

BÖCEKLERDE İNSEKTİSİDLERE DİRENÇ

Şükran ÇAKIR

Kırıkkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kırıkkale/TÜRKİYE
sukrancakir@yahoo.com

Şengül YAMANEL

Kırıkkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kırıkkale/TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 02.11.2004

Yayına Kabul Tarihi: 08.02.2005

ÖZET

Son yıllarda böceklerle mücadelede insektisidlerin yaygın kullanımı zararlıların bu kimyasallara direnç kazanmalarına sebep olmuştur. Böceklerde direnç gelişimi nedeniyle kullanılan insektisid dozundaki artış çevre ve insan sağlığı yönünden önemli problemlere neden olmuştur. Bu çalışma, böceklerle mücadelede yaygın olarak kullanılan insektisidler, böceklerde insektisidlere karşı oluşan direnç tipleri, dirence neden olan genetik değişiklikler, böceklerde direnç ile ilgili enzimler ve direnç mekanizmaları konularını içermektedir.

Anahtar Kelimeler: İsektisid direnci, direnç mekanizmaları, direnç enzimleri

RESISTANCE TO INSECTICIDES IN INSECTS

ABSTRACT

In recent years, the frequent usage of insecticides in struggle against insects, has caused development of resistance to those chemicals in insects. The increase in dosage of insecticide used due to development of resistance in insects, causes important problems in terms of environment and human health. This study includes topics such as insecticides which are used frequently in insect struggle, insecticide resistant types, genetic changes posing resistance, enzymes of resistance and resistance, and mechanisms.

Key Words: Insecticide resistance, Resistance mechanisms, Resistance enzymes

1. GİRİŞ

İsektisitlerin yaygın kullanımı böceklerin adaptasyon göstererek bu insektisitlere direnç kazanmalarına sebep olmuştur. Bu kazanımların genetik kökenli olması sebebiyle direnç sonraki döllere de aktarılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü 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 tanımlamaktadır. 500'den fazla arthropod türünün bir veya daha çok insektisite direnç geliştirdiği belirlenmiştir (Plapp, 1984). Bu durum tarımda önemli ürün kayıplarına yol açarken hastalık etmenlerinin taşıyıcısı olan karasinek, sivrisinek gibi böceklerle mücadelede başarıyı düşürmektedir. İsektisit direncinde görülen bu mikro-evrim her geçen yıl birim alanda daha fazla

kimyasal kullanımına yol açmaktadır. Bu da hedef olmayan türler üzerinde negatif etki ve çevresel kirlenme gibi ciddi ekolojik problemleri ortaya çıkarmaktadır (Kence, 1988). İsektisit direncinin evrimi zararlı böcek popülasyonlarının kontrolü açısından önemli bir sorun oluşturmaktadır. Zararlı böcek popülasyonlarında isektisitlere karşı direncin ekolojik genetiğinin çalışılabilmesi ve biyolojik mücadele stratejilerinin geliştirilebilmesi için, dirence neden olan genlerin teşhis edilmesi ve metabolizmasının anlaşılması gerekmektedir. Böcek direnci ilk olarak 1946'da karasineklerde (*Musca domestica*), DDT direnci ile gündeme gelmiştir ve o zamandan beri zararlı böceklerin kontrolünde büyük sorunlar görülmektedir. Düşük fototoksitesitesi ve çabuk bozunma oranına sahip olduğundan, memeli ve kuşlarda düşük toksik etkiye sahip olmasından dolayı 1960'lardan bu yana organofosfatlı isektisitler geniş ölçüde kullanılmaktadır. Fakat son yıllarda bu kimyasalların ekosisteme olan zararları bilindiğinden biyolojik mücadele, kültürel mücadele ve mekanik mücadele gibi alternatif arayışlar içerisine girilmiştir. (Kasap ve Alptekin, 1997)

1.1. Böceklerle Mücadelede Yaygın Kullanılan İsektisidler

Böceklerle mücadelede 4 temel isektisid grubu yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunları, Organoklorinler, Pyrethroidler, Organofosfatlar ve Karbamatlar olarak gruplandırabiliriz. İsektisidlerin çoğunun böcek türlerine yönelik seçkin isektisidal etkileri, başlıca hedefleri konumundaki sinir sistemine yönelik toksisitelerinden kaynaklanır. Gelişmiş canlılarda sinir sistemi en duyarlı sistemlerin başında gelir.

Organoklorin grubu isektisidlerin birinci derecede etki yerlerinin böceklerin

sinir sistemi olduğuna dair yeterli kanıtlar mevcuttur (Yavuz ve Şanlı, 1999). Bu isektisitler Ca-Mg ATP' azları da inhibe edebilirler. DDT, dieldrin, aldrin, lindan gibi isektisidler bu gruba dahil edilebilir (Yavuz ve Şanlı, 1999).

Pyreteroid grubu isektisitler, Tip-I (permetrin, tetrametrin, piretrinler vb.) ve Tip II (sipermetrin, deltametrin vb.) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Tip I pireteroidler tipik olarak sinirsel boşalıklarda kendini gösteren ve yere serici etkinliği ısıyla ters ilişkili, olan sinirsel eksitasyonlara yol açarlar. Tip I pireteroidler DDT ye benzer biçimde isektisidal etki oluştururlar. Tip II pireteroidler ısı ile orantılı olarak öldürücü ve sinirsel iletimi engelleyici yönde etki yaparlar. Tip I pireteroidler Ca-ATP' azı Tip II pretroidlerden daha etkin bir şekilde inhibe ederler (Yavuz ve Şanlı, 1999).

Organofosfatlı isektisidlerin en dikkat çekici özelliği, hedef enzim niteliğindeki kolinesteraz enzimi ile yapısal bütünleşme konumunda olmalarıdır. Aslında organik fosforlu isektisidler kolinesteraz enziminin doğal substratı konumundaki asetil kolini taklit ederler. Malathion, parathion, diklorvas, diazinon organofosfatlı isektisidlerdendir (Yavuz ve Şanlı, 1999).

Karbamat grubu isektisidler organofosfatlara benzerler ancak onlardan iki yönüyle farklılık gösterirler. Birinci farkı kolin esteraz enziminin anyonik yanı ile kompleks oluşturabilen kuaterner veya bazik nitelikli bir azot grubuna sahip olmasıdır. Oysa organofosfatlı isektisitler hiçbir şekilde bazik pH' lı olamazlar bu durumda iyonize olabilecekleri için böceklerin kütikulasına ve sinirlerin kılıfına geçiş yetenekleri önemli derecede azalır. Karbamat grubu isektisitler ve organofosfatlı bileşikler arasındaki ikinci

önemli fark, karbamat insektisitlerin kolinesteraz inhibisyonu esasına dayanan etkilerinin belirgin derecede dönüşümlü olmasıdır. Karbamat grubu insektisidlere karbaryl ve karbafuran örnek verilebilir (Yavuz ve Şanlı, 1999).

1.2. Böceklerde İnsektisidlere Karşı Oluşan Direnç Tipleri

Pestisidlerin yaygın ve bilinçsiz kullanımı sonucu zararlılarda özel, davranışsal, yapısal, fizyolojik ve çapraz direnç olmak üzere 5 tip genetik kökenli direnç ortaya çıkmaktadır. Aşağıda verilen tüm direnç tiplerinde neden mutasyon kökenli yeni genetik kazanımlardır. Özel direnç, zararlının bireysel özelliği nedeniyle ortaya çıkan dirençliliktir. Örneğin aynı takımın aynı familyasında bulunan iki böcekten birisi bir pestiside duyarlı iken diğesinde dirençlilik görülebilir. Davranışsal Direnç, yeni nesil zararlıların pestiside temasını sağlayan mekanizmadan kaçınmalarıdır. Örnek olarak sivrisineklerin ilaçlanan bölgelerde dinlenmemesi ve üreme alanlarını değiştirmesi verilebilir. Yapısal direnç, zararlının vücut özelliklerinden kaynaklanan dirençtir. Zararlı vücudunun ilaçla temasının az olması, veya ilacın etki göstereceği yere taşınmasının engellenmesi şeklinde adaptasyon geliştirir. Fizyolojik direnç, zararlının pestiside karşı bağışıklık kazanmasıdır. Örneğin dış iskelet pestiside karşı daha az geçirgen olabilir, zararlı pestisidi vücudunda depolayabilir veya zarar görmeden atabilir. En önemli direnç şeklidir ve sentetik pestisitlerin kullanımı ile çok büyük oranlarda ortaya çıkmaktadır. Çapraz direnç, bir grup pestiside karşı gelişen direncin diğer gruplardaki pestisidlere karşı da oluşmasıdır. Buna en iyi örnek; Organoklorin grubu insektisitlerden DDT'ye dirençli bazı karasinek ve sivrisinek

ırklarının, kullanılan pyretroidlere karşı da direnç göstermeleridir (Şanlı, 1998).

1.3. Direnç Gelişimini Etkileyen Faktörler

Direnç gelişimini etkileyen faktörler; biyolojik faktörler, genetik faktörler ve işlevsel faktörler olarak üç grup altında toplanabilir. Biyolojik faktörler arasında generasyon süresi, her genarasyonda oluşan birey sayısı ve biyolojik göç sayılabilir. Genetik faktörler, direnç genlerinin frekansı ve baskınlığı, dirençli bireylerin başarısı, farklı direnç alellerinin başarısı şeklinde ifade edilebilir. İnsan bu faktörlere etki etmez. İnsektisit kimyası ve kullanımı işlevsel faktörlerdendir. İşlevsel faktörler insanoğluna bağlıdır ve insektisit direncinin evriminde önemlidir (Koçak, 1998)

Direnç gelişiminin azaltılması için pestisid uygulamaları geniş alanlar yerine daha sınırlı alanlarda yapılmalı, pestisidler tüm mevsimler yerine, sadece zararlıların üreme dönemlerinde ve erginlerin aşırı çoğaldığı dönemlerde kullanılmalı, olabildiğince kimyasal olmayan diğer kontrol yöntemlerinden yararlanılmalı, vektör kontrolünde kalıcı pestisidler yerine, kalıcı olmayan, çabuk etkili pestisidler kullanılmalı uygulamada zararlı için önerilen öldürücü doz miktarına dikkat edilerek, yeterli dozun uygulanmasına özen gösterilmeli larva ve ergin mücadelelerinde değişik grup kimyasallardan yararlanılmalı, birbirleri ile yakınlığı olmayan pestisidler aynı dönemde karışık veya dönüşümlü olarak kullanılmalı, pestisidlerin etkisini arttıran sinerjist maddeler kullanılmalı ve ilaç rotasyonu uygulanarak her seferinde değişik ilaçlar kullanılmalıdır (Şanlı, 1998).

1.4. Direnç Neden Olan Mutasyon Tipleri

Direnç mutasyon adı verilen genetik değişimler sonucu ortaya çıkmaktadır. Genetik kökenli bu değişimler: genin kopya sayısının çoğalması (gen amplifikasyonu), genin fazla çalışması (overexpression), ürün yapısındaki değişiklik (aminoasit değişikliği) ve alel yokluğu olarak kendisini ifade eder. Gen amplifikasyonu ile direnç oluşumu bir afid olan *Myzus persicae* ve bir sivrisinek olan *Culex quinquefasciatus* organofosfatlara direnç belirli bir karboksilesteraz geninin 300'e kadar kopyalarının ikili gen amplifikasyonlarınca elde edilmiştir (organizmanın toplam proteininin yaklaşık %3'ü). Enzim önemsiz bir organofosfat hidrolitik aktivitesine sahip olmasına rağmen onun fazla ekspresyonu organizmanın hayatta kalması için organofosfatların yeterli miktarını ayırmayı mümkün kılar ve bu hidroliz için neurotransmitter asetilkoline ihtiyaç duyan target site (hedef bölge) asetilkolinesterazın inhibisyonunu önler ve direnç gelişir. Genin fazla çalışması ile direnç oluşumu, gen ekspresyonunun regülasyonu (gen ifadesinin düzenlenmesi) ile gen ifadesindeki değişiklik gen ürününün miktarını da değiştirebilir (Hemingway, 2000). OP dirençli Rutgers soyunda P-450 gen ailesinden olan CYP6A1 ve CYP6D1 genlerinin overekspresyonunun direnç oluşumunda etkili olduğu görülmüştür (Jeffrey, 1999). Aminoasit değişikliği dedirenç neden olabilir. Diazinon dirençli *M. domestica*'da Md α E7 geninde mutasyon sonucu enzimin aktif bölgesindeki aminoasit değişimi (Gly 137→Asp) organofosfat hidrolazın artışından ve karboksilesterazın aktivitesinden sorumludur. Malathion dirençli *L. cuprina*' da Lc α E7 geninde enzimin aktif bölgesindeki aminoasit

değişimi (Trp251→Leu) organofosfat hidrolaz aktivitesinde ve malathion karboksilesteraz aktivitesinde artış meydana getirmiştir (Jeffrey, 1997).

Daborn ve arkadaşları tarafından *D. melanogaster* de araştırılan DDT direnç mekanizmasına göre; Direnç Cyp6g1 olarak bilinen bir P-450 geni ile bağlantılı bulunmuştur. Bu genin son 40 yılda dünyanın her tarafından toplanan DDT dirençli *D. melanogaster*' in 28 soyunda aktif olduğu görülmüştür. Bu soylardaki dirençli Cyp6g1 alelleri olağanüstü homolojiye sahiptir. İntron sekansları ve genin 5' ucunda korunan bir hareketli elementin (Transpozon) varlığıyla gösterilir. Bu buluşlar direncin nasıl yavaş yavaş geliştiğinin anlaşılması için oldukça önemlidir. Cyp6g1'in sadece DDT'ye değil diğer insektisit gruplarının organofosfatlar, neotikotinoidler ve benzoylphenilureasların da geniş bir substrat özgüllüğüne sahip olduğu kaydedilmiştir (Daborn, 2002).

1.5. Böceklerde Dirençle İlgili Enzimler

Böceklerde direnç ile ilgili enzimlerden Esterazlar, Glutathion -S-Transferazlar, P-450 Monooxygenazlar ve Hidrolazlar en çok bilinenleridir.

1.5.a. Esterazlar

Esteraz enzimleri feromon ve hormon metabolizması, sindirim sistemi ve sinir iletimi, üreme davranışı ve insektisitlere direnç gibi bir çok mekanizmada rol oynamaktadır. Organofosfatlar esterazların inhibitörleri olarak bilinir. Esteraz enzimlerinin Asetil esterazlar, Aril esterazlar, Karboksil esterazlar ve Kolin esterazlar olmak üzere 4 sınıfı vardır. Bunlardan Asetil esteraz enzimleri hiçbir inhibitörle etkileşmezler ve genellikle alifatik substratları tercih ederler. Aril

esterazlar yalnızca sülfidril ayraçlarınca inhibe edilir ve genellikle aromatik substratları tercih ederler. Karboksil esterazlar yalnız organofosfatlarca inhibe edilirler. Genellikle asetik asitten daha uzun alifatik esterleri tercih ederler. Kolin esterazlar, organofosfatlarca ve eserin sülfatlarca inhibe edilirler ve diğer alifatik ve aromatik esterler dışında kolinesterleri tercih ederler. Bu esteraz gruplarından karboksil ve kolin esterazlar organofosfat inhibisyonunda önemlidir. Karboksil / kolin esterazlar, aynı zamanda α/β hidrolazların da üyeleridir ve α/β ünitelerinde organize olmuş β tabakasından köken almışlardır. Karboksil/kolin esteraz enzimleri organofosfat insektisitlerince tersinmez olarak inhibe edilir. Organofosfatlı insektisitlerin aktive olmuş oxon formları bu enzimlerle tepkime gösterirler. Bu nedenle organofosfatlı insektisitler esteraz inhibitörleri olarak tanımlanır (Oakeshott et al., 1993). α Esteraz grubu genlerin tümü *D. melanogaster* 'de, çoğu *D. buzzatii*'de bir kısmı da *M. domestica* ve *L. cuprina*' da tesbit edilmiştir. (Oakeshott et al.,1999) *L. cuprina* asetilkolinesteraz aminoasit sekansı *D. melanogaster* ile %85,3 ve *M. domestica* ile %92,4 oranında homoloji gösterir (Oakeshott et al., 1999).

Kence, Kence tarafından 1992'de *Musca domestica* Md $\alpha E7$ geninin 2. kromozom üzerinde lokalize olduğu bulunmuştur. *M. Domestica*' da 2. ve 5. kromozom üzerinde bulunan Md $\alpha E7$ geni ALI 'yi kodlar ve bu Malathion direncine katkıda bulunur (Kence ve Kence, 1992). Brownlie tarafından 1996'da yapılan bir çalışmada Lc $\alpha E7$ geninin *L. Cuprina*'da 4. kromozom üzerinde lokalize olduğu bulunmuştur. Bu genin kodladığı E3 enziminin dirençle bağlantılı olduğu tesbit edilmiştir (Smyth et al., 2000). Robin ve arkadaşlarınca 1996' da

D.melanogaster'le yapılan bir çalışmada *D.melanogaster*'de esteraz grubunun 3. kromozom üzerinde lokalize olduğu bulunmuştur. 1 pseudogen, 2 düzenlenmemiş gen ve yaklaşık olarak 60 kb genişliğinde genomik DNA bölgesi olmak üzere aktif esteraz genlerini içerir (Robin et al., 1996). *D. melanogaster*'de α Esteraz grubu genler EST 23'ü kodlar. EST 23 *Musca domestica* 'da ALI' ye ve *L. cuprina*' da E3'e homolog olmasına rağmen Organofosfat direncinde rol oynamaz.

Yaygın olarak kullanılan böcek ilaçları içerisinde organofosfatlar ve karbamatlar başta gelir. Organofosfatlı insektisitler özellikle sinir sisteminde asetilkolinesteraz üzerinde etkilerini gösterirler. Asetilkolin sinir impulslarının sinapslardan geçişini kolaylaştıran bir nörotransmitter maddedir. Acetylcholinesteraz böceklerdeki merkezi sinir sisteminin cholinergic synapsisinde nörotransmitter acetylcholini hidrolizler. Asetilkolin, Asetilkolin esteraz (AChE) enzimi tarafından kolin ve asetik asite dönüştürülür.Organofosfatlar ve karbamatlar Ach'in analogu olarak çalışırlar (benzer yapısal formüle sahiptirler ve böylece resptör ile aynı yerlerden bağ yapabilirler) . AChE' in aktif bölgesine bağlanırlar.Fakat asetilkolin hidroliz olmasına rağmen, insektisitler, enzim-substrat kompleksi olarak sabit kalırlar. Bu insektisitler asetilkolinesteraz inhibisyonuyla sinir impulslarının transmiyonunu bloke eder ve asetilkolin reseptörlerinin uyuşmasına neden olurlar. Sinapslerdeki asetilkolinin artan konsantrasyonundaki bu sonuçlar ve daha fazla uyarılmış merkezi sinir sistemi ölüme yol açabilir (Chen et al., 2001). Fakat böceklerde de bu etkiyi azaltıcı ve hatta yok edici direnç mekanizmaları gelişmiştir.

1.5.b. Glutathion-S-Transferazlar

Dirençte etkili olduğu düşünülen diğer bir enzim grubu da GST' lerdir. Glutathion-S-Transferazlar (GST) bütün metazoanlar ve bitkilerde bulunan bir izoenzim ailesidir ve temel detoksifikasyon sistemlerinden birisidir. Böceklerde bu enzim ailesi insektisitlerin toksik etkilerine karşı temel bir savunma olarak bilinir. Örneğin *Musca domestica* 'da organofosfat insektisitlere dirençli mutantların GST'nin yüksek seviyelerine sahip olduğu bulunmuştur. *Musca domestica* 'da 0 sınıfı GST' leri önemli bir gen ailesi kodlar. Bu aileden Md GST -1, -2, -3, -4, -6A, -6B genleri tanımlanmıştır. *Musca domestica* 'da Md GST-1,-3 ve -6'nın fazla üretimi OP insektisitlere direnç oluşturur. Md GST-6A dirence diğerlerinden daha fazla katkıda bulunur. Bu genlerle (Md GST-3,-4) ilgili sekansların *Musca domestica* genomunda çoklu kopyaları bulunur (Zhou and Syvanen, 1997). Plapp tarafından 1984'de *Musca domestica* 'nın 2. kromozomunda lokalize olmuş olan genlerin organofosfatlı insektisitlere direnç gösteren GST'nin ekspresyonunu kontrol ettiği gösterilmiştir (Kence, 1998).

1.5.c. Monooxygenazlar

Hücrede fazla ihtiyaç duyulan gen ürünlerini kodlayan genler evrim sırasında dublikasyona uğrayarak bir çok üye içeren gen ailesi formuna dönüşmüşlerdir. P450 süper gen ailesi de bunlardan birisidir. Çünkü bu genler oksijenli solunumun ETS evresinde görev alan cytokrom proteinlerini kodlarlar. Nebert (1987) ve arkadaşları tarafından önerilen nomenklatüre göre sekanslar CYP olarak adlandırılmıştır (CYtokrom P450). 1970 ve 1980 yılları boyunca P450'lerin çok büyük bir miktarı öncelikle memelilerden izole edilerek karakterize edilmiştir. Son zamanlarda

yapılan çalışmalar bir çok böcek türünde P450 gen süper ailesinin 70 aile ile 127 alt aileden oluştuğunu gösterir ve sekansların sayısı hızla büyümektedir. *Caenorhabditis elegans* genomunun sekanslanmasıyla 80 P450 geninin varlığı ortaya çıkarılmıştır (Jeffrey, 1999). Cytokrom P450'nin bağlı olduğu monooxygenazlar, ilaçlar, pestisitler ve bitki toksinleri gibi ksenobiotiklerin katabolizması ve anabolizmasında ve hormonlar, yağ asitleri ve steroidler gibi endergonik bileşiklerin karşılık vermesinin düzenlenmesindeki ilgilerinden dolayı önemli metabolik bir sistemdir. Monooxygenazlar; böcekler, bitkiler, memeliler, kuşlar ve bakteriler gibi bütün aerobik organizmalarda mevcuttur. Cytokrom P450, monooxygenaz sisteminde merkezi oksidazın görevini yapan bir hemoproteindir. Ökaryotlarda P450 'ler E.R ve mitokondrilerde bulunur. Mitokondrideki P450'ler farklı bir elektron taşıma sistemi kullanır ve ökaryot P450'lerden çok primitif prokaryotik P450'lerle daha yakındır (Jeffrey, 1999).

Böcek Monooxygenazlarından P-450 redüktaz ve Cytokrom b5' in direnç gelişiminde rol oynadığı tesbit edilmiştir. Bir böcekte total P450 'nin varlığı ilk kez 1967'de kaydedilmiştir ve son zamanlarda araştırmacılar birkaç böcek türünde çok sayıda P450' lerin varlığını kanıtlamıştır. Böcek P450 redüktazı ilk kez *Musca domestica* 'dan izole edilmiştir ve memeli P450 redüktazına benzerlik gösterir. Cytokrom b5 ilk kez *Hyalophora cecropia* denen bir böcekte tanımlanmıştır. P450 redüktaz ve b5 'in artan seviyelerinin monooxygenaza bağlı insektisit direnci ile bağlantılı olduğu ilk defa *Musca domestica* 'da bulunmuş ve son zamanlarda diğer türlerde de tespit edilmiştir. Böceklerin monooxygenazları pestisitlere direnç,

beslenme, büyüme ve gelişme, bitki toksinlerine tolerans gibi bir çok fonksiyonel role sahiptir. İnsektisitlerin diğer sınıfları için (bir çok organofosfatlar gibi) P450'ler ana bileşiğin aktivasyonunda insektisidal diazoxan (bir fosfat) içerisindeki diazinon gibi detoksifikasyona kolay karışabilir. P450 monoxygenazlar bu nedenle kritik olarak OP'ların insektisidal aktivitesi için açık olacaktır. Belirli bir P450 kolayca aktive olmuş bileşikte non-toxic OP'lara durum değiştirirken aynı P450'nin aktive olmuş fosfatı metabolize etme yeteneği ya azdır veya yoktur. P-450'ler OP'ların insektisit aktivitesini engelleyerek etkili olurlar (Jeffrey, 1999).

1.5.d.Hidrolazlar: Hidrolazlar bir çok organizmada bulunan heterojen enzimlerin büyük bir grubudur. Fosfatazlar, karboksilesterazlar vb. bu kategoriye dahil edilir. Hidrolaza bağlı direnç üzerine yapılan çalışmaların bazıları göstermiştir ki, OP dirençli türler α naftil asetat gibi model substratları hidroliz yeteneği azdır, bu durum mutant ali esteraz hipotezi olarak adlandırılır. Newcomb ve arkadaşları tarafından açıklanan bu hipoteze göre; Normal şartlarda E3 (bir karboksilesteraz) enzimi α naftil asetatı (model substrat) katalitik olarak aktive eder. Eğer E3 (bir karboksilesterazda) enziminde tek bir aminoasit mutasyonu (G137D) olursa bu enzim α naftil asetat substratını katalitik olarak aktive edemez. Fakat OP chlorfenvinphosda (insektisitinin aktif formu) aktivite artışına neden olur ve direnç gelişir. Böylece bir mutasyon sonucu oluşan bir tek aminoasit değişikliği dirence neden olmak için yeterlidir (Newcomb et al., 1993).

1.6. Direnç Mekanizmaları

Pestisidler, radyasyon, sıcaklık, nem, rekabet, hastalık parazitler, gibi çevresel

stresler yaşayan organizmaları sürekli olarak zorlar. Güçlü bireyler, populasyonlar ve komüniteler sürekli değişen bu koşullara nesillerinin devamlılığını sağlamak için kendilerini genetik olarak adapte etmek zorundadır. Bu nedenle bir takım direnç mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar, Hedef bölge (Target-Site) Mekanizmaları ve Detoksifikasyon Mekanizmaları olmak üzere ikiye ayrılır. Her bir böcekte direnç mekanizmaları biyokimyasal ve moleküler metotlar kullanılarak tespit edilebilir. Direnç mekanizmalarının bilinmesi, çapraz direnç spektrumunu belirlemeye yardım eder, alternatif insektisitlerin seçimini kolaylaştırır ve dirençli populasyon bölgelerinin detaylı haritalanmasına izin verir (Cygler et al., 1993)

1.6.a. Hedef Bölge (Target-Site) Mekanizmaları

Mutasyon sonucu oluşan aminoasit değişikliği insektisitinin daha az etkili veya etkisiz olmasına neden olan hedef bölgeye insektisit bağlanmasından sorumludur. OP insektisitlerinin ve karbamatların hedefi sinir sinapslarındaki asetilkolinesterazlardır. Organoklorinlerin ve sentetik pyretroidlerin hedefi ise sinir kılıflarının sodyum kanallarıdır. Axonal sodyum kanalının insektisit bağlanma bölgesinde bir tek amino asit değişikliği olursa pyretroidlere direnç gelişir.

1.6.b. Detoksifikasyon Mekanizmaları

Detoksifikasyon mekanizmaları, insektisitlerinin hedef bölgeye ulaşmadan parçalanması esasına dayanan mekanizmadır. Yaşayan organizmalarda xenobiotiklerin detoksifikasyonundan sorumlu enzimler esterazlar, oksidazlar ve GST'nin büyük multigen ailelerinin üyeleri tarafından kodlanır (Cygler et al., 1993).

2. SONUÇLAR

Son 40 yıllık süre içerisinde çok farklı kimyasal gruplarından pestisid çeşitleri sentezlenerek böcekler, funguslar, kemirici hayvanlar yumuşakçalar ve istenmeyen yabancı ot çeşitleriyle savaşmak amacıyla bütün dünyada çevre sağlığı ve tarımsal mücadelenin hizmetine sunulmuştur. 1970 'li yılların ortasından günümüze kadar 30.000 çeşit pestisid hazırlanarak yaklaşık 1000 çeşit kimyasal bir çok gelişmiş ülkede ruhsatlandırılmıştır. Böylece zararlılarla mücadelede büyük olanaklar sağlanmıştır. Pestisidlerin haşerelere yönelik etkileri olduğu gibi aynı zamanda insana ve çevreye yönelik olumsuz etkileri de mevcuttur. Son yıllarda bu kimyasalların ekosisteme olan zararları bilindiğinden biyolojik mücadele, kültürel mücadele ve mekanik mücadele gibi kontrol yöntemleri giderek yaygınlaşmaktadır. Zararlı böcek popülasyonlarında inkstisidlere karşı direncin ekolojik genetiğinin çalışılabilmesi ve biyolojik mücadele stratejilerinin geliştirilebilmesi için dirence neden olan genlerin teşhis edilmesi ve metabolizmasının anlaşılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Chen Z., Newcomb R., Forbes E., McKenzie J., Batterham P., 2001, The Acetylcholinesterase gene and organophosphorus resistance in the australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 31, 805.
- Cyglar M., Schrag J.D., Susman J.L., Harel M., Silman I., Gentry M.K et al., 1993, Relationship between sequence conservation and three dimensional structure in large family of esterases, lipases and related proteins. *Protein Sci.* 2, 366.
- Daborn P., 2002, *Science*, 297, 2253.
- Hemingway J., 2000, The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 30, 1009.
- Jeffrey G., 1997, Biochemistry of esterases associated with organophosphate resistance in *L. cuprina* with comparisons to putative orthologues in other Diptera. *Biochemical Genetics*. 35, 17.
- Jeffrey G. S., 1999, Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 29, 757.
- Kasap, H ve Alptekin, D., 1997, Sivrisinekler, Vektörlükleri ve Kontrolü. *Türkiye Parazitoloji Derneği*, 13 İzmir.
- Kence M. And Kence A., 1992, Genetic consequences of linkage between malathion resistance and autosomal male-determining factor in housefly (Diptera: Muscidae). *J.Econ. Entomol.* 85, 1566.
- Kence M., 1988, The Ecological Genetics Of Malathion Resistance In House Fly *Musca Domestica*, PhD Thesis. METU, Ankara,.
- Koçak Ö., 1998, Zararlı Savaşımı. Hacettepe Üniversitesi Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, İnkstisid Test Üretim Birimi, Ankara.
- Newcomb R.D., Campbell P.M., Ollis D. L., Cheah E., Russell R. J., Oakeshott J. G. A., 1997, Single amino acid substitution converts a

- carboxylesterase to an organophosphorus hydrolase and confers insecticide resistance on a blowfly. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94, 7464.
- Oakeshott J.G., Van Papenrecht E.A., Boyce T.M., Healy M.J., Russell R.J., 1993, Evolutionary genetics of *Drosophila* esterases. *Genetica.*90,239.
- Oakeshott J. G. Claudianas C., Russell R. J., Robin G.C., 1999, Carboxyl/ cholinesterase: a case study of the evolution of a successful multigene family. *BioEssays.* 21, 1031.
- Plapp F.W., 1984, The genetic basis of insecticide resistance in the housefly: Evidence that a single locus plays a major role in metabolic resistance to insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 22, 194.
- Robin C., Russell R., J., Medveczky K. M., Oakeshott J., 1996, Dublication and divergence of the genes of the α -esterase cluster of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Molecular Evolution.* 43, 241.
- Smyth K.A., Boyce T.M., Russell R. J., Oakeshott J. G., 2000, MCE activities and malathion resistances in field populations of the Australian sheep blowfly (*L. cuprina*). *Heredity.* 84, 63.
- Şanlı Y., 1998, *Veteriner İlaçları Rehberi ve Bilinçli İlaç Kullanım El Kitabı*. ICC Yayınevi, Ankara.
- Yavuz O. ve Şanlı, Y., 1999, Halk Sağlığı ve Vektör Kontrolünde Kullanılan Pestisidler, Pestisid Formülasyonları ve Uygulama Seçenekleri, I. Seminer. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı. Ankara.
- Zhou H. A., Syvanen M., 1997, A complex Glutathione transferase gene family in the housefly *Musca domestica*. *Mol. Gen. Genet.* 256, 187.