

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Benay SEZER

***Galleria mellonella* L. LARVALARINDA TOTAL GLİKOJEN VE PROTEİN
MİKTARINA AZADIRACHTININ ETKİLERİ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2010

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***Galleria mellonella* L. LARVALARINDA TOTAL GLİKOJEN VE PROTEİN
MİKTARINA AZADIRACHTININ ETKİLERİ**

Benay SEZER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 13 /01/2010 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri tarafından Oy Birliği /
Oy Çokluğu ile Kabul Edilmiştir.

İmza :
Yrd.Doç.Dr. Pınar ÖZALP
Danışman

İmza :
Prof.Dr. İskender EMRE
Üye

İmza :
Doç.Dr.Fatma ÇEVİK
Üye

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof.Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No: FEF2007YL4

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların
kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Galleria mellonella* L. LARVALARINDA TOTAL GLİKOJEN VE PROTEİN
MİKTARINA AZADIRACHTININ ETKİLERİ**

Benay SEZER

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Pınar ÖZALP

Yıl: 2010, **Sayfa:** 43

Jüri :Yrd.Doç.Dr. Pınar ÖZALP
Prof.Dr. İskender EMRE
Doç. Dr. Fatma ÇEVİK

Sunulan çalışmada *Melia azedarach* ve *Azadirachta indica*'nın olgun meyve tohumu, yaprak, gövde ve çiçeklerinden elde edilen azadirachtin ekstraktının *Galleria mellonella* larvalarında glikojen ve protein miktarına etkileri araştırıldı.

Azadirachtinin 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml/100 g konsantrasyonlarını içeren besin ile beslenen *Galleria mellonella* L. larvalarının sentezlediği total protein ve glikojen miktarları ölçüldü. Farklı oranlardaki azadirachtinin besine ilave edilmesiyle protein ve glikojen miktarlarında azalmalar meydana geldi.

Protein yüzdelerinde, 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml/100 g azadirachtin içeren besinlerde kontrole göre azalma gözlemlendi. Glikojen yüzdeleri ise, 1.00, 2.00 ve 4.00 ml/100 g azadirachtin içeren besinlerde kontrole göre azalırken, 6.00 ml azadirachtin içeren besinde kontrole göre artış meydana geldi.

Anahtar Kelimeler : *Azadirachta indica*, *Melia azedarach*, *Galleria mellonella*, Glikojen ve Protein sentezi

ABSTRACT

MSc THESIS

THE EFFECTS OF AZADIRACHTIN ON THE TOTAL GLYCOGEN AND PROTEIN AMOUNTS OF *Galleria mellonella* L. LARVAE

Benay SEZER

DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Pınar ÖZALP

Year: 2010, **Page:** 43

Jury : Asist. Prof. Dr. Pınar ÖZALP
Prof. Dr. İskender EMRE
Assoc. Prof. Dr. Fatma ÇEVİK

In this study, the effects of azadirachtin extract obtained from the kernels of ripe fruits, leaves, stems and flowers from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* were investigated on the glycogen and protein contents of *Galleria mellonella* L. larvae.

Azadirachtin caused a reduction in protein and glycogen contents when 1.00, 2.00, 4.00 and 6.00 ml/100g concentrations of azadirachtin were incorporated into the diet of *Galleria mellonella* L.

Diet containing 1.00, 2.00, 4.00 and 6.00 ml/100 g of azadirachtin decreased the percentage of protein contents compared with the control diet.

While diets containing 1.00, 2.00 and 4.00 ml/100 g caused a decrease in the percentage of glycogen content. Diet containing 6 ml/100 g increased it compared with the control group.

Key Words: *Azadirachta indica*, *Melia azedarach*, *Galleria mellonella*, Glycogen and Protein Synthesis

TEŞEKKÜR

Her zaman benden desteğini, deney çalışmalarım sırasında yardımlarını ve tecrübesini esirgemeyen değerli hocam Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Pınar ÖZALP'e teşekkür ederim. Ayrıca Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. İskender EMRE ve Adıyaman Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa Coşkun'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca desteğini ve yardımlarını benden esirgemeyen Mustafa TUNÇSOY'a ve laboratuvar arkadaşlarım Süheyla İNKAYA, Tamer KAYIŞ ve Osman DURSUN'a teşekkür ederim.

Benden tüm hayatım boyunca maddi manevi desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olan annem, babam ve kardeşime sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
3. MATERYAL VE METOD	15
3.1. Stok Kültürün Devamlılığı, Beslenmesi ve Deney Böceklerinin Elde Edilmesi	15
3.2. Deney Besinlerinin Hazırlanması	15
3.3. Deneyde Kullanılan Larvaların Elde Edilmesi	16
3.4. Verilerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi	16
3.4.1. Glikojen ve Protein Tespiti	16
3.4.1.1. Protein ve Glikojen Miktarının Tespiti İçin Gerekli Çözeltilerin Hazırlanması	16
3.4.1.2. Glikojen Özütlerinin Hazırlanması	17
3.4.1.3. Protein Özütlerinin Hazırlanması	17
3.4.1.4. Total Glikojen Miktarının Saptanması	18
3.4.1.5. Total Protein Miktarının Saptanması	18
3.4.2. Verilerin Değerlendirilmesi	19
4. BULGULAR	20
5. TARTIŞMA	25
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	30
KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. <i>G. mellonella</i> larvalarını beslemek için hazırlanan besinlerin bileşimi	16
Çizelge 4.1. Farklı azadirachtin oranlarının <i>G. mellonella</i> larvalarının total protein ve protein yüzdesi miktarlarına etkileri	20
Çizelge 4.2. Farklı azadirachtin oranlarının <i>G.mellonella</i> larvalarının total glikojen ve glikojen yüzdesi miktarlarına etkileri	22

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1. Azadirachtinin kimyasal yapısı	3
Şekil 1.2. Limonoid çeşitlerinden limoninin kimyasal yapısı	4
Şekil 1.3. <i>Azadirachta indica</i> 'nın ekstrakt elde edilen kısımları	4
Şekil 1.4. Bal peteklerine zarar veren <i>Galleria mellonella</i> (Linnaeus)	7
Şekil 1.5. a ve b. Larva c. Ergin <i>Galleria mellonella</i>	7
Şekil 3.1. Bronksil (1961) tarafından hazırlanan bal, petek, kepek, gliserin ve saf sudan oluşan yarı sentetik besin içerisindeki <i>G. mellonella</i> larvaları	15
Şekil 4.1. Azadirachtinin 0.00, 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml konsantrasyonlarını içeren besinin <i>G. mellonella</i> larvalarında protein yüzdesine etkileri.....	21
Şekil 4.2. Azadirachtinin 0.00, 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml konsantrasyonlarını içeren besinin <i>G. mellonella</i> larvalarında birey başına düşen total protein miktarına etkileri.....	22
Şekil 4.3. Azadirachtinin 0.00, 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml konsantrasyonlarını içeren besinin <i>G. mellonella</i> larvalarında birey başına düşen yüzde glikojen miktarına etkileri.....	23
Şekil 4.4. Azadirachtinin 0.00, 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml konsantrasyonlarını içeren besinin <i>G. mellonella</i> larvalarında birey başına düşen total glikojen miktarına etkileri.....	24

1. GİRİŞ

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 savaş ve doğal organik insektisitlerin kullanılması yönünde artmıştır (Miller ve Uetz, 1998). Böceklerde, sentetik insektisitlere karşı gelişen dayanıklılığın dölden döle aktarılması da bu olumsuz etkiyi arttırmaktadır.

Böcek direnci konusunda araştırmacılar tarafından en kabul gören tanım, Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) aittir. WHO'nun böcek ilacı uzmanlar komitesi, 1957'de, böcek ilaçlarına karşı geliştirilen böcek direncini "bir türün normal bir popülasyonundaki bireylerin çoğunu öldürdüğü kanıtlanan bir böcek ilacı dozunu, aynı böceğin diğer bir popülasyonunun tolere etme yeteneğinin gelişmesi" şeklinde tanımlamıştır. Yapılan çalışmalara göre de birçok Arthropoda türünün, insektisitlere karşı direnç gösterdiği kanıtlanmıştır (Plapp, 1984). İnsektisit direncinin evrimi zararlı böcek popülasyonlarının kontrolü açısından önemli bir sorun oluşturmaktadır.

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 kullanırlardı. Oysa, 20. yüzyılda, zarar verici böceklerden, kenelerden ve ev tozu akarlarından korunmak için doğal insektisitlerin yerini sentetik insektisitler almıştır (Coats, 1994).

İnsektisitlerin birçoğu sinir sistemini etkiler. Bu nedenle belli oranlardaki insektisitlerin ölüm oranını etkilemesinden çok böcek davranışına etkili olması şaşırtıcı değildir (Matsumura, 1985 ; Narahashi, 1976.).

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 insektisitin biyolojik kontrolde etken olduğunun bulunmasında ve yıkıcı etkilerinin

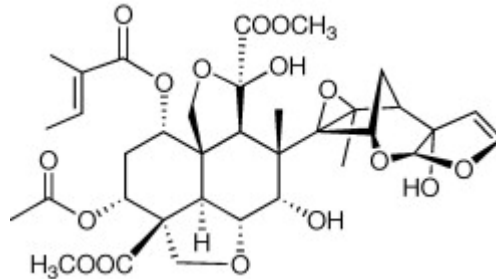
neler olduğunu teşhis etmede kullanılmaktadır (Schneider ve ark, 2004). Bütün bu insektisitler çevreye zarar vermemelerinden, çabuk bozulmalarından, insanlara karşı düşük toksik etkilerinden ve düşük dozlarda kullanılmalarından dolayı geniş spektrumlu pestisitlere nazaran daha güvenli bir alternatif olarak göz önünde tutulmaktadır (Liu ve ark, 2000). Doğal insektisitlerin en önemli avantajları, nemde, güneş ışığında ve rüzgarlı hava koşullarında çok hızlı parçalanmalarındadır. 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, verimliliği azaltan veya arttıran etkilere sahiptir (Takada ve ark, 2001). Ayrıca gelişim oranı (Willrich ve Boethel, 2001), cinsiyet oranında değişiklik, diyapoz ve parazitoidlerle birlikte morfolojide direkt, konak fizyolojisine ise dolaylı olarak etki göstermektedir (Croft, 1990).

Biyopestisitler, US-EPA (United States Environmental Protection Agency)'nın yapmış olduğu sınıflandırmada; mikrobiyal pestisitler, bitki pestisitleri ve biyokimyasal pestisitler olmak üzere 3 sınıfa ayrılır. Biyopestisitler, geleneksel pestisitlerden daha az zararlıdır. Bugün, bitkisel kökenli doğal insektisitler dünya insektisit pazarının %1'ini oluşturmakta ve organik tarıma yönelimin artması nedeniyle yıllık satışlar her sene yaklaşık %10-15 oranında artış göstermektedir. Buna karşılık birçok bitki türünün insektisidal özelliği olmasına rağmen bitkilerden çok az miktarlarda pestisit ürünleri elde edilmekte, ve bu ürünler genellikle gelişmiş ülkelerde kullanılmaktadır (Isman,1997).

Söz konusu doğal insektisitlerden en önemlisi ve en çok kullanılanı Neem ağacı olarak bilinen *Azadirachta indica* Juss. (Meliaceae)'dan elde edilen Azadirachtin etkili maddesidir. Azadirachtin, ilk olarak Butterworth ve Morgan (1971) tarafından izole edilmiş doğal bir insektisittir. Geçmiş 20 yıl boyunca birçok bitki çeşidi arasında yapılan çalışmalarda azadirachtin tüm dünyada entomolojistlerin ve bitki kimyacılarının ilgisini çekmiştir (Schmutterer, 1990). Meliaceae familyasına ait *Melia azedarach* ve *Azadirachta indica* türlerinde izole edilen kimyasallar, son zamanlarda entomolojistler tarafından böceklerle mücadelede etkili olduklarından dolayı dikkatle incelenmektedir (Lin-Er ve ark., 2008). Bu etki, böceklerde beslenmeyi önlemesi ile limonoidlerin varlığına (Huang ve ark., 1994 ; Cespedes ve

ark, 2000), bunun yanı sıra bitki ile beslenen böceklerin temel biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonlarında toksik engellemeye neden olduğu sonucuna bağlanabilir (Brattsten, 1983). Tesbih veya şemsiye ağacı olarak bilinen *M. azedarach*, Hindistan ve Çin’de doğal olarak bulunmaktadır. Ülkemizde ise İzmir, Adana ve Hatay yöresinde kültüre alınarak park ve bahçelerde yetiştirilmektedir (Davis, 1975). *M. azedarach* ve *A. indica* içerdiği benzer bileşenleri ile zararlılarla mücadelede aynı etkiyi göstermektedir (Oelrichs ve ark, 1983).

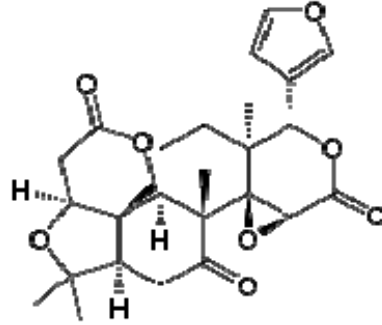
Meliaceae familyasının bir diğer üyesi olan neem ağacı ise (*Azadirachta indica* Juss.) genellikle Asya’nın tropikal bölgelerinde, çoğunlukla Hindistan’da yetişir. Yaprak dökmeyen, boyu 25 m’ye ulaşabilen, hızlı büyüyen ve kurak bölgelerde yetişebilen, fakir, sıg ve tuzlu topraklara toleranslıdır. Meyveler, böcekleri farklı şekillerde etkileyen en önemli bitki kısımlarıdır (Schmutterer, 1990). Bu familyaya ait bitkilerin ekstraktları böceklerde beslenmeyi önlemek, uzaklaştırmak ve büyüme mekanizmasını değiştirmek için kullanılmaktadır (Reed ve ark, 1982). Bu amaç için en çok kullanılan türlerden olan *Azadirachta indica* A. Juss, ucuz olmasından dolayı az gelişmiş ülkelerde böceklerle mücadelede güvenlidir (Schmutterer, 1990 ; Rice, 1993).



Şekil 1.1. Azadirachtinin kimyasal yapısı

Neemden elde edilebilen birçok aktif biyolojik bileşikler, triterpenoidleri, fenolik bileşikler, karotenoidleri, steroidleri ve ketonları içermektedir. Azadirachtin, steroid özelliğinde bir tetranortriterpenoidtir (limonoid). Tertatriterpenoid azadirachtin neem tohumlarında oldukça fazla bulunmasından dolayı en etkili pestisit olarak kabul edilmiştir. Limonoidler, bitkisel kimyasallardır, narenciye meyvelerinde, Rutaceae ve Meliaceae familyalarına ait türlerde bol bulunmaktadır. Azadirachtin, azadirachtin-A’dan azadirachtin-G’ye kadar 7 farklı izomerin

karışımından oluşmuştur. Azadirachtin-A, yüksek miktarlarda bulunmakta, azadirachtin-E ise en etkili böcek büyüme düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir (Verkerk ve Wright, 1993).



Şekil 1.2. Limonoid çeşitlerinden limoninin kimyasal yapısı

Ayrıca antiviral, antifungal, antibakteryal, tümör oluşumunu engelleyici ve sıtmayı önleyici etkilerinden dolayı incelenmektedir. Ondan fazla limonoid allelokimyasalları neem ağacının çeşitli bölgelerinden 9 temel grup halinde viz, azadiron (yağından), amoorastatin (taze yapraklarından), vepinin (tohum yağından), vilasinin (yeşil yapraklarından), gedunins (tohum yağından ve ağaç kabuğundan), nimbin (yapraklarından ve tohumundan), nimbolin (çekirdeğinden), salanin (taze yapraklarından ve tohumundan) ve azadirachtin (neem tohumundan) izole edilmiştir. (Kraus, 2002). Bitkiden izole edilen bütün bu bileşenlerin içinden azadirachtin en toksik alkaloid olan yüksek oksijenli C-secomeliacindir (Ascher, 1981).



Şekil 1.3. *Azadirachta indica*'nın ekstrakt elde edilen kısımları

Neem ağacının yaprak veya kabuklarının kurutulmasıyla toz halinde meyve veya tohumdan terpenoid yapıda olan azadirachtin ekstrakte edilerek, tohum veya tohum kabuğundan elde edilen yağ, çeşitli şekillerde zararlılarla mücadelede kullanılmaktadır (Schmutterer, 1995). Ülkemizde ise 2000 yılından bu yana Neem Azal-T/S (Verim) ticari ismiyle (Anonymous, 2002) birçok bilimsel çalışmalarda kullanılmaktadır.

Azadirachtin bir Ecdyson (deri değiştirme hormonu) antagonistidir. Böceklerin gömlek değiştirme mekanizmasının bozulmasına yol açar. Ecdysteroid hormonu ve ecdysis-uyarıcı hormon deri değiştirme hazırlığı ve deri değiştirme zamanını düzenlemektedir. Her evreden diğerine geçişte deri değişimi (ecdysis) görülür. Beyin içi salgı bezlerinden salgılanan aktivasyon hormonu tarafından harekete geçirilen metamorfoz evreleri, diğer iki bezden salgılanan juvenil hormonu ve ecdyson hormonlarının denetimi altında devam eder (Malczewska ve ark., 1988).

İnsan, hayvan ve çevre açısından son derece güvenilir bir madde olduğu için organik tarım yapılabilecek ürünler arasında yer almaktadır. Azadirachtinin böceklerde uzaklaştırıcı, beslenmeyi önleyici, üremeyi, yumurtlamayı ve verimliliği engellemek gibi etkilerinin yanı sıra, uçuş kabiliyetinin kaybolmasına neden olduğu da bilinmektedir (Jacobson, 1989 ; Ascher, 1993 ; Schmutterer, 1995 ; Awad ve ark, 1998). Böcekler ya da konak bitkiler azadirachtin veya neem alkaloid ekstraktları ile muamele edildiğinde 30 türde ovipozisyonu önleyici ve 70'in üzerinde türde büyümeyi ve üremeyi kısıtlayıcı etkisi olduğu görülmüştür. Gelişim, deri değiştirme ve üreme gibi fizyolojik etkileri birçok türde benzerlik gösterir (Mordue ve Blackwell, 1993). Böceklerde yapılan bazı çalışmalarda, sinir ve endokrin sisteme etki ederek juvenil hormonun sentezini engellediği de ortaya çıkmıştır (Howatt, 1994). Ayrıca azadirachtinin birçok böcek türünde metamorfozu değişikliğe uğrattığı da gözlenmiştir (Schmutterer, 1997 ; Tang ve ark, 2002). Azadirachtinin etki şekilleri (i) caydırıcı etkisi ve diğer kemoreseptörlerin beslenmeyi önleyici sonuçlarında (ii) deri değiştirme ve morfogenetik peptid hormonu salınımının durdurulmasında (iii) böceklerin birçok dokusunda etkilidir (Mordue ve Blackwell, 1993).

Azadirachtin, laboratuvar koşullarında belirlenen en önemli böcek büyüme düzenleyicilerinden (IGR) biridir (Schmutterer, 1997). Böcek büyüme

düzenleyicileri, böceklerin büyüme ve gelişmesi için etkili olan sistemlerin düzenlenmesini önleyerek etkiler. Büyüme düzenleyici etkisi olan insektisitler, biyokimyasal yollarla büyüme ve gelişme için gerekli olan sistemleri düzenleyerek veya önleyerek böceklerde etkili olurlar. Bu maddeler gelişimde etkili olan hormonların çalışmasına etki ederek böcekleri öldürürler (Tunaz ve Uygun, 2003).

Lepidoptera takımı, diğer organizmalar arasında neem özütüne karşı en çok hassas olan grubu oluşturur (Schmutterer ve Singh, 1995). Kültür bitkilerinde önemli zarar yapan başta Lepidoptera ve Orthoptera olmak üzere Homoptera, Heteroptera, Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, ve Hymenoptera takımına bağlı bir çok türde bu etkiler, sayısız çalışmalar da araştırılmıştır (Kısmalı ve Madanlar, 1988 ; Jacobson, 1989 ; Koul ve ark, 1990 ; Schmutterer, 1990 ; Ascher, 1993 ; Durmuşoğlu ve ark, 2003).

Bazı sentetik kimyasal insektistler, bitkisel insektisitler ve biyopestisitler böceklerde lipid, karbohidrat ve protein seviyelerini değiştirmektedir. (Badhiya ve Hazarika, 1996 ; Barwal ve Karla, 2001 ; Seyoum ve ark, 2002 ; Vijayaraghauon ve Chitra, 2002 ; Wang ve ark, 2005). Böceklerin doğal düşmanlarındaki bitkisel ürünler tarafından etkilenen biyokimyasal değişimler hakkındaki bilgiler ve literatürler yetersizdir (Abdul Razak ve Sivasubramanian, 2007).

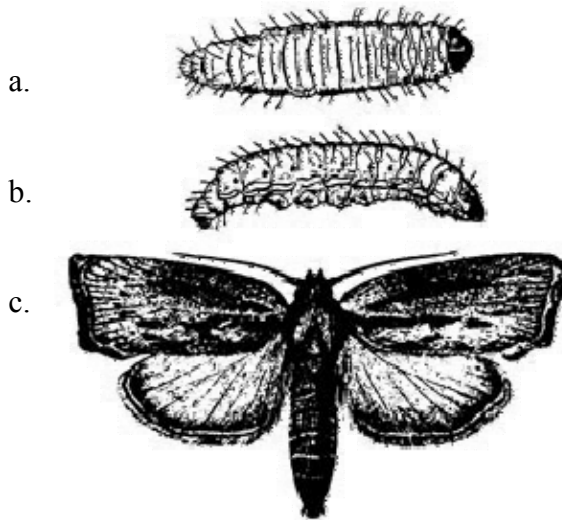
Çalışmada kullanılan *Galleria mellonella* dişisinin boyu 8-13.5 mm, ortalama 10.6 mm, kanat açıklığı 26-32 mm, erkek erginin boyu ise 7.5-12 mm, ortalama 9.3 mm, kanat açıklığı 21-28 mm'dir. Dişi ergin yaşadığı müddetçe ortalama 280 adet yumurta bırakır. Yumurtaların açılımı 25 °C'de 5-9 gün arasındadır. Larvalar 8 evrede gelişimini tamamlar ve son evrede beslenmeden kesilir, önce prepupa daha sonra da pupa haline dönüşür. Erginleri kahverengi oldukça büyüktür ve hava koşullarına bağlı olarak ortalama 2-6 hafta yaşar. *G. mellonella*, tüm dünyada arıcıların sıkıntıya düştükleri önemli bir zararlı olarak görülmektedir (Sanford, 2003).

Büyük bal mumu güvesinin ergin, pupa ve yumurta evresindeki bireyleri peteklerde tahribata neden olmazken, larvaları önemli ölçüde zararlı olmaktadır. Peteklerin iç kısımlarında tüneller açarak peteğe zarar vermekte ve tekrar kullanılma ihtimalini yok etmektedir (Akyol ve ark., 2009).



Şekil 1.4. Bal peteklerine zarar veren *G. mellonella* (Linnaeus)

Arıcılar *G. mellonella*'yı yok etmek için çeşitli kimyasal mücadele (alüminyum fosfit, metil bromid, etilen dibromid, naftalin, kükürt) yöntemleri kullanmakta, bu da çevreye ve insan sağlığına zarar vermektedir. Ayrıca fiziksel (soğuk-sıcak) uygulamalar ve biyoinsektistler (*Bacillus thuringiensis*) de kullanılmaktadır (Akyol ve Korkmaz, 2008). Zararlıya karşı kullanılan bu yöntemlerin çoğu etkili olmakla birlikte, kullanım olanaklarının kısıtlı ve ekonomik olmaması veya kalıntı problemi nedeniyle mücadele olanaklarını sınırlamaktadır.



Şekil 1.5. a ve b. Larva c. Ergin *G. mellonella*

G. mellonella, laboratuvar şartlarında kolayca kültüre alınabilen ve birçok parazitoid türü için konak görevi gören bir türdür. Bu amaçla zararlının larvalarının, NeemAzal T/S'nin farklı konsantrasyonlarda hazırlanan besinlerle beslenmesiyle oluşan larvaların sentezlediği, glikojen ve protein miktarına etkileri araştırıldı.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Karnavar (1987) tarafından azadirachtinin böceklerde beslenmeye ve üremeye etkisinin incelendiği çalışmada, azadirachtinin duyu sinirlerine ve bununla birlikte besin alımına engel olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, azadirachtinin endokrin sisteme, morfogenez, yumurta gelişimine, verimliliğe, yumurta açılım süresine ve deri değiştirmeye olumsuz yönde etki ettiği tespit edilmiştir.

Malczewska ve ark. (1988), azadirachtinin, gelişmede juvenil hormon ve ecdysteroid oranlarının *G. mellonella* larvalarına etkisi üzerine çalışmış, azadirachtinin *G. mellonella* larvalarının, son larval evresinde, düşük sıcaklığın sebep olduğu hızlı deri değiştirmeye etkili olduğu gözlenmiştir. Azadirachtin ayrıca larvada morfolojik bozukluklar ve pupa evresinde ölümlere neden olmaktadır.

Nath ve ark. (1997) yapmış olduğu çalışmada ipek böceği *Bombyx mori*'nin vücut yağına ve protein metabolizmasına organofosforlu insektisitlerden fenitrothion ve ethionun toksik etkisine bakmış ve sonuç olarak total protein miktarını azalttığını tespit etmişlerdir.

Martinez ve Van Emden (1999), yapmış oldukları çalışmada sentetik besine eklenen sublethal dozlardaki azadirachtinin, *Spodoptera littoralis*'e uygulandıktan sonra besin alımında ve gelişmede azalma tespit etmişler ve bu etkilerin larvaların normal besine alınmasından sonrada devam ettiğini gözlemişlerdir.

Ventura ve Ito (1999), tarafından yapılan çalışmada, *Melia azedarach* ekstraktlarının *Diabrotica speciosa* (Genn.) üzerinde beslenmeyi önleyici etkisi araştırılmıştır. *Melia azedarach* türünün meyve ve çiçeklerinden elde edilen ekstraktların daha çok etkili olduğu, yapraklarından elde edilen ekstraktların ise en az etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Gövdesinden elde edilen ekstraktlar ise bu ikisi arasında etki göstermektedir. Bu sonuca göre, farklı dozlarda çiçekten elde edilen ekstraktlar fasulye yapraklarına püskürtülmüş ve *D. speciosa*'da etkisi gözlemlenmiştir. İki gün sonra beslenme tamamen durmuştur. Daha sonra fasulye bitkileri güneş ışığına maruz bırakılıp, çiçek ekstraktları püskürtüldüğü zaman böceklerin beslenmesinin giderek artmaya başladığı gözlenmiştir. *Melia azedarach*

ekstraktlarının beslenmeyi önleyici etkisinin güneş ışığının olduğu koşullardaki eksikliği nedeniyle, bu türün sulu ekstraktlarının kullanılmasına gerek duyulmadığı tespit edilmiştir.

Adel ve Sehnal (2000), azadirachtinin edysteroid hormonuyla benzer özellikleri olan RH-2485'in etkisini geliştirmesiyle ilgili yapılan çalışmada, RH-2485 pestisit türünün *Spodoptera littoralis*'de 2. ve 4. larval evrede 1 ppm, 6. larval evrede 0.001 ppm konsantrasyonlarında besine eklendiğinde, deri değiştirme sırasında ölümlerin meydana geldiği, 10 kez düşük dozda ise larvaların görünüşünde anormallik olmamasına rağmen gelişmenin sınırlandığı ve gereğinden fazla deri değiştirme meydana geldiği gözlenmiştir. Ayrıca çıkan erginlerde verimliliğin azalmasına neden olmuştur. 10 ve 1000 ppm suneem yağı ile beslenen larvalarda beslenmeden kesilme ya da azalma davranışları görülmüş, deri değiştirme gecikmiş, larva ve pupa evrelerinde ölümlere sebep olmuştur. Suneem yağı ile RH-2485 birlikte verildiği zaman larva döneminde 3 kere fazla deri değiştirme meydana gelmiştir.

Weathersbee ve McKenzie (2005), yaptığı çalışmada neem biyopestisitlerinin narenciye zararlısı olan *Diaphorina citri*'nin uzaklaştırıcı etkisine, ölüm oranına, yumurta verimine ve gelişmeye etkisinin araştırıldığı çalışmada, 11.3, 22.5, 45, 90, 180 ppm dozlarında azadirachtinin erginlerde ölüm oranına etkili olmadığı, sadece uzaklaştırıcı etkisi olduğu saptanmıştır. Ayrıca nimflere düşük konsantrasyonlar da bile etkili olduğu saptanmıştır. 22.5 ppm konsantrasyonlarında uygulamadan 4 gün sonra deri değiştirme gözlenmemiş ve 7 gün içinde bütün nimfler ölmüştür.

Riba ve ark. (2003) tarafından azadirachtinin böcek büyüme düzenleyici olarak etkisi *Nezara viridula* L.'de 5.evredeki nimfe farklı dozlarda azadirachtin uygulanarak değerlendirilmiştir. Her böceğe 200-500 ng dozlarında uygulamadan sonra ergin döneme geçerken deri değiştirme sırasında tüm bireyler ölmüş ve sağ kalanlar değişik nimf karakterleri göstererek bir süre sonra ölmüşlerdir. Erginlerde verimlilik 5.evrede nimflere 20 ng azadirachtin uygulanarak bu nimflerle beslenen böceklerde dikkat çekecek şekilde üremede azalma görülmüştür. 1 µg/cm² azadirachtin yumurta bırakılacak yüzeye uygulandıktan sonra uzaklaştırıcı etki yaptığı gözlenmiştir.

Nath (2002) yapmış olduğu bir diğer çalışmada, *Bombyx mori*'nin vücut yağındaki glikojen miktarına, fenitrothion ve ethionun toksik etkisine de bakmış, 5. larval evrede organofosforlu insektistlere maruz bırakılan *Bombyx mori*'nin vücut yağındaki glikojen miktarında azalma tespit edilmiştir.

Carpinella ve ark. (2003), *Melia azedarach*'ın yapısında bulunan limonoidlerin böceklerle mücadele için, beslenmeyi önleyici etkisini ve insektisitlerin özelliklerini araştırmıştır. Üç farklı ordodan, 17 tür ile yaptıkları çalışmada 16 tür ekstrakt ile muamele edildiği zaman çok az besin tüketebildiği tespit edilmiştir.

Huang ve ark. (2004), *Spodoptera litura* (F.)'da azadirachtinin protein metabolizmasına etkisini araştırmışlar, pupa evresine kadar 1 ppm azadirachtin ile muamele edilen besin ile beslenerek, 48 günlük pupada total protein bileşenleri ölçülmüştür. Sonuç olarak, total protein miktarında azalma tespit edilmiştir.

Blaney ve ark. (2004), azadirachtin, azadirachtin türevlerinin ve limonoidlerin *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera frugiperda*, *Heliothis virescens* ve *Heliothis armigera* türlerinde beslenmeyi önleyici etkilerinin araştırıldığı deneylerde, bileşiklerden en çok etkilenen türün *S. littoralis* olduğu ve *S. frugiperda*, *H. virescens* ve *H. armigera* türlerinin ise daha az etkilendiği sonucuna varmıştır.

Wandscheer ve ark. (2004), yaptığı çalışmada *M. azedarach* ve neem ağacı olarak bilinen *Azadirachta indica*'nin olgun meyvelerinden elde edilen ethanolic ekstraktlar *Aedes aegypti*'nin 3. ve 4. larval evredeki larvalar üzerinde denenmiş ve lethal dozlarda 25 °C'de ölüm oranlarının *M. azedarach* ekstraktlarında daha fazla olduğu, 30 °C'de *A. indica* ekstraktlarının biraz daha fazla öldürücü etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Huang ve ark. (2005), *Ostriana furnacolis* Guence üzerine yaptığı çalışmada azadirachtinin canlı faaliyetlerine ve protein miktarına etkisi araştırılmış ve bu araştırma sonucunda, azadirachtinin toksik etki yaparak büyümeyi durdurduğu bulunmuştur. Ayrıca pupa oluşturma süresini geciktirdiği, birçok anormal larva, pupa ve ergin böceklerin oluştuğu tespit edilmiştir.

Erdoğan ve Toros (2005)'un *M. azedarach* L.'nin aseton, etanol ve metanolle elde edilen ekstraktlarının patates böceği (*Leptinotarsa decemlineata* Say) larvalarına

etkisi gözlenmiş ve konsantrasyon artışına bağlı olarak larva ve pupa dönemi süresini uzattığı, larva ve pupa dönemlerinde yüksek oranlarda ölüme neden olduğu, anormal görümlü bireylerin meydana geldiği, pupadan çıkan ergin sayısının azaldığı ve pupadan çıkan sağlıklı dişilerin daha az yumurta bıraktığı sonucuna varılmıştır.

Kıvan (2005), *Eurygaster integriceps* ile yaptığı çalışmada neem insektisit ile uygulama yapıldıktan sonra erginlerde ölüm oranına az da olsa bir etkinin görüldüğü, birinci larval evrede ise hiçbir etkinin görülmediği kaydedilmiştir. Yedi gün sonra ölüm oranında sırasıyla yetişkinlerde ve larvalarda %44 ve %51.9 oranında değişiklik gözlenmiştir.

Nathan ve ark. (2005) neem limonoidlerinden olan azadirachtin, salannin, deacetylgedunin, gedunin, 17-hydroxyazadiradione ve deacetylnimbinin *Anopheles stephensi* Liston'da larva, pupa ve yetişkin evrelerinde yumurtlamayı önleyici etkisinin araştırıldığı deneylerde, azadirachtin, salannin ve deacetylgedun'in yüksek biyoaktivite gösterirken, diğer limonoidler düşük biyoaktivite göstermiştir. Azadirachtin 1 ppm dozunda en çok ölüm oranını (yaklaşık % 100) gösteren limonoid türü olarak tespit edilmiştir.

Sak ve ark. (2006), *Pimpla turionellae*'nin toplam vücut ağırlığına, glikojen protein ve lipid bileşenlerine cypermethrinin etkisine baktıkları deneyde, *P. turionella* tarafından parazitlenen *G. mellonella*'nın besinine çeşitli dozlarda cypermethrin eklenmiş ve sonuç olarak cypetmethrinin glikojen, lipid ve protein bileşenlerinde kontrole göre azalma olduğu tespit edilmiştir.

Abdul Razak ve Sivasubramanian (2007), *Cheilomenes sexmaculata* Fabricus ve *Chrysoperla caernea* Stephens ile yaptıkları deneyde üç bitkisel insektisit bu iki türün karbohidrat bileşenlerine etkisini araştırmıştır. *C. sexmaculata*'nın ergin erkeklerinde %3'lük neem yağı, karbohidrat bileşenlerinde %24.62'lik azalmaya neden olmuştur ve kontrole karşılaştırıldığında diğer bütün bitkisel yağlarda artış gözlenmiştir. Son larval evrede ise bütün bitkisel yağlar karbohidrat seviyesini azaltmıştır. En çok azalma %44.31 - %59.31 neem yağında tespit edilmiştir. *C. carnea*'nın dişilerinde ise, bütün bitkisel yağlar kontrole göre %8.64'lük azalma göstermiştir.

Gopal ve ark. (2007) yaptığı çalışmada, %10'luk azadirachtin granüllerinin topraktaki bakteri, actinomycetes, mantar, azotobakter ve nitrifikasyon bakterilerinin popülasyonunu durdurduğu ve yararlı mikrobiyal türleri de azalttığı tesbit edilmiştir.

Göçmen ve ark. (2007), farklı azadirachtin dozlarının *Bemisia tabaci* (Genn.)'nin değişik gelişme dönemlerine karşı etkisini incelemiştir. Yapılan bu çalışmada azadirachtinin, *B. tabaci*'nin yumurta açılımını etkilemediği, 10, 20, 40 ve 60 ppm dozların ise larvaların gelişmesine olumsuz etki yaptığı ve doz aşımına bağlı olarak uzaklaştırıcı etkinin arttığı görülmüştür.

Rhabbe ve ark. (2008a), *Plodia interpunctella* ile yaptığı çalışmada azadirachtinin gelişime, enerji rezervlerine ve α -amilaz aktivitesine etkisini incelemiştir. Yapılan biyokimyasal çalışmalarda azadirachtinin protein, glikojen ve lipid miktarlarında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, larval ve pupal evrelerde ölümlere sebep olmuş, *P. interpunctella*' da ağırlık kaybı gözlenmiştir.

Etebari ve ark. (2007), *Bombyx mori* larvalarını 0, 1, 10, 75, 150, 500 ppm dozlarında pyriproxyfen bulaştırılmış dut yaprakları ile beslemiş ve daha sonra hemolenfinde glukoz, üre, ürik asit, kolesterol, total protein, alanine aminotransferaz, aspartate aminotransferaz ve alkaline fosfatase gibi biyokimyasal değişiklikleri ölçülmüştür. Sonuçlara göre, 24 saat tüm biyokimyasal bileşenlerde azalma meydana gelmiştir.

Rharrabe ve ark. (2007), yaptığı çalışmada *Plodia interpunctella* larvalarının 4. evrede harmaline etkisi araştırılmış, harmalinin larvada ağırlık kaybına, protein ve glikojen bileşenlerinin azalmasına ve α -amilaz aktivitesinin durmasına neden olduğu saptanmıştır. Larvadan pupa evresine ve ergin evrelere geçişte gelişmeyi durdurduğu ve ölümlere sebep olduğu tespit edilmiştir.

Daas ve ark. (2007) yaptığı çalışmada ecdysteroid hormonuyla benzer etkisi olan bisacylhydrazine türü kimyasal insektisitlerden RH-0345 ve RH-2485'in *Eupolybothrus nudicornis*'de büyümeye, hemolenf ve yumurtalıktaki protein miktarına etkisi araştırılmıştır. Sublethal dozlarda toplam vücut ve yumurtalık ağırlığında kontrole göre azalma görülmüştür. Ayrıca hemolenf sıvısında total protein konsantrasyonunun da azaldığı tespit edilmiştir.

Rharrabe ve ark. (2008b), 20-hydroxyecdysoneun *Plodia interpunctella*'da gelişmeye ve embriyodaki sindirim kanalının bir bölümünün (midgut hücreleri) epitel hücrelerine etkisinin araştırıldığı çalışmada, larvada ağırlık kaybı ve protein, lipid ve glikojen bileşenlerinde azalma tespit edilmiştir.

Ünal ve Akkuzu (2009), neem ağacından elde edilen doğal ekstrakt olan azadirachtinin *Thaumatococcus pinnatifidus* (Schiff.) larvalarının büyümesi ve beslenme aktivitesi üzerine yapılan deneyde azadirachtinin *T. pinnatifidus* larvalarına karşı etki gösterdiği, larvanın gelişmesini önlediği ve beslenme aktivitesini azalttığı gözlemlenmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Stok Kültürün Devamlılığı , Beslenmesi ve Deney Böceklerinin Elde Edilmesi

Çalışmada peteklere zarar veren Lepidoptera ordosuna ait *Galleria mellonella* adlı tür kullanıldı. *G. mellonella* pupaları 28 ± 2  C sıcaklık ve $\%70\pm5$ bağıl neme sahip laboratuvar koşullarında Bronksil (1961) tarafından belirlenmiş olan yarı sentetik besin kültüründe yetiştirilen larvalardan elde edildi. Stok kültürün devamlılığı, besin konulan kavanozların içerisine bırakılan *G. mellonella* ergin dişi ve erkek böceklerin çiftleşmesi sonucunda dişilerin bıraktığı yumurtaların açılmasıyla sağlandı.



şekil 3.1. Bronksil (1961) tarafından hazırlanan bal, petek, kepek, gliserin ve saf sudan oluşan yarı sentetik besini içerisindeki *G. mellonella* larvaları

3.2. Deney Besinlerinin Hazırlanması

Deneyde kullanılan *G. mellonella* larvalarının beslenmesi için kepek, gliserin, bal, saf su ve petekten oluşan besin homojen hale gelinceye kadar karıştırıldı. Daha sonra hazırlanan besin biri kontrol olacak şekilde beş ayrı kaba aktarılarak içerisine suda     nm ř $\%10$ 'luk azadirachtin (NeemAzal T/S ticari formu) 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml/100 g oranlarında ilave edildi.

Çizelge 3.1. *G. mellonella* larvalarını beslemek için hazırlanan besinlerin bileşimi

Besin bileşeni	Bal	Petek	Gliserin	Kepek	Saf su	Azadirachtin
Kontrol	9.7 g	3.5 g	22 g	58 g	7 ml	-
1 ml azadirachtin	9.7 g	3.5 g	22 g	58 g	6 ml	1 ml
2 ml azadirachtin	9.7 g	3.5 g	22 g	58 g	5 ml	2 ml
4 ml azadirachtin	9.7 g	3.5 g	22 g	58 g	3 ml	4 ml
6 ml azadirachtin	9.7 g	3.5 g	22 g	58 g	1 ml	6 ml

3.3. Deneyde Kullanılan Larvaların Elde Edilmesi

Çizelge 3.1’de verilen besinler hazırlandıktan sonra her bir kap içerisine 2. veya 3. evredeki *G. mellonella* larvalarından 10’ar adet konuldu. Yaklaşık 10-15 günlük yaşam süresi sonunda gelişim evrelerini deney besinlerinde tamamlayan larvalar prepup evresindeyken (7.evre), içerisinde besin ortamı bulunan kaplardan 4’er tane alınarak, yaş ağırlıkları saptandı. Daha sonra larvalar 5 ml %10’luk TCA (triklorasetik asit) çözeltisi içeren deney tüplerine aktarılarak ağızları kapatılıp homojenizasyon işlemine kadar +4°C’de buzdolabında muhafaza edildi.

3.4. Verilerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi

Besin içerisine farklı oranlarda konulan azadirachtinin *G. mellonella* larvalarında total glikojen ve total protein miktarına olan etkilerinin araştırılması için aşağıdaki çalışmalar yapılmıştır.

3.4.1. Glikojen ve Protein Tespiti

3.4.1.1. Protein ve Glikojen Miktarının Tespiti İçin Gerekli Çözeltilerin Hazırlanması

Protein özütlerinin okunması sırasında kullanılan Kantitatif Biüret çözeltisini hazırlamak için 3 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ alınarak, üzerine 9 g $\text{CH}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (sodyum potasyum tartarat) ilave edildi ve 500 ml 0.2 N NaOH içinde çözüldü. Çözeltinin içindeki maddelerin iyice homojen olması sağlandıktan sonra, çözeltiliye 5 g KI ilave

edildi. Daha sonra 0.2 N NaOH ile 1 lt'ye tamamlandı (Plummer, 1971). Glikojen özütlerinin okunması sırasında kullanılan Antron çözeltisi ise 2 g antronun %0.2'lik H₂SO₄ ile 1 lt'ye tamamlanmasıyla elde edildi (Plummer, 1971).

3.4.1.2. Glikojen Özütlerinin Hazırlanması

G. mellonella örneklerinden glikojen özütlerinin hazırlanması için Roe ve ark. (1961) tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı. Deney periyodu sonunda yaş ağırlıkları alınan ve daha sonra 4°C'de TCA içerisinde tüplerde bekletilen böcekler Ultra Turrax T25 marka homojenizatör ile 24.000 devir/dakika da 5 dakika süreyle homojenize edildi. Elde edilen homojenat santrifüj tüplerine aktararak 3500 devir/dakika da 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonunda süpernatant kısım başka iki tüpe aktararak glikojenin çöktürülmesi için üzerlerine çözeltinin iki katı kadar %96'lık etil alkol ilave edildi. (santrifüj tüpünde kalan prespitant kısım üzerine 5 ml soğuk TCA ilave edilerek protein özütlemesi yapılncaya kadar 4°C'de buzdolabında saklandı). TCA ile muamelenin amacı glikojenin materyalden ayrılmasını sağlamaktır. Alkol eklenmiş çözeltilerdeki glikojenin çöktürülmesini kolaylaştırmak için tüpler 37°C'lik ısıda etüvde bir gece bekletildi. Bu süre sonunda tüpler 3500 devir/dakikada 30 dakika tekrar santrifüj edildi ve süpernatant kısım atıldı. Daha sonra tüpler 37°C'deki etüve konularak içerisindeki alkolün tamamen buharlaşması sağlandı. Elde edilen glikojen özütleri 4°C'de glikojen miktarı tayinleri yapılncaya kadar saklandı.

3.4.1.3. Protein Özütlerinin Hazırlanması

Glikojen özütlemesinde elde edilen %10'luk TCA içerisindeki protein içerikli çözelti 3500 devir/dakikada 10 dakika santrifüjlendi ve tekrar süpernatant uzaklaştırıldı. Tüpte kalan kısmın üzerine 5.00 ml %96'lık etil alkol ilave edilerek tekrar 3500 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edildi. Üç defa tekrarlanan bu işlemin yapılmasındaki amaç lipidlerin uzaklaştırılmasıdır. Son santrifüjleme işleminden sonra protein içerikli çökelti, etüvde 37°C'de 24 saat süre ile bekletilip alkolün uçması sağlandı. Alkolü uzaklaştırılan çökelti ince bir spatül yardımıyla tüp

içerisinde dövülerek toz haline getirildi ve spektrofotometrede okununcaya kadar 4°C’de saklandı.

3.4.1.4. Total Glikojen Miktarının Saptanması

Glikojen miktarının saptanması için “Antron Testi” yöntemi uygulandı (Plummer, 1971). Önce mililitresi 0.1 g saf glikojen (Sigma G-8751) içeren bir stok çözeltisi hazırlandı ve bundan seyreltme yöntemi ile 0.025, 0.050, 0.075, 0.1, 0.125 mg/ml glikojen standardı çözeltileri elde edildi. Özütlenen glikojen 5.00 ml saf suda çözöldü. Bu çözeltiden tüpe 1.00 ml alındı ve üzerine 4.00 ml taze antron çözeltisi ilave edildikten sonra 10 dakika etüvde bekletildi. Süre sonunda örnekler 3500 devir/dakikada 5 dakika süreyle santrifüj edilerek tüp içeriğinde partiköl kalmaması sağlandı. Daha sonra örneklerin ışık absorbsiyon değeri spektrofotometrede 620 nm dalga boyunda okundu. Elde edilen absorbsiyon değeri verilerden hesaplanarak bulunan, $y=8.56x+0.2084$ regresyon denkleminde yerine konularak örneğin 1 ml içindeki glikojen miktarı mg cinsinden elde edildi. Bu değeri o serideki böcek sayısına bölünerek böcek başına düşen glikojen miktarı saptandı. Yaş ağırlığına göre böcek başına düşen glikojen oranı ise birey başına düşen glikojen miktarının 100 ile çarpımının birey başına düşen yaş ağırlığına bölünmesiyle elde edildi.

3.4.1.5. Total Protein Miktarının Saptanması

Protein miktar tayininde “Kantitatif Biüret Testi” (Plummer, 1971) yöntemi uygulandı. Önce glikojen tayininde olduğu gibi standart çözeltiler hazırlandı. Bunun için 100 ml’inde 1 gr albümin (Sigma; A-2153) içeren bir stok çözelti hazırlandı ve bu çözeltiden seyreltme yöntemi ile 0.01, 0.05, 0.10, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00 ve 10.00 mg/ml albümin içeren standart çözeltiler elde edildi. Protein içerikli özütlerin üzerine 2.00 ml saf su ilave edilerek çözönmeleri sağlandı. Bu çözeltiye 3.00 ml Kantitatif Biüret çözeltisi ilave edildi ve karışım etüvde 37°C’de 15 dakika bekletildi. Daha sonra örnekler 3500 devir/dakikada 5 dakika santrifüj edilerek partiköllerinden arındırıldı ve süpernatant kısım spektrofotometre kuvetlerine aktararak 540 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede okundu. Elde edilen absorbsiyon değeri verilerden hesaplanarak bulunan, $y=0.0827x+0.013$ regresyon

doğrusu denkleminde yerine konularak bir deney serisinin bir tekrarındaki böceklerin toplam protein miktarı elde edildi. Bu değer böcek sayısına bölünerek birey başına düşen protein miktarı saptandı. Yaş ağırlığına göre birey başına düşen protein oranı ise birey başına düşen protein miktarının 100 ile çarpımının yaş ağırlığına bölünmesiyle elde edildi.

3.4.2. Verilerin Değerlendirilmesi

Deneyler değişik zamanlarda üçer kez tekrar edildi. Bir deney serisinde elde edilen veriler kontrol besini ile karşılaştırılmak suretiyle değerlendirildi. Verilerin karşılaştırılmasında “Varyans Analiz” yöntemi, ortalamalar arası farkın önem kontrolünde ise Student Newman Keul’s (SNK) testi bilgisayarda SPSS 16.00 istatistik veri paketi kullanılarak uygulandı. Ortalamalar arası fark 0.05 olasılık seviyesinde “F” değerinden büyük olduğunda önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

G. mellonella larvalarının besininde farklı konsantrasyonlardaki (1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml/100g) azadirachtinin, total protein ve protein yüzdesi miktarlarına etkileri Çizelge 4.1, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2 de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı azadirachtin oranlarının *G. mellonella* larvalarının total protein ve protein yüzdesi miktarlarına etkileri

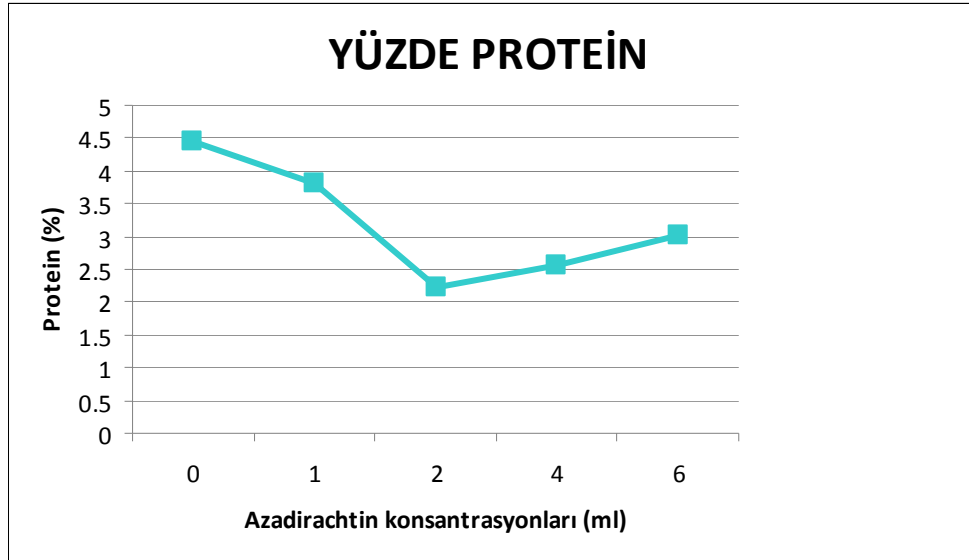
Azadirachtin (ml)	Yaş Ağırlık (mg)	Protein (%) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	Protein (mg) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
0.00**	163.3	4.48 $\pm$ 0.806 a	6.92 $\pm$ 0.252 a
1.00	185.57	3.81 $\pm$ 0.363 ab	5.56 $\pm$ 0.113 b
2.00	182.3	2.24 $\pm$ 0.185 b	4.11 $\pm$ 0.476 c
4.00	115.8	2.57 $\pm$ 0.256 b	2.91 $\pm$ 0.102 d
6.00	80.1	3.03 $\pm$ 0.261 ab	2.43 $\pm$ 0.123 d

* : SNK: a, b, c harfleri konsantrasyonlar arasındaki farkı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.
Aynı harfi içeren veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayırım yoktur.

$\bar{X} \pm s\bar{x}$: Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata

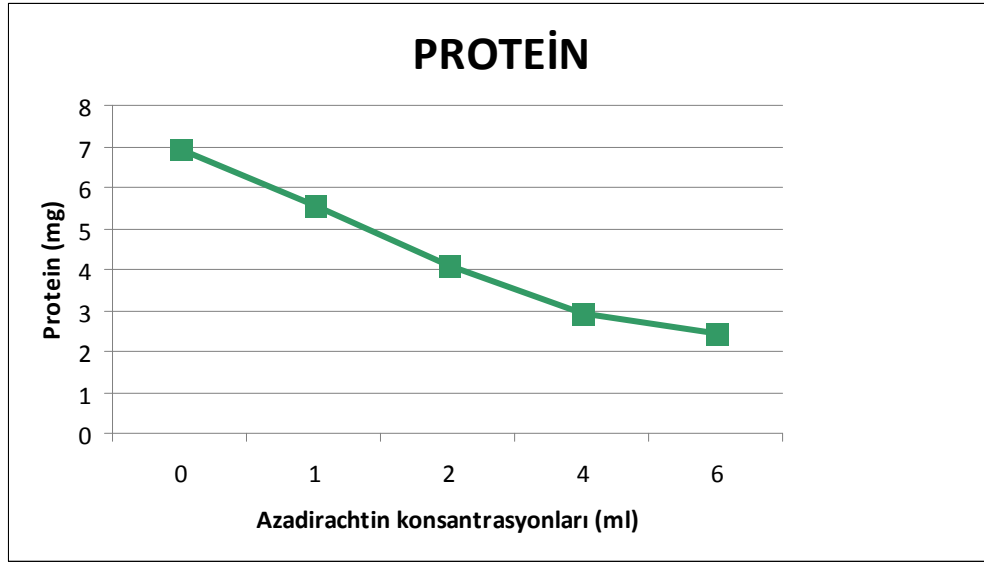
** : Kontrol

Deneyden elde edilen veriler incelendiğinde yüzde protein miktarı kontrol grubunda %4.48 iken besinin 2.00 ve 4.00 ml azadirachtin içermesi durumunda protein yüzdeleri önemli ölçüde azalmıştır. En düşük (1.00 ml) ve en yüksek (6.00 ml) azadirachtin konsantrasyonlarında kontrole göre gözlenen azalma istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Kontrole göre 1.00 ve 2.00 ml azadirachtin içeren gruplarda yüzde protein miktarı azalırken, kendi aralarında karşılaştırıldıklarında ise istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamıştır.



Şekil 4.1. Azadirachtinin 0.00, 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml konsantrasyonlarında içeren besinin *G. mellonella* larvalarında protein yüzdesine etkileri

Birey başına düşen protein miktarı incelendiğinde denenen tüm konsantrasyonlarda protein miktarları kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır. Kontrol grubunda birey başına düşen protein miktarı 6.92 mg iken besin 6.00 ml azadirachtin içermesi durumunda birey başına düşen protein miktarı yaklaşık olarak %35 azalarak 2.43 mg olarak gerçekleşmiştir. Besinin 1.00, 2.00, 4.00 ml azadirachtin içerdiği durumlarda ise birey başına düşen protein miktarları sırasıyla 5.56, 4.11 ve 2.91 mg olarak azalma göstermiştir. Birey başına düşen protein miktarları artan azadirachtin konsantrasyonuna paralel olarak bir azalma eğiliminde olup bu azalma 4.00 ve 6.00 ml azadirachtin içeren besinle beslenen böcekler arasında istatistiki bir önem taşımamaktadır.



Şekil 4.2. Azadirachtinin 0.00, 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml konsantrasyonlarını içeren besinin, *G. mellonella* larvalarında birey başına düşen total protein miktarına etkileri

Denenen 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml/100 g konsantrasyonlarındaki azadirachtinin *G. mellonella* larvalarının total glikojen ve glikojen yüzdesi miktarlarına etkileri Çizelge 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4 de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı azadirachtin oranlarının *G. mellonella* larvalarının total glikojen ve glikojen yüzdesi miktarlarına etkileri

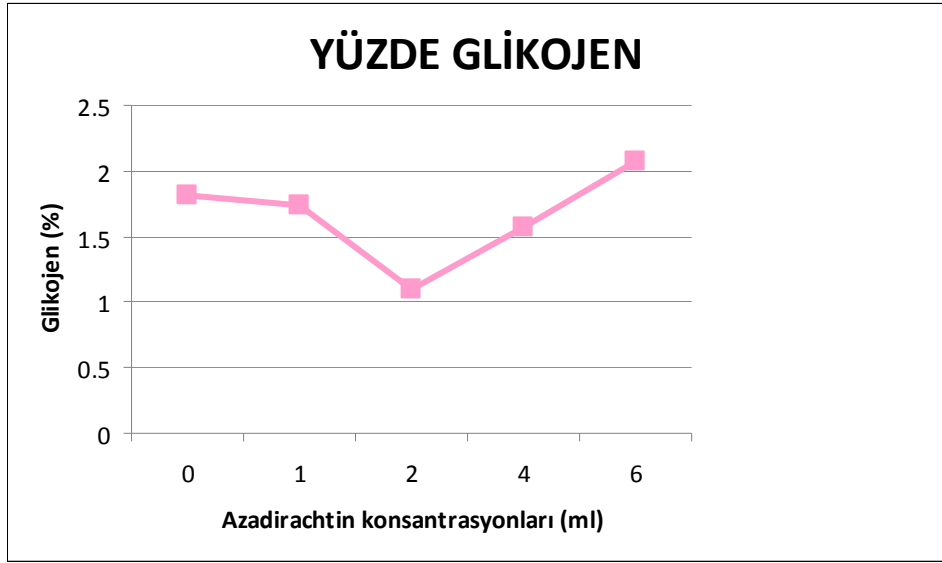
Azadirachtin (ml)	Yaş Ağırlık (mg)	Glikojen (%) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	Glikojen (mg) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
0.00**	163.3	1.824 $\pm$ 0.149 a	0.012 $\pm$ 0.0009 a
1.00	185.57	1.741 $\pm$ 0.296 a	0.010 $\pm$ 0.0005 ab
2.00	182.3	1.094 $\pm$ 0.429 a	0.008 $\pm$ 0.0006 bc
4.00	115.8	1.573 $\pm$ 0.256 a	0.007 $\pm$ 0.0006 c
6.00	80.1	2.078 $\pm$ 0.261 a	0.006 $\pm$ 0.0008 c

* : SNK: a, b, c harfleri konsantrasyonlar arasındaki farkı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

Aynı harfi içeren veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayırım yoktur.

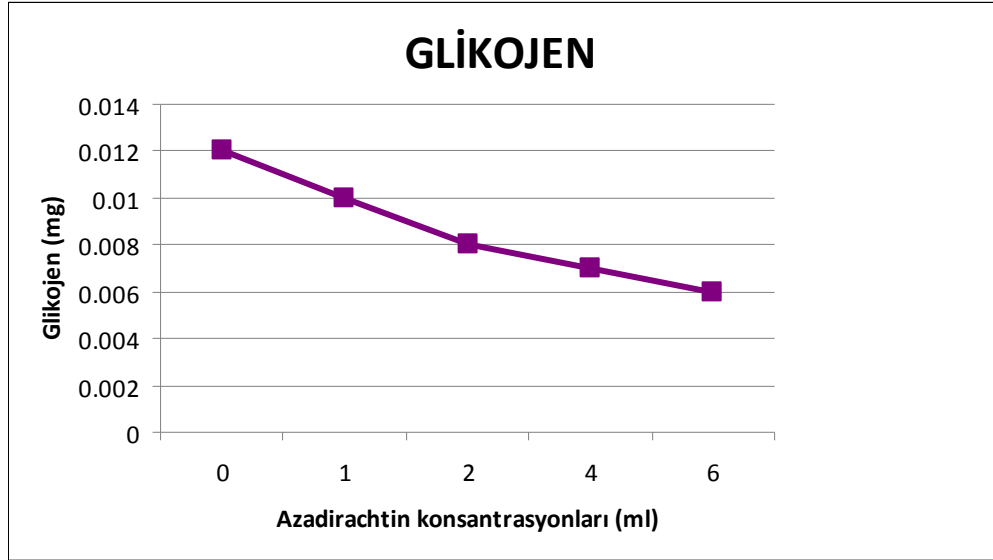
$\bar{X} \pm s\bar{x}$: Aritmetik ortalama $\pm$ Standart hata

** : Kontrol



Şekil 4.3. Azadirachtinin 0.00, 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml konsantrasyonlarını içeren besinin *G. mellonella* larvalarında birey başına düşen yüzde glikojen miktarına etkileri

Glikojen yüzdesi, 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml azadirachtin içeren besinle beslenen böcekler arasında istatistiki bir önem taşımamaktadır. Kontrol grubunda gözlenen oran %1.824 iken, besinin 2.00 ml azadirachtin içermesi durumunda azalma meydana getirerek %1.094 değerine ulaşmış ancak bu düşüş istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır. Besinin 4.00 ve 6.00 ml azadirachtin içermesi durumunda ise glikojen yüzdesi artarak 6.00 ml azadirachtin içeren besinde maximum değer olan %2.078'e yükselmiştir.



Şekil 4.4. Azadirachtinin 0.00, 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml içeren besinin *G. mellonella* larvalarında birey başına düşen total glikojen miktarına etkileri

Birey başına düşen total glikojen miktarında denenen tüm konsantrasyonlarda kontrol grubunda gözlenen maximum değere göre azalma meydana gelmiştir. En yüksek konsantrasyon olan 6.00 ml azadirachtin içeren besinde, total glikojen miktarı 0.012 mg olan kontrole göre yaklaşık %50 azalarak 0.006 olarak tespit edilmiştir. Farklı azadirachtin oranları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiki olarak önemli bulunmuştur. 4.00 ve 6.00 ml azadirachtin içeren deney gruplarındaki azalma istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır.

5. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada farklı azadirachtin konsantrasyonlarının *G. mellonella* L. larvalarındaki total glikojen ve protein miktarı üzerine etkileri araştırılmıştır.

Günümüzde pestisidlerin ortaya çıkardığı bazı önemli sorunlar nedeniyle bunlara alternatif oluşturabilecek çözümler aranmakta, çalışmada kullanılan azadirachtin zararlılarla mücadelede doğal ve bitkisel özelliklerinden dolayı tercih edilen alternatifler arasında yer almaktadır. Bitkisel insektisitler, çevreye ve insan sağlığına çok az tehlike yaratmalarından dolayı böceklerle mücadelede uzun zaman sentetik insektisitler yerine daha iyi bir seçenek olarak kullanılmıştır (Isman, 2006).

Yapılan araştırmalarda azadirachtinin *G. mellonella* larvalarında, total glikojen ve protein miktarlarına etkisi ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamakla birlikte, *Melia azedarach* ve *Azadirachta indica* türlerinin etken maddesi olan azadirachtinin farklı türlerle yapılan birçok çalışmada total glikojen ve protein miktarlarında azalmalar meydana getirmiştir (Huang ve ark., 2004 ; Rharrabe ark., 2008a).

Çalışmada kullanılan azadirachtin ekstraktlarının 1.00, 2.00, 4.00 ve 6.00 ml/100 g konsantrasyonlarında total glikojen ve protein miktarını kontrole göre azalttığı gözlenmiştir. Yapılan benzer çalışmalarda azadirachtinin toksik etkisinden dolayı *Plodia interpunctella*'da sindirim epitel hücreleri, emilimi gerçekleştiremeyip beslenme eksikliğine sebep olurken, total glikojen ve protein miktarlarında azalma meydana gelmiştir (Rharrabe ve ark., 2008a).

Toksik maddelerin hayvanlarda, hücresel ve sistemik işlevsel bozukluklara neden olduğu ve birçok biyokimyasal değişiklikleri uyardığı bilinmektedir (Bhosale ve Kallapur, 1985 ; Orr ve Downer, 1982).

Yapılan çalışmalarda, *B. mori*'nin hemolenfinde ve vücut yağında organofosforlu insektisitler total protein bileşenlerinde önemli azalmalara neden olmuştur (Nath ve ark., 1997). Ayrıca farklı türlerin larvaları ile yapılan çalışmalarda larvaların erginlere göre, insektisitlere karşı daha hassas oldukları tespit edilmiştir (Usmani ve Knowles, 2001).

Protein miktarındaki benzer azalmalar, *Porcellio scaber* ve *Oniscus asellus*'a polisiklik aromatik hidrokarbon (PAHs) uygulanmasıyla (Van Brummelen ve ark., 1996), *B. mori*'de 5. larval evrede, larvalara pyriproxyfen uygulanmasıyla (Etebari ve ark., 2007) ve *Spodoptera litura* ile yapılan çalışmada azadirachtin uygulanmasıyla gözlenmiştir.

Böceklerde enerji rezervi olarak kullanılan glikojen, yağ dokuda depolanmaktadır (Siegert, 1987 ; Nath, 2002). Bir lepidoptera türü olan *Bombyx mori*'de fenitrothion ve ethionun uygulanmasıyla, vücut yağındaki glikojen miktarında azalmalar meydana gelmiştir. Benzer bir çalışma Riberio ve ark. (2001) tarafından yapılmış, *Porcellio dilatatus*'da endosulfan ve parathionun glikojen, protein ve lipid miktarlarını azalttığı gözlenmiştir.

Azadirachtin, bazı böcek türleri için beslenmeyi önleyici, birçok böcek türü ve bazı arthropodalar için ise büyümeyi durdurucu özellik göstermekte (Morgan, 2008), ayrıca bunlara ek olarak 5. larval evredeki *Spodoptera litura* ile yapılan çalışmada duyarsızlaşmaya da neden olduğu bilinmektedir (Bomford ve Isman, 1996). Yapılan bazı çalışmalarda, *Thaumetopoea pityocompa* (Schiff.) larvalarında beslenme aktivitesini azalttığı (Unal ve Akkuzu, 2009), ayrıca *Spodoptera littoalis*'in sentetik besinine eklenen azadirachtinin besin alımında azalmalar meydana geldiği, hatta larvaların normal besine alındıktan sonra bile bu etkinin devam ettiği gözlenmiştir (Martinez ve Van Emden, 1999). *Diabrotica speciosa* (Genn.) üzerinde *Melia azedarach*'ın meyve, çiçek ve yaprak ekstraktarının beslenmeyi caydırıcı etkisinin olduğu, en çok etkinin ise meyve ekstraktında görüldüğü tespit edilmiştir (Ventura ve Ito, 1999). *Schistocerca gregaria* Forsk. (Butterworth ve Morgan, 1971), *Telenomus remus* Nix. (Joshi ve ark., 1982), *Rhodnius prolixus* Stal. (Garcia ve Rembold, 1984) ve *Spodoptera frugiperda* (Smith.) (Redfern ve ark., 1984) türlerinde farklı dozlardaki azadirachtin besin alımını engellemiştir. Benzer olaylar, *Rhyzopertha dominica* (F.) (Malik ve Mujtaba Naqvi, 1984), *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Arnason ve ark., 1985), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens), *Sitophilus oryzae* (L.) ve *Tribolium castaneum* (Herbst) (Xie ve ark., 1995) türlerinde de gözlenmiştir.

Azadirachtinin meydana getirdiği bu durum, *G. mellonella* larvalarında da dışarıdan enerji gereksinimini karşılayacak besin alımını gerçekleştiremediği için depo edilen glikojen ve protein bileşenlerini kullanma gereksinimine yol açmış olabilir.

Larval gelişmedeki bu olumsuzluklar, azadirachtinin, böceklerde gelişmeyi düzenleyen endokrin ve neuroendokrin sistem etkisine bağlı olabilir. Çünkü böceklerde hormonların salgılanmasının kontrolü, dışarıdan gelen çevresel uyarıların sinir sistemi ve endokrin sistemi üzerindeki etkileri ile gerçekleşmektedir. Böceklerde deri değiştirme ve başkalaşım, juvenil hormon ve ecdysteroidler ile kontrol edilmektedir (Riddiford, 1994 ; Hiruma ve ark., 1999). Böcek hücreleri, ecdizon hormonu tarafından uyarıldığı zaman, büyüme ve deri değiştirme için juvenil hormon (JH) sentezlemeye başlar. Yüksek miktarda JH sentezlendiği zaman diğer larva dönemi için kutikula sentezlenir. JH, az salgılandığında pupa, JH yokluğunda ise ergin meydana gelir (Kısmalı, Ş., 1980). Buna paralel olarak ecdysteroid hormonunun eksikliği juvenil hormonun eksikliğine yol açarak gelişimde anormallikler meydana gelmektedir (Schlüter ve ark., 1985 ; Koul ve ark., 1987 ; Malczewska ve ark., 1988). Ayrıca, azadirachtinin gelişime etkisi ecdysteroid ve juvenil hormon oranlarının durması ve bunun sonucunda neuroendokrin sistemden salınan morfogenetik peptid hormonunun engellenmesine bağlıdır (Subrahmanyam ve ark., 1989 ; Sayah ve ark., 1996).

Azadirachtinin yapılan çalışmalarda, böceklerde deri değiştirmeyi engelleyerek anormal bireylerin oluşmasına neden olduğu ve böylece juvenil hormon etkisi gösterdiği anlaşılmıştır (Dorn ve ark., 1986). Juvenil hormon ve JH analogları ecdysteroidlerin sentezini düzenlemektedir. *Rhodnius prolixus* türün de besin olarak verilen kana 4×10^{-4} µg/ml azadirachtin ilave edilerek böceklerin %50'sinin (ED₅₀) beslenmesi ve deri değiştirmesi engellenmiştir (Garcia ve Rembold, 1984). Fakat deri değiştirmenin engellenmesi, beslenmenin engellenmesiyle değil, azadirachtinin prothorasic bezlerin salgıladığı deri değiştirme hormonu olan ecdysonun salgılanmasının engellenmesiyle meydana gelmiştir (Kısmalı ve Madanlar, 1988). Gordon ve Burford'un (1984), *Aedes aegypti* ile yaptıkları çalışmada juvenil hormon analogu olan methoprenenin, 4.larval evrenin sonlarındaki larvada bulunan protein

miktarında azalma kaydetmişler, ayrıca methoprene uygulanmış larvanın vücut yağındaki glikojen seviyesi de kontrole göre azalmıştır. Benzer çalışma *B. mori* ile yapılmış, juvenil hormon analogu olan pyriproxyfen hormonal dengeyi durdurmaya ek olarak larval periyodu uzatmış ve önemli biyokimyasal değişikliklere neden olarak uygulamadan 24 saat sonra protein miktarında önemli azalmalar görülmüştür (Etebari ve ark; 2007). *Locusta migratoria*'da juvenil hormon analogu olan fenoxycarb ve pyriproxyfen uygulaması, larvada protein sentezini kısıtlamıştır (De Kort ve Koopmanschap, 1991).

Yapılan çalışmalar göz önünde tutulacak olursa, *Galleria mellonella* larvalarındaki protein ve glikojen miktarındaki azalmaya, juvenil hormon analogu olarak da etki gösterebilen azadirachtinin yol açtığı söylenebilir. *Carausius morosus* ile yapılan çalışmalarda JH'un salgılandığı carpus allatumun aşılınması ile oksijen harcanması yükselmiştir. Buna bağlı olarak mitokondrilerin faaliyeti artmıştır. JH'un bazı doku ve organlara etki ederek metabolizmayı etkilediği de bilinmektedir. (Kısmalı, Ş., 1980). Bu çalışmalar da göz önünde tutularak, yaptığımız deneyde juvenil hormon analogu olan azadirachtin de mitokondrilerin faaliyetini arttırarak enerji kaybına neden olduğu söylenebilir.

Azadirachtin, carpus allatumdan salınan juvenil hormonun azalmasına sebep olmaktadır (Rembold ve ark., 1987). Bu da larval periyodun uzamasına yol açacağı için gereğinden fazla deri değiştirme meydana gelecek ve sonuç olarak fazla enerji harcanmasına neden olacaktır. Örneğin, *Manduca sexta*'da yüksek dozlarda azadirachtin gereğinden fazla deri değiştirmeye (Schlüter ve ark., 1985), *Oncopeltus fasciatus*'da orta dozdaki azadirachtin deri değiştirmeyi durdurarak larva halinde kalmasına neden olmakta, yüksek dozlarda ise yetişkin ecdysisini durdurmakta, düşük dozlarda ise deri değiştirmeyi sadece geciktirmekte (Dorn ve ark., 1986), *Tenebrio molitor*'da ise gelişmeyi aksatarak yetişkin ecdysisini önlemektedir (Pascual ve ark., 1990). Böceklerde meydana gelen deri değiştirme sırasında enerji kullanılır, bu da besin alımında vücutta depolanan glikojen ve protein miktarlarının azalmasına neden olacaktır.

Azadirachtinin farklı böcek türlerinde vitellogenesis ve yumurta oluşumunu engellediği çok iyi bilinmektedir. (Subrahmanyam, 1990). Azadirachtinin sebep

olduğu patolojik etkiler, endokrin ve neuroendokrin sistemlerin engellenmesine bağlı olduğu kabul edilmektedir (Mordue ve Blackwell, 1993). Örneğin, *Rhonius prolixus*'da azadirachtin ovaryan ve hemolenfatik ecdysteroidlerin azalmasına neden olmaktadır (Feder ve ark., 1988). *Locusta migratoria*'da azadirachtin vitellogenesis ve ovaryan ecdysteroid sentezini engellemektedir (Rembold ve Sieber, 1981) ; ayrıca JH oranında azalmaya sebep olmaktadır (Rembold ve ark., 1987).

Juvenil hormon birçok böceğin ergininde yağ dokusu tarafından vitellojenin sentezlenmesini uyarmaktadır (İzzetoğlu ve ark., 2009). *Leptinotarsa decemlineata* Say'nin ergin dişilerinde dişiliği karakterize eden proteinin sentezi ve bu proteinlerin follikül hücreleri tarafından alınmasında juvenil hormonun etkinliği gösterilmiştir (De Loof ve De Wilde, 1970). Juvenil hormon vitellogenin sentezine ve ovaryan gelişimine olumlu yönde etki ederken (Sayah ve ark., 1996), azadirachtin varlığında meydana gelen juvenil hormonundaki azalma üreme hücrelerinin gelişmesi için gerekli olan protein sentezini engellemiş olacaktır.

Juvenil hormonun metamorfoz olayına katılması, birçok maddenin metabolizmasında düzenleyici rol oynadığını kanıtlamaktadır. Corpus allatumun vücuttan çıkarılması, tüm dokularda patolojik olarak değişikliklere neden olur. Yeniden implante edilmesi ise bu anormallikleri yok etmektedir. Büyük bir olasılıkla bu değişiklikler, protein sentezinin önlenmesiyle ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bu bez tarafından madde değişimi yönlendirilen dokularda bez çıkarıldığı zaman amino asit birikmesi görülerek, karbohidrat ve yağ metabolizmasını da denetler (Demirsoy, 1990) Bu durum, *G. mellonella* larvalarındaki protein miktarındaki azalışın bir başka nedeni olarak kabul edilebilir.

Çalışmalarımız sonunda elde edilen verilere göre, azadirachtinin, *G. mellonella* larvalarının total glikojen ve protein miktarlarında meydana gelen bu azalmalar diğer çalışmalara paralellik göstermektedir. Azadirachtinin böceklerde büyüme ve deri değiştirmede görevli hormonları inhibe etmesi, *G. mellonella*'nın doğadaki yaşam süresini azaltacak ve böylelikle entegre mücadelede doğaya zararlı olmayan bitkisel insektisitlerin kullanımına olanak sağlamış olacaktır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

G. mellonella, bal peteklerine zarar veren Lepidoptera ordosuna ait bir türdür. Yıllardır arıcılar tarafından bu türle mücadele edilmekte ve bu mücadele yöntemlerinin birçoğu kimyasal maddelerden oluştuğu için doğaya ve insan sağlığına zarar vermektedir.

Deneyde kullanılan azadirachtin, Neem ağacı olarak bilinen *A. indica* ve *M. azedarach* türlerinin meyve, yaprak ve tohumundan elde edilen bir ekstraktır. Böcekleri uzaklaştırıcı etkisinin fark edilmesiyle insektisit olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bitkilerden elde edildiği için doğal bir insektisit olmasından dolayı çevreye herhangi bir kalıntı bırakmamakta, insanlara ve diğer canlılara zarar vermemektedir. Zaten yapılan çalışmalarla memelilere herhangi bir toksik etkisinin olmadığı da kanıtlanmıştır.

Sunulan bu çalışmanın sonuçlarına göre, farklı konsantrasyonlarda besine ilave edilen azadirachtin, *G. mellonella*'da metabolik faaliyetler için gerekli olan glikojen ve protein miktarını azaltmıştır.

Sonuç olarak, canlının yaşamsal faaliyetlerinde gerekli olan bu biyokimyasal bileşenleri azaltması gelişmeyi, büyümeyi ve üremeyi etkileyecektir. Bu da zararlı türlerin yok edilmesinde biyolojik kontrol programlarında kullanılabileceğini göstermektedir.

Azadirachtinin, *G. mellonella* zararlı türünde büyüme ve gelişmede etkili olan juvenil hormon ve ecdysteroid hormonunun miktarına etkisi ile ilgili ve protein miktarına etkisinde, özellikle vücutta hangi işlevsel yapıdan sorumlu olan protein türüne daha çok etki gösterdiğinin tespit edilmesiyle ilgili çalışmalarda kullanılması, bu tür ile entegre mücadelede daha çok fayda sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- ABDUL RAZAK, T. and SIVASUBRAMANIAN, P., 2007. Effect of Three Botanical Oils on Carbohydrate Content in *Cheilomenes sexmaculata* Fabricius and *Chrysoperla carnea* Stephens. Asian Journal of Biochemistry, 2 (2): 124-129.
- ADEL, M.M. and SEHNAL, F., 2000. Azadirachtin Potentiates the Action of Ecdysteroid Agonist RH-2485 in *Spodoptera littoralis*. Journal of Insect Physiology, Vol. 46, Issue 3, 267-274.
- AKYOL, E. ve KORKMAZ, A., 2008. Peteklerin Büyük Mum Güvesi (*Galleria mellonella* L.)'ne Karşı Korunmasında -5°C Soğuk Uygulamasının Etkisi. Uludağ Arıcılık Dergisi. 8 (1): 26-29.
- AKYOL, E., YENİNAR, H., ŞAHİNLER, N. ve CEYLAN, D.A., 2009. Büyük Balmumu Güvesi *Galleria mellonella* L.'nin (Lepidoptera: Pyralidae) Kontrolünde Karbondioksitin (CO₂) Kullanımı. Uludağ Arıcılık Dergisi, 9 (1): 26-31.
- ANONYMOUS, 2002. List of Biological Control Agents Widely Used in the EPPO Region. OEPP/EPPO Bull., 18(2): 265-267.
- ARNASON, J.T., PHILOGÈNE, B.J.R., DONSKOV, N.M.H., MCDOUGALL, C., FORTIER, G., MORAND, P., GARDNER, D., LAMBERT, J., MORRIS, C., NOZOILLO, C., 1985. Antifeedant and Insecticidal Properties of Azadirachtin to the European Corn Borer, *Ostrinia nubilalis*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 38, 29-34.
- ASCHER, K.R.S., 1981. Some Physical Properties and Biological Effects of a Dried Methanolic Neem Seed Kernel Extract. In: Proceedings of 1st International Neem Conference. Rottach Eern. pp. 63–74.
- ASCHER, K.R.S., 1993. Nonconventional Insecticidal Effects Pesticides Available from Neem Tree, *Azadirachta indica*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 22: 433-449.

- AWAD, T.I., ONDER, F. ve KISMALI, Ş., 1998. *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) Ağacından Elde Edilen Doğal Pestisitler Üzerinde Bir İnceleme. Türkiye Entomoloji Dergisi, 22(3): 225-240.
- BADHIYA, R.L. and HAZARAKI, L.K., 1996. Effect of Methoprene and Diflubenzuron on Water, Lipid and Chitin content of *Dicladispa armigera*. Entomon, 21: 7-11.
- BARWAL, R.N. and KARLA, R.L., 2001. Changes in the Lipid of Rust-Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. On Their Exposure to Dieldrin. Journal of Applied Zoology Research, 12: 60-63.
- BHOSALE, S. H. and KALLAPUR, V. L., 1985. Changes in the Metabolic Fuel Reserves of the 5th Instar, *Bombyx mori*, Following Endosulfan Treatment. Entomon, 10, p. 281.
- BLANEY, W.M., SIMMONDS, M.S.J., LEY, S.V., ANDERSON, J.C. and TOOGOOD, P. L., 2004. Antifeedant Effects of Azadirachtin and Structurally Related Compounds on Lepidopterous Larvae. Entomologia Experimentalis et Applicata, Vol. 55, no.2, 149-160.
- BOMFORD, M.K. and ISMAN, M.B., 1996. Desensitization of Fifth Instar *Spodoptera litura* of Azadirachtin and Neem. Entomologia Experimentalis et Applicata, 81: 307-313.
- BRATTSTEN, L.B., 1983. Cytochrome P-450 Involvement in the Interactions Between Plant Terpenes and Insect Herbivores. In Plant Resistance to Insects. Hedin, P.A., Ed.; ACS Symposium Series 208; American Chemical Society: Washington, DC, pp 173-195.
- BRONSKIL, J.K., 1961. A Cage To Simplify The Rearing of Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae) . Journal of Lepidopterists' Society., 102-104.
- BUTTERWORTH, J.H. and MORGAN, E.D., 1971. Investigation of the Locust Feeding Inhibition of the Seeds of the Neem Tree, *Azadirachta indica*. Journal of Insect Physiology, Vol: 17. Issue: 7, 969-977.
- CARPINELLA, M.C., DEFAGO, M.T., VALLADARES, G. and PALACIOS, S.M., 2003. Antifeedant and Insecticide Properties of a Limonoid from *Melia*

- azedarach* (Meliaceae) with Potential Use for Pest Management. Journal of Agricultural Food Chemistry, 51 (2), pp 369–374.
- CESPEDES, C.L., CALDERON, J.S., LINA, L. and ARANA, E., 2000. Growth Inhibitory Effects on Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* of Some Limonoids Isolated from *Cedrela* spp. (Meliaceae). Journal of Agricultural Food Chemistry, 48, 1903-1908.
- COATS, J.R., 1994. Risks From Natural Versus Synthetic Insecticides. Annual Review of Entomology, 39:489-515.
- CROFT, B.A., 1990. Arthropod Biological Control Agents and Pesticide. Wiley, New York. 723 pp.
- DAVIS, P.H., 1975. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh at the University Press. Vol: 5, 47-48.
- DAAS, O., SCAPS, P., BOUZERNA, N. and DESCAMPS, M., 2007. Effects of Two Ecdysteroid Analogs (RH-0345 and RH-2485) on the Total Growth of *Eupolybothrus nudicornis* (Myriapoda, Chilopoda). Vie et Milieu Life and Environment, 57, (1/2): 39-43.
- DE LOOF, A. and DE WILDE, J., 1970. Hormonal Control of Synthesis of Vitellogenic Female Protein in the Colorado Beetle *Leptinotarsa decemlineata*. Journal of Insect Physiology. Vol: 16, Issue: 7, 1455-1466.
- DE KORT, C.A.D. and KOOPMANSHAP, A.B., 1991. A Juvenil Hormone Analogue Affects the Protein Pattern of the Hemolymph in Last-Instar Larvae of *Locusta migratoria*. Journal of Insect Physiology, 37, 87-93.
- DEMİRİSOY, A., 1990. Omurgasızlar/Böcekler-Entomoloji (Yaşamın Temel Kuralları), Cilt 2 / Kısım 2, Meteksan Yayınları, Ankara, 941s.
- DORN, A., RADEMACHER, J.M. and SEHN, E., 1986. Effects of Azadirachtin on the Moulting Cycle, Endocrine System and Ovaries in Last-Instar Larvae of the Milkweed Bug, *Oncopeltus fasciatus*. Journal of Insect Physiology, Vol: 32, issue: 3, 231-238.
- DURMUSOĞLU, E., KARSAVURAN, Y., OZGEN, L. and GUNCAN, A., 2003. Effects of Two Different Neem Products on Different Stages of *Nezara*

- viridula* (L.) (Hymenoptera: Pentatomidae). Journal of Pesticide Science, 76, 151-154.
- ERDOĞAN, P. ve TOROS, S., 2005. *Melia azedarach* L. (Meliaceae) Ekstraktlarının Patates Böceği [(*Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.:Chrysomelidae)] Larvalarının Gelişimi Üzerine Etkisi. Bitki Koruma Bülteni, 45 (1-4): 99-118.
- ETEBARI, K., BIZHANNIA, A.R., SORATI, R. and MATINDOOST, L., 2007. Biochemical Changes in Haemolymph of Silkworm Larvae due to Pyriproxyfen Residue. Pesticide Biochemistry and Physiology, Vol: 88. Issue: 1, 14-19.
- FEDER, D., VALLE, D., REMBOLD, H. and GARCIA, E.S., 1988. Azadirachtin-Induced Sterilization in Mature Females of *Rhodnius prolixus*. Zeitschrift Naturforsch, 41c, 771-775.
- GARCIA, E.S. and REMBOLD, H., 1984. Effects of Azadirachtin on Ecdysis of *Rhodnius prolixus*. Journal of Insect Physiology, 30, 939-941.
- GOPAL, M., GUPTA, A., ARUNACHALAM, V. and MAGU, S.P., 2007. Impact of Azadirachtin, an Insecticidal Allelochemical from Neem on Soil Microflora, Enzyme and Respiratory Activities. Bioresource Technology, Vol.98, Issue:16, 3154-3158.
- GORDON, R. and BURFORD, I.R., 1984. Effects of Methoprene, a Juvenil Hormone Analogue, on the Larval and Pupal Stages of the Yellow Fever Mosquito, *Aedes aegypti*. Journal of Insect Physiology, Vol: 30, issue:4, 279-286.
- GÖÇMEN, H., TOPAKÇI, N. ve İKTEN, C., 2007. Pamuk beyazsineği, *Bemisia tabaci* (Genn.) (Homoptera)'ye karşı Azadirachtinin Etkinliği Üzerine Bir Araştırma. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20 (1), 119-126.
- HAYNES, K.F., 1988. Sublethal Effects of Neurotoxic Insecticides on Insect Behavior. Annual Review of Entomology, 33: 149-168.
- HIRUMA, K., SHINODA, T., MALONE, F. and RIDDIFORD, L.M., 1999. Juvenile Hormone Modulates 20-hydroxyecdysone-inducible Ecdysone Receptor and

- Ultraspiracle Gene Expression in the Tobacco Hornworm, *Manduca sexta*. Development-Genes and Evolution, 209: 18-30.
- HOWATT, K., 1994. Azadirachta indica: One tree's Arsenal Against Pests. www.colostate.edu/Depts/Entomology/courses/en570/papers/howatt.html.
- HUANG, R.C., OKAMURA, H., IWAGAWA, T. and NAKATANI, M., 1994. The Structures of Azedarachins, Limonoid Antifeedants from Chinese *Melia azedarach* Linn. Bulletin of the Chemical Society of Japan, Vol: 67, 2468-2472.
- HUANG, Z., SHI, P., DAI, J. and DU, J., 2004. Protein Metabolism in *Spodoptera litura* (F.) is Influenced by the Botanical Insecticide Azadirachtin. Pesticide Biochemistry and Physiology, 80, 85-93.
- HUANG Z., WEI, H., DAI, J. and DU, J., 2005. Effect of Azadirachtin on the Bioactivities and Protein Expression in Asian Corn Borer (*Ostrinia furnacalis* Guenée). Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 11, 179–181.
- ISMAN, M.B., 1997. Neem and Other Botanical Insecticides: Barriers to Commercialization. Phytoparasitica, 25(4): 339-344.
- ISMAN, M.B., 2006. Botanical insecticides, Deterrents and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World. Annual Review of Entomology, 51: 45-66.
- İZZETOĞLU, G.T., ÖZKORKMAZ, F., ZEKA, Ö. ve ÖBER, A., 2009. İpekböceği (Bombycidae: *Bombyx mori*)'de Juvenil ve Ekdizon Hormonları Uygulaması Sonucu Olası Değişimler. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 15 (4): 525-530.
- JACOBSON, M., 1989. Focus on Phytochemical Pesticides. Vol.1. The Neem Tree. Boca Raton, CRC Press, 178 p.
- JOSHI, B.G., RAMAPRASAD, G. and SITARAMAIAH, S., 1982. Effect of a neem seed kernel suspension on *Telenomus remus*, an egg parasite of *Spodoptera litura*. Phytoparasitica, 10: (1), 61-63.

- KARNAVAR, G.K., 1987. Influence of Azadirachtin on Insect Nutrition and Reproduction. Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Animal Sciences), Vol. 96, No. 3, pp. 341-347.
- KISMALI, Ş., 1980. Böceklerde Juvenil Hormonun Etkileri. Türkiye Bitki Koruma Dergisi. 4 (4): 257-263.
- KISMALI, Ş. ve MADANLAR, N., 1988. *Azadirachta indica* A.Juss(Meliaceae)'nın Böceklerle Etkileri Üzerine Bir İnceleme. Türkiye Entomoloji Dergisi, 12 (4): 239-249.
- KIVAN, M., 2005. Effects of Azadirachtin on the Sunn Pest, *Eurygaster integriceps* Put. (Heteroptera, Scutelleridae) in the Laboratory. Journal of Central European Agriculture, 6(2), 157-160.
- KOUL, O., AMANAIA, K. and OHTAKI, T., 1987. Effects of Azadirachtin on the Endocrine Events of *Bombyx mori*. Journal of Insect Physiology, 33, pp. 103–108.
- KOUL, O., ISMAN, M.B. and KETKAR, C.M., 1990. Properties and Uses of Neem, *Azadirachta indica*. Canadian Journal of Botany, 68: 1-11.
- KRAUS, W. 2002. Biologically Active Ingredients: Azadirachtins and Other Triterpenoids. In: Schmutterer, H. (Ed.), 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, second ed. Mumbai, Neem Foundation. India, pp. 39–78.
- 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 Century. Proceedings of 2000 Conference of Chinese Entomological Society, Science and Technique Press, Beijing, China. pp. 1098-1104.
- LIN-ER, L., VAN LOON, J.J.A. and SCHOONHOVEN, L.M., 2008. Behavioural and Sensory Responses to Some Neem Compounds by *Pieris brassicae* Larvae. Physiological Entomology, 20, 134-140.
- MALCZEWSKA, M., GELMAN, D.B. and CYMBOROWSKI, B., 1988. Effect of Azadirachtin on Development, Juvenile Hormone and Ecdysteroid Titres in

- Chilled *Galleria mellonella* Larvae. Journal of Insect Physiology, Vol. 34, No. 7, pp. 725-732.
- MALIK, M.M. and MUJTABA NAQVI, S.H., 1984. Screening of Some Indigenous Plants as Repellents or Antifeedants for Stored Grain Insects. Journal of Stored Products Research, 20, 41-44.
- MARTINEZ, S.S. and VAN EMDEN, H.F., 1999. Sublethal Concentrations of Azadirachtin Affect Food Intake, Conversion Efficiency and Feeding Behaviour of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). Bulletin of Entomological Research, 89. 65-71.
- MATSUMURA, F., 1985. Toxicology Effects of Insecticides, 2nd ed. Plenum New York, 598pp.
- 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.
- MORDUE, A.J. and BLACKWELL, A., 1993. Azadirachtin: an Update. Journal of insect physiology, Vol.39, pp.903-924(5 p.1/2).
- MORGAN, E.D., 2008. Azadirachtin, a Scientific Gold Mine. Bioorganic & Medicinal Chemistry, Doi: 10.1016/j.bmc.11.081.
- NARAHASHI, T., 1976. Effects of Insecticides on Nervous Conduction and Synaptic Transmission, In: Insecticide Biochemistry and Physiology, ed. C.F. Wilkinson (Plenum Press, New York), p. 327.
- NATH, B.S., 2002. Shifts in Glycogen Metabolism in Hemolymph and Fat Body of the Silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) in Response to Organophosphorus Insecticides Toxicity, Vol. 74, Issue: 2, 73-84.
- NATH B. S., SURESH, A., VARMA, B. M. and KUMAR, R. P. S., 1997. Changes in Protein Metabolism in Haemolymph and Fat Body of the Silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) In Response to Organophosphorus Insecticides Toxicity. Ecotoxicology and Environmental Safety, 36, 169-173.
- NATHAN, S.S., KALAIIVANI, K. and MURUGAN, K., 2005. Effects of Neem Limonoids on Malaria Vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae), Acta Tropica, 96 (1), pp. 47-55.

- OELRICHS, B.P., HILL, M., VALLEY, P.J., JOHN, M.K. and TADEUSZ, M.F., 1983. Toxic tetranortriterpenes of the fruit of *Melia azedarach* L. *Phytochemistry*, Vol. 22, no. 2, pp 531-534.
- ORR, G.L. and DOWNER, R.G.H., 1982. Effect of Lindane (r-hexachlorocyclohexane) on Carbohydrate and Lipid Reserves in the American Cockroach, *Periplaneta americana*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 17: 89-95.
- PASCUAL, N., MARCO, M. P. and BELLÉS, X., 1990. Azadirachtin induced imaginal moult deficiencies in *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 26 (1): 53-57.
- PLAPP F.W., 1984. The Genetic Basis of Insecticide Resistance in the Housefly: Evidence Taht a Single Locus Plays a Major role in Metabolic Resistance to Insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 22, 194.
- PLUMMER, D.T., 1971. *Practical Biochemistry*. Mc Graw Hill Book Company Ltd., England, 369p.
- REDFERN, R.E., WARTHEN, J.D., JACOBSON, M. and STOKES, J.B., 1984. Antifeeding Potency of Neem Formulations. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 19 A (4): 477-481.
- REED, D.K. ,WARTEN, J.R., J.D. , UEBEL E.C. and REED, G.L., 1982. Effects of Two Triterpenoids from Neem on Feeding by Cucumber Beetles (Coleoptera: Cchrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 75, 1109-1113.
- REMBOLD, H., UHL, M. and MULLER, T., 1987. Effects of Azadirachtin A on Hormone Tires During the Gonadotrophic cycle of *Locusta migratoria*. *Proc. 3rd Int. Neem Conf.* (eds H. Schmutterer and K.R.S. Ascher). GTZ Eschborn, Germany, 289-298.
- REMBOLD, H. and SIEBER, K.P., 1981. Inhibition of Oogenesis and Ovarian Ecdysteroid Synthesisi by Azadirachtin in *Locusta migratoria migratorioides* (R.&F.). *Zeitschrift für Naturforschung*, 36C, 466-469.
- RHARRABE, K., BAKRIM, A., GHAILANI, N. and SAYAH, F., 2007. Bioinsecticidal Effect of Harmaline on *Plodia interpunctella* Development

- (Lepidoptera: Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89, pp. 137–145.
- RHARRABE, K., AMRI, H., BOUAYAD, N. and SAYAH, F., 2008a. Effects of Azadirachtin on Post-Embryonic Development, Energy Reserves and α -amylase Activity of *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research*, Vol. 44, Issue: 3, 290-294.
- RHARRABE, K., BOUAYAD, N. and SAYAH, F., 2008b. Effects of Ingested 20-hydroxyecdysone on Development and Midgut Epithelial Cells of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera:Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89, 137-145.
- RIBA, M., MARTÍ, J. and SANS, A., 2003. Influence of Azadirachtin on Development and Reproduction of *Nezara viridula* L. *Journal of Applied Entomology*, Volume:127, Issue:1,Pages37–41.
- RIBERIO, S., SOUSA, J.P., NOGUEIRA, A.J.A. and SOARES, A.M.V.M., 2001. Effect of Endosulfan and Parathion on Energy Reserves and Physiological Parameters of the Terrestrial Isopod *Porcellio dilatatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49, 131-138.
- RICE, M.J., 1993. Theory and Practice of Neem Based Insect Pest Management. In: *pest Control and Sustainable Agriculture*, (ed.) S.A. Corey, D.J. Dall & D.M. Milne. CSIRO Publications, Melbourne, pp. 335-337.
- RIDDIFORD, L.M., 1994. Cellular and Molecular actions of Juvenile Hormone. I. General considerations and premetamorphic actions. *Advances in Insect Physiology*, 24: 213-218.
- ROE, H.J., BATLEY, J.M., GRAY, R.R. and ROBINSON, J.N., 1961. Complete Removal of Glycogen from Tissues by Extraction with Cold Trichloroacetic Acid Solution. *Journal of Biological Chemistry*, 236, 1224-1246.
- SAK, O., UÇKAN, F. and ERGİN, E., 2006. Effects of Cypermethrin on Total Body Weight, Glycogen, Protein, and Lipid Contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Belgian Journal of Zoology*, 136 (1): 53-58.
- SANFORD, M.T., 2003. Controlling Wax Moth, One of a Series of the Entomology and Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service,

Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. EDIS Web Site at <http://edis.ifas.ufl.edu>.

- SAYAH, F., FAYET, C., IDAOMAR, M. and KARLINSKY, A., 1996. Effects of Azadirachtin on Vitellogenesis of *Labidura riparia* (Insect Dermoptera). *Tissue & Cell*, 28, pp. 741–749.
- SEYOUM, E., BATEMAN, R.P. and CHARNLEY, A.K., 2002. The effect of *Metarhizium anisopliae* var *aeridium* on Haemolymph Energy Reserves and Flight Capability in the Desert Locust, *Schistocerca gregaria*. *Journal of Applied Entomology*, 126 119—124.
- SCHLUTER, U., BIDMON, H.J. and GREWE, S., 1985. Azadirachtin Affetes Growth and Endocrine Events in Larvae of the Tobacco Hornworm, *Manduca sexta*. *Journal of Insect Physiology*, Vol: 31, Issue: 10, 773-777.
- SCHMUTTERER, H., 1990. Properties and Potential of Natural Pesticides from the Neem Tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomolog.*, 32, pp. 271-297.
- SCHMUTTERER, H., 1995. The Neem Tree : Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes. VCH, Weinheim, Germany, 696 p.
- 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.
- SCHMUTTERER, H. and SINGH, R.P., 1995. List of Insect Pests Susceptible to Neem Products. pp. 326-365 in Schumutterer, H. (Ed.)
- 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.
- SIEGERT, K. J., 1987. Carbohydrate Metabolism in *Manduca sexta* During Late Larval -Development. *Journal of Insect Physiology*, 33: 421-427.

- SUBRAHMANYAM, B., 1990. Azadirachtin- a Naturally Occuring Insect Growth Regulator. Proceedings of the Indian National Science Academy, 99, 277-288.
- SUBRAHMANYAM, B., MULLER, T. and REMBOLD, H., 1989. Inhibition of Turnover of Neurosecretion by Azadirachtin in *Locusta migratoria*. Journal of Insect Physiology, 35, 493-500.
- 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.
- TANG, Y.Q., WEATHERSBEE III, A. and MAYER, R.T. , 2002. Effects of Neem Seed Extract on the Brown Citrus Aphid (Homoptera: Aphididae). Environmental Entomology, 31 (1), 172-176.
- TUNAZ, H. and UYGUN, N., 2003. Insect Growth Regulators for Insect Pest Control. Turkish Journal of Agricultural, 28: 377-387.
- USMANI, K.A. and KNOWLES, C.O., 2001. Toxicity of Pyrethroids and Effect of Synergists to Larval and Adult *Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda* and *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Economic Entomology, 94: 868-873.
- UNAL, S. and AKKUZU, E., 2009. Larvaecidal Effects of Azadirachtin on the Pine Processionary Moth. African Journal of Biotechnology, Vol. 8 (19), pp. 5128-5131
- VAN BRUMMELEN, T.C., VAN GESTEL, C.A. and VERWEIJ, R.A., 1996. Long-term Toxicity of Five Polycyclic Aromatic Hydrocarbons for the Terrestrial Isopods. *Oniscus asellus* and *Porcellio scaber*. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol.15, Issue: 7, 1199-1210.
- VENTURA, M.U. and ITO, M., 1999. Antifeedant Activity of *Melia azedarach* (L.) Extracts to *Diabrotica speciosa* (Genn.) (Coleoptera: Chrysomelidae) Beetles. Brazilian Archives of Biology and Technology, Vol.43 No.2.

- 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.
- VIJAYARAGHAUON, C. and CHITRA, K.C., 2002. Total Protein and Free Amino Acid Content of *Spodoptera litura* (Fab.) due to Botanicals and Conventional Insecticides. Indian Journal of Entomology, 64: 92-95.
- WANDSCHEER, C.B., DUQUE, J.E., MAN, D.S, FUKUYAMA, Y., WOHLKE J.L., ADELMANN, J. and FONTANA, J.D., 2004. Larvicidal Action of Ethanolic Extracts from Fruit Endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* Against the Dengue Mosquito *Aedes aegypti*. Toxicon, 44:829–835.
- WANG, A.H., J.C. WU, Y.S. YU, J.L. LIU, J.F. YUE and M.Y. WANG, 2005. Selective Insecticide-Induced Stimulation on Fecundity and Biochemical Changes in *Tryporyza incertulas* (Lepidoptera:Pyrelidae). Journal of Economic Entomology, 98: 1144-1149.
- WEATHERSBEE III, A.A. and MCKENZIE, C.L., 2005. Effect of a Neem Biopesticide on Repellency, Mortality, Oviposition and Development of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). Florida Entomologist, 88:4, 401-407
- 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.
- XIE, Y.S., FIELD, P.G. and ISMAN, M.B., 1995. Repellency and Toxicity of Azadirachtin and Neem Concentrates to Three Stored-Product Beetles. Journal of Economic Entomology, 88, 1024-1031.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Adana’da doğdu. İlköğrenimini Adana Cebesoy İlkokulu’nda, ortaöğrenimini 1998 yılında Adana Çukurova Özel Bilfen Lisesi’nde, lise öğrenimini ise 2002 yılında Adana Ticaret Odası Anadolu Lisesi’nde tamamladı. 2002 yılında Çukurova Üniversitesi Biyoloji bölümünü kazandı. 2007 yılında lisans eğitimini tamamlayarak mezun oldu. 2008 yılında Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı.