

ÖNSÖZ

Bu proje ile Ülkemizde depolarda saklanan tarımsal ürünlerde değişik zararlılara karşı yoğun şekilde kullanılan sentetik pestisitlerden Deltamethrin ile yeni nesil yarı-sentetik spinosin insektisidi spinetoram'ın Fasulye tohum böceği, *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae)'a olan etkinliğinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Önerilen projede Spinetoram'ın Fasulye tohum böceği mücadelesinde, Deltametrin'e bir alternatif olup olamayacağının belirlenmesi amaçlanmıştır. Gerçekleştirilen “**Deltametrin ve Spinetoram etkili maddelerin Fasulye tohum böceği, *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) üzerine akut ve resudiel toksisitesi**” başlıklı proje Namık Kemal Üniversitesi tarafından NKUBAP.00.24.AR.14.17 no ile Bilimsel Araştırma Projesi olarak desteklenmiştir.

Proje kapsamında belirlenen hedeflerden: Deltametrinin tavsiye dozu ve Spinetoram etkili maddesinin Fasulye tohum böceğine karşı toksisitesinin belirlenmesi ile proje % 95 oranında başarı ile tamamlanmıştır. Ancak hedefler arasında olan, 6 ve 42. günde (F₁ döllerinin belirlenmesinin ardından) hedeflenen kalıntı analizleri artan analiz giderleri nedeniyle testlenememiş ve bu amaçla bütçede tanımlanan miktar harcanamamıştır. Ayrıca Spinetoramda düşük dozda yüksek toksisite göstermesinden dolayı, LD değerleri kullanılan Polo PC Plus programının sonuç vermemesi nedeniyle rakamsal olarak ortaya konulamamıştır.

Spinetoram'a ait ölüm ve yeni nesil ergin sonuçları, Spinetoram'ın konvansiyonel insektisitlere bir alternatif koruyucu insektisit olarak depolanmış fasulyelerde zararlı *A. obtectus* mücadelesinde kullanılabilme potansiyeline sahip olabileceğini göstermiştir.

Spinetoram etkili maddesinden elde edilen verilerden “**Residual toxicity of Spinetoram against to bean weevil, *Acanthocelides obtectus* Say. (Coleoptera: Bruchidae) on bean**” başlıklı İngilizce makale, Turkish Journal of Entomology adlı Science Scintion Index'de taranan derginin 2016, 40 (1) numaralı sayısının, 23-32 sayfaları arasında yayınlanmıştır. Yayın raporun sonunda sunulmuştur.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TABLO VE ŞEKİLLER	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
1. GİRİŞ	1
1.2. ARAŞTIRMANIN AMACI.....	2
2. MATERYAL ve METOD	3
2.1. MATERYAL.....	3
2.1.1. Fasulye Tohum Böceği (<i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.))	3
2.1.2. Biyolojik Testlerde Kullanılan İnektisitler.....	5
2.1.2.1. Spinetoram (Delegate 250 WG)	5
3.2. METOD.....	8
3.2.1. <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.)’un Temini ve Laboratuvarda Yetiştirilmesi	8
3.2.2. Biyolojik Testlerde Kullanılan Yüzey	9
3.2.3. Biyolojik Testler	9
3.2.4. Verilerin Değerlendirilmesi ve Analizi.....	10
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	11
4.1. Spinetoram İle Yürütülen Biyolojik Testlerin Bulguları.....	11
4.1.1. Spinetoram’ın <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.) Erginlerine Karşı Ölüm Oranları	11
4.1.2. Spinetoram’ın <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.) Erginlerine Karşı Felç Oranları.....	12
4.1.3. Spinetoram’ın <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.) Erginlerine Felç+Ölüm Oranları	13
4.1.4. Spinetoram’ın <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.)’un F ₁ Dölüne Etkisi.....	14
4.2. Deltamethrin İle Yürütülen Biyolojik Testlerin Bulguları.....	15
4.2.1. Deltamethrin’in <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.) Erginlerine Karşı Ölüm Oranları... ..	15
4.2.2. Deltamethrin’in <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.) Erginlerine Karşı Felç Oranları	16
4.2.3. Deltamethrin’in <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.) Erginlerine Felç+Ölüm Oranları	17
4.2.4. Deltamethrin’in <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.)’un F ₁ Dölüne Etkisi	18
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	19
6. KAYNAKLAR	21
7. PROJEDEN ÜRETİLEN YAYIN	26

Şekil 1. <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.)’un ergin (üst-sol), larva ve pupa (üst-sağ) ve yumurta (alt-sol), <i>A. obtectus</i> tarafından zarar görmüş fasulye tohumları.....	3
Şekil 2. Biyolojik testlerde yüzey ilaçlaması için kullanılan Airbruch ilaçlama makinesi.....	8
Şekil 3. Plastik küvet içerisinde ilaçlamaya hazırlanan fasulyeler.....	9
Şekil 4. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak toz haldeki spinetoramın farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan <i>Acanthocelides obtectus</i> erginlerin ölüm oranı (%)......	11
Şekil 5. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki spinetoramın farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan <i>Acanthocelides obtectus</i> erginlerin felç oranı (%)......	12
Şekil 6. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki spinetoramın farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan <i>Acanthocelides obtectus</i> erginlerin ölüm+ felç oranı (%)......	13
Şekil 7. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki spinetoramın farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan <i>Acanthocelides obtectus</i> erginlerin F1 döl sayısı (Adet)......	14
Şekil 8. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki deltamethrinin farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan <i>Acanthocelides obtectus</i> erginlerin ölüm oranı (%)......	15
Şekil 9. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki deltamethrinin farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan <i>Acanthocelides obtectus</i> erginlerin felç oranı (%)......	16
Şekil 10. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki deltamethrinin farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan <i>Acanthocelides obtectus</i> erginlerin ölüm+ felç oranı (%)......	17
Şekil 11. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki Delthametrin’in farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle bırakılan <i>Acanthocelides obtectus</i> erginlerin F ₁ döl sayısı (Adet)......	18

ÖZET

Laboratuvar koşullarında yürütülen bu çalışmada fasulye tanelerine uygulanmış Spinetoram ve Deltamethrin'in Fasulye tohum böceği, *Acanthocelides obtectus* Say. (Coleoptera: Bruchidae) erginlerine karşı rezidüel kontak toksisitesi araştırılmıştır. Laboratuvar denemelerinde, *A. obtectus* erginleri 26 ± 1 °C sıcaklık, 65 ± 5 % nem koşullarında ve tamamen karanlık ortamda 0.1, 0.25, 0.5 ve 1 ppm (mg aktif madde/kg ürün) konsantrasyonlarındaki Spinetoram ve 125, 250 ppm Deltamethrine solüsyonu uygulanmış fasulye ile muamele edilmiştir. Uygulamadan 1, 3, 5 ve 7 gün sonra felç ve ölü ergin bireyler sayılmış ve 40 gün sonra yeni nesil ergin çıkışları gözlemlenmiştir. Biyolojik testlerden elde edilen sonuçlara göre fasulye üzerine uygulanan Spinetoram konsantrasyonları ve uygulama süreleri, *A. obtectus* erginlerinin felç ve ölüm oranları üzerine önemli derecede etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Spinetoram'ın tüm konsantrasyonları, 1 gün uygulama süresinde *A. obtectus* erginlerin düşük ölümlerine neden olmuştur. Bir günden sonraki uygulama sürelerinde *A. obtectus*'un ölüm oranlarında önemli artış görülmüştür. Spinetoram'ın düşük konsantrasyonları (0.1 ve 0.25 ppm) tüm uygulama sürelerinde, *A. obtectus* erginlerin düşük felç ve ölümüne neden olmuştur. Ancak, yüksek konsantrasyonlarda (0.5 ve 1 ppm) 3 gün uygulama süresinde *A. obtectus* erginlerin hemen hemen % 100 felç ya da ölümü görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlar *A. obtectus* erginlerinin tamamını öldürmek için 1 ppm uygulama konsantrasyonu ve 3 günlük uygulama süresinin yeterli olduğunu ortaya koymuştur. Spinetoram'ın 0.25, 0.5 ve 1 ppm uygulama konsantrasyonları yeni nesil ergin çıkışlarını tamamen engellemiştir. Ölüm ve yeni nesil ergin sonuçları, Spinetoram'ın konvensiyonel insektisitlere bir alternatif koruyucu insektisit olarak depolanmış fasulyelerde zararlı *A. obtectus* mücadelesinde kullanılabilme potansiyeline sahip olabileceğini göstermiştir. Deltamethrinin de tavsiye dozunun yarı dozunda (125 ppm) bile yüksek etki gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Spinetoram, Deltamethrine, *Acanthocelides obtectus*, rezidüel etki, toksisite, fasulye

ABSTRACT

In present study, residual contact toxicity of spinetoram and deltamethrine suspension applied to bean against *Acanthocelides obtectus* Say. (Coleoptera: Bruchidae) adults was investigated under laboratory conditions. In laboratory bioassays, *A. obtectus* adults were exposed to bean sprayed with spinetoram suspension at 0.1, 0.25, 0.5 and 1 ppm (mg active ingredient/kg commodity) and deltamethrine suspension at 125, 250 ppm concentrations at 26 ± 1 °C temperature, 65 ± 5 % relative humidity and completely dark condition. Paralysis and mortality of the adults were recorded after 1, 3, 5 and 7 day of exposure and 40 day later the bean was examined for progeny production. Based on the results obtained from the biological tests, concentration of spinetoram suspension and the exposure period had a significant effect on paralysis and mortality rate of *A. obtectus* adults on bean. Spinetoram treatments at all concentrations after 1 day of exposure resulted in low mortality of *A. obtectus* adults. Mortality of *A. obtectus* adults increased after 1 day of exposure period. Spinetoram treatments at low concentrations (0.1 and 0.25 ppm), resulted in low mortality of paralysis or mortality of *A. obtectus* adults at all exposure times. However, spinetoram treatment at higher concentrations (0.5 and 1 ppm) after 3 day of exposure resulted in almost 100 % paralysis or mortality of *A. obtectus* adults. These results indicated that 1 ppm concentration of spinetoram is enough to obtain the complete mortality of *A. obtectus* for 3 day of exposure. Spinetoram treatments at 0.25, 0.5 and 1 ppm completely hindered its progeny production. In conclusion, based on mortality and progeny production results spinetoram would be potential to be used for control of *A. obtectus* on stored beans as an alternative protectant to the conventional insecticides. Result of this study that bean weevil can be control with Deltamethrine at half amount dose than recommended dose (125 ppm).

Key words: Spinetoram, Delthamethrine, *Acantocelides obtectus*, residual action, toxicity, bean

1. GİRİŞ

İnsanlık tarihinin başlangıcından beri kültür bitkisi olarak yetiştirilen baklagiller; fasulye, nohut, börülce barbunya, bakla, bezelye ve mercimek önemli ürün çeşitleridir. Yemeklik baklagiller içerdiği protein, mineral maddeler ve vitaminler ile insan beslenmesinde dünyada ve ülkemizde tahıllardan sonra önemli bir gıda olarak yer almaktadır. Beslenmede temel besin maddelerinden olan yemeklik baklagiller geliştirmekte olan birçok ülkede düşük gelirli insan gruplarının önemli besin maddesini oluşturmaktadır (Şehirali ve ark. 2000). İnsan beslenmesinin yanı sıra, yem, yeşil gübre, silaj olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca bu bitkilerin köklerinde bulunan *Rhizobium* türü bakteriler, havanın serbest azotunu fikse edebilme özellikleri, kendisinden sonra ekilecek ürünler için temiz ve verimli toprak bırakması açısından da önemlidir (Ofuya ve Akhidue, 2005). Toplam baklagil üretimi dikkate alındığında, Türkiye dünyanın en büyük üreticileri arasındadır. 1980 yılından sonra Türkiye’de baklagil üretimi göze çarpan bir artış göstermiştir. Toplam üretimdeki bu artış, temel olarak mercimek ve nohut üretimindeki artışlardan kaynaklanmaktadır. Bu artışlarla birlikte Türkiye, dünyada mercimek ve nohut üreten ülkelerin başta gelenlerinden biri olarak yer almıştır. Son yıllarda baklagil üretiminde bir düşme eğilimi görülse de, Türkiye hala dünyada önemli bir baklagil üreticisidir (TUİK, 2010). 2010 yılı verileri dikkate alındığında, dünyada baklagil ekim alanı 46 049 963 ha ve üretimi 38 813 644 ton (FAO, 2010) ve Türkiye’de baklagil ekim alanı 8 221 554 da, üretimi 1 235 306 ton olarak gerçekleşmiştir (TUİK, 2010). Toplam baklagil üretimi içerisinde fasulye (%17.22), mercimeğin payı (%36.21) iken bunu sırasıyla nohut (%42.95), ve diğerleri (%3.62) (bakla, fiğ vb.) izlemektedir (TUİK, 2010). Türkiye’de 2010 yılında kuru fasulye üretim alanı 1 033 811 da, üretim miktarı 212 758 ton ve verimi 206 kg/da’dır (TUİK, 2010).

Bruchidae familyasına bağlı Baklagil tohum böceklerinin büyük çoğunluğunun esas konukçuları Leguminosae familyasına bağlı bitki türleridir. Baklagil tohum böcekleri yıl içinde “tek döl veren türler” (*Bruchus pisorum* L., *B. rufimanus* Boh., *B. lentis* Fröhl. ve *B. ervi*) ve “çok döl veren türler” (*Callosobruchus maculatus* (F.) ve *Acanthoscelides obtectus* Say) olarak iki gruba ayrılır. Ülkemizde depolanmış baklagillerde saptanan en yaygın türlerin *C. maculatus* (Börülce tohum böceği) ve *A. obtectus* (Fasulye tohum böceği) olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Turanlı, 2007; Elmalı ve Toros, 1990). *Acanthoscelides obtectus* en çok fasulye çeşitlerinde zararlı olurken börülce, nohut ve diğer baklagillerde de zararlıdır; bazen nohuttaki

zararı da önemlidir. Fasulye tohum böcekleri, larvalarının beslenmeleri sonucunda tanelerde kalite, çimlenme gücü ve ağırlık kayıplarına neden olurlar. Tanenin çimlenmesini bir delikli tanede %25, iki delikli tanede ise %75 oranında azaltmaktadır (Esin, 1971). Ayrıca bu zararlıların gerek tarlada, gerekse ambarda daneler içerisinde beslenerek kalite ve kantite yönünden ortalama %20 civarında değer yitirmesine neden oldukları ve tohum çimlenme gücünü %90'a varan oranda düşürdükleri saptanmıştır (Keyder, 1965; Alkan, 1966; Karman ve ark., 1970; Keyder ve ark., 1973; Atak, 1975; Dörtbudak, 1975; Seçkin, 1981; Zeren ve Yabaş, 1989; Yabaş ve ark., 1992). Bu şekilde zarar görmüş, iç ve dış piyasada önemli yeri olan baklagillerin, pazar değeri de düşer.

Ülkemizde depolanmış baklagil zararlılarının kontrolü için metil bromid ve aliminyum-fosfit ile fumigasyon gıda sanayicilerinin en çok güvendiği mücadele yöntemidir. Ancak, Montreal Protokolü'ne göre metil bromürün ozon tahrip edici madde olarak tanımlanması nedeniyle ülkemizde Türkiye'de ise 2015 yılında itibaren kullanımı yasaklanması kararlaştırılmış (UNEP, 1995) ve günümüzde yasaklanmıştır.

Aliminyum-fosfit için ise Asya ve Afrika (Mills 1983; Taylor & Halliday 1986; Taylor 1989; Zettler 1997; Sayaboc et al. 1998; Rajendran 1999), Avustralya (Collins et al., 2001; Nayak et al., 2010; Emery et al., 2011) ve Amerika (Opit et al., 2012; Sağlam et al., 2015)'dan oluşan pekçok kıtada dayanıklılık tespit edilmiş. Bu yüzden son yıllarda özellikle gıda sanayinde depolanmış bakliyat zararlılarına karşı bu fumigantta ve sentetik insektisitlere karşı çevre ve insana toksisitesi düşük yeni alternatif insektisitlerin geliştirilmesi önem arz etmektedir.

Ülkemizde depolarda saklanan tarımsal ürünlerde değişik zararlılara karşı yoğun şekilde sentetik pestisit uygulaması yapılmaktadır. Bu pestisitler arasında sentetik piretroid olan Deltamethrin kullanılmaktadır. Çalışma kapsamında yeni nesil yarı-sentetik spinosin insektisidi spinetoram'ın etkinlikleri ele alınmıştır.

1.2. ARAŞTIRMANIN AMACI

Bu proje çalışmasında laboratuvar koşullarında yeni yarı-sentetik spinosin insektisidi spinetoram'ın fasulye tohum böceği (*Acanthocelides obtectus* (Say))'nin ürün yüzeyine karşı residual kontak toksisitesi araştırılmıştır. Şahit ilaç olarak da Deltamethrin kullanılmıştır.

2. MATERYAL ve METOD

2.1. MATERYAL

2.1.1. Fasulye Tohum Böceği (*Acanthoscelides obtectus* (Say.))

2.1.1.1. Sistematikteki Yeri

Şube	:	Arthropoda
Sınıf	:	Insecta
Takım	:	Coleoptera
Familya	:	Bruchidae
Tür	:	<i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.)



Şekil 1. *Acanthoscelides obtectus* (Say.)’un ergin (üst-sol), larva ve pupa (üst-sağ) ve yumurta (alt-sol), *A. obtectus* tarafından zarar görmüş fasulye tohumları (alt-sağ).

2.1.1.2. Gelişme Dönemleri

a. Ergin

Fasulye tohum böceği ergininin vücudu uzunca oval, biraz yassı, açık veya koyu kahverengidir. Vücudun üzeri arkaya yatık sarı yeşil çok kısa tüylerle örtülü olup açık gri tüylerle kaplı uzunca lekeler bulunmaktadır. Vücudun alt tarafı kırmızımsı sarı renklidir. Fasulye tohum

böceğinin ergin erkekleri 3.1-4.2 mm, dişiler 3.8-4.8 mm büyüklüğündedir. Antenleri 11 segmentli olup, ilk 4 segment ve son segment açık kahverengi diğer segmentleri koyu kahverengidirler. Bacakları kırmızımsı kahverengidir. Erkek ergin dişi ergine göre boyca küçüktür. Fasulye tohum böceği erkek erginin alttan son karın segmentinin dış kenarı içe doğru yuvarlaktır dişide ise son karın segmenti çizgisi düzdür.

b. Yumurta

Yumurta, uzun ve ovaldır. Bir ucu sivrice, diğer ucu yuvarlaktır. Yumurta, ilk konduğu zaman saydam parlak beyaz renklidir. Zamanla renk donuklaşır. Açılmaya yakın yumurtanın yuvarlak ucunda larvanın kafası belirginleşir. Yumurtanın boyu 0.63-0.77 mm'dir. Ergin dişi yumurtalarını fasulye kapsülünde açtığı bir delikten veya kapsül üzerindeki çatlaklardan kapsül çeperine veya danenin üzerine tek tek veya 4-20'lik kümeler halinde yumurtalarını bırakır; bir dişi 41-108 yumurta bırakabilir.

c. Larva

Yumurtadan ilk çıktığı zaman larvanın gövdesi silindirik yapıda uzun olup, arkaya doğru gittikçe incelik, uzun tüylerle kaplıdır. Baş esmerimsi, vücut beyaz renklidir. Üç çift ince uzun göğüs bacağı vardır. Vücut uzunluğu 0.6-0.8 mm' dir. Yumurtadan çıkan larva bir süre tanenin üzerinde dolaştıktan sonra, tane kabuğunu oyarak bir galeri (tünel) açar ve orada beslenir. Bu sırada larvanın gövdesi silindirik olup yay gibi kıvrıklaşır, ayaklar kaybolmuştur. Bu haliyle larva 1. dönem larvadan çok farklıdır. Son dönem larvanın vücut uzunluğu 3-3.5 mm' dir. Yumurtadan çıkan larva danenin içerisine girer, tüm yaşamını dane içerisinde geçirerek gelişimini 20-26 günde tamamlar.

d. Pupa

Pupa, tane kabuğunun hemen altındaki bir odacıkta oluşur. Bu durum tane kabuğu üzerinde yuvarlak yağ lekesine benzer renk değişimi ile kolayca anlaşılır. Zamanla lekenin rengi esmerleşir. İlk zaman parlak beyaz olan pupa rengi zamanla koyulaşır ve kirlili sarımsıdan açık kahverengine dönüşür. Pupa boyu 2.9-4.6 mm'dir.

2.1.1.3. Zarar Şekli, Ekonomik Önemi ve Yayılışı

Oligofag bir zararlı olup fasulye, nohut börülce, bakla ve soya fasulyesinde zarar yapmaktadır. *A. obtectus*' un larvaları zararlı olup larvalar konukçuları olan baklagil taneleri içinde

beslenmeleri süresince oyuklar meydana getirerek tanenin besin değerini düşürdükleri gibi dışkı ve vücut artıkları ile de kirletirler. Larvaların beslenmeleri sonucunda tanelerde kalite, çimlenme gücü ve ağırlık kayıplarına neden olurlar. Bu şekilde zarar görmüş baklagillerin pazar değeri düşer.

Ülkemizde baklagil ekimi yapılan tüm bölgelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Marmara Bölgesi' nde 1-2 dölü tarlada, diğerleri ambarda olmak üzere yılda 5, Orta Anadolu' da 4-5, Ege ve Karadeniz' de 3-5, Güneydoğu Anadolu Bölgesi' nde 3-4 döl verir.

2.1.2. Biyolojik Testlerde Kullanılan İsektisitler

2.1.2.1. Spinetoram (Delegate 250 WG)

Ülkemizde spinetoram, ticari ismi Delegate 250 WG olan ve Armut Psillidi' ne karşı ruhsatlı bir insektisittir. Delegate 250 WG Dow AgroSciences tarafından üretilmektedir. Delegate 250 WG %25 spinetoram etken madde içermektedir. İsektisitlerin yeni grubu olan naturalytes sınıfında yer alan Spinetoram yarı-sentetik spinosin insektisitlerinin yeni bir üyesidir. Bu etkili madde kuşlara ve memelilere karşı düşük toksisiteye sahiptir (Toksosite değeri: LD₅₀ = >5000 mg/kg). Spinetoram düşük oranlarda (10 ug/ml) uygulanınca uğur böcekleri chrysopidae ve hemipter avcılarına karşı düşük toksisite göstermesinden dolayı entegre mücadele programlarında öncelikli olarak kullanılmaktadır. ABD Çevre Koruma Ajansı tarafından çevreye düşük toksisitesi olan insektisitlerden bir tanesi olarak gösterilmiştir.

Doğal olarak toprakta bulunan Actinomycete sınıfından *Saccharopolyspora spinosa* bakterisinin fermantasyon ürününden türetilen spinosad, ticari olarak ulaşılabilen bir insektisittir (Mertz ve Yao 1990). Spinosad böcek sinir sistemi üzerinde nikotinik asetilkolin resöptörleri üzerinde belirsiz bir yerde etkili ve kontak yada mide yoluyla aktifdir (Dripps et al., 2011). Spinosad memelilere karşı düşük toksisiteli ve güneş ışığına maruz kaldığında hızlı bir şekilde etkinliği azalmaktadır (Thompson et al., 1997) ama depolanmış tahıllarda nisbeten istikrarlıdır (Fang et al., 2002). Spinosad tahıllarda 1 mg/kg (1 ppm) uygulama oranında 2005 yılında bir tahıl koruyucusu olarak kullanımı için ABD Çevre Koruma Ajansı tarafından onay almıştır (Subramanyam ve ark.,1999; Subramanyam, 2006). İsektisitlerin yeni grubu olan naturalytes sınıfında yer alır. Spinetoram yarı-sentetik spinosin insektisitlerinin yeni bir üyesidir. Spinetoram, Actinomycete sınıfından *Saccharopolyspora spinosa* bakterisinin fermantasyonu sonucu elde edilen Spinosyn' in (spinosyn L ve J) kimyasal modifikasyonu sonucu oluşan düşük riskli bir insektisittir (DeAmicis et al., 2011; Dow AgroSciences, 2016).

Spinetoram spinosad ile karşılaştırıldığında etkisi daha hızlı ve daha yüksek potansiyeli ile yeni bir spinosyn insektisidi gibi tanıtıldı (Dripps et al., 2008; Sparks et al., 2008). Spinetoram çok sayıda bitkide zararlı böceklerle karşı geniş ölçekli bir insektisittir. Lepidoptera, Thysanoptera ve Diptera gibi takımlara etkilidir. Spinetoram düşük oranlarda (10 µg/ml) uygulanınca uğur böcekleri chrysopidae ve hemipter avcılarında düşük toksisite gösterir (Copping et al., 2001; DeAmicis et al., 1997; Gamal et al., 2007; Kirst et al., 1992; Mahmoud et al., 2007; Williams et al., 2003). Bu etkili madde kuşlara ve memelilere karşı düşük toksiteye sahiptir (Bret et al., 1997). ABD Çevre Koruma Ajansı tarafından çevreye düşük toksisitesi olan insektisitlerden bir tanesi olarak gösterilmiştir (Dow AgroSciences, 2008). Spinetoram mide yoluyla mideye alındığında hızlı bir şekilde etki gösterir ve yemeyi 24 saat içerisinde durdurur ve ölüm gerçekleşir. Spinetoramın etki mekanizması incelendiğinde nikotinic asetil kolin ve gammaamino butirik asit (GABA) resöptörleri üzerinde etkilidir(Williams et al., 2003).Spinetoram spinosad ile aynı etki mekanizmasına sahip olup kontak ve mide yoluyla etkilidir (Dripps et al., 2011). Ülkemizde spinetoram, ticari ismi Delegate 250 WG olan ve Armut Psillidi'ne karşı ruhsatlı bir insektisittir.Son araştırmalar sonrası yeni raporlara göre spinetoram spinosada göre yaban arısı *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae) karşı daha az toksiktir (Besard et al., 2011)

2.1.2.2. Deltamethrin (K-Obiol EC 25)

Ülkemizde Deltamethrin, ticari ismi K-Obiol 25 EC olan ve depolanmış ürün zararlılarına karşı ruhsatlı ruhsatlı bir insektisittir. K-Obiol 25 EC Bayer tarafından üretilmektedir ve litrede 25 g. saf Deltamethrin ve litrede 250 g. saf Piperonyl butoxide (PBO) etken madde içermektedir.

Sentetik piretroid Deltamethrin, olarak bilinen kontak etkili olup ve sindirim sistemini etkileyerek böcekleri öldüren. piretroid grubundan olan bir insektisittir Ani öldürücü etkisi oldukça yüksektir. Deltamethrin ilk kez 1974 yılında tanımlanan, geniş spektrumlu sentetik bir insektisit olup ve 100'den fazla ülkede dünya çapında kullanılmaktadır. Sentetik piretroidler, dünyada satılan insektisitlerin %30'undan fazlasını oluşturmaktadırlar. Bunun sebebi ise böceklerde çok hızlı bir etkiye sahiptirler. Hatta küçük dozlarda verilse dahi bu etki görülmektedir. Yine, sentetik piretroidler, deri ve ağız yoluyla memelilere çok düşük toksite göstermektedirler. Bu olumlu durum, piretroidlerin sinir sistemi ve detoksifikasyon sistemi arasındaki etkileşme ile yakından ilgilidir Piretroidler, böceklerde, sinir sistemine etki ederek, normal sinir sistemini bozarak etkili olurlar. Duyu sinirlerinin uçlarını etkileyerek geçici paralize sebep olmaktadır. Daha sonra sinir boyunca yerleşmiş etkisinden dolayı zehirlenme ortaya çıkmaktadır. Piretroidlerin merkezi sinir

sistemine etkisi de belirgindir. Sinir hücresi ve liflerini uyararak tekrarlamalı olarak deşarja sebep olmakta ve sonuçta, paraliz durumu ortaya çıkmaktadır. .Piretroidler kolinesteraz enzimini ve kaslarda solunum olayını etkilememektedirler. Sonuç olarak, ilk etkilerinin ard arda tekrarlanan sinirsel boşalmaların ortaya çıkmasıyla, daha sonra etkilerinin ise doğal veya uyarılmış akson potansiyellerinin azalması şeklindedir. Sentetik piretroidlerin direnç oluşturma potansiyellerinin yüksek olması nedeniyle, üst üste tekrarlı olarak kullanımlarından kaçınmak ve diğer gruplardan ilaçlarla münavebeli olarak kullanmak en doğru yoldur. Son yapılan çalışmalarda, sinirlerde voltaj aktivitesinin, sodyum ve potasyum kanallarından içeri giriş ve çıkış esnasında meydana geldiği ve piretroidlerin, bu mekanizma üzerinde etki oluşturarak zehirlenmeye sebep olduğu tespit edilmiştir. Piretroidler, sinirlerde sodyum miktarında belirli bir artış sağlayarak, sodyum kanal sistemini bozarak etkili olmaktadır. Sonuç olarak, piretroidler, diğer gruplardan kolinerjik etkiye sahip olmamaları ile ayrılırlar ve sinirlerdeki iyon yapılarını bozmaları sonucu zehirlenmeye sebep olurlar. Memeliler için piretroidler düşük toksititeye sahiptirler. Böcekler ve memelilerde bu bileşiklerin detoksifikasyonu farklı mekanizmaya sahiptir. Yani, metabolik farklılıklarda memeliler lehine bir durum ortaya çıkmaktadır. Memeliler ve böcekler arasındaki selektivitesi metabolik farklılıklara dayanmaktadır.

2.1.3. Biyolojik Testlerde Kullanılan Fasulye

Biyolojik testlerde zararlı ile bulaşık olmayan, %8±1 ürün nemi içeren fasulye kullanılmıştır. Tane büyüklüğü fasulye hassas terazi ile tartılarak 100 gr daki tane sayısı ile belirlenmiştir (Şehirali,1988). Buna göre çalışmalarda kullanılan fasulye iri taneli (100 gr tane sayısı 204 adet) Elbistan çeşidi kullanılmıştır.

2.1.4. Yüzey İlaçlamalarında Kullanılan İlaçlama Makinesi

Yüzey ilaçlamaları için Airbrush (havalı boya tabancası) kompresörü kullanılmıştır. Hava kompresörü HSENG Airbrush AS18 model (Ningbo Haosheng Pnömatik Machinery Co., Zhejiang Çin) kompresör üzerinde manometre, basınç regülatörü, hava filtresi ve airbrush (boya tabancası) bulunmaktadır. Özel ayarlanabilen basınç, 60 psi (mevcut özel basınç) durdurmak 30 psi başlatmak. Airbrush kompresör, güç:1/5 HP, voltaj:220-240 V, frekans:50 HZ, boyut: 25.5*13.5*17 cm, net kilogram:3.6 kg özelliklerindedir. Boya tabancası, meme ucu:0.2 mm, çalışma basıncı:15-50 psi, hazne kapasitesi: 2 cc özelliklerindedir.



Şekil 2. Biyolojik testlerde yüzey ilaçlaması için kullanılan Airbruch ilaçlama makinesi

3.2. METOD

3.2.1. *Acanthoscelides obtectus* (Say.)’un Temini ve Laboratuvarda Yetiştirilmesi

Çalışmada, Fasulye Tohum Böceği (*Acanthoscelides obtectus* Say)’nin ergin dönemleri kullanılmıştır. Fasulye tohum böceği stok kültürü, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünden temin edilmiştir. Böceğin kültüre alınması: % 65±5 nemde ve 26±1 °C sıcaklıkta iklim odasında karanlık ortamda, 1 l’lik cam kavanozlara 300 gr kuru fasulye konularak yapılmıştır. *Acanthoscelides obtectus* üretimi için 30-40 adet karışık cinsiyetli ergin birey 1 l’lik cam kavanozlarda bulunan fasulye içerisine bırakılmıştır. On dört gün boyunca ergin bireyler 1 l’lik kavanozlar içerisinde tutulmuştur. Bu süre zarfı içerisinde ergin bireyler dane üzerine yumurta bırakmış ve yumurtadan çıkan larvaların dane içerisine girmesi sağlanmıştır. Daha sonra erginler 2 mm Retsch marka metal elek kullanılarak kavanozdan çıkartılmıştır. Larvaların gelişmesi ve ergin çıkışları günlük olarak kontrol edilmiştir. Kültür kavanozlarından yeni nesil ergin çıkışı olduğunda 2 mm elek yardımıyla fasulyeden ergin bireyler alınarak yeni hazırlanan kültür kavanozlarına 30-40 adet karışık cinsiyetli ergin birey bırakılmıştır. Bu işleme proje süresince devam edilmiştir.

3.2.2. Biyolojik Testlerde Kullanılan Yüzey

Çalışmada kullanılan yüzey 48*33*8 cm'lik plastik küvetler ve her bir doz için 1 kg fasulye kullanılmıştır. Yüzey ilaçlamasında her doz için 1 kg fasulye plastik küvet üzerine homojen ve açık bir kısım kalmayacak şekilde yayılmıştır.



Şekil 3. Plastik küvet içerisinde ilaçlamaya hazırlanan fasulyeler

3.2.3. Biyolojik Testler

3.2.3.1. Laboratuvar Koşullarında İlaçların Ürün Yüzeyine Sprey Uygulaması

Biyolojik testler 0.5 l'lik cam kavanozlarda 26 ± 1 °C sıcaklıkta % 65 ± 5 nisbi nemde ve tamamen karanlık iklim odasında yürütülmüştür.

Biyolojik testlerde 1-2 günlük fasulye tohum böceği erginleri, toz hale getirilmiş spinetoramın ticari preparatı Delegate 250 WG ve yeni dönem hasat edilmiş % 7-9 nem içeren fasulye kullanılmıştır. Yapılan çalışmada ticari preparat üzerinden 1 ppm için (1 ml saf su / 1 mg aktif madde / 1 kg ürün), 0.5 ppm için (1 ml saf su/0.5mg aktif madde/1kg ürün), 0.25 ppm için (1 ml saf su / 0.25 mg aktif madde / 1 kg ürün), 0.1 ppm için (1 ml saf su /0.1 mg aktif madde / 1 kg ürün) hesaplanmıştır. Denemeler 5 tekerrürlü yapıldı ve her bir deneme için 5 kontrol bırakılmıştır. Denemede kullanacağımız 0.5 l'lik kavanozlara hassas terazi (0.10 g) ile 200 g fasulye tartıldı. Her bir uygulama için daha önceden ticari preparat üzerinden hesaplanan 40, 20, 10, 4 mg/kg konsantrasyonlarına denk gelen ilaç miktarı hassas terazi (0.00010 g) ile tartılarak cam beher içerisindeki 10 ml saf su'ya eklenip 10 dakika manyetik karıştırıcıyla karıştırılmıştır.

Denemelerde şahit ilaç olarak kullanılan Deltametrin'in Buğday biti, Ekin Kambur Biti, Testereli Böcek, Kıırma ve Un Bitlerine karşı ürün üzerine direk spreylemede tavsiye edilen dozları dikkate alınmıştır. 6 ay kalıcı etki için 10 ml ilaç + 1 L su ilaç karışımının 1 ton ürüne tavsiye

dozu önerilmektedir. 250 ppm aktif madde/1 l tavsiye dozu ile bu dozun yarısı olan 125 ppm aktif madde/ 1 l dozu ele alınmıştır.

Plastik küvet üzerindeki 1 kg fasulye üzerine basıncı ayarlanabilir ilaçlama pompası ile püskürtülmüştür. Plastik küvet el yardımıyla 5 dakika ileri geri ve sağa sola çalkalanıp üzeri tül ile örtülerek 24 saat kurumaya bırakılmıştır. Yüzeyle kuruduktan sonra 1 kg'lık ürün terazide 200 gr gelecek şekilde tartılıp 5 ayrı tekerrür şeklinde 450cc'lik cam kavanozlara konulmuştur. Her bir tekerrür için daneden yeni çıkmış karışık cinsiyetli 1-2 günlük ergin bireylerden 25 adet sayılarak cam kavanozlara bırakılmıştır. Böcekler konulduktan sonra kavanozların ağzı tül ile kapatılarak deneme % 65±5 nisbi nemde 26±1 °C sıcaklıkta ve tamamen karanlık iklim odasında tutulmuştur.

Denemeler 1. gün, 3. gün, 5. gün, 7. gün 2 mm'lik elek ile ölü-felç-canlı sayımları yapıldı ve kayıt altına alındı. Felç; kontroldeki böceklere kıyasla anten ve ayaklarını titreterek, yürüme yeteneğini yitirmiş, anormal hareket eden böcekler felç olarak tanımlandı. Her sayımda ölen böcek kavanozdan çıkarıldı, canlı ve felç böcekler tekrar kavanoza konuldu. 7. gün sonunda bütün uygulamalardan ve kontrolden ergin bireyler 2 mm'lik elek yardımı ile çıkarıldı. Spinetoramın fasulye tohum böceği F1 döl sayısına karşı etkisine bakmak için uygulama kavanozları ve kontroller iklim odasına bırakıldı. 35-40 gün sonra yeni nesil ergin çıkışları gözlenmiş ve çıkan ergin sayıları kayıt edilmiştir.

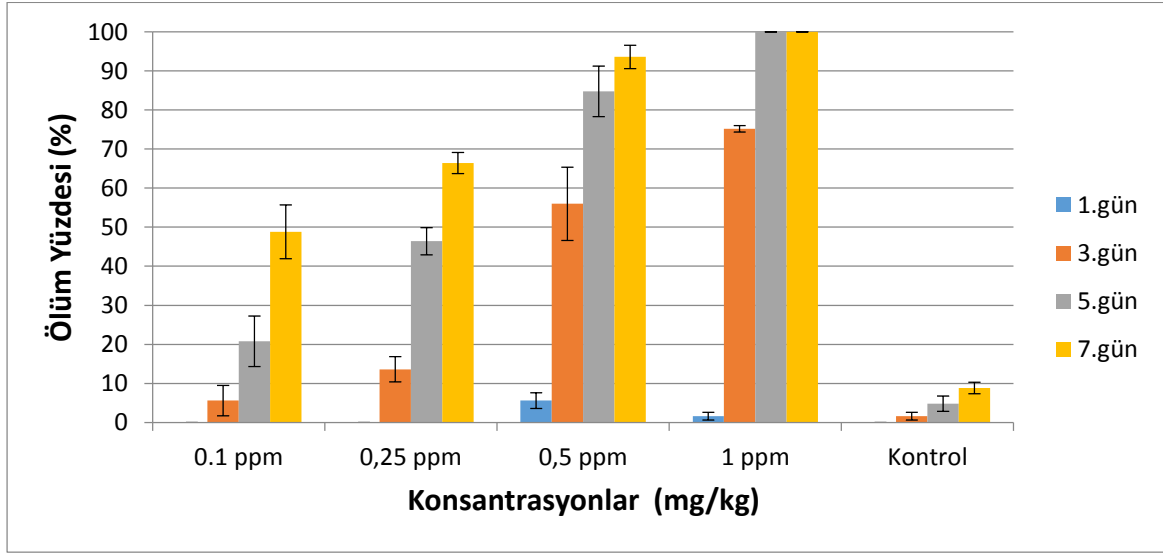
3.2.4. Verilerin Değerlendirilmesi ve Analizi

Öncelikle yüzey uygulamaları için uygulama yapılan ilaç konsantrasyonu, uygulama süreleri, uygulamaya alınan birey sayılarını, uygulama sonrası ölü, felç ve felç+ölü olan birey sayılarını içeren Excel tabloları ve toz uygulamada F1 dölü sayılarını içeren Excel tablolar oluşturulmuştur. Toz uygulamada her konsantrasyon için ölüm, felç ve felç+ölüm oranları (%) hesaplanmıştır. F1 dölü için her konsantrasyon için çıkış oranı (%) hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Spinetoram İle Yürütülen Biyolojik Testlerin Bulguları

4.1.1. Spinetoram'ın *Acanthoscelides obtectus* (Say.) Erginlerine Karşı Ölüm Oranları

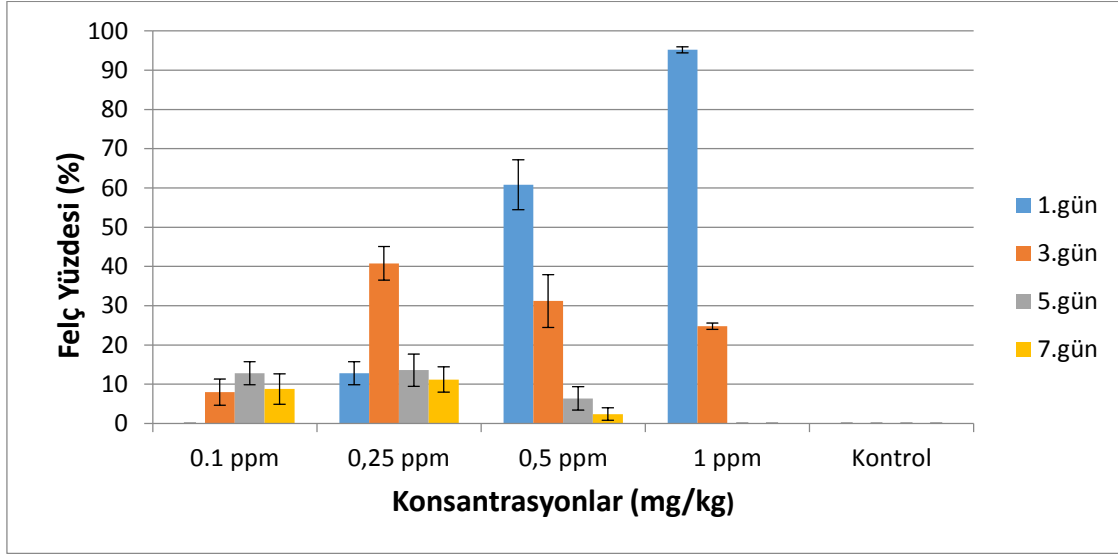


Şekil 4. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak toz haldeki spinetoramın farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus* erginlerin ölüm oranı (%)

Fasulye üzerinde Spinetoram'a farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus*(Say.) erginlerinin ölüm oranları Şekil 4'de gösterilmektedir. Buna göre yukarıdaki grafiğe bakıldığında ölüm yüzdesi ortalaması verilmiştir. Spinetoram'ın uygulanan bütün konsantrasyonlarında (0.1, 0.25, 0.5, 1 ppm) %100 ölüm oranı sadece 1 ppm uygulamasında 5. ve 7. günde görülmüştür. Spinetoram 0.5 ppm konsantrasyonunda maruz bırakılma süresince sadece 7. günde % 90 üzeri ölüm oranı elde edilmiştir. Spinetoram 0.1 ppm ve 0.25 ppm uygulamalarında 7. gün maruz bırakılma süresinde %40 ve %60 üzeri ölüm oranı görülürken diğer maruz bırakılma sürelerinde (1. , 3. , 5. gün) düşük ölüm oranı görülmüştür.

Solusyon haldeki Spinetoram'ın farklı konsantrasyonlarının fasulye üzerine püskürtülmesi sonucu *Acanthoscelides obtectus* (Say.) erginlerinde %100 ölüm oranı yalnız 1 ppm konsantrasyonunda 5. ve 7.gün maruz bırakılma süresinde elde edilmiştir.

4.1.2. Spinetoram'ın *Acanthoscelides obtectus* (Say.) Erginlerine Karşı Felç Oranları

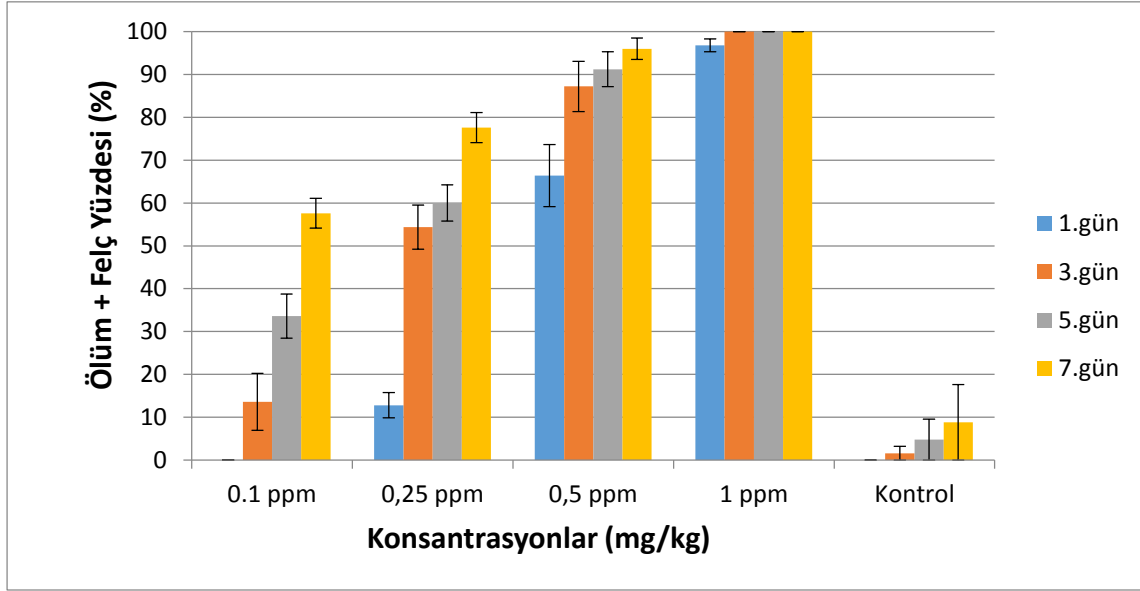


Şekil 5. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki spinetoramın farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus* erginlerin felç oranı (%)

Fasulye üzerinde Spinetoram'ın farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus*(Say.) erginlerinin felç oranları Şekil 5'de gösterilmektedir. Buna göre yukarıdaki grafiğe bakıldığında felç yüzdesi ortalaması verilmiştir. Spinetoram'ın uygulanan bütün konsantrasyonlarda (0.1, 0.25, 0.5, 1 ppm) %100 felç oranı görülmemiştir. Spinetoram 1 ppm konsantrasyonunda 1.gün %90 'nın üzerinde felç oranı görülmüştür. Spinetoram 1 ppm konsantrasyonunun 3, 5 ve 7.günlerde felç oranının giderek azaldığı grafikte görülmektedir. Spinetoram 0.5 ppm konsantrasyonuna bakıldığında ise 1.günde felç oranı % 60' a yakın gözlemlenmiştir. Spinetoram 0.5 ppm konsantrasyonunun 3,5 ve 7.günlerde ise maruz bırakılma süresince felç oranının düştüğü görülmektedir. Spinetoram 0.25 ppm konsantrasyon uygulamasında 1 ve 3.gün %10 ve %40' a yakın felç oranı belirlenmiştir. Spinetoram 0.25 ppm konsantrasyonunun maruz bırakılma süresince 5 ve 7.günlerde ise felç oranı azalmıştır. Spinetoram 0.1 ppm konsantrasyonunda 1.gün sonunda felç oranı gözlenmemiştir. Spinetoram 0.1 ppm konsantrasyonunun 3 ve 5 günlerde maruz bırakılma süresince felç oranı %10 ve %15 'e yakın felç oranı belirlenmiştir. Spinetoram 0.1 ppm konsantrasyonunun 7.günde ise felç oranı Şekil.6'de görüldüğü gibi giderek azalmıştır.

Solusyon haldeki Spinetoram'ın farklı konsantrasyonlarının fasulye üzerine püskürtülmesi sonucu *Acanthoscelides obtectus* (Say.) erginlerinde % 100 felç oranı görülmektedir. Spinetoram'ın uygulanan bütün konsantrasyonlarında (0.1, 0.25, 0.5, 1 ppm) 1 ppm ve 0.5 ppm konsantrasyonlarında sadece 1.gün maruz bırakılma süresinde yüksek felç oranı elde edilmiştir.

4.1.3. Spinetoram'ın *Acanthoscelides obtectus* (Say.) Erginlerine Felç+Ölüm Oranları

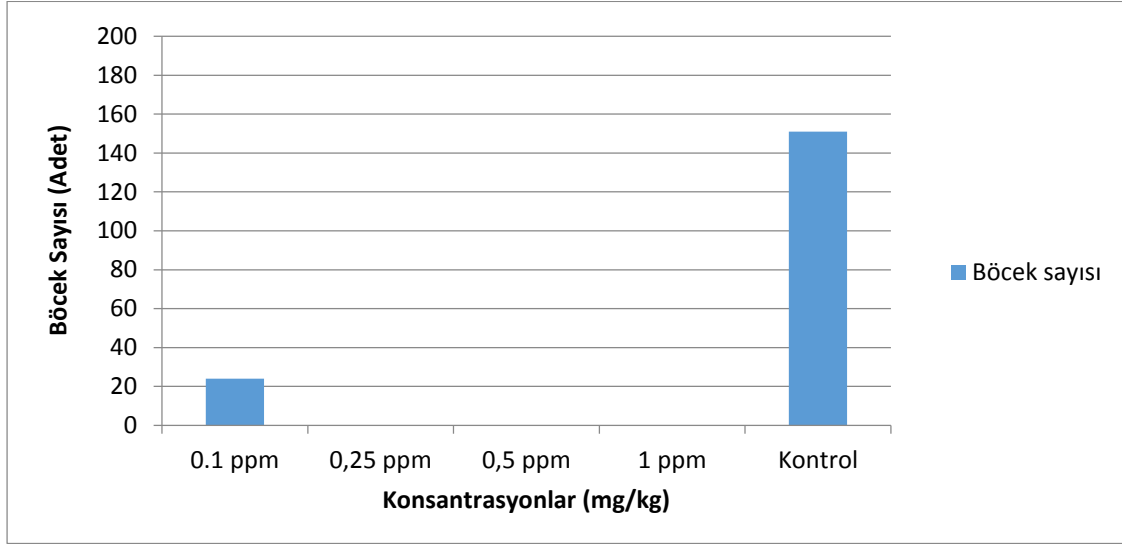


Şekil 6. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki spinetoramın farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus* erginlerin ölüm+ felç oranı (%)

Fasulye üzerinde Spinetorama farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus*(Say.) erginlerinin ölüm+felç oranları Şekil 6'de gösterilmektedir. Buna göre yukarıdaki grafiğe bakıldığında ölüm+felç yüzdesi ortalaması verilmiştir. Spinetoram'ın uygulanan bütün konsantrasyonlarında (0.1, 0.25, 0.5, 1 ppm) %100 ölüm+felç oranı sadece 1 ppm uygulamasında 3 5 ve 7. günde görülmüştür. Spinetoram 0.5 ppm konsantrasyonunda maruz bırakılma süresince sadece 5. ve 7. günde % 90 üzeri ölüm+felç oranı elde edilmiştir. Spinetoram 0.1 ppm ve 0.25 ppm uygulamalarında 7. gün maruz bırakılma süresinde %50 ve %70 üzeri ölüm+felç oranı görülürken diğer maruz bırakılma sürelerinde (1., 3., 5. gün) düşük ölüm+felç oranı görülmüştür.

Solusyon haldeki Spinetoram'ın farklı konsantrasyonlarının fasulye üzerine püskürtülmesi sonucu *Acanthoscelides obtectus* (Say.) erginlerinde %100 ölüm+felç oranı yalnız 1 ppm konsantrasyonunda 3. , 5. ve 7.gün maruz bırakılma süresinde elde edilmiştir.

4.1.4. Spinetoram'ın *Acanthoscelides obtectus* (Say.)'un F₁ Dölüne Etkisi

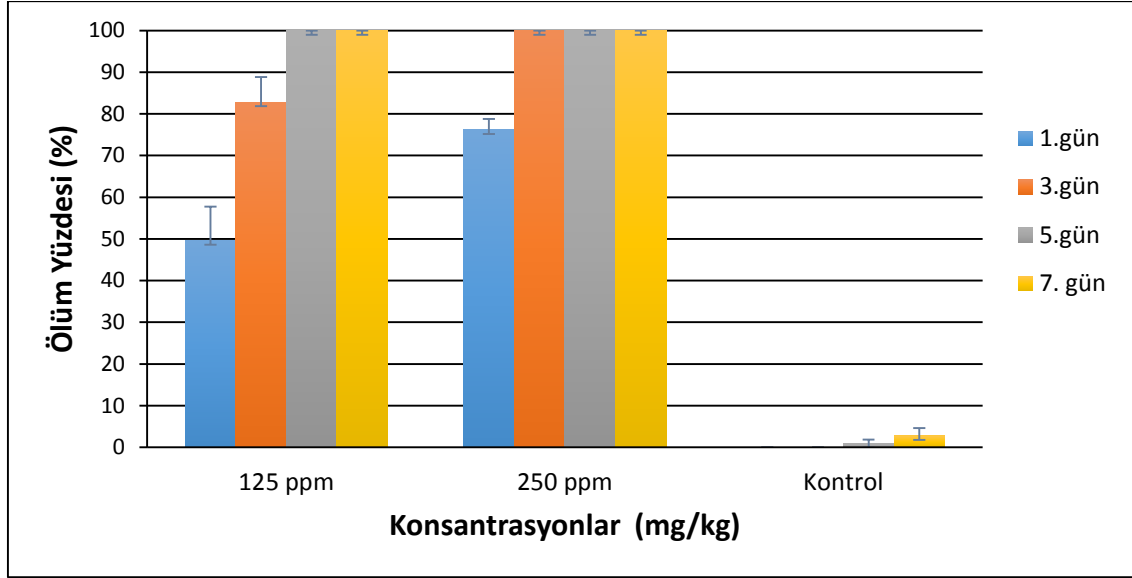


Şekil 7. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki spinetoramın farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus* erginlerin F₁ döl sayısı (Adet).

Fasulye üzerinde 7 gün boyunca sıvı Spinetoram'ın farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. obtectus* erginlerin 35-40 gün sonraki F₁ dölü (yeni nesil) ergin sayıları Şekil 8'de verilmektedir. Fasulye üzerinde 7 gün boyunca sıvı spinetoramın farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A.obtectus* erginlerinin F₁ dölü ergin sayıları arasında farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Fasulye üzerinde püskürtme yapılan Spinetoram'ın 0.1 ppm uygulamasında F₁ dölü ergin sayısı 24 birey olurken, uygulama yapılan Spinetoram'ın 0.25, 0.5 ve 1 ppm konsantrasyon uygulamalarında F₁ dölü ergin sayısı sıfır olarak belirlenmiştir. Kontrolde ise 151 adet ergin sayısı çıkışı görülmüştür (Şekil 7).

4.2. Deltamethrin İle Yürütülen Biyolojik Testlerin Bulguları

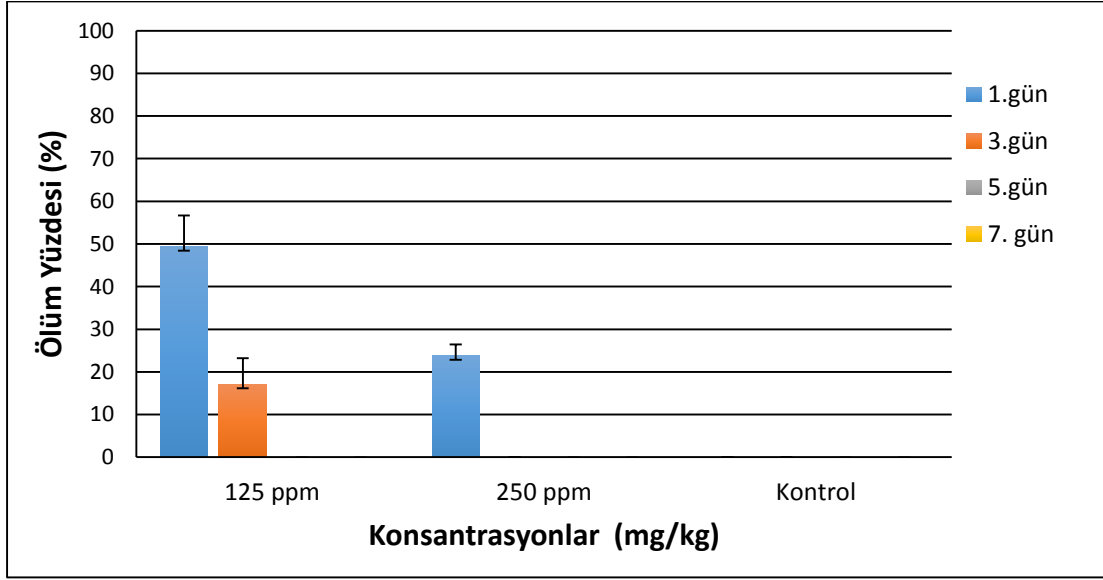
4.2.1. Deltamethrin'in *Acanthoscelides obtectus* (Say.) Erginlerine Karşı Ölüm Oranları



Şekil 8. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki deltamethrinin farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus* erginlerin ölüm oranı (%)

Fasulye üzerinde Deltamethrin farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus* (Say.) erginlerinin ölüm oranları Şekil 8' de gösterilmektedir.. Delthametrin'in uygulanan bütün konsantrasyonlarında (125 ve 250 ppm) %100 ölüm oranı sadece 1 ppm uygulamasında 5. ve 7. günde görülmüştür. 250 ppm'de 5. günde de % 100 ölüm oranı tespit edilmiştir.

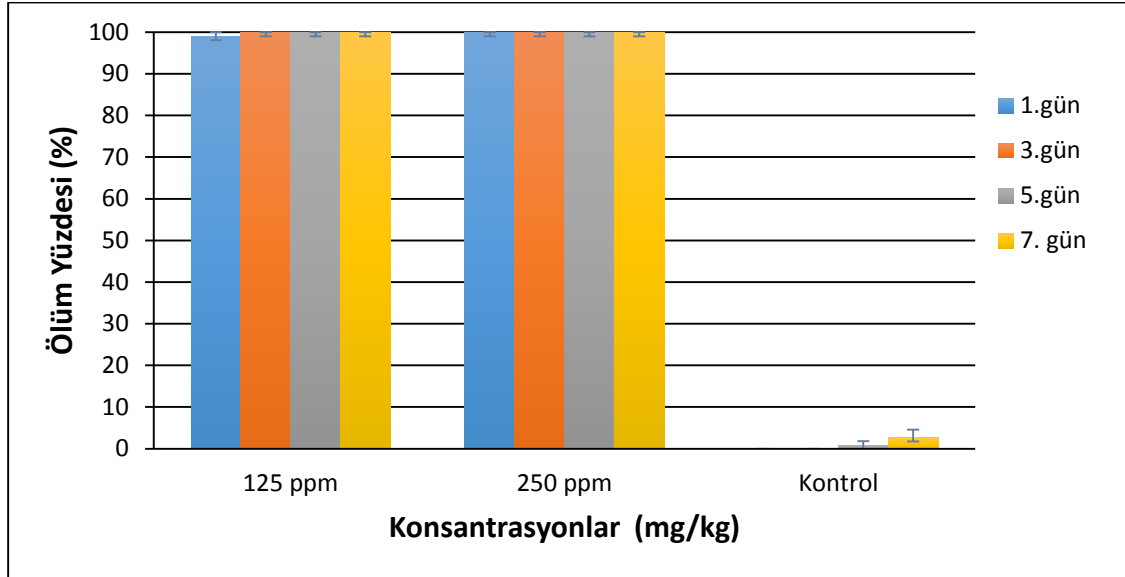
4.2.2. Deltamethrin'in *Acanthoscelides obtectus* (Say.) Erginlerine Karşı Felç Oranları



Şekil 9. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki deltamethrinin farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus* erginlerin felç oranı (%)

Fasulye üzerinde Delthametrin'in farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus*(Say.) erginlerinin felç oranları Şekil 9'da gösterilmektedir. Buna göre yukarıdaki grafiğe bakıldığında felç yüzdesi ortalaması verilmiştir. Spinetoram' ın uygulanan bütün konsantrasyonlarında (125 ve 250 ppm) % 100 felç oranı görülmemiştir. Deltamethrin'in 125 ppm konsantrasyonunda 1. gün % 50' ye yakın oranda felç oranı görülmüştür. Diğer konsantrasyonlarda felç oranının giderek azaldığı grafikte görülmektedir. Spinetoram 250 ppm konsantrasyonuna bakıldığında ise 1.günde felç oranı % 30' a yakın gözlemlenmiştir. Delthametrin'in her iki dozunda da 5 ve 7.günlerde ise felç görülmemiştir. Bunun nedenide bu günlerde ölüm oranı % 100 olarak saptanmıştır.

4.2.3. Deltamethrin'in *Acanthoscelides obtectus* (Say.) Erginlerine Felç+Ölüm Oranları

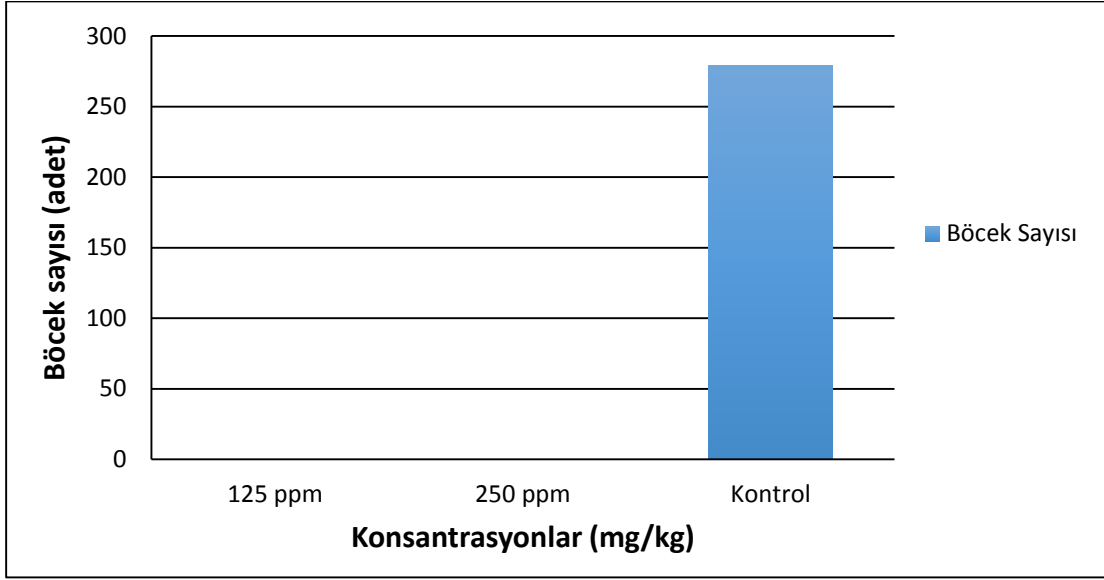


Şekil 10. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki deltamethrinin farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle ürün yüzeyine maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus* erginlerin ölüm+ felç oranı (%)

Fasulye üzerinde Spinetorama farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle maruz bırakılan *Acanthoscelides obtectus*(Say.) erginlerinin ölüm+felç oranları Şekil 10'da gösterilmektedir. Buna göre yukarıdaki grafiğe bakıldığında ölüm+felç yüzdesi ortalaması verilmiştir. Spinetoram'ın uygulanan bütün konsantrasyonlarında (125 ve 250 ppm) %100 ölüm+felç oranı 125 ppm 1. Gün dışında % 100 veya % 100'e yakın oranda olduğu belirlenmiştir. Kontroldeki oranlar ise oldukça düşük olduğu görülmektedir.

Solusyon haldeki Spinetoram'ın farklı konsantrasyonlarının fasulye üzerine püskürtülmesi sonucu *Acanthoscelides obtectus* (Say.) erginlerinde %100 ölüm+felç oranı yalnız 125 ppm dışındaki tüm konsantrasyonlarda oldukça çok yüksek olduğu tespit edilmiştir.

4.2.4. Deltamethrin'in *Acanthoscelides obtectus* (Say.)'un F₁ Dölüne Etkisi



Şekil 11. Fasulye üzerinde koruyucu insektisit olarak sıvı haldeki Delthametrin'in farklı konsantrasyonlarına 7 gün süreyle bırakılan *Acanthocelides obtectus* erginlerin F₁ döl sayısı (Adet).

Fasulye üzerinde 7 gün boyunca sıvı Delthametrin'in farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. obtectus* erginlerin 35-40 gün sonraki F₁ dölü (yeni nesil) ergin sayıları Şekil 11'de verilmektedir. Fasulye üzerinde 7 gün boyunca sıvı Delthametrin'in farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A.obtectus* erginlerinin F₁ dölü ergin sayıları arasında farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Fasulye üzerinde püskürtme yapılan Delthametrin'in 125 ve 250 ppm konsantrasyon uygulamalarında F₁ dölü ergin sayısı sıfır olarak belirlenmiştir. Kontrolde ise 279 adet ergin sayısı çıkışı görülmüştür (Şekil 11).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Depolanan baklagillerde zararlı olan *Acanthoscelides obtectus* (Fasulye tohum böceği)' a karşı spinetoramın depolanmış baklagillerde koruyucu etkisi ve *Acanthoscelides obtectus* erginlerinin ürün yüzeyine karşı kontak etkisi test edilmemiştir. Bu çalışma sonrasında spinetoramın *Acanthoscelides obtectus* (Fasulye tohum böceği)' a karşı yüksek etkili olduğu belirlenmiştir.

Fasulye üzerinde solüsyon haldeki Spinetoram'ın farklı konsantrasyonları ve maruz bırakılma süreleri *A. obtectus* erginlerinin ölüm oranları ve felç+ölüm oranları üzerinde önemli etkiye sahip olmuştur. *A. obtectus* erginlerine karşı Spinetoram'ın etkisi 26 °C ve %65 nemde %100 ölüm oranı 1 ppm konsantrasyonunda 5. gün görülürken 0.5 ppm konsantrasyonunda 7. günde % 90 üzeri ölüm oranı görülmüştür. Spinetoram'ın fasulye tohum böceği erginlerine karşı felç+ölüm oranına etkisi %100 felç+ölüm oranı 1 ppm konsantrasyonunda maruz bırakılan 3. gün elde edilirken 0.5 ppm konsantrasyonunda maruz bırakılan 5. gün %90 üzeri felç+ölüm oranı elde edilmiştir. Uygulama yapıldıktan 35-40 gün sonra Spinetoram'ın *A. obtectus*' un F₁ dölü ergin sayısına karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Spinetoram'ın 0.25, 0.5 ve 1 ppm konsantrasyonlarda F₁ dölünde ergin çıkışı görülmezken kontrolde ortalama 151 adet ergin çıkışı olduğu görülmüştür. Spinetoram'ın 0.1 ppm konsantrasyonunda 24 adet F₁ dölü ergin sayısı belirlenmiştir.

Spinetoram'ın solüsyon halde ürün üzerine uygulamasının bazı depolanmış tahıl zararlılarına karşı etkinliği Vassilakos ve ark. (2012), Vassilakos ve Athanassiou (2012a:2012b) tarafından ortaya konulmuştur. Çalışma sonucunda Spinetoram'ın etkinliğinin uygulanan konsantrasyona, maruz kalma süresine ve test edilen böcek türüne bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Nitekim solüsyon halde Spinetoram uygulanmış buğdaya maruz bırakılan *R. dominica*, *P. truncatus*, *S. granarius*, *S. oryzae* ve *O. surinamensis*' in erginlerin 7 gün sonra %100 ve %100' e yakın ölüm oranları sırasıyla Spinetoram'ın 0.01, 0.1, 0.5, 2 ve 5 ppm (mg aktif madde/kg ürün) konsantrasyonunda gerçekleşirken Spinetoram'ın en yüksek konsantrasyonunda (10 ppm) dahi *T. confusum* erginlerin ölüm oranının %70' i geçemediği bulunmuştur (Vassilakos ve ark., 2012). Aynı çalışmada Spinetoram' a en dayanıklı türlerin *O. surinamensis* ve *T. confusum* olduğunu bildirilmiştir (Vassilakos ve ark., 2012). Mevcut çalışmada elde edilen sonuçlar Vassiliakos ve ark.'nın çeşitli yıllarda yaptığı çalışmalarla paralellikler göstermektedir.

Şahit ilaç olarak ele alınan Deltamethrin ile ilgili yürütülen biyolojik testlerden elde edilen sonuçlara göre: tahıllarda tavsiye dozu olan 250 ppm Fasulye tohum böceğine de yüksek toksisite gösterdiği belirlenmiştir. Aynı zamanda tavsiye edilen dozun yarı dozu olarak ele alınan 125 ppm dozda da 1. günde yüksek ölüm ve yüksek felç belirlenmiş ve 3. günde de tüm böcekleri öldürmesi ile daha düşük oranda ilaç kullanılarak da fasulye tohum böceğinin kontrol edilebileceği saptanmıştır.

Son yıllarda depolanmış ürün zararlılarına karşı yaygın olarak kullanılan aliminyum-fosfine ve sentetik insektisitlere (Chlorpyrifos-metil, Pirimiphos-metil, Malathion, Deltamethrin+piperonyl butoxide) alternatif çevre ve insana toksisitesi düşük yeni insektisitlerin geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir. Bu çalışmada hem çevreye, hem memeli hayvanlara ve kuşlara toksisitesi daha düşük olan yarı-sentetik spinosin insektisidi Spinetoram'ın depolanmış baklagillerin önemli zararlısı olan *A. obtectus*'un mücadelesinde kullanılabilme potansiyeli araştırılmıştır. Spinetoramın depolanmış baklagillerde zararlı olan *A. obtectus*'a karşı koruyucu etkisinin 1 ppm konsantrasyonunda yüksek olduğu belirlenmiştir. Laboratuvar koşullarında yürütülen bu çalışma Spinetoram'ın solüsyon halinin ürün yüzeyine püskürtme uygulaması *A. obtectus*'a karşı koruyucu insektisit olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

6. KAYNAKLAR

- Alkan, B., 1966. Türkiye' nin Zararlı Tohum Böcekleri Coleoptera: Bruchidae Faunası Üzerinde Çalışmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 277, 56s.
- Atak, E.D., 1975. Fasulye Tohum Böceği (*Acanthoscelides obtectus* (Say.))' nin Biyoekolojisi ve Mücadelesi Üzerinde Araştırmalar. T.C. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Araştırma Eserleri Serisi, Teknik Bülten. 7: 64s.
- Besard, L., Mommaerts, V., Abdu-Alla, G., Smagghe, G., 2011. Lethal and sublethal side-effect assessment supports a more benign profile of Spinetoram compared with Spinosad in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Pest Management Science*. 67: 541-547.
- Collins, P. J., G. J. Darglish, M. K. Nayak, P. R. Ebert, D. Schlipalius, W. Chen, H. Pavic, T. M. Lambkin, R. Kopittke & B. W. Bridgeman, 2001. "Combating resistance to phosphine in Australia, pp. 593-607". In: Int. Conf. Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, 29 October-3 November 2000, Fresno, CA (Ed: E.J. Donahaye, S. Navarro & J. G. Leesch). Executive Printing Services, Clovis, CA, 841pp.
- Copping, L.G., Menn, J.J., 2001. Biopesticides: A review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science*. 56: 651-676.
- DeAmicis, C., Edwards, N. S., Giles, M.B., Harris, G.H., Hewitson, P., Janaway, L., 2011. Comparison of preparative reversed phase liquid chromatography and counter current chromatography for the kilogram scale purification of crude Spinetoram insecticide. *Journal of Chromatography A*. 1218: 6122-6127.
- DeAmicis, J.E., Dripps, C.V., Hatton, C.J., Karr, L.L., 1997. Physical and Biological Properties of the Spinosyns: Novel Macrolide Pest-Control Agents From Fermentation (Editörler: Hedin, P.A., Hollingworth, R.M., Masler, E.P., Miyamoto, J., Thompson, D.G.). *Phytochemicals for Pest Control*, American Chemical Society, Washington; DC, 658. pp. 144-154
- Dow AgroSciences, 2014. Spinetoram Technical Bulletin, 1-6, (Erişim tarihi: 22.02.2016) http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDOWCOM/dh_091b/0901b8038091bc16.pdf?filepath=productsafety/pdfs/noreg/233-00382.pdf&fromPage=GetDoc
- Dow Agrosciences, 2016. Delegate 250 WG. Copyright© The Dow Chemical Company (1995-2016) (Erişim tarihi: 22.02.2016). <http://www.dowagro.com/tr-tr/turkiye/products/%C4%B0nsektisitler/delegate-250-wg>

- Dörtbudak, N., 1975. Mardin İli Mercimeklerine Arız Olan *Bruchus ervi* Fröhl.' nin Biyoekolojisi ve Mücadele Metotları Üzerinde Araştırmalar. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Araştırma Eserleri Serisi. 39: 46s.
- Dripps, J.E., Olson, B., Sparks, T., Crouse, G., 2008. Spinetoram: How artificial intelligence combined natural fermentation with synthetic chemistry to produce a new spinosyn insecticide (Dow AgroSciences) .http://www.plantmanagement_network.org/pub/php/perspective/2008/spinetoram/.
- Dripps, J.E., Boucher, R.E., Chloridis, A., Cleveland, C.B., DeAmicis, C.V., Gomez, L.E., Paroonagian, D.L., Pavan, L.A., Sparks, T.C., Watson, G.B., 2011. The Spinosyn Insecticides: Green Trends in Insect Control (Editörler: Lopez, O., Fernandez-Bolanos, J.). Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp. 163-212.
- Elmalı, M., S. Toros, 1990. Değişik fasulye çeşitlerinin denge nem oranları ve bunun Fasulye Tohum Böceği (*Acanthoscelides obtectus* Say, (Col., Bruchidae))' nin gelişme ve çoğalmasına etkisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1195, Bilimsel Araştırma ve İncelemeler: 655 Ankara, 37s.
- Emery, R. N., M. K. Nayak & J.C. Holloway, 2011. Lessons learned from phosphine resistance monitoring in Australia. Stewart Postharvest Review, 7: 1- 8.
- Esin, T., 1971. Hububat ve Ambar Zararlıları Mücadele Talimatı. T.C. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Mesleki Kitaplar Serisi, Ankara, 145s.
- Fang, L., B. Subramanyam & F.H. Arthur, 2002. Effectiveness of spinosad on four classes of wheat against five stored product insects. Journal of Economic Entomology, 95: 640-650.
- FAO, 2010. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org>
- Gamal, A., El-kady, El Sharabasy, H.M., Mahmoud M.F., Bahgat, I.M., 2007. Toxicity of two potential bio-insecticides against moveable stages of *Tetranychus urticae* Koch. *Journal of Applied Sciences Research*. 3: 1315-1319.
- Keyder, S., Bağcıoğlu, E., Mene, G., 1973. Marmara Bölgesi' nde börülce tohum ambar böceği (*Callosobruchus maculatus* F., (Col: Bruchidae))' nin yayılışı, biyolojisi ve mücadelesi. *Zirai Mücadele Araştırma Yıllığı*. 7: 58-59.
- Kirst, H.A., Michel, K.H., Mynderse, J.S., Chio, E.H., Yao, R.C., Nakatsukasa, W.M., Boech, L.D., Occlowitz, J.L., Paschal, J.W., Deeter, J.B., Thompson, G.D., 1992. Discovery, isolation, and structure elucidation of a family of structurally unique fermentation-derived

tetracyclic macrolides: Synthesis and Chemistry of Agrochemicals III (Editörler: Baker, D.R., Fenyés, J.G., Steffans, J.J.). Washington: American Chemical Society. pp. 214-225.

- Mahmoud, M.F., Osman, M.A.M., 2007. Relative toxicity of some bio-rational insecticides to second instar larvae and adults of onion thrips (*Thrips tabaci* Lind.) and their predator *Orius albidipennis* under laboratory and field conditions. *Journal of Plant Protection Research*. 47: 391-400.
- Metz EP, Yao RC., 1990. *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. Isolated from soil collected in sugar rum still. *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, 40: 34-39.
- Mills, K.A., 1983. Resistance to the fumigant hydrogen phosphide in some stored product insect species associated with repeated inadequate treatments. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie*, 4: 98-101.
- Nayak, M., J. Holloway, H. Pavic, M. Head, R. Reid & C. Patrick, 2010. "Developing strategies to manage highly phosphine resistant populations of at grain beetles in large bulk storages in Australia, pp. 396-401". In: *Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored Product Protection, 27 June-2 July 2010* (Ed: Estoril, Portugal M. O., Carvalho, P. G., Fields, C. S., Adler, F. H., Arthur, C. G., Athanassiou, J. F., Campbell, F., Fleurat-Lessard, P. W., Flinn, R. J., Hodges & A. A., Isikber). *Julius-Kuhn-Archiv*, Berlin, Germany, 1053 pp.
- Ofuya ZM, Akhidue V. 2005. The role of pulses in human nutrition: A review. *Journal of Apply Science and Environmental Management* 9:99-104.
- Opit, G.P., T.W. Phillips, M.J. Aikens & M. Hassan, 2012. Phosphine resistance in *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica* from stored wheat in Oklahoma. *Journal of Economic Entomology*, 105(4): 1107-1114.
- Rajendran, S., 1999. "Phosphine resistance in stored grain insect pests in India, pp. 635-641". In *Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-Product Protection, 14-19 October 1998*, (Ed: Z. Jin, Q. Liang, Y. Liang, X.T. & L. Guan), Beijing, China. Sichuan Publishing House of Science and Technology, Chengdu, China, pp 1998.
- Saglam, O., P.A., Edde & T.W., Phillips, 2015. Resistance of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) to fumigation with Phosphine. *Journal of Economic Entomology*, 108 (5): 2489-2495.
- Sayaboc, P.D., A.J.G. Gibe & F.M. Caliboso, 1998. Resistance of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) to phosphine in the Philippines. *Philippines Entomologist*, 12:91-95.

- Seçkin, H., 1981. İstanbul, Bursa İlleri çevresinde bezelye, mercimek ve burçak' ta zarar yapan önemli bruchidae (baklagil tohum böcekleri) türleri, tanınmaları, zararları ve ekonomik önemleri üzerinde araştırmalar. *Tarım ve Orman Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Araştırma Eserleri Serisi*. No:15. 123s.
- Subramanyam, Bh., Nelson, J.J., Meronuck, R.A., Flora, E.A., 1999. Evaluation of spinosad on stored-product insects: Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-Product Protection (Editörler: Jin, Z.X., Liang, Q., Liang, Y.S., Tan, X.C., Guan, L.H.). Beijing, China, October 14-19, 1998, Chengdu, China. Sichuan Publishing House of Science and Technology, Chengdu, PR China, pp. 940-949.
- Subramanyam, BH., 2006. Performance of spinosad as a stored-grain protectant. Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product Protection, Campinas, São Paulo, Brazil.
- Şehirali, S., 1988. Yemelik dane baklagiller. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1089, Ankara, 435s.
- Taylor, R.W.D., 1989. Phosphine a major fumigant at risk. *International Pest Control*, 31:10-14.
- Taylor, R.W.D. & D. Halliday, 1986. "The geographical spread of resistance to phosphine by coleopterous pests of stored products, pp. 607-613". In: Proceedings of the British Crop Protection Conference, Pests and Diseases, 17-20 November 1986, Brighton, United Kingdom, 752 pp.
- Thompson GD, Michel KH, Yao RC, Mynderse JS, Mosburg CT, Worden TV, Chio EH, Sparks TC, Hutchins SH., 1997. The discovery of *Saccharopolyspora spinosa* and a new class of insect control products. *Down to Earth*, 52(1), 1-5.
- TUİK, 2010. Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr/>
- Turanlı, D., 2007. Denizli ve Uşak İllerinde Depolanmış Baklagillerde Bulunan Bruchidae Familyası Türleri ve Zararları Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 117 s.
- Vassilakos, T.N., Athanassiou, C.G., Sağlam, O., Chloridis, A.S., Dripps, J.E., 2012. Insecticidal effect of Spinetoram against six major stored grain insect species. *Journal of Stored Products Research*. 51: 69-73.
- Vassilakos, T.N., Athanassiou, C.G., 2012a. Effect of short exposures to Spinetoram against three stored-product beetle species. *Journal of Economic Entomology*. 105: 1088-1094.

- Vassilakos, T.N., Athanassiou, C.G., 2012b. Effect of uneven distribution of Spinetoram-treated wheat and rice on mortality and progeny production of *Rhyzopertha dominica* (F.), *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. *Journal of Stored Products Research*. 50: 73-80
- Williams, T., Valle, J., Viñuela, E., 2003. Is the naturally derived insecticide Spinosad® compatible with insect natural enemies. *Biocontrol Science and Technology*. 13: 459-475.
- Yabaş, C., Zeren, O., Ulubilir, A., 1992. Gaziantep İlinde Ortadoğu Mercimek Tohum böceği (*Bruchus ervi* F.) (Col.: Bruchidae)' nin mücadelesine esas olabilecek biyolojik ve ekolojik faktörlerin araştırılması. Türkiye II. Entomoloji Kongresi Bildirileri. Entomoloji Derneği Yayınları No: 5. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Adana, pp. 525-553.
- Zeren, O., Yabaş, C. 1989. İhracata yönelik ürün elde etmek amacı ile Akdeniz Bölgesi yemeklik baklagillerinde (nohut, fasulye, mercimek) zararlı, fungal hastalık, virüs, nematod ve yabancı otlar üzerinde araştırmalar. Proje No: KKGA-U1/02-E-030 Nihai Rapor. Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü, Adana.
- Zettler, J.L., Halliday, W.R., Arthur, F.H., 1989. Phosphine resistance in insects infesting stored peanuts in the Southeastern United States. *Journal of Economic Entomology*. 82: 1508-1511.

7. PROJEDEN ÜRETİLEN YAYIN

Sağlam, Ö., Tunaz H., Er M.K., 2016. Residual toxicity of Spinetoram against to bean weevil, *Acanthocelides obtectus* Say. (Coleoptera: Bruchidae) on bean. Turkish Journal of Entomology, 40 (1), 23-32.



Orijinal araştırma (Original article)

**Residual toxicity of Spinetoram against to bean weevil,
Acanthocelides obtectus Say. (Coleoptera: Bruchidae) on bean**

Spinetoram'ın fasulye üzerinde fasulye tohum böceği, *Acanthocelides obtectus* Say. (Coleoptera: Bruchidae)'a karşı rezidüel toksisitesi

Özgür SAĞLAM^{1*}

Hasan TUNAZ²

M. Kubilay ER²

Summary

In present study, residual contact toxicity of spinetoram suspension applied to bean against *Acanthocelides obtectus* Say. (Coleoptera: Bruchidae) adults was investigated under laboratory conditions. In laboratory bioassays, *A. obtectus* adults were exposed to bean sprayed with spinetoram suspension at 0.1, 0.25, 0.5 and 1 ppm (mg active ingredient/kg commodity) at 26±1 °C temperature, 65±5 % relative humidity and completely dark condition. Paralysis and mortality of the adults were recorded after 1, 3, 5 and 7 day of exposure and 40 day later the bean was examined for progeny production. Based on the results obtained from the biological tests, concentration of spinetoram suspension and the exposure period had a significant effect on paralysis and mortality rate of *A. obtectus* adults on bean. Spinetoram treatments at all concentrations after 1 day of exposure resulted in low mortality of *A. obtectus* adults. Mortality of *A. obtectus* adults increased after 1 day of exposure period. Spinetoram treatments at low concentrations (0.1 and 0.25 ppm), resulted in low mortality of paralysis or mortality of *A. obtectus* adults at all exposure times. However, spinetoram treatment at higher concentrations (0.5 and 1 ppm) after 3 day of exposure resulted in almost 100 % paralysis or mortality of *A. obtectus* adults. These results indicated that 1 ppm concentration of spinetoram is enough to obtain the complete mortality of *A. obtectus* for 3 day of exposure. Spinetoram treatments at 0.25, 0.5 and 1 ppm completely hindered its progeny production. In conclusion, based on mortality and progeny production results spinetoram would be potential to be used for control of *A. obtectus* on stored beans as an alternative protectant to the conventional insecticides.

Keywords: Spinetoram, *Acanthocelides obtectus*, residual action, toxicity, bean

Özet

Laboratuvar koşullarında yürütülen bu çalışmada fasulye tanelerine uygulanmış Spinetoram'ın, Fasulye tohum böceği, *Acanthocelides obtectus* Say. (Coleoptera: Bruchidae) erginlerine karşı rezidüel kontak toksisitesi araştırılmıştır. Laboratuvar denemelerinde, *A. obtectus* erginleri 26±1 °C sıcaklık, 65±5 % nem koşullarında ve tamamen karanlık ortamda 0.1, 0.25, 0.5 ve 1 ppm (mg aktif madde/kg ürün) konsantrasyonlarındaki Spinetoram solüsyonu uygulanmış fasulye ile muamele edilmiştir. Uygulamadan 1, 3, 5 ve 7 gün sonra felç ve ölü ergin bireyler sayılmış ve 40 gün sonra yeni nesil ergin çıkışları gözlemlenmiştir. Biyolojik testlerden elde edilen sonuçlara göre fasulye üzerine uygulanan Spinetoram konsantrasyonları ve uygulama süreleri, *A. obtectus* erginlerinin felç ve ölüm oranları üzerine önemli derecede etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Spinetoram'ın tüm konsantrasyonları, 1 gün uygulama süresinde *A. obtectus* erginlerin düşük ölümüne neden olmuştur. Bir günden sonraki uygulama sürelerinde *A. obtectus*'un ölüm oranlarında önemli artış görülmüştür. Spinetoram'ın düşük konsantrasyonları (0.1 ve 0.25 ppm) tüm uygulama sürelerinde, *A. obtectus* erginlerin düşük felç ve ölümüne neden olmuştur. Ancak, yüksek konsantrasyonlarda (0.5 ve 1 ppm) 3 gün uygulama süresinde *A. obtectus* erginlerin hemen hemen % 100 felç ya da ölümü görülmüştür. Elde edilen bu sonuçlar *A. obtectus* erginlerinin tamamını öldürmek için 1 ppm uygulama konsantrasyonu ve 3 günlük uygulama süresinin yeterli olduğunu ortaya koymuştur. Spinetoram'ın 0.25, 0.5 ve 1 ppm uygulama konsantrasyonları yeni nesil ergin çıkışlarını tamamen engellemiştir. Ölüm ve yeni nesil ergin sonuçları, Spinetoram'ın konvansiyonel insektisitlere bir alternatif koruyucu insektisit olarak depolanmış fasulyelerde zararlı *A. obtectus* mücadelesinde kullanılabilecek potansiyeline sahip olabileceğini göstermiştir.

Anahtar sözcükler: Spinetoram, *Acanthocelides obtectus*, rezidüel etki, toksisite, fasulye

¹ Namık Kemal University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 59030, Tekirdağ, Turkey

² Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 46050, Kahramanmaraş, Turkey

* Corresponding author (Sorumlu yazar) email: osaglam@nku.edu.tr

Received (Alınış): 21.01.2016 Accepted (Kabul edilmiş): 16.02.2016 Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 23.02.2016

Introduction

Worldwide, the dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) (Fabaceae) is the most economically and nutritionally important legume for human consumption (Jones, 1999). Bean is one of the most commonly used vegetables in human nutrition particularly in developing countries (Jones et al., 2011; Lopes et al., 2015) and the common bean is estimated as the third-largest source of calories and the second-largest source of dietary protein (Hillocks et al., 2006). However, attack by bruchids (Coleoptera: Bruchidae) during storage compromises the quality and commercial value of beans. The bruchid, *Acanthoscelides obtectus* (Say) is one of the major insect pests affecting the common bean (Hagstrum & Subramanyam, 2009; Mutungi et al., 2015). Larvae developing within the grain cause the largest damage (Swella & Mushobozy, 2007), causing a reduction of dry matter and, hence, grain mass (Padin et al., 2002). Thus, besides the reduction in grain weight, the insects destroy the embryo while feeding, reducing the germination ability of the beans (Padin et al., 2002; Caneppele et al., 2003). Given the destructive power of bruchids, many farmers sell their entire crop of beans immediately after harvest when the prices in the market are still low, and they do not store seeds for the next sowing season or for their own consumption (Schmale et al., 2006; Lopes et al., 2015).

The control of *A. obtectus* relies mainly on the application of fumigation and synthetic insecticides on stored beans. Currently, phosphine (PH₃) gas has been used for fumigation of stored beans infested by the insect pests. But resistance problems of phosphine has already reported in a number of countries, with very high levels of resistance in some parts of Asia and Africa (Mills, 1983; Taylor & Halliday, 1986; Taylor, 1989; Zettler, 1997; Sayaboc et al., 1998; Rajendran, 1999), Australia (Collins et al., 2001; Nayak et al., 2010; Emery et al., 2011) more recently in America (Opit et al., 2012; Saglam et al., 2015). The synthetic insecticides used against stored bean insects are primarily organophosphorus and pyrethroid compounds, and the residues from a single application can often prevent insects from establishing in stored beans. However, use of residual insecticides is becoming less desirable because of the resistance in major insects (Pimentel et al., 2007), regulatory restrictions on use of insecticides, awareness of environmental pollution, the increasing cost of storage insecticides, erratic supplies, worker safety and consumer desire for a pesticide-free product. All the above issues raise the need for the development of new active ingredients that pose fewer concerns for both humans and the environment and are more compatible with Integrated Pest Management (IPM) approaches in stored-grain protection.

Spinosyns group insecticides exhibit low mammalian toxicity and are considered harmless for the environment since they degrade to simpler fragments containing only carbon, oxygen, nitrogen, and hydrogen (Dripps et al., 2011). Spinosad is a naturally occurring mixture of spinosyns A (primary component) and D (minor component) (Sparks et al., 1999; Saldago & Sparks, 2005). Spinosad acts on the insect nervous system at a unique site on the nicotinic acetylcholine receptor, and is active through contact or ingestion (Dripps et al., 2011). Spinosad can be used effectively for organophosphate and pyrethroid resistant strains of several stored product insects (Daglish, 2008). Spinosad possesses a unique mode of action in insects and controls insect strains resistant to other grain protectants (Hertlein et al., 2011). Also, in comparison with OPs and pyrethroids, Pozidi-Metaxa & Athanassiou (2013), reported that spinosad was more effective than chlorpyrifos-methyl and equally effective as deltamethrin and pirimiphos-methyl against the larger grain borer, *Prostephanus truncates* (Horn) (Coleoptera: Bostrychidae).

Recently, spinetoram that is a mixture of two synthetically modified spinosyns (spinosyn J and spinosyn L), which are metabolites of the bacterium *Saccharopolyspora spinosa* Mertz and Yao (Bacteria: Actinobacteridae), was introduced as a new spinosyn insecticide with greater potency and faster speed of action in comparison with spinosad (Dripps et al., 2008; Sparks et al., 2008). Recently, spinetoram has been tested and found to be effective for the control of several stored grain beetle species (Vassilakos et al., 2012; Isikber et al., 2013) while its efficacy was practically not affected by temperature and relative humidity (RH) (Vassilakos & Athanassiou, 2013). Spinetoram has some surface treatment studies against all life stages of *Tribolium confusum* du Val. (Saglam et al., 2013). Vassiliakos & Athanassiou (2012) suggested that spinetoram is very effective against *R. dominica*, moderately effective against *S. oryzae*, and not very effective against *T. confusum*. Spinetoram is considered more active and more persistent than spinosad (Dripps et al., 2011).

In spite of the fact that there are several published studies for the efficacy and toxicity of Spinetoram against some stored grain insects (Vassilakos et al., 2012; Vassiliakos & Athanassiou, 2012; Vassiliakos & Athanassiou, 2013). However, to our knowledge, the efficacy of spinetoram against stored bean insects has not been tested so far. In the present work, residual toxicity of spinetoram against bean weevil, *A. obtectus* on beans was tested under the laboratory conditions.

Material and Methods

Test insect

The *A. obtectus* strain used in this study was obtained from laboratory culture that originated from bean seeds collected around Mersin Province, Turkey in October 2010. *A. obtectus* was reared on uninfested bean (*Phaseolus vulgaris*) at 1 l glass jars (8.6 cm in diameter and 17.5 cm in height) in incubators set at 65 ± 5 % RH and 27 ± 1 °C, under continuous darkness. New subcultures were established weekly, by removing approximately 100 beetles from each of the two oldest jars, the oldest then being discarded.

Commodity

Uninfested and untreated bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. Elbistan) with 8 ± 0.5 % of moisture content was used for the bioassays and insect rearing. The bean was placed a freezer at -18 °C for one week to destroy any remaining insects before the seed was used for insect rearing and laboratory trials. Moisture content of the bean was measured by using by using KETT-Pm-600 moisture meter (Kett Electric Laboratory, Japan).

Insecticide and insecticide treatment

A water dispersible granule (WG) formulation of spinetoram (Delegate 250 WG) that contained 250 g of active ingredient (AI) per liter and was supplied by Dow AgroSciences, UK was used for bioassays. One kg of bean was sprayed with spinetoram to create four concentration levels: 0 (control), 0.1, 0.25, 0.5 and 1 ppm (mg AI/kg of bean). The spinetoram WG formulation was suspended with distilled water to prepare each concentration and 1 ml of the appropriate suspension was sprayed in each lot. The insecticide application was made by using HSENG Airbrush AS18 model (Ningbo Haosheng Pnömatik Machinery Co., Zhejiang, China). To achieve even distribution of the insecticide, the bean was spread into a plastic tray (48 x 33 x 8 cm) providing a thin mono layer as a spraying surface. Then, the sprayed bean lots in the plastic tray were shaken manually for approx. 1 min to enhance the insecticide distribution. Additional lots of 1 kg of beans were sprayed with distilled water as a control treatment. After application, commodities were left one day for drying under laboratory conditions

Bioassays

Cylindrical glass vials with 450 ml of capacity were used as the experimental units for bioassays. For each spinetoram concentration, five samples, each of 200 g, were taken from each jar of treated bean and placed in vials. Then, 25 one to two-day old and mixed sex adults of *A. obtectus* were introduced into each vial (separate vials for each concentration). All these vials were placed in incubators set at 25 ± 1 °C, 65 ± 5 % RH and continuous darkness. Dead (no motion) and paralysis (only moving antenna and legs) of the exposed individuals were recorded after 1, 3, 5 and 7 day of exposure in the treated and untreated substrate. After the 7 day of exposure, all adults (dead or alive) were removed and the jars returned at the experiment conditions. Forty days later (Rees, 2004), adult progeny emergences (F₁) were counted in the vials.

Data analysis

For each count, mortality rate, paralysis rate and morality + paralysis rate of *A. obtectus* adults were calculated. Control mortality was generally low, so no correction was considered necessary. Adult mortality rate, paralysis rate and morality + paralysis rate were analyzed separately for each species using the MANOVA Fit Repeated Measures Procedure with Wilk's lambda estimate of JMP software (Sall et al., 2001), with dose rate as main effects, and time as the repeated variable. Arcsine transformation was applied to mortality and paralysis data that were subjected by one-way ANOVA (Factor: concentration). For progeny production, one-way ANOVA was performed, by using the same software,

with number of progeny as the response variable, and concentration as main effect. In this case, the number of progeny in the control vials was also included in the analysis. The means were separated using Duncan test at the 5% level (Proc CM: One-way ANOVA, SPSS Statics 18, 2009).

Results

Regarding to mortality counts, all main effects and their interactions were significant as repeated measures MANOVA parameters (Table 1). Generally, mortality of *A. obtectus* adults increased with increasing of concentration at each exposure time, apart from first day. In all exposure times, except first day, spinetoram treatments at concentration of 1 ppm resulted in significantly higher mortality than those at the other concentrations. The lowest mortalities were achieved at 0.1 ppm concentration at each exposure time. After 7 day of exposure, 48.8%, 66.4%, 93.6% and 100% of mortality of *A. obtectus* were obtained at 0.1, 0.25, 0.5 and 1 ppm concentration of spinetoram respectively. Thus, the complete mortality was achieved only at 1 ppm for 5 and 7 day of exposure (Fig. 1).

Table 1. Repeated measures MANOVA parameters for mortality, paralysis and mortality + paralysis counts of the bean weevil (in all cases, error df=20)

	df	Mortality	Paralysis	Mortality + Paralysis	P
		F	F	F	
All between	4	106.4055	80.6058	190.5743	<0.0001
Intercept	1	1178.7295	948.0423	1959.0035	<0.0001
Dose	4	106.4055	80.6058	190.5743	<0.0001
All within	12	9.9648	13.7511	9.1045	<0.0001
Time	3	401.5952	44.5557	181.5643	<0.0001
Time*Dose	12	9.9648	13.7511	9.1045	<0.0001

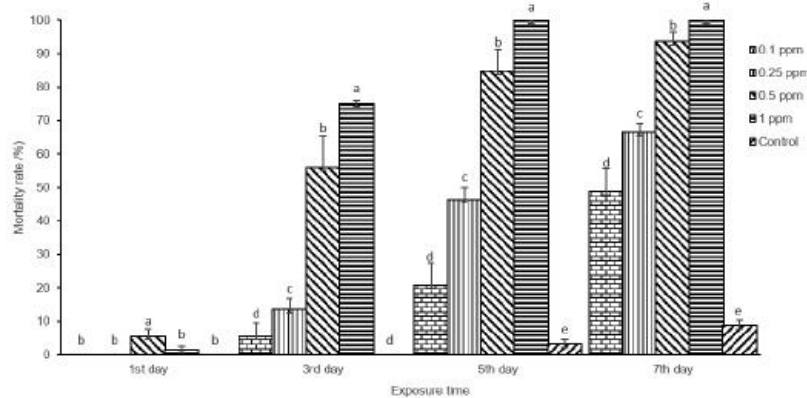


Fig. 1. Mean mortality (%±SE) of *Acanthocelides obtectus* on beans treated by spinetoram at the different concentrations for 1, 3, 5 and 7 day of exposure time (Means followed by the same lower case letter at each concentration are not significantly different; Duncan test at 0.05; Errors bars on the graph indicate the standard error of mean mortality of each treatment).

Regarding to paralysis levels, all main effects and their interactions were significant (Table 1). After 7 day of exposure, 0%, 12.8%, 60.8% and 95.2% of mortality of *A. obtectus* were obtained at 0.1, 0.25, 0.5 and 1 ppm respectively. Spinetoram treatments at 0.5 and 1 ppm after 1 day of exposure had significantly higher paralysis levels of *A. obtectus* than those at 0.1 and 0.25 ppm. However, very low paralysis levels were obtained at same concentrations after 5 and 7 day of exposure. Paralysis data indicated that adults of *A. obtectus* exposed on beans exposed spinetoram at high concentrations (0.5 and 1 ppm) were highly paralyzed just after 1 day of exposure (Fig. 2).

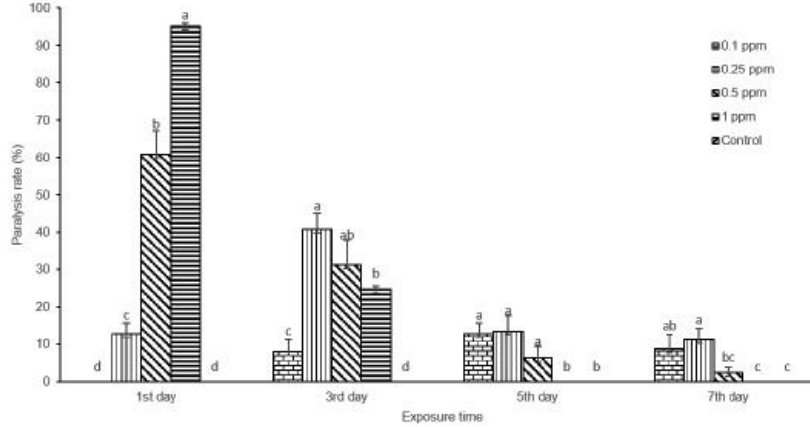


Fig. 2. Mean paralysis levels (%±SE) of *Acanthocelides obtectus* adults on beans treated with spinetoram at the different concentrations for 1, 3, 5 and 7 day of exposure (Means followed by the same lower case letter at each concentration are not significantly different; Duncan test at 0.05; Errors bars on the graph indicate the standard error of mean mortality of each treatment).

Analysis of mortality+paralysis data indicated that all main effects and their interactions were also significant (Table 1). Generally, mortality+paralysis level of *A. obtectus* adults increased with increasing of concentration at all exposure times, apart from 7-day of exposure. Mortality+paralysis levels of *A. obtectus* adults at 1 ppm were higher than those at the other concentrations for 1, 3 and 5 day of exposure. However, after 7 day of exposure, mortality+paralysis levels at 0.5 and 1 ppm were statistically similar whilst they were higher than those at 0.1 and 0.25 ppm. 100% or nearly 100% mortality+paralysis level of *A. obtectus* adults was achieved at 1 ppm after 1, 3 and 5 day of exposure, whilst it was obtained at 0.5 and 1 ppm after 7 day of exposure.

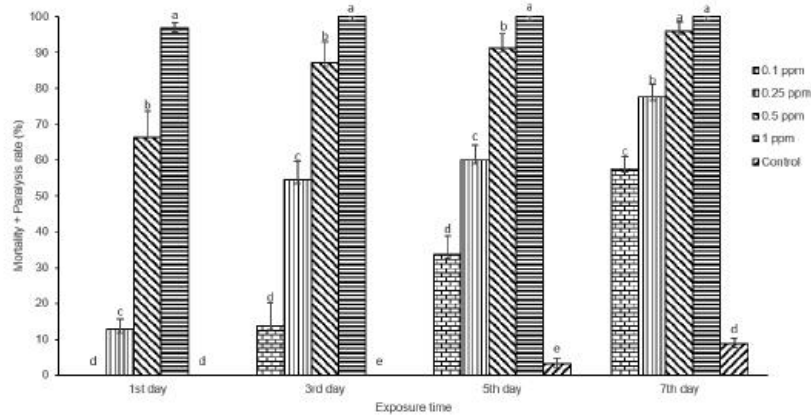


Fig. 3. Mean mortality + paralysis levels (%±SE) of *Acanthocelides obtectus* on beans treated with spinetoram at the different concentrations for 1, 3, 5 and 7 day of exposure (Means followed by the same lower case letter at each concentration are not significantly different; Duncan test at 0.05; Errors bars on the graph indicate the standard error of mean mortality of each treatment).

Progeny production (F_1)

There were significant differences in progeny production between spinetoram concentrations and control treatment ($F_{3,20}=433.9$, $P<0.0001$). At 0.25, 0.5 and 1 ppm, no progeny of *A. obtectus* was produced, whilst progeny production was observed at the lowest concentration (0.1 ppm). However, progeny production at 0.1 ppm was significantly lower than that at control treatment. These results indicated that spinetoram treatment at 0.25, 0.5 and 1 ppm would completely suppress the progeny production of *A. obtectus* (Fig. 4).

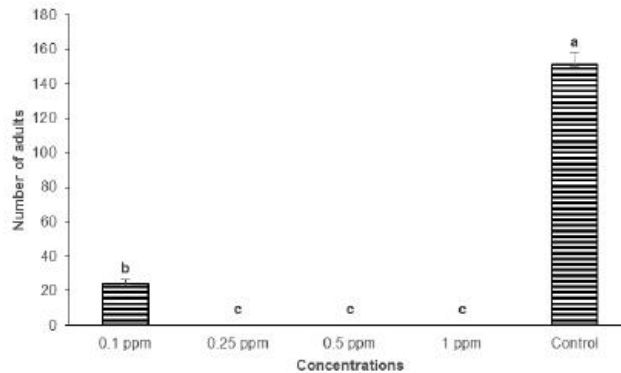


Fig.4. Mean number of adult progeny of *Acanthocelides obtectus* on beans treated by spinetoram at the different concentrations (Means followed by the same upper case letter at each concentration are not significantly different; Duncan test at 0.05; Error bars on the graph indicate the standard error of mean number of adult progeny of each treatment).

Discussion

Several grain protectants can provide long-term protection against a wide range of stored-product beetle species. However, despite the fact that persistence is a desirable characteristic of a given grain protectant, the use of an insecticide that is toxic to mammals in conjunction with high residues on the products, is not permitted in stored product protection. Therefore, the use of an insecticide of very low mammalian toxicity, such as spinetoram (Rat oral $LD_{50} > 5000$ mg/kg of body weight) can be considered as a safe solution in this respect.

Based on the results obtained from the biological tests, the concentration of spinetoram suspension and the exposure period had a significant effect on paralysis and mortality rate of *A. obtectus* adults on beans. The mortality of *A. obtectus* significantly increased with increasing the concentration of spinetoram and exposure time. Spinetoram treatments at all concentrations after 1 day of exposure resulted in low mortality of *A. obtectus* adults. Mortality of *A. obtectus* adults increased after 1 day of exposure period. Spinetoram treatments at low concentrations (0.1 and 0.25 ppm), resulted in low mortality of paralysis or mortality of *A. obtectus* adults at all exposure times. However, spinetoram treatment at higher concentrations (0.5 and 1 ppm) after 3 day of exposure resulted in almost 100 % paralysis or mortality of *A. obtectus* adults. These results indicated that 1 ppm concentration of spinetoram is enough to obtain the complete mortality of *A. obtectus* for 3 day of exposure. At 0.25, 0.5 and 1 ppm, no progeny of *A. obtectus* was produced, whilst progeny production was observed at the lowest concentration (0.1 ppm). These results indicated that spinetoram treatments at 0.25, 0.5 and 1 ppm completely hindered its progeny production.

Currently, no studies for efficacy of spinetoram against *A. obtectus* on beans have been published in literature. However, there are some studies published about efficacy of spinetoram against several stored grain insects. Vassilakos et al. (2012) found that spinetoram was effective against *Tribolium confusum* du Val. (Coleoptera: Tenebrionidae) only in the high doses of 5 and 10 ppm (mg of AI/kg of grain) and ineffective at 2 ppm after 21 days of exposure in treated wheat. *Tribolium confusum* young larvae are susceptible to both spinosad and spinetoram (Vayias et al., 2009; Sağlam et al., 2013). *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) was the most susceptible among the species, while concentrations of 0.5 and 1 ppm were needed to control *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae) and *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) adults, respectively. These findings for the concentration of spinetoram required to obtain the complete mortality of *R. dominica*, *S. granarius* and *S. oryzae* on wheat stand in accordance with the results obtained in present study for *A. obtectus* on beans. However, compared with the findings for *T. confusum* on wheat, reported by Vassilakos et al. (2012), the concentration of spinetoram required to obtain the complete mortality of *A. obtectus* in present study is much lower than that for *T. confusum*. This discrepancy can be due to the difference in insect species and commodity tested. Likewise, previous studies document that the insecticidal efficacy of spinosad and spinetoram is affected by several biotic or abiotic factors, such as the target species, the type of commodity, the exposure interval and the type of surface that spinosad is applied to (Fang et al., 2002; Subramanyam et al., 2003; Toews & Subramanyam 2003; Toews et al., 2003; Nayak et al., 2005; Daglish & Nayak, 2006; Subramanyam, 2006; Subramanyam et al., 2007; Vassilakos et al., 2015).

In this study, spinetoram proved to be effective against *A. obtectus* on bean. Based on mortality and progeny production results, at 1 ppm, spinetoram was found to result in the complete mortality of *A. obtectus* and completely prevent its progeny production. In conclusion, present study indicated that spinetoram would be potential to be used for control of *A. obtectus* on bean as an alternative protectant to the conventional insecticides. However, further research is needed to obtain data on its persistence on beans, its toxicity for other stored bean insects under laboratory and field conditions.

Acknowledgements

This research was supported by a grant from Namik Kemal University, Scientific Research Project (NKUBAP.00.24.AR.14.17) and also authors thanks to Recep Şen for assistance with the bioassays.

References

- Caneppele, M.A.B., C. Caneppele, F.A. Lazzari & S.M.N. Lazzari, 2003. Correlation between the infestation level of *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera, Curculionidae) and the quality factors of stored corn, *Zea mays* L. (Poaceae). The Revista Brasileira de Entomologia, 47: 625-630.
- Collins, P. J., G. J. Daglish, M. K. Nayak, P. R. Ebert, D. Schlipalius, W. Chen, H. Pavic, T. M. Lambkin, R. Kopittke & B. W. Bridgeman, 2001. "Combating resistance to phosphine in Australia, pp. 593-607". In: Int. Conf. Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, 29 October-3 November 2000, Fresno, CA (Ed: E.J. Donahaye, S. Navarro & J. G. Leesch). Executive Printing Services, Clovis, CA, 841pp.
- Daglish, G.J. & M.K. Nayak, 2006. Long-term persistence and efficacy of spinosad against *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) on wheat. Pest Management Science, 62: 148-152.
- Daglish, G. J., 2008. Impact of resistance on the efficacy of binary combinations of spinosad, chlorpyrifos-methyl and s-methoprene against five stored-grain beetles. Journal of Stored Products Research, 44:71-76.
- Dripps, J., B. Olson, T. Sparks & G. Crouse, 2008. Spinetoram: how artificial intelligence combined natural fermentation with synthetic chemistry to produce a new spinosyn insecticide. Plant Health Prog. (Web page: <https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/perspective /2008/spinetoram/>) (Date accessed: January 2016).
- Dripps, J.E., R.E. Boucher, A. Chloridis, C.B. Cleveland, C.V. De Amicis, L.E. Gomez, D.L. Paroonagian, L.A. Pavan, T.C. Sparks & G.B. Watson, 2011. The spinosyn insecticides pp. 163-212. In: Green Trends in Insect Control (Ed: Lopez, O. & J.G. Fernandez-Bolanos). Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 353 pp.

- Emery, R. N., M. K. Nayak & J.C. Holloway, 2011. Lessons learned from phosphine resistance monitoring in Australia. *Stewart Postharvest Review*, 7: 1- 8.
- Fang, L., B. Subramanyam & F.H. Arthur, 2002. Effectiveness of spinosad on four classes of wheat against five stored product insects. *Journal of Economic Entomology*, 95: 640-650.
- Hagstrum, D.W. & B. Subramanyam, 2009. A review of stored-product entomology information sources. *American Entomologist*, 55: 174-183.
- Hertlein, M.B., G.D. Thompson, B. Subramanyam & C. G. Athanassiou, 2011. Spinosad: a new natural product for stored grain protection. *Journal of Stored Product Research*, 47: 131-146.
- Hillocks, R.J., C.S. Madata, R. Chirwa, E.M. Minja & S. Msolla, 2006. Phaseolus bean improvement in Tanzania, 1959-2005. *Euphytica*, 150: 215-231.
- Isikber, A. A., Ö. Sağlam & A. Çelik, 2013. "Residual toxicity of spinetoram on various surfaces to adult *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae), pp 343. In 9th Conference on Integrated Protection of Stored Products, IPSP-2013, IOBC working group on Integrated Protection of Stored Products, 1-4 July, 2013, Bordeaux -France, (Ed: C.G. Athanassiou, P. Trematerra, N. G. Kavallieratos, P. G. Weintraub), 420 pp.
- Jones, A. L., 1999. Phaseolus Bean: Post-Harvest Operations, Chapter IV. *Compendium on Post Harvest Operations* (Ed: Mejia, D., B. Lewis & C. Bothe). FAO, Rome, Italy, 24 pp.
- Jones, M., C., Alexander & J. Lowenberg-De Boer, 2011. Profitability of Hermetic Purdue Improved Crop Storage (PICS) Bags for African Common Bean Producers. Working Paper #11-6, Purdue University, West Lafayette, India, 29 pp.
- Lopes, L.M., A.E.F. Araujo, W.B. Santos, A.H. Sousa, 2015. Population development of *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) in landrace bean varieties occurring in Southwestern Amazonia. *Journal of Economic Entomology* (in press). DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/tov330>
- Mills, K.A., 1983. Resistance to the fumigant hydrogen phosphide in some stored product insect species associated with repeated inadequate treatments. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie*, 4: 98-101.
- Mutungi, C., H.D. Affognon, A.W. Njoroge, J. Manono, D. Baributsa & L.L. Murdock, 2015. Triple-layer plastic bags protect dry common beans (*Phaseolus vulgaris*) against damage by *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Chrysomelidae) during storage. *Journal of Economic Entomology*, 108: 2479-2488.
- Nayak, M.K., G.J. Darglish & V.S. Byrne, 2005. Effectiveness of spinosad a grain protectant against resistant beetle and psocid pests of stored grain in Australia. *Journal of Stored Products Research*, 41: 455-467.
- Nayak, M., J. Holloway, H. Pavic, M. Head, R. Reid & C. Patrick, 2010. "Developing strategies to manage highly phosphine resistant populations of at grain beetles in large bulk storages in Australia, pp. 396-401". In: *Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored Product Protection*, 27 June-2 July 2010 Estoril, Portugal (Ed: M. O., Carvalho, P. G., Fields, C. S., Adler, F. H., Arthur, C. G., Athanassiou, J. F., Campbell, F., Fleurat-Lessard, P. W., Flinn, R. J., Hodges & A. A., Isikber). Julius-Kuhn-Archiv, Berlin, Germany, 1053 pp.
- Opit, G.P., T.W. Phillips, M.J. Aikens & M. Hassan, 2012. Phosphine resistance in *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica* from stored wheat in Oklahoma. *Journal of Economic Entomology*, 105(4): 1107-1114.
- Padin, S., G.D. Bello & M. Fabrizio, 2002. Grain loss caused by *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Acanthoscelides obtectus* in stored durum wheat and beans treated with *Beauveria bassiana*. *Journal of Stored Products Research*, 38: 69-74.
- Pimentel, M.A.G., L.R.D., Faroni, M.R. Tótola & R.N.C. Guedes, 2007. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. *Pest Management Science*, 63 (9): 876-881.
- Pozidi-Metaxa, E. & C.G. Athanassiou, 2013. Comparison of spinosad with three traditional grain protectants against *Prostephanus truncatus* (Horn) and *Ephesia kuehniella* (Zeller) at different temperatures. *Journal of Pest Science*, 86: 203-210.
- Rajendran, S., 1999. "Phosphine resistance in stored grain insect pests in India, pp. 635-641". In *Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-Product Protection*, 14-19 October 1998, (Ed: Z. Jin, Q. Liang, Y. Liang, X.T. & L. Guan), Beijing, China. Sichuan Publishing House of Science and Technology, Chengdu, China, pp 1998.

- Rees, D., 2004. *Insects of Stored Products*. CSIRO publishing, Collingwood, Australia, 192 pp.
- Sağlam, O., C.G. Athanassiou & T.N. Vassilakos, 2013. Comparison of spinetoram, imidacloprid, thiamethoxam and chlorantraniliprole against life stages of *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) on concrete. *Crop Protection*, 53: 85-95.
- Sağlam, O., P.A., Edde & T.W., Phillips, 2015. Resistance of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) to fumigation with Phosphine. *Journal of Economic Entomology*, 108 (5): 2489-2495.
- Salgado, V.L. & T.C. Sparks, 2005. The spinosyns: chemistry, biochemistry, mode of action, and resistance. In: *Comprehensive Insect Molecular Science* (Ed: L.I. Gilbert, K. Iatrou & S.S. Gill), vol. 6, Control, Elsevier, New York, pp.137-173.
- Sall, J., A. Lehman & L. Creighton, 2001. *JMP Start Statistics. A Guide to Statistics and Data Analysis Using JMP and JMP IN Software*. Duxbury Press, Belmont, CA, 491 pp.
- Sayaboc, P.D., A.J.G. Gibe & F.M. Caliboso, 1998. Resistance of *Rhizopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) to phosphine in the Philippines. *Philippines Entomologist*, 12:91-95.
- Schmale, I., F.L. Wackers, C. Cardona & S. Dorn, 2006. Biological control of the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Col.: Bruchidae), by the native parasitoid *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hym.: Pteromalidae) on small-scale farms in Colombia. *Journal of Stored Products Research*, 42:31-41.
- Sparks, T.C., G.D. Thompson, H.A. Kirst, M.B. Hertlein, J.S. Mynderse, J.R. Turner & T.V. Worden, 1999. "Fermentation-derived insect control agents: the spinosyns, pp 171-188. In: *Biopesticides: Use and Delivery* (Ed: F.R. Hall, & J.J. Menn), Humana Press, Totowa, NJ, 626 pp.
- Sparks, T.C., G.D. Crouse, J.E. Dripps, P. Anzeveno, J. Martynow & J. Gifford, 2008. Artificial neural network-based QSAR and the discovery of spinetoram. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 22: 393-401.
- SPSS, 2009. *SPSS Statistics 18 Data Analysis with Comprehensive Statistics Software*, Brother Soft, WA, USA.
- Subramanyam, B., 2006. Performance of spinosad as a stored grain protectants, pp.250-257. In *Proceedings of the 9th International Working Conference for Stored-Product Protection*, Campinas, Brazil. Brazil: ABRAPOS-Brazilian Post-harvest Association.
- Subramanyam, B., M. D. Toews & L. Fang, 2003. Spinosad: an effective replacement for organophosphate grain protectants, pp.916-920. In *Proceedings of the 8th International Conference of Stored-Product Protection*, 22–26 July 2002, York, United Kingdom 2003. 916–920. CAB International. Wallingford, Oxon, UK, 1071 pp.
- Subramanyam, B., M. D. Toews, K.E. Ileleci, D.E. Maier, G.D. Thompson, T.J. Pitts, 2007. Evaluation of spinosad as a grain protectant on three Kansas farms. *Crop protection*, 206:1021-1030.
- Swella G.B. & M.K. Mushobozy, 2007. Evaluation of the efficacy of protectants against Cowpea Bruchids (*Callosobruchus maculatus* (F.)) on Cowpea seeds (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Plant Protection Science*, 43: 68-72.
- Taylor, R.W.D. & D. Halliday, 1986. "The geographical spread of resistance to phosphine by coleopterous pests of stored products, pp. 607-613". In: *Proceedings of the British Crop Protection Conference, Pests and Diseases*, 17-20 November 1986, Brighton, United Kingdom, 752 pp.
- Taylor, R.W.D., 1989. Phosphine a major fumigant at risk. *International Pest Control*, 31:10-14.
- Toews, M.D., B. Subramanyam, J. Rowan, 2003. Knockdown and mortality of eight stored-product beetles exposed to four surfaces treated with spinosad. *Journal of Economic Entomology*, 96: 1967-1973.
- Toews M.D. & B. Subramanyam, 2003. Contribution of contact toxicity and wheat condition to mortality of stored product exposed to spinosad. *Pest Management Science*, 59: 538-544.
- Vassilakos, T.N., C.G. Athanassiou, O. Sağlam, A.S. Chloridis, J.E. Dripps, 2012. Insecticidal effect of spinetoram against six major stored grain insect species. *Journal of Stored Products Research*, 51:69-73.
- Vassilakos, T.N. & C.G., Athanassiou, 2012. Effect of uneven distribution of spinetoram treated wheat and rice on mortality and progeny production of *Rhizopertha dominica* (F.), *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. *Journal of Stored Products Research*, 50:73-80.
- Vassilakos, T.N. & C.G., Athanassiou, 2013. Effect of temperature and relative humidity on the efficacy of spinetoram for the control of three stored product beetle species. *Journal of Stored Products Research*, 55:73-77.

- Vassilakos, T.N., Athanassiou, C.G. & N.G. Tsiropoulos, 2015. Influence of grain type on the efficacy of spinetoram for the control of *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus granarius* and *Sitophilus oryzae*. *Journal of Stored Products Research*, 64:1-7.
- Vayias, B.J., C.G. Athanassiou & C.T. Buchelos, 2009. Effectiveness of spinosad combined with diatomaceous earth against different European strains of *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrionidae): Influence of commodity and temperature. *Journal of Stored Products Research*, 45 (3):165-176.
- Zettler, J.L., 1997. "Influence of resistance of future fumigation technology, pp. 445-454". In: *Proceedings of the International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products*, 21–26 April 1996, (Ed: E.J. Donahaye, S. Navarro & A. Varnava) Printco Ltd. Nicosia, Cyprus, 721 pp.