

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**AZADIRACHTIN'IN *Melanogryllus desertus* (PALLAS,
1771) (ORTHOPTERA:GRYLLİDAE)'TA TESTİSE
ETKİLERİ**

Selin ÇAKAR

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gürsel ERGEN

Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 401.04.00

Sunuş Tarihi: 12.02.2014

Bornova – İZMİR

2014

Selin ÇAKAR tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Azadirachtin’in *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771) (Orthoptera: Gryllidae)’ ta testise etkileri” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 14.02.2014 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oy birliği/oy çokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Gürsel ERGEN
Raportör Üye: Yrd. Doç. Dr. Hatice KARAKİŞİ
Üye: Yrd. Doç. Dr. Fevzi KIRKIM

ÖZET

AZADIRACHTIN'İN *Melanogryllus desertus* (PALLAS,1771) (ORTHOPTERA:GRYLLIDAE) 'TA TESTİSE ETKİLERİ

ÇAKAR, Selin

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gürsel ERGEN

Şubat 2014, 40 Sayfa

Tarım ilaçlarının bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımı sonucu çevrede oluşturduğu olumsuz etkiler günümüzün önemli sorunları arasında yer almaktadır. Son yıllarda kimyasal pestisitlere alternatif oluşturmak amacıyla bazı bitki ekstratlarının, zararlıların mücadelesinde kullanımı önem kazanmıştır. Bu çalışmada, *Azadirachta indica* A. Juss bitkisinden elde edilmiş Neemix preparatının laboratuvar koşullarında (sıcaklık: 28±2 C; bağıl nem: %45-50; fotoperiyot: 16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık) kültürü yapılan *Melanogryllus desertus* testisleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Bu amaçla, örnekler bir kontrol dört deneme grubuna ayrılmıştır. Deneme gruplarında; azadirachtin'in dört farklı konsantrasyonda (100,150,250 ve 500 ppm) ergin erkek bireylere besin içinde verilmiştir. Azadirachtin uygulamasını takiben 96 saat sonra kontrol ve deneme grubu hayvanlarının testisleri disekte edilerek, ışık mikroskopunda incelenmesi için gill's hematoksilen, hematoksilen-eozin ve mallory trichrome ile boyanıp hazırlanmıştır.

Azadirachtin uygulaması sonucunda; konsantrasyonla doğru orantılı olarak, testislerde dejeneratif değişikliklerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Azadirachtin'e maruziyet, olgun sperm miktarında belirgin bir azalmaya neden olmuştur. Spermatogenetik hücrelerde deformasyon ve vakuole ek olarak nekroz oluşumu da not edilmiştir. Saptanan bu sonuçlara göre Azadirachtin, testiste histopatolojik hasara neden olmuştur.

Anahtar sözcükler: *Melanogryllus desertus*, İnsektisit, Testis, Azadirachtin, Histopatoloji.

ABSTRACT**THE EFFECTS OF AZADIRACTIN ON *Melanogryllus desertus*
(PALLAS, 1771) (ORTHOPTERA:GRYLLIDAE) TESTIS**

ÇAKAR, Selin

M.SC in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Gürsel ERGEN

February 2014, 40 pages

One of today's biggest problems is the unrestricted and uncontrolled use of agricultural pesticides and its negative effects on the environment. In recent years, alternative to chemical pesticides, using some plant extracts on the pest conflict become more important. In this study, the Neemix prepartate, derived from *Azadirachta indica* A. Juss plant used on laboratory conditions cultured (temperature: 28±2 C, relative humidity: %45-50; photoperiod: 16 hours daylight, 8 hours darkness) *Melanogryllus desertus* testis have been analysed.

For this purpose, the samples have been divided into one control and four experiment groups. In experiment groups; Azadirachtin has been given to male subjects in nutrients out of 4 different concentrations (100,150,250 and 500 ppm). Following azadirachtin procedure, after 96 hours, the testis of animal in control and experiment groups have been dissected and has been dyed with gill's-hematoxylin and prepared to be analysed in light microscope.

As a consequence of Azadirachtin produce, some degenerative changes have been observed in the direct proportion with concentration. The exposure to Azadirachtin has a clear decrease in the amount of mature sperm. In addition to the deformation and vacuole in the spermatogenic cells and necrosis has been noted. According to the established results, Azadirachtin has caused histopathological damage over testis.

Key words: *Melanogryllus desertus*, Insecticide, Testis, Histopathology, Azadirachtin

TEŞEKKÜR

Çalışma konumun belirlenmesinde ve tezimin her aőamasında değerli bilgileri ve desteği ile her zaman yanımda olan danıőman hocam, Zooloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gürsel ERGEN' e en içten teőekkürlerimi sunarım.

Tez çalıőmam sırasında ve fotoğrafların çekimlerinde bilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen Doktora öğrencisi Biyolog Nermin BİTER' e ve hayatımın her aőamasında benimle olan, beni destekleyen sevgili aileme ve sevgili eőime sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
1.1 Pestisitler	2
1.2 İnsektisitler	5
1.3 Azadirachtin	6
1.3.1 <i>A. indica</i> 'nın aktif bileşenleri	8
1.4 Azadirachtin'in Değişik Böcek Grupları Üzerindeki Etkileri	8
1.4.1 Beslenmeyi engelleyici etkisi	9
1.4.2 Yumurta verimine ve yumurta açılımına etkileri.....	10
1.4.3 Büyüme ve gelişme üzerindeki etkileri	11
1.4.4 Azadirachtin'in repellent (Uzaklaştırıcı) etkisi	12

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
1.5 Böceklerde erkek üreme sistemi	12
1.5.1 Testis	12
1.5.2 Spermatogenez	14
1.5.3 Spermatozoa	15
2. MATERYAL VE METOT	17
2.1. Böceklerin Yetiştirilmesi	17
2.2. Deneyde Kullanılan İncektisit	18
2.3. Ön Denemeler	18
2.4. Deneysel Prosedür	18
2.5. Histolojik Yöntem	19
3. BULGULAR.....	20
3.1. Ön Denemeler	20
3.2. Histolojik Bulgular	20
3.2.1 Kontrol grubu	20
3.2.2 Deneme grupları.....	23

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4. SONUÇ VE TARTIŞMA	29
KAYNAKLAR DİZİNİ	31
ÖZGEÇMİŞ	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Azadirachtin'in moleküler yapısı.....	7
1.2 Böceklerde erkek üreme sisteminin genel yapısı.....	13
1.3 Sperm gelişim bölgelerinin görüldüğü testis follikülü.....	14
1.4 Gelişmekte olan sperm hücreleri.....	15
1.5 Böcek spermatozoon yapısı.....	16
2.1 <i>M. desertus</i> erkek ve dişi bireyleri.....	17
3.1 Kontrol grubunda spermatogenez hücreleri içeren sistler (S) ve aralarındaki interstisiyel alanların (İa) genel görünümü.....	21
3.2 Kontrol grubunda spermatogenez hücreler (S), mayoz bölünme safhaları (M) ve interstisiyel alan (İa).....	21
3.3 Kontrol grubunda mayoz bölünme evreleri (M), tipik kamçılı yapılarıyla spermler (SP) ve İnterstisiyel alan (İa).....	22
3.4 Kontrol grubunda spermatositler (**) ve okla işaretlenmiş spermatidler ve spermler.....	23

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.5 Deneme grubu, 100 ppm uygulama. Bağ doku kılıfındaki düzensizleşmeler (←).Normal görünümlü sist (S) ve bazı sistlerdeki spermatogenik hücrelerde nekroz (N), normal görünümlü interstiyal alan (İa) ve alandavakuol(V)oluşumu.....	24
3.6 150 ppm deneme grubunda bağ doku bozulmaları (→), epitel alanlarda ayrılmalar vakuol oluşumu görüntüsü (V) ve sperm kuyruk yapısında bozulmalar (elips).....	25
3.7 150 ppm deneme grubunda tümörleşme (T) belirgin şekilde ortaya çıkmış interstiyal epitel alanlarda ayrılmalar (V) ve spermatogenik hücrelerde nekrotik alanlar (N).....	25
3.8 250 ppm deneme grubunda genel görünüm. Epitel dokularda ayrılmalar (V) ve tümörleşme (ok) izlenmektedir.....	26
3.9 250 ppm deneme grubu. Tümörleşme (T) ve bozulan sperm yapısı...	26
3.10 500 ppm deneme grubu. Spermatogenik hücrelerde (N) ve Epitel alanlarda vakuol.....	27
3.11 500 ppm deneme grubu. Tamamen parçalanmış epitel doku(**) ve spermler	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

1.1	Önemli pestisit sınıflarının yıllara göre tüketimi.....	4
-----	---	---

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AZ :Azadirachtin

AZA :Azadirachtin A

AZE :Azadirachtin E

AZG :Azadirachtin G

ppm : Parts Per Million- Milyonda bir birime verilen isim

V : Vakuol

T : Tümörleşme

HE : Hematoksilen-eosin

MT : Mallory Trichrome

IPM : Entegre mücadele birimi

N : Nekroz

S : Sist

İa : İnterstisiyal alan

1. GİRİŞ

Kara çekirge olarak bilinen *Melanogryllus desertus* (Pallas 1771), özellikle Orta ve Batı Anadolu olmak üzere ülkemizde çok yaygın olarak bulunmaktadır. Çok yıllık bitkilerin yeni sürgünleri ve filizlerini yemek suretiyle ekonomik açıdan büyük zararları bulunduğu tarım zararlıları arasında değerlendirilmektedir. Ege Bölgesinde tütün ve pamuklara; Orta Anadolu Bölgesi'nde ise pancar, nohut, lahana, özellikle ay çiçeği başta olmak üzere neredeyse karşılıma çıkan bütün bitkilere zarar verdikleri bilinmektedir. Bu böceklerle mücadele, diğer tarımsal zararlılarda olduğu gibi çoğunlukla kimyasal mücadele şeklinde devam etmektedir. Bu kimyasallar, uygulama yapan kişiler tarafından yoğun ve bilinçsizce kullanılmaktadır. Oysa, yoğun ve gereksiz pestisit kullanımı, çevre ve insan sağlığının zarar görmesine ve doğal dengenin bozulmasına neden olmaktadır (Yornuk, 2011).

Pestisitlerin, püskürtülerek uygulanması sırasında bir kısmı dağılma ve buharlaşma nedeniyle kaybolur. Kalan kısmı ise toprak yüzeyinde ve bitkilerin üzerinde birikir. Havaya karışan pestisit, rüzgar ile taşınarak yağmur ya da kar yağışıyla tekrar yeryüzüne döner. Bu yollarla da hedef olmayan organizmalar pestisitlere maruz kalmaktadır (Kaplan, 2009).

Zararlılarla mücadelede kimyasalların olumsuz etkileri ortaya çıkmaya başladıktan sonra, daha zararsız olabilecek alternatif metotların arayışı içine girilmiştir. Bitkilerden elde edilen ve bazı organizmalara spesifik olan bitkisel pestisitler, toksik madde yaymadıkları, tüketilen üründe uzun süreli birikim göstermedikleri, güneş ışığı rüzgar hava koşullarında çok hızlı parçalandıklarından dolayı tercih edilmeye başlanmıştır. Bunun yanı sıra hedef dışı organizmalara zararsız olmaları, seçici olmaları gibi özellikleri ile de tercih edilmektedirler (Çeribaşı,2001). Bu konuda, en çok çalışma yapılan bitkilerden biri *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae)'dır.

Azadirachta indica A. Juss, İngilizce'de "Neem tree" , "Margosa", "İndian lilac" olarak bilinir ve Meliaceae familyasına bağlıdır. Tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişir. *A.indica* kuraklığa dayanabilen, fakir ve fazla derin olmayan

topraklarda yetişebilen bir bitki türüdür. Pestisit özelliğindeki en önemli kısımları yaprakları ve tohumlarıdır. Bu bitkiden elde edilen insektisit özelliğindeki maddelerden en etkilisi, ağacın latince isminden yola çıkılarak ‘azadirachtin’ olarak adlandırılmıştır (Ketkar, 1976; Radwanski and Wickens, 1981).

Neem ekstratının, zararlı böcek türleri üzerinde beslenmeyi ve yumurta bırakımını önleyici, gelişmeyi engelleyici etkisi olduğu bildirilmiştir (Schmutterer, 1990). Azadirachtin içeren neem kaynaklı insektisitlerin beyaz sinekler, yaprak bitleri, pancar kurtları başta olmak üzere önemli zararlıları içeren 400’den fazla eklembacaklı türünde etkili olduğu kaydedilmiştir (Schmutterer, 1990; Isman, 1999; Walter, 1999). Zararlı böcekleri kontrol etmenin yanı sıra neem kaynaklı insektisitler çoğu faydalı böcekler ve insanlar üzerinde toksik olmadığı ve bu bileşiklere dayanıklılık geliştirmedeği gözlenmiştir (Schmutterer, 1995; Walter, 1999; Haseeb et al., 2004).

Bu tez çalışmasında, organik tarımın önem kazandığı günümüzde, bitkisel kökenli bir insektisit olan Azadirachtin’in, önemli tarım zararlılarından olan *M. desertus* (Pall., 1771)’un testisleri üzerindeki histopatolojik etkilerinin etkilerini ortaya konulması ve ayrıca *M. desertus* gibi benzeri tarım zararlıları ile mücadelede alternatif olarak Azadirachtin kullanımının tartışılması amaçlanmaktadır.

1.1 Pestisitler

Zirai mücadele, bitkilerin hastalık, zararlı ve yabancı otların etkilerinden ekonomik ölçüler içinde korunarak, ürün verimliliği ve kalitesinin artırılmasıdır. Günümüzde zirai mücadelenin başlıca amacı, ürün verimi ve kalitesini ekonomik sınırlar içinde olabildiğince arttırabilmektir (Delen ve ark., 2010).

Zirai mücadelede bilinen tüm yöntemler “olabildiğince birarada dengeli kullanılarak, bitkileri etkin biçimde hastalık, zararlı ve yabancı otların etkilerinden korurken, çevre ve insan sağlığına olumsuz etkilerini de en aza indirmek” biçiminde tanımlanır (Delen ve ark., 2005). Tanımdan da anlaşılacağı gibi, zirai savaşında değişik yöntemler kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler, içinde

en çok tercih edileni, tarım ilaçlarının yani pestisitlerin kullanıldığı kimyasal savaşıdır. Çünkü pestisitler bilinçli ve doğru şekilde uygulandığında diğer yöntemlere oranla daha etkilidir ve hızlı sonuç verir (Delen ve ark., 2010).

Ancak pestisit kullanımı, insan sağlığı ve çevreye olumsuz sonuçları da beraberinde getirmektedir. Pestisitlerin yoğun ve bilinçsiz kullanılması zararlı organizmalarda pestisit duyarlılığının azalmasına; çevre kirliliğine, çeşitli sağlık sorunlarına ve tarım ürünü ihracatının olumsuz etkilenmesine yol açmaktadır. Bu olumsuz etkileri nedeniyle pestisit kullanımı dikkatle üzerinde durulması gereken bir konudur (Tiryaki ve ark.,2010).

Pestisitler, görünüş, fiziksel yapı ve formülasyon şekillerine; etkiledikleri zararlı ve hastalık grubu ile bunların biyolojik dönemine; içerdikleri aktif maddenin cins ve grubuna; zehirlilik derecesine ve kullanım tekniğine göre sınıflandırılırlar. En çok kullanılan sınıflandırmalar zararlı gruplarına ve yapısındaki aktif madde grubuna göre yapılmaktadır (Tiryaki ve ark., 2010). Kullanıldıkları zararlı gruplarına göre pestisitler;

İnsektisit : Böcek ve haşerelere karşı kullanılır.

Fungisit : Mantarlara karşı kullanılır.

Herbisit : Yabancı otlara karşı kullanılır.

Mollusit : Yumuşakçalara karşı kullanılır.

Rodentisit : Kemirgenlere karşı kullanılır.

Nematisit : Yuvarlak solucanlara karşı kullanılır.

Akarisit : Akarlara karşı kullanılır.

Bakterisit : Bakterilere karşı kullanılır.

Virisit : Virüslere karşı kullanılır. (Tiryaki ve ark.,2010).

1979'dan 2008'e kadar, etki ettikleri canlı gruplarına göre pestisitlerin tüketimleri Çizelge 1'de özetlenmiştir. Bu sınıfların dışında kalan akarisitler, rodentisitler, mollusitler, bakterisitler ve virisitlerin tüketimleri az olduğundan Çizelge 1'de yer almamaktadır.

Çizelge 1.1 Önemli pestisit sınıflarının yıllara göre tüketimi (L veya kg) (Delen ve ark., 2010).

Yıllar	İnsektisitler	Fungisitler	Herbisitler	Fumigantlar ve Nematisitler
1979	2 287 658	1 537 315	2 451 977	315 665
1987	3 303 446	2 611 960	3 495 044	322 227
1994	2 064 991	2 201 406	3 902 588	530 738
1996	3 027 380	2 951 192	3 643 971	1 072 662
2002	2 250 898	1 964 292	3 697 397	1 554 489
2004	3 295 758	3 060 219	3 267 168	1 583 448
2006	3 406 403	4 431 597	5 400 034	2 650 016
2007	3 567 866	4 945 056	4 637 684	3 031 224
2008	3 219 216	4 901 205	5 581 447	4 146 398

Çizelgedeki verilerden 1979'dan 2008'e kadar geçen sürede pestisit kullanımının giderek arttığı görülmektedir.

Pestisitler, yapılarındaki aktif madde grubuna göre aşağıdaki gibi sınıflandırılırlar;

1. İnorganik maddeler
2. Doğal organik maddeler
 - a) Bitkisel maddeler
 - b) Petrol yağları vb.
3. Sentetik organik maddeler
 - a) Klorlu hidrokarbonlar
 - b) Organik fosforular
 - c) Diğer sentetik organik maddeler (azotlu bileşikler, piretroidler)

Bu tez çalışmasında kullanılan Azadirachtin, insektisitler sınıfına dahildir.

1.2 İnsektisitler

İnsektisit kelimesi (insecticide) latince köken olarak; “insect” (böcek) ve “cide” (öldürücü) yani böcek öldürücü anlamındadır. İnsektisitler, içerdikleri aktif madde ya da maddelerle böceklerin ölümünü sağlayan ürünlerdir. Kısa sürede etkili olmaları, kimyasal mücadeleyi diğer mücadele tekniklerine göre daha ekonomik yapmaktadır. Fakat günümüzde sentetik insektisitlerin bilinçsizce kullanımı sonucu zararlılarda oluşan dayanıklılık, insan sağlığı ve çevreye toksisitesi gibi olumsuz etkileri, bilimsel çalışmalarla kanıtlanmış ve zararlılarla savaşta eğilim biyolojik mücadele ve doğal organik insektisitlerin kullanılması yönünde artmıştır (Miller and Uetz, 1998). Böceklerde, sentetik insektisitlere karşı gelişen dayanıklılığın dölden döle aktarılması da bu olumsuz etkiyi arttırmaktadır.

1940 yılının başlarında, organoklorlu ve organofosforlu insektisitlerin keşfinden önce, gelişmiş ülkelerde bitkisel insektisitlerin kullanımı çok büyük önem taşımaktaydı. Yüzyıllardır insanlar, besinlerini yok eden ve insan sağlığını etkileyen böceklerle mücadelede doğal insektisitleri kullanmışlardır. Oysa, 20. yüzyılda, zararlı böceklerden, kenelerden ve ev tozu akarlarından korunmak için doğal insektisitlerin yerini sentetik insektisitler almıştır (Coats, 1994).

Böceklerle mücadele teknikleri; yumurtlamayı önleyici feromonların kullanımı, kısır böceklerin salınımı ve hormonal kontrol ile gelişimin engellenmesi gibi yöntemleri kapsamaktadır (Haynes, 1988). Böceklerle entegre mücadele, onları öldürmek amacıyla değil, popülasyonlarını belli seviyelere düşürmek amacıyla yapılmaktadır. Böceklerde entegre mücadele biriminin (IPM) programı, hangi insektisit biyolojik kontrolde etken olduğunun bulunmasında ve yıkıcı etkilerinin neler olduğunu teşhis etmede kullanılmaktadır (Schneider et al., 2004). Bütün bu insektisitler çevreye zarar vermemelerinden, doğada çabuk bozulmalarından, insanlara karşı düşük toksik etkilerinden ve düşük dozlarda kullanılmalarından dolayı geniş spektrumlu pestisitlere nazaran daha güvenli bir alternatif olarak göz önünde tutulmaktadır (Liu et al., 2000). Doğal insektisitlerin en önemli avantajları, nemde, güneş ışığında ve rüzgarlı hava koşullarında çok hızlı parçalanmalarıdır. Bitkilerden elde edilen biyopestisitlerin en önemli özelliklerinden biri de böceklerde beslenmeyi önleyici ve uzaklaştırıcı etkisinin olmasıdır (Isman, 2006). Çalışmalar göstermiştir ki, doğal insektisitler öldürücü olmayan, yumurta verimliliğini azaltan veya arttıran etkilere sahiptir (Takada et al., 2001). Ayrıca doğal insektisitler gelişim oranı (Willrich ve Boethel, 2001), cinsiyet oranında değişiklik, diyapoz ve parazitoidlerle birlikte morfolojide direkt, konak fizyolojisine ise dolaylı olarak etki göstermektedir (Croft, 1990).

Doğal insektisitlerden en önemlisi ve en çok kullanılanı Neem ağacı olarak bilinen *Azadirachta indica* Juss. (Meliaceae)'dan elde edilen Azadirachtin etkili ürünlerdir.

1.3 Azadirachtin

Genel adı : Azadirachtin

Kapalı formülü : $C_{35}H_{44}O_{16}$

Moleküler ağırlığı : $720,71 \text{ gr/mol}^{-1}$

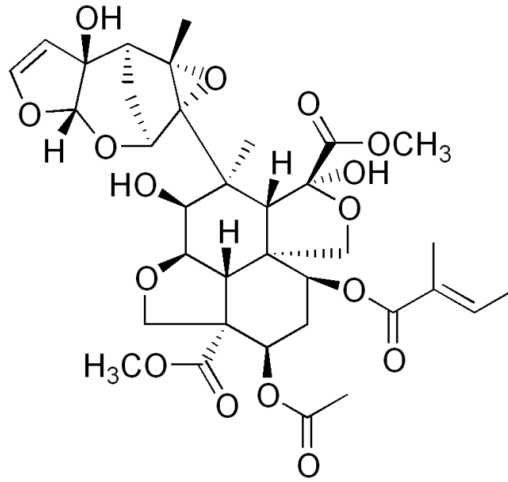
Azadirachta indica A. Juss İngilizce “Neem tree” , “Margosa”, “İndian lilac” olarak bilinir ve Meliaceae familyasına bağlıdır. Güney asya kökenli bir bitki olup Afrika'nın tropikal ve subtropikal bölgelerinde de yaşamaktadır. Yaprağını dökmeyen kuraklığa dayanabilen, fakir ve fazla derin olmayan topraklarda

yaşayabilen bir bitki türüdür. Bu bitkinin meyveleri ovaldır, olgunlaştıklarında ise tohumları saran sarımsı renkli bir meyveye sahiptir. Tohum içi kahverengi olup beyaz bir kabukla sarılır. Pestisit özelliğindeki maddeleri de içeren yapraklar, yeşil renkte olup çift olmayan pinnat yaprakçıklar asimetrik ve serrattır (Ketkar, 1976; Radwanski and Wickens,1981).

Neem ile tanışma ilk kez 1950'lerde Alman entomolog Heinrich Schmutterer'in gittiği Sudan'da çekirge saldırısı ile karşılaşmasıyla gerçekleşmiştir. Çekirgelerin tüm bitkilere saldırdığını, yalnızca neem ağaçlarına dokunmadan geçtiklerinin farkedilmesiyle keşfedilmiştir (Isman, 1997).

Bunun üzerine Keele üniversitesinde 1966 yılında çöl çekirgesiyle çalışılmaya başlanmış ve Azadirachtin maddesi *A. indica*'nın tohumların dan ilk kez Butterworth ve Morgan (1971) tarafından izole edilmiştir (Morgan, 2009).

Azadirachtin limonoid sınıfından bir triterpenoidtir. *A. indica* 'dan azadirachtin dışında, maddeler de elde edilmektedir; ancak bunlardan en çok çalışılanı ve en etkili Azadirachtin' dir (şekil 1.1).



Şekil 1.1 Azadirachtin'in moleküler yapısı

Azadirachtin'in böcekler üzerinde beslenmeyi engelleyici, uzaklaştırıcı, üremeyi engelleyici ve vücut ağırlığını azaltıcı etkileri olduğu bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda bu bitki içindeki maddelerin pek çok böcekte deri değişimini

engellerek anormal bireylerin oluşumuna neden olduğu görülmüş ve böylece juvenil hormon etkisi gösterdiği anlaşılmıştır (Schmutter, 1990).

Azadirachtin bir Ekdizon (deri değiştirme hormonu) antagonistidir. Böceklerin deri değiştirme mekanizmasının bozulmasına yol açar. Ekdisteroid hormonu ve ekdizis-uyarıcı hormon deri değiştirme hazırlığı ve deri değiştirme zamanını düzenlemektedir (Malczewska et al., 1988).

1.3.1 *A. indica* 'nın aktif bileşenleri

Neemden elde edilebilen birçok aktif biyolojik bileşikler, triterpenoidleri, fenolik bileşikler, karotenoidleri, steroidleri ve ketonları içermektedir. *A. indica* tohumlarından elde edilen Azadirachtin, bu bitkiden elde edilen en etkili primer toksik maddedir. Azadirachtin, AZA'dan AZG'ye kadar uzanan bir grup izomer karışımından oluşur. AZA, *A. indica* 'nın tohumlarında bol miktarda bulunur. AZE çok etkili bir böcek gelişim düzenleyicisidir (Rembold, 1984; Verkerk and Wright, 1993).

A. indica tohumlarından melianone, melianol, 14-epoxyazadiradione, azadiradone, azadirone, gedunin, meliantriol, salannol ve salannol asetat gibi etkili bileşikler de elde edilir. Bu bileşiklerin böcekler üzerinde beslenmeyi engelleyici etkileri olduğu bildirilmiştir (Schwinger et al., 1984).

1.4 Azadirachtin'in Değişik Böcek Grupları Üzerindeki Etkileri

Azadirachtinin böceklerde uzaklaştırıcı, beslenmeyi önleyici; üremeyi, yumurtlamayı ve verimliliği engellemek gibi etkilerinin yanı sıra, uçuş kabiliyetinin kaybolmasına da neden olduğu da bilinmektedir (Jacobson, 1989; Ascher, 1993; Schmutterer, 1995; Awad et al, 1998). Aynı zamanda Azadirachtin, laboratuvar koşullarında belirlenen en önemli böcek büyüme düzenleyicilerindedir (Schmutterer, 1997).

1.4.1 Beslenmeyi Engelleyici Etkisi

Azadirachtin'in beslenmeyi engelleyici etkisi, phagostimulant reseptörlerin bloke edilmesi veya reseptör hücrelerin uyarıcılığının engellenmesiyle olmaktadır. Takımlar düzeyinde Azadirachtin'in beslenmeyi engelleyici etkisi en fazla Lepidoptera takımında gözlenmiştir. Coleoptera, Hemiptera ve Homoptera takımlarının ise daha az hassasiyet gösterdikleri bildirilmiştir (Mordue and Blackwell, 1993).

Azadirachtin, *Schistocerca gregaria*'nın *A. indica* bitkisi üzerinde beslenmemesiyle izole edilmiştir. Çekirgenin besinine azadirachtin uygulanmış ve yapılan çalışmada çekirgede beslenme engellenmiştir (Morgan and Butterworth, 1971).

Azadirachtin'in beslenmeyi engelleyici etkisi, *Spodoptera exigua* (Greenberg et al., 2005) ve *Spodoptera littoralis* (Boisd.), *Helicoverpa zea* (Boddie), *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (Simmonds and Blaney, 1984) gibi kelebek larvalarında gözlenmiştir. Nohut bitkisine uygulandığında *H. armigera*'da beslenme engellendiği gözlenmiştir (Jabbar et al., 1992)

Çeltiklere %1-50 oranında neem emülsiyonu uygulandığında *Sogatella furcifera* (Horv.), *Nilaparva lugens* (Stal) (Homoptera: Delphacidae) ve *Nephotettix virescens* (Dist) (Homoptera: Cicadellidae)'in beslenmesinin önemli derecede azaldığı bildirilmiştir (Heyde et al., 1984).

Oncopeltus fasciatus (Dall.) (Heteroptera: Lygaeidae)'un bir günlük V. dönem nimflerine azadirachtin uygulaması yapılmış ve etkili sonuçlar elde edilmiştir (Mordue et al., 1995).

Azadirachtin'in *Mamestra brassicae*, *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) ve *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutella) gibi lahana ve karnabahar zararlıları üzerindeki beslenme etkisini belirlemek amacıyla tarla denemeleri yapılmış ve larvaların çok az beslendiği ya da hiç beslenmediği saptanmıştır (Mordue et al., 1995).

1.4.2 Yumurta verimine ve yumurta açılımına etkisi

Pancar kurdu *Spodoptera exigua* üzerinde yapılan çalışmada Azadirachtin uygulanan dişilerin yumurta veriminde 2,5 ile 9 kat arasında azalma gözlenmiştir (Greenberg, 2005).

Azadirachtin uygulanmış pamuk beyaz sineği *Bemisia tabaci* ile yapılan denemelerde yumurta bırakımında az miktarda azalma gözlenmiştir. Yumurtalar Azadirachtin ile muameleye tabi tutulduktan sonra, yumurta açılma oranı incelenmiştir. Yumurta açılımında bir farklılık görülmemiş, fakat yumurtadan çıkan larvaların ergin döneme ulaşmadan doza bağlı olarak değişik oranlarda ölümler meydana geldiği bildirilmiştir (Göçmen ve ark., 2007).

1 litre suya 2,5 ml AZT-VAR-K (zenginleştirilmiş neem tohum extratı) uygulanmış patates yapraklarıyla beslenen *Leptinotarsa decemlineata* (Coloptera: Chrysomelidae) dişilerinde yumurta bırakımının azaldığı, hatta bazı dişilerin tamamen kısır olduğu bildirilmiştir (Schmutterer, 1987).

Oncopeltus fasciatus dişilerine de yüksek konsantrasyonda Azadirachtin uygulandığı da ve yumurta bırakımının önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir (Dorn et al., 1987).

Nohut ve pamuk bitkilerinin azadirachtin ile ilaçlanması durumunda, *H. armigera* dişilerinin yumurta veriminin azaldığı bildirilmiştir (Jaglan et al., 1997).

Baklagil tohumlarına neem tohumlarının karıştırılması durumunda *Callosobruchus maculatus* dişilerinin yumurtlamasının birkaç aylık süre sonunda tamamen durduğu bildirilmiştir (Yadav, 1985).

1.4.3 Büyüme ve gelişme üzerindeki etkileri

Birçok böcek türünde, Azadirachtin'in deri değiştirmede anormalliklere neden olma; pupalaşma ve ergin çıkışını engelleme; deformasyon, anormal yapı, ara formlar oluşturma gibi büyüme ve gelişme üzerinde belirgin etkilerinin olduğu gözlenmiştir.

Periplaneta americana (L) (Dictyoptera:Blattidae)'nın son dönem nimflerine Azadirachtin enjekte edilmesi sonucu birkaç gün içinde deri değiştirmede gecikmenin ortaya çıktığı bildirilmiştir (Quadri and Narsaih,) *Blatta orientalis* (L.) (Dicty.: Blatellidae), *Blatella germanica* (L.) ve *Supella longipalpa* (F.) (Dicty.:Blatellidae)'nın I. nimfal dönemlerine neem türevlerinin uygulanması sonucunda ölümler; V. nimf dönemlerine uygulanması halinde ise gelişmede gecikme ve artan ölümler gözlenmiştir (Adler and Uebel, 1985) .

Azadirachtin'in *Locusta migratoria migratoroides* (R.F.) (Orthoptera: Acrididae) üzerindeki etkisi incelenmiş; bu çalışmada IV. ve V. dönem nimflerine Azadirachtin enjekte edildiğinde ölümlerin yanı sıra deri değişimininde gerçekleşmediği saptanmıştır (Sieber and Rembold, 1983).

Zenginleştirilmiş neem tohum kabuğu ekstraktı uygulanmış *S. furcifera*, *N. virescens* ve *N. lugens*'de gelişim üzerindeki etkiler, deri değiştirmede düzensizlikler; gelişmede yavaşlama; nimfal devrelerin uzaması ve doza bağlı artan ölümler şeklinde olmuştur (Heyde et al., 1984).

Azadirachtin'in *B. tabaci*'nin I. ve III. dönem larvalarında etkilerine bakılmıştır. I.dönem larvalarında, Azadirachtin uygulaması ergin döneme ulaşabilen birey sayısını önemli ölçüde etkilemiştir. Doz arttıkça larva ölümleri %94'e ulaşmıştır. III. dönem larvalarında ise bireylerin çoğunluğu pupa dönemine ulaşabilmiş, fakat bireyler pupa kabuğu içinde ergin hale hazırlanırken veya kimi bireylerde baş pupa kabuğundan aktığı halde ergin çıkışı gerçekleşmemiş ve ölümler meydana gelmiştir. Genel olarak Azadirachtin'in larvalar üzerinde öldürücü etkisi yanında gelişme süresini uzattığı da söylenebilir (Göçmen ve ark., 2007).

Beslenme yoluyla *Plutella xylostella* larvalarında azadirachtin uygulanmış, Azadirachtin'le beslenen larvaların daha küçük olduğu gözlenmiştir (Liang et al., 2008).

1.4.4 Azadirachtin'in Repellent (Uzaklaştırıcı) etkisi

Callosobruchus maculatus, *C. chinensis*, *C. analis* (Coloeptra:Bruchidae) türlerinin beslendiği baklagil bitkilerine azadirachtin uygulanmış ve bu ortamlara dişilerin yaklaşmadığı uzaklaştığı saptanmıştır (Yadav, 1985).

Azadirachtin'in uzaklaştırıcı etkisi, çeltik tarlalarında denenmiş, tarlaların *Aedes* ve *Anopheles* (Diptera:Culicidae) cinslerine bağlı sivrisinek türlerinden korunduğu gözlenmiş ve dolayısıyla sivrisinekle mücadelede azadirachtin kullanımının yararlı strateji olduğu görülmüş (Shivakumar, 2011).

Azadirachtin'in *B. tabaci* erginleri üzerine uzaklaştırıcı etkisinin, doza bağlı olarak ortaya çıktığı ve bu etkinin 4 saatten sonra azaldığı bildirilmiştir (Göçmen ve ark., 2007).

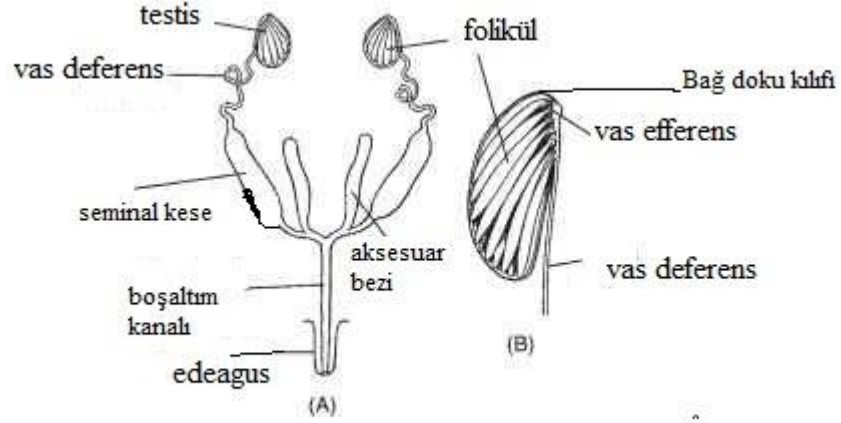
1.5 Böceklerde erkek üreme sistemi

Böceklerin erkek üreme organları, genellikle seminal vezikül (kese) çifti ve boşaltım kanalının ortası ile bağlantılı olan bir çift testisten meydana gelir. Gonofora yol açan, orta kanalla bağlı gonad çifti; primordial üreme hücrelerinden oluşan germinal bölge ile tüp dizilerinden meydana gelir. Spermatogoniadan üretilen tüpler, birbirini izleyen gelişim bölgelerinde bulunur. Her bir sekonder spermatogonium 4 spermatozoayı oluşturur. Birçok böcekte boşaltım kanalı veya vas deferans içine açılan birkaç aksesuar bezi vardır (Chapman,1969).

1.5.1 Testis

Testis, abdomende sindirim sisteminin altında, genellikle orta hatta yakın konumda ve bir çift olarak bulunur. Primitif böcekler ise tek testise sahiptir (Wigglesworth, 1965). Her bir testis, birkaç testis tüpü veya folikül serisi içerir (Chapman, 1969). Her folikül, temel membranla çevrili epitel tabakadan oluşur.

Folikül gruplarının etrafı bağ doku kılıfı ile sarılıdır (Klowden, 2007). Testis, Acrididae'de 100 den fazla sayıda folikülden oluşmuştur. *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771) (Gryllidae) 'ta çok sayıda folikülden oluşan, bir testis mevcuttur.



Şekil 1.2 A. Böceklerde erkek üreme sisteminin genel yapısı. B. Testisin boyuna kesiti (Klowden, 2007).

Her bir folikül, birbirinden ayrı olarak vas efferens tüpleri vasıtasıyla ana kanal olan vas deferens ile bağlantı kurar. Vas deferens, epitel doku ile bazal membran ve onun dışındaki halkasal kas tabakasıyla bağlantılıdır. Vas deferens'ın bir ucu, çiftleşme sırasında dişiye geçmeden önce spermlerin depolandığı seminal kese formuna genişler (Wigglesworth, 1965; Klowden, 2007).

Ektodermal orijinli olan boşaltım kanalının terminal kısmı, kopulasyon organı olarak görev yapan "edeagus" şeklini alır. Edeagus; 9. abdominal segment ile bağlı bir çift ektodermal loptan farklılaşır. Bu organ genellikle genital bölme içerisine gizlenmiştir (Chapman, 1969; Klowden, 2007).

Genelde bir çift olarak bulunan erkek aksesuar bezleri, vas deferensa veya boşaltım kanalının distal ucuna açılabilir (Chapman, 1969). *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771) (Gryllidae)'da saçaklı yapıdan oluşan, tek aksesuar bezi

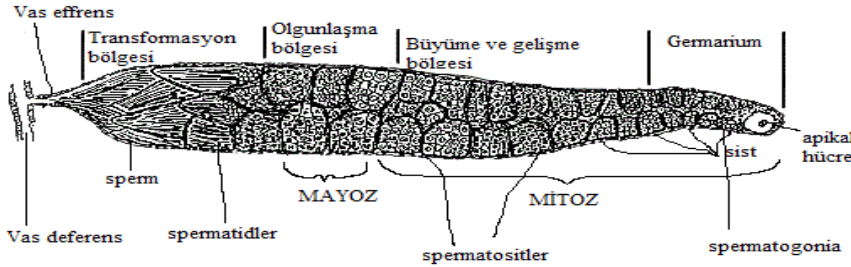
mevcuttur. Aksesuar bezlerinin salgıları, spermilere yataklık yapan seminal sıvı ile karışır (Chapman, 1969).

1.5.2 Spermatogenez

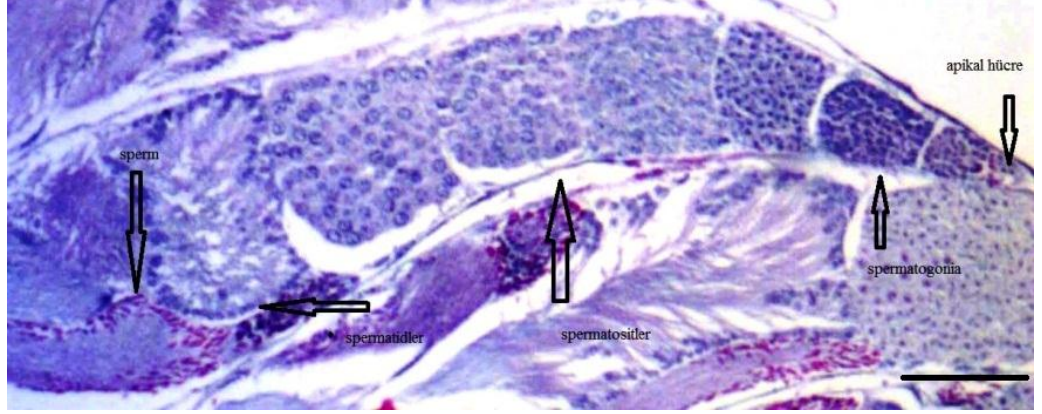
Böceklerdeki spermatogenez, memelilerdeki ile benzerlik gösterir. Her iki grupta da az sayıda apikal kök hücrenin bölünmeye devam etmesi, spermatogonial hücrelerin oluşmasına neden olur (Klowden, 2007).

Her bir testis folikülünde; farklı gelişim evrelerindeki üreme hücrelerinin oluşan ve birbirini izleyen gelişim bölgeleri mevcuttur. Bu bölgelerde, spermatogenezin farklı aşamalarındaki hücre tiplerini gözlemlemek mümkündür.

Her bir testis folikülünün distal ucunda, primordial sperm hücresi olan spermatogonia'yı üretmek için bölünen "germarium" bulunur. Bu bölgedeki apikal hücrelerin etrafı spermatogonia ile çevrilidir (Wigglesworth, 1965). Spermatogonia; Orthoptera, Lepidoptera, Dictyoptera ve Homoptera'da, sitoplazmik bağlantıları ile büyük apikal hücreden besin sağlar. Bu apikal bağlantılar kısa süre içinde kaybolur ve spermatogonia çevresinde bulunan sist formundaki diğer hücrelerle birleşir. Sist içindeki tüm hücreler, genellikle primer spermatogoniumdan meydana gelir (Chapman, 1969). Germarium altında, genellikle üç gelişim bölgesinin bulunduğu kabul edilir (Wigglesworth, 1965; Chapman, 1969;Klowden, 2007).



Şekil 1.3 Sperm gelişim bölgelerinin görüldüğü testis follikülü (Chapman, 1982).



Şekil 1.4 Gelişmekte olan sperm hücreleri. Bar : 200 μ m. (*M.desertus* MT boyama)

1.Büyüme ve gelişme bölgesi: Bu gelişim bölgesinde, sist içinde çevrelenmiş primer spermatogonia, mitoz bölünme ile çoğalarak, spermatosit adını alır.

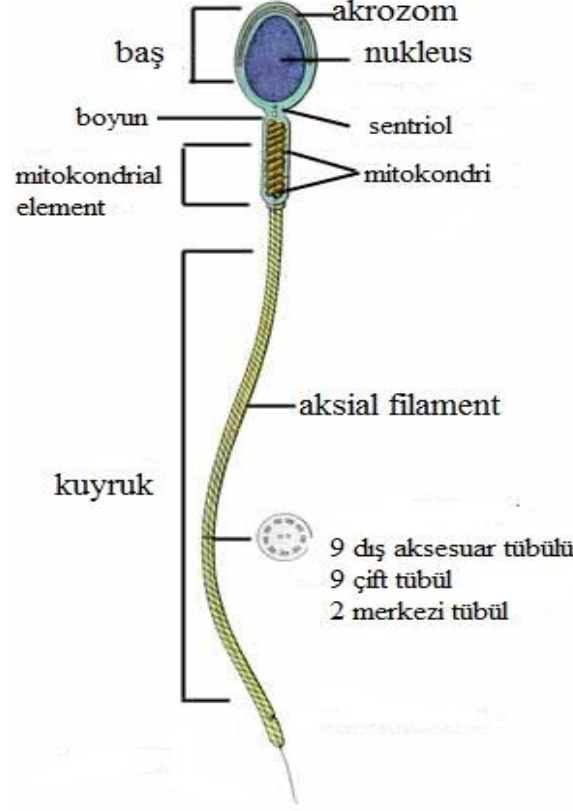
2.Olgunlaşma bölgesi: Bu bölgede, her bir spermatosit, spermatid üretmek için mayoz bölünme geçirir. Mayoz bölünme ile spermatositler ilk olarak 2 prespermatide, daha sonra 4 spermatide dönüşür.

3.Transformasyon bölgesi: Kapsülle sarılı spermatidlerin, kamçılı spermatozoaya dönüştüğü bölgedir. “Spermiogenez” adı verilen bu süreçte spermatidler, gelişim ve değişim evrelerini takiben döllenme yeteğine sahip spermatozoa formuna dönüşür (Wigglesworth, 1965; Chapman, 1969; Klowden, 2007).

1.5.3 Spermatozoa

Spermatozoa üretimi testis follükülleri içinde meydana gelir. Böcek spermi, morfolojik olarak omurgalı spermine benzerlik gösterir. Hareketi sağlayan uzun bir kamçı ile baş bölgesinden oluşur (Klowden, 2007).

Spermin baş kısmında haploid nukleus ile uç kısmında yer alan ve farklılaşma sırasında golgi aygıtından oluşan akrozomal kompleks bulunur. Akrozom; döllenme için yumurta membranını eriten akrozin enzimi içerir.



Şekil 1.5 Böcek spermatozoon yapısı

Melanogryllus desertus (Pallas, 1771)'un dahil olduğu Pterygot spermi mikrotüplerden oluşan ve hareket yeteğine sahip bir kamçı taşır. Kamçının hareket parçasına aksonem denir. Aksonem; sperm nukleusunun kaidesinde, sentriolden orijinlenen mikrotüplerden oluşur (Wigglesworth, 1965). Sentrion; nukleusun hemen gerisinde yer alır ve sperm kuyruğu boyunca ilerleyen aksial filamentten meydana gelir. Çekirge sperminin kamçasındaki aksial filament; 9 dış aksesuar tübülü, 9 çift tübül ve 2 merkezi tübül olmak üzere 9+9+2 şeklinde düzenlenen mikrotübüllerden meydana gelir (Chapman, 1969; Klowden, 2007). Mikrotübül halkalarının hareketi, sperm kuyruğunun kamçılanmasına neden olur. Aksial filamentin iki tarafını spiral şekilde çevreleyen mitokondrial elementler bulunmaktadır (Klowden, 2007)

2. MATERYAL VE METOD

2.1 Böceklerin Yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan *Melanogryllus desertus* ergin erkek ve dişi fertleri, ilkbaharda doğadan (Tekirdağ/Çorlu) toplanarak $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, %45-50 bağıl nem ve uzun gün (16:8, aydınlık:karanlık) fotoperiyodundaki laboratuvar koşullarında, $39\times 28\times 28$ cm boyutlarındaki plastik kaplarda kültüre alındı. Çekirgeler, kanatlı yemi olan Yemta ile beslendi. Su gereksinimleri, ağzı pamukla tamponlanmış su dolu cam tüplerin, yumurtlama kabı olarak kullanılan ve dibinde ıslak pamuk bulunan küçük kapakların üzerine ters konulmasıyla sağlandı. Her gün gözlenen kaplardan, yumurtaların bırakıldığı nemli pamuklar alınarak, yumurtaların gelişmesi takip edildi. İlk nimflerin 10-12 gün içerisinde ortaya çıktığı, deri değişimleri ile ayırt edilen dokuz nimfal evre sonrasında çekirgelerin ergin hale geldiği gözlemlendi. Yapılan çalışmada, gelişim evrelerini tamamlayıp ergin hale gelen çekirgelerin erkek fertleri kullanıldı.



Şekil 2.1 *M. desertus* erkek (E) ve dişi (D) bireyleri

2.2 Deneyde kullanılan insektisit

Deneylerde Azadirachtin'in ticari formülasyonlarından biri olan Neemix 4.5 (Üretici firma: Certis USA, İthalatçı firma: Agrikem) kullanılmıştır. Geniş etkili böcek gelişim düzenleyicisi olan bu insektisit, beyazsinekler, lepidopter larvaları, afitler ve yaprak galeri sinekleri gibi pek çok böceğe karşı öldürücü ve uzaklaştırıcı etkisi vardır. Mide ve kontakt etkili bir insektisittir. Böceğin deri değişimini engeller, tüm nimfal dönemlerine etkilidir. Uzaklaştırıcı ve beslenme engelleyici etkisi ile de böceğin bitkide meydana getireceği zararları en aza indirir.

2.3 Ön Denemeler

M. desertus'ta Azadirachtin'in testislerdeki etkisini gözlemleyebilmek için uygulama konsantrasyonunun belirlendiği ön çalışmalar yapıldı. Bu amaçla ergin çekirgelere yedi gün süreyle besin içerisinde 50, 100, 150, 250, 500 ve 1000 ppm'lik konsantrasyonlar uygulandı. Her bir konsantrasyon için 2 ergin erkek çekirge kullanıldı. Ön denemeler üç kez tekrarlandı.

2.4 Deneysel Prosedür

Ön denemeler sonucunda *M. desertus* ergin erkek testisleri üzerine azadirachtin'in etkisini belirlemek için; düşük (100 ppm), orta(150 ppm) yüksek (250 ppm) ve çok yüksek (500 ppm) olmak üzere dört farklı konsantrasyon 96 saat boyunca uygulandı. Dört deneme konsantrasyonu dışında, meydana gelen değişimleri doğru değerlendirebilmek için, etken madde uygulanmayan kontrol grubu çalışması da yapıldı.

Neemix 4,5 emülsiyon halindeki ticari preparatı 1 litresinde 40 gr saf Azadirachtin ihtiva etmektedir. Bu emülsiyondan 2,5 ml alıp 97,5 ml saf su ile sulandırıldığında 100 ml'sinde 100 mg aktif madde bulunan 1000 ppm'lik konsantrasyon elde edildi. Elde edilen konsantrasyondan 10 ml alınıp 100ml tamamladığımızda 100 ppm'lik düşük konsantrasyon, 15 ml aldığımızda 150 ppm'lik orta konsantrasyon, 25 ml aldığımızda 250 ppm'lik yüksek konsantrasyon

ve 50 ml aldığımızda 500 ppm'lik çok yüksek konsantrasyonlar elde edildi. Her bir konsantrasyon saf su ile 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanmış olan uygulama konsantrasyonları, belirli miktardaki ($\approx 5,5$ gr) besine emdirilip bir gün boyunca kurumaya bırakıldı. Hazırlanan besinler 1 litrelik yarıçapı 4,5 cm, yüksekliği 18 cm olan cam kavanozlara kondu. İçlerine 2 adet *M. desertus* ergin erkekleri bırakıldı. Azadirachtin uygulanmış besini yediklerinden emin olmak için, uygulama grubu erkekleri stok kültürden alınıp 48 saat süreyle aç bırakıldı. Kavanozların ağızları hava giriş çıkışını önlemeyecek şekilde kapatıldı. 100, 150, 250 ppm ve 500 ppm'lik her bir konsantrasyon için; 96 saatlik zaman uygulandı. Her bir uygulama konsantrasyonu ve kontrol grubu için 4'er adet *M. desertus* ergin erkekleri kullanıldı. Azadirachtin uygulamasını takiben 96 saat sonra histolojik örneklemeler yapıldı. Deneyler her bir konsantrasyon ve kontrol grubu için üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

2.5 Histolojik Yöntem

96 saatlik Azadirachtin uygulanmış deney grupları ile kontrol grubunda yer alan ergin erkek çekirgelerin böcek fizyolojik suyu içinde, Olympus SZX7 stereomikroskop altında diseksiyonları yapılarak testisleri çıkarıldı.

Histolojik çalışmalar için Bouin sıvısında 12 saat tespit edilen testis dokusu, %70 alkolde pikrik asitten arındırılıp, etil alkol serilerinde dehidrasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra ksilolde şeffaflaştırıldı. Total durumda parafin bloklara gömülen doku örneklerinden, Reichert mikrotom ile 5 μ m kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Gill's Hematoxylin Eosin (HE), Mallory's Trichrome (MT) ve Periodic Acid Schiff (PAS) boyama teknikleri ile boyanıp, entellan (Merck) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX 51 ve Olympus CX 31 ışık mikroskobunda incelenip Olympus LC 20 kamerasıyla fotoğrafları çekildi.

3. BULGULAR

3.1 Ön Denemeler

Ön denemelerde yedi günün sonunda, Azadirachtin'in 100, 150,250 ve 500 ppm'lik konsantrasyonlarında ergin erkek *M. desertus* bireylerinde ölümün artan konsantrasyona bağlı olduğu gözlenmiştir. Yapılan probit analizine göre çekirgelerin %10 oranında ölüm olan konsantrasyon düşük 100 ppm, % 25 oranında ölüm olan konsantrasyon orta 150 ppm, % 40 oranında ölüm olan konsantrasyon yüksek 250 ppm ve %68 oranında ölüm olan konsantrasyon çok yüksek 500 ppm olarak kabul edildi.

3.2 Histolojik Bulgular

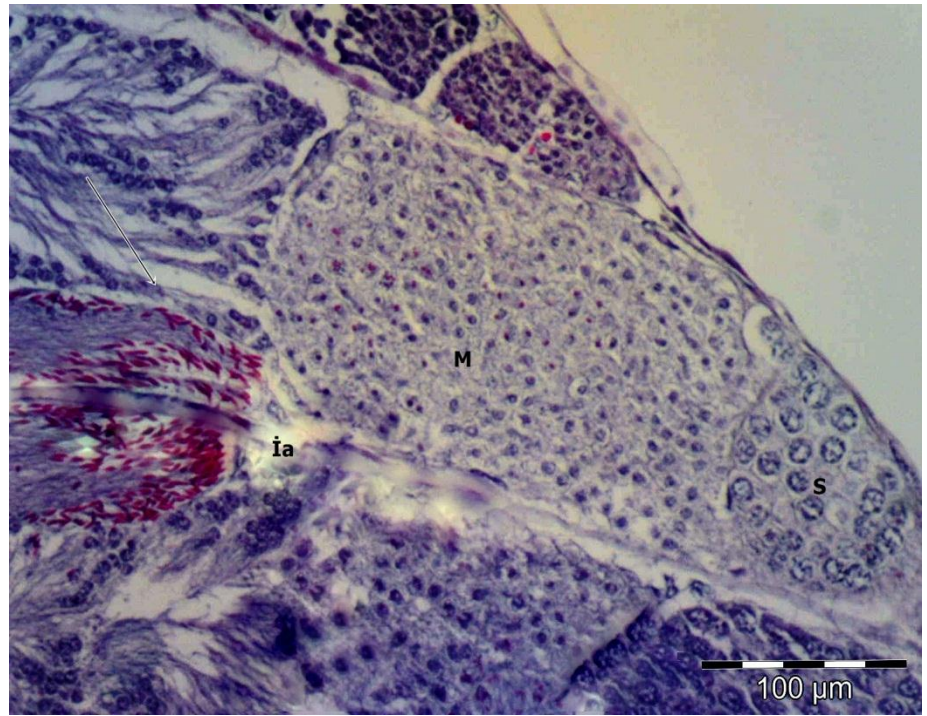
3.2.1 Kontrol grubu

Kontrol grubunda yer alan *M. desertus* ergin erkek bireylerinin testislerinden alınan kesitlerin, H&E ile boyanması sonucu hazırlanan preparatlarda testise ait hücre nükleuslarının mor, sitoplazmalarının ise açık-koyu kırmızı-pembe renkte boyandığı gözlenmiştir (Şekil 3.1).

M. desertus testisleri çok sayıda folikülden oluşan iki simetrik loptan ibarettir. Her folikül, temel membranla çevrili epitel tabakadan oluşur. Gelişim sırasında folikül gruplarının etrafı bağ doku kılıfı ile sarılıdır. Testis folikülünün distal ucunda, spermatogonia üretmek için bölünen germarium besin sağlayan apikal hücre bulunur. Spermatogonia çevresinde, sist formundaki hücreler yer alır. Farklı gelişimsel evrede bulunan spermatogenik hücreleri içeren sistleri şekil 3.1'de görmekteyiz.



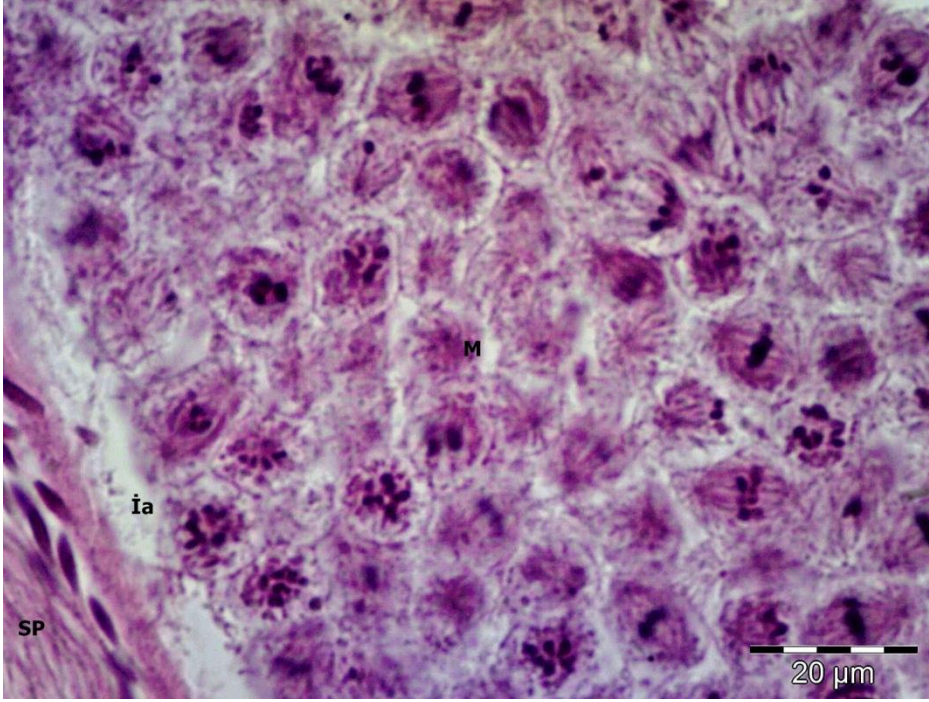
Şekil 3.1 Kontrol grubunda spermatogenik hücreleri içeren sistler (S) ve aralarındaki interstisiyel alanların (İa) genel görünümü. HE



Şekil 3.2 Kontrol grubunda spermatogenik hücreler (S), mayoz bölünme safhaları (M) ve interstisiyel alan (İa). Mallory boyama.

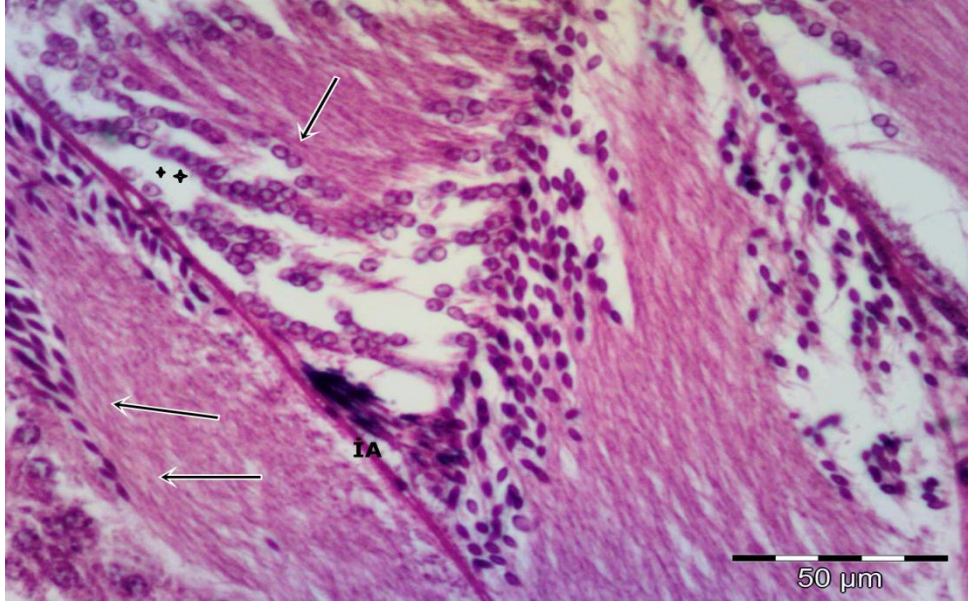
Kontrol grubunda, testis folikülü içerisinde yer alan farklı gelişim evrelerindeki spermatogenik hücrelerinin dizilişi düzenlidir. Sist çevresini saran epitel tabaka hücreleri düzgün dizilimlidir. İnterstitiyal alan normal görünümündür (Şekil 3.2, 3.3 ve 3.4).

M. desertus 'da spermatositlerin oluşma evresi ve spermotositler şekil 3.3 ve 3.4'de rahatlıkla görülmektedir.



Şekil 3.3 Kontrol grubunda mayoz bölünme evreleri (M), tipik kamçılı yapılarıyla sperm (SP) ve İnterstitiyal alan (İa). Gill hematoxylen boyama.

Kontrol grubunda spermatogoniyadan olgunlaşan spermatozoidler ve tipik kamçılı yapılarıyla spermatozoidler şekil 3.4’ te görülmektedir. Spermatozoidlerin genel görünümü normal ve sayıları oldukça fazla olarak gözlenmektedir(şekil 3.4).



Şekil 3.4 Kontrol grubunda spermatozoidler (**), okla işaretlenmiş spermatidler, interstisyel alan (İa) ve spermatozoidler. Gill hematoxylin boyama.

3.2.2 Deneme grupları

Çalışmada 24, 48, 72 ve 96 saatlik sürelerde 100, 150, 250 ve 500 ppm’lik uygulama yapılmıştır. Ancak 24, 48 ve 72 saatlik süreler sonunda elde edilen bulgular kontrol grubuna göre hiçbir farklılık göstermediğinden, histopatolojik inceleme 96 saat uygulama yapılan örnekler üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Uygulama yapılan gruplardan elde edilen genel patolojik bulgular doğrultusunda, insektisit konsantrasyonuna bağlı olarak testislerde bozulmalara yönelik değişiklikler kaydedilmiştir. Bu bulgular; olgun sperm miktarında düşüş, interstisyel alanda genişleme ve vakuollü görünüm, spermatozoidlerde kistleşme, spermatogonik hücreleri içeren sist kümeleri ile etrafını saran epitel doku arasında ayrılma ve genel tübül görünümünde bozulma olarak belirlenmiştir.

3.2.2.1 100 ppm uygulama grubu

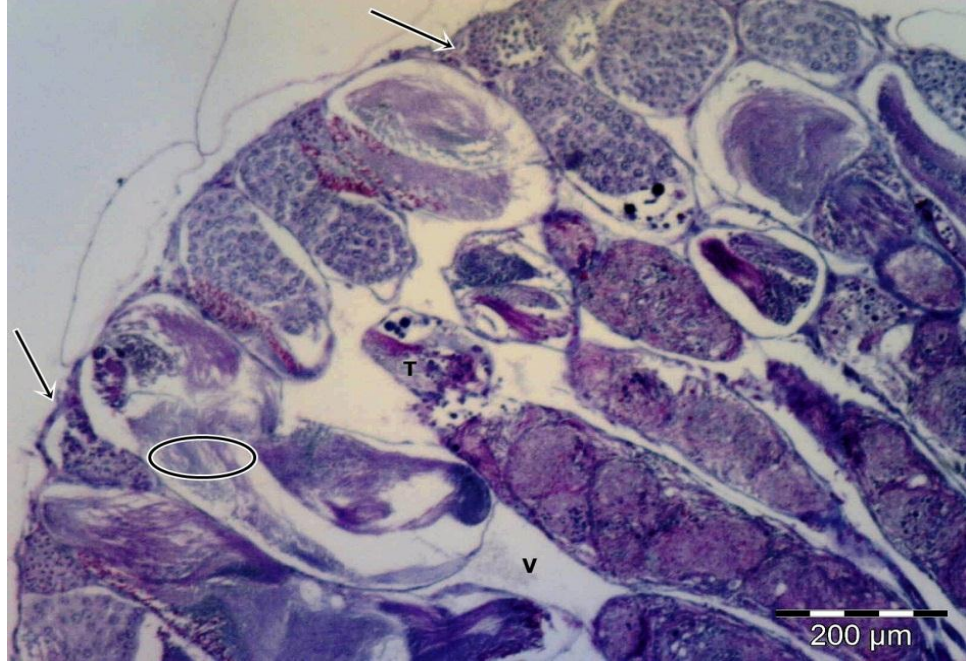
Testis yapısı kontrol grubuna büyük ölçüde benzerlikler göstermesine rağmen, folikülü saran bağ doku kılıfında ayrılmalar ve düzensiz görünümün oluşmaya başladığı ve interstisyel alanlarda vakuollü görünüm gözlenmiştir. Spermatogenik hücrelerde nekrotik alanlar saptanmıştır. (Şekil 3.5).



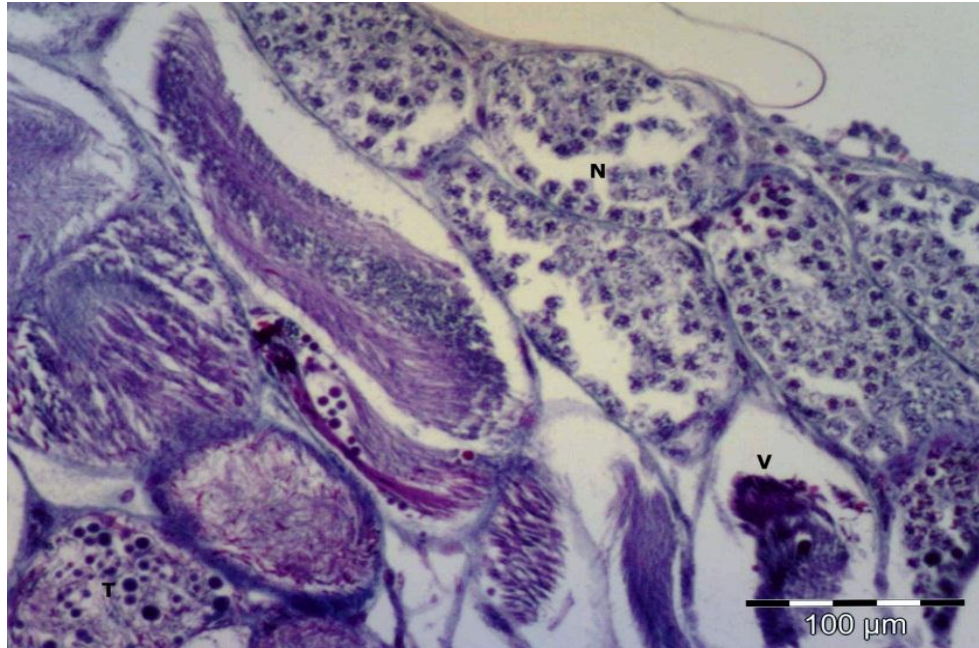
Şekil 3.5 Deneme grubu, 100 ppm uygulama. Bağ doku kılıfındaki düzensizleşmeler (←). Normal görünümlü sist (S) ve bazı sistlerdeki spermatogenik hücrelerde nekroz (N), normal görünümlü interstisyel alan (İa) ve alandaki vakuol (V) oluşumu. HE boyama.

3.2.2.2 150 ppm uygulama grubu

Bu grupta meydana gelen önemli değişiklikler sperm başlarının genişleyerek kümeleşmesi kist görünümünü alması ve sist kümeleri ile etrafını saran epitel örtü arasındaki epiteliyal ayrılmalardır. Ayrıca interstisyel alanlarda vakuol görünümü göze çarpmaktadır (Şekil 3,6 -3,7).



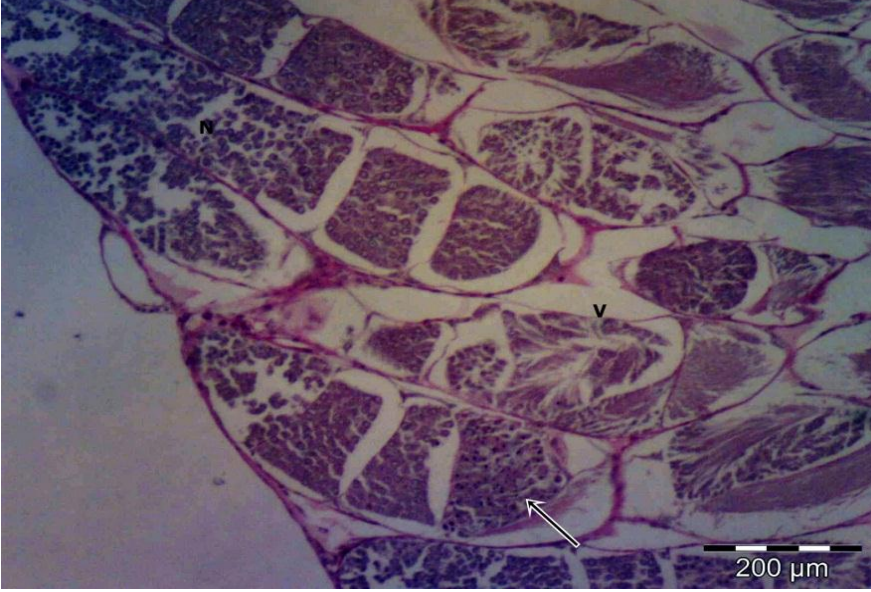
Şekil 3.6. 150 ppm deneme grubunda bağ doku bozulmaları (→), epitel alanlarda ayrılmalar vakuol oluşumu görüntüsü (V) ve sperm kuyruk yapısında bozulmalar (elips) dikkat çekmektedir. Mallory boyama.



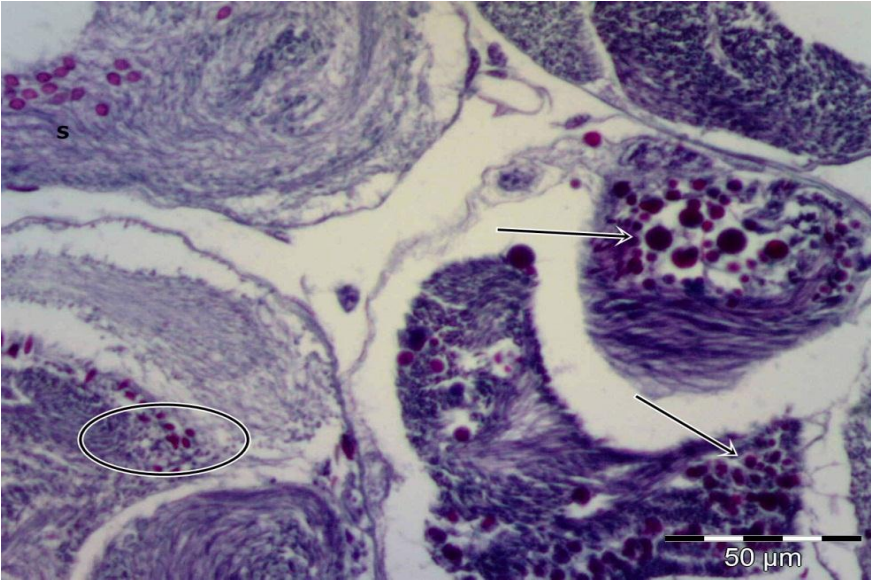
Şekil 3.7. 150 ppm deneme grubunda tümörleşme (T) belirgin şekilde ortaya çıkmış, interstisyel epitel alanlarda ayrılmalar (V) ve spermatogenik hücrelerde nekrotik alanlar (N). Mallory boyama.

3.2.2.3 250 ppm uygulama grubu

250 ppm uygulama grubunda spermatogenik hücrelerden meydana gelen sist yapısının genel görünümünde deformasyon, nekroz ve vakuol oluşumu ile epitel doku ayrılmaları yanında sperm sayısındaki azalmalarda dikkat çekmektedir. Sperm kuyruklarının düzensizleşmesi ve sperm başlarındaki kistleşmede artarak devam ettiği izlenmektedir (Şekil 3,8).



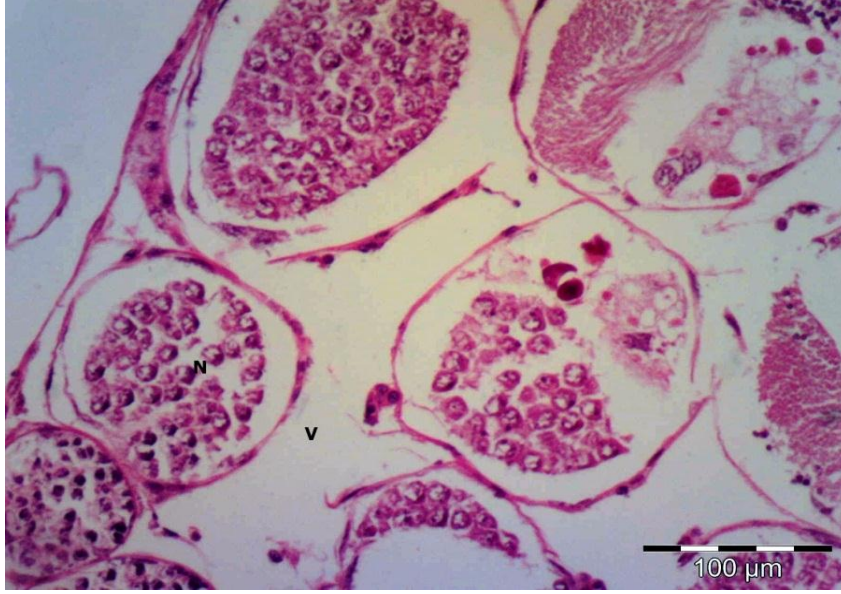
Şekil 3.8. 250 ppm deneme grubunda genel görünüm. Epitel dokularda ayrılmalar (V) ve tümörleşme (ok) izlenmektedir. Gill's HE.



Şekil 3.9. 250 ppm deneme grubu. Okla işaretlenmiş tümörleşme (T) ve bozulan sperm yapısı (elips). Mallory boyama.

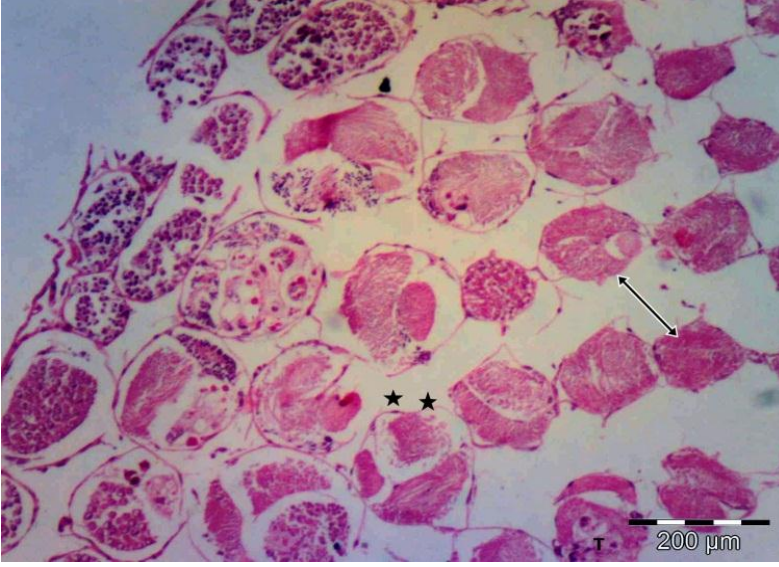
3.2.2.4 500 ppm uygulama grubu

Bu deneme grubunda Azadirachtin'in etkileri en ileri seviyede görülmektedir. Sist kümelerini çevreleyen epitel örtüde şekil bozuklukları ve epiteliyal ayrılmalar oldukça net bir şekilde görülmektedir. Spermatogenik hücrelerde nekroz ve vakuol oluşumu geniş yer kaplamakta, olgun sperm sayısında azalma, olgunlaşmakta olan sperm başlarındaki kistleşme artmış olarak gözlenmektedir (Şekil 3,10).



Şekil 3.10. 500 ppm deneme grubu. Spermatogenik hücrelerde (N) ve Epitel alanlarda vakuol (V). Gill's HE.

Uygulanan Azadirachtin'in konsantrasyonunun artışına bağlı olarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında interstisiyal alanda boşluklu görünüm yani vakuol oluşumu , bozuk sperm yapısı ve sperm sayısında azalma ayrıca sist kümelerini çevreleyen epitel örtüde şekil bozuklukları dikkat çekmektedir (Şekil 3,11).



Şekil 3.11. 500 ppm deneme grubu. Tamamen parçalanmış epitel doku(**) ve spermler (ok).
Gill's HE.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde, tarım alanında verimin artırılması amacıyla sentetik insektisitlerin tarımsal ilaç olarak kullanılması oldukça yaygınlaşmıştır. Ancak amaca uygun olmayan şekilde aşırı ve kontrolsüz kullanılmaları sonucu, insan ve hayvan sağlığını olumsuz yönde etkilerken diğer tarafta pek çok çevre sorunlarını beraberinde getirmektedir. Bundan dolayı, sentetik insektisitlerin yerine geçebilecek, bitkisel kaynaklı doğal bileşik kullanılması üzerinde durulan konulardan biridir. Bitkisel kaynaklı doğal bileşikler hedef dışı organizmalara zarar vermemekte ve doğada kısa sürede yok olarak olumsuz etkileri ortadan kaldırmaktadırlar. Neem kaynaklı insektisitlerle yapılan çalışmalarda oldukça iyi sonuçlar vermektedirler.

Bu tez çalışmasında araştırma materyali olarak *M.desertus*'un erkek bireylerinden yararlanılmıştır. Bu canlının laboratuvar ortamında yetiştirilmesi oldukça kolaydır. Hızlı çoğalan ve küçük boyutlara sahip olması çok sayıda örnekle çalışabilmeyi sağlamaktadır. Gelişimi ve erginliğe ulaşması sıcaklıkla, nemle ve yemle kontrol edilebilmektedir. Bu özellikler sebebiyle *M. desertus*'un deneysel çalışmalarda kullanılması oldukça uygundur.

Schistocerca gregaria (çöl çekirgesi) ile yapılan çalışmada erkek bireylere azadirachtin uygulanması sonucu testislerde küçülme , mayoz bölünme safhalarında bozulmalar gözlenmiştir (Mordue et al., 1997).

Albino sıçanlarda yapılan çalışmada, yüksek dozlarda Azadirachtin uygulanması testis, seminal vesikül ve ventral prostat organların ağırlıklarında azalmalara ve verimliliğin azalmasına neden olmaktadır (Aladakatti et al., 2011).

Balıklar üzerinde cadmium klorüd ve Azadirachtin'in genotoxic etkilerine bakılmış, Azadirachtin'in cadmium klorüd kadar toxic etkilerinin olmamasına rağmen mayoz ve mitoz evlerinde üreme hücrelerinde tümörleşme gözlenmiştir (Chandra and Khuda-Bukhsh, 2004).

Fareler üzerinde Azadirachtin'in etkileri incelenmiş, doz ve doza maruz kalma süresinin artışına bağlı olarak sperm sayılarında ciddi azalmalar seminal vesiküllerde toksik etkilere rastlanmıştır (Abou-Tarboush et al., 2009).

Yapılan çalışmada *M. desertus*' da gözlemlenen değişimler yukarıda söz edilen çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Çalışmada 100 ppm düşük konsantrasyon uygulanan örneklerde 96 saat sonunda testis yapısında kontrol grubuyla büyük ölçüde benzerlik göstermesine rağmen, folikülü saran bağ doku kılıfında yer yer ayrılmalar ve düzensiz görünüm ortaya çıkmıştır.

150 ppm'lik konsantrasyon uygulanan deneme grubunda, düşük konsantrasyonda gözlenen bulgulara ek olarak, interstisiyal alandaki vakuollü görünüm belirgin bir hal almıştır. Sist kümeleri ile etrafını saran epitel örtü arasında ayrılmalar gözlenmiştir. Ayrıca sperm başlarında toplanma yara dokusu benzeri kistleşmeler görülmeye başlamaktadır.

Düşük 100 ppm ve orta 150 ppm konsantrasyonlarda gözlenen bulgular, yüksek uygulama grubu olan 250 ppm'lik konsantrasyonda artarak devam etmektedir. Ayrıca olgun sperm sayısında azalma, spermatid oluşumunda gerileme ve kistleşmesinin artışı gözlenmiştir.

Çok yüksek konsantrasyon olarak belirlenen 500 ppm'lik deneme grubunda sist kümeleri ile etrafını saran epitel örtüde tamamen parçalanmalar, sperm oluşmaması, sperm başlarının tamamen kistleşmesi gözlenmiştir.

Deneme süresince genel olarak spermatogenik hücreler ile epitel örtüleri arasında ayrılmalar, vakuol oluşumu, sperm oluşumunda azalma ve kistleşme tespit edilmiştir. Bütün bu bulgular Azadirachtin'in *M. desertus* testislerinde spermatogenik aktiviteyi bozan hasarlara yol açtığını göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışma; Azadirachtin'in *M. desertus* testislerine etkisini genel histopatolojik kanıtlarla ortaya koyarak bu insektisit toksik etkilerinin olası varlığını göstermesi açısından önemlidir. Sunulan çalışma arazi koşullarında da etkilerinin araştırılması sonucunda elde edilecek bulgulara göre söz konusu preparatın *M. desertus*'a karşı özellikle organik tarım ve iyi tarım uygulamalarında kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abou-Tarboush, F.M., El-Ashmaoui , H.M., Hussein , H.I., Al-Rajhy D.,and Al-Assiry M. ,** 2009, Effect of Azadirachtin of Neemix-4.5 on SWR/J Mice, *Saudi Journal of Biological Sciences* 16, 69–76 pp.
- Adler , V.E. and Uebel, E.C.,**1985, Effects of formulation of neem extract on six species of cockroaches (Orthoptera: Blaberidae, Blattidae and Blattellidae),*Phytoparasitica*, 13(1): 3-8 pp.
- Aladakatti H.R., Sukesh, B., Jadaramkunti, U.C. and Hiremath, M.B.,** 2011, Aspects of the Antiandrogenic/antifertility property of Azadirachtin-a from *Azadirachta indica* leaves in male albino rats: effect on the biochemical and cauda epididymal sperm parameters, *Recent Research in Science and Technology* , 3(2): 34-46 pp.
- Ascher, K.R.S.,** 1993. Nonconventional Insecticidal Effects Pesticides Available from Neem Tree, *Azadirachta indica*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 22: 433-449 pp.
- Awad, T.I., Onder, F. ve Kısmalı, Ş.,** 1998. *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) Ağacından Elde Edilen Doğal Pestisitler Üzerinde Bir İnceleme. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 22(3): 225-240 pp.
- Chandra, P. and Khuda-Bukhsh, A.R.,** 2004, Genotoxic Effects of Cadmium Chloride and Azadirachtin Treated Singly and in Combination in Fish, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 58 (2004) 194–201 pp.
- Coats, J.R.,** 1994. Risks From Natural Versus Synthetic Insecticides. *Annual Review of Entomology*, 39:489-515 pp.
- Croft, B.A.,** 1990. Arthropod Biological Control Agents and Pesticide. *Wiley, New York*. 723 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Çeribaşı, N., 2001. Azadirachtin'in Bazı Sebze Zararlılarına Karşı Etkinliği Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi *Akdeniz Üni. Bitki Koruma Anabilim Dalı*, Antalya.

Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., ve Burçak, A., 2005, Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları, *Türkiye Ziraat Müh. 6. Teknik Kongre*, Ankara.

Delen, N., Kınay, P., Yıldız, F., Yıldız, M., Altınok, H.H., ve Uçkun, Z., 2010, Türkiye Tarımında Kimyasal Savaşımın Durumu ve Entegre Savaşım Olanakları, *Türkiye Ziraat Müh. 7. Teknik Kongre*, Ankara.

Dorn, A., Rademacher, J.M., and Sehn, E., 1987, Effects of azadirachtin on reproduction organs and fertility in the milk weed bug *Oncopeltus fasciatus*, *Proc. 3rd Int. Neem Conf.*, Nairobi.

Greenberg, S. M. , Showler, A. T. a n d Liu, T., 2005, Effects of neem-based insecticides on beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae), *Insect Science* 12, 17-23 pp.

Göçmen, H., Topakçı, N., ve İkten, C., 2007, Pamuk beyazsineği, *Bemisia tabaci* (genn.) (Homoptera:Aleyrodidae)'ye karşı azadirachtin'in etkinliği üzerine bir araştırma, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1),119-126 pp.

Haseeb, M., Liu, T.-X. and Jones, W.A., 2004, Effects of selected insecticides on *Cotesia plutellae* endoparasitoid of *Plutella xylostella*. *BioControl*, 49, 33J46 pp.

Haynes, K.F., 1988. Sublethal Effects of Neurotoxic Insecticides on Insect Behavior. *Annual Review of Entomology*, 33: 149-168 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Heyde, V.D.J., Saxena, R.C. and Schmutterer, H., 1984, Neem oil and neem extracts as potential insecticides for control of hemipterous rice pests, *Proc. 2nd Int. Neem Conf.*, Rauschholzhausen.

Isman, M.B., 1999, Neem and related natural products. *Biopesticides: Use and Delivery* (eds. F.R. Hall and J.J. Menn), pp. 139-154. Humana Press, Totowa, NJ.

Isman, M.B., 1997, Bioinsecticides, Neem Insecticide, Pesticide Outlook, Faculty of Agricultural Sciences. *University of British Columbia, Vancouver, Canada.* October, 32-39 pp.

Isman, M.B., 2006. Botanical insecticides, Deterrents and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66 pp.

Jabbar, A., Anwar, T. and Khalique, F., 1992, Suitability of neem (*Azadirachta indica*) for the control of agricultural insect pests, *Journal of Pakistan Entomology*, 7(1-2): 25-32 pp.

Jacobson, M., 1989. The Neem Tree. *Focus on Phytochemical Pesticides. Vol.1.* Boca Raton, CRC Press, 178 p.

Jaglan, M.S., Khokhar, K.S., Malik, M.S., and Singh, R., 1997, Evaluation of neem extract against American Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner), *J. Agric. Food Chem.*, 45: 3262-3268 pp.

Kaplan, M., 2009, Organik Gıdalar Neden Tercih Edilmeli?. *Bilim Teknik Dergisi* Sayı 501 : 30-33 pp.

Ketkar, C.M., 1976, Utilization of neem (*Azadirachta indica* A.Juss) and its by-products. *Final Tech. Rep. , Khadi and Village Industrie. Comm., Bombay, India.*

Liu, S.Q., Shi, J.J., Cao, H., Jia, F.B., Liu, X.Q. and Shi, G.L., 2000. Survey of Pesticidal Component in Plant. In: Dianmo, L. (Ed.), *Entomology in China in 21st*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Century. *Proceedings of 2000 Conference of Chinese Entomological Society, Science and Technique Press, Beijing, China.* pp. 1098-1104.

Liang, G., Chen, W. and Liu, T., 2003, Effects of three neem-based insecticides on diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae), *Crop Protection*, Vol. 22, Issue 2, 333-340 pp.

Malczewska, M., Gelman, D.B. and Cymborowski, B., 1988. Effect of Azadirachtin on Development, Juvenile Hormone and Ecdysteroid Titres in 37 Chilled *Galleria mellonella* Larvae. *Journal of Insect Physiology*, Vol. 34, No. 7, pp. 725-732.

Miller, F. and Uetz, S., 1998. Evaluating Biorational Pesticides for Controlling Arthropod Pests and Their Phytotoxic Effects on Greenhouse Crops. *HortTechnology*, 8 (2): 185-192 pp.

Mordue, A.J., Blackwell, A., 1993, Azadirachtin: an update, *J.Insect Phys.*, 39: 903-924 pp.

Mordue, A.J., Zounos, A., Wickramanda, I.R. and Allan, E.J.,1995, Neem tissue culture and the production of insect antifeedant and growth regulatory compounds. *BCPC Sym. Proceed.* 63: 187-194 pp.

Mordue, A.J., Nisbet, A.J., Linton, Y.M., 1997, The Effects of Azadirachtin on the Testes of the Desert Locust, *Schistocerca gregaria*, *J. Insect Physiol.*, Vol.43, No. 11, pp. 1077-1084 .

Morgan, D.E. and Butterworth, J.H., 1971, Investigation of the locust feeding inhibition of the seeds of neem tree, *Azadirachta indica*, *Journal of insect Physiology*, Vol:17(6): 969-977 pp.

Morgan, D.E., 2009, Azadirachtin, a scientific gold mine, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17 4096–4105 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Quadri, S.H. and Narsaiah, J., 1978, Effects of azadirachtin on the moulting process of last instar nymphs of *Periplaneta americana*, *Indian J. Exp. Biol.*, 16:141 p.

Ratwanski, S.A. and G.E. Wickens, 1981, Vegetative fallows and potential value of the neem tree (*Azadirachta indica*) in the tropics. *Econ. Bot.*, 35: 398-414 pp.

Rembold, H., H. Forster, Ch. Czoppelt and J.P. Sieber, 1984, The azadirachtin, a group of insect growth regulator from the neem tree: 153-162. *Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants. In proc. 2nd. Int. Neem Conf.* Rauschholzhausen.

Schneider, M.I., Smagghe, G., Pineda S. and Viñuela, E., 2004. Action of Insect Growth Regulator Insecticides and Spinosad on Life History Parameters and Absorption in Third-instar Larvae of the Endoparasitoid *Hyposoter didymator*. *Biological Control*, 31: 189-198 pp.

Schmutterer, H., 1987, Fecundity- reducing and sterilizing effects of neem seed kernel extracts in Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, *Proc. 3rd Int. Neem Conf.*, Nairobi.

Schmutterer, H., 1990, Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Annual Review of Entomology*, 35: 271-298 pp.

Schmutterer, H., 1995, The Neem Tree *Azadirachta Indica* A. Juss. and other Meliaceous Plants: *Sources of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and other Purposes.* VCH Publishers, Weinheim, Germany.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Schmutterer, H., 1997. Side-effects of Neem (*Azadirachta indica*) Products on Insect Pathogens and Natural Enemies of Spider Mites and Insects. *Journal of Applied Entomology*, 121, 121-128 pp.

Schwinger, M., Ehhammer, B. And Kraus, W., 1984, Methodology of the *Epilachna varivestis* bioassay of antifeedants demonstrated with some compounds from *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* : 181-198. *Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants.In proc. 2nd. Int. Neem Conf.* Rauischholzhausen.

Shivakumar, M.S., 2011, Comparative efficacy of Azadirachtin on the larval population of *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Gujarat, India, *Int. Jour. Of Phar. and Bio Sci.*, 2:41-47.

Simmonds, M.S.J. and Blaney, W.M., 1984, Some neurophysiological effects of azadirachtin on lepidopterous larvae and their feeding response, *Entomol.Exp. Appl.*, 77(1): 69-80 pp.

Takada, Y.S., Kawamura and Tanaka, T., 2001. Effects of Various Insecticides on the Development of the Egg Parasitoid *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera:Trichogrammatidae). *Journal of Economical Entomology*, 94 : 1340-1343 pp.

Tiryaki, O., Canhilal, R., Horuz, S., 2010, Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 26(2): 154-169 pp.

Walter, J.F., 1999, Commercial experience with neem products, *Biopesticides: Use and Delivery*, pp.155-170, Humana Press, Totowa, NJ.

Willrich, M.M. and D.J. Boethel, 2001. Effects of Diflubenzuron on *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera:Neoctuidae) and its Parasitoid *Copidosoma floridanum* (Hymenoptera:Encyrtidae). *Environmental Entomology*, 30 : 794-797 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Verkerk, R.H.J. and Wright, D.J., 1993. Biological Activity of Neem Seed Kernel Extracts and Synthetic Azadirachtin Against Larvae of *Plutella xylostella* L. *Pesticide Science*, Vol. 37: pp. 83-91.

Yadav, T.D., 1985, Antiovipositional and ovicidal toxicity of neem (*Azadirachta indica* A.juss) oil against three species of *Callosobruchus*, *Neem Newsl.*, 2: 5-6 pp

Yornuk, D., 2011, *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771)(Orthoptera: Gryllidae)'ta Azadirachtin'in Yumurta Verimine Etkileri, *Ege üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*.

ÖZGEÇMİŞ

Selin Çakar, 1986 yılında İzmir’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini İzmir’ de tamamladı. 2005 yılında Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nde lisans öğrenimine başladı. Yabancı Diller Bölümü’nde 1 yıl İngilizce hazırlık okuduktan sonra 2010 yılında Biyoloji Bölümü’nden mezun oldu. 2010 yılında Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Zooloji Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitime başladı. Halen öze bir kurumda Biyoloji Öğretmenliği yapmaktadır.