Yabanıl tip Calliptamus tenuicercis
Tarbinski (Orthoptera : Catantopidae)
örneklerinde azinfosmetil uygulamasına
bağlı asetilkolinesteraz inhibisyonu

Murat ÖZMEN* Battal ÇİPLAK** Özfer YEŞİLADA*
Birgül ÖZCAN*** Esin ULUBABA

Summary

Acetylcholinesterase inhibition due azinfosmethil exposure on wild type
Calliptamus tenuicercis Tarbinski (Orthoptera: Catantopidae)

This is a model study on specimens of Calliptamus tenuicercis
Tarbinski (Orthoptera: Catantopidae) which collected from the field. Inhibition
effect of the organophosphorus insecticide, azinfosmethil, on acetylcholineste-
rase (AChE) activity was investigated. During the experiments, mature female
locusts which collected from vicinity of Yaygin Village of Malatya-Turkey (step
area) were used. Experiments were done during August and September 1994.
Insecticide was sprayed to each of six enclosure which built on grass and
trifolium planted area in different doses (0, 212.0, 424.1, 841.5, 1694.3 and
3388.5 gr/ha), and than locusts were housed. AChE activity of the specimens,
which collected randomly on day 3, day 7 and day 11, was assayed. AChE
activity inhibition ratio were determined as % 19.35-30.8, % 7.34-44.29 and %
35.19-35.28 respectively on day 3, day 7 and day 11. In the result, it was found
that AChE inhibition is increase due to exposure period and also treatment
doses.

Key words: Azinfosmethil, Orthoptera, Calliptamus, Acetylcholinesterase
Anahtar sözcükler: Azinfosmetil, Orthoptera, Calliptamus, Asetilkolinesteraz

* İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Malatya, Türkiye
** Akdeniz Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya, Türkiye
*** Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Hatay,
Türkiye

Alınış (Received): 27.12.1996
Giriş


Asetilkolin, böceklerde merkezi sinir sisteminde bulunan, buna karşın nöromusküler bağlanımlarda varlığı gösterilmiş olan nörotransmitter bir maddedir (Burnell and Wilkins, 1988). Kolinerjik sistemin metabolik enzimleri böceklerde fazla miktarlarda bulunmaktadır ve histokimyasal olarak asetilkolinesteraaz (AChE) basın nörofililleri ve toraksık ganglionlar çevreye sinir hücrelerinin korteksinde yüksek oranda bulunmaktadır (Hall et al., 1980). Canlılarda organik fosforlu insektisit uygulamasına bağlı olarak, AChE enzimi inhibe edilmektedir. AChE hedef enzim olduğundan, biyokimyasal biyobelirteç olarak, organik fosforlu insektisit toksisitesi çalışmalarda enzim inhibisyonu saptanmalıdır.


Bu araştırmada, doğal koşullardan toplanan Calliptamus tenuicercis Tarbinski (Orthoptera: Catantopidae) örneklerine, laboratuvar koşullarında organik fosforlu bir insektisit olan azinfosmetil'in farklı dozlarının uygulanması ve AChE enzim aktivitesinin inhibisyonunun doz - gün ilişkisinin gözlenmesi amaçlanmıştır. Buna bağlı olarak, insektisit uygulaması bir çalışma modeli üzerinde denenmiştir.
**Materyal ve Metot**


Çekirgelerin insektisit etkisine maruz bırakılması amacı ile, doğal koşullar altında çımen (*Lolium* sp.) ve yonca (*Trifolium* sp.) karışımda ekili olan ve düzenli sulan olan bir arazide birbirinden 3 m aralıklarla altı adet 100x100x50 cm ebatında tel kafesler hazırlanmıştır. Kafeslere çekirgele-rin bırakılmasından 2 saat önce, sırası ile 0, 212,0, 424,1, 841,5, 1694,3 and 3388,5 gr/ha olacak şekilde insektisit homojen bir şekilde dağılma özen gösterilen püskürtüldü. Bunun için, ticari olarak satılan Gusathlon 2S® (% 35 aktif içerikli) (Bayer-Türk) stok solusyonundan belirlen miktarlarda olacak şekilde alınan insektisit 100 ml distile su ile suluandırıldı ve bir el pompası yardımı ile her kafes içerisinde uygulama dozuna göre püskürtüldü. Bu andan itibaren, uygulama alanları örnek toplamanın son bulduğu 11. güne kadar sularındadır. İnsektisit püskürtmesini takiben, 2. saat sonunda her kafe 34 adet çekirge olacak şekilde örnekler bırakıldı. Örneklerin kafese bırakılmasını takip eden 3. günden itibaren farklı günlerde (3. gün, 7. gün ve 11. gün) kafeslerden 7’ sırt adet çekirge toplandı, naylon torbalara konulup etiketlendi ve öldürülmelden laboratuvara taşındı. Örnekler derhal -40 °C'da derin dondurucuya konularak, enzimatik çalışmalar yapılanada kadar saklandığı. Önbirincigende 212,0, 424,1, 841.5 gr/ha insektisit uygulaması gruplarına yeterli sayıda örnek toplanamadığından enzim aktivitesi çalışılamadı.

Çekirgelerle AChE aktivitesinin saptanması amacı ile Ellman et al. (1961)' in spetrofotometrik aktivite tayin yöntemi Önzen ve Bozcuğ (1994)'a göre uygulandı. Bunun için örnekler naylon torbadan teker teker çıkarılıp oda sıcaklığında çözünmeleri sağlandı. Bir bistüri yardımı ile baş kısmını thorax bölgesinde ayrıldı ve tartıldı. Ağrılığını 3 katı oranında Trizma tamponu (pH 7,4) (Sigma Corp., MO, USA) eklenerek, cam-teflon homojenizatörde 3 kez 15 saniye süre ile parçalandı. Daha

Elde edilen enzim aktivite değerleri istatistik paket program (SPSS Inc., USA) kullanılarak varyans analizi (ANOVA)’ne göre (Peterson, 1985), Kruscall-Wallis yöntemi ile test edildi. Gruplar arası farklılık bulunduğuunda, kontrol grubu ile uygulama grupları arasındaki farklılık Mann Whitney-U testi ile saptandı. Enzim aktivite değerleri standart hata (± SEM) değerleri ile gösterildi.

**Araştırma Sonuçları ve Tartışma**

Cetvel 1’de uygulama dozları ve örneklerin deney düzeneğinden toplandığı gibi olurak, enzim aktivite değerleri ve enzim inhibisyon yüzdesi gösterilmiştir. Azinfosmetil uygulamasına bağlı olarak, C. tenuicercis' de AChE aktivitesinin incelemiyle bu arastırımda kontrol grubu örneklerinde, enzim aktivitesi günlerde bağlı olarak 4.36-4.5 (±0.23-0.29) μmol/dakika/gr olarak saptandı. İstatistiksel olarak, enzim aktivite değerleri arasında fark önemli düzeyde bulundu. Diğer taraftan, uygulama dozlarına bağlı olarak, enzim aktivitesinin azaldiği ve en yüksek uygulama dozunda ise enzim aktivitesinin kontrol değerlerine yakını olduğu, uygulamanın 7. gününde enzimin % 7.34 oranında inhibisyona uğradığı belirlendi. AChE aktivitesi uygulama dozlarına bağlı olarak incelenildiğiinde, 3.gende toplanan örneklerde 841.5 gr/ha uygulama dozu hariç, aktivitenin doza bağlı olarak kademeli bir azalş gösterdiği görülmektedir. Her grub kendi arasında incelenildiğinde, günere bağlı olarak, enzim aktivite değerlerinin özellikle yüksek dozda insektisit uygulaması ile azaldığı görülmektedir. Örneklerin üç farklı güne toplandığı yüksek dozda insektisit uygulanan gruplarda doz-gün-enzim aktivitesi ilişkisi ortaya konulmaktadır. Diğer taraftan, kontrol grubu sonuçları ile uygulama grupları karşıştırıldığında en düşük uygulama dozunda istatistiksel olarak farklılık saptanmazken, diğer tüm uygulama gruplarında enzim aktivitesinin önemli düzeyde inhibisyona uğradığı ortaya konulmuştur (p<0.05; p<0.02; p<0.005).
Cetvel 1. Test günlerine insektisit uygulamasına bağlı olarak AChE aktivitesi ve enzim inhibisyonu

<table>
<thead>
<tr>
<th>Uygulama Dozu (gr/ha)</th>
<th>3. gün n</th>
<th>Aktivite</th>
<th>% İnh.</th>
<th>7. gün n</th>
<th>Aktivite</th>
<th>% İnh.</th>
<th>11. gün n</th>
<th>Aktivite</th>
<th>% İnh.</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Kontrol (0)</td>
<td>5</td>
<td>4.50±0.29</td>
<td>-</td>
<td>5</td>
<td>4.36±0.23</td>
<td>-</td>
<td>10</td>
<td>4.43±0.17</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>212.0</td>
<td>7</td>
<td>4.95±0.23</td>
<td>-</td>
<td>5</td>
<td>4.04±0.22</td>
<td>7.34</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>424.1</td>
<td>7</td>
<td>3.62±0.09a</td>
<td>19.35</td>
<td>6</td>
<td>3.65±0.12a</td>
<td>16.28</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>841.5</td>
<td>7</td>
<td>3.41±0.17a</td>
<td>30.13</td>
<td>5</td>
<td>3.50±0.28b</td>
<td>19.72</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
<td>-</td>
</tr>
<tr>
<td>1694.3</td>
<td>5</td>
<td>3.58±0.17a</td>
<td>20.44</td>
<td>7</td>
<td>3.28±0.12c</td>
<td>24.63</td>
<td>7</td>
<td>2.87±0.12c</td>
<td>35.19</td>
</tr>
<tr>
<td>3388.5</td>
<td>7</td>
<td>3.11±0.24a</td>
<td>30.80</td>
<td>7</td>
<td>2.43±0.09c</td>
<td>44.29</td>
<td>3</td>
<td>2.86±0.18a</td>
<td>35.28</td>
</tr>
</tbody>
</table>

överine de insektisitlerin etkilerinin araştırılması, bilinçsiz ve doğal dengeyi tahrir edecek düzeyde pestisit kullanımın çevre ve eko-sistem üzerine etkilerinin ortaya konulması bakımından da önem taşımaktadır.

Özet

Bu araştırmada, araziden toplanan *Calliptamus tenuicercis* Tarbinski (Orthoptera : Catantopidae) türune ait örnekler kullanılarak, model bir çalışma yapılması amaçlanmıştır. Çekirgelerde organik fosforlu bir insektisit olan azinfosmetil uygulamasına bağlı olarak, asetilkolinesteraz (AChE) enzim inhibisyonu incelendi. Deneylerde, Malatya, Yaygang Köyü çevresi kisaç alanından toplanan düşler kullanıldı. Ağustos-Eylül 1994 ayları arasında sürdürülün deneylerde, çimen ve yonca bitkileri kansımlı ekil bir alanda kurulan kafeslere farklı dozlarda (0, 212.0, 424.1, 841.5, 1694.3 and 3388.5 gr/ha) insektisit uygulanmıştır. Enzim aktivitesi incelendi. Kafeslerden toplanan örnekler AChE aktivitesi spektrofotometrik yöntem ile saptanmıştır.

Enzim aktivitesinin uygulama dozuna bağlı olarak 3. gün, 7. gün ve 11. gün örneklerinde sırasıyla %19.35-30.8, %7.34-44.29 ve %35.19-35.28 oranında inhibisyonu uğradığı saptandı. Araştırma sonuçlarına göre, AChE inhibisyonunun çekirgelerde, arazideki organlarla uygulanan insektisit dozu ve maruz kalınan süreye bağlı olarak arttığı saptandı.

Literatür


