

Böceklerde Kütikülanın Yapısı, Deri Değişirme Ve Diflubenzuron'un (DFB) Etkileri

Haluk ÖZPARLAK¹

Özet: Bu derlemede, kütikülaya etki eden insektisitlerin etkilerine bir giriş olarak, böcek kütikülasının yapısı, fonksiyonları, biyokimyası ve deri değişirme siklusu özetlenmiş, kütiküla üzerinde etkili bir insektisit olan diflubenzuron'un (DFB) böcekler üzerindeki etki şekli açıklanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kütiküla, deri değişirme, diflubenzuron (DFB), kitin sentez inhibitörü.

The Structure Of Cuticle, Moulting And Effects Of Diflubenzuron (DFB) In Insects

Abstract: In this review, the functions, structure and biochemistry of the insect cuticle in relation to the moulting cycle were briefly summarised as an introduction to the actions of insecticides that act on the cuticle, and effects of diflubenzuron (DFB) on insects were explained.

Key words: Cuticle, moulting, diflubenzuron (DFB), chitin synthesis inhibitor.

Giriş

Günümüzde zararlı böceklere karşı biyolojik mücadelede arzu edilen sonuçlara ulaşılamaması kimyasal insektisitlerin yaygın bir şekilde kullanılmasına sebep olmaktadır. Kimyasal insektisitler hem tarla şartlarında hem de depolarda zararlı böcek populasyonlarının kontrolünde çok değerli olmalarına rağmen, bunların rastgele kullanımı faydalı böceklerin yok olmasıyla

¹ Selçuk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü KONYA

sonuçlanmakta ve çevresel zararlara yol açmaktadır. Bunun da ötesinde, pek çok böcekte insektisitlere karşı direnç gelişmektedir. Bu problemler, çevreye ve hedef olmayan hayvanlara daha az toksik olan alternatif kontrol ajanlarının önemini artırmaktadır. Bu sebeple böceklerde metamorfozu ve deri değiştirmeyi bozarak ölüme yol açan ve üçüncü nesil insektisitler olarak adlandırılan böcek büyüme regülatörleri (Insect Growth Regulators-IGRs) büyük önem kazanmaktadır. Böcek büyüme regülatörleri genellikle kitin sentez inhibitörü, juvenil hormon analogu ya da ektizon agonisti şeklinde etki eder [1, 2].

Kitin sentez inhibitörleri (chitin synthesis inhibitors-CSIs), diğer arthropodlarda olduğu gibi böceklerde de ekzoiskelet rolünü üstlenmiş olan kütikülayı hedef alır. Böcekler dışında bazı canlılar, örneğin salyangozlar, kabuk biçiminde sert bir dış iskelete sahiptir fakat deri değiştirmeksizin büyüyebilirler. Çünkü kabuk kenarına madde ilavesiyle büyüme sağlar. Büyümenin bu tipi böcekler için söz konusu değildir. Bu sebeple böcekler deri değiştirmek zorundadır. Kitin sentez inhibitörleri böceklerin deri değiştirme yeteneklerini baskılayarak etkilerini yaparlar. Kitin sentez inhibitörlerinin kütikülayı hedef alması kütikülanın kimyasıyla ilgilidir. Böceklerde prokütikülanın yaklaşık % 20-50'si kitindir [3]. Örneğin, *Tenebrio molitor* L. larvalarında kütikülanın %31.3'ü, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarında kütikülanın %38.3'ü ve *Phormia terranova* (Diptera: Calliphoridae) larvalarında kütikülanın %59.5'i kitinden oluşur [4]. Kitin, böcek kütikülasında yaygın olarak bulunduğu ve mantar hücre duvarı, Molluska ve Annelidler hariç diğer canlılarda nispeten çok az bulunduğu için seçici insektisitler olan kitin sentez inhibitörlerine iyi bir hedef oluşturur.

Son yıllarda pek çok entomolojist böceklerin kütikülaya sahip olmaları sayesinde kontrol altına alınabileceklerine inanmaktadır. Bu makalede bu görüşü destekleyen bilgiler özetlenecektir.

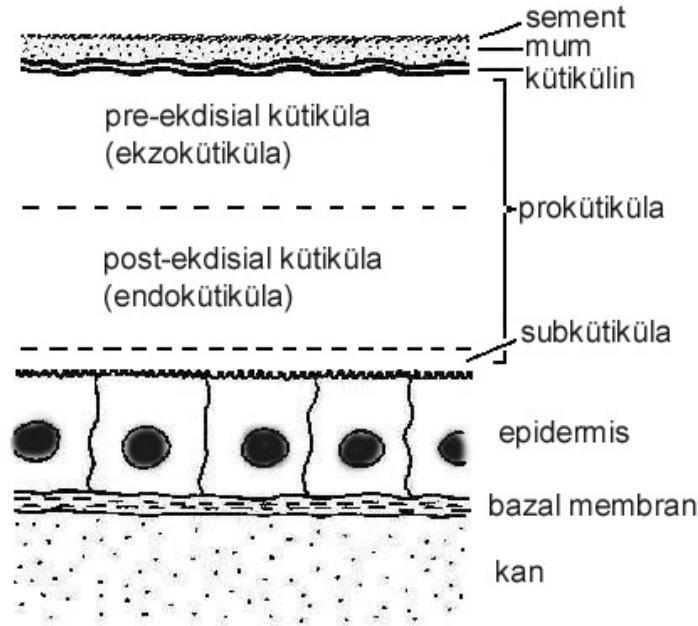
1. Kütikülanın Fonksiyonları

Kas gücünün en faydalı şekilde kullanılabilmesine izin veren bir dış iskelet fonksiyonu üstlenmiş olan kütikülanın ikinci önemli görevi böceği dış ortamdan korumasıdır. Böcekleri vücuda girebilecek infekte edici mikroorganizmalara, parazitlere ve predatörlere karşı koruyan bir vücut zırhı olan kütiküla aynı zamanda böceğin iç dokuları ve dış ortam arasında su, iyon ve insektisit gibi maddelerin geçişine engel bir bariyerdir [3, 5]. Bazı yazarlar böceklerin karasal hayvanlar gibi evrimlerindeki büyük başarılarını su geçirmeyen bir kütikülaya sahip olmaları gerçeğine bağlamıştır [6]. Kütiküla sadece tüm vücut dış yüzeyini örtmekle kalmaz ayrıca trake sistemi, ilk ve son bağırsak gibi vücut içine uzanan organları da örter [5].

2. Kütikülanın Yapısı

Genel olarak omurgasız hayvanlarda vücut örtüsü (integüment), bazal membran üzerine yerleşmiş tek sıralı hücrelerden oluşan epidermis tabakası ve epidermisin salgısıyla oluşan kütiküla tabakasından oluşur [7]. İntegümentin en önemli kısmını oluşturan kütiküla, böceklerde dış yüzeye paralel düzlemde tabakalı bir yapıya sahiptir (Şekil 1). Bu durum kütikülanın yassı epidermal hücrelerden oluşan devamlı bir yapıya sahip epidermis tabakası tarafından salgılanması ile açıklanabilir. Epidermal hücreler yeni kütikülayı salgılama aktiviteleri boyunca prizmatik şekle dönüşürler [8-10]. Epidermal hücreler vücut boşluğundan homojen ve devamlı bir yapı gösteren bazal membranla ayrılır [11, 12]. Böceklerdeki epidermis tabakası özel olarak hipodermis adını da alır [7]. Epidermisin salgıladığı ilk tabaka en dıştaki epikütiküladır. Daha sonra salgılanan iç tabaka prokütiküla adını alır. Kitin ihtiva etmeyen epikütikülada kütikülin, mum ve sement olmak üzere üç tabaka ayırt edilir [5, 13]. Mum ve sement tabakaları kütikülünün dış yüzeyinde olmalarına rağmen

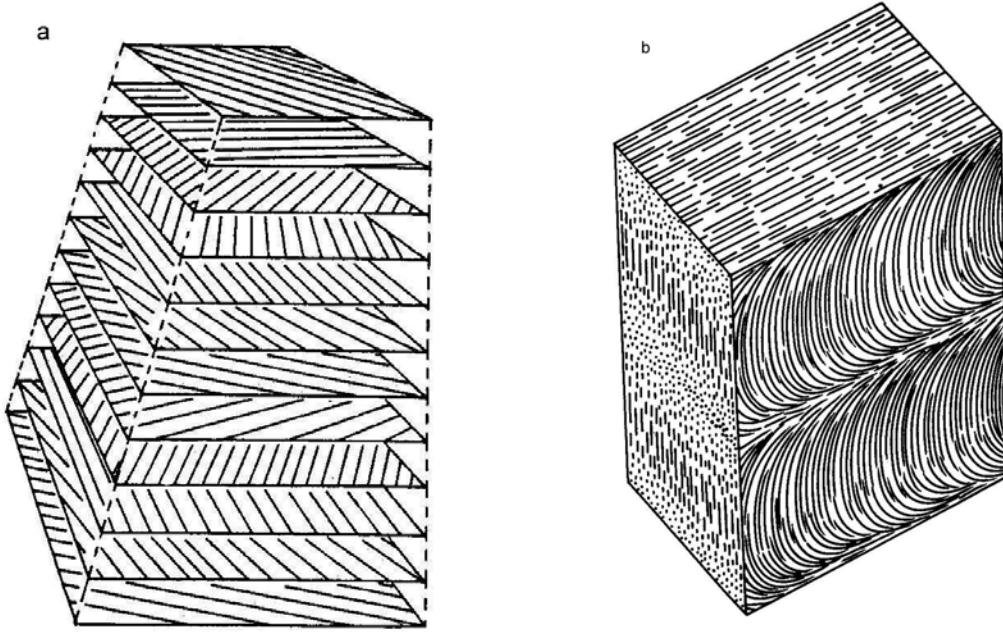
kütikülinden sonra salgılanır. Mum kütikülayı prokütikülada por kanalları, epikütikülada ise özel mum kanalları vasıtasıyla geçer. Mumu kaplayan sert bir koruyucu tabaka olan sement, çoğunlukla Verson's bezleri olarak adlandırılan özel bezlerden deri değiştirme boyunca kütikulanın dış yüzeyine akıtılır [6,11]. Prokütiküla ekzo- ve endokütiküla olmak üzere iki esas tabakadan meydana gelir. Ekzokütiküla kütikülaya sertlik, endokütiküla ise elastikiyet verir [13]. Kütikulanın en kalın tabakası olan endokütiküla ışık mikroskopik düzeyde lamelli bir yapı gösterir [9, 10]. Bazı böceklerde ekzokütikulanın yerinde ya da endokütiküla ve ekzokütiküla arasında ilave bir tabaka bulunur. Kendine has boyanma ile belirlenen bu ince tabaka mezokütiküla adını alır [5, 12, 13]. Son olarak, kütiküla ve epidermis arasında mukoid bileşimli ve kütiküla ile epidermal hücreleri birleştirmeye yarayan bir tabaka daha vardır. Bu tabaka subkütiküla adını alır [12, 13].



Şekil 1. Böcek kütikulasının şematize edilmiş yapısı.

Prokütikulanın ince yapısı incelendiğinde şekilsiz bir protein matris ve bu matris içine gömülmüş matrikse göre daha sert ve ince olan kitin fibrillerden meydana geldiği görülür. Çok sayıdaki böcekten elde edilen yüksek büyültmeli elektron mikrograflarında kitin mikrofibrillerinin çaplarının 2.8 nm, boylarının ise μm ile ölçülebilecek kadar uzun olduğu görülmüştür [3, 6]. Kütikulanın maruz kaldığı gerilimlerin çoğu dış yüzey düzleminindedir. Bu sebeple bir kabuk gibi davranmak zorunda olan fibrilli yapıdaki kütiküla için en ekonomik düzenlenme, fibrilleri dış yüzey düzleminde yönlendirme olacaktır. Fiberglasın (cam yünü) yapısı kütiküla yapısı için güzel bir örnektir. Fiberglasta sertleşmiş cam fibrilleri rasgele olarak dış yüzey düzleminde yönlendirilmiştir. Böcek kütikulasında ise fiberglastan farklı olarak kitin mikrofibrilleri son derece organize olmuş helizoidal bir sırada düzenlenmiştir. Kitin mikrofibrillerinin peş peşe gelen her bir tabakası göreceli olarak saat yönünün tersine birkaç derece çevrilmiştir (Şekil 2-a). Bu yolla dış yüzey düzleminde her yönde yönlendirilmiş mikrofibriller içeren ve tüm yönlerde kuvvetin aynı dağıtıldığı bir yapı inşa edilmiş olur [3, 6].

Düşey kesitlerdeki elektron mikrograflarında yukarıda bahsedilen helizoidal yapının kütikülada parabolik eğriler olarak görüldüğü ve şekil 2-b'de görüldüğü gibi her bir parabolün göz yanıltıcı bir şekilde bir lamel ya da bir tabaka görüntüsüne yol açtığı bildirilmiştir [14]. Bununla birlikte, kütikülanın tamamının helizoidal olmadığı, özellikle pek çok ergin böcekte kitin mikrofibrillerin rastgele yönde yönlendirilmiş kütiküla bölgelerine sahip olduğu da bildirilmiştir [6, 14].



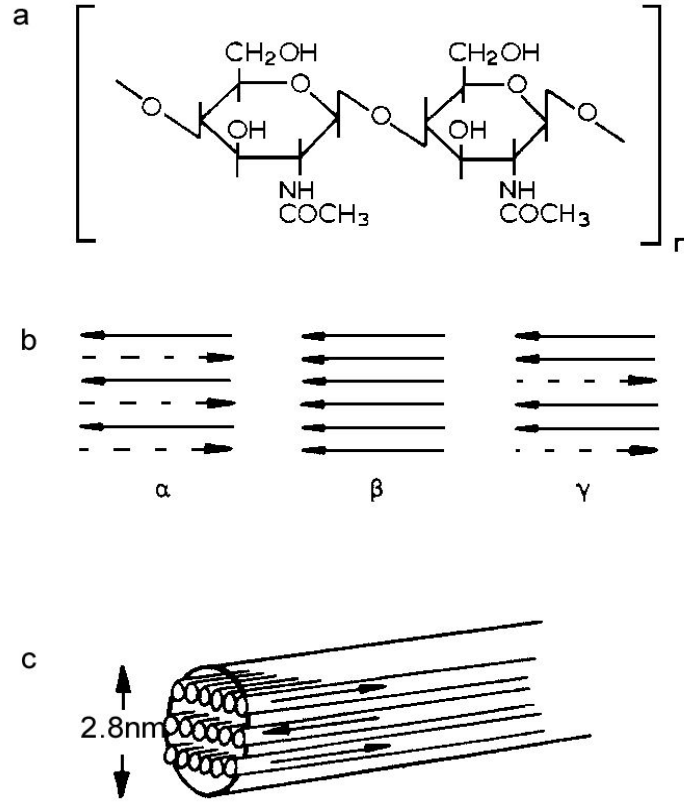
Şekil 2. a) Böcek kütikülasında kitin mikrofibrillerin helizoidal düzenlenmesi b) Endokütikülada parabolik eğriler ve oluşan lamelli görüntü (Bu şekilde iki lamel görülmektedir) [Locke (1974) ve Reynolds'dan (1987) değiştirilerek].

3. Kütikülanın Biyokimyası

Kütiküla mikrofibrilleri azotlu bir polisakarit olan kitinden yapılmıştır. Kitin, β (1-4) düzeninde birbirine bağlanmış N-asetilglukozaminin basit bir polimeridir (Şekil 3-a). Kitinin üç kristal formu bilinmektedir. Bunlar; α , β ve γ formlarıdır [13]. Bunlardan yalnızca α -kitinin arthropod vücut duvarı kütikülasında bulunduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, her üç formun böcek bağırsağının peritrofik zarında bulunduğu tespit edilmesi kitin sentez inhibitörlerinin etkisi göz önüne alındığında önemli bir noktadır [6].

Her bir kitin mikrofibrili, muhtemelen birbirleriyle hidrojen bağlarıyla bağlanmış ve birbirlerine paralel 18-21 kitin molekülünden yani poli-N-asetilglukozamin zincirinden meydana gelir [3]. Kitin mikrofibrilindeki her bir polimer zinciri β (1-4) bağlantısından dolayı belirli bir yöne sahip olmasına rağmen α -kitinin mikrofibrillerinde böyle değildir (Şekil 3-b ve c). Çünkü her bir fibril ikili antiparalel

poli N-asetilglukozamin zincirleri içerir. Bu yapının kütikülanın helizoidal yapısının kendiliğinden yapılanmasında önemli olabileceği bildirilmiştir [6].

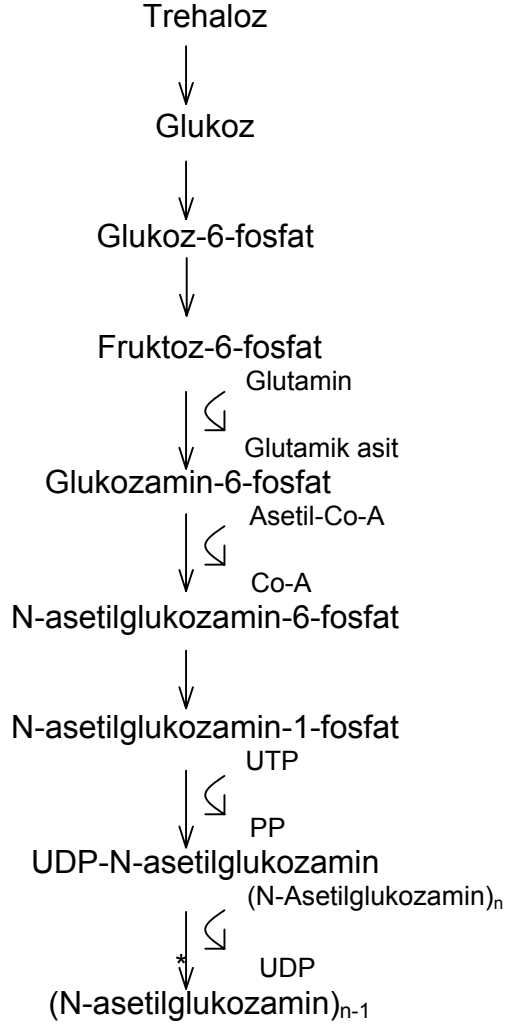


Şekil 3. a) Kitinin kimyasal yapısı b) Kitinin kristal formu c) Kitin mikrofibrillerin düzenlenişi [Reynolds'dan (1987) değiştirilerek].

Kitin sentezinin biyokimyası şekil 4'de görüldüğü gibidir. Bu metabolik yola göre kitin sentezinin temel birimi olan glukoz-6-fosfat enerji bakımından zengin öncü molekül uridin difosfat-N-asetilglukozamin'e (UDPAGA) dönüştürülür. Her bir N-asetilglukozam'in yeni sentezlenen kitin zincirine son transferinin bir lipit akseptör (muhtemelen dolisilfosfat) üzerinden gerçekleştirildiği ve epidermal hücre zarında yerleşmiş olan kitin sentetaz tarafından katalize edilen bu son basamağın epidermal hücre zarı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu durum kitin fibrillerin epidermal hücreler içinde değil de epidermal mikrovillusların uçlarından büyüdüğüne dair elektron mikroskopik delillerle açıklanmaktadır [3, 6].

Kütikülanın kitin dışında diğer esas bileşeni proteindir. "Arthropodin" adı verilen protein tüm prokütikülanın % 25-40'ını oluşturur [15]. Arthropodin tek bir protein olmayıp bir protein karışımıdır. Kütikülada çok değişik yapıdaki bir diğer protein olan "resilin" elastik bir proteindir [13]. Kütikülada kitin ve proteinin yanı sıra lipitler ve fenol türevleri de bulunur. Fenol türevleri kimyasal yan bağlar oluşturarak veya kütiküla matriksinin hidrofobitesini artırarak ya da muhtemelen her iki yolla

kütikülada kimyasal ve mekaniksel sertlik ve pekçok böcekde renk olarak koyulaşmaya sebep olurlar. Bu süreç "sklerotizasyon" veya derinin kurutulması ile eş anlamlı olarak "tanenleşme" adını alır [4, 13, 16]. Tanenleşme hem ekdisiden önce hem de sonra oluşabilir.



Şekil 4. Kitin sentezinin biyokimyasal yolu (Lipid akseptör dolisil fosfatın gerekli olduğu basamak * ile gösterildi) [Reynolds'dan (1987) değiştirilerek].

4. Deri Değişirme

Önceleri deri değişirmenin artık ürünlerin atılmasına hizmet eden bir salgı işlemi olduğu iddia edilmiştir. Fakat kütikülanın büyük bir kısmı vücuda tekrar geri emilir ve sadece sindirilmeyen sklerotin ve kütikülün tabakaları atılır [13]. Böceklerin dış yüzeyini tamamıyla kaplayan kütikula ve özellikle baş kapsülü larvanın büyümesini sınırlandırdığı için periyodik olarak değiştirilmek zorundadır. İki deri değişirme arasında geçen zamana "birinci larva evresi", "ikinci larva evresi" gibi adlar verilir. Deri değişirme, dolayısıyla larva evrelerinin sayıları böceklere göre değişir. Evre sayısı Apterygota'da 1, Diptera'da 3, Lepidoptera'da 5 (bazen 6-7) ve Ephemeroptera'da 22'dir [17].

Böcekler epidermislerini çevreye savunmasız maruz bırakmamak için, deri değiştirme daima eski kütikülanın altında yeni bir kütikülanın biriktirilmesiyle meydana gelir. Deri değiştirme, şekil 5'de görülebileceği gibi deri değiştirme siklusu olarak adlandırılabilir bir olaylar zinciridir. Deri değiştirme siklusunun hemen hemen tüm evreleri boyunca kitin sentezinin olması kitin sentez inhibitörleri bakımından önemli bir noktadır.

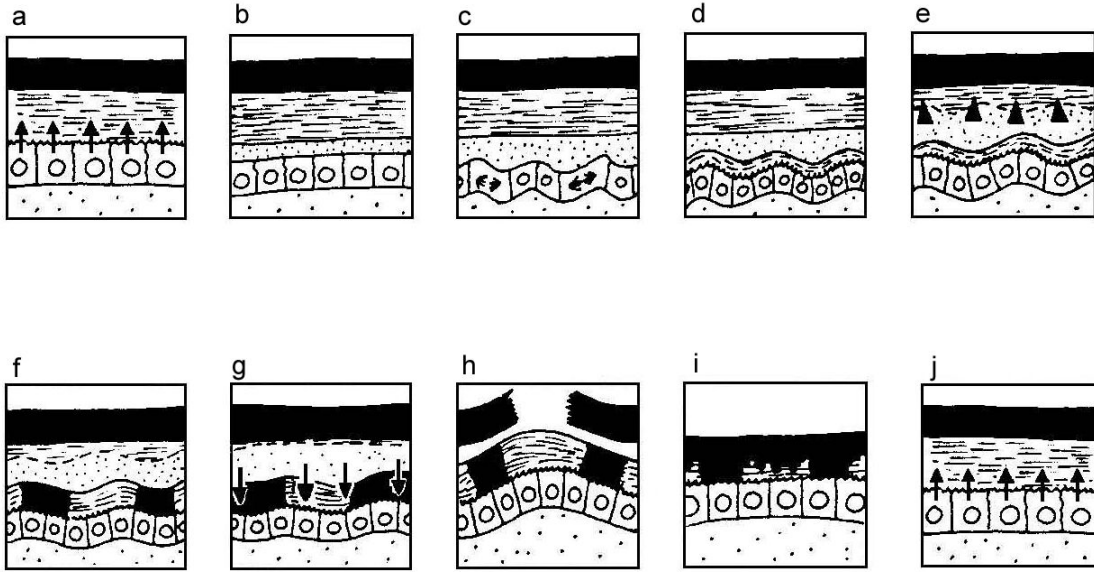
İntermolt safhasında (Şekil 5-a) kütiküla kalınlığında önemli miktarda artış olur [9, 10, 11, 18, 19]. Kütiküladaki bu kalınlık artışı kütikülaya kütikülar lamel ilavesi şeklinde açıklanmıştır [20-22]. Bu safhada kütiküla çoğu kez katlanmaların açılması ve fiziksel gerilmelerle yeterince büyütülür ve kütiküladaki çatlaklar ilave lamellerin salgılanması ve katlanmalarla önlenir [6].

Deri değiştirme siklusunun ilk olayı "apolisis" (Şekil 5-b) terimiyle adlandırılan eski kütiküladan epidermin ayrılmasıdır. Epidermis ve kütiküla arasındaki boşluk bir deri değiştirme sıvısı ya da jeli ile doldurulur. Deri değiştirme sıvısı epidermal hücreler tarafından meydana getirilir. Bazen Malpigi tüplerinden de salınır. Bu jel, eski kütikülayı yıkacak proteaz ve kitinaz enzimlerinin henüz inaktif öncüllerini içerir ve eski kütikülanın içeriğini yeniden kazanmayı sağlar. Enzim öncülleri yeni kütikülanın epikütiküla tabakası tamamlanmaya kadar aktifleşmezler. Apolisisde eski kütiküla hala bir ekzoiskelet olarak davranmaya devam eder. Bu safhayı epidermal hücrelerin morfogenetik düzenlenmeleri, hücre bölünmesi (Şekil 5-c) ve yeni kütikülanın salgılanması takip eder (Şekil 5-d). Eski ve yeni kütiküla arasındaki bölge "ekviyal boşluk" adını alır. Buraya kadar takip eden olaylar protorasik bezlerden (ventral bezler) salgılanan deri değiştirme hormonu 20-hidroksiektizon'un (20-EH) dolaşımdaki yükselen konsantrasyonu ile gerçekleşir [6, 8, 9, 10, 13].

20-EH'un dolaşımdaki konsantrasyonunun düşmesiyle deri değiştirme sıvısındaki enzimler aktive edilir ve eski kütikülanın özellikle endokütiküla kısmı sindirilir (Şekil 5-e). Yeni kütiküla epikütikülası ile enzimlerden korunur, ancak bu korunmanın temeli çok iyi açıklanamamıştır [6, 10]. Deri değiştirme sıvısının yeni kütiküla tarafından rezorbe edilmesiyle ilgili gözlemleri bu koruma rolüyle bağdaştırmak zordur. Deri değiştirme sıvısı ve kütikülanın parçalanma ürünleri rezorbe ediliyorken aynı zamanda yeni kütikülanın bazı bölgeleri pre-ekdisial tanenleşme süreciyle sağlamlaştırılır (Şekil 5-f/g) [6].

Her şey hazır olduğu zaman, deri değiştiren böceğin eski kütikülayı çatlatan davranışları başlar. Bu olay "ekdisis" olarak adlandırılır (Şekil 5-h). Böcek iç basınç ve yerçekimi yardımıyla kendini yavaşça dışarı çekerek eski kütikülasından kurtulur [13]. Derinin yırtılma yeri türlere göre değişiktir, çoğunlukla kafanın dorsalinde ve kısmen boyun kısmında oluşan "T" şeklinde bir yarıktır. Burada, ekzokütiküla ya çok zayıf oluşur ya da tamamen kaybolur [15]. Bununla birlikte, *G. mellonella* larvalarında yırtılmanın vücudun dorsal ve ventral kısımlarının birleştiği lateral kısmında gözlemlendiği bildirilmiştir [10]. Ekdisis olayı böcekler için potansiyel tehlikedir ve çok erken meydana gelmemelidir. Ekdisisin başlaması 20-EH'un konsantrasyonunun azalmasına bağlı olmakla birlikte, Lepidoptera'da ilave olarak bir başka nöropeptid hormon olan eklozyon hormonuyla da ilişkilidir [6, 8].

Ekdisis ya tamamlandı ya da devam etmekte iken yeni kütiküla tanenleşir (Şekil 5-i). Post-ekdisial tanenleşme ise yine nöropeptid bir hormon olan bursikon tarafından başlatılır. Ekdisisi takiben prokütikülanın biriktirilmesi devam eder. Daha önce belirtildiği gibi intermolt safhasında kütiküla kalınlığı bir sonraki apolisis safhasına kadar artar. Ekdisisten önce salgılanan tabaka ekzokütiküla, ekdisisten sonra salgılanan tabaka endokütiküla olarak tanımlanır [6, 8, 13].



Şekil 5. Böceklerde genel olarak deri değişirme siklusunu a) İntermolt safhasında kütiküla salgılanması b) Apolisis safhası c) Epidermiste hücre bölünmeleri d) Yeni kütikülanın salgılanması e) Deri değişirme sıvısının aktive olması f) Pre-ekdisial tanenleşme g) Deri değişirme sıvısının rezorbsiyonu h) Ekdisis i) Post-ekdisial tanenleşme j) İntermolt safhasında kütiküla salgılanması [Reynolds'dan (1987) değiştirilerek].

5. Diflubenzuron'un Böcekler Üzerindeki Etkisi

Diflubenzuron (DFB) kitin sentez inhibitörü olarak etki eden ilk insektisit ve benzoyilüre (benzoyilfenilüre, asilüre) grubu insektisitler içinde yer alır [23]. Kimyasal formülü $C_{14}H_9ClF_2N_2O_2$ olan DFB, PH 60-40, TH 60-40, [N-(4-chlorophenyl)-N'-(2,6-difluorobenzoyl) urea] adlarıyla da bilinir [3]. Dimilin 25 WP, Kitinaz 25 WP ve Dimilin SC 48 etkin maddesi DFB olan ruhsatlı tarım ilaçlarıdır [24]. Dünya Sağlık Örgütü tarafından "Güvenli Bileşikler" sınıfında grublandırılan diflubenzuron özellikle elma iç kurdu, şeftali filiz güvesi, amerikan beyaz kelebeği, fıstık göz kurdu, çam kese tırtılı gibi zararlıların mücadelesinde yaygın olarak kullanılır [25, 26]. Mide etkili bir insektisit olan DFB'un bal arılarına, predatör böcekler ve parazitlere tehlikesi yoktur. Balıklara, kuşlara ve memelilere düşük toksiteye (LD_{50} sıçanlar için 10.000 mg/kg) sahiptir. Omurgalı hayvanlar üzerinde doğrudan doğruya bir etkisi gözlenmeyen DFB, omurgalı hayvanlar tarafından vücuda alındıktan sonra yan etkileri olmaksızın detoksifiye edilir daha sonra idrar ve feçese nüfuz eder [27-29].

DFB'un böcekleri zehirlenme belirtileri diğer böcek büyüme regülatörleri ile benzerdir. DFB'dan etkilenen larvaların morfolojik olarak en karakteristik özelliği kütikülalarında çatlama, aşırı renk koyulaşması, hemolenf kaybı, hareketsizlik ve gelişim inhibisyonudur [30-33]. Çok düşük dozlardaki DFB, olgun *Tribolium* larvalarının vücut ağırlığında önemli oranda azalmaya sebep olmuştur [34, 35].

DFB'dan etkilenen böcek deri değişirme zamanı gelene kadar nispeten normal bir şekilde gelişimini sürdürerek canlı kalır. Her zamanki gibi deri değişirme siklusunu başlatır, fakat ekdisis safhası geldiği zaman zayıf düşer ve eski kütikülayı atmayı başaramaz. Çoğu kez etkilenen böcekler intersegmental zar gibi yeni kütikülanın zayıf olduğu bir yerden kütikülanın çatlamasıyla parçalanırlar [3, 6]. Bu semptomların yeni kütikülanın sentezlenmesinin engellenmesinden meydana geldiği kesin olarak belirlenmiştir. Yeni kütikülanın oluşumu tamamıyla önlendiği zaman

bile mevcut kütikula hala ekzoiskelet fonksiyonunu yerine getirebilir. Böylece eski kütikulanın atılma zamanı gelene kadar böcek fizyolojisi nispeten normal bir şekilde devam eder. Böcek, DFB etkisiyle normal hareket aktivitesinde kendini destekleyemeyecek kadar zayıf olan yeni kütikulasından dolayı atılacak deriden kurtulamayacak, atmaya teşebbüs ettiğinde ölümcül zararlara maruz kalacak ve yavaş yavaş ölecektir [6, 36, 37].

Kütikula sekresyonunu bozan DFB böceklerde hem larva hem pupa hem de ergin devrede kütikula kalınlığı üzerinde önemli oranda etkilidir. DFB ile muamele edilmiş ergin çekirgelerin kütikula kalınlığı sağlıklı çekirgelerin kütikulasının sadece 1/7'si kadar olabilirken [36], DFB etkisiyle *T. molitor* pupalarının kütikula kalınlığı yaklaşık %80, erginlerinin kütikula kalınlığı %25-40 oranında azalmıştır [38]. DFB, *Manduca* larvalarında kontrol grubuna kıyasla kütikula kalınlığını 1/3 oranında [31], *Spodoptera littoralis* Boisid. larvalarının torasik kütikula kalınlığını %20, abdominal kütikula kalınlığını %10-22 oranında [39], *Leptinotorsa decemlineata* (Say) larvalarının prokütikula kalınlığını %50'den daha fazla oranda [40] ve *G. mellonella* larvalarının kütikula kalınlığını yaklaşık %50 oranında azaltmıştır [33].

DFB'un normal kütikula oluşumunu engellemesi kütikuladaki kitin miktarının indirgenmesine bağlanmıştır. DFB etkisiyle kitin sentezi kınkanatlı bir böcek olan *L. decemlineata*'nın erginlerinin elytra'sında %81 ve vücudun diğer kısımlarında %74 oranında [41], aynı türün larvalarında ise %35-63 oranında [40] inhibe edilmiştir. *Lymantria dispar* (L.) larvalarında DFB uygulandıktan sonra endokütikulada kitin miktarı %33 oranında kantitatif olarak azalırken [42], *Mythimna seperata* (Walker) ve *Agrotis ypsilon* Rottem türlerinin larvalarında kütikulada %50 oranında bulunan kitin miktarı %18'e düşmüştür [43].

Önceleri DFB'un kütikulanın diğer bileşenlerini etkilemediği düşünülmüştür. DFB'un kütikular protein sentezi ve protein miktarı üzerinde etkili olmadığı bildirilmekle birlikte [3, 41, 44], *L. decemlineata* larvalarında kitin sentezi ile birlikte protein sentezini de %14-39 oranında inhibe ettiği gösterilmiştir [40]. DFB'un ayrıca endokütikulada lipit miktarında artmaya [42], glukoz miktarında ise azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir [45]. DFB'un belirtilen bu etkilerinin yanı sıra epiderminin tüm sentez aktivitesini durdurduğu, hatta epidermal hücrelerde mitoz bölünmeyi ve DNA sentezini engellediği bildirilmiştir. Ancak bir görüşe göre DFB'un hücre bölünmesi ve DNA sentezini engellemesi, kitin sentezini inhibe etmesi için gereken dozdan daha yüksek dozlarda söz konusudur [6, 38, 44].

DFB'un orta bağırsağı astarlayan ve aşınmalardan koruyan ekstrasellüler bir yapı olan peritrofik zarın yapımında da etkili olduğu bilinmektedir. Her besin alımında yeniden yapılan, bağırsak lümenindeki besini çevreleyen ve besinin verimli bir şekilde kullanılmasını sağlayan peritrofik zar, daha çok γ formu olmak üzere kitinin her üç formunu da ihtiva eder [6, 15]. Peritrofik zarın yapısının bozulması sindirim fonksiyonunu etkileyecek ve böceklerde büyüme ve gelişmeyi engelleyecektir. DFB ile beslenen *Locusta migratoria*'da peritrofik zar oluşumu %70 oranında indirgenmiştir [46]. *Mamestra brassicae* L. larvalarında DFB etkisiyle pupasyon engellenmiş ancak, orta bağırsak epitel hücreleri üzerinde kontrol grubu ile kıyaslandığında morfolojik olarak önemli bir fark gözlenmemiştir. Bununla birlikte DFB, orta bağırsak peritrofik zarında kitin sentezini önemli derecede inhibe etmiştir [47]. DFB'un *M. Brassicae* larvalarının orta bağırsak peritrofik zarında kitin sentezini kütikuladaki kadar bariz olmamasına rağmen inhibe ettiği, ancak DFB'un insektisit olarak öldürücü etkisinin peritrofik zar oluşumundaki inhibisyondan ziyade kütikula oluşumundaki inhibisyona bağlı olduğu belirtilmiştir [48]. Bu durum DFB'un sekonder insektisit etkisini gösterir. DFB'un *L. dispar*, *Lymantria monaco*, *Boarmia bistortata* ve *M. brassicae* larvalarının orta bağırsak epitel hücreleri üzerinde etkisi olmadığı bildirilmekle birlikte [42, 47], *Agrotis segetum* (Denis et.

Schiff), *Chironomus decorus*, *Tanytus grodhausi* ve *G. mellonella* larvalarının orta bağırsak epitel hücrelerinde vakuoller ve morfolojik deformasyonlar gibi çeşitli anormallikler gözlenmiştir [32, 49, 50].

DFB, ergin dişi böceklerde steriliteye sebep olmaktadır. Embriyolar normal gelişmelerine rağmen, kütiküla sekresyonu bozulduğu için yumurtadan çıkmayı başaramaz [6]. *Callosobruchus maculatus* (F.), *Ostrinia nubilalis* (Hbn.), *Leucoptera meyricki*, *T. molitor* ve *Cydia pomonella*'ın hem duyarlı hem de dirençli soyları üzerinde yapılan çalışmalarla DFB'un ovipozisyonu ve yumurtadan çıkma oranını azalttığı gösterilmiştir [51-55].

6. DFB'un Kitin Sentezi Üzerindeki Etkisi

DFB'un öncelikli etkisinin kitin mikrofibrillerin sentezini önlemek olduğu kesin olarak bilinmektedir. Bu etki şekli üzerinde değişik görüşler vardır. Önceleri DFB'un kitin sentezinin son safhasında doğrudan doğruya kitin sentetaz (CS) enzimini inhibe ettiği düşünülmüştür [56]. Şekil 4'den hatırlanacağı gibi CS, mevcut kitin polimer zincirlerine UDPAGA monomerlerini ilave etmeyi katalizler. Radyolojik olarak etiketlenmiş öncüller kullanılarak yapılan çalışmalar göstermektedir ki, DFB ile zehirlenme UDPAGA birikmesine yol açar. CS inhibe ediliyorsa beklenen sonucun bu olması gerekir. Ancak hem integümentten elde edilen CS (yani kütikular kitin sentezinden sorumlu) hem de bağırsaktan elde edilen CS' a (yani peritrofik zarın kitin sentezinden sorumlu) ait serbest hücre preparasyonları ile yapılan çalışmalar bu görüşü desteklememektedir [3, 6].

Bir diğer görüşe göre DFB'un, kitini yıkan kitinaz enziminin ekspresyonunu indüke ettiği ileri sürülmüştür. Ancak DFB'un kitinaz seviyesini yükseltmediği ve zehirlenen böceklerin kütikülalarının ince yapısına ait gözlemler bu görüşün tutarsız olduğunu ortaya koymuştur [6].

DFB'un UDPAGA gibi monomerlerin epidermal hücreler içinde üretim yerlerinden son reaksiyon yerine taşınmasını (tahminen epidermal mikrovillusların apikal zarında) bloke ederek kitin sentezini önlediğine dair görüşler ilgi çeken son teorilerdendir. Hem kitin sentezi hem de DNA replikasyonu üzerinde DFB'un etkilerinin nükleozid taşınmasının inhibisyonundan kaynaklanacağı düşünülmektedir. Böyle bir etki mümkündür. Çünkü yapısal olarak DFB'a benzeyen bazı ditiokarbonilatların memeli hücrelerinde böyle substratların taşınmasını inhibe ettiği bildirilmiştir [56, 6]. DFB'un bu mekanizma ile etki ettiğine dair bazı deliller *M. brassicae* larvalarının orta bağırsak epitel hücreleri üzerinde [¹⁴C]UDPAGA kullanılarak yapılan çalışma ile desteklenmektedir [47]. Bununla birlikte epidermal hücre dış yüzeyinde deneysel olarak girişin çok zor olduğu kabul edildiği için integümentteki kitin sentezinin benzer yolla etkilenip etkilemediğinin anlaşılmasının güç olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Chandler, L. D., Pair, S. D., Raulston, J. R. Effects of selected insect growth regulators on longevity and mortality of corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **J. Econ. Entomol.** 85 (5): 1972-1978 (1992)
2. Mondal, K. A. M. S. H., Parween, S. Insect growth regulators and potential in the management of stored-product insect pests. **Integrated Pest Management Reviews** 5: 255-295 (2000)
3. Andersen, S. O. Biochemistry of insect cuticle. **Ann. Rev. Entomol.** 24: 29-61 (1979)
4. Hackman, R. H. **The Physiology of Insecta. Chemistry of the insect cuticle.** Rockstein, M. (ed.) Academic Press New York and London. Second Edition. 215-270 (1974)

5. Noble-Nesbitt, J. Structural aspects of penetration through insect cuticles. **Pestic. Sci.** 1: 204-208 (1970)
6. Reynolds, S. E. The cuticle, growth and moulting in insects: the essential background to the action of acylurea insecticides. **Pestic. Sci.** 20: 131-146 (1987)
7. Lower, H. F. Terminology of the insect integument. **Nature** 198: 1355-1356 (1956)
8. Novak, V. J. A. **Insect Hormones**. Chapman and Hall, London. Second English Edition. 208-219 (1975)
9. Ünsal, S., Ayvalı, C. *Agrotis segetum* larvasında integümentin histolojik yapısı üzerine araştırmalar. **S.Ü. Fen Dergisi** 9: 51-76 (1989)
10. Özparlak, H., Ünsal, S., Aktümsek, A. *Galleria mellonella* L. larvalarında integümentin histolojik yapısı üzerine bir araştırma. **Veterinarium** 13 (1): 63-68 (2002)
11. Ebeling, W. **The Physiology of Insecta. Permeability of Insect Cuticle**. Rockstein, M. (ed.) Academic Press New York and London. Second Edition. 271-337 (1974)
12. Richard, O. W, Davies, R. G. **Imms' General Text Book of Entomology V. I. Structure, Physiology and Development**. London. Tenth Edition. 11-23 (1977)
13. Wigglesworth, V. B. **The Principles of Insect Physiology**. Chapman and Hall, London. Seventh Edition. 27-49, 61-83 (1974)
14. Locke, M. **The Physiology of Insecta. Structure and formation of integument**. Rockstein, M. (ed.) Academic Press New York and London. Second Edition. 123-213 (1974)
15. Demirsoy, A. **Entomoloji**. Cilt II, kısım II, Meteksan A.Ş. Ankara. Beřinci Baskı. 13-33 (1997)
16. Andersen, S. O. Evidence for two mechanisms of sclerotisation in insect cuticle. **Nature** 251: 507-508 (1974)
17. Kansu, İ. A. **Genel Entomoloji**. Kıvanç Basımevi. Altıncı Baskı. 25-27 (1994)
18. Bastourous, M. W., Hammad, S., Abdellatif, M. A. Morphological and histological studies on some stages of cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) I. The integument and related structures. **Z. Ang. Ent.** 68: 423-426 (1971)
19. Kaznowski, C. E., Schneiderman, A. H., Bryant, P. J. Cuticle secretion during larval growth in *Drosophila melanogaster*. **J. Insect Physiol.** 31: 801-813 (1985)
20. Wolfe, L. S. The deposition of the third instar larval cuticle of *Calliphora erythrocephala*. **Quart. J. Micr. Sci.** 95: 49-66 (1954)
21. Lee, S. A., Clarke, B.S., Jenner, D.W., Williamson, F.A. Cytochemical demonstration of the effects of the acylureas flufenoxuron and diflubenzuron on the incorporation of chitin into insect cuticle. **Pestic. Sci.** 28: 367-375 (1990)
22. Yin-Chang, W., Rong-Sheng, C., Chang-Kun, C., Zi-Ping, Y. Studies on cuticular structures in two species of cutworms. **Acta Entomologica Sinica** 33 (3):309-313 (1990)
23. Neumann, R., Guyer, W. Biochemical and Toxicological Differences in the modes of action of the benzoylureas. **Pestic. Sci.** 20: 147-156 (1987)
24. Anonim. **Ruhsatlı Ziraı Mücadele İlaçları** (T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü) Ankara. 1-24 (1999)
25. Kaya, S., Bilgili, A. **Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Pestisitler**. Kaya, S., Piriñçi, İ., Bilgili, A. (ed.) Medisan Yayınevi. Ankara. 211-339 (1998)
26. Öztürk, S. **Tarım İlaçları**. Hasad Yayıncılık, İstanbul. 285-286 (1990)
27. Lipa, J. J. Laboratory experiments with Dimilin W. P. 25 against larvae of *Agrotis segetum* Schiff. and *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae). **Bulletin De L'academia Polonaise Des Sciences Serie des sciences biologiques** Cl. V. 24 (9): 509-515 (1976)
28. Gupta, D., Verma, A. K. Effect of three benzoylphenyl urea compounds on larvae of rice moth, *Corcyra cephalonica* Station. **Indian J. Plant Prot.** 20: 174-177 (1992)
29. McCasland, C. S., Cooper, R. J., Barnum, D. A. Implications for the use of diflubenzuron to reduce arthropod populations inhabiting evaporation ponds of the san joaquin valley, California. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 60: 702-708 (1998)
30. Hegazy, G., Van De Veire, M. Effect of the chitin synthesis inhibitor diflubenzuron on the sixth and seventh instar of *Galleria mellonella* L.: Importance of application time. **Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent** 45 (3): 453-463 (1980)

31. Mitsui, T., Nobusawa, C., Fukami, J., Colins, J., Riddiford, L. M. Inhibition of chitin synthesis by diflubenzuron in *Manduca* larvae. **J. Pesticide Sci.** 5: 335-341 (1980)
32. Erinç, M. *Bacillus thuringiensis* ve bazı kimyasal insektisitlerin *Agrotis segetum* (Denis et. Schiff) (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarına etkileri. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 1-39 (1996)
33. Özparlak, H. Diflubenzuron'un *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) larvaları üzerindeki etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 1-63 (2001)
34. Ishaaya, I., Ascher, K. R. S., Yablonski, S. The effect of BAY SIR 8514, diflubenzuron and Hercules 24018 on growth and development of *Tribolium confusum*. **Phytoparasitica** 9 (3): 207-209 (1981)
35. Ishaaya, I., Yablonski, S., Ascher, K. R. S. Toxicological and biological aspects of novel acylureas on resistant and susceptible strains of *Tribolium castaneum*. E. Donahaye and S. Navarro (eds). **Proc. 4th Int. Workg. Conf. Stored Prod. Prot. Tel Aviv, Israel: Bet Degan** 613-622 (1986)
36. Ker, R. F. Investigation of locust cuticle using the insecticide diflubenzuron. **J. Insect Physiol.** 23: 39-48 (1977)
37. Clarke, B. S., Jewess, P. J. The inhibition of chitin synthesis in *Spodoptera littoralis* larvae by flufenoxuron, teflubenzuron and diflubenzuron. **Pestic. Sci.** 28: 377-388 (1990)
38. Soltani, N., Besson, M. T., Delachambre, J. Effects of diflubenzuron on the pupal-adult development of *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Tenebrionidae): Growth and development, cuticle secretion, epidermal cell density and DNA synthesis. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 21: 256-264 (1984)
39. Osman, S. E. Effect of the anti-moulting agent "dimilin" on the blood picture and cuticle formation in *Spodoptera littoralis* larvae. **Bull. ent Soc. Egypt, Econ. Ser.** 14: 37-46 (1985)
40. Hegazy, G., De Cock, A., Auda, M., Degheele, D. Diflubenzuron toxicity, effect on the cuticle ultrastructure and chitin ve protein content of colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (SAY) (Coleoptera:Chrysomelidae). **Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent** 54:1 89-101 (1989)
41. Grosscurt, A. C. Effects of diflubenzuron on mechanical penetrability, chitin formation and structure of the elytra *Leptinotarsa decemlineata*. **J. Insect Physiol.** 24: 827-831 (1978)
42. Salama, H. S., Salem, S., Zaki, F. N., Moawad, S. On the mode of action of dimilin as a moulting inhibitor in some lepidopterous insects. **Z. Ang. Ent.** 80: 396-407 (1976)
43. Guo-je, G., Yin-chang, W., Zi-ping, Y. Ultrastructural and biochemical studies of integuments in relation to natural tolerance to DFB in black cutworm and armyworm. **Acta Entomologica Sinica** 29(3): 259-266 (1986)
44. Ker, R. F. The effects of diflubenzuron on the growth of insect cuticle. **Pestic Sci.** 9: 259-265 (1978)
45. Kalmus, G. W., Oakley, W. E. The influence of oxidizing agents on macro-molecular synthesis for chitinous material. **Invert. Reprod. Dev.** 14 (2-3): 205-210 (1988)
46. Clarke, L., Temple, G. H. R., Vincent, J. F. V. The effects of a chitin inhibitor-dimilin on the production of peritrophic membrane in the locust, *Locusta migratoria*. **J. Insect Physiol.** 23: 241-246 (1978)
47. Mitsui, T., Nobusawa, C., Fukami, J. Mode of inhibition of chitin synthesis by diflubenzuron in the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae* L. **J. Pesticide Sci.** 9: 19-26 (1984)
48. Tada, M., Matsumoto, Y., Mitsui, T., Nobusawa, C., Fukami, J. Inhibition of chitin synthesis by 1(3,5-Dichloro-2,4-difluorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea (CME-134) in the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae* L. **J. Pesticide Sci.** 11: 189-195 (1986)
49. Pelsue, F. W. Histopathological effects of two insect chitin inhibitors in the alimentary canal of chironomid midges (Diptera: Chironomidae). **Bull. Soc. Vector Ecol.** 10 (2): 72-89 (1985)
50. Özparlak, H., Ünsal, S., Aktümsek, A. Diflubenzuron'un (DFB) *Galleria mellonella* L. larvalarının orta bağırsağına etkileri. **Veterinarium** 12 (1): 86-93 (2001)
51. Rup, P. J., Chopra, P. K. Ovicidal activity of diflubenzuron on *Callosobruchus maculatus* (Fab.) **Ind. J. Agric. Sci.** 57 (5): 378-379 (1987)
52. Ascher, K. R. S., Melamed, M. V., Nemny, N. E., Tom, S. The effect of benzoylphenyl urea moulting inhibitors on larvae and eggs of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. (Lepidoptera: Pyralidae). **Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica** 2 (1-2): 25-30 (1989)
53. Wanjala, F. M. E., Dooso, B. S. K., Guongo, S. K. Effects of six insect growth regulators on the egg and larval stages of the coffee leafminer, *Leucoptera meyricki* Ghasq (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Kenya Coffee** 55: 929-935 (1990)

54. Soltani-Mazouni, N., Soltani, N. Diflubenzuron affected DNA synthesis in the ovaries of *Tenebrio molitor*. **Invert. Repro. Dev.** 25 (1): 19-20 (1994)
55. Sauphanor, B., Brosse, V., Monier, C., Bouvier, J. C. Differential ovicidal and larvicidal resistance to benzoylureas in the codling moth, *Cydia pomonelle*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 88: 247-253 (1998)
56. Mitsui, T. Chitin synthesis inhibitors: Benzoylarylurea insecticides. **Japan Pesticide Information** 47: 3-7 (1985)

