ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİ PAMUK EKİLİŞ ALANLARINDA BULUNAN PAMUK YAPRAKBİTİ [*Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)] POPÜLASYONLARININ NEONİKOTİNOİDLİ İNSEKTİSİTLERE DİRENCİNİN İNCELENMESİ

CAHİT KAYA

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ANKARA
2020

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

GÜNEYDOĞU ANADOLU BÖLGESİ PAMUK EKİLİŞ ALANLARINDA BULUNAN PAMUK YAPRAKBİTİ [*Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)] POPÜLASYONLARININ NEONİKOTİNOİDLİ İNSEKTİSİTLERE DİRENCİNİN İNCELENMESİ

Cahit KAYA

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nurper GÜZ

Bu çalışma 2017-2019 yıllarında, Güneydoğu Anadolu Bölgesi pamuk ekiliş alanlarından toplanan pamuk yaprakbiti [*Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)] popülasyonlarının Neonikotinoid grubu insektisitlerden Acetamiprid, Imidacloprid ve Thiamethoxam'a karşı direnç durumlarının belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Çalışmada aktif maddelere karşı zararlı popülasyonlarının tepkilerini belirlemek amacıyla bioassayler uygulanmış, Esteraz ve Glutatyon-S-Transferaz enzim aktiviteleri biyokimyasal metotlar ile incelenmiş ve Neonikotinoid grubu insektisitlere karşı direnç durumu moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Çalışma sonucunda Acetamiprid aktif maddesi için 0.261-21.550 ppm arasında değişen LC_{50} değerleri ile 22.64-82.57; Imidacloprid aktif maddesi için 0.482-32.449 ppm arasında değişen LC_{50} değerleri ile 23.52-67.32; Thiamethoxam aktif maddesi için 4.187-87.251 ppm arasında değişen LC_{50} değerleri ile 1.08-20.84 kat arasında değişen direnç oranları tespit edilmiştir. Esteraz enzim aktivitesinin tüm popülasyonlar için 4.5695-17.7881 µmol naphtol/min/mg protein arasında değiştiği belirlenmiş olup, en yüksek esteraz aktivitesi Çatalhurma popülasyonunda belirlenmiştir. Glutatyon-S-Transferaz enzim aktivitesi tüm popülasyonlar için 1.7952-5.5052 µmol konjuge glutatyon/min/mg protein olarak belirlenmiş olup en yüksek Glutatyon-S-Transferaz aktivitesi Develi popülasyonunda tespit edilmiştir. Yapılan dizi analizinde nikotinik asetilkolin reseptörlerinin *β* alt ünitesinde ve neonikotionoid grubu insektisitlere karşı dirence neden olan *R81T* ve *V62I* mutasyonlarına rastlanılmamıştır.Çalışma sonucunda *A. gossypii* popülasyonlarıyla mücadele kapsamında entegre mücadele enstrümanlarının kullanılarak zararlı mücadelesinin daha etkili şekilde yapılması ve yeni mücadele stratejilerinin geliştirilmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

Aralık 2020, 93 Sayfa

Anahtar Kelimeler: *Aphis gossypii,* İnsektisit Direnci, Pamuk, Güneydoğu Anadolu Bölgesi, Neonikotinoid

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

DETERMINATION OF NEONICOTINOID RESISTANCE IN THE COTTON APHID [*Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)] POPULATIONS IN COTTON PLANTATION AREAS OF SOUTHERN EAST ANATOLIAN REGION

Cahit KAYA

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

Superviser: Assoc. Prof. Dr. Nurper GÜZ

The study was carried out between 2017-2019 for purpose of determining the resistance status of Cotton aphid [*Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)] populations obtained from cotton plantations in Southeastern Anatolian Region to Neonicotinoid class insecticides Acetamiprid, Imidacloprid and Thiamethoxam. Bioassays were applied to determine reactions of pest populations to actives, biochemical methods were used to determine Esterase and Glutathione-S-Transferase enzyme activities and gene regions which are responsible for resistance to neonicotinoid class insecticides were investigated. Different LC_{50} values ranging 0.261-21.550 ppm with resistance ratios ranging 22.64-82.57 folds were observed for Acetamiprid. Different LC_{50} values ranging 0.482-32.449 ppm with resistance ratios ranging 23.52-67.32 folds were achieved for Imidacloprid. For Thiamethoxam LC_{50} values were ranged 4.187-87.251 ppm with resistance ratios ranged 1,08-20,84 folds. The esterase activity was ranged between 4.5695-17.7881 µmol naphtol/min/mg protein for all the populations and the highest EST activity was recorded in Çatalhurma population. The highest Glutathione-S-Transferase activity was recorded for Develi population and Glutathione-S-Transferase activity was ranged between 1.7952-5.5052 µmol conjugated glutathione/min/mg protein within the populations. Sequnce analyses were carried out to search possible mutations located on β sub-unit of nicotinic acetylcholine receptors. The *R81T* and *V62I* mutations were searched in tested populations. The *R81T* and *V62I* mutations were not observed in tested populations. As a result of the study, it has been concluded that for successfully control of *A. gossypii* more effective pest control methods based on new control technologies should be applied according to IPM principles.

December 2020, 93 Pages

Keywords: *Aphis gossypii*, Insecticide Resistance, Cotton, Southern-East Anatolia Region, Neonicotinoid, Molecular

TEŞEKKÜR

Pamuk üretim alanlarında önemli bir zararlı olan *Aphis gossypii*'nin Neonikotinoid grubu insektisitlere direncinin Bioassay, Biyokimyasal ve Moleküler metotlar ile incelenmesi amacıyla yürüttüğüm çalışmalar boyunca bana her türlü imkânı sunan, her aşamada beni yönlendiren değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Nurper GÜZ'e sonsuz teşekkür ve minnetlerimi sunarım. Tez izleme komitesinde görev alan ve beni yönlendirerek çalışmalarıma katkı sağlayan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Şerife BAYRAM ve Sayın Doç. Dr. Cengiz İKTEN'e teşekkürlerimi sunarım. Çalışmaların yürütülmesinde katkı, öneri ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. M. Oktay GÜRKAN, Ziraat mühendisi Naciye Sena Çağatay, Ziraat mühendisi Fatma Dikmen, Dr. Muhammad Arshad, Prof. Dr. Fariba Merkhou'ya sonsuz teşekkür ederim. Doktora çalışmalarımın finansmanını sağlayan T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı - Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne, Diyarbakır Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden başta Sedat EREN, Muhlis SEZGİN, Murat GÜLMEZ ve Ayhan ÖĞRETEN olmak üzere tüm idari ve teknik personele teşekkürlerimi sunarım. Doktora çalışmalarım ve hayatım boyunca bana gösterdikleri sevgi anlayış sabır ve destek için eşim, oğlum, annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM/BSAD/16/2/03-03) tarafından desteklenmiştir.

Cahit KAYA

Ankara, Aralık 2020

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK……. i

ÖZET……. ii

ABSTRACT……... iii

TEŞEKKÜR…….. iv

ŞEKİLLER DİZİNİ…….. vii

ÇİZELGELER DİZİNİ…… viii

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ……. ix

1. GİRİŞ…….. 1

2. LİTERATÜR ÖZETİ…… 17

3. MATERYAL VE METOT…… 29

3.1 Materyal…….. 29

3.2 Metot……... 32

3.2.1 Arazi çalışmaları…… 32

3.2.2 Laboratuvar çalışmaları…… 35

3.2.2.1 Konukçu Bitkilerin Yetiştirilmesi……. 35

3.2.2.2 *Aphis gossypii* popülasyonlarının elde edilmesi ve yetiştirilmesi…... 36

3.2.2.3 Bioassay çalışmaları……..……..…..……..……..……..…….. 37

3.2.2.4 Daldırma metodu……..……..……..…..……..……..……..... 38

3.3 İstatistiki Değerlendirme……... 39

3.4 Biyokimyasal Çalışmalar……... 40

3.4.1 Esteraz (EST) aktivitesinin belirlenmesi…….. 40

3.4.2 Alfa Naftol standart eğrisinin çizilmesi…… 41

3.4.3 Glutatyon-S-Transferaz (GST) aktivitesinin belirlenmesi……. 41

3.4.4 Toplam protein miktarlarının belirlenmesi……. 42

3.5 Moleküler Yöntemler……. 42

3.5.1 RNA izolasyonu…….. 43

3.5.2 *cDNA* sentezi……... 44

3.5.3 Nikotinik Asetilkolin reseptörlerinin *D-loop* bölgesindeki *β1* alt ünitesinin PCR yöntemiyle çoğaltılması…….. 45

3.5.4 PCR ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi……... 46

3.5.5 Dizi analizi…….. 46

4. ARAŞTIRMA BULGULARI…… 47

4.1 Bioassay Çalışmaları…….. 47

4.2 Biyokimyasal Çalışma Bulguları…….. 55

4.2.1 Alfa Naftol standart eğrisinin çizilmesi…… 55

4.2.2 Esteraz (EST) aktivitesinin belirlenmesi…….. 55

4.2.3 Glutatyon–S-Transferaz (GST) aktivitesinin belirlenmesi…… 57
4.2.4 Bradford metoduyla toplam protein miktarının belirlenmesi…….. 59
4.3 Korelasyon Analizi……. 59
4.4 Moleküler Yöntemler……. 61
4.4.1 Total RNA izolasyonu…… 61
4.4.2 Nikotinik Asetilkolin reseptörlerinin *D-loop* Bölgesi *β1* alt ünitesinin PCR yöntemiyle çoğaltılması…… 62
4.4.3 Dizi analizi sonuçları…….. 63
5. TARTIŞMA ve SONUÇ…… 64
KAYNAKLAR…….. 77
ÖZGEÇMİŞ…….. 89

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	Santigrad derece
da	Dekar
α	Alfa
β	Beta
G	Yerçekimi ivmesi
m^2	Metrekare
Alw26I	Kesim Enzimi
HincII	Kesim Enzimi
rpm	Dakikada devir sayısı
mM	Milimolar
L	Litre
Ml	Mililitre
µmol	Mikromol
µl	Mikrolitre
NaOH	Sodyum Hidroksit
HCl	Hidroklorik Asit
$MgCl_2$	Magnezyum Klorür
EDTA	Etilendiaminotetra-asetik asit
GSH	İndirgenmiş Glutatyon
CDNB	1-Chloro-2,4-Dinitrobenzene
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
TBE	Tris/Borate/EDTA
dNTP	Nükleozit Trifosfat
ddH_2O	Çift Distile Su
V	Volt
Bp	Baz çifti
Ml	Mikrolitre
TAE	Tris-Asetat-EDTA

Kısaltmalar

EPPO	European and Mediterranean Plant Protection Organization
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
ICAC	Internatinal Cotton Advisory Comittee
EZE	Ekonomik Zarar Eşiği
LSD	Least Significant Difference (Asgari önemli fark)
PCR	Polimerase chain reaction
LC	Lethal konsantrasyon
DDT	Dikloro Difenil Trikloroethan
AChE	Asetilkolinesteraz
PAGE	Poliakrilamid Jel Elektroforezi
RR	Direnç Oranı
nAChR	Nikotinik Asetilkolin Reseptörü
CarE	Karboksilesteraz
EST	Esteraz
GST	Glutatyon-S-Transferaz
FU	Fumigant
GR	Granül
WP	Islanabilir Toz
EC	Emülsiyon Konsantre
DP	Toz
FS	Tohum İlaçlaması İçin Akıcı Konsantre
SC	Akıcı Konsantre/Süspansiyon Konsantre
SL	Suda Çözünen Konsantre
WG	Suda Dağılabilen Granül
WS	Tohum İlaçlaması İçin Suda Dağılabilen Toz
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
BSA	Bovin Serum Albümin
cDNA	Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	Ribo Nükleik Asit
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	*Aphis gossypii*'nin kanatlı ve kanatsız formu……..	3
Şekil 1.2	Cüce sarı *Aphis gossypii* ergini…….	3
Şekil 1.3	Yaprakbitlerinin yaşam döngüsü……..	4
Şekil 1.4	Böceklerde insektisit seleksiyonu ile artan direnç……	9
Şekil 3.1	Acetamiprid'in kimyasal yapısı……	29
Şekil 3.2	Imidacloprid'in kimyasal yapısı……..	30
Şekil 3.3	Thiamethoxam'ın kimyasal yapısı……..	31
Şekil 3.4	Arazi koşullarında hazırlanan pamuk alanı ve kafesler…….	33
Şekil 3.5	Örnekleme yapılan alanlar ve yaprakbiti bulaşık yapraklar……..	33
Şekil 3.6	Bitki yetiştirme ortamı……..	36
Şekil 3.7	Böcek popülasyonlarının yetiştirildiği pleksi-glas kabinler…….	37
Şekil 3.8	Denemelerin yürütüldüğü iklim kabini ve bioassay kapları……..…	39
Şekil 4.1	Acetamiprid aktif maddesi için elde edilen LC50 değerleri ve direnç oranlarına ait grafik……..	49
Şekil 4.2	Imidacloprid aktif maddesi için elde edilen LC_{50} değerleri ve direnç oranlarına ait grafik……..	51
Şekil 4.3	Thiamethoxam aktif maddesi için elde edilen LC_{50} değerleri ve direnç oranlarına ait grafik……..	53
Şekil 4.4	Popüsyanların aktif maddeler için direnç oranı……	54
Şekil 4.5	Alfa naftol standart eğrisi…….	55
Şekil 4.6	Testlenen *Aphis gossypii* popülasyonlarına ait Esteraz enzim aktiviteleri…….	57
Şekil 4.7	Testlenen *Aphis gossypii* popülasyonlarına ait Glutatyon-S-Transferaz enzim aktiviteleri……	58
Şekil 4.8	Bovine serum albümin standart eğrisi……..	59
Şekil 4.9	RNA izolasyonuna ait jel görüntüsü……	61
Şekil 4.10	Nikotinik Asetilkolin Reseptörlerinin *D-loop* Bölgesindeki *β1* Alt Ünitesi PCR Yöntemiyle Çoğaltılması ait jel görüntüsü……..	62
Şekil 4.11	Nikotinik asetilkolin reseptörü *β1* alt ünitesine ait dizi analizinden elde edilen veriler…….	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Diyarbakır iline ait örnekleme yapılan alanlar ve koordinatları……..	34
Çizelge 3.2	Mardin iline ait örnekleme yapılan alanlar ve koordinatları……	34
Çizelge 3.3	Şanlıurfa iline ait örnekleme yapılan alanlar ve koordinatları…….	35
Çizelge 3.4	Bioassay çalışmalarında kullanılan popülasyonlar……..	38
Çizelge 3.5	Denatürasyonda kullanılan reaktifler ve örnek başına kullanılan hacimler…….....	44
Çizelge 3.6	*cDNA*'nın çoğaltılmasında kullanılan reaktifler ve örnek başına kullanılan hacimler……..	45
Çizelge 4.1	Acetamiprid aktif maddesi ile yapılan bioassay çalışmalarından elde edilen LC_{50} ve LC_{90} değerleri, Heterojenlik katsayıları ve Direnç Oranları……	48
Çizelge 4.2	Imidacloprid aktif maddesi ile yapılan bioassay çalışmalarından elde edilen LC_{50} ve LC_{90} değerleri, Heterojenlik katsayıları ve Direnç Oranları……	50
Çizelge 4.3	Thiamethoxam aktif maddesi ile yapılan bioassay çalışmalarından elde edilen LC_{50} ve LC_{90} değerleri, Heterojenlik katsayıları ve Direnç Oranları……	52
Çizelge 4.4	Popülasyonların aktif maddeler için LC_{50} değerleri ve direnç oranları…….	54
Çizelge 4.5	Testlenen *Aphis gossypii* popülasyonlarına ait Esteraz enzim aktiviteleri……	56
Çizelge 4.6	Testlenen *Aphis gossypii* popülasyonlarına ait Glutatyon-S-Transferaz enzim aktiviteleri……...	57
Çizelge 4.7	Korelasyon analizi sonuçları……	60
Çizelge 4.8	Korelasyon analizi özet tablosu……...	60

1. GİRİŞ

Pamuk (*Gossypium* spp.) (Malvales: Malvaceae) bitkisi farklı kullanım alanları ve şekilleriyle tüm dünyada hem endüstri hem de ticaret sektörlerinde önemli bir tarım ürünüdür. Lif bitkileri ve pamuk bitkisinin yoğun olarak kullanıldığı tekstil sektörü ülkemiz açısından stratejik öneme sahip olmakla beraber ihracat gelirleri yönüyle de önem arz etmektedir. Pamuk pek çok endüstriyel iş kolunun hammaddesi pozisyonundaki bir bitkidir. Pamuk bitkisinin kullanıldığı endüstri kollarının başında yağ endüstrisi ve özellikle son yıllarda biyodizel üretim endüstrisi yer almaktadır. Pamuk bitkisinin yan ürünü olan küspe, hayvan beslenmesinde önemli bir üründür. Endüstriyel üretim açısından öneminin yanısıra pamuk üretimi sağladığı istihdam ile ülke ve bölge ekonomisine önemli katkı sağlamaktadır.

Pamuk yetiştiriciliği; pamuğun tekstil, barut üretimi, film malzemesi gibi elliden fazla sanayi ve iş kolunda ham madde olarak kullanımı sebebiyle ülkemizin en değerli tarımsal faaliyetlerinin başını çekmektedir. Bu nedenle pamuk yetiştiriciliği, ekonomik ve sosyal açıdan gerek dünya gerekse de Türkiye için önemli ve değerli bir üretim faaliyetidir.

Hindistan dünyada pamuk üretiminde ekim alanı bakımından ilk sırada yer almakta olup bunu sırasıyla Çin Halk Cumhuriyeti, Amerika Birleşik Devletleri, Pakistan, Özbekistan ve Brezilya takip etmektedir. Üretim miktarı yönüyle Hindistan ilk sırada yer alırken bunu Amerika Birleşik Devletleri, Çin Halk Cumhuriyeti, Brezilya, Pakistan, Türkiye, Özbekistan ve Avustralya takip etmektedir. Tüketim miktarı incelendiğinde sırasıyla Çin, Hindistan, Pakistan, Türkiye, Brezilya ve Amerika Birleşik Devletleri'nin başı çeken ülkeler olduğu görülmektedir (Shahbandeh 2019).

Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre ülkemiz 2019 yılı pamuk üretim alanı yaklaşık olarak 4.778.681 dekar olduğu, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin bu alanda 2.889.140 (%60.5) da'lık bir paya sahiptir. Ayrıca ükemizde yaklaşık olarak 2.200.000 tonluk üretim miktarı olduğu, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin bu üretimde 1.212.703 (% 55.1) tonluk bir payı olduğu bildirilmektedir (Anonim 2020).

Pamuk üretiminde; verim ve kalite kaybına neden olan pek çok faktör olmakla beraber bunların başında, bitki koruma sorunları ve özellikle zararlılardan kaynaklanan ekonomik kayıplar gelmektedir. Pamuk üretiminde önemli sorunlardan biri pamuk yaprakbiti [*Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)]'dir. Zararlı dünyada ılıman ve tropik iklim kuşağının genelinde bulunmaktadır (Tabacian vd. 2011).

Tanımı, yaşayışı ve zarar şekli

Aphis gossypii 1-2 mm vücut iriliğine sahip ve çıplak gözle görülebilir bir zararlıdır (Anonim 2017). Zararlı küçük yumuşak vücutlu olup, renk, boyut, kanatlı ve kanatsız olmak gibi çeşitli varyasyonlar gösteren bir böcektir (Blackman ve Eastop 2000). *A. gossypii* bireylerinde oldukça geniş bir morfolojik varyasyona rastlanmakta olup, morfolojik olarak renk açık yeşil kanatsız, koyu yeşil kanatsız; cüce kanatsız sarı ve kanatlı olabilir (Paddock 1919, Wall 1933, Wilhoit ve Rosenheim 1993, Watt ve Hales 1996). Cüce kanatsız form normal kanatsız formun 1/3 boyutunda olup renk yeşil yerine sarıdır (Watt ve Hales 1996). Karakteristik özellikleri ise vücudun dorsalinde abdomenin sonuna doğru konumlanmış olan ve her iki yanda bulunan bir çift mum borucuğunun (corniculi) olmasıdır. Zararlıya halk arasında "Püseron, Ballık, Zenk" gibi yöresel adlar da verilmektedir (Anonim 2017).

Cüce kanatsız form fenotipi yüksek sıcaklık koşullarında görülmekle beraber düşük üreme potansiyeline sahiptir (Willhoit ve Rosenheim 1993, Watt ve Hales 1996). Bunun aksine koyu renkli fenotipler daha serin iklim koşullarında gözlemlenip yüksek üreme gücüne sahiptir (Blackman ve Eastop 2000). Kanatlı form oluşturacak nifmler yeşilimsi mavi, amber veya mavi renkli olur (Blackman ve Eastop 2000).



Şekil 1.1 *Aphis gossypii*' nin kanatlı ve kanatsız formu (Anonymous 2020a)



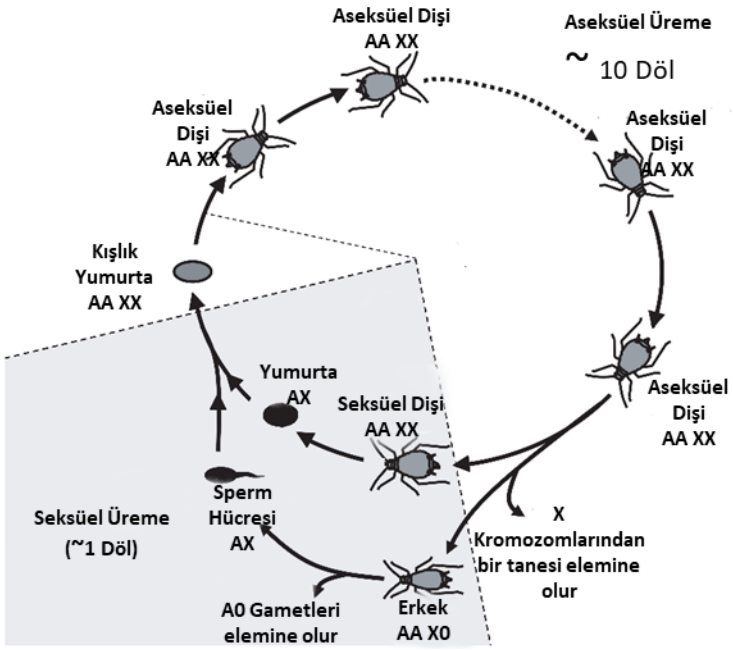
Şekil 1.2 Cüce sarı *Aphis gossypii* ergini (Anonymous 2020b)

Zararlı ortalama 7 günde ergin döneme geçer ve ergin döneme ulaşan bireylerin hemen yavru doğurma özelliği bulunmaktadır. Bir dişi günlük olarak 8-22 adet yavru doğurabilmektedir. *A. gossypii*'nin üreme gücünün çok yüksek olması ve kısa gelişme süreleri nedeniyle çok kısa süre içerisinde yüksek birey sayısına sahip koloniler oluşturabilme potansiyeline sahiptir. Temel gelişme dönemindeki ilk bulaşmalarda tepe sürgünlerinde görülse de sonraki dönemlerde yaprak altlarında ve tepe sürgünlerinde koloni halinde yaşarlar (Anonim 2017).

Yüksek üreme gücüne sahip olan zararlının kolonilerinde bulunan birey sayısı yükseldiğinde veya besin azlığı, ışık kalitesindeki değişimler gibi faktörlerin etkisiyle kanatlı forma geçer ve kanatlı bireyler yeni beslenme ve üreme alanları bulmak amacıyla göç eder. Zararlının kanatlı formu genellikle göç zamanı görülür ve kanatlı bireylerin

varlığı, zararlının mevcut alandan ayrılarak yeni koloni/koloniler oluşturacağının göstergesidir (Anonim 2017).

Yaprakbitlerinde genel olarak iki tip yaşam döngüsü bulunur. Bunlardan ilki Autaecius döngüsü olup zararlı yaşam döngüsünü tek bitki türünde tamamlar. İkinci yaşam döngüsü ise Heteroecious olup zararlı kışı üzerinde geçirdiği odunsu bitkiler (birincil konukçu) ve yazı üzerinde geçirdikleri otsu bitkiler (ikinci konukçu)'dir (Kundu 1994). Pek çok afit türü periyodik partenogenesisle çoğalırlar ki burada zararlı pek çok generasyon boyunca aseksüel üremeden sonra sexüel üreme ile çoğalırlar. Seksüel üreme tipik olarak geç son baharda primer konukçu üzerinde olur ve yumurtalar buraya bırakılır (Moran 1992, Blackman ve Eastop 2000). İlkbaharda her yumurtadan kanatsız vivipar ve partenogenetik çoğalan dişiler çıkar ve bu üreme şekli ilkbahar ve yaz boyunca devam eder (Blackman 1987, Blackman ve Eastop 2000). Bu dişiler kanatlı veya kanatsız olabilirler ve sonbaharda seksüel üreme için erkek ve dişi bireyler üretirler (Wellings vd. 1980, Kundu ve Dixon 1995, Blackman ve Eastop 2000). Afitlerde seksüel fazın başlaması fotoperiod veya sıcaklık azalışı ile başlar (Blackman ve Eastop 2000, Williams ve Dixon 2007). Bu nedenle yıl boyu aseksüel üreme kış koşullarının ılıman geçtiği bölgelerde daha yaygındır.



Şekil 1.3 Yaprakbitlerinin yaşam döngüsü (Anonymous 2020c)

Yaprakbitlerinde partenogenetik çoğalma teleskopik generasyonlar fenomeni olarak adlandırılır (Moran 1992). Bu durum tek bir afitten bir sezon içinde milyarlarca bireyin oluşması ile sonuçlanabilir (Dixon 1989, Kersting vd. 1999). Teleskopik generasyonlarda gelişme süresi kısalırken normal bireylere göre artan üreme potansiyeli sağlar (Leather ve Dixon 1984, Dixon 1989). Bu durum direnç yönetimine imkân sağlar çünkü kısa gelişme süresine sahip bireyler uzun gelişme süresine sahip bireylere göre daha çok generasyon üretip daha fazla insektisite maruz kalırlar (Roush ve Mckenzie 1987). Dahası dirençli popülasyonların partenogenetik olarak çoğalması popülasyonda bulunan direnç allellerin hassas alleller ile çiftleşme olasılığını ortadan kaldırır (Wool ve Hales 1997).

Partenogenesis'in bir diğer sonucu konukçuya özelleşen ayrı klonal popülasyonlardır (Carletto vd. 2010). Araceae, Astraceae (Krizantem), Cucurbitaceae (hıyar) ve Malvaceae (pamuk)'ye özelleşmiş klonal popülasyonlar ilgili kayıtlar bulunmaktadır (Guldemond vd. 1994, Margaritopoulos vd. 2006, Carletto vd. 2010, Agarwala ve Choudhury 2013, Chen vd. 2013). Bu durum zararlının insektisitlere direnci üzerine etkiler sağlayabilmektedir. *A. gossypii* İngiltere'de hıyar ve krizantem de iki farklı ırk oluşturmakta ve krizantemde görülen ırk hıyarda, hıyarda görülen ırk krizantemde görülmemektedir. Krizantemde bulunan ırk Organik Fosforlu ve Karbamatlı insektisitlere karşı dirençli iken hıyardaki ırkta böyle bir durum saptanmamıştır (Guldemond vd. 1994).

Aphis gossypii dünyanın pek çok bölgesine yayılmış polifag bir zararlıdır. *A. gossypii*; pamuk, fasulye, tütün, bamya, çeltik, kabak, hububat, kavun, patlıcan, patates biber, hıyar, karpuz gibi kültür bitkilerinin yanı sıra yabancı otlardan akkazayağı, darı, horozibiği, köpek üzümü, ve kamışta hayatını sürdürebilmektedir. Zararlının 92 familyaya bağlı oldukça geniş bir konukçu dizisinde yaşamını sürdürebildiği bilinmektedir (Elbert ve Cartwright 1997). *A. gossypii*'nin İsrail'de 32 familyaya ait 66 bitki türünde, Hindistan'da 162 bitki türünde ve dünya genelinde 92 familyaya ait farklı bitki türlerinde zarar yaptığı ve yaşamını sürdürebildiği bildirilmiştir (Eastop 1966, Avidov ve Harpaz 1969, Roy ve Behura 1983, Elbert ve Cartwright 1997).

Aphis gossypii sıcak ve tropikal bölgelerde gelişme potansiyeli olan önemli bir tür olup, ülkemiz pamuk yetiştiriciliği yapılan bölgelerde yaygın bir zararlıdır. *A. gossypii* tüm

pamuk alanlarında görülmekte olup, genç pamuk fidelerinin tepe tomurcuk ve yapraklarında emgi yapmak suretiyle zarar vermektedir. Emilen bitki kısımlarında bitki gelişiminde yavaşlama, renk değişimi ve kıvrılmalar görülür. Beslenme artıklarının barındırdığı yüksek şeker fumajin adı verilen zarara neden olmaktadır. Oluşan fumajin fotosentezi yavaşlattığı için bitkide verim ve kalite kayıplarına neden olur (Tabacian vd. 2011). Ayrıca zararlı bitki virüs hastalıklarının da vektörlüğünü yapmaktadır (Anonim 2011). Bu kapsamda zararlının 70'den fazla hastalığı taşıyabildiği bildirilmektedir (Kennedy vd. 1978). *A. gossypii*'nin pamukta; pamuk anthocyanosis virüsü, pamuk kıvırcıklık virüsü, pamuk mavi hastalığı, pamuk kabarık tepe (CBT), pamuk yaprak kıvırcıklığı (CLR) ve mor solgunluk hastalıklarının etkili bir vektörüdür (Kennedy vd. 1978, Brown 1992, Reddall vd. 2004).

Aphis gossypii'nin hem erginleri hem de nimfleri emgi yaparak kültür bitkilerinde zarara neden olmaktadır. Zararlı genellikle bitkilerin taze yapraklarında bulunmasına karşın, gövde ve dallarda da görülebilir. Bitkilerde özsu emilimi nedeniyle zarar gören yapaklarda kıvrılma ve deformasyonlar meydana gelir. Zarar gören yaprakların fotosentez kabiliyetinin azalmasına paralel olarak verim ve kalite kayıpları ortaya çıkmaktadır. Popülasyon yoğunluğuna bağlı olarak bitki gelişiminin yavaşlaması veya durması gözlemlenebilir (Anonim 2017).

Pamuk yaprakbitleri bitki özsuyunda besin maddelerinin azlığı sebebiyle yoğun olarak beslenmektedir. Yoğun beslenme sırasında zararlının ihtiyacından fazla alınan şekerli maddeler corniculus aracılığıyla dışarı atılır. Vucüt dışına atılan şekerli maddeler yaprak ve çeşitli bitki dokuları üzerine yapışmakta ve havada bulunan saprofit funguslar ve diğer sporlar şekerli madde üzerinde gelişerek siyah bir renk alır. Oluşan siyah katmana fumajin denir. Fumajin bitkilerin fotosentez kabiliyeti üzerine olumsuz etkide bulunmaktadır (Anonim 2017, Isley 1946). Ballı maddenin pamuk liflerine bulaşması hasat ve liflerin işlenme süreçlerinde olumsuzluklar olarak karşımıza çıkabilmektedir (Miller vd. 1994, Slosser vd. 2002). Liflerin ballı madde ile bulaşmaları kaliteyi olumsuz etkileyerek ülkemiz pamuk ihracatını olumsuz etkileyebilecek bir faktördür. *A. gossypii* dünya genelinde pamuk bitkisinde beslenen ve burada en önemli ekonomik öneme sahip afit türüdür (Leclant ve Deguine 1994).

A. gossypii pamuk ekiliş alanlarında ilk olarak 1800'lü yıllarda Güney Kaliforniya'da pamuğun göreceli olarak minör bir zararlısı olarak kaydedilmiştir. Zararlının yaygınlık ve zarar durumu bu tarihten sonra sürekli artış göstermiştir (Slosser vd. 1989). *A. gossypii* 1980'li yıllardan sonra Amerika Birleşik Devletleri, Asya ve Afrika başta olmak üzere pamuk üretim alanlarının tamamında bulunan önemli bir zararlı olarak kabul edilmiştir.

Kültürel ve Biyolojik Mücadele

Aphis gossypii'nin polifag doğası nedeniyle yetiştirilen kültür bitkisi dışındaki diğer konukçu olabilecek bitkilerin üretim alanından uzaklaştırılması oldukça önemlidir. Kışlayan bireylerin bulunduğu konukçu bitkilerin imha edilmesi veya konukçu bitkilerin arazide bulunmasına izin verilmemesi zararlı ile mücadele çalışmalarının ilk aşamasını oluşturmaktadır (Smith vd. 2006). Seleksiyon yolu ile dirençli hale gelen bireylerin bulunduğu popülasyonlar, pamuk alanlarında hasat sonrası yabancı otlar üzerinde kışı geçirirler ise alanda sonraki yıl içinde dirençli bireylerin bulunduğu bir rezervuar oluşturmaktadır (Schulze ve Tomkins 2002).

Son yıllarda faydalılara düşük olumsuz etkilere sahip insektisitlerin seçimi faydalıların düşük yoğunluktaki zararlıları baskılamasına yardımcı olduğuna ilişkin çalışmalar mevcuttur (Wilson vd. 1999). Faydalılara yan etkisi olmayan insektisitlerin seçimi ise faydalıların hem hedef zararlılar hem de ikincil (sekonder) zararlıları baskılamasına yardımcı olup, sonraki ilaçlama sayılarının azaltılmasına katkı sağladığı tespit edilmiştir (Wilson vd. 1999). İnsektisit seçiminde fenoloji oldukça önemlidir. Zira erken dönem *A. gossypii* bulaşmalarında düşük faydalı yoğunluğunu korumak için yan etkisi olmayan ilaçların tercihi pamuk üretim sezonunun geri kalan periyodu için oldukça yararlıdır (Gao 1987, Mansfield vd. 2006).

Genel olarak erken dönemde pamuk üzerinde bulunan düşük yoğunlukla *A. gossypii* yoğunluğu sorun olmamaktadır (Maas 2014). %90'dan daha yoğun ancak kısa süreli (10 günden kısa) bulaşmalar ekonomik olarak önem taşımazlar ancak 2-3 haftalık bulaşma süresi önemli ürün kayıplarına neden olur (Anonymous 2008).

Kimyasal Mücadele

Tarihsel olarak *A. gossypii*'nin mücadelesinde insektisit kullanımın çok yaygın olduğu bilinmektedir. Dünyada *A. gossypii*'ye karşı ruhsat almış pekçok bitki koruma ürünü bulunmakla beraber tarihsel süreç içerisinde bu aktif maddelerin bir kısmının kullanımı özellikle çevresel nedenlerle tercih edilmemektedir. Ülkemizde de benzer bir durum söz konusudur. Farklı gruplardan pek çok insektisit *A. gossypii*'ye karşı ruhsat almıştır. Bununla birlikte insektisitlerin etkinliği ve beklenen yararın azalması ile direnç nedeniyle kimyasal mücadelenin sınırlamaları olduğu görülmüştür (Whalon vd. 2008). Günümüzde entegre zararlı yönetimi mücadele stratejilerinin temeli halindedir (Wilson vd. 2004, Fitt vd. 2009).

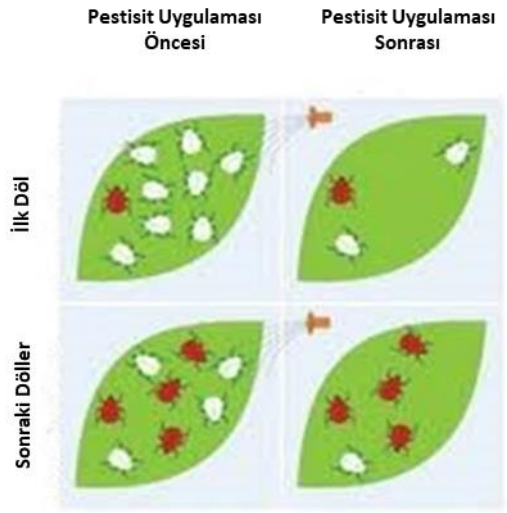
Böceklerde İnsektisit Direnci

Pestisitler uygulama kolaylığı, hızlı etki gibi avantajlarının yanısıra neden olduğu kalıntı problemi, hedef dışı canlılar ve çevre sağlığı üzerine olumsuz etkileri ve direnç problemleri gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır.

Böceklerde görülen insektisit direncinin farklı tanımları vardır. Bir insektisitin veya insektisit grubunun uzun süre art arda kullanılması sonucu zararlı böcek/böceklerde ilaca karşı beklenen tepkinin görülememesi "direnç" olarak tanımlanır.

Direnç, zararlı organizmaların popülasyonlarında hatalı uygulamalar sonucu, ilaçlara karşı hassasiyetlerinde azalmaya neden olan kalıtsal değişimlerdir. Uluslararası bir kuruluş olan IRAC (Insecticide Resistance Action Committee), zararlıların insektisitlere direncini, bir insektisitin herhangi bir zararlıya karşı kullanım talimatları doğrultusunda kullanımı sonrasında ortaya çıkan ve tekrar eden başarılı olamama durumu ve zararlıda ortaya çıkan bu özelliğin sonraki nesillere aktarılması olarak tanımlamaktadır (Çakır 2005).

Başka bir tanıma göre; “Normal bir zararlı popülasyonunda bulunan bireylerin büyük bir kısmını öldürdüğü bilinen bir kimyasal maddenin belirlenmiş olan bir dozuna popülasyon içerisindeki bireylerin bir kısmının tolerans kazanması direnç olarak kabul edilir’’ (Hemingway 1998). Ünal ve Gürkan (2001), direnci; yanlış uygulamalar ve uygun olmayan çevre koşulları gibi faktörler dışında uygulama sonrasında hedeflediği zararlıda beklenen etkinin görülmemesi veya düşük etkinlik görülmesi (hassasiyet azalışı) olarak tanımlamışlardır.



Şekil 1.4 Böceklerde insektisit seleksiyonu ile artan direnç (Anonymous 2013d)

Benzer etki mekanizmasına sahip insektisitlerin birden çok kullanımı, zararlı böceklerde seleksiyon yoluyla dirençli popülasyonların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Kısa gelişme süresine, yüksek döl sayısına sahip böceklerde direncin ortaya çıkması ve direnç gelişim olasılığı yüksektir. Dirençli böcek türlerinin kontrolü için üreticiler genel olarak, ilaçlama sayısını, ilaç dozunu veya her ikisini beraber arttırmak suretiyle mücadele çalışmalarını yürütmektedirler. Bu şekilde yürütülen mücadele çalışmaları; çevresel kirliliğe yol açmakta, faydalılara zarar vererek doğal denge durumunun bozulmasına ve zararlılarda direnç probleminin ortaya çıkmasına neden olarak ekonomik ürün kayıplarının artmasına ortam hazırlamaktadır (Yıldız vd. 2005).

IRAC, böceklere karşı kullanılan insektisitlere karşı direnci, zararlının popülasyonundaki hassasiyetinin genetik olarak değişimi olarak tanımlamaktadır. Direnç ve direnç tipleri ile ilgili ilk kayıt Melander (1914)’in *Quadraspidiotus perniciosus* Comst. (Hemiptera:

Diaspidae)'un kükürt-kireç karşı duyarlılığının azaldığını bildirdiği çalışma olarak kabul edilir. Sentetik insektisitlere karşı direnç ile ilgili ilk kayıt *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) L.'nın DDT'ye karşı direnci ile ortaya konmuştur (Ware 1980).

Özellikle 1970 ve 1980'li yıllardan sonra pek çok toksikolog, entomolog ve biyoloğun direnç konusuna odaklanmasıyla birlikte dayanıklılık mekanizmaları ve bunlara sebep olan genler incelenmeye başlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda 553 böcek türünün insektisitlere karşı dirençli olduğu bildirilmiştir (Whalon vd. 2008).

Oluşum şekillerine göre direnç tipleri; davranışsal direnç, fizyolojik direnç, morfolojik direnç, çok yönlü direnç ve çapraz direnç olarak sınıflandırılmaktadır (Öncüer ve Durmuşoğlu 2008).

Morfolojik direnç; zararlı böceklerin vücut yapısından kaynaklanan direnç tipi olarak tanımlanır. Örneğin böceğin kütikula tabakasının kalınlaşması veya geçirgenliğinin azalması veya vücut üzerinde türün normal bireylerinden daha fazla kıl buluması gibi morfolojik değişimler sonucu insektisitin penetrasyonunun azalması ya da hiç olmaması sonucu oluşan direnç tipidir (Öncüer ve Durmuşoğlu 2008).

Davranışsal direnç, zararlının davranışları nedeniyle ortaya çıkan direnç tipidir. Bazı böcek popülasyonlarının, kullanılan toksik maddelerin farkına vararak onlardan kaçınması durumu olarak da ifade edilebilir. Bazı elma içkurdu popülasyonlarında larvaların ilaçlı meyve dış kabuğunu yutmaması ve dışarı atması veya bazı depo zararlısı böceklerin fumigantlardan korunmak için stigmalarını kapatması, gibi davranışsal değişiklikler bu konuya örnek olarak gösterilebilir (Öncüer ve Durmuşoğlu 2008). *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae) erginleri insektisit uygulanan bitkilerin sap ve yaprakları yerine bitkinin kök boğazına yakın yerlerine yumurta bırakması karşılaşılan davranışsal dirence başka bir örnektir (Sarfraz vd. 2005).

En sık karşılaşılan ve en tehlikeli direnç tipi olarak kabul edilen direnç tipi fizyolojik dirençtir. Fizyolojik direnç zararlının fizyolojik faaliyetlerinde genellikle mutasyonlar

neticesinde ortaya çıkan, zararlının biyokimyasal faaliyetlerinde değişikliklere neden olan ve genellikle kalıtsal olan direnç tipidir. Bu tip dirençte dayanıklı/tolerant/dirençli bireylerin sahip oldukları enzimler böcek vücuduna farklı yollarla penetre olan kimyasalı parçalar ve etkisiz hale getirirler. Bazı böceklerde DDT'ye direnç gösteren popülasyonların vücutlarında enzim miktarlarındaki artış nedeniyle DDT'nin zehirli olmayan DDE (dichloro diphenyl dichloro ethylene)'ye dönüştürülmesi fizyolojik direnç için bir örnektir (Öncüer ve Durmuşoğlu 2008). Bazı durumlarda ise böceğin hedef yeri bölgesinde ortaya çıkan bir değişim ile insektisit hedef yerine nüfuz edememektedir. Bu durum hedef yeri duyarsızlaşması olarak ifade edilmektedir.

Çapraz direnç, herhangi bir insektisite karşı direnç geliştiren bir zararlı popülasyonunun aynı gruptan bir başka insektisite veya aynı bölgeyi hedefleyen bir insektisite karşı eş zamanlı olarak direnç kazanması sonucu oluşan direnç tipidir (Öncüer ve Durmuşoğlu 2008). Nauen ve Denholm (2005), neonikotinoid grubu insektisitlerin monooksigenaz enzimi ile oksidatif detoksifikasyona uğradığını bildirmektedirler. Neonikotinoid grubu insektisitlerden hehangi bir tanesine karşı dirençli bir zararlı popülasyonunun dolaylı olarak diğer neonikotinoid grubu insektisitlere karşı da dirençli hale gelebileceği bildirmişlerdir. Bu tip dirençte bazı durumlarda hedef yerinde genetik değişiklik olması oldukça yaygındır. Bunun sonucunda ise aktif maddenin (aynı hedef yerini etkileyen maddelerin) etkinliği azalmakta veya ortadan kalkmaktadır.

Bir zararlının birden fazla yolla birçok insektisite karşı dirençli olması durumu çok yönlü direnç olarak tanımlanır (Öncüer ve Durmuşoğlu 2008).

Bir diğer direnç mekanizması tipi detoksifikasyon mekanizmaları ile ortaya çıkan dirençtir. Bu tip direnç mekanizmasında bir insektisiti parçalama yeteneğindeki bir enzimin; aktivitesinin veya miktarının artması yüksek direnç oluşmasına neden olabilecek sonuçlar doğurur (Hemingway ve Ranson 2000).

Organik Klorlu, Organik Fosforlu, Karbamatlı ve Sentetik Pyrethriodli insektisitlere karşı gelişen metabolik direnç yaygın olarak üç temel enzim grubunun etkisi ile ortaya

çıkmaktadır (Clark ve Shamaan 1984). Direnç oluşumunda etkili ve en yaygın enzim grupları; Monooksigenaz'lar (Sitokrom P450), Glutatyon-S-Transferaz'lar (GST), Hidrolaz'lar (Esteraz'lar) olarak belirlenmiştir (Whalon vd. 2008).

Monooksigenaz'lar pekçok canlı organizmada bulunan karmaşık bir enzim grubudur. Bu enzim grubu xenobiyotiklerin parçalanmasında ve metabolize edilmesinde görevler alırlar. P450 monooksigenaz böceklerin konukçu bitkilerdeki toksik bileşikler ile başa çıkmasını sağlamakta da görevli önemli bir enzimdir. Teorik olarak monookoksigenazlar bütün insektisitlerin detoksifikasyonunda kısmen veya tamamen görev almaktadırlar. Bu enzim grubu aktif olup, moleküler oksijene bağlanır ve Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (*NADPH*)'dan elektron alarak oksijen molekülünü hedef bileşiğe bağlar ve bileşiği etkisiz hale getirir (Whalon vd. 2008).

Feyereisen (1999), Sitokrom P450'yi çeşitli yollarla böceklerin vücuduna giriş yapan pestisit, asit ya da hormon gibi maddelerin metabolize edilmesini (anabolizma, katabolizma) düzenleyen önemli enzim olarak tanımlar. Whalon ve Hollingworth (2008), Sitokrom P450 enziminin Organik Fosforlu insektisitlerin detoksifikasyonunda etkili olduğunu bildirmektedirler.

Dirençli bireylerden elde edilen homojenatlar ile yapılan pekçok metabolik çalışma sonucunda; GST'lerin seviyelerinde artış olduğu belirlenmiş olup, GST'lerin direnç oluşuna neden olduğu belirlenmiştir (Grant vd. 1991). GST'ler pekçok xenobiyotik maddenin detoksifikasyonunda görev alan çok fonksiyonlu dimerik enzimlerdir (Prapanthadara vd. 1996). Bu enzim grubunun pek çok farklı tipi vardır. GST'ler lipofilik bileşiklerin, elektrofilik merkezlerine bağlanarak etkili olurlar (Clark vd. 1986, Toung vd. 1990). Son yıllarda yapılan çalışmalar GST'lerin hücre duvarını oksidatif yıkımlara karşı koruduğunu göstermiştir (Yu 2008, Li 2011). Yorulmaz ve Ay (2010), böceklerde Organik Fosforlu ve Klorlandırılmış Hidrokarbonlu insektisitlere karşı direnç ile GST seviyesinin ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Esteraz temelli direnç ile ilgili olarak en yoğun çalışılan zararlılar *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) ve *Culex* (Diptera: Culicidae) türleridir (Nauen ve Elbert 2003). Geniş spektrumlu Organik Fosforlu insektisitlere karşı direnç oluşumunun esteraz enzim aktivitesinden kaynakladığına dair pek çok çalışma mevcuttur. Esteraz'lar insektisitlere hızla bağlanarak, insektisitin hızla parçalanmasına ve vücutta daha az toksik bileşiklere dönüştürülmesine olanak sağlar (Kadous vd. 1983).

Esteraz grubu enzimler böcek vücudunda üreme, sinir, sindirim sistemleri ile feromon ve hormon üretimi gibi pekçok biyolojik süreçte görev alırlar. Bu gruptaki enzimler Organik Fosforlu insektisitlerin detoksifikasyonunda da görev almaktadırlar. Whalon vd. (2008), Karbamatlı ve Organik Fosforlu insektisitlere karşı oluşan direncin karboksilesteraz (*CarE*) enzimi ile ilişkili olduğunu bildirmektedirler.

Tüm canlılar gibi böceklerde çevrelerinde bulunan ve yaşamlarını olumsuz etkileyen faktörlere karşı bazı savunma mekanizmaları geliştirmektedir. Organik Klorlu, Organik Fosforlu, Karbamatlı ve Sentetik Pyrethroidli insektisitler böceklerin sinir sistemini hedefleyen bileşiklere sahip insektisit gruplarıdır. Böcekler insektisit gruplarının hedeflediği bölgelere göre; sodyum kanallarında, GABA reseptörlerinde veya asetil kolin esteraz (*AChE*) döngülerinde değişimler yapmak suretiyle hedef bölge duyarsızlaşması yoluyla direnç oluşturabilmektedirler. Bu tip direnç hedef bölge duyarsızlaşması olarak tanımlanır (Hemingway ve Ranson 2000).

Watson ve Brown (1977), direncin dünyada ilk kez 1908 yılında San Jose Kabuklubiti (*Q. perniciosus*)'ne uygulanan kükürt-kireç karışımına karşı belirlendiğini, Hough isimli araştırıcının 1928'de elma iç kurdu [*Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae)]'nun kurşun arsenat'a karşı direnç geliştirdiğini bildirdiğini belirtmişlerdir. Sentetik insektisitlere karşı direnç ilk olarak 1946'da karasineklerin DDT'ye hassasiyetlerinin azalması sonucu gündeme gelmiştir. Direnç sorunu sonraki yıllarda artma eğilimi göstermiş ve zararlıların kontrolünde artan sorunlar görülmeye başlanmıştır (Çakır 2005).

Özellikle son 30 yıldan itibaren tüm dünyada insektisitlere direnç konusunda hem biyokimyasal hem de moleküler teknikler kullanılarak oldukça detaylı çalışmalar yapılmaktadır. IRAC kayıtlarına göre 600'den fazla farklı böcek ve akar türünde çeşitli insektisit ve akarisitte değişen seviyelerde direnç gelişimi bildirilmektedir (IRAC 2015a).

Günümüzde kullanılan pek çok insektisit böcek sinir sisteminde; iyon kanalları, reseptörler veya enzimlere etki ederek görevlerini yerine getirirler (Greenwood vd. 2007) Bu hedef bölgeler sıklıkla doğal olarak bulunan bileşikleri taklit eden, sentetik analogları ile hedeflenerek zararlılar ile mücadele edilir (Isman 2006). Nikotin doğal bir insektisit olup, Post Sinaptik Asetilkolin (*ACh*) Reseptörleri üzerine etki etmektedir. Nikotin memeliler üzerine yüksek toksisite gösteren doğal bir bileşik olup, ancak arazi koşullarında düşük kalıcılığa sahip bir bileşiktir. Bununla birlikte nikotinin böcek *ACh*'leri üstüne gösterdiği umut vadeden durum sentetik türevleri olan neonikotinod grubu insektisitlerin geliştirmesi ile gerçek bir hal almıştır. Bu nedenle Neonikotinoid grubu insektisitlerin keşfi ve sentezlenmesi nikotin'e atfedilebilir (Yamamoto 1999).

Neonikotinoid grubu insektisitlerin sentezlenmesine ilişkin ilk çalışmalar 1970'li yıllarda başlamıştır. Sentezlenen ilk örnek *M. domestica* ve *Acyrthosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) üzerine düşük toksisiteli 2-(dibromo-nitromethyl)-3-methyl pyridine olmuştur (Soloway vd. 1978). Daha sonraki çalışmalarda memelilere düşük doz toksisitesi ve hızlı bir ''knockdown'' etkiye sahip olan nithiazine sentezlenmiştir (Soloway vd. 1978, Soloway vd. 1979, Kollmeyer vd. 1999). Ancak bu aktifin kimyasal yapısından kaynaklanan ve ışıkta kimyasal stabilitesini bozan durumlar nedeniyle ticarileşme imkânı bulamamıştır (Kleier vd. 1985). Nithiazine'in foto-stabilitesini arttırmak için yapılan çalışmalar sonucu günümüzde Imidacloprid olarak bilinen ve Bayer firması tarafından ticarileştirilen ilk Neonikotinoid ortaya çıkmıştır (Elbert vd. 1991, Moriya vd. 1993, Kagabu ve Medej 1995, Kagabu 2011). Aktifin keşfi ile yeni bir grup olan Grup 4 (Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri (*nAChRs*) modülatörleri) grubu oluşturulmuş ve Sentetik Pyrethroid grubu insektisitlerden daha popüler hale gelecek olan Neonikotinoid grubu ortaya çıkmıştır (Jeschke ve Nauen 2008). Günümüzde 4A grubuna (Neonikotinoid grubu insekisitler) üye aktif maddeler; Imidacloprid (1991), Acetamiprid

(1995), Nitenpyram (1995), Thiamethoxam (1998), Thiacloprid (2000), Clothianidine (2001) ve Dinotefuran (2002) şeklinde sıralanmaktadır.

Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri üzerine etkili bir başka aktif madde olan Sulfoxaflor Grup 4'te yer almaktadır. IRAC Sulfoxaflor aktif maddesini yapısal farklılıklardan dolayı Neonikotinoid grubunun *nAChRs*'a ile etkileşime girme şeklinden farklı bir şekilde bağlanması ve bu grup ile çapraz dirence neden olmaması nedeniyle Grup 4C olarak sınıflandırılmaktadır (Sparks vd. 2012).

Neonikotinoid grubu 1991 yılında ticarileşmesinden kısa süre sonra yaygın kullanılan bir grup haline gelmiştir. Dünya genelinde yıllık olarak 3.7 milyar dolara varan bir ticari hacime ulaşmıştır (Gerwick ve Sparks 2014). Günümüze kadar başta pamuk, hububatlar, mısır ve kanola olmak üzere pekçok farklı bitki türünde ve 120'den fazla ülkede ruhsatlandırılmıştır (Jeschke vd. 2011).

nAChRs Cys-loop ligand kapılı iyon kanalları süper familyasının bir üyesi olup böcekler ve omurgalıların sinir sistemindeki birincil görevleri kolinerjik sinaptik iletimi aracılık etmektir (Brejc vd. 2001, Karlin 2002, Lester vd. 2004). Böcek *nAChRs*'leri sadece merkezi sinir sisteminde sınırlandırılmış olmasına karşın memelilerde *nAChRs*'ler periferal sinir sisteminde de bulunmaktadır (Gepner vd. 1978, Breer ve Satelle 1987). Memeliler ve böcekler arası arasındaki bu temel fizyolojik farklılık Neonikotinoid grubu insektisitlerin böceklerde yüksek memelilerde ise düşük toksistesiye neden olması dolayısıyla değerli bir insektisit grubu olmasını sağlamaktadır (Tomizawa ve Casida 2003, Matsuda vd. 2009). Böceklerde sinirsel iletim agonistin (örneğin *ACh*) bağlanmasına cevap olarak sinir hücresinin iyon kanallarının açılması ve hücreye iyon geçişi ile sağlanır (Breer ve Sateller 1987). Normal olarak bu reaksiyon geçici olup *AChE* tarafından sonlandırılır (Toutant 1989). Neonikotinoid grubu insektisitler *ACh*'yi taklit eder, ancak *AChE* tarafından parçalanamadığı için reseptör bağlanma süresinin uzamasına ve sürekli bir sinirsel uyarıya neden olurlar (Tomizawa ve Casida 2005, Tomizawa ve Casida 2009).

Aphis gossypii ile ilgili direnç vakalarına dair ilk kayıtların 1960'lı yıllara dayandığı bilinmektedir. *A. gossypii*'nin ilk olarak Organik Fosforlu grubu insektisitlerden Dementon'a direnç geliştirdiği bildirilmiştir (Hoskins 1960, Ghong vd. 1964). Daha sonra zararlının Karbamatlı insektisitlerden Pirimicarb aktif maddesine (Furk vd. 1980) ve Sentetik Pyrethroid grubu insektisitlere karşı direnç geliştirdiği bildirilmektedir (Zil'bermints ve Zhuravela 1984). Başka bir çalışmada Chen vd. (2013), Avustralya'da yaptıkları çalışmada konukçu bitki ve direnç arasındaki ilişkiyi incelemiş olup iki yaprakbiti popülasyonunda pirimicarb direnci ve konukçu arasında interaksiyon olduğunu microsatellite markerlar ile belirlemişlerdir.

Bu tez çalışması, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde özellikle son yıllarda Neonikotinoid grubu insektisitlerin uygulanması sonrasında *A. gossypii*'nin etkili bir şekilde kontrol altına alınmadığı yönünde artan şikâyet ve gözlemler sonucu ele alınmıştır. Çalışma 2017-2019 yıllarında yürütülmüş olup, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin farklı lokalitelerine ait *A. gossypii* popülasyonlarının Neonikotinoid grubu insektisitlere karşı direnç durumlarını ortaya konması amaçlanmıştır. Çalışmada Neonikotinoid grubu insektisitlerden Acetamiprid, Imidacloprid ve Thiamethoxam aktif maddeleri kullanılmıştır. Söz konusu Neonikotinoid grubu insektisitlerin hedef popülasyonlarda yarattığı etki, zararlı popülasyonlarının bu etkilere tepkisi ve bunun nedenlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Furk vd. (1980), tarafından İngiltere'de yapılan çalışmada, seralardan toplanan *A. gossypii* bireylerinin Primicarb'a karşı hassas popülasyona göre daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada tespit edilen direnç biyokimyasal metotlar ile desteklenmiştir.

Furk ve Vedjhi (1990), tarafından *A. gossypii*'nin süs bitkilerinden toplanan popülasyonlarının Organik Fosforlu insektisitler grubundan Heptenophos ve Diazinon'a direnç durumları incelenmiştir. Çalışmada toplanan popülasyonların Diazinon'a karşı 538 kata kadar direnç geliştirdiği tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan Heptenophos'un 1981 yılında toplanan popülasyonların 1984 yılında toplanan popülasyondan daha hassas olduğu ve 1984 yılında toplanan popülasyonlarda Heptenophos'a direncin 34 kata kadar çıktığı tespit edilmiştir.

Grafton-Cardwell (1991), Kaliforniya'da yaptığı çalışmalarda toplanan *A. gossypii* popülasyonlarından bazılarının Organik Fosforlu insektisitler grubundan Oxydemeton-methyl, Chlorpyrifos ve Dicrotophos'a yüksek seviyede direnç gösterdiklerini bildirmiştir. Çalışmada bazı popülasyonların ise Klorlandırılmış Hidrokarbonlulardan Endosulfan'a karşı düşükte olsa direnç geliştiği tespit edilmiştir.

Kerns ve Gaylor (1992), Alabama ve Teksas'ta üç yıl boyunca yürüttükleri çalışmada *A. gossypii* popülasyonlarının insektisit duyarlığının, hassas laboratuvar ırkına göre yıl bazında değişkenlik gösterdiğini belirlemiştir. Çalışmada zararlının 4 Sentetik Pyrethroid ve 8 Organik Fosforlu insektisite karşı direnç durumlarını incelenmiştir. Çalışmanın ilk yılında bazı popülasyonların Sentetik Pyrethroidli insektisitlerden Bifenthrin ve Cypermethrin'e karşı 50 kata varan direnç oranları sahip oldukları, Organik Fosforlulara karşı direncin ise 80 kata kadar çıktığı ve insektisit uygulamaları sonucu direnç oranında artış olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın ikinci yılında direnç oranlarının oldukça düşük olduğu ve çalışmanın üçüncü yılında ise direncin düşük oranlarda seyrettiği ancak daha yaygın olduğu belirlenmiştir.

O'brien vd. (1992), yürüttükleri çalışmada, Karbamatlı (Aldicarb), Organik Klorlu (Endosulfan), Organik Fosforlu (Chlorpyrifos), ve Sentetik Pyrethroidli (Bifenthrin)'e direnç oranları ve direnç ile *CarE* aktivitesi arasındaki ilişkiyi spektrofotometrik ve poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) metodları ile incelemiştir. Dirençli popülasyonlarda *CarE* enzim aktivitesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir.

McKenzie ve Cartwright (1994), *A. gossypii* ile yaptıkları çalışmada konukçu bitki olarak, pamuk ve karpuz bitkilerini kullanarak 7 farklı insektisite karşı direnç durumlarını test etmiştir. Çalışmada elde ettikleri en yüksek toksisitenin sırasıyla Bifentrin, Oxydemeton-methyl, Methomyl, Dicrotophos, Dimethoate, Chlorpyrifos ve Endosülfan şeklinde olduğu belirlenmiştir. Araştırıcılar çalışma sonucunda pamuk bitkisi üzerinde yetiştirilen bireylerin karpuz üzerinde yetiştirilen bireylere oranla insektisitlere karşı toleransın da yüksek olduğunu tespit etmiştir.

Hollinngsworth vd. (1994), farklı Havai adalarından elde ettikleri 16 *A. gossypii* popülasyonu ile yürüttükleri çalışma sonucunda endosülfan, esfenvalerate, methomyl ve oxydemeton methyl'e karşı değişen LC_{50} değerleri olduğunu belirlenmiştir. Farklı hassasiyet seviyelerinin pestisit kullanım sıklığı ve lokasyonlar arasındaki mesafe ile ilişkili olduğu (insektisit kullanım ve seçim davranışı) sonucu ortaya çıkmıştır.

Rosenheim vd. (1995), tarafından Kaliforniya'da yürütülen bir çalışmada Endosülfan ve Sentetik Pyrethroid'li Bifenthrin'e karşı geniş alanlara yayılan bir direnç oluştuğu belirlenmiştir.

Moores vd. (1996), yaptıkları çalışmada farklı *A. gossypii* popülasyonlarında insektisitler tarafından engellenen *AChE* enzim duyarlılıklarını ve esteraz enzim aktivitelerini inceleyerek insektisit direnç düzeylerini belirlemiştir. Esteraz aktivitesi ile *AChE* duyarlılıkları bakımından karşılaştırılan popülasyonlarda Organik Fosforlu ve Karbamatlı insektisitlere karşı görülen direncin ana mekanizmasının modifiye *AChE* olduğunu ortaya konmuştur.

Delorme vd. (1997), yaptıkları çalışmada Fransa'dan toplanan bir *A. gossypii* popülasyonunun ve hassas popülasyonun karşılaştırıldığını ve Primicarb başta olmak üzere bazı insektisitlere direnç kazandığını tespit etmiştir. Çalışmada 16 insektisit denemeye alınmış ve hassas popülasyonun tüm insektisitlerin en düşük dozunda bile öldüğü, dirençli popülasyonun ise Pirimicarb'a karşı yüksek oranda (direnç faktörü: 1350) dirençli olduğu, Methomyl'e ise düşük oranda (direnç faktörü: 2,93) dirençli olduğu belirlenmiştir. Çalışma kapsamında direnç faktörü Organik Fosforlu insektisitlerden Nevinphos için 2.57; Dimethoate için ise 78.9 olarak hesaplanmış olup, Triazamate'e karşı orta derecede direnç gözlemlendiği, Klorlandırılmış Hidrokarbonlular, Sentetik Pyrethroid'li ve Imidacloprid için herhangi bir direnç tespit edilmemiştir.

Martin ve Workman (1997), Yeni Zelanda'da yapılan çalışmada, seçilmiş 11 pestisit için iki farklı uygulama yapılarak zararlılardaki direnç durumlarını araştırmıştır. İlk uygulama olarak zararlı ile bulaşık bitki yaprakları üzerine ilaç uygulaması yapılmış, ikinci uygulama olarak ise üzerinde ilaç kalıntısı olan yapraklara zararlı salımı yapılmıştır. Her iki uygulama için değerlendirmelerin 48 saat sonra yapıldığı ve Pirimicarb'ın yaprak üzeri uygulamaları için tespit edilen LC_{50} değerinin tavsiye edilen uygulama dozundan 10 kat daha yüksek olduğu ortaya konmuştur.

Herron vd. (2001), *A. gossypii*'ne ruhsatlı 21 insektisite karşı zararlının direnç durumunu tespit etmek için biossayler yürütmüştür. Çalışmada Avustralya'nın farklı pamuk ekiliş alanlarından zararlı popülasyonları toplanmıştır. Çalışmada hiç ilaçlama yapılmayan alanlardan iki adet hassas popülasyon denemelere alınmıştır. Çalışma sonucu pamuk ekiliş alanlarında toplanan 3 popülasyonda Endosülfan ve Sentetik Pyrethroidli insektisitlere direnç tespit etmişlerdir. Direnç tespit çalışmalarında bazı popülasyonların pirimicarb, Organik Fosforlular, Endosülfan ve Sentetik Pyrethroidli'lere direnç kazanmış olduğunun tespit edildiği bildirmiştir. New South Wales pamuk üretim alanlarından toplanan popülasyonların Organik Fosforlular ve Pirimicarb'a karşı hassasiyet gösterirken, benzer bölgeler olan batı Avustralya, Queensland ve kuzey bölgesi popülasyonlarının mücadele hataları sebebiyle yüksek oranda direnç geliştirdikleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda dirençli *A. gossypii* popülasyonlarının Avustralya

pamuk endüstrisini olumsuz yönde etkilemesinden dolayı zararlı ülkesel direnç yönetim stratejileri sistemine dâhil edilmiştir.

Godfrey ve Fuson (2001), *A. gossypii*'nin önemli ekonomik ürün kayıplarına neden olduğunu ve zararlının Amerika Birleşik Devletleri'nde 1997 yılında, yaklaşık 34 milyon dolarlık ürün kaybı ile 38 milyon dolarlık mücadele masrafına sebep olduğunu belirlemiştir.

Nauen ve Elbert (2003), Avrupa'nın değişik bölgelerinden elde edilen, *M. persicae*'nin 16 farklı ırkı ile *A. gossypii* Glover'in 8 farklı ırkı üzerinde yaptıkları çalışmada popülasyonların büyük çoğunluğunun Primicarb, Oxydemeton-methyl ve Cyfluthrine karşı dirençli olduğunu tespit etmiştir. Çalışmada Neonikotinoid grubu insektisitlerden Imidacloprid'e karşı hiçbir direnç durumu tespit edilmemiştir.

Whalon vd. (2004-2012), yaptıkları derlemede 28 yayınlanmış çalışmadan elde ettiği verilere dayanarak, *A. gossypii*'nin pamuk ve sebzelerde, 20 farklı ülkede, farklı gruplardan 41 pestisite direnç geliştirdiğini belirtmiştir. Araştırmacılar bu çalışmaların büyük çoğunluğunda, *A. gossypii*'nin testlenen insektisitlerin önemli bir kısmına çok yüksek düzeyde dirençli olduğu ve bu insektisitlerin zararlıyı kontrol edemedikleri ve söz konusu zararlıya karşı direnç yönetimi programının yapılması gerektiği sonucuna varmıştır.

Gubran vd. (1992), 1988, 1989 ve 1990 yıllarında, Sudan'ın Gezira Scheme bölgesinde bulunan pamuk tarlalarından topladığı 3 farklı ırk ve Fransa'dan getirtilen 2 hassas ırk ile laboratuvarda direnç çalışmaları yürütmüştür. Araştırmacılar çalışma sonucunda *A. gossypii*'nin arazi popülasyonlarının hassas ırklarla kıyaslandığında, denemeye alınan 8 insektisite karşı direnç oluşturduğunu belirlemiştir.

Wang vd. (2007), yaptıkları çalışmada pamuk bitkisi üzerinde yetiştirilen *A. gossypii* Imidacloprid, Acetamiprid, Omethoate Fenvalerate, Endosulfan ve Carbosulfan'a direnç durumlarını incelemiştir. Araştırmacılar zararlının Fenvalerate'a karşı 2150 kata varan

direnç geliştirdiğini ve zararlının Neonikotinoid grubu insektisitlerden Imidacloprid va Acetamiprid'e 97 kata varan RR karakterli homozigot direnç geliştirdiğini tespit etmiştir.

Carletto vd. (2010), Kamerun'da kabakgiller (C4 ve C9), pamuk (Burk ve İvo), patlıcan (Auber) ve biber (PsP4) konukçuları üzerinden toplanan 6 *A. gossypii* ırkına farklı gruplara ait 7 farklı insektisiti uygulayarak yaptıkları bioassay çalışmalarında, toplanan popülasyonlarda farklı seviyelerde direnç tespit etmiştir. Çalışmada toplanan 6 popülasyonun tamamının özellikle PsP4, Burk, Auber popülasyonlarının Dimethoate etkili maddeli insektisitlere önemli ölçüde direnç geliştirdiği belirlemiştir. Ayrıca bu 3 ırkın Profenofos ve Monocrotophos aktif maddeli insektisitlere de direnç kazanmış olduğu vurgulanmıştır. Auber ve Burk popülasyonlarının Cypermethrin'e yüksek oranda direnç geliştirdiği ve Burk popülasyonunun DDT'ye karşı çapraz dayanıklılık oluşturduğunun tespit edilmiştir. Toplanan diğer popülasyonların (C4, C9 ve İvo) Profenofos, Monocrotophos ve Cypertmethrin etkili maddeli insektisitlere hassas oldukları, Acetamiprid ve Carbosülfan aktif maddesine sahip insektisitlere hiçbir popülasyonda direnç gelişimi gözlemlenmemiştir.

Bass vd. (2011), yaptıkları çalışmada araziden toplanan *M. persicae* popülasyonunun klonlarının Neonikotinoid grubu insektisitlere karşı oldukça yüksek seviye direnç kazandığını ve bu grubun etkinliğini oldukça azalttığını belirlemiştir. Çalışmalar bioassay, metabolizma ve gen ifadesi çalışmaları ile geliştirilmiş sitokrom P 450 mono oksigenaz ve detoksifikasyon enzimlerini engelleyen sinerjistlerin kullanımı şeklinde yürütülmüştür. Araştırmacılar radyoaktif işaretli Imidacloprid'in hassas popülasyonlarda hedef aldığı ve bağlanma noktası olan bölgelere kolaylıkla bağlandığını ancak, dirençli popülasyonlarda bu durumun gözlemlenmediğini belirtmiştir. Bu durum Neonikotinoid grubu insektisitlerin bağlanma yeri olan *nAChR*s bölgelerinde affinetenin azalması olarak açıklanmıştır. Dirençli ve hassas popülasyonların 6 nAChR alt ünitelerinin (*Mpα1-5* ve *Mpβ*1) sekansları ile dirençli popülasyonların *nAChR β1* alt ünitesinin *D-loop* bölgesinde tek nokta mutasyonu tespit edilmiştir. Çalışma ile Imidacloprid için *nAChR* hedef bölgesinde direnç geliştiği ve bu durumun Neonikotinoid grubu insektisitler için arazi koşullarında temin edilen bir popülasyonda ilk defa gözlemlendiği vurgulanmıştır.

Herron ve Wilson (2011), yaptıkları çalışmada Avustralya pamuk alanlarından toplanan *A. gossypii*'nin Neonikotinoid grubu insektisitlerden Acetamiprid, Clothianidin ve Thiamethoxam'a karşı direnç durumları incelemiştir. Araştırmacılar zararlının Acetamiprid'e karşı 6.4 kat, clothianidine karşı 10 kat ve Thiamethoxam'a 22 kat direnç kazandığını tespit etmiştir.

Shi vd. (2011), son yıllarda Imidacloprid'e artan direnç vakaları ve Neonikotinoid grubu insektisitlerde görülen çapraz dayanıklılığa dayanarak yürüttükleri çalışmada, Imidacloprid'e dirençli ve Acetamiprid, Nitenpyram ve Thiacloprid'e karşı 3.68-5.79 kata varan çapraz dayanıklılık gösteren bir *A. gossypii* popülasyonuna karşı Neonikotinoid grubu insektisitlerin etkinliğini ve sublethal dozların gelişme, üreme ve hayatta kalma üzerine etkilerini incelemiştir. Imidacloprid'in LC_{20} dozunda zararlının vücut ağırlığında ve ballı madde üretiminde azalma olduğu ancak üreme ve yaşam süresi üzerine önemli bir etki olmadığı tespit edilmiştir. Ancak diğer Neonikotinoid grubu insektisitlerin biyolojik karakterler (üreme, yaşam süresi, vücut ağırlığı ve ballı madde salgısı) üzerine önemli olumsuz etkileri olduğu vurgulanmıştır. Araştırmacılar Imidacloprid'e karşı direnç tespit edilmesi durumunda sırasıyla Nitenpyram, Acetamiprid ve Thiacloprid kullanımından kaçınılması gerektiği sonucuna varmıştır.

Gore vd. (2013), yaptıkları çalışmada 2008-2011 yılları arasında *A. gossypii*'nin Thiamethoxam, Flonicamid ve Sulfoxaflor'a duyarlılıklarını gözlemlemiştir. Bioassay çalışmaları sonucunda Thiamethoxam'a 48 saat sonunda 562.6 kata 72 saat sonunda 29.1 kata varan direnç tespit edilmiştir. Araştırmacılar kullanılan zararlı popülasyonlarının Flonicamid ve Sulfoxaflor'a duyarlı olduğu sonucuna varmıştır. Flonicamid'in LC_{50} değerlerinin 1.43-6.60 ppm arasında değiştiği Sulfoxaflor'un LC_{50} değerlerinin ise 48 saat sonunda 1.01-5.85 ppm 72 saat sonunda ise 0.92-4.13 ppm arasında değiştiği belirlenmiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda Thiamethoxam'a direnç gözlemlenen alanlarda Sulfoxaflor ve Flonicanid'in güvenle kullanılabileceğini vurgulamıştır.

Gong vd. (2014), RNAi teknolojisini kullanarak *A. gossypii*'nin Organik Fosforlu insektisitlere karşı dirence neden olan *CarE* genini susturmaya yönelik çalışmalar

yürütmüştür. Çalışmada *CarE* gen bölgesi hedeflenmiş olup, *dsRNA-CarE* ile beslenen böceklerde 72 saatlik beslenme sonucunda knock down ölüm oranında %33 oranında bir artış olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar *CarE* aktivitesinde belirgin bir azalma olduğunu biyokimyasal metotlarla kanıtlamıştır.

Matsuura ve Nakamura (2014), yaptıkları çalışmada *A. gossypii*'nin 5 farklı arazi popülasyonunun 7 farklı Neonikotinoid grubu insektisite duyarlılığını incelemiştir. En yüksek direnç oranının 687 kat ile Clothianidin'de en düşük direnç oranı ise 17 kat ile Thiacloprid'de tespit edilmiştir. Diğer insektisitlerde ise 43 kat ve 253 kat arasında değişen oranlarda direnç tespit edilmiştir.

Koo vd. (2014), yaptıkları çalışmada *A. gossypii*'nin arazi popülasyonlarının 12 insektisite (6 Neonikotinoid grubu, 3 Sentetik Pyrethroid grubu ve 3 diğer) duyarlılığını direnç oranları ile değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda özellikle Acetamiprid, Clothianidin, Thiacloprid ve Imidacloprid gibi Neonikotinoid grubu insektisitler başta olmak üzere oldukça yüksek direnç oranları elde edilmiştir. Araştırıcılar insektisit direnç mekanizmasını Imidacloprid'e dirençli olduğu bilinen bir ırkı, model ırk olarak almış ve bu ırkın diğer Neonikotinoid grubu insektisitlere oldukça yüksek çapraz dayanıklılık gösterdiği belirlemiştir. Araştırıcılar ayrıca hedef popülasyonların sitokrom P450, esteraz ve GST enzim aktiviteleri ve sinerjizm testleri yürütmüştür. Çalışma sonucunda Imidacloprid dirençli popülasyonun *nAChRs β1* alt ünitesinde yer alan *D-loop* bölgesindeki *R81T* mutasyonu tespit edilmiştir. Söz konusu mutasyon araziden toplanan 5 popülasyonda tespit edilmiştir. *R81T* nokta mutasyonunun *A. gossypii*'nin Imidacloprid'e direnç mekanizmasında etkili olduğunu ortaya konmuştur.

Seyedibrahimi vd. (2015), Güney İran'dan elde ettikleri *A. gossypii* popülasyonlarının Imidacloprid'e duyarlılıklarını incelemiştir. Çalışmada sinerjistlerden TPP (Triphenyl phosphate), DEM (Diethyl meleate) ve PBO (Piperonyl butoxide) kullanılmıştır. Aynı çalışmada EST, GST, Sitokrom P450 monooksigenaz ve heme peroxidaz enzim aktiviteleri incelenmiştir. Çalışma sonucu Imidacloprid'e 11.24 kata kadar artan direncin birincil olarak sitokrom P450 enzim aktivitesinden kaynaklandığı belirlenmiştir.

Suann vd. (2015), *A. gossypii* ile yürüttükleri bir çalışmada TaqMan qPCR metodunu kullanarak hızlı bir direnç profili belirleme metodu geliştirmiştir. Çalışmada Sentetik Pyrethroid grubu insektisitlere karşı görülen dirence neden olan 1014F kdr mutasyonunun belirlenmesi hedeflenmiştir. Araştırmacılar geliştirilen metodun hem direncin belirlenmesinde hemde direnç allel frekanslarının belirlenmesinde oldukça etkili ve maliyet bakımından diğer metotlara göre üstünlük sağladığını ortaya koymuştur.

Pan vd. (2015), yaptıkları çalışmada *A. gossypii*'de Thiamethoxam'a direnç ile ilgili genleri incelemiştir. Thiamethoxam dirençli (ThR) bir arazi popülasyonunun standart hassas (SS) popülasyona gore 19.35 kat daha dirençli olduğunu belirlenmiştir. Aynı çalışmada ThR popülasyonu ile SS popülasyonu arasında 620 unigen bölgesinde önemli farklılıklar olduğunu tespit edilmiştir. Araştırıcılar *nAChR* genleri ve upregüle ribozomal proteinler, ecdysteroid UDP-glikoziltransferaz, sitokrom c oxidaz, esteraz ve peroksidaz'ların Thiamethoxam'a tolerans ve direnç konularında etkili olduklarını ortaya çıkarmıştır.

Hirata vd. (2015), yaptıkları çalışmada *A. gossypii*'nin Kushima Bölgesi'nden elde edilen ve Neonikotinoid grubu insektisitlere yüksek direnç gösteren bir popülasyonunda oksidaz inhibitörü olan Piperonyl Butoxide'in varlığı ve yokluğunda *nAChR* genlerini incelemiştir. Araştırmacılar Kushima klonunun nitro-substituted Neonikotinoid grubuna (Imidacloprid), cyano-substituted Neonikotinoid grubundan (Acetamiprid) daha dirençli olduğunu tespit etmiştir.

Chaitanya vd. (2015), özellikle Organik Fosforlu ve Sentetik Pyrethroidli insektisitlere direnç oluşumunda etkili olan sodyum kanalı ve ultraspiracle genlerinin susturulmasına yönelik yürütülen çalışmada RNAi tekniği kullanılarak *A. gossypii*'ye farklı dozlarda dsRNA oral olarak verilmiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda elde edilen ölüm oranları incelendiğinde, 96 saatlik beslenmenin doz düşük olsa bile ölüm oranını arttırdığını ve tekniğin işe yaradığını ortaya koymuştur.

Gong vd. (2017), *A. gossypii*'nin Sistemik Organik Fosforlu insektisit olan Omethoate'a dirençli bir popülasyonu üzerinde yürüttükleri çalışmada dirençli popülasyonda *CarE* gen bölgesinde 4 mutasyon belirlenmiş olup, ayrıca bu mutasyonların fonksiyonları araştırılmıştır. Söz konusu mutasyonlardan (*H104R, A128V, T333P* ve *K484R*) özellikle *H104R, A128V* ve *T333P* mutasyonlarının hem kombinasyon olarak hem de tek tek bulunması durumunda *A. gossypii*'nin Organik Fosforlu hidrolaz aktivitesinde artışa neden olduğu belirlenmiştir.

Wei vd. (2017), yürüttükleri çalışmada Thiamethoxam'a karşı laboratuvar seleksiyonu yoluyla dirençli hale getirilen *A. gossypii* popülasyonunun Bifenthrin, Cyfluthrin, Esfenvalerate, Clothianidin, Methidathion ve Alpha cyperthrin'e değişen düzeylerde çapraz dayanıklılık gösterdiğini belirlemiştir. PBO ve TPP'nin Bifenthrin'in toksisitesini 2.38 kat ve 4.55 kat arttırdığı bildirmiştir. Yürütülen moleküler çalışmalarda mRNA'nın *α1*, *α4*, *α5* ve *α7* alt ünitelerinde önemli azalma olduğu ancak *α1*, *α2* ve *β1* alt ünitelerinde herhangi bir mutasyon gözlenmemiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda Thiamethoxam'a karşı direnç ve buna bağlı çapraz dayanıklılığın yüksek sitokrom P450 ve Esteraz aktivitesinden kaynaklandığı tespit etmiştir.

Toda vd. (2017), yürüttükleri çalışmada *A. gossypii* nin Neonikotinoid grubu insektisitlere karşı dirençli olmasından sorumlu olan *nAChR* genlerinin *β1* alt ünitesinin *D-Loop* bölgesindeki *R81T* mutasyonunun hızlı tespitine yönelik bir protokol geliştirmiştir. Araştırmacılar protokolün multiplex PCR metodu kullanılarak hızlı teşhise olanak sağladığını ortaya koymuştur.

Pan vd. (2018a), *A. gossypii* nin Spirotetramat'a karşı hassas ve dirençli popülasyonlarında yürüttükleri çalışmada, Sitokrom P450 geninin fonksiyonunu belirlemek için bazı moleküler ve sinerjizm çalışmaları yürütmüştür. Yapılan çalışmalar sonucunda bazı gen bölgelerinin değiştiği belirlenmiştir. Daha sonra yürütülen RNAi çalışmaları sonucu *CYP3806C* gen bölgesinin testlenen popülasyonda Spiroeramat'a karşı dirençten sorumlu olduğu belirlenmiştir.

Pan vd. (2018b), yürüttükleri çalışmada Thiamethoxam'a karşı dirençli *A. gossypii* popülasyonunda Uridin difosfat (UDP) ve glikoziltransferazların (UGTs) direnç ile ilgili fonksiyonlarını incelemiştir. Çalışmada UGT enzim inhibitörlerinden olan Sulfinpyrazone ve 5-Nitrouracil kullanılmıştır. İnhibitör uygulaması sonucu Thiamethoxam'ın toksisitesinde önemli artışlar olduğunu tespit etmiştir. Yürütülen moleküler çalışmalar sonucu 13 UGT gen bölgesinde mutasyonlar tespit edilmiş ve gen susturma yöntemiyle bu mutasyonların Thiamethoxam direnci konusundaki fonksiyonları belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırmacılar gen susturma tekniği sonrasında Thaimethoxam'ın toksisitesinin yaklaşık olarak 2 kat arttığını ve UGT'lerin Thiamethoxam'a karşı direnç ile ilişkili olabileceğini belirtmiştir.

Wang vd. (2019), yürüttükleri çalışmalarda Imidacloprid'e dirençli ve *R81T* mutasyonuna sahip bir *A. gossypii* popülasyonunda beslenme davranışı ve yaşam tablosu parametrelerini incelemiştir. Çalışmada dirençli popülasyonun hassas popülasyona göre uygun beslenme yeri arama konusunda daha aktif olduğu ve daha fazla stylet batırma yoluyla beslenme denemesi yaptığı belirlenmiştir. Imidacloprid aktif maddesinin varlığının her iki popülasyonun beslenmesi üzerine olumsuz etki gösterdiği ortaya konmuştur. Araştırmacılar floem dokusunda beslenme süresinin dirençli popülasyonda önemli derecede daha uzun olduğunu ve doğurganlığın da dirençli popülasyonda daha yüksek olduğunu tespit etmiştir.

Chen vd. (2019), Imidacloprid'e dirençli *A. gossypii* popülasyonunda UDP- UGT'lerin direnç ile ilişkisini transkriptomik ve proteomik analizler ile belirlemeye çalışmıştır. Transkriptomik analizlerde 512 genden farklılık gösteren 12 tanesi proteomik analizlerde ise 510 proteinden farklılık gösteren 3 tanesi incelenmiştir. Araştırmacılar RNAi çalışmalarıyla *UGT344N4* ve *UGT344C7* kodlu iki gen bölgesinin duyarlılık azalışı üzerinde önemli ölçüde etkisinin olduğunu tespit etmiştir.

Türkiye'de *A. gossypii*'nin insektisitlere direnci ile ilgili yapılan beş çalışma olduğu tespit edilmiştir.

Han vd. (1998), farklı ülkeler ve bölgelerden topladıkları 21 *A. gossypii* popülasyonunun Organik Fosforlu ve Karbamatlı insektisitlere hassassiyetleri ve esteraz ile *AChE* enzim akvtiviteleri arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Çalışmada ülkemiz pamuk ekiliş alanlarından toplanan bir popülasyon bulunduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar çalışma soncunda pirimicarb'a dirence mutant bir *AChE'ın* neden olduğu, farklı mutant bir *AChE'nin* ise Demeton-S-methyl'e karşı dirence neden olduğunu belirlemiştir. Ülkemizden toplanan popülasyon *AChE* fenotipi olarak duyarlı, Esteraz fenotipi olarak ise orta düzey dirençli olarak belirlenmiştir.

Velioğlu vd. (2008), *A. gossypii*'nin Adana ve Antalya pamuk ekiliş alanlarından toplanan popülasyonlarının direnç mekanizmalarının biyokimyasal yöntemler kullanılarak belirlenmesi amacıyla bir çalışma yürütmüştür. Çalışma sonucunda toplanan tüm popülasyonların Organik Fosforlu'lardan Demeton-S-methyl ve Karbamatlı'lardan Primicarb'a karşı değişen oranlarda direnç geliştirdiği tespit edilmiştir.

Özdemir ve Durmuşoğlu (2013), yaptıkları çalışmada Aydın ilinden toplanan farklı *A. gossypii* popülasyonlarının Acetamiprid, Imidacloprid, Chlorpryphos-ethyl ve Dimethoate direnç durumlarını incelemiştir. Çalışmada Neonikotinoid grubu insektisitlerden Acetamiprid'e karşı 282 kat, Imidacloprid'e karşı ise 1353 kat varan farklı seviyelerde direnç tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan Organik Fosforlu insektisitlerden Dimethoate'ye karşı 365 kat ve Chlorpyrifos ethyl'e karşı 314 kata varan bir direnç tespit edilmiştir.

Ulusoy vd. (2018), Çukurova Bölgesi'nde yürüttükleri çalışmada *A. gossypii*'nin Neonikotinoid grubu insektisitlerden Imidacloprid ve Thiamethoxam'a direnç durumunu bioassay ve biyokimyasal metotlar ile incelemiştir. Çalışma sonucunda Imidacloprid'e karşı 206 kat, Thiamethoxam'a karşı ise 65 kata varan direnç oranları elde edildiği

bildirilmiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda denemeye alınan bazı popülasyonların yüksek *CarE*, GST ve Sitokrom P450 enzim aktivitesi gösterdiğini tespit etmiştir.

Ulusoy vd. (2019), yürüttükleri çalışmada bazı bitki ekstraktlarının *A. gossypii* üzerine toksik etkileri ve anti-*AChE* ve anti-*CarE* enzim etkisini incelemiştir. Çalışmada en yüksek toksik etkinin %20'lik konsantrasyonda sırasıyla *Ficus carica* (%75.6) *Nerium oleander* (%71.6) ve *Daphne odora* (%62.1)'da görüldüğü belirtilmiştir. Bitki ekstraktlarının en yüksek in vitro anti-*AChE* ve anti-*CarE* aktiviteleri %10'luk konsantrasyonlarda saptanmış ve aktivitenin %40.2-82.5 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Yapılan literatür araştırmasında Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde *A. gossypii*'nin popülasyonlarının insektisitlere direnci üzerine daha önce yapılmış çalışmaya rastlanılmamış olup, ayrıca Neonikotinoid grubu insektisitlere karşı bu zararlının direnç geliştirip geliştirmediğinin ortaya konması amacıyla bu tez çalışması ele alınmıştır.

Bu tez çalışmasında *A. gossypii*'nin Neonikotinoid grubu İnsektisitlere direnç durumu bioassay, biyokimyasal ve moleküler metodlar ile incelenmiştir. Çalışmalar kapsamında bioassay çalışmalarında Neonikotinoid grubu insektisitlerden Acetamiprid, Imidacloprid ve Thiamethoxam aktif maddeleri ile çalışılmıştır. Çalışmanın biyokimyasal analiz kısmında zararlı popülasyonlarının esteraz ve GST enzim aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmada ayrıca Neonikotinoid grubu insektisitlere karşı direnç gelişiminde önemli rol oynadığı bilinen Nikotinoik asetilkolin reseptörlerinin *β1* alt ünitesindeki *V62I* ve *R81T* mutasyonu moleküler metotlar ile incelenmiştir.

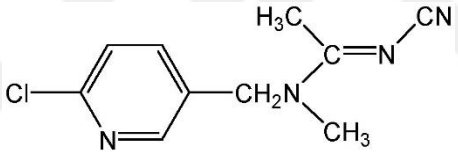
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmanın ana materyalini Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin önemli pamuk yetiştirme alanları olan Şanlıurfa, Diyarbakır ve Mardin illerinden toplanan *A. gossypii* populasyonları ve iklim odasında yetiştirilen pamuk bitkileri oluşturmaktadır. Çalışmada Neonikotinoid grubu insektisitlerden Acetamiprid, Imidacloprid ve Thiamethoxam kullanılmıştır.

Acetamiprid

Acetamiprid neonikotinoid grubu insektisitlerden bir tanesi olup, tüm dünyada yaygın olarak kullanılan bir aktif maddedir. Acetamiprid, $C_{10}H_{11}ClN_4$ kimyasal formülüne sahip organik bir bileşiktir (**Şekil 3.1**).



Şekil 3.1 Acetamiprid'in kimyasal yapısı (Anonymous 2020e)

Genel ismi: Acetamiprid

Cas No: 135410-20-7

Kimyasal ismi: E)-N-[(6-chloro-3-pyridinyl) methyl]-N-cyano-N-methylethanimidamide

Biyokimyası: Böcek merkezi sinir sisteminde sinapsları etkileyen Nicotinik Asetilkolin reseptörlerinin agonistidir.

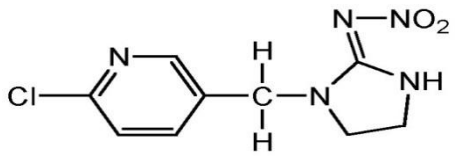
Etki şekli: Translaminar aktivitesiyle sistemik, kontakt ve mide etkisi vardır.

Kullanımı: Hemipterlerden özellikle yaprakbitlerinin ve Thysanoptera takımının mücadelesinde kullanılır. Toprak ve yaprak uygulamaları vardır, özellikle sebze, meyve ve çay bitkisini de içine alan geniş ürün yelpazesinde uygulanır.

Formulasyon tipleri: FU, GR, EC, WP

Imidacloprid

Imidacloprid, bir böcek nörotoksini olarak işlev gören ve böceklerin merkezi sinir sistemini etkileyen Neonikotinoid'ler adı verilen kimyasal sınıfına ait olan sistemik bir böcek öldürücüdür. Kimyasal, böcek sinir sistemindeki uyaranların iletimini engelleyerek çalışır. Imidacloprid $C_9H_{10}ClN_5O_2$ kimyasal formülüne sahip organik bir bileşiktir (**Şekil 3. 2**).



Şekil 3.2 Imidacloprid'in kimyasal yapısı (Anonymous 2020f)

Genel ismi: Imidacloprid, Imidaclopride

Cas No: 138261-41-3

Kimyasal ismi: 1-(6-Chloro-3-pyridinylmethyl)-N-nitro-2-imidazolidinimine

Biyokimyası: Böcek merkezi sinir sisteminde postsinaptik nikotinik reseptörlere bağlanarak bir antogonist olarak hareket eder.

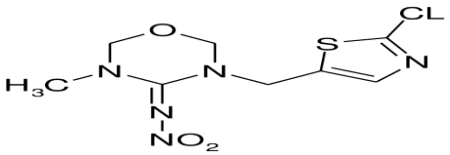
Etki şekli: Translaminar aktiviteyle sistemik insektisittir, kontakt ve mide yollu etkilidir. Hazır bir şekilde bitki tarafından alınır ve iyi kök sistemik etkisi ile aşağıdan yukarıya doğru dağılır.

Kullanımı: Sokucu emici ağız yapısına sahip böceklerde (Cicadellidler, afitler, tripsler ve beyazsinekler) etkilidir. Ayrıca toprak böceklerine, termitlere ve bazı ısırıcı-çiğneyici ağız yapısına sahip böceklere karşı da etkilidir. Nematodlar ve akarlara karşı etkinliği yoktur. Farklı ürünlerde (pamuk, pirinç, mısır, şeker pancarı, patates, sebze, turunçgil, yumuşak ve sert çekirdekliler) tohum ilaçlaması, toprak uygulaması ve yeşil aksam ilaçlaması şeklinde uygulanır.

Formulasyon tipleri: DP, FS, GR, SC, SL, WG, WP, WS

Thiametoxam

Thiamethoxam Neonikotinoidler sınıfında sistemik bir insektisittir. Birçok böcek türüne karşı geniş bir aktivite spektrumuna sahiptir. Thiamethoxam $C_8H_{10}ClN_5O_3S$ formülüne sahip organik bir bileşiktir (**Şekil 3.3**).



Şekil 3.3 Thiamethoxam'ın kimyasal yapısı (Anonymous 2020g)

Genel ismi: Thiamethoxam

Cas No: 153719-23-4

Kimyasal ismi: 3-[(2-chloro-5-thiazolyl)methyl]tetrahydro- 5-methyl-N-nitro-4H-1,3,5-oxadiazin-4-imine (Şekil 3.3)

Biyokimyası: Böcek merkezi sinir sisteminde sinapsları etkileyen Nikotinik Asetilkolin reseptörlerine bağlanırlar.

Etki şekli: Kontakt, mide ve sistemik yollu etkiye sahiptir. Bitkide hızlı bir şekilde alınır ve ksilemde aşağıdan yukarıya doğru iletilir.

Kullanımı: Sokucu emici ağız yapısına sahip böcek türleri (Cicadellidler, yaprakbitleri, tripsler, unlubitler, beyazsineklere ve bazı Lepidopterler) üzerine etkilidir. Yeşil aksam ve toprak uygulamaları lahanagiller, yapraklı ve meyveli sebzeler, patates, mısır, pamuk, yaprak döken meyveler, turunçgil, tütün ve soya; tohum uygulaması, mısır, sorgum, buğday, pamuk, ayçiçeği, bezelye, pirinç, patates, şeker pancarında kullanılabilir. Ayrıca, halk ve hayvan sağlığında da kullanılabilir.

Formulasyon tipleri: FS, GR, SC, WG, WS

Çalışmada kullanılan aktif maddelerin 50 litre/dekar ilaçlama normunda konsantrasyonları; Acetamiprid için 200 ppm, Imidacloprid için 700 ppm ve Thiamethoxam için 400 ppm olarak hesaplanmıştır.

Bioassay çalışmalarında çalışma materyali olarak Acetamiprid, Imidacloprid ve Thiamethoxam aktif maddelerini içeren bitki koruma ürünleri, Triton X-100, agar, pisetler, farklı ölçülerde mikro pipetler, hassas terazi, elektromanyetik karıştırıcı, plastik deneme kapları, parafilm, taze pamuk yaprakları, yaprak kesme diski, ölçü silindirleri, farklı ölçülerde samur fırça ve beherler kullanılmıştır.

Biyokimyasal çalışmalarda, örnek ezme çubukları, tek ve çok kanallı mikropipetler, soğutmalı santrifüj, elektromanyetik karıştırıcı, 96 kuyulu ve düz tabanlı mikroplakalar, vortex, -80°C ve -20°C'lik derin dondurucular, mikroplaka okuyucu, hassas terazi kullanılmıştır. Kimyasal malzeme olarak; Sodyum dihidrojen fosfat dodecahidrat ($Na_2HPO_4+12H_2O$), sodyum fosfat dibasic dihidrat ($Na_2HPO_4+2H_2O$), tris base, tris hidroximetil, sodyum hidroksit (NaOH), α-naphtil asetat, fast blue RR, hidroklorik asit (HCl), indirgenmiş Glutatyon (GSH), 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB), etilendiamin tetraasetikasit (EDTA), triton X-100, n-butanol ve Bradford reagent gibi kimyasallar kullanılmıştır.

Moleküler çalışmalarda ise, mikrosantrifüj tüpleri, örnek ezme çubukları, GeneJET RNA izolasyon kiti (Thermo Fisher Scientific, USA), tek kanallı mikropipetler, *cDNA* sentez için SuperScript™ III Reverse Transcriptase kiti (Thermo Fisher Scientific, USA), PCR cihazı (BioRad), soğutmalı santrifüjler, 1xTBE tampon solüsyonu, Borik asit, EDTA, yükleme boyası, primerler, etanol, agarose, NanoDrop2000 spektrofotometer (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE), vortex, -80°C'lik derin dondurucu, elektromanyetik karıştırıcı, PCR reaksiyonu için Invitrogen Taq DNA Polymerase PCR kiti (Thermo Fisher Scientific, USA), Pronosafe (Conda Lab), jel görüntülme cihazı (DNR Bio-Imaging Systems, Jerusalem, Israel) kullanılmıştır.

3.2 Metot

3.2.1 Arazi çalışmaları

Arazi çalışmalarına yaprak disklerin alındığı ve stok popülasyonun yetiştirildiği pamuk ekim alanının sürümü ve tesfiyesi çalışmaları ile başlanmıştır. Sürümü yapılan tarla da 100 m^2'lik bir açık alan parseli ve 5 m^2'lik 9 kafes parseli oluşturulmuştur (**Şekil 3.4**). 100 m^2'lik bir parselde bulunan bitkiler bioassay çalışmalarında gerekli yaprakları kullanılmak üzere, 5 m^2'lik parseller ise stok popülasyonların yetiştirilmesi için kullanılmıştır. Oluşturulan parsellere toprak tavına gelince pamuk tohumları ekilerek çimlenme ve çıkışları takip edilmiştir. Çimlenmeyen yerlerde ikileme yapılarak yeni tohumlar ekilmiştir. Pamuk tohumlarının çimlenmesinden sonra 5 m^2'lik parseller için

damlama sulama hortumları çekilerek kafesler kurulmuştur. Kafesler zararlı ve faydalı böcek türlerinin geçişini engelleyen çift kat tül ile izole edilmiştir. Tül olarak 90 mesh (0,10 mm) aralığında hava sirkülasyonuna müsaade eden tüller kullanılmıştır.



Şekil 3.4 Arazi koşullarında hazırlanan pamuk alanı ve kafesler

Pamuk bitkilerinin 4-5 gerçek yapraklı olduğu Mayıs ayının son haftasından itibaren arazi sürvey çalışmalarına başlanmış ve bulunan örnekler etiket bilgileri kaydedilerek buz kabı içerisinde laboratuvara getirilmiştir (**Şekil 3.5**). Arazi çıkışları (haftalık çıkış sayısı, çıkış yapılan alanlar) iş yoğunluğu ve ilgili il ilçe müdürlükleri ile yapılan görüşmelere ve şikâyetlere göre yapılmıştır. Örnekleme yapılan alanlar ile ilgili bilgiler **Çizelge 3.1, Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3**'te verilmiştir.



Şekil 3.5 Örnekleme yapılan alanlar ve yaprakbiti bulaşık yapraklar

Çizelge 3.1 Diyarbakır iline ait örnekleme yapılan alanlar ve koordinatları

İl	İlçe	Lokasyon	Koordinatları
Diyarbakır	Bismil	Aralık	37°49'29.1"N 40°41'28.1"E
		Babahaki	37°51'49.3"N 40°45'16.7"E
		Türkmenhacı	37°47'28.2"N 40°37'49.2"E
		İsalı	37°50'45.5"N 40°49'09.4"E
	Çınar	Şeyhçoban	37°41'31.6"N 40°14'49.6"E
		Çelikaltı	37°46'33.0"N 40°09'35.4"E
		Şekerören	37°44'21.4"N 40°26'05.4"E
	Sur	Ağaçlıdere	38°08'27.2"N 40°18'43.6"E
		Yukarıkılıçtaşı	37°56'28.9"N 40°15'20.7"E
	Yenişehir	Hantepe	38°05'57.2"N 40°09'13.3"E

Çizelge 3.2 Mardin iline ait örnekleme yapılan alanlar ve koordinatları

İl	İlçe	Lokasyon	Koordinatları
Mardin	Derik	Ballı	37°22'52.4"N 40°09'55.1"E
		Başaran	37°07'20.7"N 40°14'21.6"E
		Doğanlı	37°15'21.4"N 40°05'25.7"E
		Develi	37°15'03.8"N 40°03'11.9"E
	Kızıltepe	Altıntoprak	37°06'05.3"N 40°35'31.7"E
		Sürekli	37°11'42.7"N 40°22'50.1"E
		Çamlıca	37°10'02.9"N 40°42'20.6"E
	Nusaybin	Duruca	37°05'14.9"N 41°18'17.3"E
		Tepealtı	37°05'29.2"N 41°22'30.8"E

Çizelge 3.3 Şanlıurfa iline ait örnekleme yapılan alanlar ve koordinatları

İl	İlçe	Lokasyon	Koordinatları
Şanlıurfa	Akçakale	Bolatlar	36°46'12.2"N 38°56'45.8"E
	Harran	Çatalhurma	36°50'59.6"N 38°56'02.5"E
		Ovabeyli	37°00'25.1"N 38°53'29.2"E
	Hilvan	Üçüzler	37°33'31.8"N 38°56'02.5"E
	Merkez	Yazılıkavak	37°04'14.4"N 39°04'30.7"E
		Yarımsu	37°08'30.5"N 39°04'20.6"E
		Keçikıran	36°57'14.9"N 38°59'35.0"E
	Siverek	Alagün	37°24'53.5"N 39°26'29.6"E
		Başdeğirmen	37°38'13.0"N 39°12'06.2"E
	Viranşehir	İncirli	37°11'06.2"N 39°46'34.0"E
		Konakyeri	37°19'08.0"N 39°45'49.1"E

3.2.2 Laboratuvar çalışmaları

3.2.2.1 Konukçu bitkilerin yetiştirilmesi

Çalışma dönemi içerisinde 20.02.2017 tarihinden itibaren *A. gossypii* popülasyonlarının üzerinde yetiştirilmesi ve çoğaltılması için iklim odalarında bitki yetiştiriciliği yapılmaya başlanmıştır (**Şekil 3.6**). Saksılarda kullanılmak üzere yanmış hayvan gübresi, torf, kum ve topraktan (1: 1: 1: 1) oluşan karışım hazırlanarak sterilize edilmiştir. Konukçu bitki olarak pamuk (Progen BA 119) yetiştirilmiştir (Yeşil vd. 2017). Bütün popülasyonlar için; birbirlerine karışmamaları ve doğal düşman ile çevresel faktörlerden izole olmaları açısından 60x60x80 ebatlarında pleksi-glass kabinler hazırlanmıştır (**Şekil 3.7**).



Şekil 3.6 Bitki yetiştirme ortamı

3.2.2.2 *Aphis gossypii* popülasyonlarının elde edilmesi ve yetiştirilmesi

Bioassay çalışmalarında kullanılan *A. gossypii* popülasyonları Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin Şanlıurfa, Diyarbakır ve Mardin illerinin, pamuk ekim alanlarından toplanmıştır. Çalışmanın yürütüldüğü illerde her il için en az 3 farklı *A. gossypii* popülasyonu alınmış ve denemelere tabi tutulmuştur. Üretim sezonu boyunca arazi çıkışları yapılmış, yaprakbiti ile bulaşık pamuk bitkileri alınarak, tarih, yer bilgileri içeren etiket bilgileri ile buz kutusu içinde laboratuvara getirilmiştir. Getirilen örnekler stereo binoküler mikroskop (Leica SE 8) altında incelenerek, bulunan erginler, içinde %70'lik alkol bulunan mikrosantrifüj tüplerine alınmış diğer böcek türleri ise ortamdan uzaklaştırılmıştır. Nimfler ergin olana kadar 26±1ºC sıcaklık ve %65±5 orantılı neme ayarlı uzun gün aydınlatma (16 saat aydınlık: 8 saat karanlık) laboratuvar koşullarında kültüre alınarak gelişimleri takip edilmiştir. *A. gossypii* olarak tanımlanan popülasyonlar hem laboratuvar ve iklim odalarında 23±1°C sıcaklık, %65±5 orantılı nem ve 16: 8 (A.: K.) fotoperiyot sağlanan koşullarda hem de arazi koşullarında hazırlanan tül kafeslerde kültüre alınmıştır. Hassas *A. gossypii* popülasyonu BAYER Crop Science'dan temin edilmiştir. Hassas *A. gossypii* popülasyonu 20 yıldan daha uzun bir süre önce kültüre alınmış olup, laboratuvara alınmasından itibaren ilaç ile temas etmemiş bir popülasyondur. Her popülasyon ayrı ayrı pleksi-glass kabinler ve tül kafesler içerisinde

saksıda ve arazi koşullarında her türlü faydalı ve zararlıdan ari, temiz olarak yetiştirilen pamuk bitkileri üzerinde yetiştirilmiştir.



Şekil 3.7 Böcek popülasyonlarının yetiştirldiği pleksi-glas kabinler

3.2.2.3 Bioassay çalışmaları

Her popülasyon için yapılacak denemeler öncesinde laboratuvar ortamında yetiştirilen temiz bitkiler üzerine her yaprağa en az 50 adet ergin birey olacak şekilde bulaştırmalar yapılmıştır. Bulaştırmadan 48 saat sonra erginler uzaklaştırılarak eşit yaşlı bireyler elde edilmiş ve bu bireyler erginler uzaklaştırıldıktan 96-120 saat sonra bioassay çalışmalarda kullanılmıştır. Bioassay çalışmalarında kullanılan popülasyonlara ait bilgiler **Çizelge 3.4**'te verilmiştir.

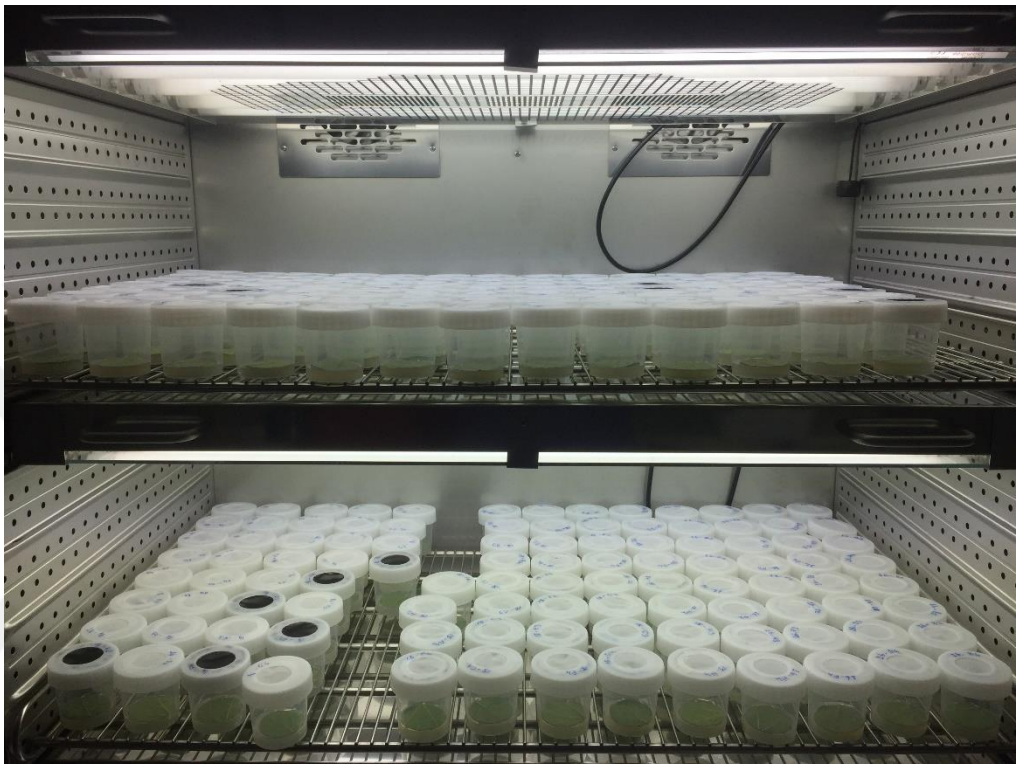
Çizelge 3.4 Bioassay çalışmalarında kullanılan popülasyonlar

İl	İlçe	Lokasyon	Koordinatları
Diyarbakır	Bismil	Babahaki	37°51'49.3"N 40°45'16.7"E
	Çınar	Şekerören	37°44'21.4"N 40°26'05.4"E
	Sur	Yukarıkılıçtaşı	37°56'28.9"N 40°15'20.7"E
Mardin	Derik	Develi	37°15'03.8"N 40°03'11.9"E
	Kızıltepe	Altıntoprak	37°06'05.3"N 40°35'31.7"E
		Çamlıca	37°10'02.9"N 40°42'20.6"E
Şanlıurfa	Harran	Çatalhurma	36°50'59.6"N 38°56'02.5"E
	Merkez	Yazılıkavak	37°04'14.4"N 39°04'30.7"E
		Yarımsu	37°08'30.5"N 39°04'20.6"E

3.2.2.4 Daldırma metodu

Aphis gossypii'nin insektisitlere direnç durumunun belirlenmesinde bioassay metodu olarak IRAC'ın 019 nolu metodu modifiye edilerek kullanılmıştır (IRAC 2015b). Yetiştirilen temiz pamuk bitkilerinin yapraklarından 4 cm çapında yaprak diskleri yaprak kesici ile çıkarılmıştır. Hazırlanan yaprak diskleri her aktif madde için hazırlanan en az 8 farklı doz ve 1 adet kontrol sıvısının bulunduğu beherlere bir pens yardımıyla daldırılmış ve 5 saniye sallanıp tüm yüzeyinin homojen bir şekilde ilaçlı su ile teması sağlanmıştır. Kontrol olarak % 0,2'lik Triton X-100 içeren saf su kullanılmıştır. İlaçla muamele edilen yapraklar oda koşullarında, tel ızgaralar üzerine konularak 30 dakika kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan yaprak diskleri, tabanı %1'lik agar kaplı kapak kısmı vidalı ve hava alacak şekilde hazırlanmış bioassay kaplarına (70x40mm) yaprak alt yüzeyi yukarı bakacak şeklide yerleştirilmiştir. İklim odalarında yetiştirilen yaprakbitleri, samur fırçalar ile ilaçlı ve ilaçsız yaprak bulunan her bir bioassay kabına 20 adet ergin dişi birey gelecek şekilde aktarılmıştır. Zararlı inokülasyonu yapılan bioassay kapları ağız kısımları iyice kapatılarak 20°C sıcaklık, %60±5 orantılı nem ve floresan lambalarla 16: 8 saatlik fotoperiyot koşullarına sahip iklim kabinine (Binder KBWF 720-Climate Chamber) bırakılmıştır (**Şekil 3.8**). Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre her ilacın

farklı dozu için 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Uygulamalardan 72 saat sonra yumuşak uçlu bir fırça yardımıyla ters çevrilerek bireylerin 10 saniyede kendilerini düzeltme veya düzeltmeme durumları kontrol edilerek kaydedilmiştir. Kendilerini düzeltemeyen bireyler ölü olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3.8 Denemelerin yürütüldüğü iklim kabini ve bioassay kapları

3.3 İstatistiki Değerlendirme

Bioassay çalışmalarından elde edilen veriler, POLO-PC (LeOra Software) programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Yapılan probit analizi ile çalışılan tüm popülasyonlar için LC_{50} ve LC_{90} değerleri belirlenmiştir (Finney 1979). Her aktif madde bazında denenen tüm arazi popülasyonları için belirlenen LC_{50} değerleri, Standart Hassas popülasyonun LC_{50} değerine oranlanması ile her bir insektisit için popülasyonların direnç oranları elde edilmiştir. GST ve EST enzim aktivitelerinden elde edilen verilere tek yönlü SPSS paket programı ile Tek Yönlü Anova uygulanmış olup, elde edilen veriler Tukey's HSD testi uygulanmıştır. Bioassay ve detoksifikasyon enzimlerine ait bulgulara SPSS paket programı ile korelasyon analizi uygulanmıştır.

3.4 Biyokimyasal Çalışmalar

Direnç oluşumunda etkili ve en yaygın enzim gruplarının Monooksigenaz'lar (Sitokrom P450), Glutatyon-S-Transferaz'lar, Hidrolaz'lar (Esteraz'lar) olduğu tespit edilmiştir (Whalon vd. 2008). Tüm popülasyonlar için yapılan bioassay çalışmaları esnasında kullanılan yaprakbitlerinden biyokimyasal testlerde kullanılmak üzere her popülasyondan EST enzim aktivitesi için her tüpte 10'ar adet kanatsız ergin dişi (25 tüp), GST enzim aktivitesi için her tüpte 30'ar adet kanatsız ergin dişi (25 tüp) mikrosantrifüj tüpleri içinde kuru örnek olarak -80°C'de muhafaza edilmiştir. Biyokimyasal testlerde kullanılacak *A. gossypii* bireylerinin sahip oldukları enzimlerin sıcakta bozulmaması için çalışmalar 16-18°C oda sıcaklığında ve örnekler daima buz üzerinde olacak şekilde çalışılmıştır.

3.4.1 Esteraz (EST) aktivitesinin belirlenmesi

Esteraz aktivitesini belirlemek amacıyla *A. gossypii*'nin her popülasyonundan 10 adet kanatsız ergin dişi 100 µl % 0,1 Triton X-100 içeren 0.1 M pH: 7.5 Sodyum Fosfat Buffer içerisinde homojenize edilmiştir. Ezilerek tamamen homojenize edilen örnekler +4°C 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Mikrosantrifüj tüpünün altına çökertilen pelete dokunulmadan tüm süpernatant uzaklaştırılarak farklı bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. Elde edilen süpernatant enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Kinetik okuma için kullanılan plate'in veri alınacak her kuyucuğuna 25 µl 0.2 M pH: 6.0 sodyum fosfat buffer eklenmiştir. Daha sonra seyreltilen enzim kaynağında her popülasyon için 25 µl alınarak kuyucuklara yüklenmiştir. Son olarak her kuyucuk için 200 µl substrat solüsyonu eklenerek, plate 23°C'de 450 nm dalga boyunda 10 dakika süreyle her 20 saniyede bir okuma yapmak üzere ayarlanmış mikroplaka okuyucuya yüklenmiştir. Denemeler 3 defa tekrarlanmış olup, içerisinde enzim kaynağı yerine 25 µl % 0,1 Triton X-100 içeren 0.1 M pH: 7.5 Sodyum Fosfat Buffer bulunan kuyucuklar kontrol olarak kullanılmıştır (Wang vd. 2007).

Substrat solüsyonu hazırlanırken öncelikle iki farklı çözelti hazırlanmıştır. İlk çözelti olarak, Fast Blue RR tuzu içeren çözelti hazırlanmıştır. İkinci çözelti olarak 0.1 M Alfa naftil asetat çözeltisi hazırlanmıştır. Substrat solüsyonu 50 ml Fast Blue RR çözeltisinden ve 500 µl 0.1 M alfa naftil asetat çözeltisinin karıştırılmasıyla elde edilmiştir.

3.4.2 Alfa Naftol standart eğrisinin çizilmesi

Esteraz aktivitesinin doğru olarak hesaplanabilmesi için alfa naftol standart eğrisinin belirlenmesi gerekmektedir. Alfa naftol standart eğrisinin belirlenmesinde; % 1 aseton içeren Fast Blue RR (245 µl, 240 µl, 235 µl, 230 µl, 225 µl, 220 µl, 215 µl, 210 µl, 205 µl) solüsyonu ve alfa naftil asetat solüsyonunun (5 µl, 10 µl, 15 µl, 20 µl, 25 µl, 30 µl, 35 µl, 40 µl, 45 µl) farklı miktarları kullanılmıştır. Kontrol (Kör) olarak alfa naftil solüsyonu yerine sodyum fosfat buffer kullanılmıştır. Karıştırılan solüsyonlar oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyona bırakılmış ve daha sonra spektrofotometre ile absorbans değerleri belirlenerek standart eğri oluşturulmuştur (He 2003).

3.4.3 Glutatyon-S-Transferaz (GST) aktivitesinin belirlenmesi

Glutatyon-S-transferaz (GST) aktivitesinin belirlenmesinde Nauen ve Stumpf (2002)'in geliştirdikleri yöntem kullanılmıştır. Testlenen her popülasyon için 30 adet kanatsız ergin dişi 300 µL Tris-HCL buffer içerisinde (0.05 M, pH: 7.5) homojenize edilmiştir. Supernatant 10000 rpm, +4°C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Plate kuyucuklarına son hacim 300 µl olacak şekilde; 100 µl Süpernatant, 100 µl 0.4 mM 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ve 100 µl 4 mM indirgenmiş glutathion (GSH)'dan oluşan karışım konulmuştur. Absorbanstaki değişim 340 nm, 25°C'de ve 5 dakika (20 saniyede bir okuma) süreyle ölçülmüştür. Denemeler 3 defa tekrarlanmış ve CDNB ve GSH'nin enzimatik olmayan reaksiyonu kontrol olarak homojenat olmaksızın ölçülmüştür.

3.4.4 Toplam protein miktarlarının belirlenmesi

Toplam protein miktarının belirlenmesi için Bradford (1976) metodu kullanılmıştır. Çalışmada bovine serum albümin (BSA) standart olarak kullanılmıştır. Buna göre;

1. 0.05 M pH: 7.5 Tris HCL çözeltisinde homojenize edilen *A. gossypii*'ye ait homojenattan her popülasyon için 10 µl supernatant alınarak plate kuyucuklarına aktarılmıştır. Kontrol (Kör) olarak homojenat içermeyen10 µl 0.05 M pH: 7.5 Tris HCl çözeltisi kullanılmıştır.

2. Her popülassyon için plate kuyucuklarına değişen miktarda (2 µl, 4 µl, 6 µl, 8 µl, 10 µl, 12 µl, 14 µl,) BSA eklenmiştir.
3. Son olarak kullanılan tüm plate kuyucuklarına 250 µl Bradford reagent eklenmiş ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir.
4. İnkübasyon süresi sonunda örnekler ait absorbans değerleri spektrofotometre de 595 nm dalga boyunda belirlenmiş ve elde edilen değerler kullanılarak her popülasyon için protein konsantrasyonlarının hesaplanması işlemleri yapılmıştır. Çalışmalar 3 tekerrürlü ve 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

3.5 Moleküler Yöntemler

Yapılan çalışmada kullanılan *A. gossypii* popülasyonlarında direnç profillerinin tespit edilmesi amacıyla moleküler yöntemler uygulanmıştır. Bu amaçla daha önce yapılmış çalışmalarda belirlenmiş gen bölgesi ve primerler kullanılmıştır (Hirata vd. 2015, Bass vd. 2011, Chen vd. 2017). Çalışmada RNA izolasyonlarının ardından Neonikotinoid grubu insektisitlere karşı dayanıklılığa sebep olan nikotinik asetilkolin reseptörlerinin *β1* alt ünitesinde yer alan *D-loop* bölgesindeki *V62I* ve *R81T* mutasyonu taranmıştır. Böylece araziden toplanan yaprakbiti popülasyonlarındaki Neonikotinoid grubu insektisitlere gelişen direnç profilleri belirlenmiştir.

3.5.1 RNA izolasyonu

Aphis gossypii popülasyonlarından RNA elde etmek için GeneJET RNA izolasyon kiti (Thermo Fisher Scientific, USA) kullanılmıştır. İzolasyona başlamadan önce Lysis buffer ve proteinase K solüsyonları örnek sayısına göre hazırlanmıştır. Buna göre;

Her 980 µl Lysis buffer için 20 µl *β*-mercaptanol kullanılmıştır.
Proteinase K solüsyonu için ise her 590 µl TE buffer için 10 µl Proteinase K kullanılmıştır.
Solüsyonların hazırlanması aşamalarından sonra protokolde belirtilen adımlar izlenmiştir Buna göre;

1. 30 mg doku tartılmış ve üzerine 50 µl Lysis buffer eklenerek örnekler homojenize edilmiştir. Daha sonra üzerine 250 µl Lysis buffer eklenmiş ve ezme işlemi tamamlanarak örnekler vortekslenmiştir.
2. Homojenat üzerine 600 µl proteinase K solüsyonu eklenmiş ve vortekslenerek 20°C'de 10 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır.
3. Homojenatlar +4°C ve 12.000 rpm'e ayarlanmış ve 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Süpernatant RNAse free mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır.
4. Supernatant üzerine 450 µl %96'lık etanol eklenmiş ve örnekler karıştırılması sağlanmıştır.
5. Tüm örnekler kolona aktarılmış ve +4°C ve 12.000 rpm'e ayarlanarak 1 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Bu işlem tüm supernatant bitene kadar tekrarlanmıştır.
6. Kolon tüplerinin üzerine 700 µl yıkama solüsyonu 1 eklenmiş ve +4°C ve 12.000 rpm'e ayarlı santrifüj cihazında 1 dakika boyunca santrifüj edilmiştir.
7. Kolon tüplerine 600 µl yıkama solüsyonu 2 eklenmiş ve +4°C ve 12.000 rpm'e ayarlı santrifüj cihazında 1 dakika süreyle santrifüj edilmiştir.
8. Kolon tüplerine 250 µl yıkama solüsyonu 2 eklenmiş ve +4°C ve 14.000 rpm'e ayarlı santrifüj cihazında 2 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Daha sonrada kolonlar yeni RNAse free mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır. Mikrosantrifüj tüpleri örnek isimleri yazılmıştır.
9. Örnekler üzerine 75 µl nuclease free su eklenmiş ve +4°C ve 12.000 rpm'ye ayarlı santrifüj cihazında 1 dakika süreyle santrifüj edilmiştir.
10. Örnekler sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C'de muhafazaya alınmıştır.
RNA izolasyonun saflığını ve miktarını kontrol etmek için NanoDrop 2000 spektrofotometer yardımıyla konsantrasyonları ölçülmüştür ve RNAların jel görüntüleri kontrol edilmiştir.

3.5.2 *cDNA* sentezi

Örneklere ait RNA izolasyonu tamamlandıktan sonra konsantrasyonları ölçülmüş ve gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

RNA örneklerinden yapılan *cDNA* sentezinin ilk aşamasında 1 µg RNA üzerine 1 µl oligo-dT primer (50 mM) ve 10 nM dNTP mix eklenip, hacim ddH_2O ile 10 µl'ye tamamlanmıştır. Reaksiyon karışımı 65°C'de 5 dakika bekletilerek denatüre edilmiştir. Denatüre örnekler üzerine eklenecek reaktifler aşağıda sunulan miktarlarda hazırlanmıştır (**Çizelge 3.5**).

Çizelge 3.5 Denatürasyonda kullanılan reaktifler ve örnek başına kullanılan hacimler

Reaktif	**Hacim (1x)**
10x RT Buffer	2 µl
25 mM $MgCl_2$	4 µl
0.1 M DTT	2 µl
RNAse out (40 u/µl)	1 µl
Superscript II RT	1 µl
Toplam Hacim	**10 µl**

Reaksiyonların iyice karıştırılması sağlanmıştır. Hazırlanan reaksiyonlar 50°C'de 50 dakika ve 85°C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. 1 dk buz içerisinde bekletildikten sonra tüm reaksiyonlar santrifüj edilmiştir. Örneklerin üzerine 1 µl RNAse H eklenerek vortekslenmiş ve 37°C'de 20 dakika bekletilmiştir. Sentezlenen *cDNA* -80°C'de saklanmıştır.

3.5.3 Nikotinik Asetilkolin reseptörlerinin *D-loop* bölgesindeki *β1* alt ünitesinin PCR yöntemiyle çoğaltılması

Sentezlenen *cDNA*'dan Nikotinik asetilkolin reseptörlerinin *D-loop* bölgesindeki *β1* alt ünitesi (*nAChRs*) çoğaltılması için *A. gossypii* Nikotinik Asetilkolin reseptörü genine spesifik primerler kullanılmıştır (Hirata vd. 2015, Bass vd. 2011).

nAChR β1-F (5′-CAA CAA ACT AAT CAG ACC TGT CC-3′),
nAChR β1-R (5′-GGC AAG TAG AAC ACT AGC ACG C-3′)

Nikotinik asetilkolin reseptörlerinin *D-loop* bölgesindeki *β1* alt ünitesi (*nAChR*) PCR (Polymerase Chain Reaction) yöntemiyle çoğaltılması için Invitrogen Dream Taq DNA

Polymerase PCR kiti (Thermo Fisher Scientific, USA) kullanılmıştır (Çizelge 3.6). Uygun pH ve iyon koşularını sağlayan karışım mikrosantrifüj tüplerine aktarılmış ve tüpler PCR cihazına (Biorad) yerleştirilmiştir. *cDNA*'nın çoğaltılmasında kullanılan karışım aşağıdaki gibi hazırlanmıştır (**Çizelge 3.6**).

Çizelge 3.6 *cDNA*'nın çoğaltılmasında kullanılan reaktifler ve örnek başına kullanılan hacimler

Reaktif	**Hacim (1x/50 µl)**
10x PCR Buffer	5 µl
50 mM $MgCl_2$	1.5 µl
10 mM dNTP Mix	1 µl
10 mM Forward Primer	2.5 µl
10 mM Reverse Primer	2.5 µl
cDNA	1 µl
Taq DNA Polimeraz	0.2 µl
ddH_2O	36.3
Toplam Hacim	**50 µl**

Çalışmada kullanılan primerler için uygun PCR koşulları aşağıda verilmiştir.

PCR aşamaları	**Sıcalık (°C)**	**Süre**	**Döngü sayısı**
Denatürasyon	95°C	3 dakika	1
	95°C	1 dakika	35 Döngü
Bağlanma Sıcaklığı	50°C	1 dakika	
Uzama Sıcaklığı	72°C	2 dakika	
Son Uzama Sıcaklığı	72°C	10 dakika	1
Bekleme Sıcaklığı	10°C	∞	

3.5.4 PCR ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi

PCR ile çoğaltılarak elde edilen *nAChR* bölgesi PCR ürünleri %1'lik agaroz jel elektroforezi ile kontrol edilmiştir. %1'lik agaroz jel için 100 ml 1x TAE tampon, 1 gr agaroz tartılmış ve karışım iyice karıştırıldıktan sonra ısıtılmıştır. Daha sonra 5 µl Pronosafe (Conda Lab) eklenmiştir ve yerleştirilmiş tarakların bulunduğu jel kasetine karışım aktarılmıştır. Jelin iyice polimerize olduğundan emin olduktan sonra ilk kuyucuğa marker (100 bp DNA Ladder, Fermentas), diğer kuyucuklara PCR ürünleri 5'er µl olarak yüklenmiş ve 100 V'da yaklaşık 30 dakika yürütülmüştür. Elde edilen PCR ürünlerine ait bantlar jel görüntülme cihazı (DNR Bio-Imaging Systems, Jerusalem, Israel) yardımıyla görüntülenmiştir. Geriye kalan PCR ürünlerinden çift taraflı dizilemeye gönderilmek üzere -20°C saklanmıştır.

3.5.5 Dizi analizi

Dizilemeden gelen sekans verileri Bioedit.7.2.5.dizi analiz programları ile analiz edilmiştir (Hall 1999). MegaX programı ile protein dizilerine dönüştürülmüştür (Kumar vd. 2018).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Bioassay Çalışmaları

Araziden toplanan ve testlenen popülasyonların Acetamiprid aktif maddesi için yapılan bioassay çalışmaları sonucu toplanan verilere uygulanan analiz sonucu elde edilen LC_{50} ve LC_{90} değerleri ve güven aralıkları, heterojenlik katsayıları ve direnç oranları **Çizelge 4.1**'de verilmiştir.

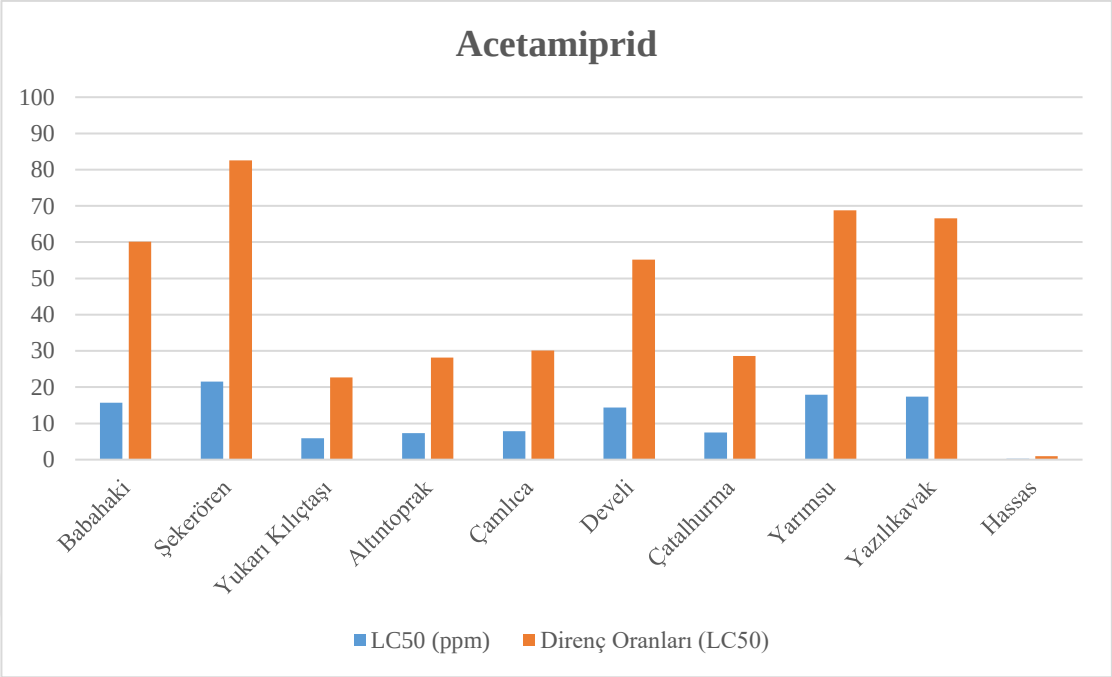
Acetamiprid aktif maddesi için elde edilen LC_{50} değerleri incelendiğindiğinde popülasyonlar arasında en yüksek değerin 21.550 ppm ile Şekerören popülasyonuna ait olduğu görülmektedir. Yarımsu (17.945 ppm) ve Yazılıkavak (17.376 ppm) popülasyonlarının Şekerören popülasyonuna yakın LC_{50} değerlerine sahip oldukları görülmektedir. Bunları sırasıyla Babahaki (15.692 ppm), Develi (14.406 ppm), Çamlıca (7.849 ppm), Çatalhurma (7.461 ppm), Altıntoprak (7.342) ve Yukarıkılıçtaşı (5.910 ppm) popülasyonları izlemiştir.

Acetamiprid'e karşı testlenen bütün popülasyonlarda farklı oranlarda olmakla beraber direnç söz konusudur. Standart Hassas popülasyunun direnç düzeyi ile hesaplanan direç oranları; Şekerören (82.57), Yarımsu (68.76), Yazılıkavak (66.58), Babahaki (60.12), Develi (55.20), Çamlıca (30.07), Çatalhurma (28.59), Altıntoprak (28.13) ve Yukarıkılıçtaşı (22.64) şeklinde hesaplanmıştır.

Çizelge 4.1 Acetamiprid aktif maddesi ile yapılan bioassay çalışmalarından elde edilen LC_{50} ve LC_{90} değerleri, Heterojenlik katsayıları ve Direnç Oranları

Popülasyon	LC_{50} (ppm) Güven Aralığı (0.95)	LC_{90} (ppm) Güven Aralığı (0.95)	Slope	X^2	Heterojenlik	Direnç Oranları (LC_{50})
Babahaki	15.692 (12.686-19.213)	131.566 (98.005-189.590)	1.358 ± 0.097	15.090	0.520	60.12
Şekerören	21.550 (17.311-25.853)	206.567 (144.013-330.530)	1.306 ± 0.103	1.959	0.078	82.57
Yukarıkılıçtaşı	5.910 (4.377-7.674)	75.255 (50.786-128.662)	1.160 ± 0.103	4.673	0.223	22.64
Altıntoprak	7.342 (5.914-8.930)	70.383 (51.768-103.793)	1.305 ± 0.103	11.257	0.450	28.13
Çamlıca	7.849 (6.153-9.768)	65.057 (48.684-93-624)	1.395 ± 0.108	12.082	0.483	30.07
Develi	14.406 (11.581-17.765)	105.249 (77.155-155.379)	1.484 ± 0.107	26.803	1.031	55.20
Çatalhurma	7.461 (6.112-8.985)	62.012 (44.780-94.910)	1.393 ± 0.118	13.938	0.664	28.59
Yarımsu	17.945 (14.869-21.715)	102.399 (75.437-153.271)	1.694 ± 0.141	11.155	0.531	68.76
Yazılıkavak	17.376 (14.439-20.757)	96.476 (74.546-133.440)	1.721 ± 0.117	7.143	0.286	66.58
Standart Hassas	0.261 (0.200-0.335)	4.220 (2.993-6.382)	1.060 ± 0.067	9.758	0.290	-

Acetamiprid aktif maddesi ile testlenen popülasyonlar için elde edilen LC_{50} değerleri ve LC_{50} değerleri ile hesaplanan direnç oranları arasındaki ilişki daha iyi görülebilmesi ve yorumlanabilmesi için **Şekil 4.1**'de verilmiştir.



Şekil 4.1 Acetamiprid aktif maddesi için elde edilen LC_{50} değerleri ve direnç oranları

Acetamiprid aktif maddesi için dekara 50 litre ilaçlama normuna göre, arazi dozu 200 ppm olarak bulunmuştur. Arazi dozunun zararlıyı başarılı şekilde kontrol altına alması gerekmektedir. Arazi popülasyonlarının sahip olduğu LC_{90} değerleri ve hesaplanan arazi dozu karşılaştırıldığında, Şekerören popülasyonu dışındaki popülasyonların Acetamiprid aktif maddesine karşı hassas olduğu ve zararlının bu aktif madde ile başarılı şekilde kontrol edilebileceği görülmektedir. Arazi dozu temelli değerlendirmeye göre testlenen *A. gossypii* popülasyonlarının Acetemiprid aktif maddesine karşı genel olarak hassas olduğu sonucuna varılabilir.

Imidacloprid aktif maddesi için yapılan bioassay çalışmaları sonucu toplanan verilere uygulanan analiz sonucu elde edilen LC_{50} ve LC_{90} değerleri ve güven aralıkları, heterojenlik katsayıları ve direnç oranları **Çizelge 4.2**'de verilmiştir.

Imidacloprid aktif maddesi için elde edilen LC_{50} incelendiğindiğinde popülasyonlar arasında en yüksek değerin 32.449 ppm ile Yarımsu popülasyonuna ait olduğu görülmektedir. Develi ve Yazılıkavak popülasyonlarının birbirlerine yakın LC_{50}

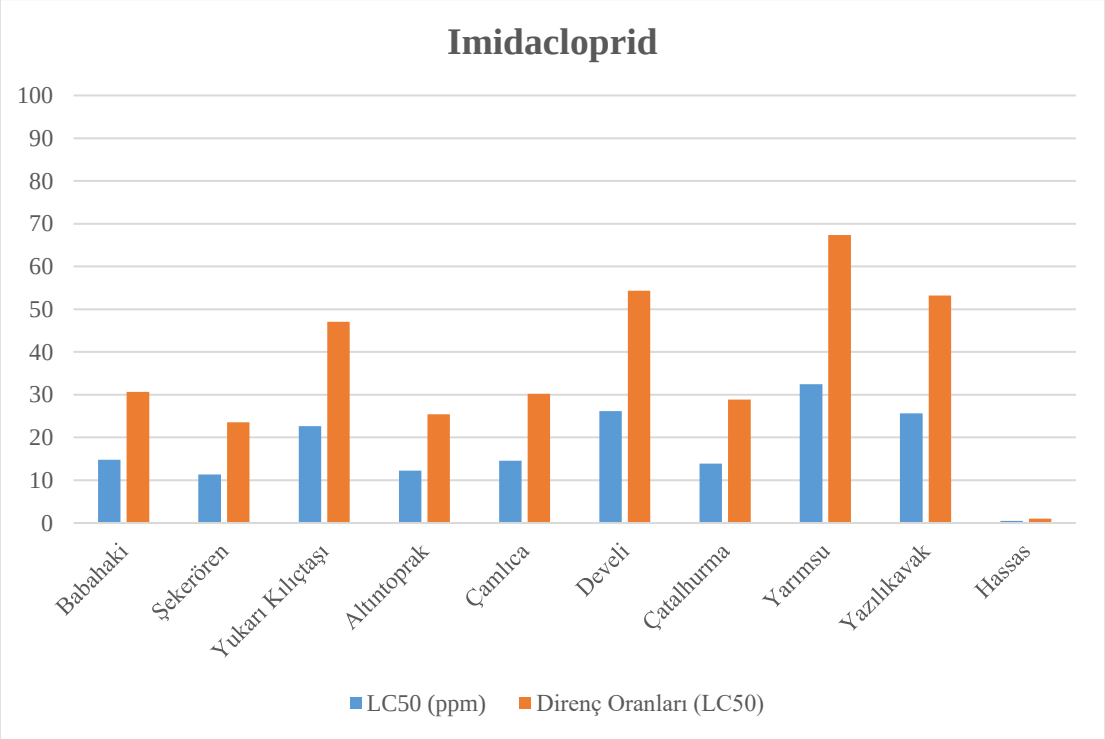
değerlerine sahip oldukları görülmektedir. Testlenen *A. gossypii* popülasyonlarının LC_{50} değerleri sırasıyla; Develi (26.171 ppm), Yazılıkavak (25.661 ppm), Yukarıkılıçtaşı (22.680 ppm), Babahaki (14.776 ppm), Çamlıca (14.555), Çatalhurma (13.920 ppm), Altıntoprak (12.259 ppm) ve Şekerören (11.336) olarak belirlenmiştir.

Imidacloprid'e karşı testlenen bütün popülasyonlarda farklı oranlarda direnç gelişimi söz konusudur. Standart Hassas popülasyunun direnç düzeyi ile hesaplanan direç oranları; Yarımsu (67.32), Develi (54.30), Yazılıkavak (53.24), Yukarıkılıçtaşı (47.05), Babahaki (30.66), Çamlıca (30.20) ve Çatalhurma (28.88), Altıntoprak (25.43) ve Şekerören (23.52) şeklinde hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2 Imidacloprid aktif maddesi ile yapılan bioassay çalışmalarından elde edilen LC_{50} ve LC_{90} değerleri, Heterojenlik katsayıları ve Direnç Oranları

Popülasyon	**LC_{50} (ppm) Güven Aralığı (0.95)**	**LC_{90} (ppm) Güven Aralığı (0.95)**	**Slope**	**X^2**	**Heterojenlik**	**Direnç Oranları (LC_{50})**
Babahaki	14.776 (11.495-18.754)	191.308 (129.021-321.694)	1.152 ± 0.095	7.159	0.286	30.66
Şekerören	11.336 (8.983-14.093)	105.579 (76.507-159.090)	1.322 ± 0.101	11.594	0.464	23.52
Yukarıkılıçtaşı	22.680 (17.234-30.725)	179.341 (109.242-376.566)	1.427 ± 0.127	30.707	1.462	47.05
Altıntoprak	12.259 (9.709-15.227)	119.515 (88.201-174.105)	1.296 ± 0.091	12.068	0.416	25.43
Çamlıca	14.555 (11.390-18.362)	173.116 (118.815-283.490)	1.192 ± 0.097	5.288	0.212	30.20
Develi	26.171 (21.686-31.425)	171.126 (131.561-235.967)	1.572 ± 0.103	17.019	0.567	54.30
Çatalhurma	13.920 (10.955-17.342)	113.997 (82.860-172.516)	1.403 ± 0.117	9.026	0.361	28.88
Yarımsu	32.449 (25.718-40.946)	435.962 (294.435-720.704)	1.136 ± 0.083	9.405	0.324	67.32
Yazılıkavak	25.661 (21.014-31.132)	195.163 (146.718-277.802)	1.454 ± 0.099	18.243	0.629	53.24
Standart Hassas	0.482 (0.375-0.613)	7.483 (5.215-11.617)	1.076 ± 0.068	25.262	0.770	-

Imidacloprid aktif maddesi ile testlenen popülasyonlar için elde edilen LC_{50} değerleri ve LC_{50} değerleri ile hesaplanan direnç oranları arasındaki ilişki daha iyi görülebilmesi ve yorumlanabilmesi için **Şekil 4.2**'de verilmiştir.



Şekil 4.2 Imidacloprid aktif maddesi için elde edilen LC_{50} değerleri ve direnç oranları

Imidacloprid aktif maddesi için dekara 50 litre ilaçlama normuna göre, arazi dozu 700 ppm olarak hesaplanmıştır. Arazi dozunun zararlıyı başarılı şekilde kontrol altına alması gerekmektedir. Arazi popülasyonlarının sahip olduğu LC_{90} değerleri ve hesaplanan arazi dozu karşılaştırıldığında, bütün popülasyonların Imidacloprid aktif maddesine karşı hassas oldukları ve bu aktif maddeye karşı başarılı bir şekilde kontrol edilebileceği görülmektedir. Arazi dozu temelli değerlendirmeye göre testlenen popülasyonların Imidacloprid aktif maddesine karşı hassas olduğu sonucuna varılabilir.

Thiamethoxam aktif maddesi için yapılan bioassay çalışmaları sonucu toplanan verilere uygulanan analiz sonucu elde edilen LC_{50} ve LC_{90} değerleri ve güven aralıkları, heterojenlik katsayıları ve direnç oranları **Çizelge 4.3**'te verilmiştir.

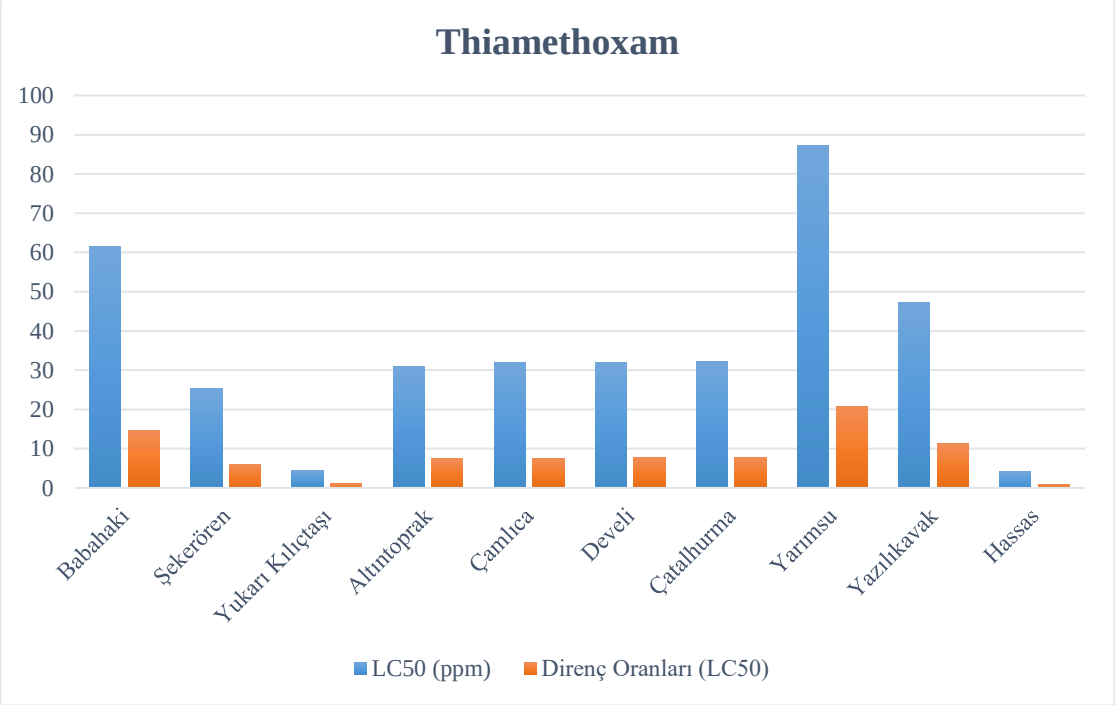
Thiamethoxam aktif maddesi için elde edilen LC_{50} incelendiğindiğinde popülasyonlar arasında en yüksek değerin 87.251 ppm ile Yarımsu popülasyonuna ait olduğu görülmektedir. Bunları sırasıyla; Babahaki (61.516), Yazılıkavak (47.132 ppm), Çatalhurma (32.094 ppm), Develi (32.056 ppm), Çamlıca (31.848), Altıntoprak (30.940 ppm), Şekerören (25.370 ppm) ve Yukarıkılıçtaşı (4.522 ppm) popülasyonları izlemiştir.

Thiamethoxam'a karşı testlenen bütün popülasyonlarda farklı oranlarda olmakla beraber direnç söz konusudur. Standart Hassas popülasyunun direnç düzeyi ile hesaplanan direç oranları; Yarımsu (20.84), Babahaki (14.69), Yazılıkavak (11.26), Çatalhurma (7.67), Develi (7.66), Çamlıca (7.61), Altıntoprak (7.39), Şekerören (6.06) ve Yukarıkılıçtaşı (1.08) şeklinde hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3 Thiamethoxam aktif maddesi ile yapılan bioassay çalışmalarından elde edilen LC_{50} ve LC_{90} değerleri, Heterojenlik katsayıları ve Direnç Oranları

Popülasyon	LC_{50} (ppm) Güven Aralığı (0.95)	LC_{90} (ppm) Güven Aralığı (0.95)	Slope	X^2	Heterojenlik	Direnç Oranları (LC_{50})
Babahaki	61.516 (48.303-79.813)	924.557 (580.573-1700.871)	1.089 ± 0.084	19.074	0.658	14.69
Şekerören	25.370 (19.293-33.122)	573.367 (356.637-1072.025)	0.946 ± 0.076	3.770	0.130	6.06
Yukarıkılıçtaşı	4.522 (2.903-6.461)	155.375 (99.119-282.725)	0834 ± 0.076	5.679	0.196	1.08
Altıntoprak	30.940 (24.633-38.859)	388.188 (265.688-629.216)	1.167 ± 0.084	15.298	0.528	7.39
Çamlıca	31.848 (24.434-40.398)	339.813 (223.965-591.241)	1.246 ± 0.102	19.472	0.779	7.61
Develi	32.056 (25.022-41.598)	365.130 (233.111-669.710)	1.213 ± 0.096	28.331	1.090	7.66
Çatalhurma	32.094 (25.796-40.408)	313.822 (210.580-531.846)	1.294 ± 0.104	19.192	0.768	7.67
Yarımsu	87.251 (69.687-11.693)	756.388 (501.725-1302.512)	1.366 ± 0.102	30.889	1.065	20.84
Yazılıkavak	47.132 (36.736-61.248)	824.104 (512.447-1537.816)	1.031 ± 0.080	15.124	0.522	11.26
Standart Hassas	4.187 (3.431-5.103)	40.428 (29.573-59.445)	1.030 ± 0.084	21.795	0.660	-

Thiamethoxam aktif maddesi ile testlenen popülasyonlar için elde edilen LC_{50} değerleri ve LC_{50} değerleri ile hesaplanan direnç oranları arasındaki ilişki daha iyi görülebilmesi ve yorumlanabilmesi için **Şekil 4.3**'te verilmiştir.



Şekil 4.3 Thiamethoxam aktif maddesi için elde edilen LC_{50} değerleri ve direnç oranları

Thiamethoxam aktif maddesi için dekara 50 litre ilaçlama normuna göre, arazi dozu 400 ppm olarak tespit edilmiştir. Arazi dozunun zararlıyı başarılı şekilde kontrol altına alması gerekmektedir. Arazi popülasyonlarının sahip olduğu LC_{90} değerleri ve hesaplanan arazi dozu karşılaştırıldığında; Babahaki, Şekerören, Yarımsu ve Yazılıkavak popülasyonları dışındaki popülasyonların Thiamethoxam aktif maddesine hassas oldukları ve Thiamethoxam aktif maddesi ile başarılı şekilde kontrol edilebileceği görülmektedir. Babahaki, Şekerören, Yarımsu ve Yazılıkavak popülasyonları ise oldukça düşük düzey hassassiyet kaybına uğramış popülasyonlar olarak tanımlanabilir.

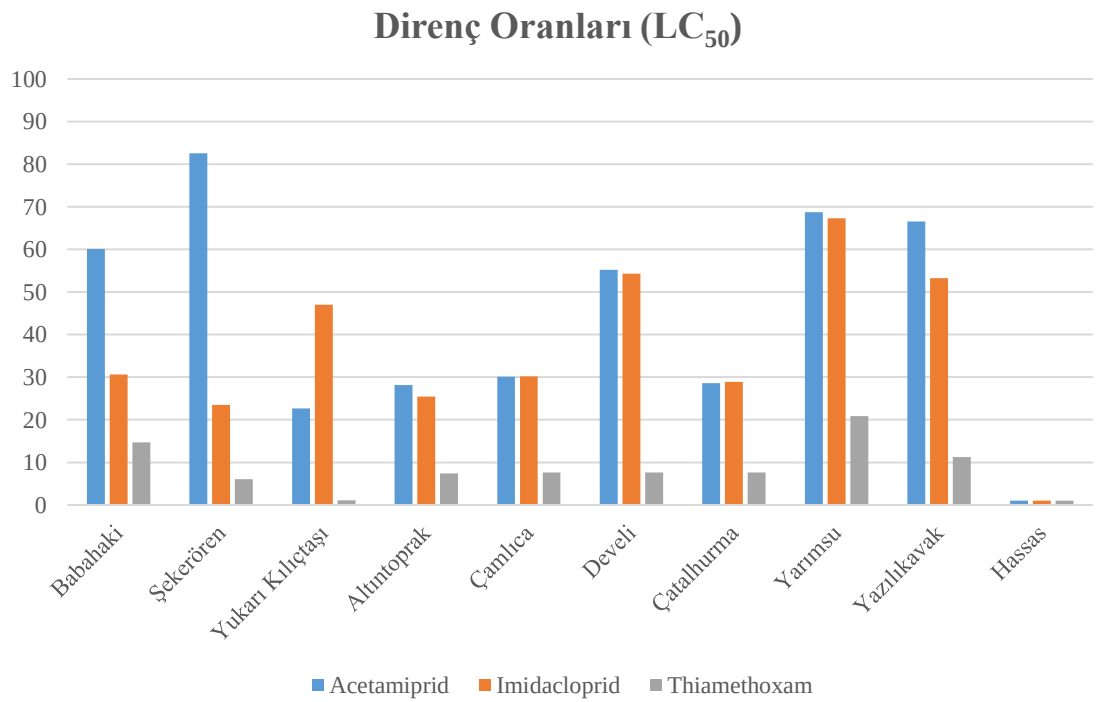
Testlenen popülasyonların Acetamiprid, Imidacloprid ve Thiamethoxam'a tepkilerinden elde edilen LC_{50} değerleri ve direnç oranları popülasyon içinde değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.4'te aktif maddelerin kendi aralarında bir ilişkilerinin olup olmadığı ile ilgili sonuçların değerlendirimesi bakımından hazırlanmıştır.

Çizelge 4.4 Popülasyonların aktif maddeler için LC_{50} değerleri ve direnç oranları

	Acetamiprid		Imidacloprid		Thiamethoxam'a	
Popülasyon	**LC_{50} (ppm)**	**Direnç Oranları (LC_{50})**	**LC_{50} (ppm)**	**Direnç Oranları (LC_{50})**	**LC_{50} (ppm)**	**Direnç Oranları (LC_{50})**
Babahaki	15.692	60.12	14.776	30.66	61.516	14.69
Şekerören	21.550	82.57	11.336	23.52	25.370	6.06
Yukarıkılıçtaşı	5.910	22.64	22.680	47.05	4.522	1.08
Altıntoprak	7.342	28.13	12.259	25.43	30.940	7.39
Çamlıca	7.849	30.07	14.555	30.20	31.848	7.61
Develi	14.406	55.20	26.171	54.30	32.056	7.66
Çatalhurma	7.461	28.59	13.920	28.88	32.094	7.67
Yarımsu	17.945	68.76	32.449	67.32	87.251	20.84
Yazılıkavak	17.376	66.58	25.661	53.24	47.132	11.26
Standart Hassas	0.261	-	0.482	-	4.187	-

Her aktif madde için elde edilen direnç oranları **Şekil 4.4**'te aynı grafik üzerinde verilmiş olup her popülasyonun aktif maddelere karşı sahip oldukları direnç oranları ve bunların birbiri ile olan ilişkisi daha net bir şekilde görülmektedir.



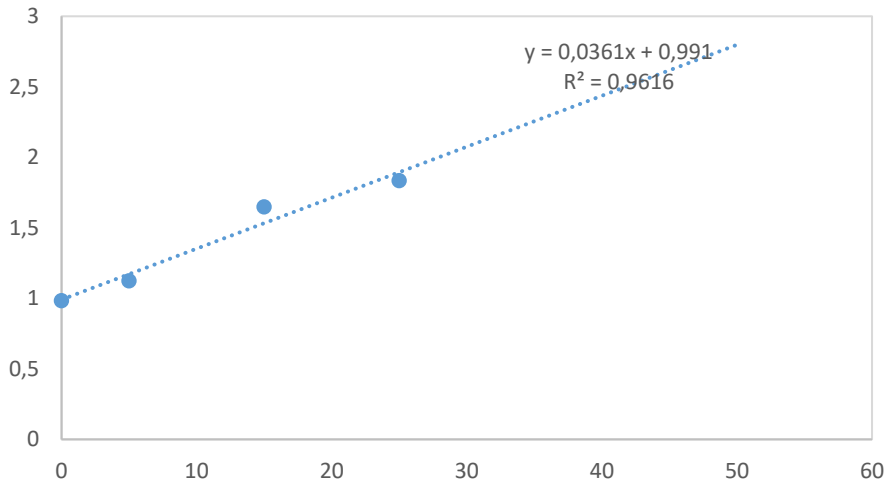
Şekil 4.4 Popüsyanların aktif maddeler için direnç oranları

4.2 Biyokimyasal Çalışma Bulguları

Biyokimyasal çalışmalar başlığı altında böceklerin insktisitlere karşı direnç geliştirmelerinde etkili enzim gruplarından olan, Esteraz (EST) ve Glutatyon-S-Transferaz (GST) enzim gruplarının seviyeleri denemeye alınan popülasyonlar için belirlenmiştir. Bütün popülasyonların protein miktarlarnın tayini bovine serum albumin (BSA) kullanılarak Bradford (1976) metodu ile hesaplanmıştır.

4.2.1 Alfa Naftol standart eğrisinin çizilmesi

Çalışmada elde edilen veriler ile elde edilen Alfa Naftol Standart Eğrisi aşağıda verilmiştir. EST hesaplamalarının yapılabilmesi için öncelikle alfa naftol standart eğrisinden elde edilen veriler kullanılarak ekstinsiyon katsayısı (0.0361) hesaplanmıştır (**Şekil 4.5**).



Şekil 4.5 Alfa naftol standart eğrisi

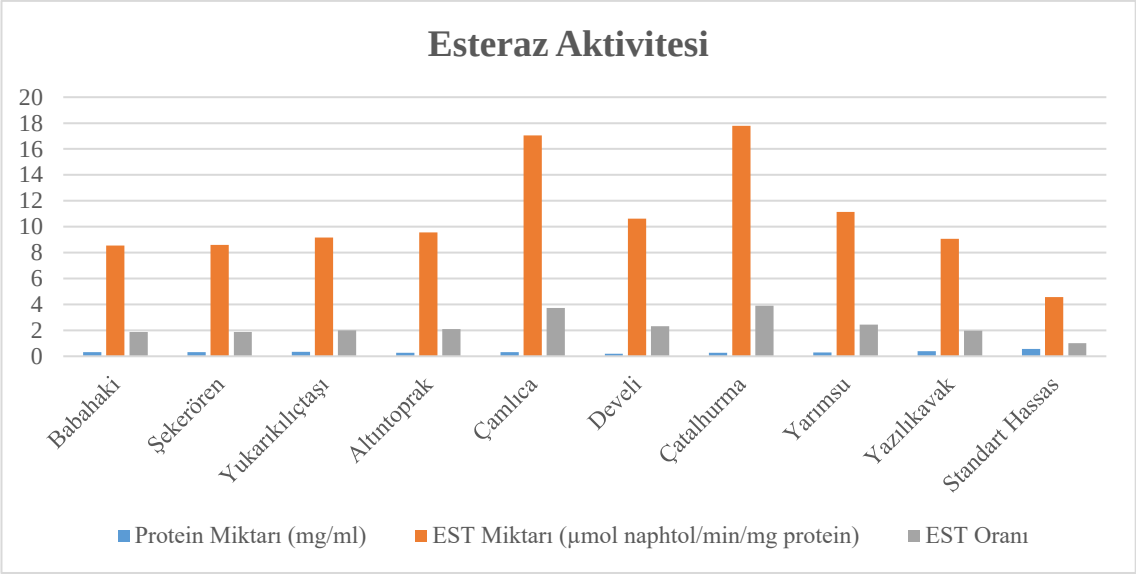
4.2.2 Esteraz (EST) aktivitesinin belirlenmesi

Esteraz (EST) enzim aktivitesinin belirlenmesi için, Wang vd. (2009) tarafından kullanılan yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır.

Çizelge 4.5 Testlenen *Aphis gossypii* popülasyonlarına ait Esteraz enzim aktiviteleri

Popülasyon	Protein Miktarı (mg/ml)	EST Miktarı (µmol naphtol/min/mg protein)	EST Oranı
Babahaki	0.31800±0.029687 **bc**	8.5602±1.92345 **cd**	1.873
Şekerören	0.3133±0.034353 **bc**	8.6048±1.07639 **cd**	1.883
Yukarıkılıçtaşı	0.33600±0.015620 **bc**	9.1604±0.69933 **cd**	2.004
Altıntoprak	0.25967±0.020210 **cd**	9.5527±0.49755 **cd**	2.090
Çamlıca	0.32367±0.038168 **bc**	17.0531±2.26362 **ab**	3.731
Develi	0.19500±0.020421 **d**	10.6161±0.74563 **c**	2.323
Çatalhurma	0.26633±0.005925 **cd**	17.7881±1.52099 **a**	3.892
Yarımsu	0.29333±0.026034 **bcd**	11.1548±0.76964 **bc**	2.441
Yazılıkavak	0.39833±0.010269 **b**	9.0681±1.42639 **cd**	1.984
Standart Hassas	0.56867±0.006741 **a**	4.5695±0.34899 **d**	1

Esteraz (EST) enzim aktivitesinin incelenmesi amacıyla yürütülen çalışmada elde edilen veriler arasında P<0,05 seviyesinde fark olduğu belirlenmiştir (**Çizelge 4.5)**. EST hesaplamalarının yapılabilmesi için öncelikle Alfa Naftol Standart Eğrisinden elde edilen veriler kullanılarak absorpsiyon katsayısı hesaplanmıştır. Test edilen arazi popülasyonlarında en düşük EST enzim aktivitesi Standart Hassas popülasyonunda (4.5695 µmol naphtol/min/mg protein) görülürken en yüksek EST enzim aktivitesi ise Çatalhurma popülassyonunda (17.7881 µmol naphtol/min/mg protein) tespit edilmiştir. Bunu sırasyla Çamlıca (17.0531 µmol naphtol/min/mg protein), Yarımsu (11.1548 µmol naphtol/min/mg protein), Develi (10.6161 µmol naphtol/min/mg protein), Altıntoprak (9.5527 µmol naphtol/min/mg protein), Yukarıkılıçtaşı (9.1604 µmol naphtol/min/mg protein), Yazılıkavak (9.0681 µmol naphtol/min/mg protein), Babahaki (8.5602 µmol naphtol/min/mg protein) ve Şekerören (8.6048 µmol naphtol/min/mg protein) popülasyonları takip etmiştir.



Şekil 4.6 Testlenen *Aphis gossypii* popülasyonlarına ait Esteraz enzim aktiviteleri

Esteraz enzim aktivitelerinin daha kolay değerlendirilebilmesi için elde edilen EST aktivitesi ve protein miktarları **Şekil 4.6**'da grafik üzerinde verilmiştir.

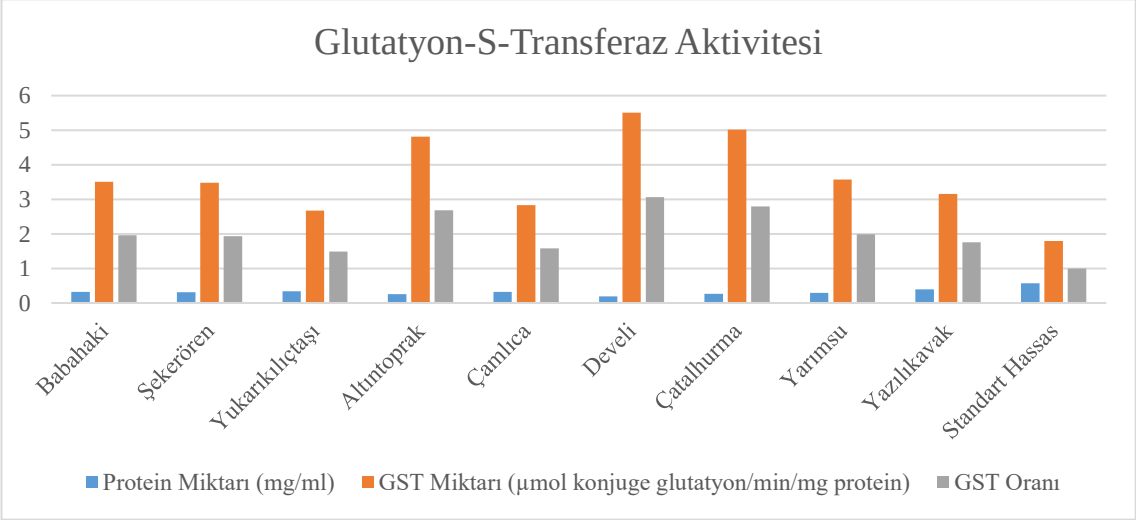
4.2.3 Glutatyon-S-Transferaz (GST) aktivitesinin belirlenmesi

Glutatyon-S-Transferaz (GST) aktivitesinin belirlenmesi için, Nauen ve Stumpf (2002) tarafından geliştirilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Elde edilen veriler aşağıda verilmiştir.

Çizelge 4.6 Testlenen *Aphis gossypii* popülasyonlarına ait Glutatyon-S-Transferaz enzim aktiviteleri

Popülasyon	Protein Miktarı (mg/ml)	GST Miktarı (µmol konjuge glutatyon/min/mg protein)	GST Oranı
Babahaki	0.31800±0.029687 **bc**	3.5207±0.35626 **b**	1.961
Şekerören	0.3133±0.034353 **bc**	3.4753±0.38410 **b**	1.935
Yukarıkılıçtaşı	0.33600±0.015620 **bc**	2.6704±0.14027 **bc**	1.487
Altıntoprak	0.25967±0.020210 **cd**	4.8126±0.38370 **a**	2.680
Çamlıca	0.32367±0.038168 **bc**	2.8302±0.16423 **bc**	1.576
Develi	0.19500±0.020421 **d**	5.5052±0.11057 **a**	3.066
Çatalhurma	0.26633±0.005925 **cd**	5.0153±0.14165 **a**	2.793
Yarımsu	0.29333±0.026034 **bcd**	3.5721±0.31572 **b**	1.989
Yazılıkavak	0.39833±0.010269 **b**	3.1587±0.10595 **b**	1.756
Standart Hassas	0.56867±0.006741 **a**	1.7952±0.02167 **c**	1

Glutatyon-S-Transferaz enzim aktivitesinin belirlendiği çalışmada popülasyonlar arasında P<0,05 seyisinde farklılıklar belirlenmiştir (**Çizelge 4.6**). En düşük GST enzim aktivitesi Standart Hassas popülasyonunda (1.7952 µmol konjuge glutatyon/min/mg protein) görülürken en yüksek GST aktivitesi Develi popülasyonunda (5.5052 µmol konjuge glutatyon/min/mg protein) tespit edilmiştir. Testlenen diğer popülasyonlarda değişen miktarlarda GST enzim aktivitesi olduğu belirlenmiştir. GST aktivitesi bakımından popülasyonlar sırasıyla; Çatalhurma (5.0153 µmol konjuge glutatyon/min/mg protein), Altıntoprak (4.8126 µmol konjuge glutatyon/min/mg protein), Yarımsu (3.5721 µmol konjuge glutatyon/min/mg protein), Babahaki (3.5207 µmol konjuge glutatyon/min/mg protein), Şekerören (3.4753 µmol konjuge glutatyon/min/mg protein), Yazılıkavak (3.1587 µmol konjuge glutatyon/min/mg protein), Çamlıca (2.8302 µmol konjuge glutatyon/min/mg protein), Kılıçtaşı (2.6704 µmol konjuge glutatyon/min/mg protein) şeklinde sıralanmıştır.

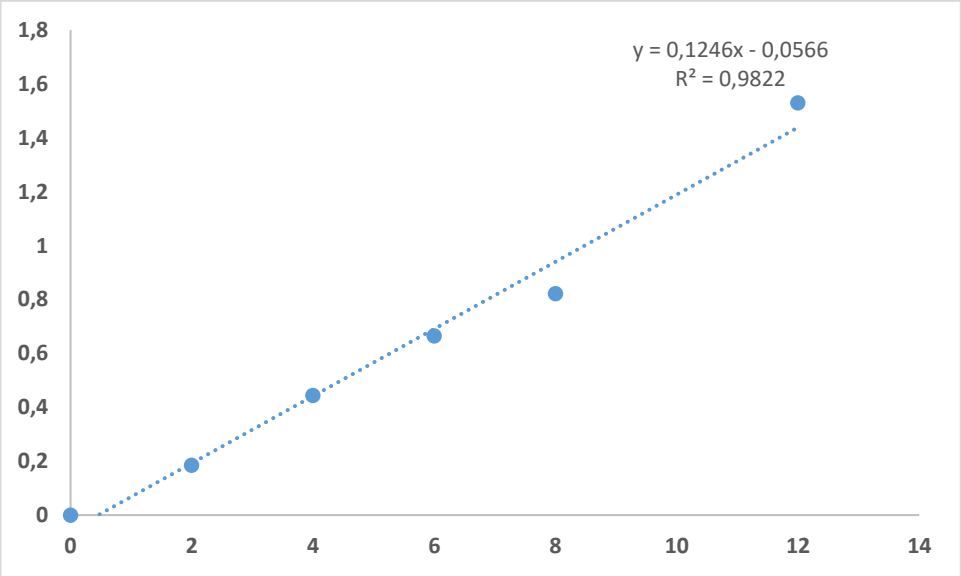


Şekil 4.7 Testlenen *Aphis gossypii* popülasyonlarına ait Glutatyon-S-Transferaz enzim aktiviteleri

Glutatyon-S-Transferaz enzim aktivitelerinin daha kolay değerlendirilebilmesi için elde edilen EST aktivitesi ve protein miktarları **Şekil 4.7**'de grafik üzerinde verilmiştir.

4.2.4 Bradford metoduyla toplam protein miktarının belirlenmesi

Toplam protein miktarının tayini için kullanılan Bradford (1976) yöntemi ile elde edilen veriler aşağıda sunulmuştur (**Şekil 4.8**).



Şekil 4.8 Bovine serum albümin standart eğrisi

4.3 Korelasyon Analizi

Çalışmada elde edilen bioassay ve biyokimyasal analiz sonuçlarına korelasyon analizi uygulanmıştır. Elde edilen korelasyon analizi sonuçları **Çizelge 4.7** ve **Çizelge 4.8**'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 Korelasyon analizi sonuçları

		Acetamiprid	Imidacloprid	Thiamethoxam	EST Oranı	GST Oranı
Acetamiprid	Pearson Korelasyonu	1	0.266	0.526	-0.498	-0.096
	Önem (2 Kuyruklu)		0.490	0.146	0.172	0.806
Imidacloprid	Pearson Korelasyonu	0.266	1	0.459	-0.203	-0.072
	Önem (2 Kuyruklu)	0.490		0.214	0.600	0.854
Thiamethoxam	Pearson Korelasyonu	0.526	0.459	1	-0.063	-0.003
	Önem (2 Kuyruklu)	0.146	0.214		0.871	0.993
EST Oranı	Pearson Korelasyonu	-0.498	-0.203	-0.063	1	0.168
	Önem (2 Kuyruklu)	0.172	0.600	0.871		0.665
GST Oranı	Pearson Korelasyonu	-0.096	-0.072	-0.003	0.168	1
	Önem (2 Kuyruklu)	0.806	0.854	0.993	0.665	

Çizelge 4.8 Korelasyon analizi özet tablosu

	Acetamiprid	Imidacloprid	Thiamethoxam	EST Oranı	GST Oranı
Acetamiprid	1				
Imidacloprid	0.266	1			
Thiamethoxam	0.526	0.459	1		
EST Oranı	-0.498	-0.203	-0.063	1	
GST Oranı	-0.096	-0.072	-0.003	0.168	1

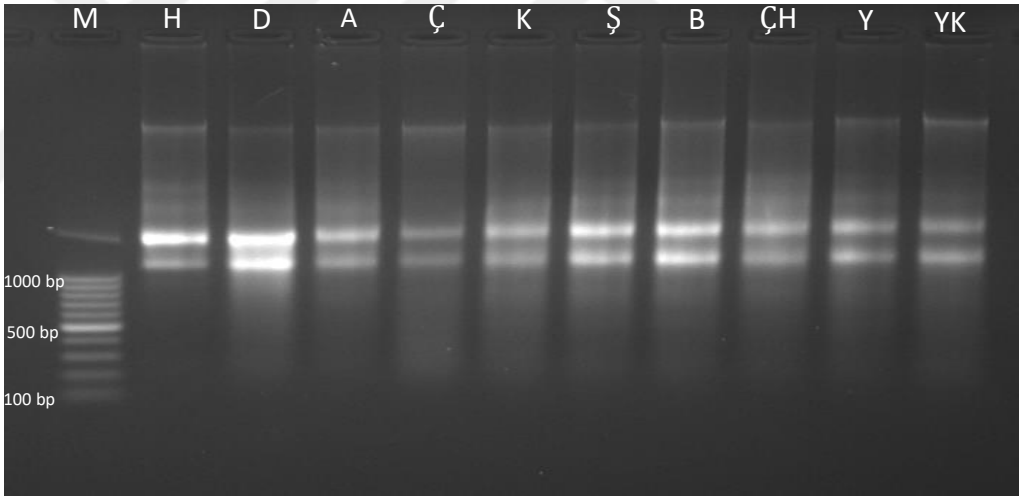
Acetamiprid, Imidacloprid ve Thiamethoxam aktif maddeleri arasında pozitif yönde korelasyon mevcuttur. Aktif maddeler için bioassay sonuçları değerlendirildiğinde; Acetamiprid ile Imidacloprid arasında 0.266, Acetamiprid ile Thiamethoxam arasında 0.526 ve Imidacloprid ile Thiamethoxam arasında 0.459'lık pozitif yönlü korelasyon tespit edilmiştir. Esteraz ve Glutatyon-S-Transferaz oranları arasında 0.168'lik pozitif yönde korelasyon mevcuttur. Aktif maddeler (Acetamiprid, Imidacloprid ve Thiamethoxam) ile detoksifikasyon enzimleri (Esteraz ve Glutatyon-S-Transferaz) arasında negatif yönde korelasyon mevcuttur. Ancak tüm faktörler arasındaki korelasyon istatistiki olarak önemsiz olarak belirlenmiştir ($P>0.05$).

4.4 Moleküler Yöntemler

Çalışmada *A. gossypii*'nin nikotinik asetilkolin reseptörü geninin amplifikasyonu ile ilgili gen bölgesindeki mutasyonları Sanger dizileme metodu ile belilenmiştir. Nikotinik asetilkolin reseptörü geninde daha önce saptanmış olan *V62I* ve *R81T* mutasyonu taraması gerçekleştirilmiştir.

4.4.1 Total RNA izolasyonu

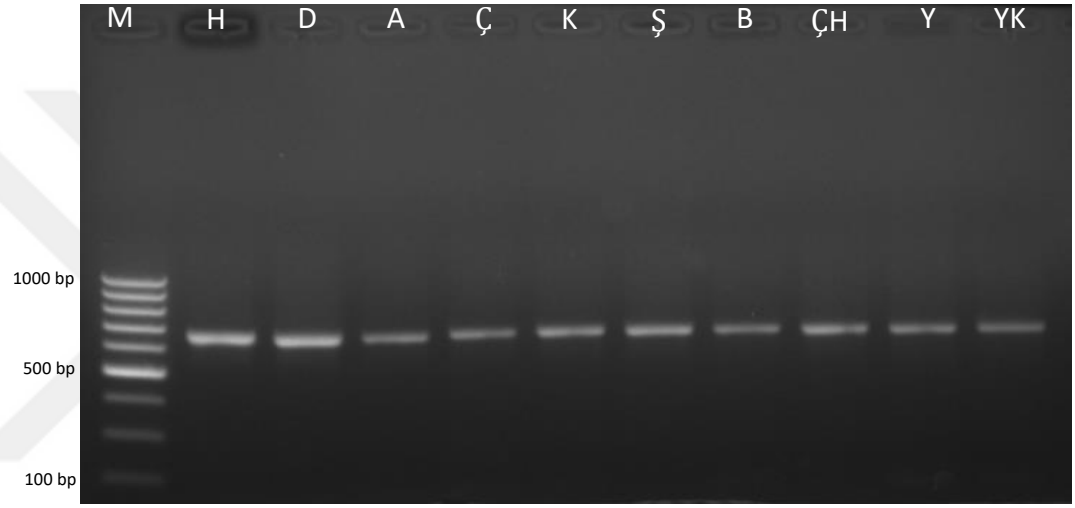
Aphis gossypii bireylerinde RNA izolasyonu, Thermo Scientific RNA Purification kiti kullanılarak yapılmıştır. RNA izolasyonu çalışmalarında elde edilen jel elektroforez görüntüsü aşağıda verilmiştir **(Şekil 4.9)**.



Şekil 4.9 RNA izolasyonuna ait jel görüntüsü M=Marker (100 bp), H= Standart Hassas, D= Develi, A= Altıntoprak, Ç= Çamlıca, K= Yukarıkılıçtaşı, Ş= Şekerören, B= Babahaki, ÇH=Çatalhurma, Y= Yarımsu, YK= Yazılıkavak

4.4.2 Nikotinik Asetilkolin reseptörlerinin *D-loop* Bölgesindeki *β1* Alt ünitesi PCR yöntemiyle çoğaltılması

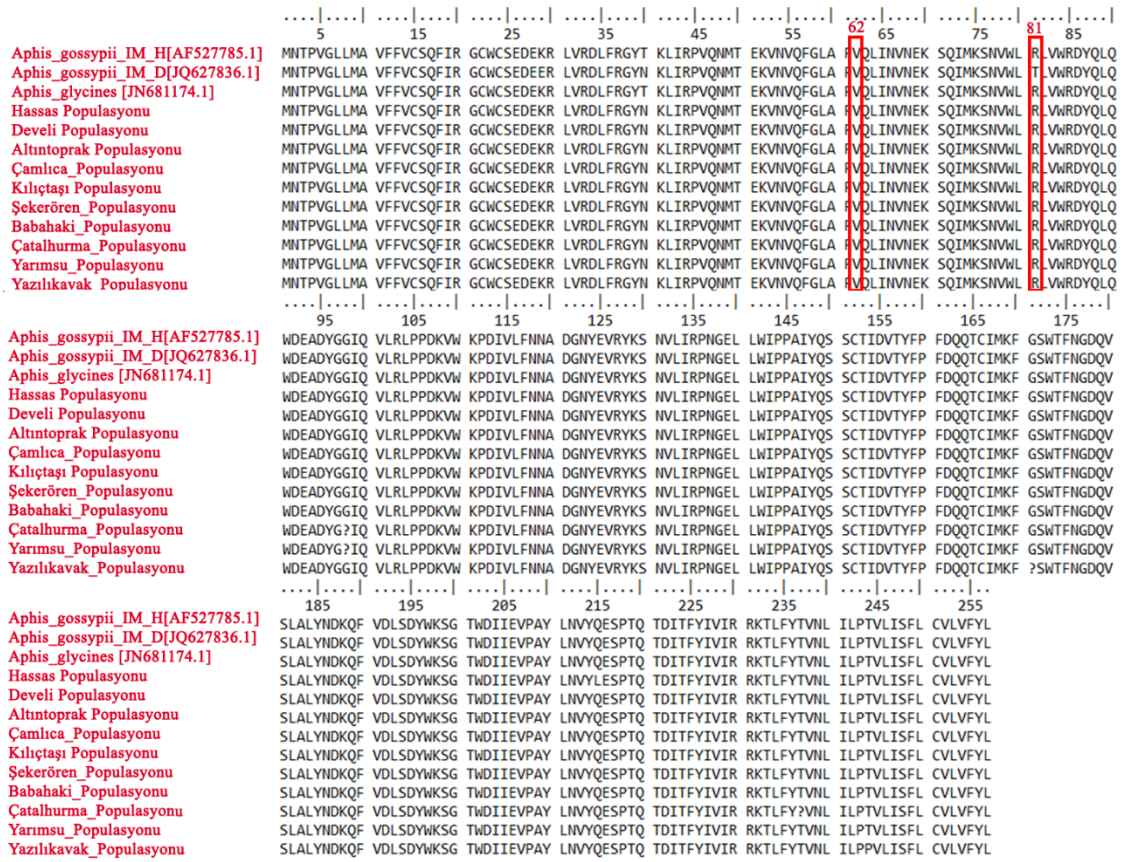
Sentezlenen *cDNA*'nın nikotinik asetilkolin reseptörlerinin *D-loop* bölgesindeki *β1* alt ünitesi (*nAChR*) PCR yöntemiyle çoğaltılması sonucu elde edilen sonuçlara ait jel görüntüsü aşağıda verilmiştir **(Şekil 4.10)**. Elde edilen PCR ürünü yaklaşık olarak 650 bp'dir.



Şekil 4.10 Nikotinik Asetilkolin Reseptörlerinin D-loop Bölgesindeki *β1* Alt Ünitesi PCR Yöntemiyle Çoğaltılması. M=Marker (100 bp), H=Standart Hassas, D=Develi, A=Altıntoprak, Ç=Çamlıca, K=Yukarıkılıçtaşı, Ş=Şekerören, B=Babahaki, ÇH=Çatalhurma, Y=Yarımsu, YK=Yazılıkavak

4.4.3 Dizi analizi sonuçları

Hassas ve arazi popülasyonlarından elde edilen *cDNA* ve neonikotinoidli insektisitlerin hedef bölgesi olan Nikotinik asetilkolin reseptörü *β1* alt ünitesinde elde edilmiş sekans verileri sonucunda *V62I* ve *R81T* mutasyonları tespit edilememiştir. Sekans sonuçları Şekil 4.11'deki gibidir.



Şekil 4.11 Nikotinik asetilkolin reseptörü β1 alt ünitesine ait dizi analizinden elde edilen veriler

Dizi analizi sonucunda Nikotinik asetilkolin reseptörü *β1* alt ünitesinde *V62I* ve *R81T* mutasyonarı ile ilgili herhangi bir bulgu tespit edilmemiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada ülkemiz pamuk üretim alanlarının yaklaşık olarak % 55'ini temsil eden Şanlıurfa Diyarbakır ve Mardin illeri pamuk ekiliş alanlarında bulunan *A. gossypii*'nin Neonikotinoid grubu insektisitlere karşı direnç durumu bioassay, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle ortaya konmaya çalışılmıştır.

Acetamiprid aktif maddesi ile yürütülen bioassay çalışmalarından elde edilen LC_{50} değerleri, LC_{90} değerleri ile güven aralıkları incelendiğinde, popülasyonların kendi içerisinde homojen bir yapıdan ziyade heterojen bir yapıya sahip oldukları kanaatine varılmıştır. Bu durum popülasyonların hem dirençli hemde hassas bireyler içerdiği şeklinde yorumlanabilir. Genel olarak hedef popülasyonlarda hassas bireylerin bulunması direnç yönetimi bakımından istenen ve direnç yönetiminin başarısı bakımından ümit vadeden bir durumu ifade eder. Ayrıca Acetamiprid aktif maddesi için dekara 50 litre ilaçlama normuna göre, arazi dozu 200 ppm olarak bulunmuştur. Testlenen popülasyonların LC_{90} değerleri incelendiğinde popülasyonların Acetamiprid aktif maddesinin uygulama dozuna karşı genel olarak hassas olduğu sonucuna varılmıştır.

Acetamiprid aktif maddesi ile yürütülen çalışmalarda arazi popülasyonlarının 5.910-21.550 ppm arasında değişen LC_{50} değerleri ile 22.64-82.57 kat arasında değişen direnç oranları elde edilmiştir. Ulusoy vd. (2018), Adana ili pamuk ekiliş alanlarındaki *A. gossypii* ile yürüttükleri benzer çalışmada Acetamiprid'e direnç durumu ile ilgili olarak testlenen popülasyonların 1.923-13.580 ppm arasında değişen LC_{50} değerleri olduğunu tespit etmiştir. Çalışmada testlenen popülasyonlar için 1.542-10.890 arasında değişen direnç oranları belirlenmiştir. Özdemir ve Durmuşoğlu (2013), Aydın (Söke) ilinde yürütülen bir çalışmada 5 farklı popülasyonun Acetamiprid aktif maddesine direnç durumu incelemiştir. Çalışmada 0.021-0.048 ppm arasında değişen LC_{50} değerleri tespit edilmiş ve direnç oranlarının 123.53-282.35 kat arasında değiştiği tespit edilmiştir. Matsuura ve Nakamura (2014), Japonya'da yürüttükleri çalışmada hassas ve dirençli popülasyonların acetamiprid aktif maddesi için LC_{50} değerlerini sırasıyla 0.026 ppm ve 26.93 ppm olarak belirlemiş, direnç oranını ise 104 kat olarak hesaplamıştır. Daha önceki çalışmalar ile yapılan çalışma arasında hem LC_{50} değerleri hemde direnç oranları

bakımından farklılıklar bulunmakta olup söz konusu farklılıkların örenklerin toplandığı lokasyon, üreticilerin tercihleri ve uygulama şekillerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Imidacloprid aktif maddesi ile yürütülen çalışmalarda arazi popülasyonlarının 11.336-32.449 ppm arasında değişen LC_{50} değerleri ile 23.52-67.32 kat arasında değişen direnç oranları elde edilmiştir. Ulusoy vd. (2018), Adana ili pamuk ekiliş alanlarındaki *A. gossypii* ile yürütülen bir çalışmada Imidacloprid'e direnç durumu ile ilgili olarak testlenen popülasyonların 4.698-17.764 ppm arasında değişen LC_{50} değerleri olduğunu tespit etmiştir. Yürütülen çalışmada direnç oranlarının ise 54.627-206.558 kat arasında değiştiği belirlenmiştir. Çalışmada popülasyonların önemli bölümünün homojen yapıda olduğu ve yüksek direnç oranına sahip popülasyonların mücadelesinde aktifin kullanımının devam ettirilmesi durumunda ileride Imidacloprid'ten etkilenmeyebileceği sonucuna varılmıştır. Özdemir ve Durmuşoğlu (2013), Aydın (Söke) ilinde yürütülen bir çalışmada 4 farklı popülasyonun Imidacloprid aktif maddesine direnç durumu incelemiştir. Araştırmacılar çalışmada 0.150-0.176 ppm arasında değişen LC_{50} değerleri tespit edildiği ve direnç oranlarının 1153.85-1353.85 kat arasında değiştiğini ortaya çıkarmıştır. Matsuura ve Nakamura (2014), Japonya'da yürüttükleri çalışmada hassas ve dirençli popülasyonların Imidacloprid aktif maddesi için LC_{50} değerlerini sırasıyla 0.31 ppm ve 78.35 ppm olarak belirlemiştir. Direnç oranını ise 253 kat olarak hesaplamıştır. Daha önceki çalışmalar ile yapılan çalışma arasında hem LC_{50} değerleri hemde direnç oranları bakımından farklılıklar bulunmakta olup, söz konusu farklılıkların çalışma yılları ve çalışma alanlarının farklı olması, üreticilerin tercihleri ve uygulama şekillerinden kaynaklanabilen olağan farklılıklar olabileceği değerlendirilmiştir. Ayrıca Imidacloprid aktif maddesi için dekara 50 litre ilaçlama normuna göre, arazi dozu 700 ppm olarak bulunmuştur. Testlenen popülasyonların LC_{90} değerleri incelendiğinde popülasyonların Imidacloprid aktif maddesinin uygulama dozuna karşı hassas olduğu sonucuna varılmıştır.

Imidacloprid aktif maddesi ile yürütülen Bioassay çalışmalarından elde edilen LC_{50} değerleri, LC_{90} değerleri ile güven aralıkları incelendiğinde, popülasyonların kendi içerisinde heterojen bir yapıya sahip oldukları kanaatine varılmıştır. Bu durum

popülasyonların hem dirençli hemde hassas bireyler içerdiği şeklinde yorumlanabilir. Genel olarak hedef popülasyonlarda hassas bireylerin bulunması farklı direnç yönetimi stratejilerinin kullanılarak popülasyonda direncin homozigot hale gelmesini önlemek bakımından önemlidir.

Thiamethoxam aktif maddesi ile yürütülen çalışmalarda arazi popülasyonlarının 4.522-87.251 ppm arasında değişen LC_{50} değerleri ile 1.08-20.84 kat arasında değişen direnç oranları elde edilmiştir. Ulusoy vd. (2018), Adana ili pamuk ekiliş alanlarındaki *A. gossypii* ile yürütülen bir çalışmada Thiamethoxam'a direnç durumu ile ilgili olarak testlenen popülasyonların 5.465-85.11 ppm arasında değişen LC_{50} değerleri olduğunu belirlemiştir. Araştırmacılar direnç oranlarının ise 4.22-65.723 kat arasında değiştiğini tespit etmiştir. Çalışmada incelenen popülasyonların dirençlilik bakımından genel olarak homojen olma eğiliminde olduğu sonucuna varılmıştır (Ulusoy vd. 2018). Söz konusu çalışmada elde edilen sonuçlar ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar arasında LC_{50} değerleri ve direnç oranları bakımından benzerlikler bulunmaktadır. Matsuura ve Nakamura (2014), Japonya'da yürüttükleri çalışmada hassas ve dirençli popülasyonların thiamethoxam aktif maddesi için LC_{50} değerlerini sırasıyla 0.37 ppm ve 91.00 ppm olarak belirlemiş, direnç oranını ise 246 kat olarak hesaplanmıştır.

Thiamethoxam aktif maddesi ile yürütülen bioassay çalışmalarından elde edilen LC_{50} değerleri, LC_{90} değerleri ile güven aralıkları incelendiğinde, popülasyonların kendi içerisinde homojen bir yapıdan ziyade heterojen bir yapıya sahip oldukları kanaatine varılmıştır. Bu durum popülasyonların hem dayanıklı hem de hassas bireyler içerdiği şeklinde yorumlanabilir. Genel olarak hedef popülasyonlarda hassas bireylerin bulunması direnç yönetimi bakımından istenen ve direnç yönetiminin başarısı bakımından ümit vadeden bir durumu ifade etmektedir. Ayrıca Thiamethoxam aktif maddesi için dekara 50 litre ilaçlama normuna göre, arazi dozu 400 ppm olarak tespit edilmiştir. Arazi popülasyonlarının sahip olduğu LC_{90} değerleri ve hesaplanan arazi dozu karşılaştırıldığında; Babahaki, Şekerören, Yarımsu ve Yazılıkavak popülasyonları dışındaki popülasyonların Thiamethoxam aktif maddesine hassas oldukları ve Thiamethoxam aktif maddesi ile başarılı şekilde kontrol edilebileceği görülmektedir.

Babahaki, Şekerören, Yarımsu ve Yazılıkavak popülasyonları ise oldukça düşük düzey hassassiyet kaybına uğramış popülasyonlar olarak sınıflandırılabilir.

Thiamethoxam aktif maddesi için yapılan bioassay çalışmasından elde edilen LC_{50} değerleri üreticilerden alınan bilgiler karşılaştırıldığında önceki dönemlerde yapılan mücadele çalışmalarında kullanılan aktif maddelerin direnç düzeyleri üzerinde oldukça etkili oldukları görülmektedir. Özellikle Yukarıkılıçtaşı popülasyonu örnekleme alanında üreticilerin daha önce hiç Thiamethoxam aktif maddesini kullanmamış olmaları ve elde edilen LC_{50} değerleri bu görüşün temel dayanak noktalarındandır. Zira söz konusu popülasyon hassasiyet bakımından neredeyse Standart Hassas popülasyon düzeyindedir.

Bioassay çalışmalarından elde edilen veriler incelendiğinde popülasyonların aktif maddelere farklı reaksiyonlar gösterdiği ve değişen direnç oranlarına sahip oldukları belirlenmiştir. Özellikle Yarımsu, Yazılıkavak, Develi ve Babahaki popülasyonlarının testlenen her üç aktif maddeye karşı dirençte üst sıralarda yer aldığı belirlenmiştir. Altıntoprak, Çamlıca, Develi, Çatalhurma, Yarımsu ve Yazılıkavak popülasyonları her ne kadar Acetamiprid ve Imidacloprid aktif maddelerine karşı farklı LC_{50} değerlerine sahip olsalar da her iki aktife karşı paralellik gösteren direnç oranlarına sahip olarak belirlenmiştir. Yapılan korelasyon analizi sonucunda testlenen her üç aktif madde arasında pozitif yönlü korelasyon tespit edilmiştir. Ancak söz konusu korelasyonlar hem rakamsal olarak küçük hem de istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur. Bu durum aktiflerin çalışma alanında yoğun olarak kullanımlarından kaynaklandığı şeklinde yorumlanabileceği gibi aktif maddeler arasında başlangıç seviyesinde çapraz dayanıklılığın işareti olarak değerlendirilebilir. Bu nedenle çalışma alanında *A. gossypii*'nin direnç durumunun düzenli olarak kontrol edilmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Elde edilen LC_{50} değerleri ve direnç oranları arasındaki farklılıklar değerlendirildiğinde çalışma alanımızdaki üreticilerin üretim model ve alışkanlıklarının etkisi açıkça görülmektedir. Genel olarak pamuk üreticileri bulundukları bölge koşullarına göre değişen mücadele yolları kullanmaktadır. Çalışma alanımız olan Şanlıurfa, Mardin ve

Diyarbakır illerinde Acetamiprid ve Imidacloprid aktif maddeleri yoğun olarak kullanılmaktadır. *A. gossypii*'nin popülasyonlarının örneklendiği alanlar uzun yıllardan beri yoğun ve çoğunlukla arka arkaya pamuk üretiminin yapıldığı alanlar olduğu, örnekleme sırasında üreticiler ile birebir yapılan görüşmeler sonucu tespit edilmiştir. Pestisit kullanım alışkanlıklarına dair notlar incelendiğinde üreticilerin Acetamiprid aktif maddesini yoğun olarak kullanmakta olduğu anlaşılmaktadır. Burada istisnai olan popülasyon Altıntoprak popülasyonu olup örnekleme alanında uzun yıllardan beri pamuk tarımı yapılmasına karşın LC_{50} değerlerinin orta düzeyde olduğu görülmektedir. Bu durumun söz konusu alanda üretim yapan üreticinin, bilinçli bir üretici olması ve entegre mücadele kurallarına azami özen göstererek üretim yapmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Örnekleme zamanlarında alınan üretici notları her üç aktif maddeye karşı dirençte istisnai durum gösteren Şekerören ve Yukarıkılıçtaşı popülasyonlarının durumunu açıklamaktadır. Her iki popülasyonun örneklemeden yaklaşık olarak 20 gün önce ilaçlandığını (Şekerören Yeşilkurt ilaçlaması yapılırken Acetamiprid aktif maddesi ilaçlama tankına uygulama dozunun oldukça üzerinde bir dozda eklenmiş, Yukarıkılıçtaşı popülasyonunda ise tütün tripsine karşı Imidacloprid+Beta-cyfluthrin karışımıyla ilaçlandığı belirlenmiştir. Direnç oranları bakımından farklılık olduğu belirlenmiş olup, bu farklılığın aktif maddenin üretim alanlarında kullanım sıklığı ve alışkanlığı ile ilgili olduğu kanaatine varılmıştır. Zira Thiamethoxam aktif maddesi maliyet bakımından Acetamiprid ve Imidacloprid'e karşı dezavantaja sahip olması sebebiyle daha az kullanılmış olması direnç oranlarındaki durumu açıklamaktadır. Matsuura ve Nakamura (2014), yürüttükleri çalışmada yüksek LC_{50} ve direnç oranına sahip popülasyonların örnekleme tarihinden kısa bir süre ilaçlanan alanlardan elde edilen popülasyonlar olduğunu tespit etmiştir.

Biyokimyasal çalışmalar kapsamında Toplam Esteraz (EST) ve Glutatyon-S-Transferaz enzim aktiviteleri spektrofotometrik olarak incelenmiştir. Biyokimyasal analizlerde Standart Hassas popülasyon en düşük EST ve GST enzim aktivitesine sahip popülasyon olarak belirlenmiştir.

EST'nin bağlı olduğu *CarE* ailesi oldukça geniş çalışma alanına sahip bir enzim grubudur (Oakeshott vd. 2010). Bu grup Ester bağlarını hidrolize etmek için su kullanır ve metabolit olarak bir asit ile bir alkol üretmektedir (Testa ve Kramer 2007). Günümüzde kullanılan pek çok konvansiyonel insektisitlerden özellikle Organik Fosforlu, Karbamatlı ve Sentetik Pyrethroid sınıfı insektisitler ester bağları içermekte olup, EST aktivitesi ile hidrolize olma bakımından oldukça hassastır (Sogorb ve Vilanova 2002, Russell vd. 2011). Pek çok çalışmada ester gruplarının hidrolizi insektisitin hedef bölgedeki etkinliğinin azalmasına neden olmaktadır (Sogorb ve Vilanova 2002).

Esteraz enzim aktivitesinin incelendiği analizlerde popülasyonlar arasında fark olmakla beraber analiz edilen 10 popülasyon için 4 grup oluşmuştur ($P<0,05$). En yüksek Esteraz aktivitesi Çatalhurma (a), Çamlıca (ab) ve Yarımsu (bc) popülasyonlarında bulunurken en düşük enzim aktivitesi Standart Hassas (d) popülasyonda tespit edilmiştir.

EST enzim aktivitelerini belirlemek için yürütülen biyokimyasal çalışmalar sonucunda arazi popülasyonlarının EST enzim aktivitelerinin 8.61-17.79 µmol naphtol/min/mg protein arasında değiştiği EST oranlarının ise 1.873-3.892 kat arasında değiştiği belirlenmiştir.

Ulusoy vd. (2018), Adana ili pamuk ekiliş alanlarında yedi yerel ve bir hassas *A. gossypii* popülasyonu ile yürüttükleri çalışmada arazi popülasyonlarında 2.76-17.85 nmol/dk/mg protein arasında değişen EST enzim aktivitesi bildirmiştir. Çalışmada verilen EST aktiviteleri üzerinden yapılan EST oranı hesaplamasına göre ise arazi popülasyonlarının 3.12-6.47 kat arasında değiştiği belirlenmiştir. Söz konusu çalışmada elde edilen verilerde elde edilen EST oranı çalışmamızda elde edilen EST oranlarına göre yüksek bulunmuş olup çalışmada kullanılan farklı popülasyonlar nedeniyle olağan bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Velioğlu vd. (2008), Akdeniz Bölgesi pamuk ekiliş alanlarında elde edilen beş *A. gossypii* popülasyonu ve hassas popülasyon ile yürüttükleri çalışmada popülasyonların Esteraz enzim aktiviteleri incelemiştir. Çalışmada kullanılan popülasyonların 1.89-3.28

LogmOD/dakika/yaprakbiti arasında değişen veriler elde edildiği ve hassas popülasyonun 'düşük Esteraz aktivitesine' sahip olduğu, arazi popülasyonlarından bir tanesi 'orta düzey Esteraz aktivitesine' sahip olarak sınıflandırılırken diğer popülasyonlar 'yüksek Esteraz enzim aktivitesine' sahip olarak sınıflandırıldığı bildirmiştir. Yaptığımız çalışmadaki Esteraz aktiviteleri inceldiğinde en yüksek Esteraz aktivitesi Çatalhurma (a), Çamlıca (ab) ve Yarımsu (bc) popülasyonlarında bulunurken en düşük enzim aktivitesi Standart Hassas (c) popülasyonda tespit edilmiştir.

Choi vd. (2001), *M. persicae* ve *Aphis craccivora* C. L. Koch (Hemiptera: Aphididae)'nın özellikle Imidacloprid'e direncinde EST'nin oldukça önemli olduğu sonucuna varmıştır. Benzer şekilde Mokbel ve Mohamed (2009), *A. craccivora*'nın özellikle Imidacloprid'e direncinde EST'nin oldukça önemli olduğunu belirlemiştir. Ancak Seyedebrahimi vd. (2015), tarafından *A. gossypii* ile yürütülen bir çalışmada Imidacloprid'e direnç ile ilgili olarak EST'nin bir fonksiyonunun olmadığını tespit etmiştir. Esteraz enzim aktivitesi sonuçları ve bioassay çalışması sonuçları birlikte değerlendirildiğinde elde edilen sonuçların doğrudan Neonikotinoid grubu insektisitlerden kaynaklanmadığı ve alanda kullanılan diğer insektisit gruplarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ancak bu tezin özellikle sinerjistler ile test edilerek doğrulanması gerekmektedir.

GST'ler detoksifikasyonda önemli role sahip enzim ailelerinden biridir (Mannervik ve Danielson 1988). Yüksek GST aktivitesine sahip böceklerin Organik Fosforlu, Organik Klorlu ve Sentetik Pyrethroid sınıfı insektisitlere karşı dirençlidirler (Ranson ve Hemingway, 2005; Li vd. 2007). *Amrasca bigutulla bigutulla* (Ishida) (Hemiptera: Cicadellidae)'nın Acetamiprid ve Imidacloprid'e dirençli popülasyonlarında yüksek GST aktivitesinin dirençle ilişkili olduğu belirlenmiştir (Kshirsagar vd. 2012). Seyedebrahimi vd. (2015), Güney İran'da yürüttükleri çalışmada Imidacloprid'e dirençli ve hassas popülasyonlardaki GST enzim aktivitesinin incelenmesi sonucunda GST miktarındaki artışın Imidacloprid'e direnç ile ilgili olmadığı sonucuna varmışlardır. Bu tez kapsamında Glutatyon-S-Transferaz enzim aktivitesinin incelendiği analizlerde popülasyonlar arasında fark olmakla beraber, analiz edilen 10 popülasyon için 3 grup oluşmuştur ($P<0,05$). GST enzim aktivitelerini belirlemek için yürütülen biyokimyasal çalışmalar sonucunda arazi popülasyonlarının GST enzim aktivitelerinin 2.670-5.505 µmol konjuge

glutatyon/min/mg protein arasında değiştiği GST oranlarının ise 1.487-3.066 kat arasında değiştiği belirlenmiştir.

Ulusoy vd. (2018), Adana ili pamuk ekiliş alanlarında yedi yerel ve bir hassas *A. gossypii* popülasyonu ile yürüttükleri çalışma sonucunda arazi popülasyonlarında 42.87-142.23 nmol/dk/mg protein arasında değişen GST enzim aktivitesi tespit edilmiştir. Çalışmada verilen GST aktiviteleri üzerinden yapılan GST oranı hesaplamasına göre ise arazi popülasyonlarının 1.27-3.31 kat arasında değiştiği belirlenmiştir. Araştırmacılar GST enzim aktivitesinin sonuçlarının bioassay çalışmalar ile tutarlı olduğu ancak yüksek GST aktivitesinin büyük olasılık ile bölgede yoğun olarak Organik Fosforlu grubu insektisitlerin kullanılmasından kaynaklandığının tahmin edildiği sonucuna varmıştır. Söz konusu çalışmada elde edilen verilerde elde edilen GST oranı, Güneydoğu Anadolu Bölgesi *A. gossypii* popülasyonlarının incelendiği çalışmamızda elde edilen GST oranlarına büyük oranda benzerlik göstermektedir.

Çalışma sonucu elde edilen veriler değerlendirildiğinde Esteraz ve Glutatyon-S-Transferaz arasında pozitif yönlü ancak düşük seviyelerde korelasyon olduğu ve bu korelasyonun istatistiki olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. Detoksifikasyon enzimleri ve bioassay sonuçları değerlendirildiğinde ise aktif maddeler ile EST ve GST enzim seviyeleri arasında negatif yönlü bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Elde edilen yüksek enzim aktivitelerinin birincil olarak alanda kullanılan diğer insektisit gruplarından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Ancak bu tezin özellikle sinerjistler ve alanda kullanılan diğer aktif maddeler ile test edilerek doğrulanması mücadele strateji ve programları açısından daha doğru olacaktır. Seyedibrahimi vd. (2015) ve Ulusoy vd. (2018) *A. gossypii*'nin Neonikotinoid grubu insektisitlere direncinde Sitokrom P450 enzim aktivitesinin etkili olduğunu bildirmişlerdir. Sonraki çalışmalarda Faz I ve Faz II enzimlerinin de incelenmesi faydalı olacaktır.

Aphis gossypii'de Neonikotinoid grubu insektisitlere karşı dirence sebep olan nikotinik asetilkolin reseptörlerinin *β1* alt ünitesinde yer alan *D-loop* bölgesindeki *R81T* ve *V62I* mutasyonu dizi analizi ile taranmış olup araziden elde edilen popülasyonların hiç birinde

R81T ve *V62I* mutasyonu tespit edilememiştir. Toda vd. (2017), yürüttükleri çalışmada neonikotinoid grubu insektisitlere karşı 250-500 kat araasında değişen direnç oranlarına sahip olduğu tespit etmişler ve hedef bölgesinden mutasyon incelemesi yaptıklarında bazı popülasyonlarda *R81T* mutasyonunun varolduğunu ve direncin ana kaynağının bu mutasyon olduğunu bildirmiştir. Diğer bir çalışma ise Chen vd. (2017), Imidacloprid'e dirençli bir *A. gossypii* popülasyonunun β alt ünitesinde iki yeni mutasyonun (*V62I* ile *K264E*) Imidacloprid'e dayanıklılıktan sorumlu olduğunu bildirimiştir. Çalışmada kullanılan ve *V62I* gen bölgesinde mutasyon tespit edilen popülasyonun Imidacloprid'e karşı >1215 kat dirençli olduğu rapor etmişlerdir. Yürütülen bu çalışmada kullanılan aktif maddelere karşı değişen oranlarda direnç tespit edilmesine karşın söz konusu direnç oranları yukarıda belirtilen oranlara kıyasla oldukça düşük kalmaktadır. Başka bir çalışmada (Pan vd. 2018b) Thiamethoxam karşı dirençli olduğu tespit edilen bir *A. gossypii* popülasyonunun Faz II enzimlerinden Uridin difosfat (*UDP*) ve glikoziltransferazların (*UGTs*) analiz edilmesiyle Thiamethoxam'a karşı dirençli popülasyonunun yüksek *UDP* ve *UGTs* ekspresyonuna sahip olduğu belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında *R81T* ve *V62I* mutasyonları sekans analizi ile taranmış ancak hassas ve diğer popülasyonlar arasında bir değişiklik tespit edilmemiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında hedef bölgesinde mutasyon tespit edilmemesi, detoksifikasyon enzimlerinin neonikotinoid grubu insektisitlere dirençli A.gossypi populasyonlarında önemli rol oynadığı göstermektedir. Daha sonra yürütülecek çalışmalarda farklı gen bölgelerinin, mutasyonların ve gen ifadelerinin incelenmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir.

Aphis gossypii'nin Neonikotinoid grubu insektisitlere karşı direnç durumlarını tespit etmek amacıyla yürütülen tez çalışması sonucunda değişen ve hassas popülasyona göre göreceli olarak yüksek kabul edilebilecek direnç oranları tespit edilmiştir. Ancak arazi dozu ile yapılan karşılaştırma sonucunda Neonikotinoid grubu insektisitlere karşı yüksek seviyede direnç olmadığı belirlenmiştir. Çalışma alanında özellikle son yıllarda artış eğiliminde olan bir insektisit kullanım gözlemlenmekte olup nikotinik asetilkolin reseptörlerini hedefleyen Neonikotinoid grubu insektisitler özellikle emici böceklere karşı oldukça yoğun ve yüksek dozlarda kullanılmaktadır. Özellikle Şanlıurfa ilinde ilaçlama sayısı ve yüksek doz kullanımının olumsuz sonuçları çalışmada elde edilen veriler ile örtüşmekte ve net bir şekilde ortaya konmuş durumdadır. Düşük etkiye sahip

insektisitlerin başarı oranı düşük olmakta ve zararlıyı baskı altına alamamakta ve ekonomi zarar eşiği (EZE) seviyesinin altına indirilemeyen zararlı üründe kalite ve kantite kayıplarına devam etmektedir. Başarı sağlanamayan uygulamalar sonrasında üreticiler ilaçlama sayısı, dozu ve hatta ruhsatlı olmayan pestisitlere yönelimi arttırmakta olup, üretici için ek girdiler ortaya çıkmakta ve üreticilerin rekabet gücü azalmaktadır. Tekrarlayan ilaçlamalar aynı zamanda hem insan hem de çevre sağlığı bakımından büyük riskleri beraberinde getirmektedir. Hatalı uygulamalar, tekrarlayan uygulamalar ve başarısız uygulamalar mücadele çalışmalarının tekrarlanmasına neden olduğundan öz itibari ile ekonomik bir girişim olan tarımsal üretimin girdilerini arttırmakta dolayısıyla karlılığını ve üreticilerin refah seviyelerini azaltmaktadır. Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı direnç gelişimi, takibi ve yönetimi çalışmaları oldukça önemli olup, devamlılık gerektiren çalışmalardır.

Entegre mücadele; zararlı organizmaların çevreleri ile olan etkileşimi ve popülasyon dinamiklerini göz önünde bulundurarak mücadele yöntemlerinin tek tek veya kombine edilerek kullanılması ile zararlı popülasyonlarının ekonomik zarar eşiği altına çekilmesini hedefleyen bir mücadele programıdır. Entegre mücadele tarımsal üretim açısından doğru kullanıldığında oldukça etkili ve sonuçları yadsınamaz bir üretim şeklidir. Tarım ve Orman Bakanlığı, Pamuk Entegre Mücadele Teknik Talimatı'nda belirtildiği üzere çiftçilerin eğitimi oldukça önemli olup tarımsal üretimimiz üzerine katkı ve faydaları göz ardı edilemeyecek önemli bir konudur. Bu nedenle entegre mücadele ve onun enstrümanlarından bir tanesi olan direnç yönetimi ile ilgili bilgilerin çiftçilerimize benimsetilmesi gerekmektedir.

Üreticilerin uygun ilaçlama normu ile özellikle yaprakların hem alt hem de üst yüzeyinin ilaçla kaplanmasına olanak sağlayan ilaçlama alet ve ekipmanlarını kullanmaları gerekmektedir.

Zararlılar ile mücadelede direnç ile ilgili problem yaşamamak adına bazı adımlar atılmalıdır. Direnç yönetimi ile ilgili programlar oluşturularak gerekli çalışmalar yapılmalıdır. Direnç yönetiminin tek başına başarı şansının düşük olduğu unutulmamalıdır. Yapılacak çalışmalar bir IPM programı içerisinde değerlendirilmelidir.

Direnç gelişiminin önlenmesi veya yavaşlatılması için taktik ve stratejilerin laboratuvar ve arazi koşullarında değerlendirilmeleri gerekmektedir. Bu çalışmalar;

a) Direnç yönetimi ile ilgili hipotezlerin oluşturulmasına yardım edecek arazi ve laboratuvar denemeleri yapılmalıdır.
b) Düşük direnç seviyelerinin tespit edilebilmesi için hızlı direnç tespitine olanak sağlayan uygun örnekleme ve bioassay tekniklerinin geliştirilmesi ve değerlendirilmesi gerekir.
c) Negatif ilişkili çapraz direnç oluşturan kimyasallar tanımlanmalı ve bu bilgi kullanılarak rotasyon ve karışımlar hazırlanmalıdır.
d) Zararlı popülasyonlarında spesifik insektisitlere direncin stabilitesi değerlendirilmelidir.
e) İnsektisitlerin sıralı kullanımı ve rotasyonu ile ilgili arazi çalışmaları yapılarak direnç yönetiminde kullanım olanakları araştırılmalıdır. Duyarlılığın kabul edilebilir sınırlar içinde tutulmasına olanak sağlayan rotasyon programları düzenlenmelidir.
f) Direnç gelişim oranını etkileyen temel genetik, toksikolojik ve ekolojik faktörler laboratuvar ve arazi koşullarında değerlendirilmelidir.
g) Geleneksel ve biyoteknolojik metotlar kullanılarak insektisitlere dirençli biyolojik mücadele etmenleri üretilmeli ve kullanılmalıdır.
h) Dirençli bireylerin yeni alanlara dağılımı ve hassas bireylerin dirençli popülasyonları yeniden istila etmesi gibi durumların direnç yönetiminde kullanılabilmesi için zararlıların göçleri, hareketleri ve bunları etkileyen faktörler belirlenmelidir.
ı) Tarımsal üretimde kayıplara neden olan zararlılara karşı ruhsatlı bitki koruma ürünleri için diagnostik (ayırıcı) dozların belirlenmesi ve zararlı direnç takibinde kullanılması gerekmektedir.

Popülasyon biyologları, entomologlar, toksikologlar ve modellemecilerinin araştırma ve tasarım aşamalarında koordineli çalışmaları gerekmektedir. Özel sektör ve kamu kurumları başarılı direnç yönetimi taktiklerini teşvik edecek uygulamalar yapmalıdırlar.IPM'in bir parçası olarak direnç yönetiminde insektisit ihtiyacını ve direnç gelişimini azaltan genetik, davranışsal ve ekolojik faktörlerin etkilerini anlamaya yönelik çalışmalar arttırılmalıdır.

Özellikle ana zararlılar ve direnç oluşturma riski yüksek insektisitler söz konusu ise mücadele için tek aktif madde kullanılmamalı ve farklı etkilere sahip kimyasallar tercih edilmelidir. Direnç yönetimi ile ilgili önceki tecrübeler, bir ilacın uzun süre kullanımdan sonra farklı bir ilaca geçilmesine yönelikti ancak bu yaklaşımda direnç problemine odaklanmanın mümkün olmadığı, hatta çapraz direnç vakalarında daha kötü sonuçların ortaya çıktığı anlaşılmıştır. Bu durumda ve yeni aktif maddelerin geliştirilmesi ile ilgili belirsizlikler nedeniyle mevcut kimyasalların iyi değerlendirilmesi gerekmektedir.

Direnç oluşumu belirlendiğinde, direnç yönetimi için gerekli her türlü ekipman ve teknoloji kullanılarak acil olarak uygun taktikler seçilmeli ve gerekli hamleler yapılmalıdır.

Ürün rotasyonu teşvik edilmeli ve aynı alanda art arda aynı veya benzer etkili aktif maddelerin kullanımından kaçınılmalıdır.

Araştırmalara devam edilerek yeni etki mekanizması veya yaklaşımına sahip toksikantlar ve sinerjistler geliştirilmelidir. Zararlı direnç yönetimi ve zararlı direnç yönetimi programları bitki koruma ürünlerinin uzun vadeli ve başarılı kullanımını teşvik eden uygulamalar taktik ve stratejileri kapsar. Ancak bu taktik ve stratejilerin tek başına kullanımı zararlılar ile mücadele açısından yeterli olamamakla beraber diğer mücadele yöntemlerinin kullanılmayışı başarı şansını azaltmaktadır. Zararlı direnç yönetimi programları, entegre zararlı yönetimi programları içerisinde değerlendirildiğinde bu enstrümanların başarı şansının ve kullanılabilirlik sürelerinin uzun olacağı bir gerçektir. Herhangi bir zararlı veya zararlı grubuna karşı bir direnç programı oluşturulurken; yapılmış, yapılan ve öngörülen çalışmaların entegre zararlı yönetim perspektifi ile uyumu, programların uzun vadede başarı şansını ve hedefe ulaşma olasılığını arttıracağı göz önünde bulundurulması gereken bir gerçektir.

KAYNAKLAR

Agarwala B. K. and Choudhury P. R., 2013. Host races of the cotton aphid, *Aphis gossypii*, in asexual populations from wild plants of taro and brinjal. Journal of Insect Science 13(34): 1-13.

Anonim, 2010. T.C. Sanayi ve Ticaret Bakanlığı Teşkilatlandırma Genel Müdürlüğü 2010 Yılı Pamuk Raporu.
http://tgm.sanayi.gov.tr%2FFiles%2FDocuments%2Fyeni_2010-yili-pamukrapo 27012011110342.doc&ei=EvsPT4_CKKE4gT_oLjtAw&usg=AFQjCNFWrwTFsuZVodoViv2SgGDGKIovRQ (Erişim Tarihi: 02.01.2012).

Anonim, 2017. Pamuk Entegre Mücadele Teknik Talimatı, Tarımsal Politikalar Genel Müdürlüğü, Ankara, ed.: DÜNDAR H., EREN S., GÜNAÇTI H., SABAHOĞLU Y., TANYOLAÇ S., TORUN H., ÜSTÜN N., YILMAZ A., S.: 106.

Anonim, 2020. Türkiye İstatistik Kurumu Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı.

Anonymous, 2008. Cotton Catchment Communities Cooperative Research Centre "Cotton Insects: Aphid ecology in cotton." On Farm Series: How To. http://www.insidecotton.com/.

Anonymous, 2020a. Web Sitesi: https://www6.inrae.fr/encyclopedie-pucerons_eng/Species/Aphids/Aphis/A.-gossypii

Anonymous, 2020b. Web sitesi: https://alchetron.com/*Aphis-gossypii*

Anonymous, 2020c. Web sitesi: https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fjournals.plos.org%2Fplosgenetics%2Farticle%2Ffigure%3Fid%3D10.1371%2Fjournal.pgen.1003690.g001&psig=AOvVaw0BzHna4UJ1F4JnV8VAUueU&ust=1582809257232000&source=images&cd=vfe&ved=0CAIQjRxqFwoTCIiSo5Km7-cCFQAAAAAdAAAAABAQ

Anonymous, 2013d. Web sitesi: https://en.wikipedia.org/wiki/Pesticide_resistance#/media/File:Pest_resistance_labelled_light.svg

Anonymous, 2020e. Web sitesi: https://en.wikipedia.org/wiki/Acetamiprid

Anonymous, 2020f. Web sitesi: https://en.wikipedia.org/wiki/Imidacloprid

Anonymous, 2020g. Web sitesi: https://nl.wikipedia.org/wiki/Thiamethoxam

Avidov Z. and Harpaz I., 1969. Plant Pest of lsrael. lsrael University Press, 544 pp.

Bass C. and Field L. M., 2011. Gene amplification and insecticide resistance. Pest Management Science 67(8): 886-890.

Bass C., Puinean A. M., Andrews M., Cutler P., Daniels M., Elias J., Paul L. V., Crosthwaite A. J., Denholm I., Field L. M., Foster S. P., Limd R., Williamson M. S. and Slater R., 2011. Mutation of a nicotinic acetylcholine receptor beta subunit is associated with resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae*. Bmc Neuroscience 12.

Bass C., Denholm I., Williamson M. S. and Nauen R., 2015. The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. Pest. Biochem. and Physio. Vol. 121, pp. 78 -87.

Blackman R. L., 1987. Reproduction, Cytogenetics and Development. Aphids: Their Biology, Natural Enemies and Control. A. K. Minks and P. Harrewijn. Elsevier, Amsterdam.

Blackman R. L. and Eastop V. F., 2000. Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide (2nd Edition). Chichester, UK, John Wiley and Sons.

Bradford M. M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein–Dye Binding. Anal. Biochem., 72: 248-254.

Breer H. and Sattelle D. B., 1987. Molecular properties and functions of insect acetylcholine receptors. Journal of Insect Physiology 33(11): 771-790.

Brejc K., van Dijk W. J., Klaassen R. V., Schuurmans M., van der Oost J., Smit A. B. and Sixma T. K., 2001. Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors. Nature 411(6835): 269-276.

Brown J., 1992. Virus Diseases. Cotton diseases. R. Hillocks. Wallingford, UK., CAB International: 275-329.

Carletto J., Martin T., Vanlerberghe-Masutti F. and Brévault T., 2010. Insecticide resistance traits differ among and within host races in *Aphis gossypii*, Pest Manag Sci., 66 (3): 301-7.

Chaitanya B., Asokan R., Sita T., Rebijith K. B. and Kumar N., 2015. Double-Stranded RNA-Mediated Silencing of Sodium Channel and Ultraspiracle Genes in *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae). Annals of entomological society of america, 109(1):92-98.

Chen Y. Z., Vanlerberghe-Masutti F., Wilson L. J., Barchia I., McLoon M. O., Smith T. and Herron G. A., 2013. Evidence of superclones in Australian cotton aphid *Aphis gossypii* Glover (Aphididae: Hemiptera). Pest Management Science 69(8): 938-948.

Chen X., Li F., Chen A., Ma K.,Liang P., Liu Y., Song D. and Gao C., 2017. Both point mutations and low expression levels of the nicotinic acetylcholine receptor *β1*

subunit are associated with Imidacloprid resistance in an *Aphis gossypii* (Glover) population from a Bt cotton field in China, Pestic. Biochem. Physiol., 141:1-8.

Chen X., Xia J., Shang Q., Song D. and Gao X., 2019. *UDP*-glucosyltransferases potentially contribute to Imidacloprid resistance in *Aphis gossypii* Glover based on transcriptomic and proteomic analyses. Pesticide Biochemistry and Physiology 159: 98–106.

Clark A. G. and Shamaan N. A., 1984. Evidence that DDT-dehydrochlorinase from the house fly is a glutathione S-transferase, Pestic. Biochem. & Physiol. 22:249–261.

Clark A. G., Shamaan N. A., Sinclair M. D. and Dauterman W. C., 1986. Insecticide metabolism by multiple glutathione S-transferases in two strains of the house fly, *Musca domestica* (L). Pestic. Biochem. Physiol. 25, 169-175.

Çakır Ş., 2005. Böceklerde insektisitlere direnç. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi, Cilt 6, Sayı 1, 21-29.

Delorme R., Auge D., Bethenod M. T. and Villatte F., 1997. Insecticide Resistance in a Strain of *Aphis gossypii* from Southern France, Pestic. Sci., 49: 90-96.

Dixon A. F. G., 1989. Parthenogenetic reproduction and the rate of increase in aphids. Aphids - their biology, natural enemies and control. A. K. Minks and P. Harrewijn. Amsterdam, Elsevier. Volume A: 269-287.

Eastop V. F., 1966. A taxonomic study of Australian Aphidoidea (Homoptera). Australian Journal of Zoology. 1966;14:399–592.

Elbert A., Becker B., Hartwig J. and Erdelen C., 1991. Imidacloprid - a new systemic insecticide. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 44(2): 113-136.

Elbert T. A. and Cartwright B., 1997. Biology and ecology of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). Southwestern Entomologist 22(1): 116-153.

Feyereisen R., 1999. Insect P450 Enzymes. Annual Review of Entomology 44(1): 507-533.

Finney D. J., 1979. Bioassay and the Practice of Statistical Inference. International Statistical Institute (ISI), Vol. 47, No. 1, 1-12 pp.

Fitt G., Wilson L., Kelly D. and Mensah R., 2009. Advances with Integrated Pest Management as a Component of Sustainable Agriculture: The Case of the Australian Cotton Industry Integrated Pest Management: Dissemination and Impact. R. Peshin and A. K. Dhawan. New York, Springer Science+Business Media B.V.: 507-524.

Furk C., Powell D. F. and Heyd S., 1980. Pirimicarb resistance in the melon and cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover, Pl. Path. 29: 191-196.

Furk C. and Vedjhi S., 1990. Organophosphorus resistance in *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) on chrysanthemum in the UK, , Ann. Appl. Biol., 116 (3), 557–561.

Gao Z. R., 1987. Tolerance of cotton of different developmental stages to *A. gossypii*. Plant Protection 13 (4): 8-10.

Gepner J. I., Hall L. M. and Sattelle D. B., 1978. Insect acetylcholine receptors as a site of insecticide action. Nature 276(5684): 188-190.

Gerwick B. C. and Sparks T. C., 2014. Natural products for pest control: an analysis of their role, value and future. Pest Manag Sci.; 70:1169–1185.

Ghong K., Zhang G. and Zhai G., 1964. Resistance of cotton aphid to demeton. Journal of Entomology 13: 1-9.

Grant D. F., Dietze E. C. and Hammock B. D., 1991. Glutathione-S-transferase isozymes in *Aedes aegypti*: purification, characterization and isozyme-specific regulation. Insect Biochem. 21, 421-433.

Godfrey L. D. and Fuson K. J., 2001. Environmental and Host Plant Effects on Insecticide Susceptibility of the Cotton Aphid (Homoptera: Aphididae), The Journal of Cotton Science 5:22-29.

Gong Y., Yu X. R., Shang Q., Shi X. Y. and Gao X., 2014. Oral Delivery Mediated RNA Interference of a Carboxylesterase Gene Results in Reduced Resistance to Organophosphorus Insecticides in the Cotton Aphid, *Aphis gossypii* Glover, PloS one. 9. e102823. 10.1371/journal.pone.0102823.

Gong Y. H., Ai G. M., Li M., Shi X. Y., Diao Q. Y. And Gao W., 2017. Functional characterization of carboxylesterase gene mutations involved in *Aphis gossypii* resistance to organophosphate insecticides. Insect Molecular Biology, 26(6), 702–714.

Gore J., Cook D., Catchot A., Leonard B. R., Stewart S. D., Lorenz G. and Kerns D., 2013. Cotton Aphid (Heteroptera: Aphididae) Susceptibility to Commercial and Experimental Insecticides in the Southern United States. Journal of Economic Entomology, 106(3) 1430-1439.

Grafton-Cardwell, E. E., 1991. Geographical and temporal variation in response to insecticides in various life stages of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) infesting cotton in California. J. Econ. Entomol. 84: 741-749.

Greenwood R., Salt D. W. and Ford M. G., 2007. Pharmacokinetics: Computational Versus Experimental Approaches to Optimize Insecticidal Chemistry. Insecticides Design Using Advanced Technologies. Isaac Ishaaya, Ralf Nauen and A. R. Horowitz. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag.

Gubran E. M. E.; Delorme R.; Auge D.; Moreau J. P., 1992. Insecticide resistance in cotton aphid *Aphis gossypii* (Glov.) in the Sudan Gezira, Pesticide Science, 35 (2): 101-107.

Guldemond J. A., Tigges W. T. and De Vrijer P. W. F., 1994. Host races of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) on cucumber and chrysanthemum. Environmental Entomology 23(5): 1235-1240.

Hall T. A., 1999. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41, 95-98.

Han Z., Moores G.D., Denholm I., and Devonshire A.L., 1998. Association between Biochemical Markers and Insecticide Resistance in the Cotton Aphid, *Aphis gossypii* Glover, Pesticide Biochemistry and Physiology 62, 164–171 (1998)

He X., 2003. A Continuous Spectrophotometric Assay for the Determination of Diamondback Moth Esterase Activity, Archives of Insect Biochemistry and Physiology 54:68–76.

Hemingway J, 1998. Mosquito carboxylesterases: a review of the molecular biology and biochemistry of a major insecticide resistance mechanism. Med. Vet. Entomol. 12:1–12

Hemingway J. and Ranson H., 2000. Insecticide Resistance in Insect Vectors of Human Disease. Annual review of entomology. 45. 371-391.

Herron G. A., Powis K. and Rophail J., 2001. Insecticide resistance in *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae), a serious threat to Australian cotton, Aust. J. Entomol., 40: 85-91.

Herron G. A., and Wilson L. J., 2011. Neonicotinoid resistance in *Aphis gossypii* Glover (Aphididae: Hemiptera) from Australian cotton, Australian Journal of Entomology 50: 93–98.

Hirata K., Kiyota R., Matsuura A., Toda S. and Yamamoto A., 2015. Association between the *R81T* mutation in the nicotinic acetylcholine receptor *β1* subunit of *Aphis gossypii* and the differential resistance to Acetamiprid and Imidacloprid. Journal of Pesticide Science 40 (1), 25.

Hollinngsworth R.G., Tabashnik B.E., Ulman D.E., Johnson M.W. and Messing R., 1994. Resistance of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) to Insecticides in Hawaii: Spatial Patterns and Relation to Insecticide Use. Journal of Economic Entomology, Vol. 87, No: 2 (293-300).

Hoskins W. M., 1960. Use of the dosage-mortality curve in quantitative estimation of insecticide resistance. Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America, 2 (1), 85-91.

Irac, 2015a. Resistance Definition, Backround, Development. http://www.irac-online.org/about/resistance/ (Erişim tarihi: 14 Temmuz 2015).

Irac, 2015b. Susceptibility Test Methods Series, Method No: 019, Ver. 3.1. 4 pp. (Web page: http://www.irac-online.org/content/uploads/Method_019-_v3.2_May12_aphid.pdf. (Erişim tarihi: 14 Temmuz 2015).

Isley D., 1946. The cotton aphid. Arkansas Agricultural Experimentation Station Bulletin 462.

Isman M. B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology 51: 45-66.

Jeschke P. and Nauen R., 2008. Neonicotinoids—from zero to hero in insecticide chemistry. Pest Management Science 64(11): 1084-1098.

Jeschke P., Nauen R., Schindler M. and Elbert A., 2011. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59(7): 2897-2908.

Kadous A.A., Ghiasuddin S.M., Matsumura F., Scott J.G. and Tanaka K., 1983. Difference in the picrotoxinin receptor between the cyclodiene-resistant and susceptible strains of the German cockroach. Pesticide Biochemistry and Physiology.19:157–166.

Kagabu S. and Medej S., 1995. Stability comparison of imidacloprid and related compounds under simulated sunlight, hydrolysis conditions, and to oxygen. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 59(6): 980-985.

Kagabu S., 2011. Discovery of imidacloprid and further developments from strategic molecular designs. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59(7): 2887-2896.

Karlin A., 2002. Emerging structure of the nicotinic acetylcholine receptors. Nature Reviews Neuroscience 3(2): 102-114.

Kennedy G. G., McLean D. L. and Kinsey M. G., 1978. Probing behavior of *Aphis gossypii* on resistant and susceptible muskmelon. Journal of Economic Entomology 71(1): 13-16.

Kerns D. L. and Gaylor M. J., 1992. Insecticide resistance in field populations of the cotton aphid (Homoptera: Aphididae). Journal of Economic Entomology 85(1): 1-8.

Kersting U., Satar S. and Uygun N., 1999. Effect of temperature on development rate and fecundity of apterous *Aphis gossypii* Glover (Hom.: Aphididae) reared on Gossypium hirsutum L. J. Appl. Entomol. 123:23–27.

Kleier D., Holden I., Casida J. E. and L. Ruzo O., 1985. Novel photoreactions of an insecticidal nitromethylene heterocycle. Journal of Agricultural and Food Chemistry 33(5): 998-1000.

Kollmeyer, W. D., R. F. Flattum, J. P. Foster, J. E. Powell, M. E. Schroeder and S. B. Soloway (1999). Discovery of the Nitromethylene Heterocycle Insecticides. Nicotinoid insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor. I. Yamamoto and J. E. Casida. Tokyo, Springer-Verlag: 71-89.

Koo H., An J., Park S., Kim J. and Kim G., 2014. Regional susceptibilities to 12 insecticides of melon and cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) and a point mutation associated with Imidacloprid resistance. Crop Protection, 55 91-97.

Kshirsagar S. D., Satpute N. S. and Moharil M. P., 2012. Monitoring of insecticide resistance in cotton leafhoppers, *Amrasca bigutulla bigutulla* (Ishida). Annals of Plant Protection Sciences 20(2): 283-286.

Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K., (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution, 35(6), 1547–1549.

Kundu D., 1994. Ecology of host alternation in aphids. European Journal of Entomology 91(1): 63-70.

Kundu R. and A. F. G Dixon 1995. Evolution of Complex Life Cycles in Aphids. Journal of Animal Ecology, Vol. 64, No. 2, pp. 245-255.

Leather S. R. and Dixon A. F. G., 1984. Aphid growth and reproductive rates. Entomologia Experimentalis et Applicata 35(2): 137-140.

Leclant F. and Deguine J. P., 1994. Cotton aphids. Insect Pests of Cotton. G. A. Matthews and J. P. Tunstall. Wallingford, CAB International: 285-323.

Lester H. A., Dibas M. I., Dahan D. S., Leite J. F. and Dougherty D. A., 2004. Cysloop receptors: new twists and turns. Trends in Neurosciences 27(6): 329-336.

Li X., Schuler M. A. and Berenbaum M. R., 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. Annual Review of Entomology 52(1): 231-253.

Li X., 2011. Glutathione and Glutathione-S-Transferase in Detoxification Mechanisms. In General, Applied and Systems Toxicology (eds. Ballantyne B., Marrs T.C., Syversen T., Casciano D.A. and Sahu S.C.). doi:10.1002/9780470744307.gat166.

Maas S., 2014. Cotton Pest Management Guide 2014-15. Toowoomba, Australia, Greenmount Press.

Mannervik B. and Danielson U. H., 1988. Glutathione transferases--structure and catalytic activity. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 23(3): 283-337.

Mansfield S., Dillon M. L. and Whitehouse M. E. A., 2006. Are arthropod communities in cotton really disrupted? An assessment of insecticide regimes and evaluation of the beneficial disruption index. Agriculture, Ecosystems & Environment 113(1–4): 326-335.

Margaritopoulos J.T., Tzortzı M., Zarpas K.D., Tsıtsıpıs J.A. and Blackman R.L., 2006: Morphological discrimination of *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) populations feedingon Compositae. Bull. Entomol. Res. 96: 153–165.

Martin N. A. and Workman P. J., 1997. Melon aphid (*Aphis gossypii*) resistance to pesticides, Proc. 50th N.Z. Plant Protection Conf. 405-408.

Matsuda K., Kanaoka S., Akamatsu M. and Sattelle D. B., 2009. Diverse actions and target-site selectivity of neonicotinoids: structural insights. Molecular Pharmacology 76(1): 1-10.

Matsuura A. and Nakamura M., 2014. Development of neonicotinoid resistance in the cotton aphid *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) in Japan. Applied Entomology and Zoology. 11/2014; 49(4):535-540.

Mckenzie C. L. and Cartwright B., 1994. Susceptibility of *Aphis gossypii* (Glover) to insecticides as affected by host plant using a rapid bioassay. Journal of Entomological Science, 29 (3) 289-301.

Miller W. B., Peralta E., Ellis D. R. and Perkins H. H., 1994. Stickiness potential of individual insect honeydew carbohydrates on cotton lint. Textile Research Journal 64(6): 344-350.

Moores G. D., Gao X., Denholm I. and Devonshire A. L., 1996. Characterisation of insensitive acetylcholinesterase in insecticide-resistant cotton aphids, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae), Pestic. Biochem. Physiol., 56: 102-110.

Moran N. A., 1992. The Evolution of Aphid Life Cycles. Annual Review of Entomology 37(1): 321-348.

Moriya K., Shibuya K., Hattori Y., Tsuboi S. I., Shiokawa K. and Kagabu S., 1993. Structural modification of the 6-Chloropyridyl moiety in the imidacloprid skeleton: introduction of a five-membered heteroaromatic ring and the resulting insecticidal activity. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 57(1): 127-128.

Nauen R. and Stumpf N., 2002. Fluorometric microplate assay to measure glutathione S-transferase activity in insects and mites using monochlorobimane. Anal Biochem. 2002 Apr 15;303(2):194-8.

Nauen R. and Elbert A., 2003. European monitoring of resistance to insecticides in *Myzus persicae* and *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) with special reference to Imidacloprid, Bull Entomol Res., 93 (1): 47-54.

Nauen R. and Denholm I., 2005. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: Current status and future prospects. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 58(4): 200-215.

Oakeshott J. G., C. Claudianos, P. M. Campbell, R. D. Newcomb and Russell R. J., 2010. Biochemical genetics and genomics of insect esterases. Insect pharmacology: Channels, receptors, toxins and enzymes. L. I. Gilbert and S. S. Gill. London, U.K, Elsevier: 229-301.

O'brien P. J., Abdel Aal Y. A., Ottea J. A. and Graves J. B., 1992. Relationship of insecticide resistance to carboxylesterases in *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) from midsouth cotton. J. Econ. Entomol. 85: 651-657.

Öncüer C., Durmuşoğlu E., 2008. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, Aydın. No: 28, 472 s.

Özdemir Ş. ve Durmuşoğlu E., 2013. Söke (Aydın) İlçesi Pamuk Alanlarında *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) Populasyonlarının Bazı İnsektisitlere Direncinin Belirlenmesi (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ekim-2013, 43 S.

Paddock F. B., 1919. The cotton or melon louse: life history studies College Station, Texas., Texas Agricultural Experiment Station.

Pan Y., Peng T., Gao X., Zhang L., Yang C., Xi J., Xin X., Bi R. and Shang Q. 2015. Transcriptomic comparison of Thiamethoxam-resistance adaptation in resistant and susceptible strains of *Aphis gossypii* Glover, Comparative Biochemistry and Physiology, Part D 13 10-15.

Pan Y., Chai P., Zheng C., Xu H., Wu Y., Gao X., X, J. And Shang Q., 2018a. Contribution of cytochrome P450 monooxygenase CYP380C6 to spirotetramat resistance in *Aphis gossypii* Glover, Pest. Biochem. and Physiol. Volume 148, P. 182-189.

Pan Y., Tian F., Wei X., Wu Y., Gao X., Xi J. and Shang Q., 2018b. Thiamethoxam Resistance in *Aphis gossypii* Glover relies on multiple UDP-Glucuronosyltransferases. Front. Physiol., 9:322, 9p.

Prapanthadara L., Koottathep S., Promtet N., Hemingway J. and Ketterman A. J., 1996. Purification and characterization of a majör glutathione S-transferase from the mosquito *Anopheles dirus* (species B). Insect Biochem. Molec. Biol. 26, 277–285.

Ranson H. and Hemingway J., 2005. Mosquito glutathione transferases. Methods in Enzymology 401: 226-241.

Reddall A., Ali A., Able J. A., Stonor J., Tesoriero L., Wright P. R., Rezaian M. A. and Wilson L. J., 2004. Cotton bunchy top: an aphid and graft transmitted cotton disease. Australasian Plant Pathology 33(2): 197-202.

Rosenheim J. A., Fuson K. J., Godfrey and L. D., 1995. Cotton aphid biology, pesticide resistance, and management in the San Joaquin Valley. Proceedings, Beltwide Cotton Conferences, vol 1: 4–7.

Roush R. T. and McKenzie J. A., 1987. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. Annual Review of Entomology 32: 361-380.

Roy D. K. and Behura B. K., 1983. Notes on host plants. feeding behavior, infestation and attendances of cotton aphid, *Aphis gossypii* Glov. J. Bombay Nat. Hist. Soc,. 80 (3); 645-656.

Russell R. J., Scott C., Jackson C. Pandey J., R., Pandey G., Taylor M. C., Coppin C. W., Liu J.-W. and Oakeshott J. G., 2011. The evolution of new enzyme function: lessons from xenobiotic metabolizing bacteria versus insecticide resistant insects. Evolutionary Applications 4(2): 225-248.

Sarfraz M., Dosdall, L.M. and Keddie, B.A. 2005. Evidence for behavioural resistance by the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). Journal of. Applied Entomology, 129, 340–341.

Schulze K. J. and Tomkins A. R., 2002. Cotton Pest Management Guide 2002-2003. Orange, NSW Agriculture.

Seyedibrahimi S.S., Jahromi K.T., Imani S., Hosseini-Naveh V. and Hesami S., 2015. Chareacterizaion of Imidacloprid resistance in *Aphis gossypii* (Glover) in southern Iran.. Türk. Entomol. Derg., 39(4): 413-423.

Shahbandeh M., 2019. Cotton production by country worldwide, 2019, https://www.statista.com/statistics/263055/cotton-production-worldwide-by-top-countries/.

Shi X., Jiang L., Wang H., Qiao K., Wang D. and Wang K., 2011. Toxicities and sublethal effects of seven neonicotinoid insecticides on survival, growth and reproduction of Imidacloprid-resistant cotton aphid, *Aphis gossypii*. Pest Management Science, 67 1528-1533.

Slosser J. E., Pinchak W. E. and Rummel D. R., 1989. A review of known and potential factors affecting the population dynamics of the cotton aphid. Southwestern Entomologist 14(3): 302-313.

Slosser J. E., Parajulee M. N., Hendrix D. L., Henneberry T. J. and Rummel D. R., 2002. Relationship between *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) and sticky lint in cotton. Journal of Economic Entomology 95(2): 299-306.

Smith T., Wilson L., Heimoana S., Herron G. and Franzmann B., 2006. Overwinter host plants of cotton aphid (*Aphis gossypii*) and implications for managing abundance and resistance. Proceedings 13th Australian Cotton Growers Conference. Gold Coast. 8th-10th August

Sogorb M. A. and Vilanova E., 2002. Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and Pyrethroid insecticides through hydrolysis. Toxicology Letters 128(1-3): 215-228.

Soloway S. B., Henry A. C., Kollmeyer W. D., Padgett W. M., Powell J. E., Roman S. A., Tieman C. H., Corey R. A. and Horne C. A., 1978. Nitromethylene heterocycles as insecticides. Pesticide and Venom Neurotoxicity. D. L. Shankland, R. M. Hollingworth and T. Smith. New York, Plenum: 153-158.

Soloway S. B., Henry A. C., Kollmeyer W. D., Padgett W. M., Powell J. E., Roman S. A., Tieman C. H., Corey R. A. and Horne C. A., 1979. Nitromethylene Insecticides. Advances in Pesticide Science. H. Geissbüehler. Oxford, Pergamon: 206-217.

Sparks T. C., DeBoer G. J., Wang N. X., Hasler J. M., Loso M. R. and Watson G. B., 2012. Differential metabolism of sulfoximine and neonicotinoid insecticides by *Drosophila melanogaster* monooxygenase CYP6G1. Pesticide Biochemistry and Physiology 103(3): 159-165.

Suann, M., Bogema, D.R., Chen, Y., Mansfield, S., Barchia I.M., and Herron G.A., 2015. A TaqMan qPCR method for detecting kdr resistance in *Aphis gossypii* demonstrates improved sensitivity compared to conventional PCR–RFLP. J Pest Sci 88, 785–791.

Tabacian H., Ravan, S. and Bandani, A. R., 2011. Susceptibilities of two populations of *Aphis gossypii* Glover to selected insecticides, African Journal of Biotechnology, 10(24):670-674.

Testa B. and Kramer S. D. 2007. The biochemistry of drug metabolism-an introduction: part 3. Reactions of hydrolysis and their enzymes. Chemistry & Biodiversity 4(9): 2031-2122.

Toda S., Hirata K., Yamamoto A. and Matsuura A., 2017. Molecular diagnostics of the *R81T* mutation on the *D-loop* region of the *β1* subunit of the nicotinic acetylcholine receptor gene conferring resistance to neonicotinoids in the cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae). Appl Entomol Zool 52, 147–151.

Tomizawa M. and Casida J. E., 2003. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. Annual Review of Entomology 48: 339-364.

Tomizawa M. and Casida J. E., 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. Annual Review of Pharmacology and Toxicology 45: 247-268.

Tomizawa M. and Casida J. E., 2009. Molecular recognition of neonicotinoid insecticides: the determinants of life or death. Accounts of Chemical Research 42(2): 260-269.

Toung Y. P. S., Hsieh T. S. and Tu C. P. D., 1990. Drosophila glutathione S-transferase 1-1 shares a region of sequence homology with the maize glutathione S-transferase III. Proc. natn Acad. Sci. 87, 31-35.

Toutant J. P., 1989. Insect acetylcholinesterase: Catalytic properties, tissue distribution and molecular forms. Progress in Neurobiology 32(5): 423-446.

Ulusoy S., 2018. Adana İli Pamuk Ekim Alanlarında *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) Populasyonlarının Neonikotinoid Grubu İnsektisitlere Karşı Direnç Durumunun Belirlenmesi, (Doktora Tezi), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Ulusoy S., Atakan E., Dinçer S., 2018. Neonicotinoid resistance of *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae) in cotton fields of Çukurova Region, Turkey. Turkish Journal of Entomology 42 (2018): 23-31.

Ulusoy S., Özgür O. and Alpkent Y. N., 2019. Toxic and invitro anti-acetylcholineesterase and anti-carboxylesterase effects ov various plant extracts on *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae). Türk. Entomol. Derg., 2019, 43(3): 339-346.

Ünal G., Gürkan M. O., 2001. İnsektisitler: Kimyasal Yapıları, Toksikolojileri ve Ekotoksikolojileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü. Ankara, 159 s.

Velioğlu A. S., Erdoğan, C., Gürkan, M. O. ve Moores G. D., 2008. Pamuklarda Zarar Yapan *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) Populasyonlarının Biyokimyasal Yöntemlerle Direnç Mekanizmalarının Belirlenmesi. Tarım Bilimleri Dergisi, 14 (2): 116-123.

Wall R. E., 1933. A study of color and color variation in *Aphis gossypii* Glover, Annals of the Entomological Society of America, 26:425-463.

Wang K.Y., Guo Q.L., Xia X.M., Wang H.Y. and Liu T.X., 2007. Resistance of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) to selected insecticides on cotton from five cotton production regions in Shandong, China. Journal of Pesticide Science, 32 372-378.

Wang L., Wang Q., Wang Q., Cui L. An Rui C., 2019. The feeding behavior and life history changes in Imidacloprid-resistant *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). Pest Manag Sci., 76 (4): 1402-1412.

Ware G. W., 1980. Pesticides: Chemical Tools. Pesticides Theory and Application. Newyork, 3-15.

Watson D. L. and Brown A. W., 1977. Pesticide management and insecticide resistance. Academic Pres., New York Pp: 638.

Watt M. and Hales D. F.. 1996. Dwarf phenotype of the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). Australian Journal of Entomology 35(2): 153-159.

Wei X., Pan Y., Xin X., Zheng C., Gao X., Xi J. and Shang Q., 2017. Cross-resistance pattern and basis of resistance in a thiamethoxam-resistant strain of *Aphis gossypii* Glover, Pestic Biochem Physiol. 138:91-96.

Wellings P. W., Leather S. R. and Dixon A. F. G., 1980. Seasonal variation in reproductive potential: A programmed feature of aphid life cycles. Journal of Animal Ecology 49(3): 975-985.

Whalon M. E., Mota-Sanchez D. and Hollingworth R. M., 2008. The MSU Arthropod Pesticide Resistance Database. Retrieved March 12th 2015, from http://www.pesticideresistance.org.

Whalon M. E., Mota-Sanchez D., Hollingworth R. M. and Duynslager L., 2004-2012. IRAC Arthropod Pesticide Resistance Database. (Web page: http://www.pesticideresistance.org/). (Erişim Tarihi: 15.03.2013).

Wilhoit L. R. and Rosenheim J. A., 1993. The yellow dwarf form of the cotton aphid, *Aphis gossypii*. Proceedings of Beltwide Cotton Conference.

Williams I. S. and Dixon A. F. G., 2007. Life Cycles and Polymorphism. Aphids as Crop Pests. H. Van Emden and R. Harrington. Wallingford, United Kingdom, CABI.

Wilson L. J., Bauer L. R. and Lally D. A., 1999. Insecticide-induced increases in aphid abundance in cotton. Australian Journal of Entomology 38(3): 242-243.

Wilson L. J., Mensah R. K. and Fitt G.P., 2004. Implementing Integrated Pest Management in Australian Cotton. In "Insect Pest Management" (A.R. Horowitx, and I. Ishaaya, Eds.), pp. 97-118. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany.

Wool D. and Hales D. F., 1997. Phenotypic plasticity in Australian cotton aphid (Homoptera: Aphididae): Host plant effects on morphological variation. Annals of the Entomological Society of America 90(3): 316-328.

Yamamoto, I. (1999). Nicotine to Nicotinoids: 1962 to 1997. Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor. I. Yamamoto and J. E. Casida, Springer Japan: 3-27.

Yeşil B., Yardım E.N. ve Bayhan E., 2017. *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)'nin bazı biyolojik parametrelerine pamuk çeşitlerinin etkisi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 6: 121-129.

Yıldız M., Gürkan M. O., Turgut C., Kaya Ü. ve Ünal G., 2005. Tarımsal Savaşımda Kullanılan Pestisitlerin Yol Açtığı Çevre Sorunları VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara, 3–7 Ocak, 2005.

Yorulmaz S. Ve Ay R., 2010. Akar ve böceklerde pestisitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan enzimler. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 24 (2), 137-148.

Yu S. J., 2008. Detoxification Mechanisms in Insects. In: Capinera J.L. (eds) Encyclopedia of Entomology. Springer, Dordrecht.

Zil'bermints I. V. and Zhuravela L. M., 1984. Response of melon and greenhouse aphids to Ambush and Actellic. Khimiya v Sel'skom Khozyaistva (in Russian) 3: 37-40.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Cahit KAYA
Doğum Yeri	: Viranşehir / Şanlıurfa
Doğum Tarihi	: 03.01.1983
Medeni Hali	: Evli
Yabancı Dil	: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise	: Viranşehir Anadolu Lisesi
Lisans	: Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü
Yüksek Lisans	: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Eylül Ocak-2011
Doktora	: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Ocak 2021

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Diyarbakır Zirai Mücadele Araşırma Enstitüsü Müdürlüğü (2011-2020)

Yayınlar (SCI ve diğer)

Arshad M., Ullah M. I., Çağatay N. S., Abdullah A., Dikmen F., **Kaya C**. and Khan R. R., 2019. Field evaluation of water plant extracts on sucking insect pests and their associated predators in transgenic Bt cotton. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 29:39.

Mutlu Ç., Öğreten A., **Kaya C.** and Mamay M., 2019. Influence of Different Grain Storage Types on Khapra Beetle, *Trogoderma granarium* Everts, 1898 (Coleoptera: Dermestidae), Infestation in Southeastern Anatolia (Turkey) and Its Resistance to Malathion and Deltamethrin. Türk. Entomol. Derg., 43 (2): 131-142.

Uluslararası Kongre

Kaya C., Gürkan M. O., Eren S. ve Öğreten A., 2016. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Pamukta Zararlı *Thrips tabaci* Lind. (Thysanoptera: Thripdae)'de İnsektisit Direncinin Araştırılması. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi, s. 371,5-8 Eylül 2016, Konya.

Özkan, C., Tunca H., Baysoyu D., Ceylan S., Kılınçer N., Akci N., Sahin A. K., **Kaya C.**, Sahin Y., Yassin Ali M.M. and Dini Pour A., 2010. Biological studies with an egg-larval parasitoid *Chelonus oculator*: Advances, Succeses, and Potantial of Use. IX European Congress of Entomology, Sözlü Sunu, Budapest-Hungary, s. 122.

Kaya C. ve Kılınçer N., 2011. Clethodim, Quizalafop-P-Ethyl ve Mancozeb'in Yumurta-Larva Parazitoiti *Chelonus oculator* Panzer (Hymenoptera: Braconidae) Üzerine Etkileri. IV. Bitki Koruma Kongresi, s. 437, 28-30 Haziran, Kahramanmaraş.

Ulusal Kongre

Özkan C., Tunca, H., **Kaya C.** ve Hacıalioğlu, Y. 2009. Pamuk Ekosisteminde Kullanılan Bazı Pestisitlerin Yumurta-larva Parazitoiti *Chelonus oculator* Panzer (Hymenoptera: Braconidae) Üzerine Etkileri. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, Sözlü Sunu, s. 18, 15-18 Temmuz, Van.

Özkan C., Tunca H., Yassin Ali M.M., Özmen D., Ceylan S., Kılınçer N., Uğur A., Şahin A. K., **Kaya C.**, Şahin Y., Hacıalioğlu Y., Erenler Z., Tatlı Ş., Moran H., Günal A. R. ve Dündar A., 2013. Türkiye'den Dünya İçin Yeni Bir Biyolojik Mücadele Etmeni: *Chelonus oculator* Panzer (Hymenoptera: Braconidae). Bitki Koruma Ürünleri ve Makineleri Kongresi, Ankara, Cilt: II, s:33-41.

Özkan C., Tunca H., **Kaya C.** ve Hacıalioğlu Y., 2013. Bazı İnsektisitlerin Parazitoit *Chelonus oculator* Panzer (Hymenoptera: Braconidae) Üzerine Biyolojik ve Davranışsal Yan Etkileri. Bitki Koruma Ürünleri ve Makineleri Kongresi, Ankara, Cilt: II, s:17-31.

Hakemli Dergi

Eren S., **Kaya C**. ve Öğreten A., 2014. Güneydoğu Anadolu Bölgesi Pamuk Ekim Alanlarında Sorun Olan Zararlılar ve Çözüm Önerileri. Gıda Tarım ve Hayvancılık Dergisi Sayı:4, 26-33.

Özgen İ., Çerçi. B. and **Kaya C.,** 2018. Heteroptera (Hemiptera) Species Determined in Pistachıo Orchards of Siirt Province with a New Record For Fauna of turkey: *Yotvata nergal* Linnavuori. Cercetări Agronomice în Moldova Vol. LI, No. 4 (176) : 87-95.

Diğer

Birişik N., Bayram Y., Kılıç M., Mutlu Ç., Öğreten A., Eren S., Kaplan M., Süer İ E., Baran B., Duman K., Karaca V., Duman M., Çiftçi O., Türkölmez Ş., Peçen A., Sağır P., Yatkın G., Güler B., **Kaya C.**, Çelik Y., Orak A B., Yaman B., Ateş E.,2015. Teoriden Pratiğe Kültürel Mücadele, Gıda Tarım Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, 288 s.