



Akar ve Böceklerde Pestisitlerin Detoksifikasyonunda Rol Oynayan Enzimler

Sibel Yorulmaz¹, Recep Ay^{1*}

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta
*e-posta: recepay@ziraat.sdu.edu.tr; Tel: 0246 211 48 52; Faks: 0246 211 48 85

Geliş Tarihi: 10.09.2009, Kabul Tarihi: 14.12.2009

Özet: Tarımda zararlı böceklerin savaşımında uygulamasının kolay olması ve kısa sürede etki göstermesi nedeniyle diğer savaşım yöntemlerine göre daha çok kimyasal savaşım tercih edilmektedir. Ancak zararlılara karşı pestisitlerin bilinçsiz kullanımı sonucunda doğal dengenin bozulması, çevre kirliliği, yararlı böceklerin olumsuz etkilenmesi ve zararlıların bunlara direnç kazanması gibi birçok problem ortaya çıkmaktadır. Buna ilaveten pestisitlere çoklu ve çapraz direnç kazanmış zararlılarda aynı veya farklı gruptan ilaçlar da etki göstermemekte ve böceğin savaşımı zorlaşmaktadır. Bu makalede, zararlıların savaşımında yaygın kullanılan insektisitlere karşı gelişen fizyolojik direnç mekanizmaları ve böcek vücudunda bulunan esteraz, glutatyon S-transferaz ve P450 monooksijenaz gibi bazı detoksifikasyon enzimlerinin aktivitelerinin artışlarının direnç gelişimi ile ilişkileri incelenmiştir.

Anahtar Sözcükler: İnsektisit Direnci, Esteraz, Glutatyon S-Transferaz, Monooksijenaz.

The Enzymes Playing Role in Detoxification of the Pesticides in Mites and Insects

Abstract: In the control of pests in agriculture, chemical control is more preferred according to other methods because of easy application and effects shown in a short time. However, as a result of unconscious use of insecticides against pests, many problems are occurred such as disruption of natural balance, environmental pollution, negative effects to the beneficial insects and development resistance of pests to them. Additionally, the same or different groups of chemicals indicate no effect to the multi-resistance and cross-resistance development resistance pests and insect control to be difficult. This article contains, physiological mechanisms of developing resistance against to insecticides which are commonly used in the control and connection with the resistance development of insect enzymes such as esterase, glutathione S-transferase, P450 monooxygenase.

Key Words: Insecticide Resistance, Esterase, Glutathione S-Transferase, Monooxygenase.

Giriş

Tarımsal zararlılarla kimyasal savaşında yoğun ve gereksiz ilaç kullanımı çevre kirlenmesi, doğal dengenin bozulması ve zararlıların kısa sürede direnç oluşturması gibi birçok probleme neden olmaktadır (Stumpf ve Nauen 2001). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) direnci normal bir popülasyondaki bireylerin çoğunu öldürdüğü tespit edilen zehirli bir maddenin belirli bir dozuna karşı, aynı türün diğer popülasyonundaki bireylerin tolerans kazanma yeteneğinin gelişmesi şeklinde belirtmektedir (Brown, 1958). Bir zararlı böceğe karşı bir insektisit veya insektisit grubunun uzun süre devamlı olarak kullanılması halinde seleksiyon veya mutasyon yoluyla o böcekte ilaca karşı direnç gelişebilmektedir (Giray, 1977).

İnsektisitlerin yaygın ve bilinçsiz kullanımı sonucu zararlılarda davranışsal, morfolojik, fizyolojik, çok yönlü ve çapraz direnç olmak üzere 5 tip direnç ortaya çıkmaktadır (Yu, 2008). Fizyolojik direnç, zararlının bünyesinde bulunan bazı enzimlerin fizyolojik faaliyetleri sonucu biyokimyasal yollarla meydana getirdikleri direnç şeklidir. Böcek bünyesinde bulunan monooksijenaz (P450), glutatyon *S*-transferaz (GST) ve hidrolaz enzimleri insektisitlerin detoksifikasyonunda önemlidir (Öncüer, 2004).

Yaygın olarak kullanılan insektisitler organik klorlular, organik fosforlular, karbamatlılar ve piretroitler olmak üzere 4 grupta toplanmaktadır. Organik fosforlular ve karbamatlılar grubundaki insektisitlerin asetilkolinesteraz (AChE) enzimini engelleyerek etkili oldukları bilinmektedir. Bu bileşikler sinir sistemindeki sinapsislerde elektriksel sinir uyarılarının iletimini bozarak böceğin ölümüne neden olmaktadır. Organik klorlular ve piretroitler sinir sistemi üzerinde etkili olmakla birlikte AChE bağlayıcısı değildir. Sodyum kanallarındaki iyon geçişini engelleyerek sinirsel iletimi bozmakta ve böceğin ölümüne sebep olmaktadır (Uğurlu, 2001). Böceklerde piretroit insektisitlere karşı görülen dirence knockdown direnç (kdr) adı verilmektedir. Bu direnç tipi böcek esteraz ve (P450) enzimlerinin aktivitesini engelleyen sinerjistlerden etkilenmeyip, böceklerde sinir sisteminin duyarlılığının azalmasına sebep olmaktadır (Akgünlü, 2005).

Dünyada özellikle son 25 yıldır böceklerde insektisitlere karşı oluşan direncin mekanizmalarının belirlenmesinde biyokimyasal yöntemler oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Biyokimyasal çalışmaların *invitro* koşullarda yapılması ve sonucun daha kısa sürede alınması sebebiyle, *invivoda* yürütülen biyoassay çalışmalara göre de daha avantajlı durumdadır. Biyokimyasal çalışmalar sonucunda direnç daha erken dönemde belirlenerek gerekli önlemler alınabilmektedir.

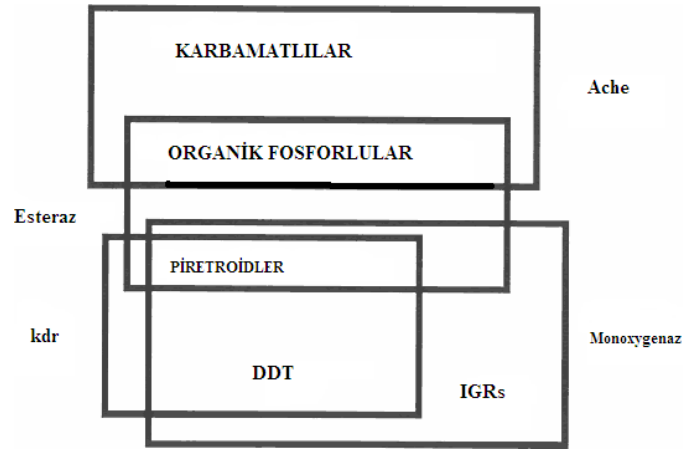
Böceklerde İnsektisit Detoksifikasyonunun Biyokimyasal İlkeleri

Böcekler yaşam döngüleri boyunca insanlar tarafından yapay olarak üretilen pestisitler (organik fosforlular, karbamatlılar, piretroitler vb.) veya bitkiler tarafından doğal olarak üretilen allelokimyasallar gibi toksinlere (xenobiotik) maruz kalmaktadırlar. Böceklerin bu toksinlere karşı kendilerini korumak için geliştirdikleri detoksifikasyon mekanizmaları Şekil 1'de gösterilmektedir. P450, GST ve hidrolaz gibi bazı enzimler insektisitlerin böcek vücuduna girmesi sonucunda bu kimyasalların zehirliliğini giderilmesini sağlamaktadır (Tsagkarakou ve ark., 2009).

İnsektisitler böcek vücuduna girdiklerinde hızla zehirliliği giderilir. Bu maddelerin zehirliliğinin giderilmesi faz I ve faz II olmak üzere iki aşamada gerçekleşmektedir (Yu,

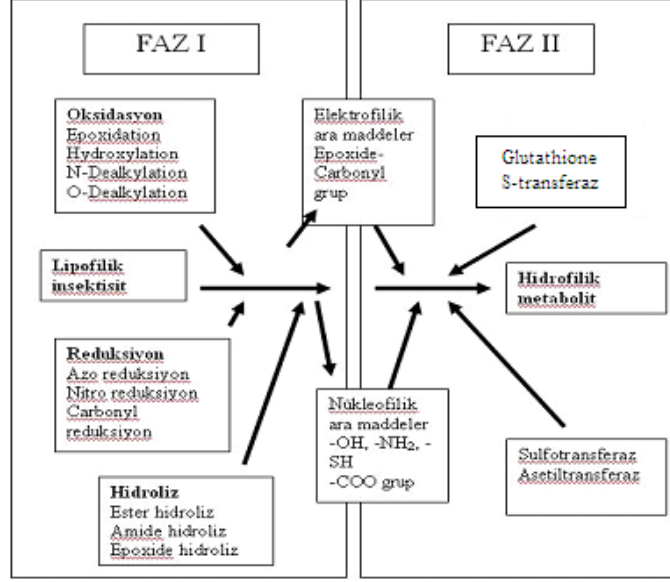
2008). Faz I oksidasyon, hidroliz ve indirgenme aşamalarını içermektedir. Faz I reaksiyonunda kutupsuz yapıdaki zehirli moleküller bazı fonksiyonel grupların eklenmesi ile zehirliliği daha az olan ara maddelere dönüştürülmektedir. Bu fonksiyonel gruplar 2 kısma ayrılmaktadır:

- a) Elektrofilik maddeler: Epoksidaz fonksiyonları ve α , β karbonil grupları elektrofilik karbonlu yapılarıdır. Bazı insektisitler böcek vücuduna girdikten sonra elektrofilik fonksiyonel gruplar sayesinde aktif olmayan maddelere dönüştürülmektedir.
- b) Nükleofilik maddeler: Alkolik ya da fenolik hidroksil grupları, amino ve karboksil grupları nükleofilik maddelerdir. Nükleofilik maddeler sayesinde kutupsuz yapıdaki insektisitler daha az zehirliliğe sahip maddelere dönüşmektedirler (Soderlund, 1997).



Şekil 1. İnsektisit kimyasal sınıflarının detoksifikasyonuna etkili fizyolojik mekanizmalar (Bradgon ve McAllister, 1998)

Şekil 2’de Faz I’de böcek bünyesinde bulunan P450 ve esteraz enzimleri sayesinde insektisitlere elektrofilik ya da nükleofilik maddelerin eklenmesi ile ara maddelere dönüştükleri görülmektedir. Faz II’de ise genellikle GST enzimi sayesinde faz I’de oluşturulan maddeler hidrofilik maddelere dönüştürülmekte ve vücuttan atılmaktadır (Yu, 2008).



Şekil 2. İnsektisit metabolizmasının ilkeleri (Kranthi, 2005)

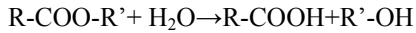
Faz I Reaksiyonları

Oksidasyon

Oksidasyon faz I'in en önemlisi olarak bilinmektedir. Oksidatif reaksiyon, P450 olarak bilinen büyük bir enzim grubu tarafından yürütülmektedir. P450 enzimi tarafından pestisit metabolizması farklı yollarla yapılmaktadır. Pestisitler, hidroksilasyon, O-,N-, S-dealkylation gibi olaylar sonucunda elektrofilik ya da nükleofilik maddelerin eklenmesi ile daha az zehirli etkiye sahip ara maddelere dönüşmektedirler (Krieger, 2001, Yu, 2008).

Hidroliz

Organik fosforlular, karbamatlılar, piretroidler gibi insektisitlerin çoğu hidrolize hassas olan ester bağları içermektedir. Hidrolaz grubu içerisinde insektisit detoksifikasyonunda en önemli enzim olan esterazlar asit ve alkol gruplarına su molekülünün eklenmesi sonucu oluşan hidrolazlardır.



İnsektisitlerin metabolizmasından sorumlu esteraz enzimleri 3 gruba ayrılmaktadır. A-esterazlar organik fosforlu insektisitleri engellemezler; ancak bu insektisitleri hidroliz ederler. B-esterazlar organik fosforlu insektisitleri engellerler. C-esterazlar ise, organik fosforlu insektisitleri engellemezler; ancak onları indirgerler (Soderlund, 1997).

İndirgeme

Böceklerde kimyasalların indirgenmesinde nitro reduksiyon, azo reduksiyon ve aldehit ya da keton reduksiyon olmak üzere 3 tip indirgenme gerçekleşmektedir.

Faz II Reaksiyonları

İnsektisitlere faz I reaksiyonu sonucunda hidroksil, karboksil ve epoksidaz gibi fonksiyonel gruplar eklenmektedir. Pestisitlere bu grupların eklenmesi sonucu büyük moleküller oluşmaktadır. Bu moleküller şeker, amino asit, glutatyon, fosfat ve sülfat gibi maddeleri de içermektedir. Kimyasallarla farklı grupların birleşmesi sonucu oluşan bu moleküller kutuplu yapıda ve daha az zehirlidir. Faz II'de oluşturulan bu maddeler vücuttan atılmaktadır (Kranthi, 2005).

Böceklerde İnsektisit Direncinin Biyokimyasal Mekanizması

Fizyolojik direncin oluşmasında böcek bünyesinde bulunan

- 1) Monooksijenazlar (Sitokrom P450)
- 2) Glutatyon S-transferazlar (GST)
- 3) Hidrolazlar
 - Karboksilesterazlar
 - Asetilkolinesterazlar (Hedef bölge duyarlılığının azalması)

enzimlerinin etkili oldukları bilinmektedir.

Böceklerde İnsektisitlerin Detoksifikasyonunda Rol Oynayan Sitokrom P450 Monooksijenaz (P450) Enzimi

P450 enzimi böceklerde hormon, asit, steroid ya da vücuda alınan pestisit gibi maddelerin anabolizması ve katabolizmasını düzenleyen önemli metabolik bir sistemdir (Feyereisen, 1999). P450 enzimi böcek, bitki, kuş, bakteri ve memeliler gibi birçok organizmada bulunmaktadır. P450 sistemi içerisinde temel oksidaz işlemi gerçekleştirilmektedir. P450 enzimi ökaryotlarda P450s mitokondri ve endoplazmik retikulum'da bulunmaktadır. Böceklerde ilk toplam P450 1967 yılında belirlenmiştir (Scott, 1999). Günümüze kadar 100'den fazla böcek türünde P450 monooksijenazlar bulunmuştur. Böceklerde P450 enzimi ilk kez ev sineklerinden saflaştırılmış ve karakterize edilmiştir. Saflaştırılan böcek P450 monooksijenaz enzimi memelilerde bulunan P450 monooksijenaz ile benzerlik göstermektedir (Wilson ve Hodgson, 1971).

Böceklerde bulunan P450 enziminin büyüme, gelişme, beslenme, pestisitlere karşı direnç ve tolerans gibi fonksiyonel görevleri bulunmaktadır (Pottelberge ve ark., 2008). Ayrıca P450 20-hidroksiekdizon ve gençlik hormonu gibi bazı böcek hormonlarının ve feromonlarının sentezi için de gerekmektedir. Bu nedenle P450 enzim engelleyicileri hormon sentezini dolaylı olarak etkiledikleri için, holometabol böceklerin morfoloji, gelişme ve yaşam sürelerinde değişikliklere yol açarlar (Soderlund, 1997).

Böceklerde orta barsak ve malpigi tüpleri başta olmak üzere dokuların çoğunda P450 belirlenmiştir. P450 enzim seviyesi böceklerin yaşam süreci boyunca ergin dönemlerinde yüksektir. Yumurta ve larva döneminde artan P450 seviyesi pupa döneminde azalmaktadır (Feyereisen, 1999). Bazı böcek türlerinde pyrethrin, imidacloprid ve carbaryl gibi birçok insektisitlerin etki mekanizmalarının kısıtlanmasında monooksijenaz seviyesinin arttığı belirlenmiştir. Ayrıca insektisitlerin yaygın kullanılan sınıfı olan organik fosforların etkilerinin sınırlandırılmasında da P450 detoksifikasyonunun etkili olduğu belirlenmiştir (Hollingworth ve Dong, 2008).

Omurgalılarda olduğu gibi böceklerde de P450 ailesi vücuda alınan yabancı maddelerin biyolojik olarak transfer edilmesinde görev almaktadır. Bazı insektisitler böcek vücuduna alındığında popülasyon içerisinde meydana gelen seleksiyon ve biotransformasyon sonucunda detoksifikasyon gerçekleşmektedir (Krieger, 2001). Monooksijenazların DDT, piretroit, karbamatlılar ve organik fosforlu insektisitlerin detoksifikasyonunda rol oynadıkları bilinmektedir (Hollingworth ve Dong, 2008). P450 enziminin insektisit direncinde etkili olduğunu belirlemek amacıyla sinerjist olarak adlandırılan enzim engelleyicileri kullanılmaktadır.

Böceklerde İnsektisit Detoksifikasyonunda Rol Oynayan Glutatyon S-transferaz (GST) Enzimi

GST enzimi doğada aerobik mikroorganizmalar, bitkiler, böcekler, balıklar, kuşlar, omurgalı ve omurgasız hayvanlarda bulunmaktadır (Konanz ve Nauen, 2004). GST'lar vücuda alınan yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli bir role sahip olan enzimlerdir. İnsektisit metabolizmasında GST'ların önemi ilk kez organik fosforlu bileşiklerin zehirliliğinin giderilmesinde belirtilmiştir. GST'lar daha sonra organik klorlu ve siklodien insektisitlere karşı böceklerde çalışılmıştır. GST'lar böceklerde organik fosforlu insektisitlere karşı gelişen dirençte önemli bir role sahiptir (Susurluk, 2008).

Lepidoptera, Diptera, Coleoptera ve Hymenoptera takımlarının içinde bulunduğu böceklerden GST enzimi saflaştırılmıştır. Böceklerde bulunan GST enzimi 19.000-35.000 Da moleküler ağırlığında olup, homodimer ve heterodimer olmak üzere 2 kısımdan oluşmaktadır. Böceklerde GST enzimi insektisit detoksifikasyonun yanı sıra hücresel membranların oksidatif yıkımlara karşı korunmasını da sağlamaktadır (Yu, 2008).

GST'lar glutatyon (GSH)'nun konjugasyonundan sorumlu fonksiyonel enzimler olarak bilinirler. Bu enzim elektrofilik substratlarla glutatyon'un konjugasyonunu katalizlemektedir. GST'lar glutatyon içerisinde bazı grupların yer değiştirmesi, yeni grupların eklenmesi ve çıkarılması gibi birçok olayı yürütmektedir. Günümüze kadar memelilerde, bitkilerde ve böceklerde 40'tan fazla GST enziminden sorumlu genler belirlenmiştir (Hollingworth ve Dong, 2008). Böceklerde bulunan GST'lar sınıf I (Delta) ve sınıf II (Sigma) olarak iki kategoride toplanmıştır. Son zamanlarda *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) gibi bazı böcek türlerinin içinde bulunduğu Epsilon olarak adlandırılan GST sınıfı belirlenmiştir (Kranthi, 2005).

Böceklerde bulunan GST enzimi faz I aşamasından sonra insektisit detoksifikasyonunu katalize etmektedir. Böceklerdeki GST seviyesi organik fosforlu ve klorlandırılmış hidrokarbon insektisit dirençleri ile ilişkilidir. Hamamböcekleri, ev sinekleri ve birçok tarımsal zararlı böceklerde yapılan çalışmalarda artan GST enzim aktivitesinin insektisit direnci ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir. Özellikle klorlandırılmış hidrokarbon insektisit olan DDT ile yapılan çalışmalarda sivrisineklerde GST aktivitesinin attığı belirlenmiştir (Vontas ve ark., 2000).

GST'm dokularda çözünmüş ve istikrarlı halde bulunması birçok böcek türünde karakterizasyonuna ve saflaştırılmasına olanak sağlamaktadır. Böceklerde bulunan GST biyokimyası hakkında en fazla bilgi ev sinekleri üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Ev sinekleri üzerinde yapılan çalışmalarda GST1 ve GST2 olmak üzere iki farklı GST enzimi saflaştırılmıştır. Benzer GST saflaştırma çalışmaları Diptera ve Lepidoptera

takımları içerisinde bazı böcek türlerinde de yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda saflaştırılan GST enzimlerinin elektroforetik değişkenlikleri, katalitik aktiviteleri ve substrat aktivitelerinin farklı olduğu belirlenmiştir. Aynı türlerin dirençli ve hassas popülasyonlarından saflaştırılan GST enzimleri karşılaştırıldığında, dirençli popülasyonda yüksek seviyede GST bulunduğu belirlenmiştir. DDT dirençli *A. gambiae*'de hassas popülasyona göre yüksek seviyede GST olduğu belirlenmiştir (Soderlund, 1997).

Böceklerde İnsektisitlerin Detoksifikasyonunda Rol Oynayan Hidrolaz Enzimleri

Hidrolazlar insektisitleri kimyasal yapılarında bulunan ester, amid ve fosfat gruplarının alkol ve asit kısımlarına su eklenmesi sonucu katalize etmektedirler. Hidrolazlar hayvanlar, böcekler ve bitkileri de içine alan organizmaların çoğunda bulunmaktadır (Hollingworth ve Dong, 2008). İnsektisitler üzerindeki hidrolaz enziminin aktivitesi dirençli böcek popülasyonlarında daha yüksektir. Piretroit, karbamat ve organik fosforlu insektisit grupları ester, amid ve fosfat yapılarını içermelerinden dolayı kısa sürede hidrolazlar tarafından detoksifike edilirler. Hidrolazlar içerisindeki en önemli enzim grupları esterazlardır (Yu, 2008).

Esteraz enzimleri böceklerde feromon ve hormon metabolizması, sindirim sistemi ve sinir iletimi, üreme davranışı ve insektisitlere direnç gibi birçok önemli mekanizmada rol oynamaktadır. Böceklerde insektisitlere karşı direnç gelişiminde özellikle asetilkolinesterazlar ve karboksilesterazlar rol oynamaktadır. Bu esteraz grupları organik fosforuların engellenmesinde önemlidir (Baffi ve ark., 2005).

Karboksilesterazlar

İnsektisitlerle seleksiyona maruz bırakılan böcek popülasyonlarının birçoğunda karboksilesteraz enziminin arttığı belirlenmiştir. Karboksilesteraz aktivitesi sonucu insektisitler sinir sistemindeki hedefe ulaşmadan önce zehirliliği giderilmekte ve bu nedenle böcek normal biyolojik fonksiyonuna devam etmektedir. *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae)'de karboksilesteraz aktivitesindeki artışa bağlı olarak direnç de artmaktadır. Popülasyonda direnç artışı ile karboksilesteraz enzim miktarı arasında bir hipotez bulunmaktadır (Devonshire, 1977). Bu hipotezde, "varolan enzimin aynı miktarda, daha etkin olma" görüşünün aksine "dirençli popülasyonlarda hassas popülasyonlara göre daha fazla miktarda enzimin bulunduğu" öne sürülmektedir. *M. persicae*'de karboksilesterazın dirençten sorumlu olduğu kesin olarak anlaşıldıktan sonra, bunun yaprakbiti bireylerinden belirlenebilmesi önem kazanmıştır. Çünkü duyarlı ve çok dirençli yaprakbitleri, toplam karboksilesteraz aktivitesi ile birbirlerinden ayrılabilirler (Velioglu ve Toros, 2006).

Asetilkolinesterazlar

Asetilkolinesteraz (AChE), dokularda serbest veya fosfolipidlerle birleşik halde bulunan lipotropik etkiye sahip asetilkolini hidrolizleyen özelleşmemiş bir enzimdir. Asetilkolin (ACh) sinir uçlarından etkilendiği organa veya sinir ucundan ikinci bir sinir hücresine, sinir implusu taşıma görevini yapmaktadır. Ayrıca sinir ve kas hücreleri boyunca

biyoelektriksel akımın oluşmasını da sağlayan biyolojik önemi büyük olan bir esterdir. Organizmaya verilen organik fosforlu, karbamatlı, klorlu veya diğer bazı kimyasal maddeler asetilkolinin reseptörlerle birleşmesini önlerler (Alon ve ark., 2008). Bunlar sinir ve kasların birleşme yerindeki taşıyıcıları çeşitli şekillerde etkilerler. AChE'i engelleyerek ACh'in sinirlerle kasların birleşme bölgelerinde uzun süre kalarak kasların sinirlere cevabını geciktirirler. Bu bileşiklerin yaygın kullanımı böceklerde çeşitli dirençli bireylerin gelişmesini sağlarken, organizmada dengesiz kas ve sinir fonksiyonlarına neden olur. Organikfosforlular ve karbamatlılar asetilkolin'in benzeri olarak çalışırlar ve asetilkolinin aktif bölgesine bağlanırlar (Anazawa ve ark., 2003).

Asetilkolin hidroliz olmasına rağmen insektisitler, enzim-substrat kompleksi olarak sabit kalırlar. Bu insektisitler asetilkolinesteraz engellemesiyle sinir impulslarının transmisyonunu bloke eder ve asetilkolin reseptörlerinin uyuşmasına neden olurlar (Hollingworth ve Dong, 2008). Sinapsislerdeki artan asetilkolin konsantrasyonu ve daha fazla uyarılmış merkezi sinir sistemi böceklerde ölüme yol açmaktadır (Çakır ve Yamanel, 2005). Levitin ve Cohen, (1998), *Aonidiella aurantii* (Mask.) (Homoptera: Diaspididae)'de organofosfatlılar içerisinde yer alan chlorpyrifos direnci ve AChE enzim aktivitesini incelemişlerdir. Dirençli popülasyonda hassas popülasyonla karşılaştırıldığında 9-13 kat AChE enzim aktivitesi bulunmuşlardır. Stumpf ve Nauen (2002), *T. urticae* popülasyonunda organik fosforlu insektisit olan chlorpyrifos direncinde AChE enzim aktivitesinin etkili olduğunu belirlemişlerdir. Kang ve ark. (2006), *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae)'de organikfosforlu direncinde AChE yoğunluğunun rol oynadığını belirlemişlerdir.

Akar ve Böceklerde İnsektisitlerin Detoksifikasyonunda Etkili Enzimler ile Yapılan Bazı Çalışma Sonuçları

Zararlılarda insektisitlere karşı geliştirilen direnç mekanizmasının enzimlerle ilişkisini incelemek amacıyla yapılan biyokimyasal çalışmalar özellikle son dönemde artmaktadır.

Gonzalez ve ark. (1999), *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) popülasyonunda esteraz ve P450 enzim aktivitelerinin direnç mekanizmasında rol oynayabileceğini belirlemişlerdir. Szlendak ve ark. (2000), *Acarus farris* (Oudemans) (Acari: Acaridae) ve *Acarus siro* L. (Acari: Acaridae) esteraz enzim aktivitesinin pirimiphos-methyl direncinde rol oynadığını belirtmişlerdir. Vontas ve ark. (2000), böceklerdeki (GST) enzim aktivitesinin genellikle kısıtlayıcı Glutatyon (GSH) ve 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) gibi substratlar kullanılarak spektrofotometrik kinetik ölçümler yapılarak hesaplandığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada GSH ve CDNB kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda GST enziminin böcek direncinde rol oynayabileceği bulunmuştur. Stumpf ve Nauen (2001), *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)'nin METI-akarisit dirençli iki popülasyonunda 2.4 ve 1.7 kat P450 enzim aktivitesi belirlemişlerdir. Rauch ve Nauen (2003), *T. urticae*'nin spirodiclofen'e 13 kat dirençli bir popülasyonunda 1.2 kat karboksilesteraz, 1.2 kat GST ve 2.1 kat P450 enzim aktivitesi belirlemişlerdir. Riberio ve ark. (2003), *Sitophilus zeamais* Motschulsky. (Coleoptera: Curculionidae)'ın popülasyonunda cypermethrin direnç mekanizmasında esteraz enziminin rol oynadığını belirlemişlerdir. Van Leeuwen ve ark., (2004), *T. urticae*'nin popülasyonunda chlorfenapyr direncinde esteraz enziminin büyük rol oynadığı tespit etmişlerdir. Bues ve ark., (2005), *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)'de deltamethrin ve methomyl

dirençli popülasyonlarında yüksek düzeyde esteraz ve P450 enzim aktivitesi belirlemişlerdir. Wheelock ve ark. (2005), karboksilesteraz enziminin piretroit, organikfosforlu ve karbamatların zehirliliğinin giderilmesinde büyük rol oynadığını belirtmişlerdir. Rakotondravelo ve ark. (2006), *Chironomus tentans* Fab. (Diptera: Chironomidae)'da atrazine, DDT ve chlorpyrifos'un esteraz, GST, AChE ve P450 enzim aktiviteleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Chlorpyrifos uygulanması sonucunda ise AChE, esteraz ve GST enzim aktivitelerinde artış tespit edilmiştir. Sato ve ark., (2006), *Amblyseius womersleyi* Schicha. (Acari: Phytoseiidae)'nin hassas ve methidathion dirençli popülasyonunda P450 enzim aktivitesini araştırmışlardır. Larva döneminde en düşük P450 aktivitesi tespit edilirken; protonimf, deutonimf ve ergin dönemlerde yüksek P450 aktivitesi belirlenmiştir. Wang ve Wu (2007), *B. tabaci*'de imidacloprid, emamectin benzoate çapraz direncinin ve abamectin direncinin P450 ve GST enzim aktivitesiyle ilgili olduğunu belirlemişlerdir. Huang ve Han (2007), *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) hassas ve dirençli popülasyonlarında piretroit ve AChE hedefli insektisitler arasında gelişen çapraz direncin MFO ve esteraz aktivitelerinin artması sonucu oluşabileceği belirtmişlerdir. Ay ve Yorulmaz (2008), 21.84 kat bifenthrin dirençli *T. urticae* popülasyonunda esteraz ve GST enzim seviyelerinin başlangıç popülasyonuna göre arttığını belirlemişlerdir. Yorulmaz ve Ay (2009), 35.05 kat abamectin dirençli *T. urticae* popülasyonunda esteraz enzimini EST 3 bantı ve P450 enzimlerinin abamectin direnci ile bağlantılı olabileceğini belirtmişlerdir. Ay ve Yorulmaz (2009), 91.45 kat chlorpyrifos dirençli *T. urticae* popülasyonunda esteraz enzim seviyesinde artış belirlerken; GST ve P450 enzimlerinin chlorpyrifos direncini etkilemediklerini bildirmişlerdir.

Sonuç

Ülkemizde son yıllarda tarımsal mücadelede birçok etkili maddenin kullanımı yasaklanmıştır. Bunun sonucunda tarımsal alanlarda daha az sayıda insektisit birçok zararıya karşı kullanılacaktır. Bu maddelerin yoğun olarak kullanılması sonucunda da birçok zararlıda direnç gelişimi meydana gelebilir. Bu nedenle özellikle zararlılarda direnç gelişiminin kısa sürede belirlenmesi açısından etkili yöntem olan biyokimyasal çalışmalar da önem kazanacaktır. Özellikle böceklerde direnç mekanizmasına etki eden enzimler ve etkili maddeler arasındaki ilişkinin açıklık kazanması sonucunda direnç mekanizmalarının kısa sürede belirlenmesi kolaylaşacaktır.

Kimyasallara karşı direnç geliştirmiş zararlılarda yoğun ilaç kullanımı, maliyeti arttırdığı gibi çiftçiyi olumsuz etkilemekte ve çevre kirliliğine sebep olmaktadır. İnsektisit direncinin çalışılması zararlı yönetim programlarının geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Direnç mekanizmalarının bilinmesi çapraz direnç oluşumunu belirlemeye yardım etmekte ve alternatif insektisitlerin seçimini kolaylaştırmaktadır. Direncin belirlenmesindeki en önemli amaç, en az düzeyde dayanıklılığa sebep olan insektisitlerin belirlenerek, üreticiye tavsiye edilebilmesini sağlamaktır.

Kaynaklar

Akgünlü, F., Z., 2005. *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)'nin Değişik Popülasyonlarının Sentetik Pyretroidli İlaçlara Karşı Meydana Getirdiği Direncin

- İzlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 41s, Ankara.
- Alon, M., F. Alon, R. Nauen and S. Morin, 2008. Organophosphates Resistance in the B-biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is Associated with a Point Mutation in an Ace1-type Acetylcholinesterase and Overexpression of Carboxylesterase. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38, 940–949.
- Anazawa, Y., T. Tomita, Y. Aiki, T. Kozaki and Y. Konoa, 2003. Sequence of a cDNA Encoding Acetylcholinesterase from Susceptible and Resistant Two-spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 33: 509–514.
- Ay, R. and Yorulmaz, S., 2008. The Evaluation of the Esterase and Glutathion S-Transferase Enzymes in Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* Koch (Acarina:Tetranychidae) Selected with Bifenthrin. *Integrative Acarology Proceedings on the 6th European Association of Acarologists Congress*, 419-424, 21-25 July, Fransa.
- Ay, R. ve S. Yorulmaz, 2009. Inheritance and Detoxification Enzyme Levels in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) Strain Selected with Chlorpyrifos. *Journal of Pest Science* , (basılmamış yayın).
- Baffi, M. A., C. D. Pereira, G. R. Souza, A. M. Bonetti, C. B. Ceron and L. R. Gourlart, 2005. Esterase Profile in a Pyrethroid-Resistant Brazilian strain of the Cattle Tick *Boophilus microplus* (Acari, Ixodidae). *Genetics and Molecular Biology*, 28(4): 749-753.
- Brodgon, W. G. and J. C. McAllister, 1998. Insecticide Resistance and Vector Control. *Emerging Infectious Diseases*, 4(4): 605-613.
- Brown, W. 1958. Insecticide Resistance in Arthropods. W.H.O., 1958, 240 p. Genewe.
- Bues, R., J. C. Bouvier, L. Boudinhon, 2005. Insecticide Resistance and Mechanism of Resistance to Selected Strains of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in the South of France . *Crop Protection*, 24: 814-820.
- Çakır, Ş. ve Ş. Yamanel, 2005. Böceklerde İnsektisitlere Direnç. *Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi*, 6(1): 21-29.
- Devonshire, A., L., 1977. The Properties of a Carboxylesterase from the Peach-Potato Aphid, *Myzus persicae* (Sulz.), and its Role in Conferring Insecticide Resistance. *Biochemical Journal*, 167, 675-683.
- Feyereisen, 1999. Insect P450 Enzymes. *Annual Review of Entomology*, 44: 507–33.
- Giray, H., 1977. Böceklerin İnsektisitlere Karşı Dayanıklılığı. *Türkiye Bitki Koruma Dergisi*, 1 (1): 29-38.
- Gonzalez, T., J. A. Bisset, C. Diaz, M. M. Rodriguez, M. B. Brandolini, 1999. Insecticide Resistance in a *Culex quinquefasciatus* Strain from Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 94(1): 121-132.
- Hollingworth, R.M. and K. Dong, 2008. The Biochemical and Molecular Genetic Basis of Resistance to Pesticides in Arthropods. (*Global Pesticide Resistance in Arthropods*, Ed: Whalaon, M.E., Mota-Sanchez, D. And Hollingworth, R.M.), 40-90, Cromwell, UK.

- Huang, S. and Z. Han, 2007. Mechanisms for Multiple Resistances in Field Populations of Common Cutworm, *Spodoptera litura* (Fabricius) in China. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87, 14-22.
- Kang, C. Y., G. Wu, T. Miyata, 2006. Synergism of Enzyme Inhibitors and Mechanisms of Insecticide Resistance in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (HOM., Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology*, 130(6-7): 377-385.
- Konanz, S. and R. Nauen, 2004. Purification and Partial Characterization of a Glutathione S-transferase from the Two-spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 79(2): 49-57.
- Kranthi, K., R., 2005. Insecticide Resistance Monitoring, Mechanisms and Management Manual. Central Institute for Cotton Research 51-87.
- Krieger, R., I., 2001. Handbook of Pesticide Toxicology Second Edition. Academic Press, 531-554.
- Levitin, E. and E. Cohen, 1998. The Involvement of Acetylcholinesterase in Resistance of the California Red Scale *Aonidiella aurantii* to Organophosphorus Pesticides. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 88: 115-121.
- Öncüer, C., 2004. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, No: 19, 424s. Aydın.
- Pottelberge, S. V., T. V. Leeuwen, K. V. Amermaet and L. Tirry, 2008. Induction of Cytochrome P450 Monooxygenase Activity in the Two-spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* and Its Influence on Acaricide Toxicity. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 91, 128-133.
- Rakotondravelo, M. L., T. D. Anderson, R. E. Charlton, K. Y. Zhu, 2006. Sublethal Effects of Three Pesticides on Activities of Selected Target and Detoxification Enzymes in the Aquatic Midge, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51: 360-366.
- Rauch, N. and R. Nauen, 2003. Spirodiclofen Resistance Risk Assessment in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): a Biochemical Approach. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 74: 91-101.
- Riberio, B. M., R.N.C. Guedes, E. E. Oliveira, J. P. Santos, 2003. Insecticide Resistance and Synergism in Brazilian Populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, 39: 21-31.
- Sato, M. E., T. Tanaka, T. Miyata, 2006. Monooxygenase Activity in Methidathion Resistant and Susceptible Populations of *Amblyseius womersleyi* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, 39: 13-24.
- Scott, J., G., 1999. Cytochromes P450 and Insecticide Resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*: 29, 757-777.
- Soderlund, D., M., 1997. Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance. (Molecular Mechanisms of Resistance to Agrochemicals, Volume Ed: Sjut, V., Chemistry of Plant Protection, Ed: Ebing, V.), Vol: 13, 21-73, Springer Germany.
- Stumpf, N. and R. Nauen, 2001. Cross-Resistance, Inheritance and Biochemistry of Mitochondrial Electron Transport Inhibitor-Acaricide Resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Applied Entomology*, 94(6): 1577-1583.

- Stumpf, N. and R. Nauen, 2002. Biochemical Markers Linked to Abamectin Resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 72: 111-121.
- Susurluk, H. 2008. İki benekli Kırmızıörümcek *Tetranychus urticae* Koch (Acarina:Tetranychidae)'de Piretroid İnektisitlere Karşı Oluşan Direncin Moleküler Karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi.
- Szlendak, E., C. Conyers, J. Muggleton, B. B. Thind, 2000. Pirimiphos-methyl Resistance in Two Stored Product Mites, *Acarus siro* and *Acarus farris*, as Detected by Impregnated Paper Bioassay and Esterase Activity Assay. *Experimental and Applied Acarology*, 24: 45-54.
- Tsagkarakou, A., T. V. Leeuwen, A. Khajehalil, M. Grispou, M. S. Williamsons, L. Tirry, and J. Vontas, 2009. Identification of Pyrethroid Resistance Associated Mutations in the Para Sodium Channel of the Two Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae). *Insect Molecular Biology*, 18(5): 583-593.
- Uğurlu, S. 2001. *Heliothis armigera* (HUBN.) (Lepidoptera: Noctuidae)'nin Değişik Popülasyonlarının Bazı İnektisitlere Karşı Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Doktora Tezi, 86s, Ankara.
- Van Leeuwen, T., V. Stillatus, L. Tirry, 2004. Genetic Analysis and Cross-Resistance Spectrum of a Laboratory-Selected Chlorfenapyri Resistant Strain of Two-spotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae). *Experimental & Applied Acarology*, 32: 249-261.
- Velioğlu, S. ve S. Toros, 2006. *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae)'de İnektisitlere Direnç ile İlişkili Karboksilesterazın Spektrofotometre ve Elektroferez ile Belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 46: (1-4) 1-12.
- Vontas, J. G., A. A. Enayati, G. J. Small, J. Hemingway, 2000. A Simple Biochemical Assay for Glutathione S-Transferase Activity and Its Possible Field Application for Screening Glutathione S-Transferase- Based Insecticide Resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 68: 184-192.
- Yorulmaz, S. ve R. Ay, 2009. Multiple Resistance, Detoxifying Enzyme Activities and Inheritance of Abamectin Resistance of *Tetranychus Urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33 (4): 393-402.
- Yu, S. J. 2008. *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*. CRC Pres Taylor-Francis Group, 250 pp.
- Wang, L. and Y. Wu, 2007. Cross-Resistance and Biochemical Mechanisms of Abamectin Resistance in the B-type *Bemisia tabaci*. *Journal of Applied Entomology*, 131(2), 98-103.
- Wilson, T., G. and E. Hodgson, 1971. Microsomal NADPH-Cytochrome C Reductase From The Housefly, *Musca Domestica*, Properties of The Purified Enzyme. *Insect Biochemistry*, 1: 19-26.
- Wheelock, C. E., G. Shan, J. Ottea, 2005. Overview of Carboxylesterases and Their Role in the Metabolism of Insecticides. *Journal of Pesticide Science*, 30(2): 75-3.