

1-1-2000

Insecticide Resistanca in Maleria Vector An. sacharovi

ÜMİT LÜLEYAP

HALİL KASAP

Follow this and additional works at: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology>



Part of the [Biology Commons](#)

Recommended Citation

LÜLEYAP, ÜMİT and KASAP, HALİL (2000) "Insecticide Resistanca in Maleria Vector An. sacharovi," *Turkish Journal of Biology*. Vol. 24: No. 3, Article 5. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/biology/vol24/iss3/5>

This Article is brought to you for free and open access by TÜBİTAK Academic Journals. It has been accepted for inclusion in Turkish Journal of Biology by an authorized editor of TÜBİTAK Academic Journals. For more information, please contact academic.publications@tubitak.gov.tr.

Sıtma Vektörü *Anopheles sacharovi*'de Fizyolojik İnektisit Direnci

Ümit LÜLEYAP, Halil KASAP

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD, Balcalı, Adana-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 09.09.1998

Özet: İnsan sıtma hastalığının vektörü olan *An. sacharovi* ve benzer böceklerde inektisitlere karşı gelişen direnci günümüzde uygulanan hassasiyet testleri başarılı bir şekilde saptamaktadır. Direnç hakkında daha detaylı bilgi sağlamak için biyokimyasal ve genetik temele dayanan alternatif yöntemler geliştirilmiştir.

Bu çalışmanın ilk aşamasında; farklı sezonlarda, inektisit uygulamalarının yoğun olduğu Tabakalar, Herekli köyleri ile nispeten az inektisit kullanılan Menekşe köyünde toplanan *An. sacharovi* dişileri ve bunlarla karşılaştırmak için hiçbir inektisit baskısı altında bulunmayan ve tüm yıl boyunca aktif olan *An. sacharovi* kolonisi dişileri hassasiyet testlerine maruz bırakıldılar. Türkiye'de sivrisinek mücadelesinde kullanılan inektisitlerden: DDT %4, Malathion %5, Propoxur %1, Deltamethrin %0.025 ve Permethrin %0.25 inektisitlerinin letal dozları kullanılarak örnekler hassas ve dirençli olarak gruplandırıldı.

Çalışmanın ikinci aşamasında, organofosfat ve karbamat inektisit direncinde hedef yapı olan Asetilkolin Esteraz (AChE) enzimi ile organoklar ve pyrethroid inektisitlerin etkisizleştirilmesinde çok büyük rolü olan Glutatyon S-Transferaz (GST) olmak üzere üç enzim çalışıldı. Hassasiyet test sonuçlarına göre yaptığımız gruplandırma ile aynı örneklerde üç enzim için ölçtüğümüz aktivite oranları arasındaki uyum diskriminant analizi ile test edilerek AChE enzimi için %76.6, GST az enzimi için %74.1 ve Genel Esteraz enzimi için de %62.2 gibi oldukça yüksek bir uyumluluk bulunmuştur. Her üç enzim için de saptadığımız aktivite oranları, dirençli örneklerde hassaslardan anlamlı derecede daha yüksek olmasının yanında, gonoaktif döneme ait enzim aktivite oranlarının da yağlanmış sezondan anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulundu. Ayrıca çok yoğun inektisit kullanılan lokalitelerde AChE, GST ve Genel Esteraz enzim aktivite oranlarının oldukça yüksek ve inektisitlerin az kullanıldığı veya hiç kullanılmadığı lokalitelerde ise aktivitenin düşük olduğu bulundu.

Anahtar Sözcükler: *An. sacharovi*, inektisitler, Direnç enzimleri, Hassasiyet testleri.

Insecticide Resistance in Malaria Vector *An. sacharovi*

Abstract: Susceptibility tests have been successfully used for many years to determine insecticide resistance raised in pest and vector insects, including *An. sacharovi*, the primary human malaria vector in Turkey. As this method does not provide sufficient information about physiological resistance, an alternative method of enzyme tests based on biochemical and genetic evaluations has been developed.

In this study, both methods were used for comparison. First of all, susceptibility to insecticides was tested in adult females of *An. sacharovi* collected in different seasons from Tabaklar and Herekli Villages, where insecticides are used intensively for both agricultural and vector control purposes, and

from Menekşe Village, where insecticide applications are more limited. Samples taken from laboratory colonies consisting of mosquitoes under non-insecticide pressure during the gonoactive season were also tested for comparison with the field material. In the susceptibility test using lethal doses of DDT 4%, Malathion 5%, Propoxur %1, Deltamethrin 0.025% and Permethrin 0.25%, each sample was divided into resistant and susceptible groups, then the changes in the activity levels of enzymes were studied in these groups.

Three enzymes were tested; Acetylcholine Esterase (AChE), which is the target site in organophosphate and carbamate insecticide resistance, Glutathione S-Transferase (GST), which has a significant role in the detoxification of organochlorine and pyrethroid insecticides, and non-specific General Esterase, which has a role in the detoxification of all insecticides. The activities of the three enzymes were found at higher levels in the resistant groups than in the susceptible groups and also at higher levels in the gonoactive period than in the hibernation season. It was also found that AChE, GST and General Esterase enzyme activities were higher in localities receiving intensive insecticide application than in localities where insecticides are used in smaller quantities or not at all.

Key Words: *An. sacharovi*, Insecticides, Resistance enzymes, Susceptibility tests.

Giriş

Çukurova bölgesinde oldukça yaygın bir tür olan *An sacharovi*'nin hem doğada hem de laboratuvarında birinci derecede sıtma vektörü olduğu saptanmıştır (1-4). İnsektisitlere karşı; hedef canlıların genomunda meydana gelen spontan mutasyonlarla değişik direnç tiplerinin ortaya çıkması, negatif seleksiyon baskısı ile direnç genlerinin populasyonda etkin duruma gelmesi, insektisit seçiminin iyi yapılamaması ve insektisit uygulandığı söz konusu ülkenin özel durumuna uygun letal doz tayininin yapılmaması olmasından kaynaklanan başarısızlıklar vardır.

Direnç gelişimi sürekli izlemek amacıyla WHO tarafından geliştirilen insektisit emdirilmiş (Impregne) kağıtlarla yapılan hassasiyet testleri kullanılmakta olup saptanan direnç olgusunun önlenmesi için de tüm ülkelerde vektör kontrol stratejileri geliştirilmiştir (5, 6). Bir insektisit veya insektisit grubuna hassas olan bir böcek populasyonunun bazı bireylerinin insektisitten etkilenmemesi durumunda, tolerans veya dirençlilik söz konusudur. Yani daha önce tamamen öldürücü olan bir insektisitinin diagnostik (%99 ölüm veren doz) dozunun bazı bireyleri öldüremez hale gelmesi durumunda tolerans gelişiminden söz edilir (7). Tolerans, genetik temele dayalı olmakla birlikte bazı durumlarda yaş ve mevsime bağlı fizyolojik özellikler (yağlama ve hibernasyona girme gibi) nedeniyle dirençle ilgili mutant genin olmaması durumunda bile ortaya çıkabilmektedir. Fizyolojik direnç ise tamamen genetik temele dayanmaktadır.

Fizyolojik direncin saptanması: farklı insektisit gruplarına karşı gelişen direnç genin saptanması, İnsektisit alımının azaltılmasına neden olan reseptör yapısının ve sayısının tayini, ilgili insektisitinin hedef olduğu enzimin yapısında meydana gelen konformasyonel değişikliğin saptanması ve insektisitlerin biyotransformasyona uğratılarak etkisizleştirilmesinde primer rol oynayan detoksifikasyon enzimlerinin aktivitelerindeki değişikliklerin incelenmesi ile mümkündür. Ancak pratikte tüm bu yöntemlerin kullanılması oldukça zordur. Organofosfatlı ve karbamatlı insektisitlere karşı gelişen dirençte hedef yapı olan AChE enziminin konformasyonel yapısında bir değişim olmakta (Altered AChE), organoklor ve pyretroid insektisitlerine olan dirençte ise bu insektisitleri parçalayan Glutathion-S Transferaz enziminin seviyesi yükselmekte, herhangi bir insektisit direncinde ise tüm insektisitlerin detoksifikasyonunda rol alan Genel

Esteraz enzimlerinin seviyesi yükselmekte, herhangi bir insektisit direncinde ise tüm insektisitlerin detoksifikasyonunda rol alan Genel Esteraz enzimlerinin seviyesi yükselmektedir (8-13).

Çalışmamızda bu kriterleri test eden biyokimyasal yöntemleri ve insektisit emdirilmiş test kağıtları ile yapılan hassasiyet test yöntemlerini kullanılarak Çukurova bölgesinde *An. sacharovi*'nin çeşitli halk sağlığı insektisitlerine karşı geliştirdiği direncin ve bu yöntemlerin kullanılabilirliğinin saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntemler

Biyolojik Materyalin Toplanması: Biyolojik materyal olarak deneylerimizde, Türkiye'de sıtmanın primer vektörü olan *An sacharovi* türü sivriseneklerin ergin dişileri kullanıldı. Arazi örnekleri Adana ilinde, ekibeler arazilerinin fazla olması nedeniyle tarımsal mücadele amacıyla çok yoğun insektisit kullanılan, Tabaklar (Karataş-ADANA) ve Herekli (Ceyhan-ADANA) köyleri ile coğrafik konumu itibariyle ekilebilir arazi oranı ve insektisit kullanımı az olan Menekşe (Merkez-ADANA) Köyünden toplanmış, kontrol için kullanılan örnekler de ile Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı İsektaryumunda, standart laboratuvar koşullarında (26±2°C ve %60-80 nispi nem'de) 1983 yılından itibaren devam ettirilen koloniden alınmıştır.

Sivrisenekler araziden yağlanmanın olmadığı gonoaktif dönemi kapsayan Mayıs-Eylül ayları arası ve kışılamanın etkisiyle yağlanmanın olduğu Ekim-Nisan ayları arasında olmak üzere farklı iki sezonda toplandı (4). Gonoaktif dönemde aç olan, yağlanma dönemlerinde ise yağlanmış olanlar kullanıldı. Kan emmiş ve yumurtalı olan sivrisenekler, yüksek protein değeri vererek hataya neden olabileceği için kullanılmadı. Koloni örnekleri ise daima gonoaktif dönemde olup yağlanma söz konusu değildir.

Örneklerin Testlere Hazırlanması: Farklı sezonlarda değişik lokalitelerden getirilen sivriseneklere, dirence bağlı olarak meydana gelen değişikliği belirlemek amacı ile; 1) organofosfat ve karbamatlı insektisitlerin inhibisyon etkisinde hedef yapı olan AchE enziminin aktivitesi malathion %5 ve propoxur %1 insektisitlerinin letal dozlarına karşı hassasiyet testi yapılan örneklerde, 2) organoklor ve pyrethroid insektisitlerinin etkisizleştirilmesinde (direnc) çok büyük rolü olan *Glutasyon S-transferaz* aktivitesi DDT %4 (organoklor), Permethrin %0.25 ve Deltamethrin %0.025 (pyrethroid) letal dozlarına karşı hassasiyet testi yapılan örneklerde ve 3) Genel Esteraz aktivitesi ise yukarıda adı geçen tüm insektisitlere karşı hassasiyet testi yapılan örneklerde ölçüldü. Hassasiyet testlerinde % mortalite değerleri hesaplandıktan sonra, ölenler (hassas), ölmeyenler (direnc) ayrıldı ve *Asetilkolin Esteraz*, *Glutasyon S-transferaz* ile *Genel Esteraz* enzim aktivitelerini okumak için, içinde 0,2 mililitre homojenizasyon tamponu olan 1 ml'lik endorf tüplerine konularak etiketlendi ve derin dondurucuda saklandı (2, 7, 15).

Hassasiyet Testleri: Hassasiyet testleri, WHO tarafından standardize edilen, insektisit emdirilmiş (empregne) test kağıtları yöntemi ile yapıldı (7, 16). Bu test tüpleri birbirine bağlanabilen iki mika tüp ile aradaki bir perdeden oluşur. Bu mika perde içindeki levhanın sağa sola hareketiyle iki tüp birbirine açılabilir, böylece sinekler bir tüpten diğerine aktarılabilir. Karşılıklı gelen iki tüpten birinin içine insektisit emdirilmiş (uygulama tübü) diğerine de insektisit

emdirilmemiş beyaz filtre kağıtları (dinlenme tübü) yerleştirilir. Her bir test için uygulama tübüne konulan 10 sinek 1 saat süre ile bırakıldıktan sonra dinlenme tübüne aktarıldı ve şekerli su ile beslendiler. Testten 24 saat sonra ölenler sayılarak % ölüm oranı saptandı. Her deneme için, kullanılan insektisit çözündüğü solventin emdirildiği kağıtlar kontrol için kullanıldı (17). Kontrollerde, %20 ye kadar ölümler için Abbot formülü ile düzeltme hesabı yapıldı. Kontrolde daha büyük ölüm oranı veren denemeler iptal edildi. Test işlemleri; $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ve %78 nispi nemi olan bir ortamda yapıldı.

Homojenizasyon İşlemi: İnsektisitlerin letal dozlarına maruz bırakıldıktan sonra hassas veya dirençli olarak gruplandırılmış sinekler tek tek homojenize edildi. Homojenizasyon, enzim inaktivasyonunun önlenmesi için buzlu ortamda sonik homojenizatörde (Virsonic-300) 1 dk süre ile yapıldı. Homojenize edilen örnekler sivrisineklerin zor parçalanabilen kitin yapısının uzaklaştırılması için 1000 g'de 1 dk. süreyle santrifüj edildi. Bu işlemten sonra, G.S-Transferaz ve Genel Esteraz enzim aktivite tayinleri için homojenat 12.000 g de 5 dk. süreyle tekrar santrifüj edildi. Örnekler için enzimlerin aktivite tayinleri spektrofotometrik olarak yapıldı: bu işlemde kimyasal madde sarfını azaltmak amacıyla 0,4 ml'lik kuartz küvetler kullanıldı.

Kimyasal madde ve araçlar: Ayırıcıların hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler: α -Naftil asetat, β -Naftil asetat, Glutasyon, Asetilkiyokolinyodid, 1 kloro, 2-4 dinitrobenzen (CDNB), Etilendiamin tetraasetikasit (EDTA), Tris Baz, Trizma hidroklorid, Sodyum Dodesil Sulfat, Fast Blue B tuzu (Boya), Dithiobis (Dinitrobenzoik asit=DTNB), Potasyum dihidrojen fosfat, Disodyumhidrojen fosfat, protein tayin kiti (P-5656), Triton-x-100, gliserol, phenylthiourea analitik kalitede olup, Sigma firmasından satın alınmıştır. DDT, Deltamethrin, Permethrin, Malathion ve Propoxur insektisitlerinin impregne test kağıtları ise Dünya Sağlık Örgütü referans laboratuvarlarından (Universiti Sains Malaysia) satın alınmıştır.

Denemelerde kullanılan araçlar, hassasiyet testlerinde kullanılan test tüpleri, homojenizasyon işleminde kullanılan sonik homojenizatör (Virsonic 300), pH ölçümünde kullanılan EDTA marka PH metre, Enzim aktivitesinin saptanmasında kullanılan Shimadzu UV-160 spektrofotometre, Sartorius terazi, Siemens derin dondurucu, Vorteks, Scorex marka otomatik pipetler ve Ben-mari'den oluşmaktadır.

Yöntemler: Örneklerin Asetilkolin esteraz tayini Ellman yöntemine göre spektrofotometrik olarak yapıldı (10). Enzim aktivitesi, $\dot{U}nite = (U/ml) \text{ mikromol/dk/ml}$ olarak değerlendirildi (18).

Örneklerin, Glutasyon S-Transferaz aktivitesi Hemigway yöntemine göre tayin edildi (16). Aktivite, $Unite/\mu\text{g Protein/dk}$ olarak değerlendirildi.

Protein tayininde, Sigma firmasından sağlanan protein tayin kiti (P-5656) çalışmaya uyarlanmış olup örnekler için protein değeri Lowry yöntemine göre tespit edildi (19).

Deneylerde kullanılan tüm faktörler ve gruplara göre Asetilkolin Esteraz, Glutasyon S-Transferaz ve Genel Esteraz enzimlerinin aktiviteleri saptandıktan sonra istatistiksel analiz için kodlandırıldı. Bu grupların; örnek sayısı (N), aritmetik ortalama (X), standart sapma (SD), standart hata (SE) ve güven aralığı (GA) gibi tanımlayıcı istatistikleri yapıldı. Faktörlerin ve alt gruplarının toplu olarak değerlendirildiği varyans analizinde, önemliliğin veya farklılığın hangi gruptan geldiğinin tespiti amacıyla grup sayısının ikiden fazla olduğu faktörler de F testi, az olan

faktörler için de T testi yapıldı. F istatistiği kapsamında yapılan çoklu karşılaştırma testlerinde hassasiyet bakımından çalışmamıza en uygun testin Scheffe olduğu bulundu (20). Ayrıca hassasiyet testleri ile enzim aktivite testlerinin birbiriyle uyumunu incelemek amacıyla kullanılan Diskriminant analizleri ve diğer tüm istatistikleri için SPSS for Windows 6.0 paket programı kullanıldı.

Bulgular

Hassasiyet test sonuçları

Hassasiyet testlerinde DDT, Malathion, Deltamethrin, Permethrin ile Propoksür insektisitlerine karşı gelişen direnci saptamak için gonoaktif ve yağlanmış sezonu kapsayan tarihlerde Adana'nın, insektisit uygulamalarının farklı olduğu 3 lokalitesinden (Tabaklar, Herekli ve Menekşe köyleri) örneklenmiş, kan emmemiş *An. sacharovi* dişi sivrisinekler kullanılmıştır. Ayrıca gono-aktif peryoda ait koloni örnekleri kontrol amacıyla kullanılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 1'de özetlenmiştir.

Hassasiyet testlerinde elde edilen % ölüm oranlarına göre yapılan istatistik (Çok-yönlü ve Tek-yönlü varyans analizi) sonuçları Tablo-II ve III de özetlenmiştir. Malathion için yapılan hassasiyet testlerinin tümünde %100 ölüm oranı elde edildiği için değerlendirmelere bu insektisit dahil edilmemiştir.

Çok-yönlü varyans analizinde, hassasiyet testlerine etki eden faktörlerden; İnsektisit, lokalite ve sezon'un kendi alt grupları arasındaki farkların ve faktörlerin hem ikişerli etkileşimlerinin ($p=0.0001$) hem de üçerli etkileşimlerinin önemli ($p=0,033$) olduğu bulundu (Tablo 2).

Hassasiyet testlerine etki eden faktörlerin ayrı ayrı değerlendirildiği tek-yönlü varyans analizinde, faktörlerin kendi içinde yer alan alt grupları arasındaki farkın sezon için önemsiz ($p=0,1$), lokalite ve insektisit için önemli ($p=0,0001$) olduğu bulundu (Tablo 3).

Yağlanmış sezonda yapılan hassasiyet test sonuçlarının Sheffe testine (0,05 anlamlılık düzeyinde) göre çoklu karşılaştırmaları yapılmıştır. Buna göre DDT insektisiti için, Tabaklar, Herekli ve Menekşe lokaliteleri arasındaki farkın önemli olmadığı, Propoksür, Deltamethrin ve Permethrin için Tabaklar ve Herekli lokaliteleri arasında fark olmadığı, fakat Menekşenin diğer iki lokaliteden önemli derecede farklı olduğu bulundu.

Gonoaktif sezon için yapılan çoklu karşılaştırmalarda (0,05 anlamlılık düzeyinde) ise DDT, propoksür, deltamethrin ve permethrin için, koloniye ait hassasiyet test sonuçlarının diğer 3 lokaliteden (Tabaklar, Herekeli ve Menekşe) çok önemli derecede farklılık gösterdiği bu üç lokalitenin ise kendi arasında farklı olmadığı bulundu.

Asetilkolin Esteraz

Gonoaktif ve yağlanmış sezonlara ait 3 farklı lokaliteden ve koloni örneklerinden alınan dişi sivrisineklerin, Asetilkolin Esteraz enzim aktivitesi $\text{Unite}=\text{mikromol/dk/ml}$ olarak saptandı.

Organofosfatlı ve karbamatlı insektisitlere karşı gelişen dirence bağlı olarak ortaya çıkan AchE enzim aktivite seviyelerindeki değişimler malathion (organofosfat) ve propoksür'a

Tablo 1. Değişik insektisitlere karşı, farklı sezonlarda farklı lokalitelerden getirilen *An. sacharovi* erginleri ile yapılan hassasiyet testleri sonucu elde edilen ortalama % ölüm oranları (Her replikasyonda test tübüne 10 sinek yerleştirildi).

SEZON	LOKALİTE	İNSEKTİSİT	Replikasyon Sayısı	Sinek Sayısı	Ortalama % ölüm oranı
Y A Ğ L A N M İ Ş	Tabaklar	DDT	2	20	10
		Malathion	10	100	100
		Propoksür	6	60	15
		Deltamethrin	5	50	56
		Permethrin	6	60	28
		DDT	2	20	10
	Herekli	Malathion	6	60	100
		Propoksür	6	60	21
		Deltamethrin	6	60	58
		Permethrin	6	60	28
		DDT	2	20	10
		Malathion	4	40	100
G O N O A K T İ F	Menekşe	Propoksür	4	40	52
		Deltamethrin	4	40	77
		Permethrin	4	40	67
		DDT	6	60	10
		Malathion	7	70	100
		Propoksür	6	60	35
	Tabaklar	Deltamethrin	6	60	49
		Permethrin	6	60	21
		DDT	6	60	7
		Malathion	6	60	100
		Propoksür	6	60	31
		Daltamethrin	6	60	53
Herekli	Permethrin	6	60	18	
	DDT	3	30	5	
	Malathion	2	20	100	
	Propoksür	2	20	38	
	Deltamethrin	2	20	58	
	Permethrin	2	20	25	
	Menekşe	DDT	7	70	26
		Malathion	12	120	100
		Propoksür	12	120	71
		Deltamethrin	12	120	83
		Permethrin	12	120	75
		Total		200	2000

Tablo 2. Hassasiyet testlerine etki eden tüm faktörlerin çok-yönlü varyans analiz sonuçları

Faktör Etkileşimleri	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri	F Önemliliği
Insektisit	10935	3	3645	97	0,0001
Lokalite	11047	3	3683	98	0,0001
Sezon	2128	1	2127	56	0,0001
Insektisit-Lokalite	2797	9	311	8	0,0001
Insektisit-Sezon	954	3	318	8	0,0001
Lokalite-Sezon	1543	2	772	20	0,0001
Insektisit-Lokalite-Sezon	537	6	89	2	0,033
Model	95922	27	3553	94	0,0001
Total	100636	152	662		

$R^2=0,953$

Tablo 3. Hassasiyet test sonuçlarına etki eden tüm faktörlerin Tek-yönlü varyans analiz sonuçları

FAKTÖRLER	GRUPLAR	N	X	SD	SE	F oranı	F olasılığı
INSEKTİSİT	DDT	28	12,8	9,0	1,7	39,7	0,0001
	Propoxur	43	42,0	21,7	3,3		
	Deltamethrin	40	64,8	14,8	2,3		
	Permethrin	42	42,6	24,9	3,8		
LOKALİTE	Tabaklar	43	29,0	16,3	2,5	37,7	0,0001
	Herekli	44	29,7	17,8	2,7		
	Menekşe	23	46,0	26,2	5,4		
	Koloni	43	68,1	20,2	3,0		
SEZON	Yağlanmış	53	38,1	22,2	3,0	2,7	0,1
	Gonoaktif	100	45,3	27,2	2,7		

(karbamatlı) dirençli ve hassas olan, değişik lokalite ve sezonlara ait örneklerde ölçülerek sonuçlar Tablo 4'de özetlenmiştir.

Çok-yönlü varyans analizine göre, AchE enzim aktivitesine etki eden tüm faktörlerden; hassasiyet ($p=0,0001$), lokalite ($p=0,0001$) ve sezon'un ($p=0,032$) kendi alt grupları arasındaki farklarının önemli, insektisit faktörü içinde yer alan malathion ve propoksür arasındaki farkın ise önemsiz ($p=0,272$) olduğu bulundu. Ayrıca, tüm 2'li, 3'lü ve 4'lü etkileşimlerin önemli olmadığı bulundu (Tablo 5).

AchE enzimine etki eden faktörlerin ayrı ayrı değerlendirildiği tek-yönlü varyans analizinde,

Tablo 4. Asetilkolin Esteraz aktivitesi saptanan örneklerin gruplandırılmasında etkili olan tüm faktörlerin tanımlayıcı istatistik değerleri.

SEZON	İNSEKTİSİT		TABAKLAR			HEREKLI			MENEKŞE			KOLONI		
			N	X	SD	N	X	SD	N	X	SD	N	X	SD
YAĞLANMIŞ	Malathion	r	25	15,4	2,34	25	15,6	2,22	25	13,4	2,19			
		R	21	18,9	2,60	23	19,6	2,86	16	18,0	2,26			
	Propoksür	r	26	14,1	2,62	20	14,0	1,63	20	13,9	2,16			
GONO-AKTIF	Malathion	r	26	15,3	2,85	15	15,7	2,12	24	14,7	2,46	47	13,8	2,06
		R	28	19,4	2,73	41	19,6	3,43	25	18,9	2,67	48	16,0	1,98
	Propoksür	r	25	15,6	2,22	23	16,3	1,63	20	15,1	2,31	40	13,7	2,09

R= dirençli, r=hassas, (malathionun dirençli grubu, koloninin ise yağlanmış örnekleri bulunmadığı için buna ait değerler yoktur).

Tablo 5. AchE enzim aktivitesine etki eden tüm faktörlerin çok-yönlü varyans analiz sonuçları.

Faktör Etkileşimleri	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri	F Önemliliği
Hassasiyet	255,7	1	255,7	42,5	0,0001
İnsektisit	7,3	1	7,3	1,2	0,272
Lokalite	171,2	3	57,1	9,5	0,0001
Sezon	27,7	1	27,7	4,6	0,032
Hassasiyet-İnsektisit*	0,0	0		-	-
Hassasiyet-Lokalite	18,9	3	6,3	1,1	0,370
Hassasiyet-Sezon	0,4	1	0,4	0,1	0,799
İnsektisit-Lokalite	22,0	3	7,3	1,2	0,301
İnsektisit-Sezon	0,01	1	0,01	0,00	0,963
Lokalite-Sezon	24,7	2	12,4	2,1	0,129
Hassasiyet-İnsektisit-Lokalite*	0,000	0			
Hassasiyet-İnsektisit-Sezon*	0,000	0			
Hassasiyet-Lokalite-Sezon	12,10	2	6,1	1,0	0,366
İnsektisit-Lokalite-Sezon	0,00	0			
Hassasiyet-İnsektisit-Lokalite-Sezon*0,00	0,00	0			
Model	2582,5	20	129,1	21,5	0,001
Total	5840,9	562	10,4		

*Malathion insektisitinin dirençli grubu ve koloninin gonoaktif grubu bulunmadığı için, Hassasiyet-İnsektisit içeren kombinasyonlarında değer bulunmamaktadır ($R^2=0,442$)

faktörlerin kendi içinde yer alan alt grupları arasındaki farkın sezon dışında ($p=0,280$) önemli ($p=0,0001$) olduğu bulundu (Tablo 6).

Hassas ve dirençli gruplar arasında, AchE enzim aktivitesinin dirençlilerde daha yüksek ($p<0,0001$) olduğu bulundu (Tablo 6). Bu değerlendirme hem malathion hem propoksuru kapsamaktadır. Malathion insektisitine ait dirençli grup bulunmadığından bu değerlendirme sadece propoxura aittir.

Lokalite için Sheffe testine (0,05 anlamlılık düzeyinde) göre yapılan çoklu karşılaştırmalarda; Asetilkolin Esteraz aktivitesinin yüksek (Herekli), orta (Tabaklar-Menekşe) ve düşük (Koloni) olduğu 3 homojen grubun bulunduğu ve bu gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu saptandı.

Hassasiyet test sonuçlarına göre hassas ve dirençli olarak yapılan gruplandırma ile iki çeşit insektisit (Malathion ve Propoksür) için ölçülen Asetilkolin Esteraz aktivitesi arasındaki uyumun, yapılan Diskriminant analizinde %76.6 oranında başarılı olduğu bulundu (Tablo 7).

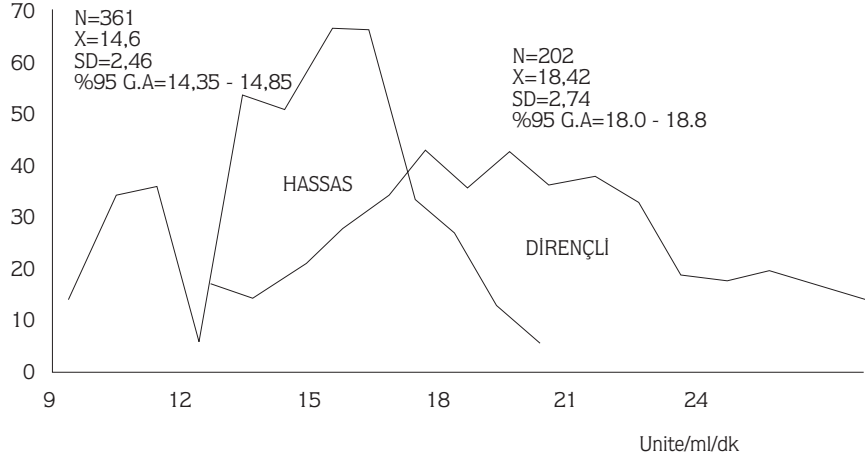
Yağlanmış ve Gonoaktif sezonlarda tüm lokalitelerden getirilen ve propoksür ile yapılan hassasiyet testlerinde dirençli bulunan 202 örneğe ait AchE enzim aktivite ortalamasının $18,42\pm 2,74$ unite/ml/dk olarak ve 361 hassas örneğe ait enzim aktivite ortalamasının ise daha düşük $14,6\pm 2,46$ unite/ml/dk olduğu bulundu (Student T-testi $p<0.05$); enzim aktivitesinin

Tablo 6. AchE enzimine ait tüm faktörlerin tek-yönlü varyans analiz sonuçları

FAKTÖRLER	GRUPLAR	N	X	SD	SE	%95	GA	F	F
HASSASİYET	Dirençli	202	18,4	3,00	0,21	18,0-	18,8	268,9	0,0001
	Hassas	361	14,6	2,43	0,12	14,3-	14,9		
INSEKTİSİT	Malathion	187	14,6	2,54	0,18	14,2-	15,0	55,8	0,0001
	Propoksür	376	16,7	3,31	0,17	16,3-	17,0		
LOKALİTE	Tabaklar	151	16,4	3,21	0,26	15,9	16,9	19,0	0,0001
	Herekli	147	17,2	3,43	0,28	16,6	17,7		
	Menekşe	130	15,6	3,12	0,27	15,1	16,2		
	Koloni	135	14,5	2,40	0,20	14,1	14,9		
SEZON	Yağlanmış	202	15,8	3,2	0,21	15,3	16,2	1,23	0,280
	Gonoaktif	361	16,1	3,2	0,17	15,8	16,4		

Tablo 7. Asetilkolin Esteraz enzimine ait diskriminant analiz sonuçları

GRUPLAR	Örnek sayısı	Hassasiyet testine göre yapılan gruplandırma	Enzim aktivitesine göre yapılan gruplandırma
Dirençli GRUP 1	202	135 (%66.8)	67 (%33.2)
Hassas GRUP 2	361	65 (%18.0)	296 (%82.0)
Doğru gruplandırma yüzdesi			%76,6



Şekil 1. Propoksura hassas ve dirençli olan gruplarda AchE enzim aktivitesi frekans dağılımlarının karşılaştırılması.

ortalaması ve frekans dağılımı ile hassas ve dirençli populasyonlar birbirinden rahatlıkla ayrılabilir (Şekil 1).

Glutasyon S-Transferaz

Gonoaktif ve yağlanmış sezonlarda 3 farklı lokaliteden ve koloniden alınan örneklerin Glutasyon S-Transferaz enzim aktiveteleri, Unite/mikrogram protein/ml olarak saptandı. İncelediğimiz organoklorlu (DDT) ve pyrethroid (Deltamethrin ve Permethrin) grubu insektisitlere karşı gelişen dirence bağlı olarak değişiklik gösteren Glutasyon S-Transferaz aktivite seviyelerinin, incelenen tüm faktörlere göre analizi Tablo 8'de özetlenmiştir.

Faktörlerin alt grupları arasında, farkların olup olmadığı ve incelenen 4 faktör arasında etkileşimin bulunup bulunmadığı çok-yönlü varyans analizi ile incelenmiş olup sonuçlar, Tablo 9'de özetlenmiştir.

Glutasyon S-Transferaz aktivitesine etki eden faktörlerden, sezon dışında kalan hassasiyet, lokalite ve insektisit kendi alt grupları arasındaki farkların önemli ($p=0,0001$) ve 2'li etkileşimlerden hassasiyet-lokalite ($p=0,0001$) dışında kalan diğer 2'li, 3'lü ve 4'lü etkileşimlerin önemsiz olduğu bulundu (Tablo 9).

Glutasyon S-Transferaz aktivitesine etki eden tüm faktörlerin ayrı ayrı değerlendirildiği tek-yönlü varyans analizi ile de sezon dışında kalan tüm faktörlerin kendi içinde yer alan alt grupları arasındaki farklılığın önemli olduğu ($p=0,0001$) bulundu (Tablo 10).

Tüm sezon ve lokalitelerde DDT, Deltamethrin ve Permethrin insektisitlerinin herbirinde dirençli gruplara ait Glutasyon S-Transferaz aktivitesinin hassaslara göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulundu (T-testi $p<0,05$, Şekil 2 ve 3).

İnsektisit için, yapılan çoklu karşılaştırmalarda, Glutasyon S Transferaz enzim aktivitesi

Tablo 8. Glutasyon S-Transferaz enzim aktivitesi saptanan örneklerin gruplandırılmasında etkili olan tüm faktörlerin tanımlayıcı istatistikleri.

SEZON	FAKTÖRLER İNSEKTİSİT	*	TABAKLAR			HEREKLİ			MENEKŞE			KOLONİ		
			N	X	SD	N	X	SD	N	X	SD	N	X	SD
YAĞLANMIŞ SEZON	DDT	R	31	122	248	32	125	24	32	94	12			
		r	28	9,5	1,25	28	9,7	1,2	28	9,6	1,2			
	Deltamethrin	R	26	11,6	1,29	22	12,2	1,5	28	10,9	1,1			
		r	28	8,9	0,99	28	9,0	1,4	28	9,2	1,1			
	Permethrin	R	28	11,7	1,75	27	11,1	1,3	28	10,9	1,3			
		r	24	9,1	1,11	25	9,0	1,2	22	9,0	1,2			
GONOAKTİF SEZON	DDT	R	25	12,6	2,1	29	13,0	1,7	29	11,6	1,7	58	10,9	1,7
		r	26	9,9	1,3	27	9,4	1,2	29	9,3	1,1	50	9,6	1,3
	Deltamethrin	R	23	12,2	1,6	26	12,4	1,9	22	11,9	2,0	58	10,4	1,4
		r	23	9,5	1,4	33	9,5	1,6	27	9,5	1,3	54	8,8	1,2
	Permethrin	R	26	11,1	1,3	22	11,5	1,1	22	11,5	1,8	50	10,7	1,2
		r	23	9,5	1,5	25	9,4	1,3	24	9,0	1,1	44	9,4	1,2

R= Dirençli, r= Hassas N=Örnek sayısı X= Ortalama SD= Standart sapma

Tablo 9. Glutasyon S-Transferaz enzimine etki eden faktörlerin çok-yönlü varyans analiz sonuçları.

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dercesi	Kareler Ortalaması	F Değeri	F Önemliliği
Ana etkiler					
Hassasiyet	315,9	1	315,9	137,0	0,0001
İnsektisitk	31,8	2	15,9	6,9	0,001
Lokalite	50,7	3	16,9	7,3	0,0001
Sezon	8,7	1	8,7	3,8	0,053
2- li Etkileşimler					
Hassasiyet-İnsektisit	7,2	2	3,6	1,6	0,213
Hassasiyet-Lokalite	45,8	3	15,3	6,6	0,0001
Hassasiyet-Sezon	8,3	1	8,3	3,6	0,058
İnsektisit-Lokalite	16,4	6	2,7	1,2	0,312
İnsektisit-Sezon	6,0	2	3,0	1,3	0,272
Lokalite-Sezon	0,1	2	0,1	0,1	0,973
3- lü etkileşimler					
Hassasiyet-İnsektisit-Lokalite	11,1	6	1,8	0,8	572
Hassasiyet-İnsektisit-Sezon	0,13	2	0,1	0,1	0,972
Hassasiyet-Lokalite-Sezon	9,0	2	4,5	4,0	0,141
İnsektisit-Lokalite-Sezon	7,4	4	1,8	0,8	0,526
4- lü Etkileşimler					
Hassasiyet-İnsektisi Lokalite-Sezon	6,2	4	1,5	0,7	0,614
Model	1911,9	41	46,6	20,2	0,0001
Hata	2824,9	1225	2,3		
Total	4736	1266	3,7		

R²= 0,404

bakımından DDT'nin Deltamethrin ve Permethrin insektisitlerinden anlamlı derecede daha yüksek aktiviteye sahip olduğu, Deltamethrin ve Permethrin arasında ise anlamlı dercede fark olmadığı bulundu (Sheffe, $p<0,05$).

Lokaliteler için yapılan çoklu karşılaştırmalarda, Glutasyon S-Transferaz aktivitesinin yüksek (Herekli-Tabaklar) ve düşük (Menekşe-Koloni) olduğu iki homojen grubun olduğu ve bu iki grup arasındaki farkın anlamlı olduğu saptandı (Sheffe t-testi, $p<0,05$).

Hem topluca değerlendirildiğinde (Tablo 10), hem de her insektisit için ayrı ayrı değerlendirildiğinde (Tablo 11) gonoaktif sezona ait örneklerin Glutasyon S-Transferaz aktivitelerinin yağlanmış sezondan anlamlı derecede farklı olmadığı bulundu.

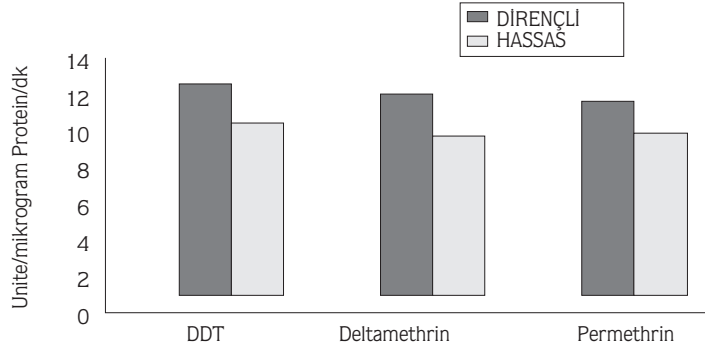
Yağlanmış ve gonoaktif sezonlarda tüm lokalitelerden getirilen ve DDT, Deltamethrin ile Permethrin insektisitelerine göre yapılan hassasiyet testlerinde; dirençli bulunan 643 örneğe ait

Tablo 10. Glutasyon S Transferaz enzimine ait tüm faktörlerin tek-yönlü varyans analiz sonuçları

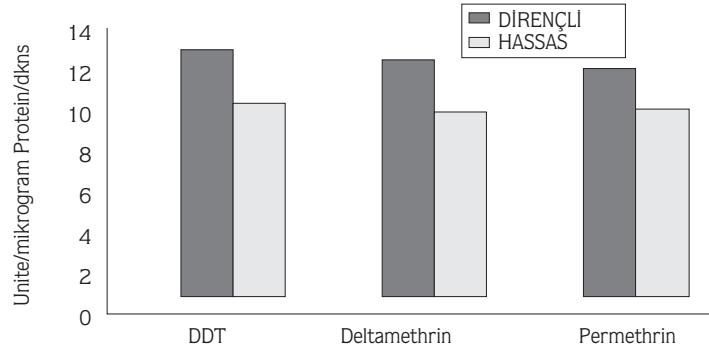
FAKTÖRLER	Alt Gruplar	N	X	SD	SE	%95	GA	F	F
								oranı	olasılığı
HASSASİYET	Dirençli	643	11,50	1,876	0,07	11,3	11,6	586,2	0,0001
	Hassas	624	9,30	1,26	0,05	9,2	9,4		
	DDT	452	10,75	2,13	0,10	10,6	10,9		
İNSEKTİSİT	Deltamethrin	425	10,24	1,89	0,09	10,1	10,4	10,9	0,0001
	Permethrin	390	10,21	1,67	0,08	10,0	10,4		
	Tabaklar	311	10,67	2,05	0,11	10,4	10,9		
LOKALİTE	Herekli	324	10,71	2,13	0,12	10,5	10,9	11,4	0,0001
	Menekşe	319	10,31	1,83	0,10	10,1	10,5		
	Koloni	313	9,94	1,57	0,09	9,7	10,1		
	Yağlanmış	493	10,39	1,89	0,07	10,3	10,5		
SEZON	Gonoaktif	774	10,45	1,99	0,09	10,3	10,6	0,29	0,591

Tablo 11. Gonoaktif ve yağlanmış sezonlarda tüm lokalitelerde DDT, Deltamethrin ve Permethrin insektisitlerinin Glutasyon S-Transferaz aktivitelerine ait istatistik sonuçları.

İNSEKTİSİTLER	SEZON	N	X	SD	SE	P değeri
DDT	Yağlanmış	179	10,7	2,3	0,17	$P>0,05$
	Gonoaktif	273	10,8	2,0	0,12	
DELTAMETHRİN	Yağlanmış	160	10,2	1,7	0,13	$P>0,05$
	Gonoaktif	265	10,3	1,9	0,12	
PERMETHRİN	Yağlanmış	154	10,1	1,7	0,14	$P>0,05$
	Gonoaktif	236	10,2	1,6	0,10	



Şekil 2. Yağlanmış dönemde, tüm insektisitlere ait hassas ve dirençli gruplardaki ortalama Glutasyon S-Transferaz aktivitesi.



Şekil 3. Gonoaktif dönemde, tüm insektisitlere ait hassas ve dirençli gruplardaki ortalama Glutasyon S-Transferaz aktivitelemi.

Glutasyon S-Transferaz enzim aktivite ortalamasının $11,5 \pm 1,87$ Unite/ μ g protein/dk olarak ve 624 hassas örneğe ait enzim aktivite ortalaması ise daha düşük $9,3 \pm 1,26$ Unite/ μ g protein/dk olduğu: hassas ve dirençli populasyonlara ait enzim aktivitelemi belirgin şekilde farklı olduğu bulundu (T-testi $p < 0,05$, Şekil 4).

Hassasiyet test sonuçlarına göre hassas ve dirençli olarak yapılan gruplandırma ile 3 insektisit (DDT, Deltamethrin Permethrin) için ölçülen Glutasyon S-Transferaz aktivitesi arasındaki uyumun, Diskriminant analizi ile %71,1 oranında başarılı olduğu bulundu (Tablo 12).

Genel Esteraz

Gonoaktif ve yağlanmış sezonlara ait 3 farklı lokaliteden (arazi) ve koloniden alınan toplam 1948 örneğin genel esteraz aktivitesi *mikromol ürün/mikrogram protein/dk* olarak saptandı.

İncelediğimiz organoklorlu (DDT), organofosfatlı (Malathion), karbamatlı (Propoksür) ve pyrethroid (Deltamethrin ve Permethrin) grubu insektisitlere karşı gelişen dirence bağlı olarak

değişiklik gösteren Genel Esteraz aktivite seviyelerinin tüm faktörlere göre durumu Tablo 13'de özetlenmiştir.

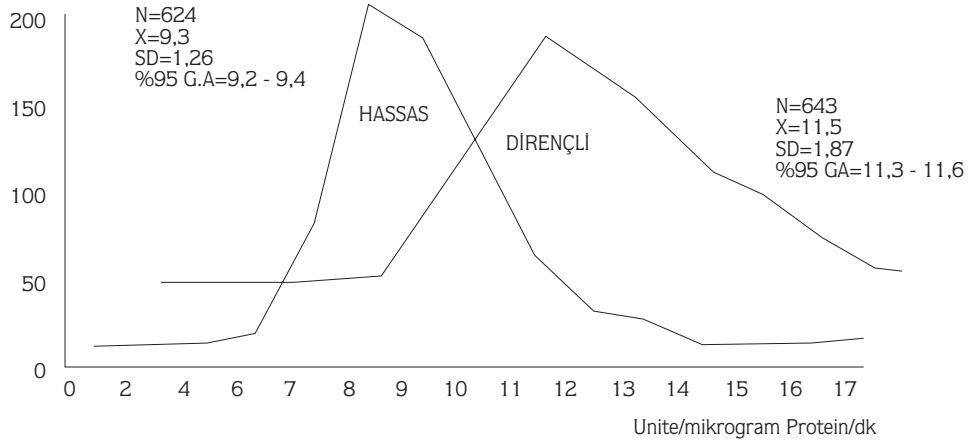
Faktörlerin alt grupları arasında farkların olup olmadığı ve incelenen 5 faktör arasında etkileşimin bulunup bulunmadığı çok-yönlü varyans analizi ile incelenmiş olup sonuçlar Tablo 14'de özetlenmiştir.

Çok-yönlü varyans analiz sonuçlarına göre naftol dışındaki hassasiyet, insektisit, lokalite ve sezon faktörlerinin kendi alt grupları arasındaki farkın önemli ($p \leq 0,001$) olduğu saptandı. Faktörler arasındaki 2'li etkileşimlerden; hassasiyet-insektisit, hassasiyet-lokalite, insektisit-naftol ve lokalite-naftol dışındaki tüm 2'li, 3'lü ve 4'lü etkileşimlerin ise önemsiz ($p > 0,05$) olduğu bulundu (Tablo 14).

Genel Esteraz aktivitesine etki eden tüm faktörlerin tek tek değerlendirildiği tek-yönlü varyans analizinde; hassasiyet ($p=0,0001$), insektisit ($p=0,0001$), lokalite ($p=0,0347$), naftol ($p=0,0001$) faktörlerinin, kendi içinde yer alan alt grupları arasındaki farklılığının önemli, sezon faktörü içinde yer alan alt gruplar arasındaki farklılığın ise önemlilik sınırında ($p=0,05$) olduğu saptandı (Tablo 15).

Insektisit için Sheffe testine (0,05 anlamlılık düzeyinde) göre yapılan çoklu karşılaştırmalarda genel esteraz aktivitesi bakımından karbamat ve phyrethroid insektisit grubununun organoklar ve organofosfatlılardan anlamlı derecede yüksek aktiviteye sahip olduğu saptandı.

α ve β esteraz aktivitesine göre onoaktif ve yağlanmış sezonlara ait arazi örneklerinde organoklar insektisitine dirençli ve hassas olanlar arasındaki farklılığın önemli ($p \leq 0,001$), koloni örneklerinde ise sadece gonoaktif sezonda β esteraz aktivitesi için hassas ve dirençliler arasındaki farklılığın önemsiz ($p=0,828$) olduğu bulundu (Tablo 16).



Şekil 4. Hassas ve dirençli örneklerin Glutathion S-Transferaz aktivitesinin frekans dağılımlarının karşılaştırılması.

Tablo 12. Glutatyon S-Transferaz enzimine ait diskriminant analiz sonuçları

GRUPLAR	Örnek sayısı	Hassasiyet testine göre yapılan gruplandırma	Enzim aktivitesine göre yapılan gruplandırma
Dirençli GRUP 1	643	449 (%69.8)	194 (%30.2)
Hassas GRUP 2	624	134 (%21.5)	490 (%78.5)
Doğru gruplandırma yüzdesi			%74.1

Tablo 13. Genel Esteraz aktivitesi saptanan örneklerin tüm faktörlere göre grup ortalamaları.

NAFTOL	FAKTÖRLER SEZON	Lokalite	Organoklor		Organofosfat		Karbamat		Pyrethroid	
			R	r	R	r	R	r	R	r
α NAFTOL	YAĞLANMIŞ	Arazi	0,12	0,10		0,10	0,12	0,11	0,12	0,09
		Koloni	**	**		**	**	**	**	**
	GONOAKTİF	Arazi	0,13	0,11	*	0,10	0,13	0,11	0,13	0,10
β NAFTOL	YAĞLANMIŞ	Koloni	0,12	0,10		0,11	0,12	0,11	0,12	0,11
		Arazi	0,10	0,09		0,09	0,11	0,09	0,11	0,09
	GONOAKTİF	Koloni	**	**		**	**	**	**	**
		Arazi	0,12	0,09		0,09	0,12	0,10	0,12	0,10
		Koloni	0,10	0,10		0,10	0,11	0,10	0,11	0,10

*. Organofosfat insektisit grubuna ait dirençli grup bulunmamaktadır.

** Yağlanmış sezonda koloni örnekleri bulunmaktadır.

R= Dirençli, r= Hassas

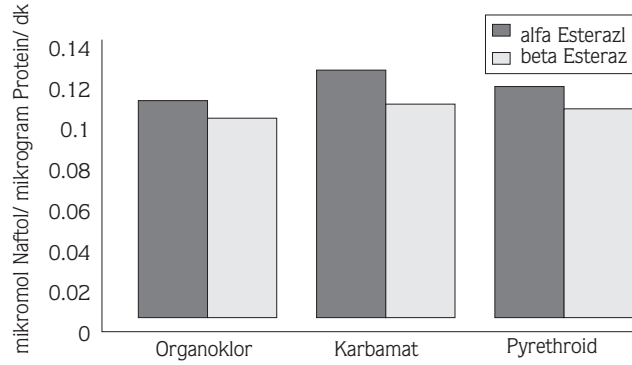
Organofosfat insektisitine ait dirençli grup bulunmadığı için dirençli ve hassaslara ait α ve β esteraz aktiviteyi arasındaki farkın önemlilik testleri yapılamadı.

α ve β esteraz aktivitesine göre; gonoaktif ve yağlanmış sezonlardaki arazi örneklerinde karbamat insektisitine dirençli ve hassas olanlar arasındaki farklılığın önemli ($p < 0,05$ ve $p = 0,0001$), koloni örneklerinde ise gonoaktif sezonda α ve β esteraz aktivitesi için hassas ve dirençliler arasındaki farkın önemsiz ($p > 0,05$) olduğu bulundu (Tablo 16).

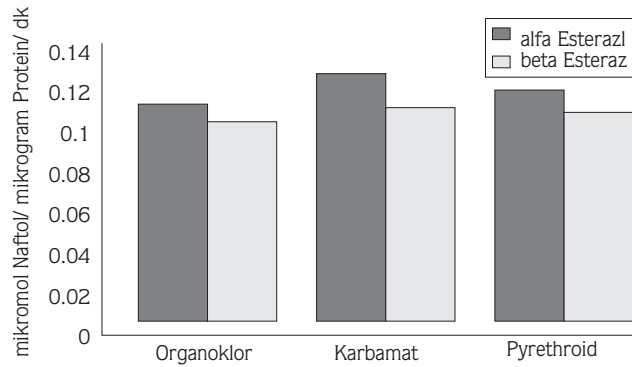
Gonoaktif sezonda Pyrethroid insektisiti için ölçülen β esteraz aktivitesine göre koloni örneklerinin hassas ve dirençlileri arasındaki farkın önemsiz ($p = 0,989$) olduğu, tüm diğer gruplarda ise hassas ve dirençliler arasındaki farkın önemli ($p = 0,0001$) olduğu bulundu (Tablo 17).

Yağlanmış sezonda, tüm insektisitler için ölçülen α esteraz aktiviteyi için β esteraz aktiviteyi için daha yüksek olduğu ve aradaki bu farkın yapılan Student T-testlerinde önemli ($p < 0,002$) olduğu bulundu (Tablo 17, Şekil 5).

Gonoaktif sezonda ise Pyrethroid insektisiti dışında kalan tüm insektisitler için α ve β esteraz



Şekil 5. Farklı inkstisitlerin yağlanmış dönemine ait α ve β esteraz aktiviteleri.



Şekil 6. Farklı inkstisitlerin gonoaktif dönemine ait α ve β esteraz aktiviteleri.

aktiviteleri arasındaki farkın önemli ($p=0,0001$) olduğu ve α esteraz aktivitesinin β esteraz aktivitesinden daha yüksek olduğu bulundu (Tablo 17, Şekil 6).

Hassasiyet test sonuçlarına göre hassas ve dirençli olarak yapılan gruplandırma ile 3 inkstisit grubu (Organoklor, Organofosfat, Karbamat ve Pyrethroid) için ölçülen genel esteraz aktivitesi arasındaki uyumun Diskriminant anali ile %62.2 oranında başarılı olduğu bulundu (Tablo 18).

Yağlanmış ve gonoaktif sezonlarda arazi ve koloniden getiren ve tüm inkstisit gruplarına göre yapılan hassasiyet testlerinde; dirençli bulunan 843 örneğe ait Genel Esteraz enzim aktivite ortalamasının $0,114\pm 0,024$ μm naftol/ μg Protein/dk olarak bulunurken 1105 hassas örneğe ait enzim aktivite ortalamasının ise daha düşük $0,10\pm 0,021$ μm naftol/ μg Protein/dk olduğu bulundu (Student T-testi $p=0,001$, Şekil 7).

Tablo 14. Genel esteraz aktivitesine etki eden tüm faktörlerin çok-yönlü varyans analiz sonuçları.

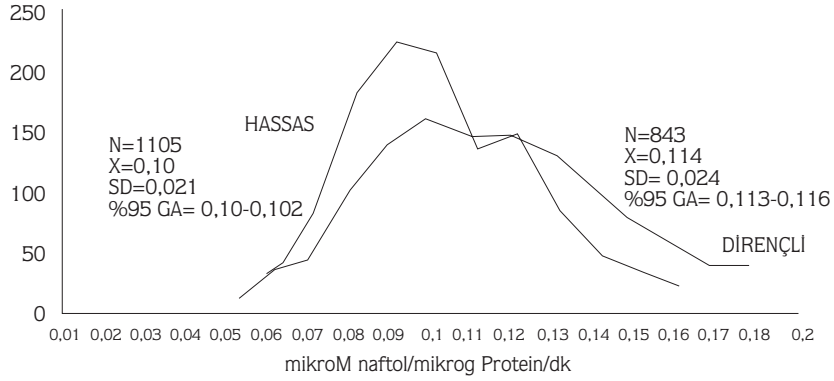
Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dercesi	Kareler Ortalaması	F Değeri	F Önemliliği
Hassasiyet	0,01	1	0,01	19,9	0,0001
Insektisit	0,01	3	0,00	8,08	0,0001
Lokalite	0,01	1	0,01	16,5	0,0001
Naftol	0,00	1	0,00	2,8	0,094
Sezon	0,01	1	0,01	21,5	0,0001
Hassasiyet-Insektisit	0,00	2	0,00	3,6	0,028
Hassasiyet-Lokalite	0,01	1	0,01	21,2	0,0001
Hassasiyet-Naftol	0,00	1	0,00	1,4	0,236
Hassasiyet-Sezon	0,00	1	0,00	2,3	0,136
Insektisit-Lokalite	0,00	3	0,00	1,1	0,339
Insektisit-Naftol	0,01	3	0,00	5,4	0,001
Insektisit-Sezon	0,00	3	0,00	2,9	0,069
Lokalite-Naftol	0,00	1	0,00	7,0	0,008
Lokalite-Sezon	0,00	0			
Naftol-Sezon	0,00	1	0,00	3,8	0,053
Hassasiyet-Insektisit-Lokalite	0,00	2	0,00	2,1	0,127
Hassasiyet-Insektisit-Naftol	0,00	2	0,00	4,4	0,013
Hassasiyet-Insektisit-Sezon	0,00	2	0,00	0,7	0,520
Insektisit-Lokalite-Naftol	0,00	3	0,00	0,3	0,599
Insektisit-Lokalite-Sezon	0,00	3			
Lokalite-Naftol-Sezon	0,00	0			
Hassasiyet-Insektisit-Lokalite-Naftol	0,00	2	0,00	1,8	0,160
Hassasiyet-Insektisit-Lokalite-Sezon	0,00	0			
Insektisit-Lokalite-Naftol-Sezon	0,00	3	0,00	0,49	0,689
Hassasiyet-Insektisit-Lokalite-Naftol-Sezon	0,00	3	0,00	0,24	0,866
MODEL	0,24	40	0,01	12,9	0,0001
TOPLAM	1,06	1947	0,00		

R²= 0,404

Tartışma ve Sonuç

Organofosfat ve Karbamat insektisit gruplarına karşı gelişen dirençlilikte hedef yapı olan AchE aktivite düzeyinin, insektisit uygulamalarının çok yoğun olduğu Tabaklar ve Herekli lokalitelerine ait örneklerde Menekşe ve Koloniye nazaran daha yüksek olduğunu saptadık. Daha önceki araştırmalarda (11, 18, 21, 22) bu grup insektisitlerden etkilenmeyen dirençli örneklerde, değişik konformasyona sahip Asetilkolin Esteraz (Altered AchE) formunun ortaya çıktığı ve

Sıtma Vektörü *An. sacharovi*'de Fizyolojik Insektisit Direnci



Şekil 7. Genel Esteraz aktivitesi bakımından hassas ve dirençlilerin frekans dağılımı.

Tablo 15. Genel Esteraz aktivitesi için, tüm faktörlerin tek-yönlü varyans analiz sonuçları.

FAKTÖRLER	GRUPLAR	N	X	SD	SE	%95	GA	F oranı	F olasılığı
HASSASİYET	Dirençli	843	0,114	0,024	0,0008	0,113	0,116	192,3	0,0001
	Hassas	1105	0,1002	0,021	0,0006	0,099	0,102		
İNSEKTİSİT	Organoklor	574	0,1052	0,023	0,0010	0,103	0,107	19,1	0,0001
	Organofosfat	283	0,0982	0,022	0,0013	0,957	0,100		
	Karbamat	548	0,1107	0,023	0,0010	0,108	0,113		
	Pyrethroid	543	0,1074	0,024	0,008	0,105	0,109		
LOKALİTE	Arazi	1005	0,1074	0,025	0,0007	0,106	0,109	4,7	0,0347
	Koloni	943	0,1052	0,021	0,0007	0,104	0,107		
NAFTOL	a naftol	986	0,1108	0,024	0,0007	0,109	0,112	75,2	0,0001
	b Naftol	962	0,1018	0,022	0,0007	0,100	0,103		
SEZON	Yağlanmış	544	0,1047	0,025	0,0011	0,103	0,107	3,6	0,05
	Gonoaktif	1404	0,1070	0,022	0,0006	0,106	0,108		

zamanla bu yeni AchE formunu taşıyan bireylerin popülasyonda etkin duruma geldiği yani sayıca daha baskın olduğu yönünde çalışmalar bulunmaktadır (11, 18, 23, 24).

Bu çalışmada yapılan hassasiyet testlerine göre sadece Organofosfatlı %5 lik Malathion'un çalışma bölgesindeki tüm lokalitelerinden getirilen erginlere karşı %100 etkili olduğu (ölüme neden olduğu) bulunmuştur. Malathion, Çukurova bölgesinde ergin sivrisinek mücadelesi amacıyla 1971 yılından itibaren kullanılmaya başlanmış ve 1984 yılında *An. sacharovi*'ye karşı tolerans gelişmesi nedeniyle terk edilmiştir (25). Tolerans'dan %5 ile %10 arasında dirençlilik

Tablo 16. Farklı insektisitlere ait hassas ve dirençliler arasındaki farklılığın tüm faktörlere göre yapılan Student T-testi (p=0.05) sonuçları.

NAFTOL	SEZON	LOKALİTE	Organoklor	Organofosfat	Karbamat	Pyrethroid
α Naftol	Yağlanmış	Arazi	0,001	Organofosfat insektisine ait dirençli grup olmadığı için önemlilik testi	0,047	0,0001
	Gonoaktif	Koloni	0,003		0,0001	0,0001
β Naftol	Yağlanmış	Arazi	0,001	yapılamadı.	*0,268	0,005
	Gonoaktif	Koloni	0,0001		0,0001	0,0001
		Koloni	*0,828		*0,434	*0,989

Tablo 17. Her iki sezonda, a ve b esteraz enzimlerine ait temel istatistik bilgileri ve esterazlar arasındaki farklılığın önemlilik testleri.

SEZON	Insektisit	Naftol	N	X	SD	SE	P
Yağlanmış Sezon	organoklor	α naftol	76	0,105	0,023	0,002	0,0002
		β naftol	72	0,095	0,023	0,002	
	karbamat	α naftol	74	0,119	0,025	0,002	0,0001
		β naftol	73	0,101	0,022	0,002	
	pyrethroid	α naftol	101	0,113	0,028	0,002	0,002
		β naftol	72	0,101	0,023	0,002	
Gonoaktif Sezon	organoklor	α naftol	215	0,110	0,023	0,002	0,0001
		β naftol	211	0,101	0,022	0,002	
	karbamat	α naftol	205	0,117	0,023	0,002	0,0001
		β naftol	196	0,105	0,022	0,002	
	pyrethroid	α naftol	170	0,118	0,022	0,002	0,342
		β naftol	200	0,106	0,023	0,002	
TOTAL		α naftol	986	0,111	0,024	0,001	
TOTAL		β naftol	962	0,102	0,022	0,001	

anlaşılır. Bizim sonuçlarımız 10-12 yıllık bir aradan sonra populasyonda dirençlilik lehine gelişen seleksiyonun tamamen ortadan kalktığını ve insektisit uygulamalarında direnç gelişimini önlemek için belli aralıklarla insektisitlerin değiştirilmesi yönündeki tavsiyeleri haklı göstermektedir (7).

French-Constant'a göre (22) AchE aktivitesinin, dirençli formlarda hassaslardakinden daha yüksek bulunmasının enzimin değişik (altered) formundan kaynaklanıp kaynaklanmadığını tam olarak açıklayabilmek için, incelenen bireylerin genotipinin homozigot dominant (RR),

Tablo 18. Genel Esteraz enzimine ait diskriminant analiz sonuçları

GRUPLAR	Örnek sayısı	Hassasiyet testine göre yapılan gruplandırma	Enzim aktivitesine göre yapılan gruplandırma
Dirençli GRUP 1	843	514 (%61.0)	329 (%39.0)
Hassas GRUP 2	1105	507 (%36.8)	698 (%63.2)
Doğru gruplandırma yüzdesi			%62.2

heterozigot (Rr) veya hassas (rr) olup olmadığının bilinmesi gerekmektedir (18, 21).

Çalışmamızda AchE enzim seviyesine ilişkin direnç gelişimi sadece Propoxur (karbamatlı) için saptanmıştır. Ancak bazı araştırmacıların (22) ileri sürdüğü koşulları çalışmamızda sağlayamadığımız için dirençliliğin AchE enziminin altered formundan kaynaklanıp kaynaklanmadığı hakkında yorum yapmak mümkün değildir.

En yüksek AchE enzim aktivitesinin Herekli ve Tabaklar popülasyonuna ait dirençli gruplarda bulunması bu 2 lokalitede tarımsal mücadele amacıyla daha fazla oranda organofosfat ve karbamat insektisit kullanımına dayanan seleksiyon baskısının etkisiyle ortaya çıktığı söylenebilir.

Organoklor (DDT) ve pyrethroid (Deltamethrin ile Permethrin) insektisitlerine karşı gelişen fizyolojik direnci incelemek amacıyla Glutasyon S. Transferaz aktivitesindeki değişimler incelendiğinde, buna uygun olarak yapılan araştırmamızda DDT, Deltamethrin ve Permethrin insektisitlerine karşı direnç geliştiren gruplarda hassaslara nazaran daha yüksek GST aktivitesinin bulunması; bu tür insektisitlerin detoksifikasyonunda GST enziminin önemli bir rol aldığını ve aktivite seviyesinin yükseldiğini gösteren çalışmalarla da desteklenmektedir (23, 26-31).

Musca domestica ile yapılan genetik çalışmalarda DDT ve pyrethroid direncinde birden fazla genin etkili olduğu ve bu genlerin ayrı ayrı ekspresyonu ile aktivitenin yükselebileceği gibi bu gibi genlerin birbirini üzerine olan kümülatif etkisiyle de aktivitenin artabileceği ileri sürülmektedir (23, 28, 32, 33). Bu nedenle, çalışmamızda dirence bağlı olarak artan GST aktivitesinin bir ve/veya daha fazla gen/genlerin etkisiyle ortaya çıkmış olabileceği düşünülmektedir.

Insektisitler arasında en yüksek Glutasyon S-transferaz aktivitesinin DDT'ye ait olması ve bunun pyrethroid grubundan deltamethrin ile permethrin'in izlemesi, GST aktivitesini arttıran gen ve/veya genler konusunda kesin bilgi vermemekle birlikte incelenen *An. sacharovi* popülasyonundaki bu direncin DDT'ye bağlı olarak ortaya çıktığı ve muhtemelen çapraz direnç mekanizması ile de Pyrethroid grubu insektisitlere yansıdığı, ayrıca pyrethroid kullanımının da bu direncin popülasyonda yayılmasına yardım ettiği söylenebilir.

Çünkü hassasiyet test sonuçlarına göre yapılan çok-yönlü ve tek-yönlü varyans analizlerinde, DDT, deltamethrin ve permethrin etkisinin önemli derecede farklı olduğu halde DDT için lokaliteler arasında fark olmadığı bulunmuştu. Oysa deltamethrin ile permethrin insektisitleri için Tabaklar ve Herekli arasında fark olmadığı halde Menekşe'den getirilen örneklerin bu iki lokaliteden toplanan sineklerden daha hassas olduğu saptanmıştır. Günümüzde zirai mücadele

amacıyla çok yaygın (ikinci sırada) bir kullanım alanına sahip olan sentetik pyrethroidlerden deltamethrin ile permethrinin, ekilebilir arazilerin göreceli olarak az veya çok olmasına göre seleksiyon baskısı oluşturduğu ve lokaliteler arasında Tabaklar-Herekli ve Menekşe şeklinde 2 farklı grubun oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Farklı sezonlarda getirilen arazi ve koloni örneklerine ait 4 farklı insektisit grubu için ölçtüğümüz, non-spesifik genel esteraz aktivitesinin, organofosfat (Malathion) dışındaki tüm insektisitler için dirençli olanlarda hassaslara göre daha yüksek olması ve dirençlilerin lehine olan bu farklılığın, arazi popülasyonunda ve aktif sezonda daha belirgin olması, esteraz enziminin metabolik dirençle ilişkili olduğu ve farklı gruplardaki insektisitlerin degradasyonundan sorumlu olabileceğini gösteren önceki çalışmalar ile desteklenmiştir (34).

Esteraz aktivitesi için yaptığımız ölçümlerde, substrat olarak kullandığımız α -naftilasetat ile β -naftilasetatin tüm Esteraz aktivitesinin ortaya çıkması için genel substratlar olarak kullanılmasının yanında α -naftilasetatı kullanan α -Esteraz enzim aktivite düzeyinin β -Esteraz düzeyinden daha yüksek olması 1987 yılında aynı tür ile aynı bölgelerde yapılan çalışma (18, 35) sonuçları ile benzerlik göstermemektedir. Çünkü, o yıllarda yapılan çalışmaya göre bu değişikliğin esterazlar arasında anlamlı bir farklılık oluşturmadığı sonucuna varılmıştı. Bu değişiklik, 1987 yılından beri devam eden insektisit kullanımının yarattığı seleksiyon baskısından ileri gelebilir. Ancak bunun tam olarak ispatlanması için kimyasal grup özgüllüğü olan esterazların ve karışık fonksiyonlu oksidazların (MFO) çalışılması gerekir. Çünkü karbamat, pyrethroid ve organoklorlu insektisitlerin degradasyonundan non-spesifik esterazlar yanında spesifik esterazlar ve MFO enzimleri de sorumludur (518, 34-36).

Çalıştığımız 3 enzimde saptanan aktivite düzeylerinin yağlanma (kış) sezonunda daha düşük bulunması, çevrede meydana gelen sıcaklık düşmelerine poikloterm canlıların metabolik faaliyetlerini minimuma indirme olarak tanımlanan (Hibernasyon) biyolojik bir uyumdur. Çünkü *An. sacharovi*'nin yağlanma periyodu sıcaklık koşullarının uygun olmadığı kış aylarına kapsamaktadır (37). Bu tür canlılar kış aylarında enerji ihtiyaçlarını karşılamak için adipoz dokularına yağ birikimi yaparak ortama adaptasyon gösterirler.

Ayrıca insektisitlerin ve özellikle organoklorlu gruba ait olanların adipoz dokuda birikmeleri nedeniyle bu tür ksenobiyotiklerin enzimlerle olan etkileşimi sınırlanmış olacağından göreceli olarak yağlanmanın aktivite düşmesine neden olabileceği düşünülmekte olup bu konuda yapılan benzer çalışmalarla da paralellik göstermektedir (38).

Hassasiyet test sonuçlarına göre yapılan hassas ve dirençli gruplandırması ile aynı örneklerde 3 enzim için ölçülen aktivite oranları arasında diskriminant analizi ile AchE enzimi için %76,6, GST enzimi için %74.1 ve Genel esteraz enzimi için %62.2 gibi oldukça yüksek bir uyumluluk tespit edildi. Günümüzde başarılı bir şekilde kullanılan ve değişik çalışmalarla güvenilir olduğu kabul edilen hassasiyet testinin sonuçları ile enzim aktiviteleri arasında başarılı bir uyum bulmamıza rağmen bu uyumun %100 olmamasının enzim aktivitelerini etkileyen genetik (direnç gen ekspresyonu ve dirençle ilgili genin frekansı) ve non-genetik (yaş mevsimsel durum, yumurta geliştirip geliştirmemiş olması ve beslenme durumu gibi), faktörlerin çok çeşitli olmasından, insektisit ve benzeri kimyasalları tanıyarak bağliyan reseptör proteinlerin yapısal genler

üzerindeki indüksiyonunda ve İnsektisit alımında rol oynayan kitinin yapısından ileri gelebilir. Ayrıca heterozigot bireylerin gen ekspresyonu bakımından bireysel farklılıklar göstermesi nedeniyle, enzim aktivitesinin homozigot hassaslar ile homozigot dirençliler arasında kalması muhtemeldir. Dolayısıyla heterozigotlar bazen dirençli, bazen hassas bireylere benzer aktiviteye sahip olabilir. Bu benzerlik iki test arasındaki farkı, diskriminant analiz sonucuna yansıtmaktadır.

Nitekim, hassas ve dirençli örneklerde 3 enzim için saptanan aktivitelerin frekans dağılımlarına baktığımızda; hassas ve dirençli grupların, farklı enzim aktivite değerlerinde pik yaptığı, ortalamalarının ise istatistiki olarak farklı ve anlamlı olduğu bulunmuştur. Fakat her iki grubun dağılımlarına baktığımız zaman, belli bir alanda iki grup çakışmaktadır, çakışan bölgenin enzim aktivite değerlerinin her iki grubun heterozigot bireylerine ait olduğunu düşündürmektedir.

İnsektisit uygulamalarının yoğun olduğu Herekli ve Tabaklar lokalitesinden getirilen örneklerde saptanan asetilkolin esteraz, glutatyon S-transferaz ve genel esteraz enzim aktivite değerlerinin en yüksek, insektisit uygulamalarının nispeten az olduğu Menekse ile hiç insektisit baskısı altında bulunmayan koloni örneklerinde düşük olması, insektisit uygulamalarını ve ekilebilir arazilerinde ürün çeşidini gözönüne alarak yaptığımız lokalite seçiminin doğru ve beklentimizle uyumlu olduğunu göstermesi bakımından da önemlidir.

Sonuç olarak diyebiliriz ki, direncin kaynağına bakmaksızın sadece hedef canlının söz konusu insektisite karşı dirençli olup olmadığı konusunda, araştırmacılara kesin bilgi veren hassasiyet testleri, pratik ve daha ucuz olması nedeniyle enzim aktivite tayini esasına dayanan pahalı ve nispeten daha komplike olan yöntemlere göre daha elverişlidir. Fakat enzim testi yönteminin direnç gelişiminde ve direncin popülasyondaki yönlü (direnç geninin popülasyonda hakim duruma gelmesi veya yok olması) konusunda araştırmacıya daha ayrıntılı bilgi vermesi nedeniyle periyodik aralıklarla hassasiyet test yöntemi ile birlikte kullanılmasının yararlı olacağını düşünmekteyiz. Ancak fizyolojik direnç konusunun daha iyi anlaşılabilmesi için, dirençle ilgili genin tespitine yönelik moleküler çalışmalara ve insektisit alımını azaltan kitin yapısı ile ilgili reseptör proteinler ve reseptör affinitesi konusunda yapılacak araştırmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Kasap M: İnsektisitler ve vektör kontrolünde kullanılmaları. VI Ulusal Paraz Kong Özel sayı, 1989, 13(2). 209-226.
2. Ramsdale CD: Some aspects of epidemiology of resurgent malaria in Turkey. Trans Roy Soc Med & Hyg. 1978, 72: 6.
3. Clements AN: The Physiology of mosquitoes. Pergamon Press, Oxford, England, 1963, p:393.
4. Kasap M, Kasap H, Alptekin D & Demirhan O: *Anopheles sacharovi* de beslenme ve fizyolojik yaş. ÇÜ Tıp Fak Derg. 1989, Sayı 4: 581-589.
5. Boşgelmez A, Çakmakçı, L, Alten B, Ayaş Z, Işık K, Sümbül H, Kuytul A, Kocal AŞ, Kaynaş S, Temimhan M, Şimşek F M (1994): Sivrisineklere Karşı Entegre Mücadele. T.C. Turizm Bakanlığı Yatırımlar Genel Müdürlüğü Alt Yapı Dairesi Başkanlığı, Yayın No:1994-1, H.Ü. Fen Fakültesi Matbaası, ISBN 975-7478-82-2, 759 s.
6. Boşgelmez A, Çakmakçı L, Alten B, Ayaş Z, Işık K, Sümbül H, Şimşek F.M, Ayaş Z, Temimhan M, Göktürk R.S, Savaşçı S, Paslı N, Kuytul A, Kocal AŞ (1995). Sivrisineklere Karşı Entegre Mücadele II. T.C. Turizm Bakanlığı Yatırımlar Genel Müdürlüğü Alt Yapı Dairesi Başkanlığı, Yayın No:1995-1, H.Ü. Fen Fakültesi Matbaası, ISBN 975-7478-90-3, 541 s.

7. Dawidson G & Zahar AR: The practical implications of resistance of malaria vectors to insecticides. Bulletin of WHO. 1973, 49: 475-483.
8. Aldridge WN: Serum esterases. Biochem J. 1953, 53: 110.
9. Dauterman C: The role of hydrolysis in insecticide metabolism and the toxicological significance of the metabolites. J Clin Toxicol. 1983, 19: 623.
10. Ellman GL, Courtney KD, Andres V & Foatherstone RM: A new and rapid calorimetric determination of acetylcholin esterase activity. Biochem Pharmacol. 1961, 7: 88.
11. Hemingway J & Smith: Field and laboratory detection of the altered acetylcholin esterase resistance genes which confer organophosphate and carbamate resistance in mosquitoes. Bull Ent Res. 1986, 76: 559-565.
12. Oppenoorth FJ & Welling W: Biochemistry and physiology of resistance in insecticide resistance. Plenum, New-York, 1976, p:507.
13. Van Asperen K & Oppenoorth FJ: Organophosphate resistance and esterase activity in house flies. Entomol Exp Appl. 1959, 2: 48.
14. Hemingway J, Malcolm CA, Kisson KE, Boddington RG, Curtis CF & Hill N: The biochemistry of insecticide. Resistance in *Anopheles sacharovi*. Comparative studies with a range of insecticide susceptible and resistant *Anopheles* and *Culex* species. Pest Biochem & Physiol. 1983, 24: 68-76.
15. Kasap M, Şişli N: Ankara yöresinde *An. maculipennis* kompleksinin (Diptera: Culicidae) DDT 4.0, DLN %0.8 ve Mal. %5.0 insektisitlerine karşı gösterdikleri dirençlilik. Türk Parazitoloji Dergisi. 1979, 11: 1725.
16. Whartin RH & Roulsten WJ: resistance of tick to chemicals. Ann Rev Entomol. 1970, 15: 381.
17. WHO: Manual on practical entomology in malaria. V-II Geneva, 1975.
18. Hemigway J, Small GJ, Monro A, Savyer BV & Kasap H: Insecticide resistance gene frequencies in *Anopheles sacharovi* populations of the Çukurova Plain, Adana Province, Turkey. Med & Vet Entomol. 1992, 6: 312-348.
19. Lowry OH, Rosebrough NT, Farr AL & Kendall RJ: Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951, 193: 265.
20. Saunders B D & Trapp R G. Basic and Clinical Biostatistics. Appleton & Lange, USA, 1994, p: 125-143.
21. Dewonshire AL & Moores GD: Different forms of insensitive Acetylcholin esterase in Insecticide resistant house flies. Pest Biochem & Physiol. 1984, 78: 163-171.
22. Ffrench-Constant RH & Bonning BC: Rapid microtitre plate test insecticide resistant acetylcholinesterase genotypes in the mosquitoes. Med & Vet Entomol. 1989, 3: 9-16.
23. Plapp FW & Wang TC: Genetics of metabolic resistance to insecticides in the house fly: Evidence for the role of a major regulatory gene. J Chin Entomol. 1982, 1: 11.
24. Smissaert HR, Voerman S, Oostenbrugge L & Renooy N: Acetylcholin esterase of organophosphate susceptible and resistant spider mites. J Agric Food Chem. 1970, 18: 66.
25. Kasap H, Kasap M, Akbaba M, Alptekin D, Demirhan O, Lüleyap Ü & Pazarbaşı: A: Residual efficacy of Primiphos methyl (Actellic) on *Anopheles sacharovi* in Çukurova Turkey. J Am Mosq Cont Assoc. 1992, 8(1): 47-51.
26. Grant DF, Bender DM & Bruce DM: Quantitative kinetic assays for Glutathione S.-Transferase and General esterase in individual mosquitoes using an EIA reader. Insect Biochem. 1989, 19(8): 741-751.
27. Meister A & Anderson ME: "Glutathione". Ann Rev Biochem. 1983, 52: 711-760.
28. Plapp FW: Biochemical genetics of insecticide resistance. Ann Rev Entomol. 1976, 1: 179.
29. Tanaka KN & Nakajimo M: Metabolism of lindane in house flies. Pest Biochem & Physiol. 1976, 6: 392.
30. Tanaka KN & Nakajimo M & Kurihara N: The mechanism of resistance to lindane in the third strain of housefly. Pest Biochem & Physiol. 1981, 16: 149.

Sıtma Vektörü *An. sacharovi*'de Fizyolojik Insektisit Direnci

31. Thorsten A: Enzymatic conjugation of Epoxides with Glutathione. J Bio Chem. 1973, 248(10): 3702-3707.
32. Oppenoorth FJ & Van Endersen K: Allelic genes in the house fly producing modified enzymes that cause organophosphate resistance. Science. 1960, 132: 298.
33. Plapp FW: The genetic basis of insecticide Resistance in the house fly. Pest Biochem & Physiol. 1984, 22: 194-201.
34. WHO: Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides. Tech Rep Ser, 737. Geneva, 1986.
35. Hemingway J & Georghiou GP: Baseline esterase levels for *Anopheline* and *Culicine*. Mosquitoes News. 1984, p: 33-35.
36. Ishaaya I: Insect detoxifying enzymes; Their importance in pesticide synergism and Resistance. Arch Insect Biochem & Physiol. 1993, 22: 263-276.
37. Kasap H, Kasap M, Mimiođlu M & Aktan F: *Anopheles sacharovi* erginlerinin Adana yöresinde kışlama durumu. TUBİTAK-TAG VII B1. Kong Teb 1983, 325-330.
38. Lüleyap Ü: Sıtma vektörü *Anopheles sacharovi* erginlerinde ATPaz aktivitesi ve sivrisinek mücadelesinde kullanılan Primiphos methyl'in bu kativiteye etkisi. Master Tezi. Çukurova Üniversitesi. Adana 1992.