

Derleme (Review)

Akarlarda direnç mekanizmaları

Resistance mechanisms in mites

Emre İNAK^{1*} Sultan ÇOBANOĞLU¹

Abstract

Acari is an important group that include many economically important agricultural and veterinary pest species. The most preferred method for manage these pests is chemical control. However, the ability of quick resistance development of particularly *Tetranychus urticae* Koch and other Acari causes to chemical control failures in the field conditions. Moreover, *T. urticae* is the most resistant arthropod species to chemicals and called as “resistance champion”. In order to prevent these failures, mechanism of resistance must be understood. In this review, resistance mechanisms in economically important species that belongs to Acari subclass have been elucidated in the light of current researchs. In this way, it is aimed to make chemical control of mites more accurate and conscious, and also to design proper resistance management programs.

Keywords: Pesticide, resistance mechanisms, *Tetranychus urticae*, Acari

Öz

Acari, tarımsal ve veteriner açıdan büyük ekonomik kayıplara neden olan türleri içerisinde bulunduran önemli bir gruptur. Bu zararlıların kontrolünde en fazla tercih edilen yöntem ise kimyasal mücadeledir. Ancak, tarımsal bir zararlı olan *Tetranychus urticae* Koch başta olmak üzere, diğer akar türlerinin hızlı direnç geliştirebilme yetenekleri, kimyasal mücadelede başarısızlıklara neden olmaktadır. Dahası, günümüzde kimyasallara karşı en fazla direnç geliştiren artropod türü *T. urticae*'dir ve bu nedenle “direnç şampiyonu” olarak anılmaktadır. Bu başarısızlıkların önüne geçebilmek için, direnç mekanizmalarının detaylı bir şekilde anlaşılması gerekmektedir. Bu derlemede, Acari alt sınıfına ait ekonomik öneme sahip türlerde görülen direnç mekanizmaları güncel bilgiler ışığında açıklanmıştır. Bu sayede, akarların kimyasal mücadelesinin daha doğru ve bilinçli yapılması, ayrıca uygun bir direnç yönetimi dizayn edilmesi hedeflenmiştir.

Anahtar sözcükler: Pestisit, direnç mekanizmaları, *Tetranychus urticae*, Acari

¹ Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 06110, Dışkapı, Ankara

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail ainak@ankara.edu.tr

Alınış (Received):17.04.2019

Kabul edilmiş (Accepted):09.07.2019

Çevrimiçi Yayın Tarihi (Published Online): 30.09.2019

Giriş

Acari; kene ve akarları içerisinde bulunduran ve Arachnida sınıfında en çok tür çeşitliliğine sahip olan bir altsınıftır. Dünya geneline yayılmış olan bu altsınıf, hemen her karasal ve sucul ortamda bulunmaktadır (Van Leeuwen et al., 2009). Günümüzde 55.000'den fazla Acari türü tanımlanmış olmasına rağmen, bu gruba ait tür sayısının 0.5-1 milyon arasında olduğu düşünülmektedir (Walter & Proctor, 1999; Krantz & Walter, 2009).

Acari içerisinde çok farklı yaşam biçimlerine sahip olan farklı akar türleri bulunmaktadır. Bunların arasında, fitofag akarlar tarımsal üretimde büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Fitofag akarların kontrolünde biyolojik mücadele ajanlarının kullanımını kısmen artmasına rağmen, asıl mücadele hala akarisitler ile yapılmaktadır. Akarisit kullanımı oldukça yaygın olup, 2013 yılında dünya akarisit pazar değerinin 900 milyon Euro olduğu bildirilmiştir (Van Leeuwen et al., 2015). Ancak, akarların çok kısa sürede direnç geliştirebilme yetenekleri, kimyasal mücadelede başarısızlıklara yol açmaktadır (Van Leeuwen et al., 2010). Bu başarısızlığı en aza indirmek için ise direnç mekanizmalarının anlaşılması ve uygun ilaçlama programlarının oluşturulması gerekmektedir.

Insektisit/Akarisit direncinin altında yatan en temel iki mekanizma; 1) hedef etki yerine ulaşan etkili pestisit dozunun azaltılması (farmakokinetik), 2) hedef etki yerinin kendisinin değiştirilmesi (farmakodinamik) olarak bilinmektedir (Van Leeuwen & Dermauw, 2016).

Davranışsal direnç, penetrasyon ve adsorpsiyonun azalması (kütikular kalınlaşma gibi), detoksifikasyon gibi mekanizmaların hepsi, sonunda hedef yerine ulaşan pestisit miktarının azalmasına (farmakokinetik) katkı sağlamaktadır. Hedef nokta mutasyonları ise pestisit hedef proteine bağlanmasını (farmakodinamik) azaltmakta ve engellemektedir (Feyereisen et al., 2015). Böcek ve akarlarda bildirilen direnç vakalarının %90'ından fazlası hedef yeri mutasyonu ya/ya da detoksifikasyon (metabolik direnç) ile gerçekleşmektedir (Feyereisen, 1995; Van Leeuwen et al., 2009; Van Leeuwen & Dermauw, 2016).

Özellikle *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), dünya genelinde en fazla aktif maddeye karşı direnç geliştirilen tür olarak bilinmekte (Van Leeuwen et al., 2010; APRD, 2018) ve "direnç şampiyonu" olarak tanımlanmaktadır (Dermauw et al., 2013). Bir diğer kırmızı örümcek türü *Panonychus ulmi* (Koch) (Avrupa kırmızı örümceği) ve veterinerlik açısından büyük öneme sahip *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Güney sığır kenesi) türleri de en dirençli 10 artropod listesinde yer almaktadırlar (Van Leeuwen et al., 2010; APRD, 2018).

Uygun direnç yönetim programlarını oluşturabilmek için, ilaçların etki mekanizmalarının bilinmesi (İnak & Çobanoğlu, 2016) ve sonrasında direnç mekanizmalarının detaylı olarak anlaşılması gerekmektedir. Bu derlemede, akarlarda en yaygın görülen direnç mekanizmaları olan metabolik direnç ve hedef yeri mutasyonları, güncel bilgiler ışığında açıklanmıştır.

Metabolik Direnç

Metabolik dirençte rol oynayan enzimler aynı zamanda, fitofag artropodları çok uzun yıllardır beslendikleri bitkilerin ikincil metabolitlerinden korumaktadırlar (Dermauw et al., 2018). Son birkaç asırdır ise, insan eliyle üretilen tarımsal, halk sağlığı ve veteriner amaçlı kimyasalların yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanması ile bu enzimler daha kritik bir rol üstlenmiş ve böceklerin/akarların hayatta kalmasını sağlayan eşsiz bir savunma sistemine dönüşmüştür. Bitki toksinlerine karşı olan moleküler evrimleşme daha detaylı anlaşıldıkça, buna paralel olarak insektisit/akarisit direncinin de farklı yönleri anlaşılmaya başlanmıştır (Van Leeuwen & Dermauw, 2016).

Enzimler, pestisitlerin detoksifikasyon sürecinde nitelik ya da nicelik olarak değişerek rol oynamaktadır. Direnç oluşumunda rol oynayan üç ana enzim grubu; esterazlar, glutatyon S-transferazlar

(GST) ve mono-oksijenazlar (P450 ya da Karışık fonksiyonlu oksidazlar) olarak bilinmektedir. Esterazlar ve mono-oksijenazlar faz I detoksifikasyon enzimleri olarak bilinirken, GST ise faz II enzimi olarak bilinmektedir (Yorulmaz & Ay, 2010). Esterazlar, bileşenin ester bağlarını keserek hidrolize ederken, mono-oksijenazlar toksikantın elektrofilik ve nükleofilik merkezlere girerek, bileşeni daha hidrofilik ve reaktif hale getirmektedir. Faz II'de ise GST enzimleri glutasyon konjugasyon eklentilerinin oluşumunu katalize ederek, vücuttan atılımını kolaylaştırmaktadır (Van Leeuwen et al., 2009; Kennedy & Tierney, 2013). Bu enzimlerin aktivitelerinin ölçülmesi, insektisit/akarisit direncini gözlemlenmede önemli bir basamak olarak görülmektedir. Ayrıca; yakın zamana kadar diğer detoksifikasyon süreçlerine kıyasla oldukça gözardı edilen ABC taşıyıcılar (ATP Binding Cassette transporters= ATP bağlayan kaset taşıyıcılar) da detoksifikasyon sürecinde rol oynamaktadır (Dermauw & Van Leeuwen, 2014; Merzendorfer, 2014; Gott et al., 2017). Bu proteinler aracılığıyla gerçekleşen detoksifikasyon bazı araştırmacılar tarafından faz 0 olarak isimlendirilse de, genellikle faz III olarak bilinmektedir. Bu taşıyıcılar, hücre içinde bulunan zenobiyotiki hücre dışına pompalayarak etkisiz hale getirmektedirler (Dermauw & Van Leeuwen, 2014).

Metabolik direncin en önemli özelliklerinden bir tanesi, farklı kimyasal sınıflarda bulunan insektisit/akarisitler arasında çapraz dirence yol açabilmeleridir (Van Leeuwen et al., 2010). Dolayısıyla ilaç rotasyonu yapılsa dahi belirli riskleri içerebilmektedir.

Bu enzim grupları, istisnaları bulunmakla birlikte, polifag türlerde monofaglara göre genellikle daha fazla bulunmaktadır. Çünkü bu gruplar, bitkilerdeki ikincil metabolitlerin etkisiz hale getirilmesinde rol oynamaktadır ve üzerinde beslenen bitki çeşidi arttıkça etkisiz hale getirilmesi gereken metabolit sayısının arttığı, bunun da enzim sayısı ile pozitif korelasyon içerisinde olduğu bildirilmiştir (Feyereisen, 2005).

Metabolik direnç araştırmalarında enzim çalışmaları uzun yıllardır yapılmaktadır. Ancak çalışmalar genellikle iki şekilde yapılmaktaydı; 1) Toplam enzim aktivitesinin ölçülmesi 2) Sinerjistik uygulamaları ile direnç ile enzim ilişkilendirilmesi (PBO – P450 monooksijenaz, DEM – GST, DEF – Esteraz). Yani önceleri enzim seviyeleri bir bütün olarak ölçülüp yorumlanırken, yeni teknolojinin ve bilginin artmasıyla ve moleküler biyoloji, biyokimya, biyoinformatik alanlarında hızlı gelişmeler sayesinde çalışmalar detaylı ve daha spesifik hale gelmiştir.

Ayrıca, tüm canlılar aleminde bulunan ve şeker molekülünün transferini kataliz eden glikozil transferaz gen familyasında bulunan UDP-glikozil transferazlar (UGT) da detoksifikasyonda rol oynamaktadır (Lairson et al., 2008; Ahn et al., 2014). UGT'ler, ürinidin difosfat (UDP) ile çeşitli küçük lipofilik moleküllerinin konjugasyonunu kataliz etmekte ve molekülün suda çözünebilirliğini arttırmaktadır. UGT ile glikozilasyon, zenobiyotik detoksifikasyonunun yanı sıra biyosentez, depolama ve ikincil metabolitlerin taşınmasında da önemli rol oynamaktadırlar (Meech et al., 2012). UGT'lerin keliserata evrimsel sürecinin erken dönemlerinde kaybolduğu bilinmektedir, ancak Ahn et al. (2014) kırmızı örümceklerin yatay gen transferi ile bakteri kökenli UGT'leri tekrar kazandığını göstermiştir. UGT'ler bütün Acariformes grubunda bulunmasına rağmen, spesifik olarak *T. urticae* türünde önemli bir genişleme göstermekte (80 adet UGT geni) ve Parasitiformes grubunda ise hiç bulunmamaktadır (Ahn et al., 2014; Van Leeuwen & Dermauw, 2016)

2011 yılında sonuçlanan *T. urticae* genom projesi (Grbic et al., 2011) ile birlikte, yukarıda bahsedilen detoksifikasyon enzim gruplarına ek olarak diğer detoksifikasyon adayları da ortaya çıkmıştır. Taşıma için ATP'ye ihtiyaç duymayan Major facilitator family (MFS) grubunun zenobiyotiklere karşı hızlı ve önemli transkripsiyonel değişiklikleri bildirilmiştir (Dermauw et al., 2013). Zenobiyotiklere karşı önemli transkripsiyonel değişiklikler gösteren diğer gruplar ise; intradiol ring-cleavage dioxygenases (ID-RCDs) ve lipokalinlerdir. 58 adet lipokalin bulundurması ile *T. urticae* kenelere benzerlik gösterirken, bu sayının böcekler göre çok daha fazla olduğu bildirilmiştir (Van Leeuwen & Dermauw, 2016). Lipokalinler küçük

hidrofobik maddelere bağlanan küçük ekstrasellüler proteinlerdir. Bitki allelokimyasallarına ve akarisitlere bağlanarak bunların vücut içerisinde birikimine yol açabilmektedirler (Van Leeuwen & Dermauw, 2016). Ayrıca daha önce bakteri ve funguslara spesifik olduğu düşünülen intradiol ring-cleavage dioxygenases genleri de tespit edilmiştir. Yapışkan hidroksil grupları arasındaki stabil aromatik halkaları kesme işlevi olan bu grup, birçok bitki allelokimyasal ve pestisit yapılarında aromatik halkaların bulunması nedeniyle bunların detoksifikasyonunda rol oynayabilmektedir (Dermauw et al., 2013, Wybouw et al., 2015).

Esterazlar

Esterazlar, geniş ve heterojen bir enzim grubu olup, ester bağı olan iç ve dış substratları metabolize etmektedirler. Ayrıca esterazlar; böcek gelişimi, davranışı (kokuların parçalanması ile vb.), üreme ve sindirim gibi süreçlerde de rol oynamaktadır (Montella et al., 2012). Organik fosforlar, benzoilfenil üreazlar, organoklorlular, karbamatlılar, piretroitler ve juvenil hormon analogları gibi birçok insektisit grubu esteraz hidrolizine karşı hassastır. İnsektisit direnciyle ilgili bazı esterazlar sınırlı katalitik etkiye sahip olmasına rağmen, çok fazla sayılarda üretilip insektisit hedefine ulaşmadan önce ona bağlanıp, varlık miktarını düşürebilmektedir (Field et al., 1988). Bu süreç "sekestrasyon" olarak bilinmektedir (Bass & Field, 2011). *Myzus persicae* türünde yapılan bir çalışmada esterazların böcekteki toplam proteinin %3'ünü oluşturabildiği tespit edilmiştir (Devorshak & Roe, 1998; Sogorb & Vilanova, 2002).

Tetranychus urticae' de 71 adet karboksil/kolinesteraz ve sadece 1 adet asetilkolinesteraz (*ace1*) geni tespit edilmiştir (Grbic et al., 2011). Hastalık taşıyıcı bir kene olan *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) türünde ise 75 karboksil/kolinesteraz geni ve 5 farklı asetilkolinesteraz geni tespit edilmiştir (Gulia-Nuss et al., 2016).

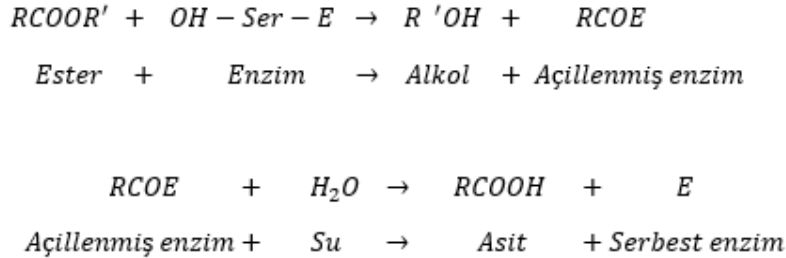
Esterazlar üstfamilyası; proteazlar, lipazlar, esterazlar, dehalogenezler, peroksidazlar ve epoksi hidrolazları içermekte ve doğada en yaygın bulunan proteinler gruplarından birisidir (Hotelier et al., 2004; Montella et al., 2012). Esterazların çoğu, karboksilesteraz (ya da karboksil/kolinesteraz) gen familyasına aittir.

Bu enzimler, helikaz ile sarılmış 8 iplikli beta yaprak ve bağlanma noktaları içermektedir. Bu enzimin katalitik yapısını ise Serin (S), Histidine (H) ve Aspartik asit (D) (Katalitik üçlü) oluşturmaktadır (Sood et al., 2016). Serin genellikle pentapeptid motifi ile (GX SXG) sabitlenmiştir (X= herhangi bir rezidü). Bu tip motifler proteinin 3 boyutlu görünümünü belirleme de rol oynamaktadır (Sood et al., 2016).

Bütün karboksilesteraz gen ailesi aktif bölgede nükleofil olarak serin rezidüleri içerdiği için (bu nedenle serin esteraz olarakta bilinmektedirler) aynı reaksiyon mekanizmasını kullanmaktadır (Montella et al., 2012). Yine de bu esterazlardan bazıları çok daha seçici olabilmektedir (juvenil hormon esterazlar veya asetilkolinesterazlar gibi). Bazıları çok daha az seçici olmakla birlikte (bunlar gerçek esterazlar diye adlandırılır), bazıları ise katalitik olmayan proteinlerdir (nöroligin, gliotaktin ve nörotaktin gibi) (Sood et al., 2016).

Ester hidrolizi iki adımdan oluşmakta, sonucunda ise asit ve alkol metabolitleri meydana gelmektedir. İlk adım, katalitik serin -OH'nin, ester bağının karbonil karbonuna olan nükleofilik saldırısıdır. Bu adım sonrasında bir alkol metaboliti ve bir açillenmiş enzim açığa çıkmaktadır. Bunun nedeni, katalitik bölgede substratın asit kısmı ile, serin rezidüsü arasında oluşan kovalent bağıdır. Bu adım, katalitik üçlünün (aktif kısım) karboksilik grubu ile katalitik Histidin (H) arasındaki hidrojen bağıyla stabilize edilir. İkinci adımda ise, katalitik üçlünün His (H) rezidüsü su moleküllerine yakınlık gösterir. Bu olay aynı zamanda, asit kısmın açığa çıkmasıyla birlikte, enzimin tekrar aktif duruma gelmesine olanak sağlamaktadır (Şekil 1) (Sood et al., 2016).

Özellikle pro-insektisit/pro-akarisitlerde, yani toksik etkisini göstermesi için metabolitlerine parçalanma gereksinimi olan kimyasallarda, bu insektisitleri parçalayan enzimler farklı sonuçlara yol açabilmektedir. *T. urticae*'de yapılan bir çalışmada; esteraz inhibasyon özelliği olan organik fosforlu insektisit/akarisitlerin, bir pro-akarisit olan bifenazate akarisitinin toksisitesini olumsuz etkilediği bildirilmiştir (Van Leeuwen et al., 2007). Dolayısıyla bu tip negatif etkileşimde bulunan ilaçların karışım halinde kullanımlarından kaçınmak gerekmektedir.



Şekil 1. Ester hidrolizi (Sood et al., 2016).

Ülkemizde *T. urticae* popülasyonları ile yapılan bazı çalışmalarda artan esteraz seviyesi ile bifenthrin, lambda-cyhalothrin, chlorpyrifos, clofentezine ve fenpyroximate dirençlerinin pozitif bir ilişki içinde olduğu gösterilmiştir (Ay & Gürkan, 2005; Kumral et al., 2009; Ay & Yorulmaz, 2010; Ay & Kara, 2011a; Ay & Kara, 2011b).

Mono-oksijenazlar (P450 monooksijenazlar, Karışık fonksiyonlu oksijenazlar, sitokrom P450 monooksijenazlar)

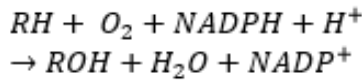
P450 monooksijenazlar, hemen her organizmada bulunan ve kimyasalların metabolize edilmesinde önemli rol oynayan en geniş gen familyalarından bir tanesidir (Anzenbacher & Anzenbacherova, 2001). Bu grup sadece detoksifikasyonda değil, böcekler ve akarlardaki fizyolojik süreçler gibi çok çeşitli fonksiyonlarda rol oynamaktadır. P450'lerin fonksiyonel çeşitliliğin fazla olmasının, yapısal çeşitliliğinin de fazla olmasıyla doğru orantılı olduğu düşünülmektedir. Diğer fizyolojik süreçlerde rol oynayanlar ile, detoksifikasyonda rol oynayan P450'ler arasında filogenetik bir bariyer bulunmamaktadır, bu nedenle evrimsel süreç içerisinde fonksiyonlarının değiştiği düşünülmektedir (Feyereisen, 2015).

P450 monooksijenazlar; dört büyük gruptan oluşmaktadır; CYP2, CYP3, CYP4 ve mitokondriyal CYP (Van Leeuwen & Dermauw, 2016). İnsanlarda 57 adet P450 geni bulunurken, böceklerde yaklaşık 100 adet bulunmaktadır. *Tetranychus urticae*'de ise 81 adet P450 geni tespit edilmiştir (Grbic et al., 2011). Böceklerden farklı olarak *T. urticae*'de intronsuz CYP2 klanı genişlemesi tespit edilmiştir (Grbic et al., 2011) (Çizelge 1). Solanaceae familyasına özelleşmiş *Aculops lycopersici* türünde ise sadece 24 adet P450 tespit edilmiştir. Yine solanaceae familyasına özelleşmiş *Tetranychus evansi* ve monofag bir tür olan *Tetranychus lintearius*'de de daha az sayıda P450 tespit edilmesi, polifaglık ile P450 sayısı arasındaki pozitif korelasyonu desteklemektedir (Van Leeuwen & Dermauw, 2016). Lyme hastalığı taşıyan *Ixodes scapularis* türü kenede ise 206 adet CYP450 geni tespit edilmiştir (Gulia-Nuss et al., 2016). Predatör bir akar olan *Metaseiulus occidentalis* ise 70 adet CYP genine sahiptir (Wu & Hoy, 2016). Predatör akarların bitkilerin trikomları nedeniyle maruz kaldığı ikincil metabolitleri ve beslendikleri avlarının bünyesinde bulunan zenobiyotikleri metabolize etme gerekliliği bulunmaktadır. Ayrıca tarım alanlarında, pestisitlere doğrudan maruz kalmaktadırlar. CYP gen sayısındaki artışın bu nedenlere bağlı olduğu düşünülmektedir (Wu & Hoy, 2016; Van Leeuwen & Dermauw, 2016). Ev tozu akarı *Dermatophagoides farinae* türünde ise 28 adet P450 geni tespit edilmiştir (Van Leeuwen & Dermauw, 2016).

İçerisinde bulunan $FE^{II} - CO$ kompleksinin 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak pik yapmasından dolayı P450 olarak adlandırılmıştır. P450'ler en çok monooksijenaz rolleri ile bilinmektedirler (Feyereisen 2005). Monooksijenazlar tipik olarak, iki oksijen atomunun birinin substrata transferini katalize ederken, diğerini ise suya indirgemektedir. P450 reaksiyonun yaygın bir gösterimi Şekil 2'te gösterilmektedir (Feyereisen, 2005).

Çizelge 1. Bazı akar türlerindeki P450 gen sayıları (Van Leeuwen & Dermauw, 2016)

Tür	CYP2	CYP3	Mitokondriyal CYP	CYP4	Toplam
<i>T. urticae</i>	39	12	5	25	81
<i>A. lycopersici</i>	2	17	3	2	24
<i>D. farinae</i>	3	14	2	9	28
<i>M. occidentalis</i>	16	29	5	20	70



Şekil 2. P450 monooksijenaz reaksiyonu (Feyereisen, 2005).

Oksijen atomu transferi P450'lerin tek katalitik fonksiyonu olmamakla birlikte; oksidaz, reduktaz, desaturaz, izomeraz gibi aktiviteler de göstermektedir (Mansuy, 1998).

Direnç oluşumunda bir ya da daha fazla P450 geni artışı olabilmektedir. Protein ve mRNA düzeyinde yapılan çalışmalar bunu kanıtlamaktadır (Feyereisen, 2005). P450 genlerinin artması ve azalması trans ve cins düzenleyici elementler tarafından sağlanabilmektedir (Liu et al., 2015).

Esterazlarda verilen örneğe benzer şekilde, P450 miktarı ile pro-insektisit/akarisitlerin toksisitesi arasında da negatif korelasyona neden olan durumlar bulunabilmektedir. Chlorfenapyr (insektisit/akarisit) etken maddesinin etkili olabilmesi için parçalanması ve metabolitlerine ayrılması gerekmektedir. Ancak bu ilacın aktif hale gelmesini sağlayan P450 enzimi cypermethrin aktif maddesini detoksifiye edebilmektedir. Bu nedenle aralarında negatif bir çapraz direnç bildirilmiştir (Feyereisen, 2005).

Kompleks katalitik mekanizmaları nedeniyle, P450 enzimleri başarısız ya da eşleşmemiş reaksiyonlardan hemen her zaman süper oksidaz ya da hidrojen peroksidaz üretmektedir. Bu da hücrelerde oksidatif strese neden olmaktadır (Feyereisen, 2012).

Ülkemizde *T. urticae* türü ile gerçekleştirilen çalışmalarda, amitraz ve fenpyroximate ile P450 enzimleri arasında ilişki tespit edilmiştir (Ay & Kara, 2009; Ay & Kara, 2011b). Faydalı bir akar türü olan *Phytoseiulus persimilis* A.H. (Acari: Phytoseiidae) türünde ise P450 ve esteraz seviyeleri ile acequinocyl direnci gelişimi arasında bir bağlantı olduğu bildirilmiştir (Yorulmaz Salman et al., 2015). Yine ülkemizde faydalı akarlarda birden fazla detoksifikasyon enzim grubunun dirence dahil olduğu çalışmalar bulunmaktadır (Yorulmaz Salman & Ay, 2013; Yorulmaz Salman & Ay, 2014).

Glutasyon-S-Transferazlar (GST)

GST, glutasyonu (sisteinin sülfür atomunu) çeşitli elektrofillere konjuge eden bir protein familyasıdır (Strange et al., 2001). Glutasyonun polarite özelliği membranları geçmekte önemli rol oynamaktadır ve böylece konjuge edilen toksikantın hücre ve organizmadan atılması kolaylaşmaktadır. Organik klorlular ve organik fosforlu insektisit/akarisit gruplarında görülen konjugasyon tipik örneklerdir (Pickett & Lu, 1989; Prapantharada et al., 1993).

GST'ler çok sayıda kimyasal substrat olarak kullanabilmektedir. Bunun nedeni spesifik olmayan hidrofobik substrat bağlanma yerinin bulunması ve çok sayıda izoenzimin bulunmasıdır (Mannervik, 1985; Pickett et al., 1989).

Tetranychus urticae türünde GST familyası önemli bir genişleme göstermekte ve 32 adet GST bulunmaktadır. İlginç olarak; bugüne kadar omurgalılara özgü sanılan Mu-sınıf GST'ler iki noktalı kırmızı örümcekte 12 adet tespit edilmiştir (Grbic et al., 2011).

GST'ler birkaç farklı şekilde insektisit direncinde rol oynamaktadır. Doğrudan etkileri; metabolize etme, sekestrasyon, dolaylı olarak ise böceği/akarı insektisitlerden kaynaklanan oksidatif strese korumaktadır. Bugüne kadar hemen her sınıf insektisit/akarisit ile ilişkilendirilmiştir (Pavlidı et al., 2018). GST'ler bir toksini doğrudan parçalayabildiği gibi, diğer detoksifikasyon enzimleri aktivitesi ortaya çıkan ikincil ürünleri de parçalayabilmektedir (Pavlidı et al., 2018).

GST'ler en çok glutasyon konjugasyon reaksiyonu ile tanınmaktadırlar. Vücut içerisindeki kimyasalın elektrofilik merkezine, thiol grubunun indirgenmiş glutasyonunun (GS⁻) nükleofilik ataklarını katalize etmektedir. Bu olay sonrasında kimyasalın aşırı reaktif olan nükleofilik kısmı nötralize edilir ya/ya da suda çözünürlüğü artırılarak hücreden atılması kolaylaşır (Pavlidı et al., 2018). Substratların elektrofilik fonksiyonel merkezleri karbon, nitrojen veya sülfür olabilmektedir. Elektrofilik bileşik ve GSH'ın sistein rezidüsü arasında GST tarafından katalizlenen tiyoeter bağının oluşumu genellikle suda daha çok çözünebilir ve daha az reaktif olan ürünler oluşturur (Enayati et al., 2005).

Bazı GST'ler, peroksidaz içeren bileşenlerin selenyum-bağımsız indirgenmesini de kataliz etmektedir (Mannervik & Danielson, 1988). Pestisitlerin doğrudan toksik etkisi dışında oksidatif stres tetikleme etkileri de bulunmakta ve bu da lipid hidroperoksidaz üretimine neden olmaktadır (Abdollahi et al., 2004). Peroksidaz aktivitesi gösteren GST'ler olduğu bildirilmiş ve bu sayede lipid hidroperoksidaz indirgenmekte ve böcek/akara indirekt dayanıklılık sağlamaktadır. Orijinde, GST'lerin oksijen toksisitesinden korunmak için evrimleştiği öne sürülmektedir (Hayes & McLellan, 1999).

Son olarak GST'ler katalik-olmayan pasif bağlanma ve sekestrasyon ile dirençle ilişkilendirilmektedir (Pavlidı et al., 2018).

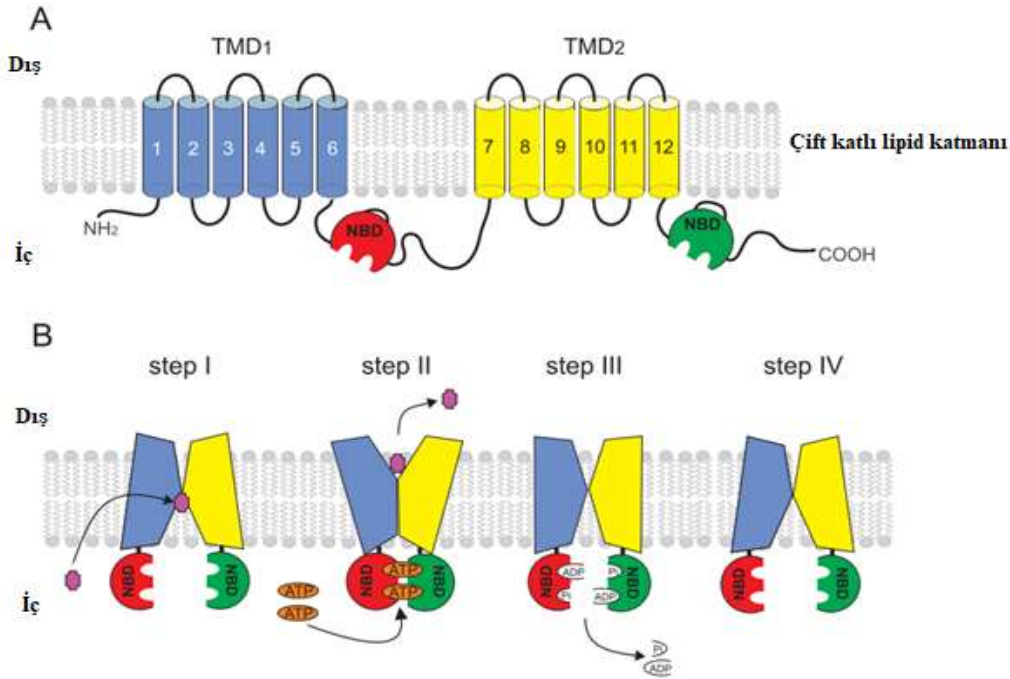
ATP bağlayıcı kaset taşıyıcılar (ABC Transporters= ATP Binding Cassette Transporters)

Bütün hücreler ve organeller dış çevrelerinden lipid membranlar ile ayrılmıştır ve bu nedenle çok çeşitli bileşenleri bu membranlardan transfer etmek için bir gidiş-geliş yoluna ihtiyaçları bulunmaktadır (Higgins, 1992). Membranlar arası transferler yaşamsal faaliyetler için çok önemlidir; öyle ki *Escherichia coli* ve insanlardaki genlerin sırasıyla %10 ve %4'ü taşıma süreçleri ile ilgili proteinleri kodlamaktadır (Dermauw & Van Leeuwen, 2014). Bu taşıyıcılar arasında, ABC taşıyıcılar bütün canlılar aleminde bulunan en büyük taşıyıcı familyalardan bir tanesidir. Bu ABC taşıyıcılar bir ATP'nin bağlanması ve hidrolize olmasıyla membranlar arası taşıma gerçekleştirmektedir (Higgins & Linton, 2004; Linton & Higgins, 2007). Bir ABC taşıyıcı; iki adet sitosolik Nükleotid Bağlanma Domaininden (Nucleotid Binding Domain =NBD) ve iki adet Transmembran Domaininden (Transmembrane Domain = TMD) oluşmaktadır (Şekil 3).

Transmembran domainler 5-6 transmembran helikaz içermekte ve bu yapısı sayesinde substrat seçiciliği özelliği bulunmaktadır (Dermauw & Van Leeuwen, 2014). Ancak bu seçicilik sanılanın aksine çok spesifik değil daha genel bir seçiciliktir. Dolayısıyla aynı ABC taşıyıcı çok sayıda substratı hücre dışına çıkarabilir ve bu da "çoklu direnç" oluşuma neden olmaktadır (Buss & Callaghan, 2008).

NBD'lerin dizilim benzerliğine göre ABC taşıyıcılar 8 gruba ayrılmıştır; A-H arasındaki harfler ile adlandırılmaktadır. ABCH altfamilyası sadece artropod genomunda ve zebra balığında tespit edilmiştir (Dean et al., 2001; Popovic et al., 2010).

İki noktalı kırmızı örümcekte, 39 adet ABCC (çoklu ilaç direnci – multidrug resistance) proteini tespit edilmiştir (Grbic et al., 2011). Bu sayı, bugüne kadar ABC taşıyıcı gen sayısı tespit edilen diğer kabuklulardan, böceklerden, omurgalılardan ve nematodlardan çok daha fazla sayıdadır (Grbic et al., 2011). Dahası, toplam ABC taşıyıcı sayısı ise çok daha fazladır. *Tetranychus urticae* şu ana kadar belirlenen en fazla ABC taşıyıcı gene sahip olan artropod türüdür (Dermauw & Van Leeuwen, 2014) (Çizelge 2).



Şekil 3. ABC full taşıyıcı yapısı ve taşıma döngüsü A) 6 transmembran segment bulunduran 2 adet TMD (mavi ve sarı) ve iki adet NBD (kırmızı ve yeşil). B) ATP değişime mekanizması. Taşıma döngüsü; TMD (Mavi ve sarı beşgenler) tarafından oluşturulan yüksek benzerlik gösteren cebe bir substratın (mor) bağlanmasıyla başlamaktadır. Sonrasında NBD'de konformasyonel değişiklik olmaktadır (yeşil ve kırmızı). Bu değişiklik ATP (turuncu oval) bağlanmasına ve NBD-dimerinin kapalı hale gelmesine imkan vermektedir. Kapanın NBD'ler TMD'de büyük konformasyonel değişikliklere neden olmaktadır. TMD döner ve dışarı doğru açılmaktadır, substrat taşınmasını başlatmaktadır (step II). ATP hidrolizi, kapalı NBD dimerinin çözünmesini başlatır ve TMD'de başka konformasyonel değişikliklere neden olur (Step III). En sonunda fosfat ve ADP salınımı taşıyıcıyı NBD-dimeri açık olan eski haline getirmektedir (Step IV) (Dermauw & Van Leeuwen, 2014).

Çizelge 2. Farklı türlerde bulunan ABC gen sayıları (Dermauw & Van Leeuwen, 2014)

ABC altsınıfı	<i>Homo sapiens</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Tribolium castaneum</i>	<i>Apis mellifera</i>	<i>Bombyx mori</i>	<i>Daphnia pulex</i>	<i>Tetranychus urticae</i>
A	12	10	9	10	3	9	4	9
B FT	4	4	1	2	1	5	2	2
B HT	7	4	4	4	4	4	5	2
C	12	14	13	35	9	15	7	39
D	4	2	2	2	2	2	3	2
E	1	1	1	1	1	1	1	1
F	3	3	3	3	3	3	4	3
G	5	15	16	13	15	13	24	23
H	0	3	3	3	3	3	15	22
Toplam	48	56	52	73	41	55	65	103

ABC taşıyıcı genlerinde meydana gelen mutasyonlar büyük önem taşımaktadır. Gerek transkripsiyonu etkilemesi, gerekse aminoasit değişikliği sonucu yapısal değişiklikler zenobiyotikler ile olan ilişkiyi etkileyebilmektedir. Hatta yapısal değişikliğe neden olmayan bir “sinonim” mutasyonun bile substrat seçiciliğini değiştirebildiği bildirilmiştir (Kimchi-Sarfaty et al., 2007).

ABC taşıyıcıların insektisit direnci ile diğer bir ilişkisi de, böcek kütikulasını kalınlaştırma ya da içeriğini değiştirmedeki rolleridir. Bu sayede, ilaç böcek vücuduna daha az girecek ya da daha uzun sürede girecek ve detoksifikasyona daha çok maruz kalacaktır. Çoklu-dirençli popülasyonlarda kütikular bölgedeki ABC taşıyıcılarda artış olduğu bildirilmiştir (Balabanidou et al., 2018). Ancak akarlarda kütikular direnç ile ilgili çalışma bulunmamaktadır.

Hedef Yeri Mutasyonları

Insektisitlerin hedef yerindeki nokta mutasyonların neden olduğu yapısal değişiklikler, toksikantın etkisinde düşüşe neden olmaktadır ve yüksek direnç ile sonuçlanabilmektedir. Bu mutasyonlar protein diziliminde değişikliklere neden olabileceği gibi, hedef yerinin ekspresyon seviyesini değiştirerek de dirence katkı sağlayabilmektedirler (Van Leeuwen & Dermauw, 2016). Aynı zamanda bazı nokta mutasyonları, detoksifikasyon enzimlerinin yapısında da değişime neden olabilmekte ve insektisiti daha iyi parçalayan enzimler haline getirebilmektedir. Genel olarak mutasyonlar; 1) Gendeki protein kodlayan dizilimi etkileyenler ve bu nedenle gen ürününün yapısını değiştirenler, 2) Gen ekspresyonunda artışa neden olanlar, 3) Gen ekspresyonunda düşüşe neden olanlar olarak sınıflandırılabilir (Feyereisen et al., 2015).

Mutasyonlar genelde *de novo* (yeni ortaya çıkan) ya da genetik varyasyon nedeniyle meydana gelmektedirler. Eğer direnç ile ilgili bir mutasyon *de novo* ise lokal karantina önlemleri uygulanarak mutant bireylerin dağılması önlenebilir. Eğer genetik varyasyon kökenli bir mutasyon ise bölgelerde aynı ilaçları kullanıp paralel seleksiyona yol açmamak gerekmektedir (Hawkins et al., 2018).

Genetik varyasyondan kaynaklanan bir direnç mutasyonu çevreye daha hızlı adaptasyon gösterirken, *de novo* mutasyon daha yavaş yayılmaktadır. Çünkü popülasyon içerisindeki allellerin sıklıkları fazla olmaktadır (Barrett & Schluter, 2008).

Mutasyonların dirence katkısı ile ilgili öncü çalışma, kırmızı örümceklerde 1964 yılında organik fosforlar grubuna ait akarisitlerde rapor edilmiştir (Smitsaert, 1964). Daha sonra organik klorlular, piretroitler gibi diğer büyük insektisit gruplarında da rapor edilmiştir (Van Leeuwen & Dermauw, 2016).

Mutasyonlar tek başlarına dirence yol açabildiği gibi, bazen mutasyonların bir arada bulunması direnç düzeyini büyük oranda arttırmaktadır. Örneğin; F331W ve G328A mutasyonları tek başlarına orta düzeyde bir monocrotophos direncine karşılık gelirken, bir arada bulunmaları yüksek direnç oranlarına neden olabilmektedir (Kwon et al., 2010).

Predatör akarlarda da benzer direnç mutasyonlarının bildirilmesi, entegre zararlı mücadelesi açısından çok önemlidir. Predatör akar *Kampimodromus aberrans* asetilkolinesteraz geninde meydana gelen bir mutasyonun chlorpyrifos direncine yol açtığı bildirilmiştir (Cassanelli et al., 2015). Benzer şekilde voltaj-kapılı sodyum kanalında meydana gelen iki mutasyonun (E1233G ve S1282G) *Neoseiulus barkeri* (Hughes) türünde fenprothrin direncine yol açtığı bildirilmiştir (Cong et al., 2016). Ancak faydalı akarlarda hedef yeri mutasyonlarının tespitine yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Bazı durumlarda (A301S-*Rdl* mutasyonu gibi), direnç mutasyonunun bulunduğu genin böceklerde bir ortologu (Farklı organizmalarda bulunan, atasal kökeni aynı, dolayısıyla yapısal ve işlevsel benzerliği olan fakat tür oluş sürecinde ayrılmış olan genler) bulunurken, akarlarda farklı sayıda olabilmektedir; *Tetranychus urticae* (3), *Metaseiulus occidentalis* (4), *Aculops lycopersici* (4), *Dermatophagoides farinae* (3) (Van Leeuwen & Dermauw, 2016). Dolayısıyla böceklerde tek bir ortologdaki mutasyon direnç oluşumuna sebep olurken, akarlarda bütün ortologlarda mutasyonun meydana gelmesi gerekebilir. Ayrıca yapılan çalışmalarda, *T. urticae*'nin bütün ortologlarının 301. aminoasit pozisyonunda alanin bulunmadığı, onun yerine histidin ya da serin olduğu bildirilmiştir. Yani böceklerde dirence katkısı olan mutasyon *T. urticae*'de zaten bulunmaktadır (Dermauw et al., 2012). Bu da pestisit bu türe etki etmemesine neden olabileceği gibi, bu bakış açısı ilaçlarda selektivite çalışmalarında katkı sağlamaktadır. Benzer şekilde fipronil aktif maddesi kenelere etki ederken, kırmızı örümceklere etkili olmamaktadır. İncelendiğinde kenelerde 301. aminoasit bölgesinde hassas olan alanin bulunduğu tespit edilmiştir. Kırmızı örümceklerdeki bu A301S/H değişiminin cycloclodien grubu insektisitlerin uzun yıllar kullanılmasına bağlı olduğu düşünülmüş (Dermauw et al., 2012), ancak sonraları insektisit uygulamalarının hedefi olmayan, genel olarak *Ulex europaeus* bitkisinde beslenen ve ekonomik olarak kimyasal mücadele uygulanmayan *Tetranychus lintearius* türünde de aynı aminoasit değişikliğinin tespit edilmesiyle birlikte, bu durumun insektisit uygulamaları ile ilgili olmadığı ortaya çıkmıştır (Van Leeuwen & Dermauw, 2016).

Ilias et al. (2014), 27 farklı ülkeden 51 *T. urticae* popülasyonu ile yaptıkları çalışmada, direnç ile ilgili olduğu bilinen nokta mutasyonlarının dağılımlarını incelemişlerdir. Aynı zamanda ace (asetilkolinesteraz) geninin orijinini araştırmışlardır ve dünyada en az 3 bölgede birden ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Yine bu çalışmada Türkiye'ye ait *T. urticae* popülasyonunda kitin sentaz geninde I1017F ve voltaj kapılı sodyum kanalında ise A1215D mutasyonları tespit edilmiştir. Ancak daha sonraki yıllarda yapılan bir çalışma, A1215D mutasyonunun bir direnç mutasyonu değil sadece polimorfizm olduğunu bildirmiştir (Riga et al., 2017).

Daha sonraki yıllarda ise abamectin direncine yol açtığı bildirilen mutasyonlar ülkemizde bazı *T. urticae* popülasyonlarında taranmış (Çağatay et al., 2018), ancak herhangi bir mutasyon tespit edilememiştir. Yakın tarihte yapılan bir çalışmada ise piretroitlere karşı dirence neden olan F1538I and L1024V mutasyonları ilk defa ülkemiz *T. urticae* popülasyonlarında tespit edilmiştir (İnak et al., 2019).

Nokta mutasyonun direnç üzerine etkisi, geriye çaprazlama yöntemiyle test edildiğinde; özellikle voltaj kapılı sodyum kanalları (L1024V, A1215D+F1538I), kitin sentaz I (I1017F) ve sitokrom b'deki (G126S+S141F, P262T) mutasyonlar yüksek dirence karşılık gelmektedir. Yani, kırmızı örümcek popülasyonlarında sadece bu mutasyonların bulunması bile ilgili aktif madde ile yapılacak kimyasal mücadelede başarısızlığa neden olabilmektedir. Aynı çalışmada incelenen glutamat kapılı klorid kanallarında meydana gelen mutasyonlarının (G314D, G326E) ise tek başlarına ya da bir arada (G314D+G326E) bulunmalarının yüksek seviye akarisit direnci için yeterli olmadığı bildirilmiştir (Riga et al., 2017).

Sonuçlar

Direnç gelişiminden kaynaklanan başarısız pestisit uygulamaları, zararlıyı baskılayamadığı gibi fazladan ekonomik gidere neden olmaktadır. Oluşabilecek direncin önüne geçilebilmesi, en azından geciktirilebilmesi için direnç mekanizmalarını anlamak, en önemli koşullardandır.

Mutasyonların, zararlının gelişme ve çoğalması üzerinde göstereceği etkiler (uyum bedeli=fitness-cost) belirlenmelidir. Çünkü uyum bedeli yüksek olan mutasyonların, yüksek direnç ile ilişkili olsa dahi, coğrafi olarak düşük yayılım göstermesi beklenmektedir. I1017F ve G314D+G326E mutasyonları önemli uyum bedeli gösterirken; P262T ve L1024V'nin uyum bedeli etkisi olmadığı gösterilmiştir (Bajda et al., 2018).

Sinerjistler ile ilgili genom düzeyinde yapılan yeni bir çalışmada; sinerjistlerin ilişkili olduğu enzim gruplarındaki bütün genleri baskılamadığı hatta bazı durumlarda hedeflenen genin ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Snoeck et al., 2017). Elde edilen sonuçlar geleneksel sinerjist çalışmalarının enzim ilişkilerini ortaya koymada yeterli olmadığını, bu nedenle gen düzeyinde çalışmaların yaygınlaşması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Direnç araştırmaları için laboratuvar koşullarında yapılan seleksiyon çalışmaları, tarla koşullarını tam olarak yansıtmamaktadır. Çünkü doğa koşullarında seçilime neden olan birçok faktör laboratuvar koşullarında bulunmamaktadır. Ayrıca laboratuvarında yetiştirilen ve selekte edilen popülasyonlar kültürün başlangıcında ve devamında çok daha az bireye sahip olacağından (düşük varyasyon) sonuçlar yanıltıcı olabilmektedir (Ffrench-Constant, 2013). Dolayısıyla arazi koşullarını daha iyi yansıtan çalışmaların artması gerekmektedir.

Yapılan bazı çalışmalarda, insektisitlerin piyasaya çıkış tarihinden önce toplanmış böcek popülasyonlarında direnç mutasyonlarının bulunduğu bildirilmiştir (Ffrench-constant, 2007). Bu durum, insektisit direnç mutasyonunun halihazırda doğada bulunduğunu, yani polimorfizm sonucu olduğunu ortaya koymuştur. Bu durumun önemli bir sonucu ise; polimorfizm sonucu ortaya çıkan direncin uyum bedeli (fitness-cost) göstermemesi olacaktır ve seleksiyon baskısı (insektisit/akarisit) dursa dahi mutasyonun devam edeceğini yani direncin azalmayacağına işaret etmektedir (Ffrench-constant, 2007).

Farklı akar türlerinin genom sekansları ortaya konuldukça, direnç mekanizmaları hakkındaki bilgiler artmakta ve detaylanmaktadır. Şuan için akarlarda direnç mekanizmaları hakkındaki bilgiler hala sınırlıdır, ancak bu bilgilerin artmasıyla birlikte, bitki ve hayvanlardaki zararlılara karşı daha doğru stratejilerle kimyasal mücadele yapılması mümkün olabilecektir.

Yararlanılan Kaynaklar

- Abdollahi, M., A. Ranjbar, S. Shadnia, S. Nikfar & A. Rezaie, 2004. Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 10: Ra141-147.
- Ahn, S.J., W. Dermauw, N. Wybouw, D.G. Heckel & T. Van Leeuwen, 2014. Bacterial origin of a diverse family of UDP-glycosyltransferase genes in the *Tetranychus urticae* genome. *Insect biochemistry and molecular biology*, 50: 43-57.
- Anzenbacher, P. & E. Anzenbacherova, 2001. Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 58(5-6), 737-747.
- APRD, 2018. Web Sitesi: www.pesticideresistance.org. Erişim: 08.08.2018.
- Ay, R. & M.O. Gürkan, 2005. Resistance to bifenthrin and resistance mechanisms of different strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) from Turkey. *Phytoparasitica*, 33(3): 237-244.
- Ay, R. & F.E. Kara, 2009. Mechanisms of multiple resistance, inheritance, synergism and detoxification in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) resistant to amitraz. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 15(2): 148-156.

- Ay, R. & S. Yorulmaz, 2010. Inheritance and detoxification enzyme levels in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) strain selected with chlorpyrifos. *Journal of Pest Science*, 83(2): 85-93.
- Ay, R. & F.E. Kara, 2011a. Toxicity, inheritance and biochemistry of clofentezine resistance in *Tetranychus urticae*. *Insect Science*, 18(5), 503-511.
- Ay, R. & F.E. Kara, 2011b. Toxicity, inheritance of fenpyroximate resistance, and detoxification-enzyme levels in a laboratory-selected fenpyroximate-resistant strain of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Crop Protection*, 30(6): 605-610.
- Bajda, S., M. Riga, N. Wybouw, S. Papadaki, E. Ouranou, S.M. Fotoukiai, J. Vontas & T. Van Leeuwen, 2018. Fitness costs of key point mutations that underlie acaricide target-site resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Evolutionary applications*, 11(9): 1540-1553.
- Balabanidou V., L. Grigoraki & J. Vontas, 2018. Insect cuticle: a critical determinant of insecticide resistance. *Current Opinion in Insect Science*, 27: 68-74.
- Barrett, R.D. & D. Schluter, 2008. Adaptation from standing genetic variation. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(1): 38-44.
- Bass, C. & L.M. Field, 2011. Gene amplification and insecticide resistance. *Pest Management Science*, 67(8), 886-890.
- Buss, D.S. & A. Callaghan, 2008. Interaction of pesticides with p-glycoprotein and other ABC proteins: a survey of the possible importance to insecticide, herbicide and fungicide resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 90: 141-153.
- Cassanelli, S., S. Ahmad, C. Duso, P. Tirello & A. Pozzebon, 2015. A single nucleotide polymorphism in the acetylcholinesterase gene of the predatory mite *Kampimodromus aberrans* (Acari: Phytoseiidae) is associated with chlorpyrifos resistance. *Biological Control*, 90: 75-82.
- Çağatay, N.S., P. Menault, M. Riga, J. Vontas & R. Ay, 2018. Identification and characterization of abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch populations from greenhouses in Turkey. *Crop protection*, 112: 112-117.
- Cong, L., F. Chen, S. Yu, L. Ding, J. Yang, R. Luo, H. Tian, H. Li, H. Lui & C. Ran, 2016. Transcriptome and difference analysis of fenprothrin resistant predatory mite, *Neoseiulus barkeri* (Hughes). *International journal of molecular sciences*, 17(6), 704.
- Dean, M., A. Rzhetsky & R. Allikmets, 2001. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Research*, 11: 1156-1166.
- Dermauw, W. & T. Van Leeuwen, 2014. The ABC gene family in arthropods: comparative genomics and role in insecticide transport and resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 45: 89-110.
- Dermauw, W., A. Ilias, M. Riga, A. Tsagkarakou, M. Grbic, L. Tirry, T. Van Leeuwen & J. Vontas, 2012. The cys-loop ligand-gated ion channel gene family of *Tetranychus urticae*: implications for acaricide toxicology and a novel mutation associated with abamectin resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 42: 455-65.
- Dermauw, W., N. Wybouw, S. Rombauts, B. Menten, J. Vontas, M. Grbic, R.M. Clark, R. Feyereisen & T. Van Leeuwen, 2013. A link between host plant adaptation and pesticide resistance in the polyphagous spider mite *Tetranychus urticae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110: 113-122.
- Dermauw, W., A. Pym, C. Bass, T. Van Leeuwen & R. Feyereisen, 2018. Does host plant adaptation lead to pesticide resistance in generalist herbivores?. *Current opinion in insect science*, 26, 25-33.
- Devorshak, C. & R.M. Roe, 1998. The role of esterases in insecticide resistance. *Reviews in Toxicology*, 2: 501-537.
- Enayati, A.A., H. Ranson & J. Hemingway, 2005. Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect molecular biology*, 14(1): 3-8.
- Feyereisen, R., 1995. Molecular biology of insecticide resistance. *Toxicological letters*, 82/83: 83-90.
- Feyereisen, R., 2005. Insect Cytochrome P450, In: *Comprehensive molecular insect science – pharmacology Vol 5*, Gilbert LI, Latrou K, Gill SS (eds.), Elsevier, 1-77, Oxford.
- Feyereisen, R., 2012. *Insect Molecular Biology and Biochemistry*, ed Gilbert LI (Academic Press, Elsevier, London), pp 236-316.

- Feyereisen, R., 2015. Insect P450 inhibitors and insecticides: challenges and opportunities. *Pest Management Science*, 71(6): 793-800.
- Feyereisen, R., W. Dermauw & T. Van Leeuwen, 2015. Genotype to phenotype, the molecular and physiological dimensions of resistance in arthropods. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121: 61-77.
- Ffrench-Constant, R.H., 2007. Which came first: insecticides or resistance?. *Trends in Genetics*, 23(1): 1-4.
- Ffrench-Constant, R.H., 2013. The molecular genetics of insecticide resistance. *Genetics*, 194(4): 807-815.
- Field, L.M., A.L. Devonshire & B.G. Forde, 1988. Molecular evidence that insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae* Sulz.) results from amplification of an esterase gene. *Biochemical Journal*, 251: 309–312.
- Grbic, M., T. Van Leeuwen, R.M. Clark, S. Rombauts, P. Rouze, V. Grbic, E.J. Osborne, W. Dermauw, P. Cao Thi Ngoc, F. Ortego, P. Hernandez-Crespo, I. Diaz, M. Martinez, M. Navajas, E. Sucena, S. Magalhaes, L. Nagy, R.M. Pace, S. Djuranovic, G. Smagge, M. Iga, O. Christiaens, J.A. Veenstra, J. Ewer, R. Mancilla Villalobos, J.L. Hutter, S.D. Hudson, M. Velez, S.V. Yi, J. Zeng, A. Pires-daSilva, F. Roch, M. Cazaux, M. Navarro, V. Zhurov, G. Acevedo, A. Bjelica, J.A. Fawcett, E. Bonnet, C. Martens, G. Baele, L. Wissler, A. Sanchez-Rodriguez, L. Tirry, C. Blais, K. De-meestere, S.R. Henz, T.R. Gregory, J. Mathieu, L. Verdon, L. Farinelli, J. Schmutz, E. Lindquist, R. Feyereisen & Y. Van de Peer, 2011. The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. *Nature*, 479: 487–492.
- Gulia-Nuss, M., A.B. Nuss, J.M. Meyer, D.E. Sonenshine, R.M. Roe, R.M. Waterhouse, D.B. Sattelle, J. de la Fuente, J.M. Ribeiro, K. Megy, J. Thimmapuram, J.R. Miller, B.P. Walenz, S. Koren, J.B. Hostetler, M. Thiagarajan, V.S. Joardar, L.I. Hannick, S. Bidwell, M.P. Hammond, S. Young, Q. Zeng, J.L. Abrudan, F.C. Almeida, N. Ayllon, K. Bhide, B.W. Bissinger, E. Bonzon-Kulichenko, S.D. Buckingham, D.R. Caffrey, M.J. Caimano, V. Croset, T. Driscoll, D. Gilbert, J.J. Gillespie, G.I. Giraldo-Calderon, J.M. Grabowski, D. Jiang, S.M. Khalil, D. Kim, K.M. Kocan, J. Koci, R.J. Kuhn, T.J. Kurtti, K. Lees, E.G. Lang, R.C. Kennedy, H. Kwon, R. Perera, Y. Qi, J.D. Radolf, J.M. Sakamoto, A. Sanchez-Gracia, M.S. Severo, N. Silverman, L. Simo, M. Tojo, C. Tornador, J.P. Van Zee, J. Vazquez, F.G. Vieira, M. Villar, A.R. Wespiser, Y. Yang, J. Zhu, P. Arensburger, P.V. Pietrantonio, S.C. Barker, R. Shao, E.M. Zdobnov, F. Hauser, C.J. Grimmelikhuijzen, Y. Park, J. Rozas, R. Benton, J.H. Pedra, D.R. Nelson, M.F. Unger, J.M. Tubio, Z. Tu, H.M. Robertson, M. Shumway, G. Sutton, J.R. Wortman, D. Lawson, S.K. Wikel, V.M. Nene, C.M. Fraser, F.H. Collins, B. Birren, K.E. Nelson, E. Caler & C.A. Hill, 2016. Genomic insights into the Ixodes scapularis tick vector of Lyme disease. *Nature communications*, 7, 10507.
- Hawkins, N.J., C. Bass, A. Dixon & P. Neve, 2018. The evolutionary origins of pesticide resistance. *Biological Reviews*, 94. 135 – 155.
- Hayes, J.D. & L.I. McLellan, 1999. Glutathione and glutathione- dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radical Research*, 4: 273–300.
- Higgins, C.F., 1992. ABC transporters e from microorganisms to man. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 8: 67-113.
- Higgins, C.F. & K.J. Linton, 2004. The ATP switch model for ABC transporters. *Nature Structural & Molecular Biology*, 11: 918-926.
- Hotelier, T., L. Renault, X. Cousin, V. Negre, P. Marchot & A. Chatonnet, 2004. ESTHER, the database of the α/β -hydrolase fold superfamily of proteins. *Nucleic acids research*, 32: D145-D147.
- Ilias, A., J. Vontas & A. Tsagkarakou, 2014. Global distribution and origin of target site insecticide resistance mutations in *Tetranychus urticae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 48: 17-28.
- İnak, E. & S. Çobanoğlu, 2016. Akarisitler ve etki mekanizmaları. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 6(4): 371-382.
- İnak, E., Y.N. Alpkent, S. Çobanoğlu, W. Dermauw & T. Van Leeuwen, 2019. Resistance incidence and presence of resistance mutations in populations of *Tetranychus urticae* from vegetable crops in Turkey. *Experimental and Applied Acarology*.
- Kennedy, C.J. & K.B. Tierney, 2013. Xenobiotic protection/resistance mechanisms in organisms. In: *Environmental Toxicology*. Laws, E.A. (eds), Springer, 689-721, New York.
- Kimchi-Sarfaty, C., J.M. Oh, I.W. Kim, Z.E. Sauna, A.M. Calcagno, S.V. Ambudkar & M.M. Gottesman, 2007. A “silent” polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science*, 315: 525– 528.
- Krantz, G.W. & D.E. Walter, 2009. *A manual of acarology*. 3rd ed. Lubbock. Texas Tech Univesity Press. 807pp.

- Kumral, N.A., H. Susurluk, N.S. Gençer & M.O. Gürkan, 2009. Resistance to chlorpyrifos and lambda-cyhalothrin along with detoxifying enzyme activities in field-collected female populations of European red mite. *Phytoparasitica*, 37(1), 7-15.
- Kwon, D.H., J.S. Im, J.J. Ahn, J.H. Lee, J.M. Clark & S.H. Lee, 2010. Acetylcholinesterase point mutations putatively associated with monocrotophos resistance in the two-spotted spider mite. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 96: 36-42.
- Lairson, L.L., B. Henrissat, G.J. Davies & S.G. Withers, 2008. Glycosyltransferases: structures, functions, and mechanisms. *Annual review of biochemistry*, 77.
- Linton, K.J. & C.F. Higgins, 2007. Structure and function of ABC transporters: the ATP switch provides flexible control. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 453(5): 555-567.
- Liu, N., M. Li, Y. Gong, F. Liu & T. Li, 2015. Cytochrome P450s—Their expression, regulation, and role in insecticide resistance. *Pesticide biochemistry and physiology*, 120: 77-81.
- Mannervik, B., 1985. The isoenzymes of glutathione transferase. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*, 57: 357-417.
- Mannervik, B. & U.H. Danielson, 1998. Glutathione transferases — structure and catalytic activity. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 23: 283-337.
- Mansuy, D., 1998. The great diversity of reactions catalyzed by cytochrome P450. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 121C: 5–14.
- Merzendorfer, H., 2014. ABC transporters and their role in protecting insects from pesticides and their metabolites. In *Advances in Insect Physiology* (Vol. 46, pp. 1-72). Academic Press.
- Montella, I.R., R. Schama & D. Valle, 2012. The classification of esterases: an important gene family involved in insecticide resistance-A review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 107(4): 437-449.
- Pavliidi, N., J. Vontas & T. Van Leeuwen, 2018. The role of glutathione S-transferases (GSTs) in insecticide resistance in crop pests and disease vectors. *Current Opinion in Insect Science* 27: 97-102.
- Pickett, C.B. & Y.H. Lu, 1989. Glutathione S-transferases: gene structure, regulation and biological function. *Annual Review of Biochemistry*, 58: 743–764.
- Popovic, M., R. Zaja, J. Loncar & T. Smital, 2010. A novel ABC transporter: the first insight into zebrafish (*Danio rerio*) ABCH1. *Marine Environmental Research*, 69: 11-13.
- Prapanthadara, L., J. Hemingway & A.J. Ketteran, 1993. Partial purification and characterization of glutathione S-transferase involved in DDT resistance from the mosquito *Anopheles gambiae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 47: 119–133.
- Riga, M., S. Bajda, C. Themistokleous, S. Papadaki, M. Palzewicz, W. Dermauw, J. Vontas & T. Van Leeuwen, 2017. The relative contribution of target-site mutations in complex acaricide resistant phenotypes as assessed by marker assisted backcrossing in *Tetranychus urticae*. *Scientific Reports*, 7(1): 9202.
- Smissaert, H.R., 1964. Cholinesterase inhibition in spider mites susceptible and resistant to organophosphate. *Science*, 143: 129–131.
- Snoeck, S., R. Greenhalgh, L. Tirry, R.M. Clark, T. Van Leeuwen & W. Dermauw, 2017. The effect of insecticide synergist treatment on genome-wide gene expression in a polyphagous pest. *Scientific reports*, 7(1): 13440.
- Sogorb, M.A. & E. Vilanova, 2002. Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicology Letters*, 128: 215–228.
- Sood, S., A. Sharma, N. Sharma & S.S. Kanwar, 2016. Carboxylesterases: sources, characterization and broader applications. *Insight Enzyme Research*, 1: 1-11.
- Strange, R.C., M.A. Spiteri, S. Ramachandran & A.A. Fryer, 2001. Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 482(1-2), 21-26.
- Van Leeuwen, T. & W. Dermauw, 2016. The molecular evolution of xenobiotic metabolism and resistance in chelicerate mites. *Annual review of entomology*, 61: 475-498.

- Van Leeuwen, T., S. van Pottelberge & L. Tirry, 2007. Organophosphate insecticides and acaricides antagonise bifenazate toxicity through esterase inhibition in *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science*, 63(12): 1172-1177.
- Van Leeuwen, T., J. Vontas, A. Tsagkarakou & L. Tirry, 2009. Mechanisms of acaricide resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. In: *Biorational control of arthropod pests*, Ishaaya, I. and Horowitz, A. R. (eds), Springer, 347-393, Dordrecht.
- Van Leeuwen, T., J. Vontas, A. Tsagkarakou, W. Dermauw & L. Tirry, 2010. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: a review. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 40(8): 563-572.
- Van Leeuwen, T., L. Tirry, A. Yamamoto, R. Nauen & W. Dermauw, 2015. The economic importance of acaricides in the control of phytophagous mites and an update on recent acaricide mode of action research. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121: 12–21.
- Walter, D.E. & H.C. Proctor, 1999. *Mites. Ecology, Evolution and Behaviour*. CAB International, 322, Wallingford, U.K.
- Wu, K. & M.A. Hoy, 2016. The glutathione-S-transferase, cytochrome P450 and carboxyl/cholinesterase gene superfamilies in predatory mite *Metaseiulus occidentalis*. *PLoS one*, 11(7); e0160009.
- Wybouw, N., V. Zhurov, C. Martel, K.A. Bruinsma, F. Hendrickx, V. Grbic & T. Van Leeuwen, 2015. Adaptation of a polyphagous herbivore to a novel host plant extensively shapes the transcriptome of herbivore and host. *Molecular Ecology*, 24: 4647-4663.
- Yorulmaz, S. & R. Ay, 2010. Akar ve böceklerde pestisitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan enzimler. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 24(2): 137-148.
- Yorulmaz Salman, S.Y. & R. Ay, 2013. Analysis of hexythiazox resistance mechanisms in a laboratory selected predatory mite *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 37: 409-422.
- Yorulmaz Salman, S. & R. Ay, 2014. Determination of the inheritance, cross-resistance and detoxifying enzyme levels of a laboratory-selected, spiromesifen-resistant population of the predatory mite *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). *Pest Management Science*, 70(5): 819-826.
- Yorulmaz Salman, Y., F. Aydınli & R. Ay, 2015. Etoxazole resistance in predatory mite *Phytoseiulus persimilis* A.-H. (Acari: Phytoseiidae): Cross-resistance, inheritance and biochemical resistance mechanisms. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 122: 96-102.