç belirlemiştir. Bonafos et al (2007) bağ alanlarından topladıkları avcı akarlar *T. pyri* ve *A. andersoni* popülasyonlarının deltamethrin, lamda-cyhalothrin ve chlorpyrifos-ethyl'e karşı orta düzeyden yüksek düzeye kadar değişen oranlarda dirençli bulmuşlardır. Yorulmaz et al (2010) Isparta elma bahçelerinden topladıkları 13 adet *T. urticae* popülasyonunda cyhexatin'e karşı 1.24-

3.36 kat, propargite karşı ise 1.23-3.18 kat arsında değişen direnç tespit etmişlerdir. Mugo et al (2011) chlorpyrifosa karşı *Euseius kenyae* (Swirski & Ragusa) (Acari: Phytoseiidae)'nun popülasyonlarında 1-10 kat arasında değişen düzeylerde direnç bulmuşlardır. Tirello et al (2012) bağ alanları ve elma bahçelerinden toplanan dört farklı *Kampimodromus aberrans* (Oudemans) (Acari: Phytoseiidae) popülasyonlarında 1.85-6.83 arasında değişen katlarda chlorpyrifos direnci belirlemişlerdir. Yorulmaz & Ay (2012) Isparta ili elma bahçelerinden topladıkları *N. californicus*'un 8 popülasyonunda spiromesifen'e karşı 4.35-7.61 kat; hexythiazox'a karşı 3.75-8.01 kat, ve spirodiclofen'e karşı 5.07-8.60 kat direnç belirlemişlerdir. Literatürde de yapılan çalışma ile benzer şekilde bazı avcı akarların tarla koşullarında bazı pestisitlere karşı direnç geliştirebildiği belirtilmektedir. Milbemectin elma bahçelerinde iki noktali kırmızı örümcek ve Avrupa kırmızı örümceğine karşı 14.06.2012 tarihinde ruhsat almış ve bu tarihten sonra elma bahçelerinde uygulanmaya başlanmıştır. Bunun yanı sıra son birkaç yıla kadar Isparta ilindeki elma bahçelerinde kırmızı örümcek mücadelesi için abamectin kullanılmaktadır (Sökeli et al 2007). Özellikle *N. californicus*'un tarla popülasyonlarında gelişen milbemectin direncinin önceki yıllarda kullanılan abamectin ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Çünkü abamectin ile milbemectin arasında çapraz direnç gelişimi bulunmaktadır (Sato et al 2005).

3.1.2. Sinerjistik + ilaç sonuçları

N. californicus popülasyonlarında milbemectin+PBO, milbemectin+IBP ve milbemectin+DEM sinerjistiklerinin birlikte uygulanması sonucu belirlenen sinerjistik etki oranları Çizelge 3'de verilmiştir.

Milbemectin+PBO'nun birlikte uygulanması sonucunda Eğirdir popülasyonunda <1 kat, Eyüpler popülasyonunda 1.59 kat ve Gelendost popülasyonunda ise 1.85 kat sinerjistik etki oranları belirlenmiştir. Milbemectin+IBP'un birlikte uygulanması sonucunda tüm popülasyonlarda belirlenen sinerjistik etki oranları birbirine yakın bulunmuştur (sırasıyla Eğirdir, Eyüpler ve Gelendost popülasyonları için; 1.81, 1.86 ve 1.82 kat). DEM sinerjistikinin milbemectin ile

Çizelge 3- *Neoseiulus californicus* popülasyonlarında milbemectin ve milbemectin+ sinerjistlerin LC₅₀ değerleri ve sinerjistik etki oranlarıTable 3- LC₅₀ levels and synergistic effect rates of milbemectin and milbemectin+synergist in *Neoseiulus californicus* populations

Popülasyon	n*	Eğim±se	LC ₅₀ (mg a.i l ⁻¹) (% 95CL)	SR**
Eğirdir (Sinerjistsiz)	600	1.35±0.12	2.45 1.87-3.13	-
Milbemectin + PBO	600	1.87±0.15	2.47 1.92-2.84	0.99
Milbemectin +IBP	600	1.34±0.16	1.35 1.05-1.64	1.81
Milbemectin +DEM	600	1.38±0.13	1.31 1.01-1.66	1.87
Eyüpler (Sinerjistsiz)	600	1.42±0.11	2.22 1.81-2.71	-
Milbemectin + PBO	600	1.80±0.15	1.39 1.12-1.69	1.59
Milbemectin +IBP	600	1.46±0.14	1.19 0.90-1.51	1.86
Milbemectin +DEM	600	1.24±0.10	1.46 1.03-2.13	1.52
Gelendost (Sinerjistsiz)	600	1.36±0.12	2.50 1.94-3.15	-
Milbemectin + PBO	600	1.41±0.14	1.35 1.02-1.72	1.85
Milbemectin +IBP	600	1.28±0.13	1.37 1.03-1.77	1.82
Milbemectin +DEM	600	1.32±0.10	1.11 0.90-1.10	2.25

*, Birey sayısı; **, Sinerjistik etki oranı

birlikte uygulanması sonucunda ise Gelendost popülasyonunda 2.25 kat ile en yüksek sinerjistik etki oranı bulunmuştur. Eyüpler popülasyonunda 1.52 kat ile en düşük sinerjistik etki oranı belirlenirken, Eğirdir popülasyonunda ise 1.87 kat etki bulunmuştur.

3.2. Biyokimyasal sonuçlar

Biyokimyasal çalışmalar içerisinde *N. californicus* popülasyonlarının esterase enzimleri hem elektroforetik hem de kinetik olarak incelenmiştir. Ayrıca *N. californicus* popülasyonlarının GST, sitokrom P450 ve AChE enzim aktiviteleri de kinetik olarak belirlenmiştir.

3.2.1. Esteraz, glutathion s-transferaz (gst), sitokrom p450 monoooksigenaz ve asetilkolinesteraz (ache) enzim aktivitesi sonuçları

N. californicus'un hassas Eğirdir, Eyüpler ve Gelendost popülasyonlarının esterase, GST, P450 ve AChE enzim seviyeleri Çizelge 4'de verilmiştir.

Esteraz enzimi Eğirdir popülasyonunda 11.64 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein değeriyle en yüksek olarak belirlenmiştir. Gelendost popülasyonunda 10.29 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein ve Eyüpler popülasyonunda ise 9.28 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein olarak belirlenmiştir. Tarla popülasyonlarının tamamında esterase enzim seviyesi hassas popülasyona göre

Çizelge 4- *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının esteraz, GST, P450 ve AChE enzim aktiviteleri (P<0.05)Table 4- Esterase, GST, P450 and AChE enzyme activities of *Neoseiulus californicus* populations (P< 0.05)

Popülasyon	Esteraz		GST		P450		AChE	
	N*	mOD ⁻¹ min ⁻¹ mg protein	N*	mOD ⁻¹ min ⁻¹ mg protein	N*	mOD ⁻¹ min ⁻¹ mg protein	N*	mOD ⁻¹ min ⁻¹ mg protein
Eğirdir	4	11.64 A**	4	3.70 A**	4	0.02 B**	4	0.01 A**
Eyüpler	4	9.28 A**	4	3.82 A**	4	0.03 B**	4	0.01 A**
Gelendost	4	10.29 A**	4	3.12 A**	4	0.05A**	4	0.02 A**
Hassas popülasyon	4	8.86 B**	4	2.11 B**	4	0.03 B**	4	0.02 A**

*, N: tekerrür sayısı

**, Sütunlar yukarıdan aşağıya incelendiğinde aynı harfi içeren ortalamalar istatistiksel olarak önemli değildir (P<0.05)

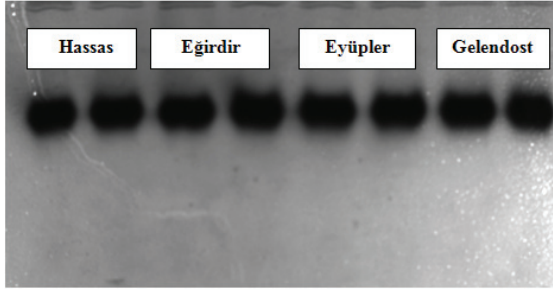
yüksek bulunmuş ve istatistiki olarak farklı grupları oluşturmuşlardır (P<0.05) (Çizelge 4). GST enzimi Eğirdir popülasyonunda 3.70 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein değeriyle en yüksek oranda belirlenirken, hassas popülasyonda ise 2.11 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein değeriyle en düşük seviyede belirlenmiştir. GST enzimi bakımından tarla popülasyonlarının tamamı ile hassas popülasyon istatistiki olarak birbirlerinden farklı bulunmuşlardır (P<0.05) (Çizelge 4). Eğirdir ve Eyüpler popülasyonlarında P450 enzim seviyesi hassas popülasyonla benzer bulunmuş ve bu üç popülasyon istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almışlardır. P450 enzimi Gelendost popülasyonunda 0.05 mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein değeriyle en yüksek seviyede belirlenerek istatistiki olarak diğerlerinden farklı bir grubu oluşturmuştur (Çizelge 4). *N. californicus*'un tüm popülasyonlarında AChE enzim seviyesi birbirlerine benzer bulunarak aynı grup içerisinde yer almışlardır (P<0.05).

N. californicus'un Eğirdir, Eyüpler ve Gelendost popülasyonlarında milbemectin+PBO'nun birlikte uygulanması sonucunda sırasıyla <1 kat, 1.59 kat ve 1.85 kat sinerjistik etki belirlenmiştir. Milbemectin'e karşı 7.35 kat ile en yüksek direnç oranına sahip Gelendost popülasyonunda P450 monoksigenaz enzim inhibitörü PBO sinerjisti için 1.85 kat ile en yüksek sinerjistik etki belirlenmiştir. Bunun yanı sıra Gelendost popülasyonunda 0.05

mOD min⁻¹ mg⁻¹ protein değeri ile en yüksek P450 monooksigenaz enzim aktivitesi de bulunmuştur. Eğirdir popülasyonunda PBO ile yapılan çalışmalar sonucunda <1 sinerjistik etki oranı belirlenmiştir. Bu popülasyonda P450 monoksigenaz enzimi hassas popülasyonla benzer bulunmuştur. Eyüpler popülasyonunda ise PBO için 1.59 kat sinerjistik etki belirlenmiş, fakat P450 enzim seviyesi hassas popülasyonla benzer bulunmuştur. P450 enzimi ve PBO sinerjisti birlikte düşünüldüğünde Gelendost popülasyonunda milbemectin'e karşı gelişen dirençte P450 monoksigenaz enziminin etkisi olduğu düşünülmektedir. Sato et al (2001) monooksigenaz inhibitörleri olan piperonyl butoxide ve 2-propynyl 2,3,6-trichlorophenyl'in methidathion dirençli *A. womersleyi*'de yüksek derecede sinerjistik etki gösterdiğini ve oksidatif metabolizmasının arttığını ortaya koymuşlardır. Kim et al (2006) 240 kat pyridaben dirençli *T. urticae*'de fenpyroximate için 373 kat, acrinathrin için 329 kat, benzoximate için 84 kat direnç tespit belirledikleri çalışmada PBO'nun pyridaben direnci üzerinde büyük etkisi olduğunu bulmuşlardır. Sato et al (2006) 177 kat methidathion dirençli ve hassas *A. womersleyi*'de monoksigenaz aktivitesinin dirençli popülasyonda hassas popülasyona göre 3.60 kat arttığını belirlemişlerdir.

Milbemectin+IBP ile yapılan çalışmalar sonucunda *N. californicus*'un tüm tarla

popülasyonlarında sinerjistik etki oranları birbirine yakın bulunmuştur (1.81-1.86 kat). Esteraz enzim inhibitörü IBP sinerjisti ile yapılan çalışmalar popülasyonlarda belirlenen esteraz enzim seviyelerini de desteklemektedir. Çünkü Eğirdir, Eyüpler ve Gelendost popülasyonlarında belirlenen esteraz enzim miktarları hassas popülasyonda belirlenen enzim miktarlarına göre daha yüksek olmuş ve istatistikî olarak farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Elektroferez çalışmaları sonucu özellikle Eğirdir ve Gelendost popülasyonlarından elde edilen esteraz bantlarının hassas popülasyondan elde edilen bantlara göre daha kalın olduğu belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1- *Neoseiulus californicus* popülasyonlarının esteraz izozimleri

*Figure 1- Esterase isozymes of *Neoseiulus californicus* populations*

Bu sonuçlar göz önüne alındığında *N. californicus*'un tüm tarla popülasyonlarında milbemectin'e karşı gelişen dirençte esteraz enziminin rol oynadığı düşünülmektedir. Booth et al (2007) tarla ve laboratuvar koşullarında, lambda-cyhalothrin ve dimethoate'nin *Rhopalosiphon padi* (L.) (Hemiptera: Aphidoidea) ve afitin predatörü olan *Micromus tasmaniae* Walker (Neuroptera: Hymenoptera) üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada kolinesteraz enzimi dimethoate direncini etkilerken; GST enziminin lambda-cyhalothrin ve dimethoate üzerine etkisi olmadığı belirlenmiştir. Sayyed et al (2010) 896 kat deltamethrin dirençli *Chrysoperla carnae* (Neuroptera: Chrysopidae) popülasyonunda esteraz ve monoksigenaz enzim seviyelerinin arttığını belirlemişlerdir.

GST enzim inhibitörü DEM sinerjisti ile yapılan çalışmalar sonucunda milbemectin'e karşı 7.35 kat ile en yüksek direnç oranına sahip olan Gelendost popülasyonunda 2.25 kat ile en yüksek sinerjistik etki belirlenmiştir. Eğirdir ve Eyüpler popülasyonlarında da 1.87 ve 1.52 kat ile DEM sinerjisti için yüksek sinerjistik etkiler bulunmuştur. Bunun yanı sıra Eğirdir, Eyüpler ve Gelendost popülasyonlarının tamamında GST enzim seviyesi hassas popülasyona göre yüksek bulunmuş ve istatistikî olarak farklı gruplarla ifade edilmişlerdir ($P<0.05$). Fournier et al (1987) *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae)'in demethidathion direnci üzerinde yalnızca GST enziminin etkili olduğunu bulmuşlardır. Pottelberge et al (2009) 274 kat spirodiclofen dirençli *T. urticae* popülasyonunda P450 monoksigenaz, esteraz ve GST enzimlerinin direnç gelişiminde rol oynadığını belirlemişlerdir. Yorulmaz & Ay (2009) seleksiyon sonucu 35.05 kat abamectin direnci geliştirilen *T. urticae* popülasyonunda GST ve P450 monooksigenaz enzimlerinin etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Neoseiulus californicus'un Eğirdir, Eyüpler ve Gelendost popülasyonlarında belirlenen AChE enzim seviyeleri hassas popülasyonda belirlenen AChE enzim seviyesi arasında istatistikî olarak bir farklılık bulunmamıştır. Bu durumda avcı akarın tarla popülasyonlarında gelişen milbemectin direnci üzerine AChE enziminin bir etkisi olmadığı söylenebilir. Ancak kesin bir ifade için AChE enzim inhibitörü olan sinerjistlerle çalışma yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Anber and Overmeer (1988) *A. andersoni*'de substrat olarak asetiltiocholine kullanarak S ve A ırklarında 0.71 ve 0.35 kat asetilkolinesteraz enzimi belirlemişlerdir. Kumral et al (2011) *P. ulmi* ve avcısı *Stethorus gilvifrons* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae)'da parathion-methyl direnci, karboksilesteraz enzim seviyesi ve AChE hassasiyetini benzer bulmuşlar ve *Stethorus gilvifrons*'un tarla koşullarında ilaçlara karşı direnç geliştirebileceği belirtilmiştir.

3.2.2. Poliakrilamid jel elektroferez sonuçları

N. californicus popülasyonlarının esteraz enzimleri poliakrilamid jel elektroferez yöntemiyle

belirlenmiş ve bantlar Şekil 1'de verilmiştir. *N. californicus*'un tüm popülasyonlarında esteraz enzimleri tek banttan oluştuğu belirlenmiştir. Hassas popülasyona ait bantlara Eyüpler popülasyonuna ait bantlar benzerlik göstermiştir. Eğirdir ve Gelendost popülasyonuna ait bantların kalınlıkları ise hassas popülasyona ait bant kalınlıklarından biraz daha yoğun olduğu gözlemlenmiştir.

4. Sonuçlar

Sonuç olarak, bu çalışmada *N. californicus*'un tarla popülasyonlarının milbemectin'e karşı direnç gelişimleri biyoassay ve biyokimyasal yöntemlerle incelenerek direnç mekanizmaları belirlenmeye çalışılmıştır. Özellikle kırmızı örümcek mücadelesinde uzun yıllardan beri abamectin kullanılan elma bahçelerinde milbemectin'e karşı belirlenen dirençte abamectin'in sorumlu olduğu düşünülmektedir. Çünkü abamectin ve milbemectin aynı grup içerisinde yer alan ve aralarında çapraz direnç gelişimi belirlenen akarisitlerdir. Bu nedenle milbemectin'in de uzun süre kullanımlarında abamectin benzeri zararlı ve doğal düşman popülasyonları üzerinde direnç gelişimine neden olacağı düşünülmektedir. Bu tür çalışmaların yapılarak olası sonuçların ortaya konması ileride entegre mücadele programları içerisinde hem milbemectin dirençli zararlıların mücadelesinde hem de dirençli doğal düşmanların kullanımında fayda sağlayacaktır. Avcı akarın tarla popülasyonlarında milbemectin'e karşı direnç gelişiminden tek bir enzim aktivitesinin sorumlu olmadığı, esteraz, P450 monooksijenaz ve GST enzimlerinin değişik oranlarda direnç gelişimine katıldığı düşünülmektedir. İlaçların doğal düşmanlar üzerindeki yan etkilerinin yanı sıra predatör ve parazitoidlerin bazı kimyasallara karşı direnç kazandığı bilinmektedir. Çünkü yoğun ilaç uygulanan alanlarda bulunan doğal düşmanlar hedef olmamalarına rağmen uygulanan kimyasallardan dolayı olarak etkilenmektedir. Bir şekilde ilaçlara karşı direnç kazanan doğal düşmanların özellikle direnç yönetim programları içerisinde kullanılabilceği düşünülmektedir (Sato et al 2000). Ayrıca yapılan bu çalışma, avcı akar *N.*

californicus'da milbemectin direnç mekanizmasının belirlenmesi adına dünyada ve ülkemizde yapılan ilk çalışma olması yönünden de önem kazanmaktadır. Bu tür çalışmalar *N. californicus*'da ileride yapılacak olan diğer çalışmalara da altyapı hazırlaması yönünden fayda sağlayacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışmada elma bahçelerinden toplanan kırmızı örümceklerin teşhisini yapan Prof. Dr. Sultan ÇOBANOĞLU'na teşekkür ederiz. 110-O-631 No'lu proje ile çalışmayı maddi olarak destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırmalar Kurumu (TÜBİTAK-TOVAG)'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Anber H A I & Overmeer W P J (1988). Resistance to organophosphates and carbamates in the predacious mite *Amblyseius potentillae* (Garman) due to insensitive acetylcholinesterase. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **31**(1): 91-98
- Ay R & Gürkan M O (2005). Resistance to bifenthrin and resistance mechanisms of different strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) from Turkey. *Phytoparasitica* **33**: 237-244
- Auger P, Bonafos R, Kreiter S & Delorme R (2005). A genetic analysis of mancozeb resistance in *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology* **37**: 83-91
- Bloomquist J R (2001). GABA and glutamate receptors as biochemical sites for insecticide action. In: Ishaaya I (ed) Biochemical sites of insecticide action and resistance. *Springer*, New York, pp: 17-41
- Bonafos R, Serrano E, Auger P & Kreiter S (2007). Resistance to deltamethrin, lambda-cyhalothrin and chlorpyrifos-ethyl in some populations of *Typhlodromus pyri* Scheuten and *Amblyseius andersoni* (Chant) (Acari: Phytoseiidae) from vineyards in the south-west of France. *Crop Protection* **26**: 169-172
- Booth L H, Wratten S D & Kehrl P (2007). Effects of reduced rates of two insecticides on enzyme activity and mortality of an aphid and its lacewing predator. *Journal Economic Entomology* **100**(1): 11-19
- 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**: 248-254
- Canlas L J, Amano H, Ochiai N & Takeda M (2006). Biology and predation of the Japanese strain of *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). *System Applied Acarology* **11**: 141-157
- Castagnoli M & Falchini L (1993). Suitability of *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) as prey for *Amblyseius californicus* (McGregor) (Acarina: Phytoseiidae). *Redia* **77**: 273-279
- Castagnoli M & Simoni S (1999). Effect of long-term feeding history on functional and numerical response of *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental Applied Acarology* **23**: 217-234
- Clark C M, Scott C G, Campos F & Bloomquist J R (1995). Resistance to avermectins: extent, mechanism and management implications. *Annual Review Entomology* **40**: 1-30
- Çakmak İ & Çobanoğlu S (2006). *Amblyseius californicus* (McGregor 1954) (Acari: Phytoseiidae), a new record for the Turkish fauna. *Turk Journal Zoology* **30**: 55-58
- DeKeyser M A (2005). Review acaricide mode of action. *Pest Management Science* **61**: 103-110
- Dunley J E, Messing R H & Croft B A (1991). Levels and genetics of organophosphate resistance in Italian and Oregon biotypes of *Amblyseius andersoni* (Acari: Phytoseiidae). *Journal of Economic Entomology* **84**: 750-755
- Fournier D, Cuany A, Pralavorio M, Bride J M & Berge J B (1987). Analysis of methidathion resistance mechanisms in *Phytoseiulus persimilis* A.H. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **28**(2): 271-278
- Fritz L C, Wang C C & Gorio A (1979). Avermectin B1A irreversibly blocks post synaptic potentials at the lobster neuromuscular junction by reducing muscle membrane resistance. *Proc Natl Acad Science* **76**: 2062-2066
- Goka K & Takafuji A (1992). Enzyme variations among Japanese populations of the two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch. *Applied Entomology Zoology* **27**: 141-150
- Gotoh T, Tsuchiya A & Kitashima Y (2006). Influence of prey on developmental performance, reproduction and prey consumption of *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental Applied Acarology* **40**: 189-204
- Kim Y J, Lee S H, Lee S W & Ahn Y J (2004). Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. *Pest Management Science* **60**(10): 1001-1006
- Kim Y J, Park H M, Cho J R & Ahn Y J (2006). Multiple resistance and biochemical mechanisms of pyridaben resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology* **99**(3): 954-958
- Kumral N A, Gencer N S, Susurluk H & Yalcin C (2011). A comparative evaluation of the susceptibility to insecticides and detoxifying enzyme activities in *Stethorus gulyifrons* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Panonychus ulmi* (Acarina: Tetranychidae). *International Journal of Acarology* **37**(3): 255-268
- LeOra Software (1994). Polo-pc: a user's guide to probit or logit analysis leora software. Berkeley p. 28
- Mugo H M, El-Banhawy E M, Irungu L W, Ndegwa P N & Mburu D N (2011). Resistance of predacious mite, *Euseius kenyae* (Acari: Phytoseiidae) to chlorpyrifos (Dursban) in Kenyan coffee farms. *Jagst* **13**(1): 53-64
- Nicastro R L, Sato M E & Silva M Z (2010). Milbemectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): selection, stability and cross-resistance to abamectin. *Experimental Applied Acarology* **50**: 231-241
- Pottelberge S V, Leeuwen T V, Khajeali J & Tirry L (2009). Genetic and biochemical analysis of a laboratory-selected spirodiclofen-resistant strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Pest Management Science* **65**: 358-366
- Rose R L, Barbhaiya R, Roe G, Rock E & Hodgson E (1995). Cytochrome P-450-associated insecticide resistance and the development of biochemical diagnostic assays in *Heliothis virescens*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **51**: 178-191
- Sato E M, Miyata T, Kawai A & Nakano O (2000). Selection for resistance and susceptibility to methidathion and cross resistance in *Amblyseius womersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). *Applied Entomology Zoology* **35**(3): 393-399
- Sato E M, Miyata T, Kawai A & Nakano O (2001). Methidathion resistance mechanisms in *Amblyseius womersleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* **69**: 1-12
- Sato M E, Silva M Z, Raga A & Filho M F S (2005). Abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch

- (Acari: Tetranychidae): selection, cross-resistance and stability of resistance. *Neotropic Entomology* **34**: 991-998
- Sato E M, Tanaka T & Miyata T (2006). Monoxygenase activity in methidathion resistant and susceptible populations of *Amblyseius wormsleyi* Schicha (Acari: Phytoseiidae). *Experimental Applied Acarology* **39**: 13-24
- Sayyed A H, Pahtan A K & Faheem U (2010). Cross-resistance, genetics and stability of resistance to deltamethrin in a population of *Chrysoperla carnea* from Multan, Pakistan. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **98**: 325-332
- Sökeli E, Ay R & Karaca İ (2007). Determination of the resistance level of two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) populations in apple orchards in Isparta province against some pesticides. *Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences* **13**(4): 326-330
- 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**: 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
- Stumpf N, Zebitz P W, Kraus W, Moores G D & Nauen R (2001). Resistance to organophosphates and biochemical genotyping of acetylcholinesterases in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* **69**: 131-142
- Suh E, Koh S H, Lee J H, Shin K I & Cho K (2006). Evolution 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**: 151-165
- Tirello P, Pozzebon A & Duso C (2012). Resistance to chlorpyrifos in the predatory mite *Kampimodromus aberrans*. *Experimental Applied Acarology* **56**: 1-8
- Tsagkarakou A, Navajas M, Rousset F & Pasteur N (1999). Genetic differentiation in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from greenhouses in France. *Experimental Applied Acarology* **23**: 365-378
- Yorulmaz S & 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**: 393-402
- Yorulmaz S & Ay R (2012). Isparta ili elma bahçelerinden toplanan avcı akar *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) popülasyonlarının bazı akarisitlere karşı direnç düzeyleri ve direnç mekanizmaları. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* **16**(2): 122-132
- Yorulmaz S, Kaplan P, Boztürk D, Çobanoğlu S & Ay R (2010). Isparta ili elma bahçelerinden toplanan *Tetranychus urticae* Koch. (Acarina: Tetranychidae) popülasyonlarının cyhexatin ve propargite karşı duyarlılıklarının belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* **5**(1): 17-23
- Van Leeuwen T, Stillatus V & Tirry L (2004). Genetic analysis and cross-resistance spectrum of a laboratory-selected chlorfenapyr resistant strain of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology* **32**: 249-261
- Van Leeuwen T, Pottelberge S V & Tirry L (2005). Comparative acaricide susceptibility and detoxifying enzyme activities in field-collected resistant and susceptible strains of *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science* **61**: 499-507
- Van Leeuwen T, Vontas J, Tsagkarakou A, Dermauw V & Tirry L (2010). Acaricide resistance mechanism in the two spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: A review. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* **40**: 563-572
- Winer B J, Brown D R & Michels K M (1991). Statistical principles in experimental design. Third edition, ISBN 0-07-070982-3, New York