

Kitin Sentez İnhibitörü Diflubenzuron'un *Culex pipiens* (L.) ve *Culiseta longiareolata* (Macquart)'nın (Diptera: Culicidae) Larvaları Üzerine Etkileri

The Effects of Chitin Synthesis Inhibitor, Diflubenzuron on the Larvae of *Culex pipiens* (L.) and *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae)

Hakan Kavur¹, Önder Deveci¹, Hayal Boyacıoğlu²

¹Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

²Ege Üniversitesi Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü, İzmir, Türkiye

ÖZET

Amaç: Diflubenzuronun *Culex pipiens* ve *Culiseta longiareolata*'nın larva evrelerine olan etkisini belirlemek, dört haftalık uygulamada haftalık mortalite oranlarını tespit etmek ve uygulama dozlarının larval ölüm üzerine etkilerini araştırarak etkili dozunu belirlemektir.

Yöntemler: Çalışmamızda, diflubenzuronun granül formülasyonu için World Health Organization (WHO) tarafından önerilen 0.05 mg(ai)/cm²lik dozundan yüksek ve düşük miktardaki dozları (0.016, 0.032, 0.064 mg(ai)/cm²) *Culex pipiens* ve *Culiseta longiareolata*'nın 1., 2., 3. ve 4. larva evrelerine laboratuvar koşullarında uygulanarak ölümler kaydedilmiştir.

Bulgular: Elde edilen sonuçlara göre, mortalitenin en çok ilk larva evrelerinde olduğu, en fazla larval ölümün *Culex pipiens* için 4. haftada, *Culiseta longiareolata* için ise 3. haftada gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Ayrıca diflubenzuronun önerilenden düşük ve yüksek olan dozlarının kullanıldığı çalışmamızda, en etkili dozunun 0.064 mg(ai)/cm² olduğu tespit edilmiştir (LC50 >4640 ppm, LC90=0.0034 ppm). Bununla birlikte, diflubenzuronun *Culiseta longiareolata* larvalarında daha etkili olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Diflubenzuronun her sivrisinek türüne, hatta her larva evresine özgü bir ölüm oranının olduğunun bilinmesi bu aktif maddeye karşı kazanılabilecek dayanıklılığın miktarını belirlemede önemli rol oynayacaktır. (*Türkiye Parazitol Derg* 2011; 35: 154-8)

Anahtar Sözcükler: *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata*, diflubenzuron, kitin sentezi, kitin sentezi inhibitörü

Geliş Tarihi: 05.05.2011

Kabul Tarihi: 22.08.2011

ABSTRACT

Objective: The aim of the present study was to detect effects of diflubenzuron on *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata* larvae, and determine the weekly mortality rate and most effective dose of diflubenzuron during the study.

Methods: The lower and higher doses (0.016, 0.032, and 0.064 mg(ai)/cm²) than 0.05 mg(ai)/cm² which are recommended for granular formulation of diflubenzuron by WHO (World Health Organization) was applied against 1st, 2nd, 3rd and 4th instars under laboratory conditions and mortality was recorded.

Results: According to our data, diflubenzuron was more effective against early instars, and it was found most effective in the 4th and 3th week post-treatment in the application for *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata* larvae respectively. In addition, the most effective dose of diflubenzuron was obtained as 0.064 mg(ai)/cm² (LC50 >4640 ppm, LC90=0.0034 ppm). Furthermore *Culiseta longiareolata* was more sensitive than *Culex pipiens* larvae.

Conclusion: Knowing the specific mortality rate of diflubenzuron in different mosquito species and larvae stages, plays an important role in determining the resistance against diflubenzuron. (*Türkiye Parazitol Derg* 2011; 35: 154-8)

Key Words: *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata*, diflubenzuron, chitin synthesis inhibitor

Received: 05.05.2011

Accepted: 22.08.2011

GİRİŞ

Sivrisineklere karşı mücadele günümüzde kimyasal, biyolojik veya mekanik olarak yapılmaktadır. Bu yöntemlerden kimyasal mücadele doğaya ve hedef dışı canlılara zararlı olmaktadır (1-4). Bu yüzden geliştirilen IGR insektisitler zararlı böceklerin kontrolünü sağlamış ve kimyasal insektisit kullanımından ortaya çıkan olumsuzlukları azaltmıştır. IGR grubu, hedef canlı dışındaki diğer canlılara en az zararı veren insektisitlerdendir (5-9). Ayrıca, juvenil hormon analogları ve kitin sentez inhibitörleri olarak 2 grupta incelenmektedirler (10-13). Diflubenzuron bir kitin sentez inhibitörüdür, zararlı böceklerin nimf ya da larvalarında kitin sentezini durdurarak böceğin bir üst larva evresine geçmeden ölmesine neden olur (14-19).

Bu çalışmanın amacı, diflubenzuronun *Culex pipiens* ve *Culiseta longiareolata*'nın larva evrelerine olan etkisini belirlemek, dört haftalık uygulamada haftalık mortalite oranlarını tespit etmek ve uygulama dozlarının larval ölüm üzerine etkilerini araştırarak etkili dozunu belirlemektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Culex pipiens ve *Culiseta longiareolata* türlerinin 1., 2., 3. ve 4. evre larvaları, Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü Botanik Bahçesi'ndeki Sivrisinek Kitle Üretim Laboratuvarının *Culex pipiens* ve *Culiseta longiareolata* türlerinin üretiminin yapıldığı tanklardan, larva kepçeleri ile toplanıp, doğal ortam sularına konularak taşıma kapları ile laboratuvara getirilmiştir. Toplanan larvalar türlerine ve evrelerine göre ayrıldıktan sonra, her kaba 25 adet olacak şekilde denemelere alınmışlardır (16). Her doz için, her larva evresinden 300 larva olmak üzere toplam 1200 adet larva kullanılmıştır. Çalışmamızda, aktif madde olarak diflubenzuron içeren granül formülasyonlu, ticari bir larvasit kullanılmıştır. Bu formülasyonda önerilen doz 25 gr(ai)/ha olmak üzere yüzey hesaplamasına göredir. Bu nedenle özellikle kullanılan kapların yüzey alanları dikkate alınmıştır. Uygulamamız farklı zaman aralıklarının da 3 kez tekrar edilerek gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda diflubenzuronun WHO tarafından önerilen dozu olan 0.05 mg(ai)/cm²'ten düşük ve yüksek oranlardaki dozları (0.016, 0.032, ve 0.064 mg(ai)/cm²) 200 cm²'lik kaplarda kullanılmıştır. Toplam olarak uygulamanın her tekrarında 3 doza, 4 larva evresi için 12 adet kap kullanılmıştır. Uygulama süresi olan 28 gün boyunca her gün ölen larvalar sayılmış ve 7 günde bir olmak üzere 4 kez tüm larvalar yenilenmiştir. Larvalara her gün toz haline getirilmiş balık yeminden her bir kapa ortalama 2,5 gr olmak üzere yem verilmiştir. Her bir dozun deneme grupları için içinde 25 adet larva bulunan toplam 6 adet kontrol grubu kullanılmıştır. Uygulamalar 12:12 (gündüz:gece) fotoperiyodunda, %55 nem ve 25±2°C sıcaklık altındaki laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmiştir.

İstatistik Analizler

Mortalite yüzdelerinin verileri Two-way ANOVA (ANOVA) (SPSS version 10.0, SPSS Inc. 1999) testi ile değerlendirilmiştir, elde edilen anlamlı veriler Tukey multiple range testi kullanılarak karşılaştırılmış ve aralarında farklılık olup olmadığı ortaya çıkarılmıştır (p<0.05).

BULGULAR

a. *Culex pipiens* larvalarında diflubenzuronun etkisi

Culex pipiens türü sivrisinekler üzerinde diflubenzuron ile yapılan uygulamada, tanımlayıcı istatistikler kontrol grubunun en düşük

mortalite değerlerine sahip olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, dördüncü haftada kaydedilen larval ölümlerin (295/900) diğer haftalara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (p<0.01) (Şekil 1) (Tablo 1). Ayrıca, diflubenzuronun etkisinin birinci evre larvalarda (882/900) daha fazla olduğu ve mortalitenin diğer evrelere göre yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2).

Diflubenzuronun 0.016, 0.032 ve 0.064 mg(ai)/cm²'lik uygulama dozları arasında, *Culex pipiens* larvaları üzerinde neden olduğu mortalite bakımından farklılıklar gözlemlenmiştir. En az bireyin 0.016 mg(ai)/cm²'lik dozda öldüğü, 0.064 mg(ai)/cm²'lik dozda da en fazla bireyin öldüğü tespit edilmiştir (1111/1200) (Şekil 3).

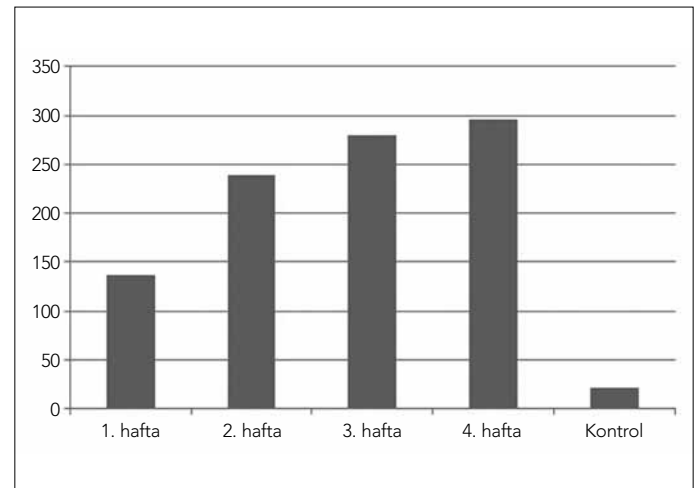
b. *Culiseta longiareolata* larvalarında diflubenzuronun etkisi

Culiseta longiareolata türü için yapılan uygulamanın üçüncü haftası (212/900) bu uygulamada en çok larvanın öldüğü haftadır (Şekil 4). Ayrıca, tanımlayıcı istatistikler kontrol grubunun en düşük mortalite değerlerine sahip olduğunu göstermektedir (p<0.01) (Tablo 2). Bununla birlikte, diflubenzuronun etkisinin birinci evre larvalarda (899/900) daha fazla olduğu ve mortalitenin diğer evrelere göre yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5).

Diflubenzuronun 0.016, 0.032 ve 0.064 mg(ai)/cm²'lik uygulama dozları arasında, *Culiseta longiareolata* larvaları üzerinde neden olduğu mortalite bakımından farklılıklar gözlemlenmiştir. En az bireyin 0.016 mg(ai)/cm²'lik dozda öldüğü, 0.064 mg(ai)/cm²'lik dozda da en fazla bireyin öldüğü tespit edilmiştir (1095/1200) (Şekil 6).

TARTIŞMA

Diflubenzuron çeşitli formülasyonlarda ve markalar altında bütün dünyada sivrisineklerle mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır (5). Diflubenzuronun WP ve G formülasyonlarının 0.02 mg(ai)/litre ve 0.03 mg(ai)/litre dozları uygulamadan sonraki 7, 14 ve 21. günlerde ergin çıkışında %100 inhibasyona neden olmuştur. Ergin çıkışı tüm uygulama dozlarında 28. günden sonra azalma göstermiştir. Her bir formülasyonun 0.01 mg(ai)/litre'lik dozu 28 gün içerisinde *Culex pipiens* erginlerinde etkili bir azalmaya neden olmuştur (6). Diğer bir uygulamada ise haftalık kaplara 3. Evre 25'er larva ekleyerek yürütülmüştür. Ergin çıkışının inhibasyonuna dair değerlendirmeler her bir uygulama için larva eklenmesinden

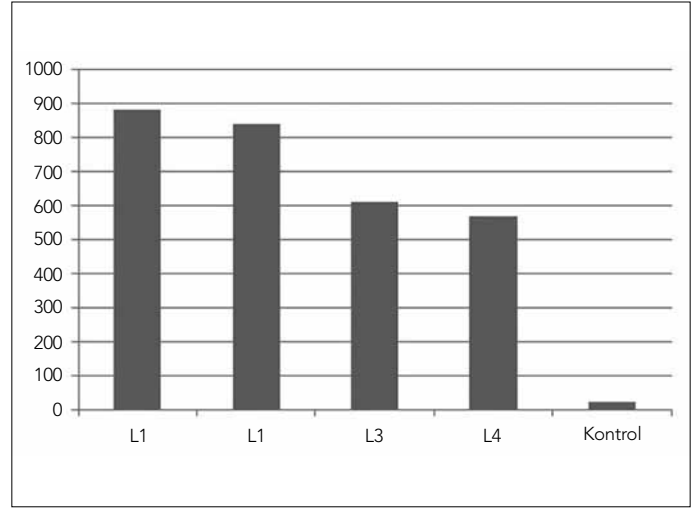
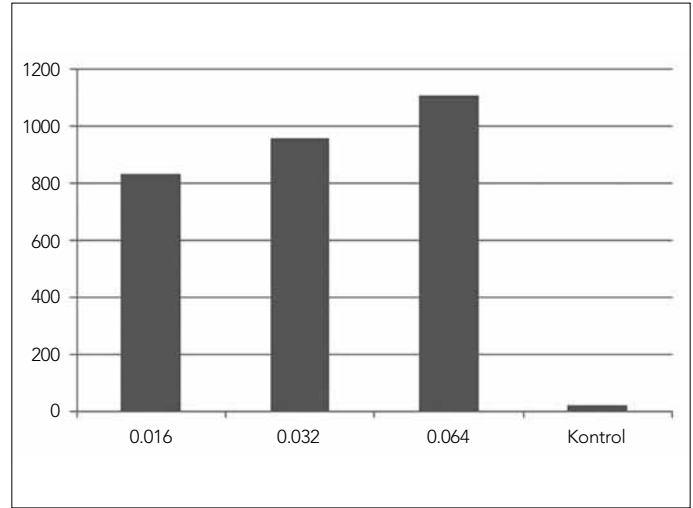
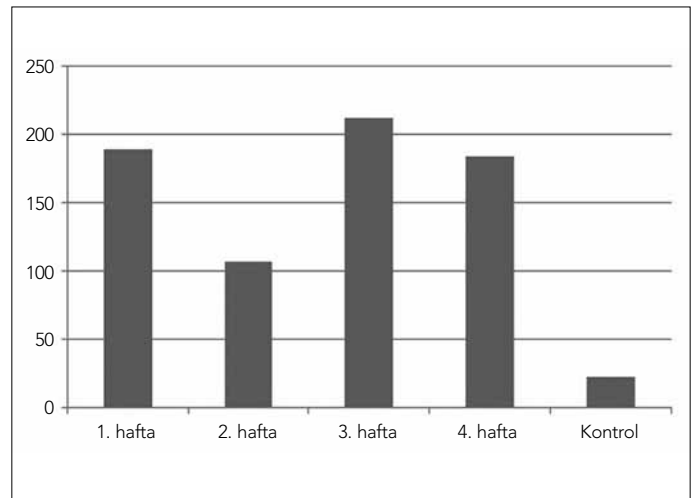


Şekil 1. *Culex pipiens* türünde uygulama haftalarına göre mortalite değerleri

Tablo 1. *Culex pipiens* larval evrelerin haftalık mortalite değerlerinin istatistiksel gösterimi

Hafta	Evre	Anlam	STD Sapma
1.00	L1	25.00	0.00
	L2	24.22	1.09
	L3	19.77	4.46
	L4	18.44	3.04
	Toplam	21.66	3.87
2.00	L1	23.66	1.41
	L2	22.11	2.89
	L3	20.55	3.39
	L4	8.66	3.12
	Toplam	18.75	6.58
3.00	L1	24.77	0.44
	L2	23.33	1.87
	L3	24.00	1.00
	L4	7.33	3.84
	Toplam	19.86	7.65
4.00	L1	24.55	0.52
	L2	22.77	3.34
	L3	23.33	1.41
	L4	14.22	3.03
	Toplam	24.22	4.73
Kontrol	L1	4.33	0.50
	L2	8.33	1.32
	L3	9.00	1.73
	L4	13.00	1.73
	Toplam	8.66	3.39
Toplam	L1	20.46	8.20
	L2	20.15	8.39
	L3	19.33	6.06
	L4	12.33	4.96
	Toplam	18.07	7.27

1 hafta sonra pupa derilerinin sayılması ve toplanması ile yapılmaktadır. Bu değerlendirme teknikleri ile tablet ve granül formülasyonun 4 dozunun (0.05, 0.1, 0.5 ve 1 mg/l) uygulamadan sonraki 23. haftadaki yüksek etkisini göstermektedir (17). Diflubenzuronun saptadığımız 28 günlük mortalite etkisi *Aedes aegypti* türü sivrisineklerin larvalarına uygulanan methoproprenin mortalite etkisinden daha fazla olduğu görülmüştür (20). Ayrıca bu çalışmada uygulama haftalarındaki mortalitenin değişken olduğu bulunmuştur. En yüksek mortalite *Culex pipiens* türü için ilk haftada en düşük mortalite ise 2. haftada gözlemlenmiştir. *Culiseta longiareolata* türü için ise 3. hafta en yüksek, ilk hafta ise en düşük mortalite değerlerine sahip olduğu bulunmuştur. Bu farklılıkların larvaların farklı deri değiştirme zamanlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. İkinci denemeden 21 gün sonra, en etkili ve en düşük doz 0.064 mg(ai)/cm² olarak belirlenmiştir. Bu doz önerilen dozdan

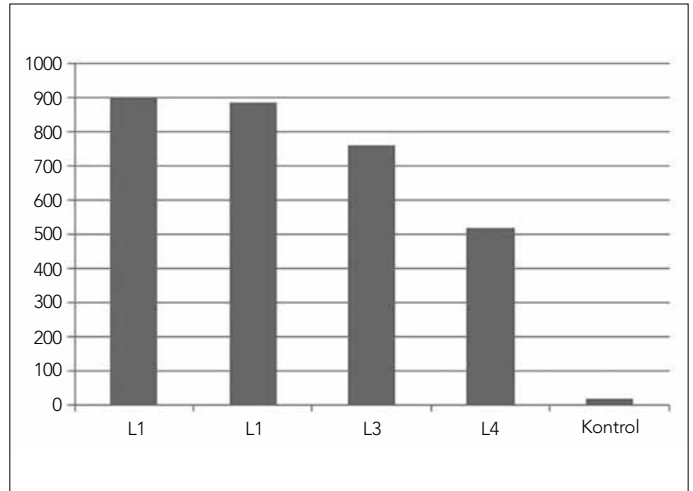
**Şekil 2.** *Culex pipiens* türünde larval evrelere göre mortalite değerleri**Şekil 3.** *Culex pipiens* türünde uygulama dozlarına göre mortalite değerleri**Şekil 4.** *Culiseta longiareolata* türünde uygulama haftalarına göre mortalite değerleri

Tablo 2. *Culiseta longiareolata* larval evrelerin haftalık mortalite değerlerinin istatistiksel

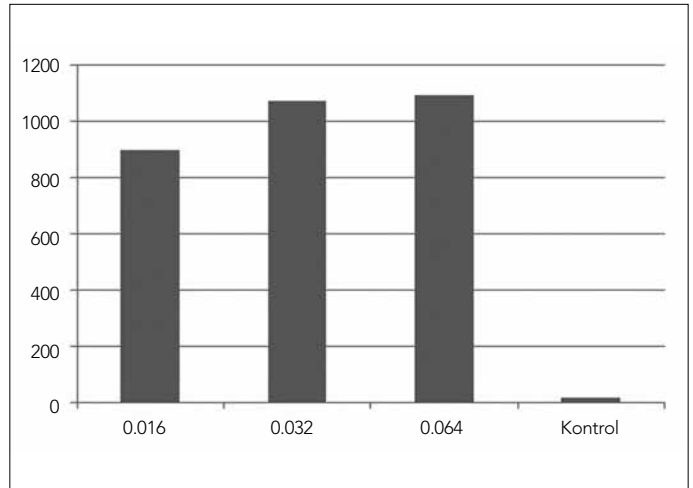
Hafta	Evre	Anlam	STD Sapma
1.00	L1	25.00	0.00
	L2	24.77	0.66
	L3	16.22	2.99
	L4	16.77	2.77
	Toplam	20.44	4.92
2.00	L1	24.88	0.33
	L2	24.77	0.44
	L3	19.00	4.87
	L4	14.88	2.89
	Toplam	20.88	5.05
3.00	L1	25.00	0.00
	L2	25.00	0.00
	L3	24.66	0.50
	L4	22.55	1.87
	Toplam	24.30	1.39
4.00	L1	25.00	0.00
	L2	24.00	1.32
	L3	24.88	2.02
	L4	17.77	3.86
	Toplam	22.91	3.73
Kontrol	L1	9.66	1.80
	L2	6.00	0.86
	L3	7.66	0.50
	L4	8.00	1.73
	Toplam	7.83	1.84
Toplam	L1	21.91	6.24
	L2	20.91	7.58
	L3	18.48	6.93
	L4	15.80	5.43
	Toplam	19.27	6.95

daha yüksek bir dozdur. Farklı ürünlerde farklı dozların verimli olmasının üretim proseslerine ve ortam şartlarına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Bu yüzden larval mortalite değerleri türler arasında değişkenlik gösterebilmektedir. *Culex pipiens*'teki larval ölümler ile geç larva evrelerindeki ölümlerin daha az olması, türler ve evreleri arasındaki fizyolojik ve morfolojik farklılıklardan ve buna ilaveten diflubenzuron duyarlılığının türe özgü olmasından dolayı meydana geldiği düşünülmüştür (5, 18).

Sonuç olarak, diflubenzuron günümüzde sivrisineklerle ve diğer zararlılarla mücadelede yaygın olarak kullanılan biyolojik bileşiklerden birisidir (6). Böcek gelişim düzenleyicilerinin ticari olarak taşıdığı değer, daha bilinçli kullanılmalarını gerektirmektedir (1, 3). Yirminci yüzyılın "mucizelerinden" biri olarak kabul edilen DDT'nin zararlı etkilerinin çok zaman sonra ortaya çıktığı unutulmamalıdır.



Şekil 5. *Culiseta longiareolata* türünde larval evrelere göre mortalite değerleri



Şekil 6. *Culiseta longiareolata* türünde uygulama dozlarına göre mortalite değerleri

Ayrıca DDT gibi doğada yok olması uzun süre alan "organik fosforlu" insektisitlerin de olumsuz etkilerinin önemsenmesi gerekmektedir (21). Bu sebeple en uygun ve en etkili dozun belirlenmesi önemli bir olgudur ve bunu başarabilmek için laboratuvar çalışmalarının yanında yoğun saha çalışmaları da yapılmalıdır.

Diflubenzuronun deri değiştirme döneminde sivrisinek hipodermisi üzerindeki yıkıcı etkisi, kalıcılık süresinin 40 günden uzun olması, bu larvasitin çevreye ve hedef dışı organizmalara olan etkisi üzerine olan çalışmaların yoğunlaşmasına neden olmuştur. Diflubenzuronun etki mekanizması bilinmesine rağmen bu olayda görev alan diğer faktörlerin ortaya çıkarılması son derece önemlidir. Bunun sonucunda daha ekonomik böcek gelişim düzenleyiciler yapılabilir.

Diflubenzuronun her sivrisinek türüne, hatta her larva evresine özgü bir ölüm oranının olduğunun bilinmesi bu aktif maddeye karşı kazanılabilecek dayanıklılığın miktarını belirlemede önemli rol oynayacaktır. Ayrıca etki süresinin uzunluğu ülkemizde ve dünyada çevre sağlığı ekiplerinin ilaçlama faaliyetlerinde karşılaştığı zorlukların önüne geçebilecektir.

Teşekkür

Maddi destek olarak 2006 Fen 2006 No'lu proje ile destek sağlayan Ege Üniversitesi Araştırma Fonu'na teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Yazarlar aşağıda adı verilen firmalar için danışmanlık yapmış ya da bu firmalardan araştırma için maddi destek almıştır. Argon Ltd. Şti.'den DUDİM 4G isimli ilaç alınmıştır.

KAYNAKLAR

1. Alten B, Çağlar SS. 1998. Vektör Ekolojisi ve Mücadelesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koord., Bizim Büro, Basımevi, Ankara 242.
2. Fournet F, Sannier C, Monteny N. Effects of the Insect Growth Regulators OMS 2017 and Diflubenzuron on the Reproductive Potential of *Aedes aegypti*. J Am Mosq Control Assoc 1993; 9: 426-30.
3. Floore TG. Mosquito Larval Control Practices: Past and Present. J Am Mosq Control Assoc 2006; 22: 527-33. [CrossRef]
4. Ali A, Mulla SM. Impact of the Insect Growth Regulator Diflubenzuron on Invertebrates in a Residential-Recreational Lake. Arch Environm Contam Toxicol 1978; 7: 483-91. [CrossRef]
5. Brogdon WG, McAllister JC. Insecticide Resistance and Vector Control. Emerg Infect Dis 1998; 4: 605-13. [CrossRef]
6. Çetin H, Yanıkoğlu A, Koçak O, Çilek JE. Efficacy of Diflubenzuron, A Chitin Synthesis Inhibitor, Against *Culex pipiens* Larvae In Septic Tank Water Turkey. J Am Mosq Control Assoc 2006; 22: 343-5.
7. Da Silva JJ, Mendes J. Effect of Diflubenzuron on Immature Stages of *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) in Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz Rio de Janeiro 2002; 97: 679-82. [CrossRef]
8. Dauphin G, Zientara S, Zeller H, Murgue B. West Nile: Worldwide Current Situation in Animals and Humans. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2004; 27: 343-55. [CrossRef]
9. Ünsal S, Özparlak H, Aktumsek A. Effects of Diflubenzuron on the Integument of Fifth Instar *Galleria mellonella* Larvae. Phytoparasitica 2004; 32: 43-51.
10. Eritja R, Escosa R, Lucientes J, Marques E, Molina R, Roiz D, et al. Worldwide Invasion of Vector Mosquitoes: Present European Distribution and Challenges for Spain. Biological Invasions 2005; 7: 87-97. [CrossRef]
11. Hoffmann KH, Lorenz MW. Recent Advances in Hormones in Insect Pest Control. Phytoparasitica 1998; 26: 323-30. [CrossRef]
12. Paul A, Harrington LC, Scott JG. Evaluation of Novel Insecticides for Control of Dengue *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 2006; 43: 55-60. [CrossRef]
13. Deveci Ö. Juvenil Hormon Analoğu ZR-515 *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae)' nin Larval Gelişimi ve Metamorfozu Üzerine Etkileri. Doğa, Tu-Bio Dergisi 1986; 10: 316-25.
14. Geldiay S, Deveci Ö. Juvenil Hormon Analoglarının *Anopheles sacharovi* ve *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) de Yumurta Açılması, Larval Gelişme ve Metamorfoz Üzerine Etkileri. Doğa, Tr J of Zoology 1990; 14: 14-39.
15. Mayer RT, Chen AC, DeLoach JR. Chitin synthesis Inhibiting Insect Growth Regulators do not Inhibit Chitin Synthase. Cell Mol Life Sci 1980; 37: 337-8. [CrossRef]
16. Merdivenci A. Türkiye Sivrisinekleri (Yurdumuzda varlığı bilinen sivrisineklerin biyo-morfolojisi, biyo-ekolojisi, yayılımı ve sağlık önemleri). İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları, Rektörlük No: 3215, Taş Matbaası, İstanbul; 1984. s. 340.
17. Powers A, Brault A, Miller B. Mosquitoes as Vectors of Viral Pathogens. Encyclopedia of Entomology 2006; 3: 1469-75.
18. Özparlak H. Böceklerde Kütikulanın Yapısı, Deri Değişirme ve Diflubenzuronun Etkisi. S.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi 2003; 21: 7-19.
19. Thavara U, Tawatsin A, Chansang C, Asavadachanukorn P, Zaim M, Mulla MS. Simulated Field Evaluation of the Efficacy of two Formulations of Diflubenzuron, a Chitin Synthesis Inhibitor Against Larvae of *Aedes aegypti* (L.) (DIPTERA: CULICIDAE) In Water-Storage Containers. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 2007; 38: 269-75.
20. Braga IA, Mello CB, Peixoto AA, Valle D. Evaluation of Methoprene Effect on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) development in laboratory conditions. Mem Inst Oswaldo Cruz 2005; 100: 435-40. [CrossRef]
21. WHO (World Health Organization). World Malaria Report 2005.