

**BORİK ASİTİN LAKTOZ İLE BİRLİKTE *GALLERIA MELLONELLA* L.
(LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)’NİN BAZI BİYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
PARAMETRELERİNE ETKİSİ**

Veli ŞAHİN

**Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalında
Yüksek Lisans Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

ZONGULDAK

Haziran 2010

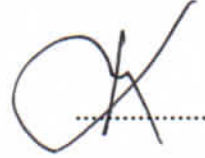
KABUL:

Veli ŞAHİN tarafından hazırlanan "BORİK ASİTİN LAKTOZ İLE BİRLİKTE *GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NİN BAZI BİYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİNE ETKİSİ" başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi (ZKÜ), Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 16/6/2010

Başkan: Yrd. Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL (ZKÜ)



Üye : Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL (ZKÜ)

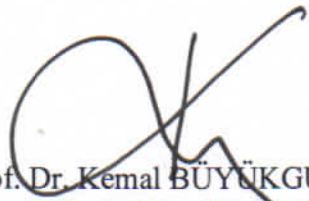


Üye : Yrd. Doç. Dr. Burak ÇOBAN (ZKÜ)



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. 16/6/2010



Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

"Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim."



Veli ŞAHİN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BORİK ASİTİN LAKTOZ İLE BİRLİKTE *GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)’NİN BAZI BİYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİNE ETKİSİ

Veli ŞAHİN

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

Haziran 2010, 81 sayfa

Büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* L. yapay besin ortamında beslenerek borik asitin laktoz ile birlikte böceğin yaşama, gelişimi, eşey oranı, ergin ömür uzunluğu, yumurta verimi, açılma oranı ile son evre larvalarının hemolenfinde oksidatif stresin önemli bir indikatörü olan lipid peroksidasyonu ürünü malondialdehid (MDA) miktarı, önemli bir detoksifikasyon enzimi olan glutatyon S-transferaz (GST), aktivitesi üzerine etkisi laboratuvar şartlarında incelendi. Böceğin birinci evre larvaları 0,05 ve 0,25 M laktoz ile 156, 620, 1250 ve 2500 ppm borik asit içeren yapay besinler ile ergin evreye kadar beslendi. Elde edilen sonuçlar böceğin biyolojik özellikleri, hemolenf MDA miktarı ve GST aktivitesinin denenen konsantrasyonlara ve borik asit ile şeker konsantrasyonları tarafından meydana getirilen oksidatif stresin düzeyine göre değiştiğini göstermiştir.

ÖZET (devam ediyor)

Borik asitin 156 ve 620 ppm'ini 0,05 veya 0,25 M laktoz ile birlikte içeren besinler *G. mellonella*'nın yaşama oranını düşürmüştür, gelişme süresini etkilememiştir. Borik asitin 620 ppm'ini 0,05 veya 0,25 M laktoz ile birlikte içeren besinlerin her ikisinden de yaklaşık % 20 oranında ergin elde edilmiştir. Buna karşılık, borik asitin denenen miktarlarını 0,25 M laktoz ile birlikte içeren her iki besin, erkek ve dişi oranını, dişilerin yumurta verimi ve bırakılan yumurtaların açılma oranını önemli derecede düşürürken borik asitin 156 ppm'ini 0,05 M laktoz ile birlikte içeren besin ise sadece erkek oranını ve yumurta verimini düşürmüştür. Borik asitin 156 ppm'ini 0,05 M laktoz ile birlikte içeren besinden dişi oranına göre % 13 oranında daha fazla erkek birey elde edilmiştir. Bu besin (156 ppm borik asit + 0,05 M laktoz) 7. evre larvalarının hemolenf MDA miktarı ve GST aktivitesini etkilemezken, borik asit miktarının 620 ppm'e çıkarılması MDA miktarını ve GST aktivitesini yaklaşık 4 katı artırmıştır. Buna karşılık borik asitin 156 ve 620 ppm'ini 0,25 M laktoz ile birlikte içeren besinlerde MDA miktarı ve GST aktivitesi önemli derecede artmıştır.

Bu çalışmada sırasıyla iki sonuç elde edilmiştir. Bunlardan ilki, böcek üzerinde en etkili olan borik asit konsantrasyonunun (620 ppm) ve besin almayı uyarıcı olarak borik asit çözeltisine ilave edilen laktoz konsantrasyonunun (0,25 M) belirlenmiş olmasıdır. İkincisi ise borik asitin böcek üzerindeki etkilerinin biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmalarını anlayabilmek amacıyla, borik asit ile beslenen böceğin detoksifikasyon kapasitelerindeki değişimlerin ortaya konmasıdır. Bu çalışmadan elde edilen en önemli sonuç zararlı böcekler ile mücadelede çevre ve hedef olmayan canlılara şu anda kullanımda olan insektisitler kadar zararlı olmayan inorganik insektisit olan borik asitin kullanımına yönelik bir stratejiye öncülük edilmiş olmasıdır.

Anahtar Kelimeler: Borik asit, *Galleria mellonella*, yaşama, Glutasyon S-transferaz, Malondialdehid, laktoz

Bilim Kodu: 401.02.01

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

**EFFECTS OF BORIC ACID IN COMBINATION WITH LACTOSE ON SOME
BIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *GALLERIA
MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)**

Veli ŞAHİN

**Zonguldak Karaelmas University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

Thesisi Advisor: Assist. Prof. Ender BÜYÜKGÜZEL

June 2010, 81 pages

The effects of lactose and boric acid combinations on survival, development, sex ratio, adult longevity, fecundity, hatchability, and an important oxidative stress indicator, lipid peroxidation product, malondialdehyde (MDA) content and a detoxification enzyme glutathione S-transferase (GST) activity in the hemolymph of last instar larvae (one-day old) of greater wax moth *Galleria mellonella* L. as a model of agricultural pests were investigated by rearing the first instar larvae on artificial diets in the laboratory condition. The insect was reared from first-instar larvae on an artificial diets as a bait, containing 0.05 and 0.25 M lactose in combination with boric acid at 156, 620, 1250 or 2500 ppm to adult stage. The results also showed a concentration- dependent variation in biological traits, and hemolymph MDA content and GST activities and these biological and biochemical activities were altered in response to the perceived levels of boric acid-induced oxidative stress.

ABSTRACT (continued)

The diets containing 156 or 620 ppm boric acid concentrations in combination with 0.25 M lactose resulted in decreased survival rate but they have no significant effect on development of *G. mellonella*. Both the diets containing 620 ppm boric acid in combination with 0.05 or 0.25 M lactose produced about 20% of adult yields. However, the diets containing 156 or 620 ppm of boric acid in combination with 0.25 M lactose resulted in significantly reduced male and female ratio, fecundity and hatchability while the diet containing 156 ppm boric acid and 0.05 M lactose significantly decreased only female percentage and egg production. Diet containing 156 ppm boric acid and 0.05 M lactose produced 13% of more male than female percentage. This diet did not significantly affect hemolymph MDA content and GST activity of 7th-instars. However, increasing the boric acid concentration to 620 ppm significantly increased MDA content and GST activity by about four-fold. However, the diets containing 156 or 620 ppm of boric acid in combination with 0.25 M lactose resulted in significantly increased MDA content and GST activity.

I reported two outcomes from this study, namely, first is to determine most effective boric acid concentration as 620 ppm, and most effective lactose concentration (0.25 M) as a phagostimulant or synergistic in a boric acid bait. Second is to evaluate alterations in detoxification capacity of the insect orally exposed to boric acid. The most important result obtained from this research is to have an important positive effect on agriculture and an additive importance on economy of our country, because our work could led to a new strategy for controlling insects based on inorganic insecticide, boric acid that will not be as harmful to the environment and nontarget animals as are the current chemical insecticides.

Key Words: Boric acid, *Galleria mellonella*, survival, Glutathione S-transferase, malondialdehyde, lactose

Science Code: 401.02.01

TEŞEKKÜR

Bu konuda bana çalışma fırsatı veren, araştırma sırasında ilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL'e (ZKÜ), çalışmamın her aşamasında değerli öneri ve bilgilerinden yararlandığım Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e (ZKÜ), teşekkürlerimi bir borç bilirim. Borik asiti bu çalışma için hediye eden Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü'ne, çalışmamın deneysel ve yazma aşamasında moral desteği ve yardımlarını esirgemeyen aileme ve yüksek lisans arkadaşım Beyhan ARI'ya teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışma Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü (BOREN) tarafından desteklenmiştir (PROJE NO: BOREN-2008-Ç0194). BOREN'in yönetim ve danışma kurullarına ve tüm personeline ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL.....	.ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
 BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	 1
 BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER	 15
 BÖLÜM 3 MATERYAL VE METOT	 21
3.1 <i>GALLERIA MELLONELLA</i> L. KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI	21
3.2 BORİK ASİTİN DENEYLERDE KULLANILMASI	22
3.3 LAKTOZUN DENEYLERDE KULLANILMASI.....	22
3.4 BORİK ASİT VE LAKTOZUN BİRLİKTE DENEYLERDE KULLANILMASI	23
3.5 LARVALARIN ELDE EDİLMESİ.....	23
3.6 YAŞAMA, GELİŞME, EŞEY ORANI VE ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ BESLENME DENEYLERİ	23
3.7 DİŞİLERİN YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANI İLE İLGİLİ DENEYLER	24
3.8 MDA MİKTARI VE GST AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ	25
3.8.1 Hemolenf İzolasyonu	26
3.8.2 Malondialdehid (MDA).....	26
3.8.3 Glutatyon S-transferaz (GST).....	26

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3.9 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	27
BÖLÜM 4 ARAŞTIRMA BULGULARI	29
4.1 BORİK ASİTİN VE LAKTOZUN (0,05 M) <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARININ YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANINA ETKİSİ	29
4.2 BORİK ASİTİN VE LAKTOZUN (0,05 M) <i>G. MELLONELLA</i> ’NİN ÖMÜR UZUNLUĞU, YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANINA ETKİSİ.....	30
4.3 BORİK ASİTİN VE LAKTOZUN (0,25 M) <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARININ YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANINA ETKİSİ	30
4.4 BORİK ASİTİN VE LAKTOZUN (0,25 M) <i>G. MELLONELLA</i> ’NİN ÖMÜR UZUNLUĞU, YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANINA ETKİSİ.....	31
4.5 BORİK ASİTİN VE LAKTOZUN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARININ HEMOLENF MDA MİKTARI VE GST AKTİVİTESİNE ETKİSİ	32
BÖLÜM 5 TARTIŞMA	39
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	81

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 Borik asitin ve laktozun (0,05 M) <i>G. mellonella</i> larvalarının hemolenf MDA miktarı (a) ve GST aktivitesine etkisi (b)	37
4.2 Borik asitin ve laktozun (0,25 M) <i>G. mellonella</i> larvalarının hemolenf MDA miktarı (a) ve GST aktivitesine etkisi (b)	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 Borik asitin ve laktozun (0,05 M) <i>G. mellonella</i> larvalarının yaşama, gelişme ve eşey oranına etkisi	33
4.2 Borik asitin ve laktozun (0,05 M) <i>G. mellonella</i> 'nın ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranına etkisi	34
4.3 Borik asitin ve laktozun (0,25 M) <i>G. mellonella</i> larvalarının yaşama, gelişme ve eşey oranına etkisi	35
4.4 Borik asitin ve laktozun (0,25 M) <i>G. mellonella</i> 'nın ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranına etkisi	36

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Lepidoptera takımına ait türlerin larvaları tarımsal ve endüstriyel bitkilere zarar vererek ekonomik açıdan önemli kayıplara sebep olmaktadır. Özellikle Pyralidae familyasına dahil türler ekonomik ve besinsel öneme sahip bitkilere ve hasat sonrası depolanmış ürünlere zarar vermelerinden dolayı her yıl ülkemiz ekonomisinde milyonlarca dolar kayıba yol açmaktadır. Zararlı lepidopter türlerin geliştirilen yapay besinler ile laboratuvar şartlarında kültüre alınması geliştirilecek kimyasal mücadele yöntemlerine ışık tutmak üzere böceklerin ekoloji ve fizyolojilerinin anlaşılmasında önemli bir yöntemdir (Al-izzi et al. 1987, Keena et al. 1995). Diğer taraftan laboratuvarda yapılan beslenme çalışmaları denenecek kimyasalların etki mekanizmalarının aydınlatılmasına yönelik böceklerdeki bazı metabolik olayların moleküler düzeyde incelenmesine de olanak sağlar (Mandato et al. 1997, Pohlen and Baldwin 2001, Büyükgüzel et al. 2002, Tunaz et al. 2002). Bu laboratuvar çalışmaları insektisit geliştirme ve denemeye yönelik yapılacak arazi ve alan çalışmaları için de önemli bir aşamadır.

Doğrudan sinir sistemine etkili olan organofosfatlı bileşikler, fenitrotiyon (*Fenitrothion*, Filit NP ve Sumitiyon 20), endosülfan (Hektiyoneks 35 WP), malatyon (*Malathion*, Hektiyon 25 WP) gibi kimyasal insektisitlerin zararlı böceklerin kimyasal mücadelesinde kullanımının artışı, çevre ve hedef olmayan diğer canlılar açısından önemli bir tehdit unsuru oluşturmaktadır (Fenske et al. 2002, Bhavan-Saravana and Geraldin 2001). Ayrıca zararlı böceklerle mücadelede sentetik analoglar, örneğin juvenil hormon analogu, priproksifen (Sumilaru 0,5 G), sentetik piretroidler, D-fenotrin (Neosumi NS), sipermetrin (*Cypermethrin*, Cyper) ve karbamat grubu kimyasallar gibi çevreye zararlı etkisi olan insektisitler hala kullanımdadır (He et al. 2002). Bu insektisitlere karşı böceklerin direnç geliştirdiği bilinmektedir (Barata 2001, Anderson and Zhu 2004). Ayrıca malatyon gibi organofosfatlı insektisitlerin geniş bir alanda kullanımı önemli çevresel ve toplumsal sorunlara yol açmaktadır. Bu amaçla son çalışmalar hedef olmayan yararlı böcekler, insan ve diğer canlılara karşı toksisitesi düşük ve doğrudan etkisi bulunmayan bor bileşiklerinin alternatif kimyasal mücadele yöntemlerinde kullanılması üzerine yoğunlaşmıştır.

Bor (B) bitkiler (Warington 1923) ve hayvanlar (Ford et al. 1998, Rowe et al. 1998, Park et al. 2004) için temel bir mikrobesein kaynağıdır. Bitkilerde borat hücre içi bağlanma ve hücre yapısının devamı için gerekli olan hücre duvarında bulunan pektik polisakkarit ramnogalakturonan II ile çapraz bağ yapar (Ishii and Matsunaga 1996, Kobayashi et al. 1996, O'Neil et al. 1996). Borun hayvanlardaki kesin rolü açık olmamasına rağmen bor eksikliğinin Afrika pençeli kurbağası *Xenopus laevis* (Wagler)'in embriyodan larva gelişimine doğru sindirim kanalı ve gözlerinde anormal gelişime sebep olduğu gösterilmiştir (Ford et al. 1998). Bor aynı zamanda mayanın (*Saccharomyces cerevisiae*) (Meyen ex E.C. Hansen) normal çoğalabilmesi için gereklidir (Bennett et al. 1999). Bu amaçla gerekli borun hücrelere sağlanabilmesi için besin ile alınan borun taşınmasının düzenlenmesi gereklidir.

Borun zarın bir tarafından diğer tarafına taşınmasında (transmembran taşınma) üç yol belirlenmiştir. Birkaç yıl öncesine kadar plazma zarı boyunca borun pasif difüzyon ile taşındığı düşünülmekteydi (Hu and Brown 1997). Son zamanlarda başlıca intrinsik protein (MIP) ile kolaylaştırılmış boron geçirgenliği ve bir taşıyıcı aracılığıyla aktif bor taşınması belirlenmiştir. Dordas vd. (2000) *X. laevis* yumurtalarının borik asit alımı, mısır bitkisinden izole edilen bir MIP olan PIP1'in cRNA'sının enjeksiyonu ile kolaylaştırılmıştır. Bu yumurta hücrelerini kullanarak *Arabidopsis thaliana* (Linnaeus Heynh.) kökenli diğer MIP proteinleri, PIP1b, PIP2a ve PIP2b proteinlerinin borik asit alımını artırdığı gösterilmiştir (Nuttall 2000). *A. thaliana*'da plazma zarında bor elementini hücre dışına atmak için bir taşıyıcı protein olan BOR1 son zamanlarda tespit edilmiştir (Takano et al. 2002). *S. cerevisiae*'deki homolog protein ScBOR1'in bor elementini hücre dışına taşıyan bir taşıyıcı protein olduğu bilinmektedir. Ayrıca memelilerde bulunan bir AtBOR1 homolog proteini olan NaBC1 Na⁺ ile eşleşen bir bor taşıyıcı protein olarak iş gördüğü tespit edilmiştir. *BOR1* geninin homoloğu maya, bitki ve memelileri içeren bir çok organizmada bulunmuştur (Park et al. 2004). Yüksek miktarlardaki borun kendi taşıyıcı proteini BOR1'i parçaladığı tespit edilmiştir. 10 mM borik asit *Arabidopsis*'de öldürücü olduğu halde, *S. cerevisiae* 80 mM bor bulunan ortamda yaşayabilmektedir ve bu özelliğinden dolayı bora toleranslı bir organizma olarak kabul edilir. Mayada bor taşıyıcı protein BOR1 hücre zarında bulunur. BOR1'e ilaveten DUR3 ve FPS1 proteinleri de mayada bor toleransı ile ilgilidir. DUR3 plazma zarında bulunan bir protein olup üre ve poliamin taşınmasında görevlidir. FPS1 ise ana intrinsik protein olup gliserol, asetik asit, arsenit ve antimonit taşınmasında rol oynar. Bu iki protein mayada bor üzerine zıt etki yapar. FPS1'in sentezlenmesi protoplazmadaki boru düşürürken, DUR3 proteini ise bor miktarında hafif artışa sebep olur. *ATRI* geni mayada bor tolerans geni olarak belirlenmiştir.

Bu genin ürünü ilaç- H^+ antiportu olan DHA2 ailesinin bir üyesi olup zarı boydan boya 14 defa geçen bir transmembran proteinidir. Mayada yapılan bir çalışmada ATR1 genin ürünü arttığında bora karşı aşırı derecede direnç geliştiği hücre içi bor seviyesinin düştüğü gözlenirken, ATR1 geninden yoksun hücrelerde bora önemli derecede hassasiyet gelişmiş ve hücre içi bor seviyesi artmıştır (Kaya et al. 2009).

Borik asit bor elementinin bir türevidir. Bor minerali ilk defa 1808 yılında izole edilmiştir. Doğada oksijenle birlikte boraks halinde bulunur. Önemli bileşikleri borik asit ve borakstır. Suda kolay eriyen borik asit kokusuz, uçucu olmayan, beyaz kristal granüller veya toz halindedir ve uzun süreden beri hamam böceği başta olmak üzere kapalı alanlardaki insan ve hayvan sağlığını doğrudan ya da dolaylı tehdit eden böceklerin mücadelesinde kullanılmaktadır (Lang and Trecee 1972, Ebeling 1995). Böceğin metabolizması üzerinde bir mide zehiri gibi etkisini gösteren borik asit son zamanlarda inorganik insektisit olarak kullanımdaki yerini almaya başlamıştır. Bu madde ön (foregut) ve orta bağırsağa (midgut) zarar verdiğinden besin alınmasını ve alınan besinin sindirilmesini önleyerek böceğin ölmesine sebep olmaktadır (Cochran 1995). Borik asitin böceklerdeki etki mekanizması tam olarak ortaya çıkarılmamış ancak bor mineralinin sindirim işlemini bozarak böcekleri öldürdüğü bilinmektedir. Bu durum böceğin yaşama ve gelişimi için gerekli olan besinsel ihtiyacını karşılayamamasına sebep olmaktadır. Borat iyonları aynı zamanda bir çok işlevsel organik grup ve şeker alkollerini ile güçlü kompleksler oluştururlar (Williams and Atalla 1981, Hu et al. 1997). Diğer taraftan borun hücreler arasındaki bağlantı bölgelerini tahrip ettiği bilinmektedir (Klotz et al. 2000). Ayrıca borik asitin zararlılarla mücadelede kullanılmasının diğer nedeni kısırlaştırıcı etkisinden dolayı böceğin çoğalmasını önlemesidir (Borkovec et al. 1969, Settepani et al. 1969, Zhou and le Patourel 1990). Borik asit aynı zamanda besinle karıştırıldığında böceğin besin almasını uyarır. Bunun sonucunda tüketilen besin miktarının artması ile alınan borik asit miktarı da artar. Borik asit özellikle bal arıları, kuş, balık, sucul omurgasızlar ve biyolojik kontrol ajanı yararlı böceklerle ve memelilere karşı toksik etkisi çok düşüktür (Weir and Fisher 1972). Fosfor ve kalsiyum böceklerin larval evresi için oldukça önemli besinsel elementlerdir. Borik asit ve sodyum tetraboraks kalsiyum, magnezyum, bakır ve fosfor gibi besinsel elementlerin metabolizmasını etkiler. Besindeki bor türevleri hızlı ve tam olarak absorbe edilir. Besinle alınan bor minerali ya alınır alınmaz ya da absorpsiyondan hemen sonra borik asite (H_3BO_3) dönüştürülür. Borik asit yüksek konsantrasyonlarda karbohidratlar (monosakkarit ve polisakkaritler), nükleotidler (adenozin monofosfat, NAD) ve

vitaminler (askorbik asit, pridoksin ve riboflavin) ile kompleks oluşturarak bu besinsel moleküllerin yeterli derecede alınmasını önler (Xue and Barnard 2003).

Borik asitin zararlı böceklerle mücadelede insektisit ve böcek uzaklaştırıcı, tropikal meyvelerde fungusit olarak kullanılmasına Amerika'da uzun süreden bu yana izin verilmiş ve tescil edilmiştir. Borik asit ve farklı türevlerini içeren insektisitlerin çoğu Amerika ve Avrupa ülkelerinde Perma-Dust PT240 (Borik asit), Dragon (% 99 ortofosforik asit ve %1 etkisiz bileşen), Bora-care ve Timbor veya Bora care (Sodyum borat, disodium oktaborat tetrahidrat) gibi bir çok ticari isimlerle satışa sunulmuş olup emulsifiye edilebilir, sulandırılabilir ve çözünebilir toz şeklinde ya da mikrokapsüllenmiş halde kullanıma hazır olarak temin edilebilir. Zararlılarla mücadele ile ilgilenen uzmanlar bu insektisitleri ağaçları enfekte eden bazı kın kanatlı böceklerin kontrolü ve bu ağaçların belli bir bölgesinde termitler tarafından verilebilecek zararı önlemek için yaygın olarak kullanmaktadır. Diğer taraftan, sodyum tetraborat püskürtme (spray) şeklinde meyve sineği *Anastrepha suspensa* (Loew) gibi ekonomik kayıba yol açan tarımsal zararlıların kontrolünde çevre ve hedef olmayan canlılara oldukça toksik olan organofosfatlı insektisitlere karşı güçlü bir alternatif olmuştur. Son zamanlarda çalışmalar, besi hayvanı yetiştirme çiftliklerinde bu hayvanlara doğrudan zarar veren ya da yemleri aracılığıyla çeşitli hastalıkların bulaşmasına sebep olan vektör böceklerle mücadele yöntemlerine yoğunlaşmıştır (Zurek et al. 2003).

Bazı zararlı böceklerin mücadelesinde hedef olmayan diğer canlılara karşı düşük toksisiteye sahip, uçucu olmayan inorganik insektisitler borik asit ve türevleri sodyum tetraborat (boraks), disodyum oktaborat tetrahidratın şeker çözeltileri ile oluşturulduğu karışımlar kullanılmıştır. Sodyum tetraboratın % 0,1'lik konsantrasyonu tropik meyvelere zarar veren *A. suspensa*'nın ölüm oranını artırmış, üremesini yavaşlatmıştır (Yang et al. 2000b). Aynı maddenin % 0,5'lik çözeltisi yumurta üretimi ve açılımını azaltmıştır. Laboratuvar şartlarında yapılan çalışmalar borik asitin % 1'lik çözeltisinin % 10'luk süktroz çözeltisi ile karışımının bir sivrisinek türü, *Aedes albopictus* (Skuse) popülasyonunu % 98 oranında azalttığını ortaya çıkarmıştır (Xue and Barnard 2003). Türkiyede zararlılarla yapılan mücadele çalışmalarında halk arasında geleneksel olarak kullanılan borik asitin inorganik insektisit olarak ticari formülasyonları tarım zararlıları ve haşere ilaçları üreten firmalarda bulunmamakta olup profesyonel anlamda kullanılmaktadır.

Amerika’da borik asitin etkinliğinin değerlendirilmesine yönelik bir pilot program kapsamında askeri tesislerde borik asitin aylık sprey yöntemi ile uygulanan klorpirifos (Dursban®)’dan daha etkili olduğu bulunmuştur. Amerika’da okul kafeteryasında hamam böcekleri ile mücadelede entegre zararlı mücadelesi (Integrated Pest Mangement, IPM) ile birlikte çatlak, yarık ve kovuklara borik asit uygulanması sonucunda bir kovukta bir borik asit tuzağındaki böcek miktarı üç ay içerisinde 40’dan 3’e kadar inmiştir. Tek borik asit uygulaması ile iki yıl boyunca bu oran muhafaza edilmiştir. Aynı miktarda Dursban® ile kontrol çalışmalarında iki defa uygulama gerekmektedir. Bu insektisit ile mücadelede insektisit bir çok defa uygulanması dikkate alındığında borik asitin ücret olarak daha ekonomik olduğu anlaşılmaktadır (Daar 1988).

Apis mellifera (Linnaeus)’nın besinine 2,5 ve 7,5 mg/g (mg/g besin) oranında ilave edilen borik asit, kontrol grubuna göre işçi larvaların ölüm oranını ilerleyen günlere göre artırmış olup borik asitin 2,5 mg’ı 5. ve 6. günde larvaları % 100 oranında öldürürken, 7,5 mg’da 4. günde %100 ölüm oranına ulaşılmıştır (Cruz et al. 2009). Bu çalışmada ışık mikroskobi analizleri besine 1,0 ve 2,5 mg borik asit ilave edildiğinde orta bağırsak hücrelerinde sitoplazmik vakuolleşmenin başladığını, 7,5 mg borik asitte ise yoğun bir vakuolleşme olduğunu göstermiştir. Ayrıca yağ doku hücrelerinde piknotik çekirdekler ile birlikte hücre fragmentasyonları grlmştir. Ultrayapı analizi ile ilgili olarak yapılan taramalı elektron mikroskop çalışmaları ise 7,5 mg borik asitin mitokondrilerin bazı bölgelerinde elektron yoğun granüllerin oluşumuna, mitokondrilerin hacimlerinde artıştan dolayı tipik morfolojik yapılarında bozulmaya sebep olduğunu göstermiştir (Cruz et al. 2009).

Borik asitin tek başına ya da borik asitin esitli biyolojik kontrol ajanları entomopatojenik bakteri ve virüsler ile karışım halinde esitli zararlı böceklerin mücadelesinde kullanımı çalışmaları çok eskilere dayanmaktadır. Borik asitin besinler ile karışım halinde, kara sineklerin ve Alman hamam böceğinin mücadelesinde oldukça etkili olduğu 1940’larda tespit edilmiştir (Midgley and Dunklee 1943, Bare 1945). Doanne ve Wallis (1964) *Bacillus thuringiensis* (Berliner)’in patojenitesi üzerine etkisini araştırdıkları bir çok kimyasal arasından borik asit ve *B. thuringiensis*’in bir kombinasyonunun kır tırtılı türü *Prothetria dispar* (Linnaeus) larvalarının ölüm oranını artırdığını tespit etmişlerdir. Bazı termit türleri, *Microcerotermes championi* (Snyder), *Odontotermes obesus* (Rambur) ve *Bifiditermes beelsoni* (Gardner)’ye karşı % 1’lik borik asit tarafından *B. thuringiensis*’in patojenitesini artırmaya yönelik çalışma yapılmıştır (Khan 2006). Bu çalışmada % 1’lik borik asitin tek

başına bu termit türlerine toksik etki yaptığı belirlenirken, % 1'lik borik asit ve belirli dozlarda *B. thuringiensis* karışımı ile beslenen böceklerde ölüm oranının önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. Bu inorganik insektisit *B. thuringiensis* ve bazı bakulovirüslerin böcekler üzerindeki aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir (Shapiro and Bell 1982, Morris et al. 1995). Örneğin, soya fasülyesi zararlısı, *Anticarsia gemmatilis* (Hübner)'in nükleopolihedrovirüsünün öldürücü konsantrasyonu (LC), bu virüs borik asitin % 0,045'lik konsantrasyonu ile birlikte denendiğinde önemli derecede düşmüştür (Morales et al. 1997). Benzer sonuçlar % 0,5 ve % 1 oranında borik asitin *Lymantria dispar* (Linnaeus) ve *Spodoptera litura* (Fabricius)'nın nükleopolihedrovirüsleri (NPV) ile hazırlanan karışımlarından da elde edilmiştir (Shapiro and Bell 1982, Chaudhari 1992). Cisneros vd. (2002) *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) nükleopolihedrovirüs (sfMNPV)'ü ile birlikte bir fagostimülant ya da virüs etkisini artırıcı bir madde olarak borik asiti kullanarak bu virüsün *S. frugiperda* üzerinde öldürücü etkisini artırmaya çalışmıştır. Bu çalışmada borik asitin % 0,5 ve %1'lik konsantrasyonları tek başına *S. frugiperda*'nın ölüm oranı üzerine etkili olmamıştır. Borik asit %1'lik konsantrasyonun üzerindeki konsantrasyonlarda virüsün belirli konsantrasyonu (80 OBs/mm²) ile karıştırıldığında, virüsün böceğin ikinci evre larvaları üzerindeki öldürücü etkisi virüsün tek başına sebep olduğu ölüm oranına göre önemli derecede artmıştır. Aynı çalışmada yapılan arazi denemelerinde virüs ve % 1 borik asit içeren mısır unu granüllerinin mısır bitkisine uygulanmasının da virüsün tek başına uygulanmasına göre böceğin ölüm oranının önemli derecede arttığı görülmüştür. Cisneros vd. (2002) aynı çalışmada laboratuvar ortamında % 1 ve % 4 borik asit içeren mısır unu granüllerinin Dermaptera takımına ait tür olan kulağa kaçan *Doru taeniatum* (Dohrn)'a karşı toksik olmadığını belirlemiştir. Diğer taraftan, aynı araştırmacılar mısır bitkilerine arazide püskürtme yöntemi ile uygulanan aynı konsantrasyonlardaki borik asitin (% 1 ve % 4) sentetik insektisitlere (klorpirifos) göre doğal düşmanların [kulağa kaçan böcekleri, predatör böcekler, predatör nöropterler ve kın kanatlılar, örümcekler, avcı sinek larvaları (syrphid)] ya da diğer hedef olmayan böceklerin [(lepidopter larvaları, fitofaj kınkanatlılar, tripler ve yaprak biti kolonileri (afitler)] bulunma oranını önemli derecede azaltmadığını göstermişlerdir.

Ülkemiz ekonomisine önemli katkı sağlayan kovan ürünlerinin önemli zararlıları üzerinde yapılacak bu çalışma hem ekonomik öneme sahip bitkilerin yetiştirilmesi hem de hasat sonrası ürünlerin saklanması sırasında zararlı böceklerin etkilerini ortadan kaldırmaya yönelik girişimler için yönlendirici olacaktır. Bu çalışmada yapay besin ile alınan borik asitin yüksek miktarlarının larvaların sindirim sistemini dejenere ederek yeterli besin alınmasını

engelleyeceği düşünüldüğünden pup ve ergin evreye ulaşma oranı azalacaktır. Diğer bir çalışma Alman hamam böceği *Blattella germanica* (Linnaeus) üzerinde yüksek konsantrasyonlarda (0,1-0,5 M) süktroz çözeltisi ile hazırlanmış % 1 ve 2'lik borik asit çözeltisi kullanılarak yapılmıştır. Ancak yüksek şeker (0,5 M) ve borik asit (% 2) konsantrasyonlarının karışımları böceği besinden uzaklaştırıcı ve dolayısıyla besin almayı önleyici etki yaparak böcek üzerinde etkili olmamıştır. Borik asitin % 1'lik çözeltisi 0,5 M süktroz ile karıştırıldığında ise *B. germanica* popülasyonunu önemli derecede düşürmüştür (Gore and Schal 2004, Gore et al. 2004).

Böceklerin kimyasal maddeleri algılama duyuları oldukça hassas olup özel bir türün besin çeşidi ve ekolojisine göre iyi adapte olmuştur. Bu açıdan diğer canlı gruplar ile ortak özellikleri bulunmaktadır. Tüm hayvansal organizmalarda karbohidratların besleyici değeri bunları metabolize eden enzimlere sahip olmaları yanında karbohidratların yapı, tat ve lezzet gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri ile de ilişkilidir. Örneğin α -metil glukopiranozid insanlar kadar sinek, karınca, bal arısı ve domuzlar için de tatlı bir özelliğe sahiptir (Glaser 2002). Böceklerin ağız parçaları, tarsi, antenler veya diğer vücut bölümlerindeki tat reseptörleri, sunulan besinin tadının alınması ve belirlenmesini sağlar.

Enerji ihtiyacını karşılamak ve besin almayı hızlandırıcı (iştah açıcı) olarak karbohidratlar böceklerin büyük bir çoğunluğu tarafından ihtiyaç duyulmaktadır. Dolayısıyla besinsel karbohidratlar böceklerin hem vücut işlevleri hem de üreme yeteneklerini devam ettirebilmeleri için önemlidir. Ayrıca karbohidratlar böceklerde yağ asiti sentezinde de öncül maddeler olarak rol oynadığı gibi amino asit sentezinde de katkısı bulunmaktadır. Böcekler için karbohidratlar önemli olup ancak lipid ve amino asitlerden sentezleyebildikleri için esansiyel değildir (Dadd 1985, Nation 2001, Genç 2006). Böceklerin şeker ihtiyaçlarına yönelik ve şekerlerin böcekler üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalar oldukça eski tarihlere kadar uzanmaktadır. Farklı takımlara ait böceklerden Diptera takımına ait *Aedes aegypti* (Linnaeus), *Musca domestica* (Linnaeus), *Sarcophaga bulata* (Parker); Cleoptera takımına ait *Anthonomus grandis* (Boheman) ve Blattaria takımına ait Alman hamam böceği *B. germanica* üzerinde en olumlu etki monosakkaritlerden glukoz ve fruktoz, disakkaritlerden süktroz, polisakkaritlerden ise nişasta, glikojen ve dekstrin yapmıştır (Galun and Fraenkel 1957, Dadd 1960, Gordon 1968, Nettles et al. 1972). Sorboz, galaktoz, laktoz ve inulin gibi karbohidratlar ise denenilen böcekler tarafından kullanılmamıştır (Auclair et al. 1972). Karaçekirge *Melanogryllus desertus* (Pall.)'un büyümesi ve yaşaması üzerine laktoz önleyici

etki yaparken sükröz, maltoz, glukoz, mannoz, trehaloz, dekstrin, glikojen, nişasta ve bazı şeker alkolleri olumlu bir etkiye sahip olmuşlar monosakkaritler arasında en olumlu etkiyi glukoz, disakkaritler arasında ise sükröz yapmıştır (Mehmetoğlu ve Başhan 1996). Genellikle şekerlerin lepidoptera takımına ait bir çok türün beslenme davranışını da uyardığı uzun süreden bu yana bilinmektedir (Meisner et al. 1974, Cobbinah et al. 1982). Bu çalışmalar karbohidratların böceklerin yaşama ve gelişimi için gerekli olduğunu ancak bazı durumlarda şekerin çeşidi ve konsantrasyonuna, böcek türüne göre değişmekle beraber besin almayı hızlandırıcı (fagositümulant) ya da önleyici, uzaklaştırıcı olarak etki gösterdiklerini belirtmişlerdir. Fagositümulantlar, kimyasal olarak çekici maddeler ve kimyasal uzaklaştırıcılar bir besinin böcek tarafından kabul edilmesi ya da reddedilmesinde önemli faktörlerdir. Fagositümulantlar besinsel değeri olan bir bileşen olabileceği gibi besinsel olmayan bir katkı maddesi de olabilir. Heksozlar ve sükröz, yaprak ile beslenen bir çok fitofaj böcek için ana besin maddesi olduğu gibi aynı zamanda fagositümulanttır (Chapman 1998). Diğer taraftan bir şeker kökü yanında şeker olmayan bir yapı içeren glikozitler de bazı böcekler için fagositümulant etkisinin yanında uzaklaştırıcı olarak da rol oynar (Renwick and Huang 1995).

Böcekler yaşamlarını devam ettirebilmeleri, beslenme, uçuş, üreme ve diğer aktivitelerini gerçekleştirebilmeleri için düzenli olarak karbohidrat tüketmek zorundadırlar (Foster 1995). Çalışmalar erkek ve dişi erginlerin bu amaçla bitki orjinli şekerleri bitkisel konakları üzerinde beslenmeleri sırasında aldıklarını ya da ergin evrede kullanmak üzere larval evrede bu şekerleri temin ettiklerini göstermiştir (Burkett et al. 1999). Besine ilave edilen galaktoz *Pieris brassicae* (Linnaeus)'nın son evre larvalarının orta bağırsağında % 90 oranında sindirilmiştir. Emilimden sonra hemolenfteki miktarı hızla artmış olup orta bağırsaktaki miktarı düşük bulunmuştur (Turunen 1992). Bu çalışmanın sonucunda galaktoz orta bağırsak hücrelerinde tamamen glukozla çevrilmekte ve glukoz hemolenfe salınarak yağ dokuda hızlı bir şekilde trehaloza dönüştüğü gözlenmiştir. Orta bağırsak hücrelerinde galaktoz emilimi sonrasında lipidlerin sentezlendiği (fosfotidil kolin, fosfotidil etanolamin, triaçil gliserol) görülmüştür. Larval evrede alınan besinin besinsel kalite ve miktarının ergin gelişimi ve erginlerin biyolojik özellikleri için önemli olduğu bilinmektedir. Bu şekildeki beslenme davranışı böceklerin kimyasal mücadelesinde besin almayı artırıcı olarak şekere dayalı toksik besinlerin kullanımını gündeme getirmiştir. Bu şekilde hazırlanan borik asit içeren besinsel karışımların çeşitli bitkilerin yüzeyine püskürtme yöntemi ile uygulanması bitki şekeri ve nektar sıvısı arayan böcekler için toksik etki yaparak böceklerin ölümüne sebep olmaktadır. Benzer etkiler laboratuvar şartlarında ve arazi ortamında

gözlenmiştir. Bu şekilde hazırlanan toksik besin karışımlarının öldürücü olmayan dozlarının böceğin yaşama, konak arama, beslenme davranışını, yumurta verimini düşürdüğü tespit edilmiştir. Borik asitin (inorganik bir madde) Alman hamam böceği *B. germanica*'nın (Insecta, Dictyoptera) ilk gonadotrofik döngüsü (0, 2, 4 ve 6. günler) boyunca üreme üzerindeki etkisi araştırılmış olup bu inorganik insektisit her iki ovaryumda da oosit sayısını ve oositlerin boyutunu azalttığı tespit edilmiştir (Kilani-Morakchi et al. 2005). Ayrıca bu çalışma borik asitin yumurtalıkların protein, lipit ve karbohidrat bileşenlerini önemli derecede azalttığını göstermiştir. Bazı şeker çözeltilerinin çeşitli kimyasallar ile özellikle borik asit ile karışım halinde besinlere ilave edilmesi tarımsal ve endüstriyel bitki zararlıların mücadelesinde kullanılabilir. Bu karışımlar sivrisinek gibi halk sağlığını tehdit eden ve bazı virüs, bakteri ve diğer hastalık ajanlarının taşıyıcısı bir çok böcek ile hamam böceği ve karınca gibi kapalı alan zararlılarının kontrolünde de eskiden beri alışlagelmiş bir şekilde kullanılmaktadır (Hayes and Laws 1991, Klotz and Moss 1996, Klotz et al. 1996, Klotz et al. 1997a,b, Xue and Barnard 2003). Bu böceklerin mücadelesinde borik asitin şeker ile karışımları jel, püskürtme veya toz şeklinde kapalı alanlara uygulanabildiği gibi tarımsal alanlarda bitkilerin yaprak, kök ve gövdelerine de benzer yollar ile uygulanabilmektedir. Fipronil, hidrametilon, diflubenzuron gibi insektisitlerin besinsel karışımları ile bazı piretroid ve organofosfat insektisitlerin öldürücü olmayan dozlarının çeşitli böceklerin mücadelesinde kullanıldığında borik asite göre hedef böceğe verdikleri zarar yanında çevreye ve hedef olmayan organizmalara da zararlı oldukları tespit edilmiştir (Zhang et al. 1990, Budai and Vinuela 1996, Nath and Kumar 1999, Ulloa-Chacon and Jaramillo 2003). Borik asitin % 10'luk şeker çözeltisi içinde % 0,5'lik besin karışımı hayalet karınca *Tapinoma melanocephalum* (Fabricius)'nın işçi, kraliçe erginleri ile larva ve puplarını üç hafta sonunda % 100 oranında öldürmüştür. Fipronilin % 0,05 konsantrasyonu ilk hafta içinde bu karınca türünün tüm kolonilerini öldürmüş, hidrametilonun % 2 konsantrasyonu ise kolonilerin % 83'ünü dördüncü haftanın sonunda öldürmüştür (Ulloa-Chacon and Jaramillo 2003).

Canlıların kimyasal maddeler veya çevre kirliliğine neden olan maddeler gibi çeşitli yabancı maddelerin etkileri altında kalmaları, serbest oksijen radikallerinin oluşumuna ve dolayısıyla metabolik olayların bozulmasına neden olur. Serbest oksijen radikalleri sahip oldukları paylaşılmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif atom ve moleküllerdir. Bu radikaller hücre zarının doymamış yağ asitleri, protein bileşimi üzerine zarar vermektedir (Halliwell 1994, Heinle and Betz 1994). Serbest radikallerin zar ile etkileştiği durumda enzimler, hormonlar ve nörotransmitter maddeler olumsuz yönde etkilenmektedir. Patofizyolojik durumlarda üretilen serbest oksijen radikalleri

böceklerde de antioksidan sistemler ile uzaklaştırılır (Felton and Duffey 1991, Felton and Summers 1995, Krishnan and Sehna 2006). Omurgalılarda olduğu gibi böceklerde serbest oksijen radikallerinin yapmış olduğu hasarı önleyen enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemleri vardır. Enzimatik sistemin başlıcaları süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSH-Rd), glutatyon-S-transferaz (GST) enzimleridir (Ahmad et al. 1989, 1991, 2005, Ahmad 1992, Kono and Shishido 1992, Krishnan and Kodrik 2006). Bunların yanında, *Helicoverpa zea* (Boddie) türünün larva evresinde antioksidan enzim askorbat peroksidazın (Mathews et al. 1998) ve *Drosophila*'da ise tiyoredoksin peroksidazın (Missirlis et al. 2003) varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca oluşan serbest radikaller sonucu hücre zarının ve diğer hücresel lipid yapısının bozulmasıyla lipid peroksidasyonu olarak tanımlanan bir dizi reaksiyon gerçekleşir ve sonuçta aldehit türevleri özellikle malondialdehit (MDA) oluşur. MDA miktarının yükselmesi lipid peroksidasyonu seviyesinin önemli bir göstergesidir (Ahmad et al. 1995, Mano et al. 1995, Krishnan et al. 2009). Bu kullanılan inorganik insektisit borik asitin böceğin metabolik faaliyetleri üzerine etkilerinin araştırılması, diğer böceklerle mücadelede kullanılan maddeler için de bir ışık olacaktır. Bir organofosfat insektisit olan fenitrotiyonun pamuk çizgili yaprak kurdu *Spodoptera exigua* (Hübner) ve un zararlısı olan *Tenebrio molitor* (Linnaeus) türlerinin yağ dokusu ağırlığında ve antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktiviteleri üzerinde değişikliğe sebep olduğu gösterilmiştir (Adamski et al. 2003). Kadmiyum, bir heteropter tür *Oncopeltus fasciatus* (Dallas)'un lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA seviyesini arttırmış ve bazı antioksidan enzimlerin aktivitelerini düşürmüştür (Cervera et al. 2003). GST enzimi *Nilaparvata lugens* (Stål) türünde piretroid grubu insektisitlere karşı direnç kazanmasını sağlamıştır (Vontas et al. 2001). Endosülfanın, *Helicoverpa armigera* (Hübner)'nın farklı evrelerindeki çeşitli dokularında (tüm vücut, orta bağırsak, hemolenf, yağ doku, kutikula) GST aktivitesi incelenmiş ve aktivitenin yağ dokuda en yüksek olduğu, yumurta evresinde ise en düşük olduğu ortaya çıkarılmıştır (Rajurkar et al. 2003). *A. mellifera* ile yapılan bir çalışmada işçi arı, erkek arı ve kraliçe arının farklı dokularında (kas, mide, hemolenf, spermetaka ve semen) CAT, SOD, GST aktiviteleri incelenmiştir (Weirich et al. 2002). Yakınlarda yapılan bir çalışma borik asitin böceklerde sindirim işlemini ve enzimatik antioksidan savunma sistemini olumsuz etkilediğini açıkça göstermiştir (Habes et al. 2006). Bu çalışmada Alman hamam böceği *B. germanica*'nın besinine ilave edilen borik asitin orta bağırsağın yapısında histolojik değişime sebep olduğu ve GST aktivitesini artırdığı ortaya çıkarılmıştır.

Önceki çalışmalarımızda denenen borik asit ve sodyum tetra boratın *Galleria mellonella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pyralidae) üzerinde tek başlarına etkileri denenmiş olup bu maddelerin üzerine karbohidratlar gibi bazı besin katkı maddelerinin sinerjistik ya da antagonistik etkileri

denenmemiştir (Durmuş and Büyükgözel 2008, Hyrs et al. 2007, Hyrs et al. 2008). Son çalışmalar borik asit ile birlikte sükröz ya da maltoz içeren sıvı besin karışımlarının çeşitli karınca (Klotz et al. 1998, Klotz et al. 2000) ve hamam böceği (Gore and Schal 2004) türlerinin mücadelesinde etkili olduğunu göstermesine rağmen bu formülasyonlar ekonomik açıdan önemli tarımsal zararlı böceklerle karşı yaygın bir şekilde denenmemiştir. Ayrıca borik asitin bu böcekler üzerindeki etkisinin mekanizması hakkında detaylı bilgi bulunmamaktadır.

Büyük balmumu güvesi *G. mellonella* bal arılarının (*A. mellifera*) ekonomik zararlılarından olup; arıcılık yapılan, özellikle düşük rakımlı, ılıman iklim bölgelerinde yaygın olarak bulunmakta (Allan 2000), ve tüm dünyada arıcıların peteklerini korumada sıkıntıya düştükleri önemli bir zararlı olarak tanınmaktadır (Sanford 2003). Büyük balmumu güvesinin ergin, pupa ve yumurta evresindeki bireyleri kabartılmış peteklerde tahribata neden olmazken, larvaları; uygun çevre şartlarında (sıcaklık, nem, besin) kolonilerin işçi arı varlığına bağlı olarak farklı seviyelerde zarar vermektedirler. Büyük balmumu güvesi ortam sıcaklığının 4 °C' nin üzerinde ve oransal neminin % 70 civarında olduğu ortamda gelişmekte, genellikle depolanan kabartılmış peteklerin iç kısımlarında tüneller açarak peteğin tekrar kullanılma olasılığını ortadan kaldırmaktadır (Haewoon et al. 1995, Ritter et al. 1992). Sağlıklı ve güçlü kolonilerde büyük balmumu güvesi hasarı, işçi arıların zararlıyı baskılamaları sonucu arıcılar tarafından fark edilmezken, çeşitli nedenlerle ergin işçi arı sayısı azalmış zayıf kolonilerde önemli ekonomik kayıplar ile arıların kovana terk etmesi gözlemlenmektedir (Sanford 2003). Büyük balmumu güvesine karşı kabartılmış peteklerin korunmasında çeşitli ülkelerde kimyasal [(aluminum phosphide, methyl bromide, etilen dibromid, paradiklorobenzen (Naftalin), kükürt], fiziksel (soğuk-sıcak) uygulamaları ve biyolojik insektisitler (*B. thuringiensis*), karbondioksit (Akyol vd. 2009) gibi mücadele yöntemleri farklı şekillerde kullanılmaktadır (Tutkun vd. 1987, Ritter et al. 1992, Ahmad 1994, Yacobson et al. 1997, Delaware 2000, Kumova ve Korkmaz 2002). Ülkemizde 5 milyona yakın bal arısı kolonisinden yılda yaklaşık 3,500–4,000 ton bal mumu üretilmekte (Anon. 2006) olup, arılıkların değişik oranlarda büyük balmumu güvesi ile bulaşık olduğu bildirilmektedir (Çağlar vd. 2001). Arı kolonilerinde 1 kg balmumu üretimi için ortalama 8-10 kg bala eşdeğer nektar tüketmeleri gerekmektedir (Whitcomb 1946). Dolayısıyla koloninin gereksinimi olan peteklerin yapımı sırasında, arılar bal üretimi için kullanılacak nektarı balmumu üretiminde kullanılmakta ve birim kovan başına bal üretimi azalmaktadır.

Bu çalışmada ayrıca borik asitin laktoz ile birlikte *G. mellonella*'nın üzerindeki fizyolojik ve biyokimyasal etkisinin araştırılmasında, son evre larvalarının hemolenfinde lipid

peroksidasyonu seviyesi ile önemli detoksifikasyon ve antioksidan enzim olan GST aktivitesindeki değişimlerin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu değişimler ile birlikte, böceğin yaşama oranı, gelişme süresi, yumurta verimi, yumurtaların açılma oranı, ergin ömür uzunluğu ve cinsiyet oranını olumsuz yönde etkileyen borik asit ile laktoz karışımının konsantrasyonlarının tespit edilmesi borik asitin inorganik insektisit olarak kullanılabilirliğinin kararlaştırılmasında önemli kriter olacaktır. Böylece kendi öz kaynaklarımızın işlenmesi ile geliştirilen bir ürünün tarımsal zararlı böcekler ile mücadelede kullanılması ülkemiz bilimine, sanayisine, teknolojisine ve ekonomisine bir katma değer sağlayacağı gibi ulusal ve uluslar arası pazarlardaki payını da artıracaktır. Diğer taraftan, zararlılar ile mücadeledeki bu yeni yaklaşım tarımsal ürünlerin korunmasında çevreye duyarlı bir yöntem olacaktır. Bu çalışma sodyum tetraborat, sodyum oktaborat, susuz borat gibi diğer bor türevlerinin de tarımsal zararlı böceklerin mücadelesinde çevre dostu ve ucuz inorganik insektisitler olarak kullanılma denemelerini teşvik edebilecektir.

Türkiye, dünyanın önemli tarım ürünlerini üreten ve ihraç eden ülkelerinden biridir. Lepidoptera takımının Pyralidae familyasına ait türler tarım bitkilerine bulaşarak zarar yapmakta ve üretimi önemli derecede düşürmektedir. İnsektisitlerin de dahil olduğu pestisitler gerek çevre, gerek sağlık ve gerekse ekonomik açıdan getirebilecekleri olumsuzluklar gelişmiş ülkelerde gayet iyi bilinmektedir. Bunun için, başta Avrupa Birliği (AB) olmak üzere, tüm gelişmiş ülkelerde tüketilecek tarım ürünleri çevre ve sağlık açısından sürekli denetlenmektedir. Bu denetimlerde sivil toplum örgütlerinin de payının ve baskısının olması konuyu daha da ciddi hale sokmuştur. Bunun için de, örneğin AB Ülkeleri Perakendecileri Tarım Ürünleri Çalışma Grubu, İyi Tarım Uygulamaları Protokolü (EUREPGAP)'nü 1 Ocak 2004'te yürürlüğe koymuşlardır. Bu protokol ile AB perakendecileri, raflarına koydukları ürünlerin müşterilerine zararlı olmayacağına dair garanti ve güvence vermektedirler. EUREPGAP Sertifikası, yabancı perakendecilerin üreticinin ürününü satın alması açısından bir garantidir (Anon. 2004). Yukarıda da vurgulandığı gibi, gelişmiş ülkeler pestisitlerin çevre ve sağlık açısından risklerini artık ciddi biçimde değerlendirmektedir. Bu nedenle, bir yandan pestisitleri çok bilinçli ve kontrollü kullanırlarken, diğer yandan da riskli pestisitlerin kullanımlarını sınırlamak ya da tamamen durdurmak yönüne gitmektedirler.

Ülkemizde zararlı böceklerin mücadelesinde geniş etki alanına sahip kimyasal insektisitlerin kullanımı çok yaygındır. Bu uygulamalar gerek çevrede gerekse hedef olmayan diğer canlılarda insektisit birikimine dayanan metabolik düzensizliklerin oluşmasına ve ekolojik

dengeinin bozulmasına neden olmaktadır. Böyle bir durum ekolojik sistemlerdeki besin zincirinin bazı basamakların da aksamaya yol açarak uzun dönemde önemli çevre sorunu oluşturmaktadır. Tarla ve bahçe bitkilerinin yetiştirilmesi sırasında, ayrıca hasat sonrası depolanmış ürünlere zarar vererek önemli kayıba yol açan zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılan kimyasal insektisitlerin olumsuz etkilerinden dolayı alternatif yeni yöntemler ve kimyasal maddeler üzerinde yoğun olarak durulmaya başlanmıştır. Bitkilerin yetiştirilmesi sırasında toprağa mikroelement olarak da ilave edilen bor mineralinin, çeşitli türevler halinde aynı zamanda zararlı böcekler ile mücadelede insektisit olarak kullanılması, ürünlerde kalıntı ve koku bırakmaması sebebiyle son günlerde tüm pazarlarımızda bolca yer alan organik ürünlerin yetiştirilmesinde de hizmet edecektir (Anon. 2002).

Zararlılarla mücadelede oldukça toksik kimyasal maddeler (organofosfatlı insektisitler, paradiklorobenzen, metil bromid ve fosfin gazı gibi fumigantlar) yerine çevresel etkisi en az inorganik insektisit olan borik asit gibi bor türevi yeni maddeler kullanılması zararlı kimyasallardan kaynaklanan çevre kirlenmesini de önleyecektir. Böylece tarımsal alanlarda sağlıklı ürün alma, verim ve kalitesini artırma imkanlarına kavuşulurken insektisitlerin çevre üzerindeki etkisi giderek azalacak, tarım işçileri ve yerleşim bölgelerindeki halkın varlığı üzerindeki tehlikeler de ortadan kalkacaktır. Bu projeden elde edilecek sonuçlardan bitki koruma uzmanları, halk sağlığı uzmanları ve çevre uzmanları tarafından kendi alanlarında yapacakları çalışmalarda faydalanabilirler. Özellikle bitki koruma uzmanları bu çalışmanın çıktılarını arazi çalışmalarında deneyerek elde ettikleri sonuçları, bu alanda önemli yatırımlar yapmaya hazır olan tarımsal mücadele firmaları ile geliştirecekleri ortak sanayi ve teknoloji projeleri ile hayata geçirip endüstriyel uygulamaya dönüştürebilme potansiyeline sahiptirler. Borik asit, insan sağlığı ve yaşamı ile yakın ilişkili olan hamam böceği, karınca ve ev çıyanı gibi zararlı böceklerle mücadelede, besin saklama alanları, yemekhane, restoran, manav, un ve yem fabrikaları, hayvan ve bitki yetiştirme alanları, yerleşim yerleri gibi kapalı ve açık alanlarda, bazı şekerler ile karıştırılarak oluşturulan formülasyonlar şeklinde kullanılmaktadır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda borik asit ve türevlerinin insan sağlığı ve yaşamını ilgilendiren kapalı alanlardaki böceklerin mücadelesinde kullanılmış olması ve tarımsal açıdan önemli kayıplara neden olan böceklerde kullanımının yaygın olmaması bu konunun önemini daha da artırmaktadır. Ayrıca borik asit ve türevleri bu alanlarda ülkemizde bazı firmaların piyasaya sunduğu genel formülasyonlar şeklinde halen geleneksel yöntemler ile kullanılmaktadır. Türkiye ekonomisi için önemli kovan ürünlerine zarar vererek ekonomik kayıba yol açan büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* üzerinde bir model olarak borik asitin

biyokimyasal ve fizyolojik etkisinin belirlenmesi, bu maddenin gerek tek başına kimyasal mücadelede gerekse biyolojik mücadele ile birlikte kullanılması için formülasyonların geliştirilmesinde önemli katkısı olacaktır.

Şimdiye kadar borik asitin ve türevlerinin şekerler ile besinsel karışımlarının *G. mellonella* ve diğer lepidopter böcekler üzerindeki kalitatif ve kantitatif etkileri belirtilmemiştir. Bu çalışmada yapay besine ilave edilen farklı konsantrasyonlardaki borik asit ve laktozun *G. mellonella*'nın yumurtadan yeni çıkmış larvalarının ergin evreye kadar yaşama, gelişimine, eşey oranına, ergin ömür uzunluğuna, yumurta verimi ve açılma oranına etkisi incelenmiştir. Ayrıca böceğin son evre larvalarının hemolenfinde lipid peroksidasyonu seviyesini gösteren MDA miktarı ve detoksifikasyon enzimi GST aktivitesinde sebep olduğu değişimler de belirlenmiştir. Böylece farklı konsantrasyonlardaki borik asit ve laktozun böceğin biyolojik etkinlik parametreleri üzerindeki etki mekanizmasının oksidatif stres ile ilişkisinin biyokimyasal ve fizyolojik temelleri ortaya konmaya çalışılmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

Dünyada ve ülkemizde tarım alanındaki zararlılar ile mücadele ederek daha kaliteli ürün elde etmek amacıyla geniş etkili kimyasal insektisitler yoğun olarak kullanılmaktadır. Tarımsal alanda kullanılan bu insektisitler hedef organizmaları yok ederek ürün artışına neden olduğu gibi hedef olmayan canlılara da zarar vermektedir. Tarım bitkileri zararlısı böcekler ile mücadelede Lepidoptera takımına ait türlerin laboratuvarlarda yapay ortamlarda yetiştirilme çalışmaları yeni pestisitlerin geliştirilmesi ve keşfedilmesi doğrultusunda büyük bir hızla artmakta olup bu amaçla farklı model böcek türleri ve beslenme teknikleri kullanılmaktadır. Bilindiği gibi, ülkemiz ekonomisinde tarımın yeri çok büyüktür. Kimi tarım ürünleri ise, endüstri hammaddesi olduğundan ayrı bir öneme sahiptir. Bu ürünlerin en büyük alıcıları ise, başta AB ülkeleri ile Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve sonra da diğer gelişmiş ya da gelişmekte olan ülkelerdir. Bunun için de, tarım ürünü dış satışımızı sürdürebilmek amacıyla pestisit kullanımının çok kontrollü ve bilinçli programlar içerisinde yapılması gerekmektedir. Ülkemizde ve dünyada çiftçiler, tarımsal bitkilerini ve hasat sonrası depolanmış ürünlerini zararlılara karşı koruyabilmek için insektisit kullanmaktadır. Gerek ülkemizde gerekse dünyada pestisit kullanımının çok fazla olması ve bilinçsiz kullanımı zaman içinde bazı sorunların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bilinçsiz ilaç kullanımı ile bazı pestisitlere karşı zararlılar tarafından dayanıklılık gelişmiştir. Çevreye ve insan sağlığına zararları nedeniyle bazı pestisitlerin kullanımına yasal engellemeler getirilmiştir. Ayrıca günümüzde tüketicinin ilaç kullanımına göstermiş olduğu hassasiyet ve organik ürünlere olan talep ilaç kullanımını sınırlayıcı faktörlerden olmuştur. Durum parasal olarak düşünüldüğünde tüketimde değer olarak insektisitlerin % 31, herbisitlerin % 26 ve fungusitlerin de % 20'lik payı ortaya çıkmaktadır (Delen et al. 2004). Dünya pestisit üretiminin yıllık 3 milyon ton civarında olduğu, yıllık satış tutarının da ortalama 30 milyar Euro'ya ulaştığı görülür. Bu miktar içinde Türkiye'nin payı ancak % 0,6 kadardır (Öztürk 1997).

Zararlılarla mücadele yöntemleri çoğunlukla kimyasal savaşım ile özdeşleşmiştir. Ancak kimyasal savaşım ile ilaç kullanımı yaygınlaştıkça ortaya birçok sorunlar çıkmıştır.

Zararlılarla mücadelede pestisitlerin yaygın olarak, aşırı dozda ve bilinçsiz kullanılışı, arzu edilmeyen yan etkilerinin oluşumunu kaçınılmaz hale getirmiştir. Bu nedenlerle son zamanlarda kimyasal ilaçların çok az kullanıldığı, hiç kullanılmadığı veya çevre dostu kimyasalların kullanıldığı alternatif yöntemler üzerinde araştırmalara hız verilmiştir (Seçkin ve Ünal 1994, Coşkuncu ve Kovancı 2005). Diğer taraftan, zararlıların bazılarının gerek toprak altında oluşu gerekse bitki dokuları içerisinde bulunuşu mücadelede başarı şansını son derece düşürdüğü gibi mücadeleleri de ekonomik olmamaktadır. Ayrıca pestisitlerin yüksek dozlarda ve tekrar tekrar kullanılışı çevre kirliliği, dayanıklılık ve insan sağlığına zararları gibi riskleri de beraberinde getirmektedir.

Tarımsal alanlar yanında seracılık diğer bir ifade ile örtü altı yetiştiriciliği gerek ihracı gerekse iç piyasadaki tüketimiyle Türkiye ekonomisinde önemli bir yere sahiptir. Türkiye toplam 40.712 ha'lık alanda örtü altı yetiştiriciliği yapan Avrupanın önemli seracılık merkezlerindendir (Cevri 1999). Bu üretimler esnasında pek çok zararlı ve hastalık etmeniyle karşılaşmakta ve üreticiler tarafından bilinçli-bilinçsiz sentetik kimyasal pestisitler kullanılmaktadır. Bu kimyasal tarım ilaçları gerek doğal dengeyi gerekse insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca meyve üzerindeki ilaç kalıntı miktarlarının yüksek olması da zaman zaman ihraç edilen ürünlerin geri gönderilmesine neden olarak ülke ekonomisini olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca pestisitlerin yüksek dozlarda tekrar tekrar kullanılması toprağın taban suyunun dolayısıyla çevrenin kirlenmesi, zararlıların dayanıklılık kazanması, predatör, parazitoid, bal arısı, balık vb yararlı organizmaların ölmesi, kalıntı sonucu kanserojenik ve mutajenik etkilerle akut ve kronik olarak insan sağlığına toksikolojik zararlar vermesi gibi riskleri de beraberinde getirmektedir. Son yıllarda zararlıların mücadelesinde kullanılan sentetik insektisitler nedeniyle karşılaşılan çevresel sorunlar söz konusu zararlıların mücadelesinde biyolojik savaş etmenleri ve doğal organik maddelerin bulunarak ortaya konulması yönündeki çalışmalar da artış göstermiştir (Miller and Uetz 1998). Ujvary (2002) son yıllarda sentetik pestisitlerin olumsuz etkileri nedeniyle doğal pestisitlerin ortaya çıkarılmasıyla ilgili çalışmaların hız kazandığını bildirmektedir.

Tarımsal savaşım, bitkilerin hastalık, zararlı ve yabancı otların etkilerinden ekonomik ölçüler içinde korunması, ürünün ve kalitenin artırılmasıdır. Bu basit tanımdan da anlaşılacağı gibi, tarımsal savaşım, bir yandan ürünü ve kalitesini arttırmak, bir yandan da ekonomik olmak hedeflenmektedir. Bu amaca ulaşabilmek için, tarımsal savaşımın entegre savaş (entegre zararlı yönetimi) görüşüne uygun olarak yürütülmesi gerekmektedir. Entegre zararlı

yönetiminden ise, tarımsal savaşta bilinen tüm yöntemlerden yararlanan, insan ve çevre sağlığına olumsuz etkileri en az olanların uygulanmasına yönelik çalışmalar anlaşılmaktadır. Tarımsal savaşta değişik yöntemleri içermektedir. Bu yöntemlerden birisi de tarım ilaçlarının (pestisitlerin) kullanıldığı kimyasal savaştır. Her ne kadar kimyasal savaşta tarımsal savaşta bir yöntem ise de, tüm savaşta yöntemleri arasında en fazla kullanılanıdır. Çünkü, kimyasal savaşta yüksek etkililiğe sahiptir, hızlı sonuç verir, bilinçli ve kontrollü kullanıldığında ekonomiktir ve ürünü toksin salgılayan organizmalardan da koruyabilir (De Waard et al. 1993). Kısaca özetlenen bu avantajlar, kimyasal savaşın modern bitki korumada uygulanması gerekli bir yöntem olma özelliğini günümüzde de sürdürmesinin en önemli nedenidir. Ancak, pestisitlerin bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımı sonucu, zararlı organizmalarda dayanıklılık oluşturabilme, riskleri ve kalıntılar yoluyla insan sağlığına ve çevreye olumsuz etkileri kesinlikle göz ardı edilmemelidir. Söz konusu riskler nedeniyle, özellikle gelişmiş ülkelerde pestisitler daha bilinçli ve kontrollü kullanılmaktadır. Bunu sağlayabilmek için, örneğin AB ülkelerinde ve ABD’nde bir çok yasa çıkarılmış, resmi örgütler kadar, sivil toplum örgütleri de bu yönde söz sahibi duruma gelmişlerdir (Gullino and Kuijpers 1994).

Böceklerle karşı kullanılan tarım ilaçlarına insektisit, yabancı otların kontrolünde kullanılanlara ise herbisit denmektedir (Baykal 1995, Agrios 2005). Bunların hepsine birden ise pestisit denilmektedir. Ancak, son yıllarda özellikle AB’nde pestisit yerine “Bitki Koruma Ürünleri” terimi resmi dilde tercih edilmektedir. Türkiye’de de Tarım ve Köyişleri Bakanlığı artık bu terimi tercih eder olmuştur (Aydınoğlu vd. 2002). Bununla birlikte halen Türkiye’de toplumun çoğunluğu bunlara tarım ilacı demektedir. Diğer ülkelerle karşılaştırıldığında; Türkiye’de tarım ilacı kullanımının birim alan başına daha az olduğu görülmektedir. Örneğin bu oranlar Hollanda’da 10,23 kg/ha, İtalya’da 5,25 kg/ha, Yunanistan’da 4,41 kg/ha. iken Türkiye’de 0,47 kg./ha.’dır (Özmen 2007). Bununla birlikte, Türkiye’nin Akdeniz, Ege ve Çukurova gibi bazı bölgeleri ve hatta bu bölgelerin bazı alanları dikkate alınarak yapılabilecek bir alan başına düşen pestisit kullanımının ise Avrupa ortalamasını geçebileceği düşünülmektedir (Delen vd. 2005, Yücer 2008). Modern tarımsal savaşta, pestisitlerin çevreye zarar vermeyecek düzeyde ve gerçekten gerekli olduğunda kullanılması benimsenmiştir. Bunun bir sonucu olarak, başta ABD olmak üzere, gelişmiş ülkelerde “düşük risk” ya da “doğa dostu” pestisitler adı altında toplanmışlardır. Örneğin ABD Çevre Koruma Örgütü (EPA), böyle pestisitlerin hem ruhsatlandırılmasını kolaylaştırmış ve hem de kullanılmalarını teşvik etmeye başlamıştır (EPA 1999a,b). Diğer yandan, pestisit

kullanılmadan modern anlamda bitkisel ürün yetiřtirmenin olanaksızlıęı geliřmiř űlkelerce bilinmesi yanında, pestisit kullanımının sűrekli arttırarak verimin de sűrekli artmayacaęı anlařılmıřtır. Bu nedenle, maliyetleri yűkseltmemek açısından gereksiz ilalamalardan kaçınılmaya bařlanmıřtır. Yukarıda da deęinildięi gibi, bu uygulamalarda sivil toplum űrgűtlerinin ve tűketicilerin de baskıları olmuřtur. Őrneęin, Avrupa űlkelerinde fungisit kullanımı patatesten % 30 ve elmada % 20 azaltılmasına karřın verimde bir dűřűř gűzlenmemiřtir (Gullino and Kuijpers 1994).

Bir űlkede tűketilen pestisitlerin saęlık, evre gibi kriterler açısından nitelikleri, toplam pestisit tűketimine oranla daha ciddi bir konudur. Őlkemiz pestisit tűketimi bu açıdan deęerlendirildięinde, oldukça çarpıcı sonuçlar ortaya çıkmaktadır. 1999-2002 yıllarında 7 etkili madde yıllara gűre en çok tűketilen 5 insektisit arasına girmiřtir. Bu insektisitlerden metamidofos (methamidophos), metil paratyon (parathion-methyl), diklorvos (dichlorvos), endosűlfan ve metil azinfos (azinphos-methyl) ok zehirli, etil klorpirifos (chlorpyrifos-ethyl) ve karbaril (carbaryl) ise zehirli pestisitler grubuna girmektedirler (Ware 1994). Tarım ve Kűyiřleri Bakanlıęı verilerine gűre, piyasada 1999 ve 2000 yıllarında 68, 2001 yılında 63 ve 2002 yılında da 62 insektisit etkili maddesi bulunmasına karřın, her yıl 5 etkili madde toplam insektisit tűketimi içinde yarıdan fazla paya sahip olmuřlardır. Dięer yandan, 1999-2002 dűneminde metamidofos Tűrkiye’de en yoęun tűketilen insektisitlerden biridir. Oysa metamidofos űlkemizde yalnızca pamukta ve tűtűnde kullanım iznine sahiptir (Aydınoęlu vd. 2002, Yűcer 2003). Coats (1991), Sumasanduram ve Coats (1991)’e gűre, metamidofos, etil klorpirifos, metil paratyon, zararlı bűceklere karřı temas (kontakt) ve mide zehiri yoluyla etkili bir insektisit olan DDVP ve endosűlfan yer altı sularına bulařma riski olan pestisitlerdendir. Metil paratyon, DDVP ve karbaril ise soluduęumuz havayı kirletme potansiyelindedir. Ayrıca, metil paratyon ve DDVP’nin insanlarda kanser yapıcılık riski vardır. Etil klorpirifos, metil paratyon ve endosűlfan insanlarda endokrin (iç salgı bezleri) sistemini etkileyebilen bileřiklerdir (Bucker-Davis 1998, Colborn 1998). Metamidofos’un kromozomlar űzerinde etkisinin olabileceęi de belirtilmektedir (Karabay 2000).

Pestisitlerin piyasa űmrűnű, insan saęlıęını ve çevreye etkililięini en fazla etkileyen olayların bařında pestisitlere organizmaların duyarlılık azalıřı (direnç geliřtirme) gelmektedir. Bir pestisite organizmaların duyarlılıęı azaldıkça, o pestisitin etkililięi de dűřmektedir. Uygulayıcı ise, eski etkililięi elde edebilmek için devamlı doz yűkseltmesine gitmektedir. Bűylece artan dozlara paralel olarak çevrede pestisit kalıntıları daha fazla yoęunlařmaya bařlamaktadır.

Pestisitlere duyarlılık azalışı adaptasyon ve dayanıklılık şeklinde iki yolla olur. Adaptasyonda, bir organizmanın genetik yapısında değişiklik olmaksızın, bir kimyasal maddeye uyum göstermesi sonucu duyarlılığın azalmasıdır. Ancak dayanıklılıkta, organizmanın duyarlılığı genetik yapısındaki bir değişiklik sonucu azalmaktadır. Buna göre, dayanıklılık bir mutasyondur ve genelde geri dönüşümü yoktur. Adaptasyonda ise, söz konusu pestisit kullanımının durdurulmasıyla organizma yavaş yavaş tekrar eski duyarlılığını kazanabilir. Türkiye gibi, pestisitlerin bir ölçüde bilinçsiz ve kontrolsüz kullanıldığı ülkelerde dayanıklılık kadar adaptasyon da ekonomik açıdan önem taşımaktadır. Dayanıklılığın ortaya çıkışına en fazla etki eden faktörlerin başında, pestisitlerin dayanıklılık açısından riski ile pestisitlerin kullanım biçimi gelmektedir. Bilinçsiz ve kontrolsüz kullanım, duyarlılık azalışlarının daha hızlı ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Delen ve Tosun 1996).

Organofosfatlar, karbamatlar ve piretroidler gibi nörotoksik insektisitler, son 10 yıldır zararlı böcekleri kontrol etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmakta olup oldukça başarılı sonuçlar alınmaktadır. Buna karşın bu kimyasalların çoğu, insanlar ve yararlı organizmaların çoğu için zararlıdır ve ekolojik denge üzerinde olumsuz etkiye sahiptir (Ishaaya and Horowitz 1998). Bir çok böcek türünde bu insektisitlere karşı hızlı bir şekilde direnç gelişimi gözlenmektedir (Georghiou and Lagunes-Tejeda 1991). Bu türler arasında, özellikle yüksek üreme yeteneğine, ekonomik ve tıbbi öneme sahip Alman hamam böceği *B. germanica*'da direnç gelişimi açıkça tespit edilmiştir (Scott et al. 1990, Dong et al. 1998). Bu nedenlerden dolayı çoğu geleneksel pestisitlerin yerini, böcek büyüme düzenleyicileri ve biyopestisidler gibi yeni etki mekanizmalarına sahip olan biyorasyonel insektisitler veya daha az riskli insektisitler almıştır (Horowitz and Ishaaya 2002, Dhadialla et al. 2005). Bunların dışında, hamam böceği gibi kapalı alan zararlıları ve diğer tarımsal zararlı böceklerin kontrolündeki son teknolojik gelişmeler besin formülasyonlarının kullanımına dayanmaktadır (Appel 2004). Son zamanlarda borik asit gibi çok az kullanılan bileşikler üzerine tekrar yoğunlaşılmıştır (Gore and Schal 2004, Gore et al. 2004). Borik asitin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlenen insan sağlığına zarar vermeyen konsantrasyonları 40-80 ppm dir (Bergmann 1992). Borik asitin böcekler üzerindeki etki mekanizması çok iyi belirlenmemiş olup bu hususta birkaç görüş ileri atılmıştır. Bu etki mekanizmaları arasında, borik asitin böceğin ön bağırsak hücrelerinin yapısını bozması sebebiyle açlığa bağlı ölüme neden olduğu (Cochran 1995), borik asitin kutikula üzerindeki aşındırıcı etkisi ile böceğin yavaş yavaş su kaybetmesi (Ebeling et al. 1975) bulunmaktadır. Önceki bir çalışmada, borik asitin *B. germanica*'nın kutikular profilini etkilediği gösterilmiştir (Kilani-Morakchi et al. 2005). Son zamanlarda da,

besin ile alınan borik asitin sindirim sonrasında Alman hamam böceğinin orta bağırsağında yapısal değişikliklere neden olduğu, asetil kolinesteraz ((AChE) aktivitesini düşürdüğü ve zehirlenme belirtileri ile açıklanan nörotoksik bir etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (Habes et al. 2006). Bu çalışmada borik asitin laktoz ile birlikte öldürücü olmayan besinsel karışımlarının *G. mellonella*'nın yaşama, gelişme, ergin ömür uzunluğu, eşey oranı, yumurta verimi, yumurtaların açılma oranı, larvaların hemolenf MDA miktarı ve GST aktivitesi üzerine etkileri belirlenmiştir. Elde edilen bu bilgiler tarımsal zararlı böceklerin kontrolünde öldürücü olmayan dozlarda toksik besin karışımlarının etkilerinin anlaşılmasında önemli ipuçları vermiştir. Böylece, borik asit ve diğer bor türevlerinin insektisit olarak kullanılmasını amaçlayan böyle bir çalışma ile pazardaki ürün çeşitliliğini ve payını artırmak, ekonomik girdiye katkıda bulunmak ve katma değer sağlamak için bir adım atmış olacağız.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1 *GALLERIA MELLONELLA* L. KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI

Büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) pup ve erginleri Zonguldak ve çevresindeki arıcılardan temin edildi ve bölümümüz laboratuvarında yumurtadan yeni çıkmış larvalar yapay besinde yetiştirilerek stok kültür oluşturuldu. Böcek kültürünün devamı yumurtadan yeni çıkmış larvaların yarı sentetik besinde (Bronskill 1961) aseptik olmayan şartlarda beslenilmesi ile sağlandı. Deneylerde böcek tarafından bırakılan yumurtalardan yeni çıkmış larvalar (birinci evre) kullanıldı. Kültür 28 ± 2 °C ve % 65 ± 5 bağıl neme ayarlı bir inkübatörde (Nüve, ES 500) ve gün boyu devamlı karanlıkta yürütüldü.

G. mellonella larvalarını laboratuvar şartlarında yetiştirmek için Bronskill (1961) tarafından geliştirilen öğütülmüş koyu renkli eski bal peteği (kuluçka peteği) içeren yapay besin kullanıldı. *G. mellonella* kültürünün devamı için kullanılan bu besin aynı zamanda borik asit ve laktoz karışımlarının böcek üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yürütülen beslenme deneylerinde de kontrol besini olarak kullanıldı. Besin, 420 g buğday kepeği, 150 ml süzme bal, 150 ml gliserin (Merck, Darmstadt, Germany), 20 g öğütülmüş koyu renkli eski petek ve 30 ml saf sudan oluşmaktadır. Besinin bileşenleri gerekli miktarda tartılarak geniş bir kap içerisinde karıştırıldı ve karıştırıcı ile homojen bir karışım oluşturuldu. Bu karışım sıvı bileşenlerin katı bileşenler tarafından tam olarak emilebilmesi için 24 saat bekletildi. Hazırlanan besin bir litrelik cam kavanozların (80x180 mm) yaklaşık 1/3'ne kadar dolduruldu. Kavanozun içine konulacak dişilerin yumurta bırakması ve yeni açılan larvaların beslenmesi için besinin üzerine küçük bir parça bal peteği bırakıldı (Ortel 1995). Bu kavanozların içine 10-15 adet dişi bırakılarak ağızları tel kafes yerleştirilmiş kapak ile kapatıldı. Yaklaşık 25-30 gün sonra gelişimlerini tamamlayan olgunlaşan larvalar (7. evre) pup olmaları için diğer bir kavanoza aktarıldı. Bu kavanozun içine, larvaların pup olmaları için kuru ortam sağlamak üzere, katlanmış pelur kağıt parçaları bırakıldı (Campos et al. 1990). Oluşan puplardan

yaklaşık 7-8 gün sonra ergin bireyler meydana geldi. Bu erginlerin büyük bir çoğunluğu böcek kültürünün devamı, bazı erginler ise borik asitin laktoz ile farklı konsantrasyonlarda karışımları ile ilgili beslenme çalışmaları için gerekli yumurtaların elde edilmesinde kullanıldı.

3.2 BORİK ASİTİN DENEYLERDE KULLANILMASI

Bu çalışmada denenen borik asit (% 99, H_3BO_3) Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü, AR-GE Daire Başkanlığı (Ankara)'den temin edildi. Borik asitin besine ilave edilmesi ile yürütülen beslenme deneylerinde denenen miktarların konsantrasyonu ppm olarak ifade edildi. Borik asit suda çözöldüğü için bu miktarlar, besinin hazırlanması sırasında doğrudan besine ilave edildi. Kontrol besini (borik asit içermeyen) hariç borik asitin *G. mellonella* için 156, 620, 1250 ve 2500 ppm olmak üzere dört farklı konsantrasyonu denendi. Kontrol deneylerinde ise yalnızca borik asit içermeyen besin kullanıldı. Bu çalışmada denenecek borik asit ve laktoz konsantrasyonları tarımsal ve halk sağlığı yönünden zararlı bazı böcek türleri ile yapılan önceki çalışmalar temel alınarak belirlenmiştir (Yang et al. 2000a, Cisneros et al. 2002, Gore et al. 2004, Xue et al. 2006, Ali et al. 2006). Bu çalışmaların ışığında, denenecek konsantrasyonların aralığını belirlemek amacıyla ayrıca laktoz ile ön beslenme deneyleri yapıldı. Böceklerin ergin evreye kadar gelişimini tamamlayabileceği konsantrasyon aralıkları belirlendi. Buna karşılık, borik asitin *G. mellonella* üzerindeki konsantrasyonlarını belirlemeye yönelik ön deneyler yapılmamıştır. Borik asitin tek başına *G. mellonella* üzerindeki konsantrasyonları belirlenerek böceğin yaşama, gelişme, ömür uzunluğu, 7. evre larvalarının hemolenf MDA miktarı ve GST aktivitesine etkisi önceki bir çalışmamızda (Hyrs et al. 2007) incelendiğinden bu çalışmadaki laktoz karışımlarında daha önce çalışılan borik asit konsantrasyonları aynen kullanılmıştır.

3.3 LAKTOZUN DENEYLERDE KULLANILMASI

Bu çalışmada denenen şeker D-(+)-Laktoz (laktoz monohidrat, SigmaUltra, $\geq 99\%$) Sigma-Aldrich (St. Louis, MO USA) firmasından satın alındı. Şekerin besine ilave edilmesi ile yürütülen beslenme deneylerinde denenen miktarların konsantrasyonu M (molarite) olarak ifade edildi. Laktoz suda çözöldüğü için gerekli miktarlar, besinin hazırlanması sırasında doğrudan besine ilave edildi. Yapılan ön denemeler sonucunda laktozun böcek için 0,05 ve 0,25 M olarak iki farklı konsantrasyonda kullanılması uygun bulundu.

3.4 BORİK ASİT İLE LAKTOZUN BİRLİKTE DENEYLERDE KULLANILMASI

G. mellonella birinci evre larvaları 0,05 ve 0,25 M laktoz ile 156, 620, 1250 ve 2500 ppm borik asiti birlikte içeren yapay besinler ile ergin evreye kadar beslendi. Kontrol deneylerinde ise borik asit ve şeker içermeyen besinler ile laktozun 0,05 veya 0,25 M'ını tek başına içeren besinler kullanıldı.

3.5 LARVALARIN ELDE EDİLMESİ

Beslenme deneylerinde kullanılacak *G. mellonella* larvaları, kapaklı, 30 ml'lik geniş ağızlı, vida kapaklı bir plastik kabın (ORLAB, L190030, 35x55 mm) iç yüzeyine dişiler tarafından bırakılan yumurtaların açılması ile elde edildi. Bunun için 2-3 dişi birey, delikli kapakları olan bu plastik kaplara konuldu ve yumurta bırakmaları için stok kültürün devam ettirildiği ortam koşullarında bekletildi. Bırakılan yumurtalar yine aynı ortam şartlarında bekletilerek açılması sağlandı. Yumurtadan yeni çıkan larvaların kaçmasını önlemek için caydırıcı olarak kabın kapağa yakın iç yüzeyine yaklaşık 1 cm kadar genişlikte gliserin sürüldü. Yumurtaların açılması ile serbest kalan larvalar, yumuşak uçlu ve ucu gliserine batırılarak nemlendirilmiş bir fırça (No: 0, Goya Toray) ile içlerinde 200 g besin bulunan tel kafesli metal kapaklı orta boy cam kavanozlara (60 x120mm) bırakıldı.

Bu şekilde larvalar tarafından doğrudan besin aracılığıyla alınan laktozun ve borik asit ile laktoz karışımlarının ergin evreye kadar yaşama oranı ve gelişme süresi ile birlikte erginlerin eşey oranı, ergin ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranına, son evre larvalarının hemolenf MDA miktarı ve GST aktivitesine etkisi incelendi.

3.6 YAŞAMA, GELİŞME, EŞEY ORANI VE ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ BESLENME DENEYLERİ

Farklı konsantrasyonlarda laktoz ile borik asit ve laktoz karışımlarının ergin evreye kadar *G. mellonella*'nın yaşama ve gelişimine etkisini incelemek için öğütülmüş koyu renkli bal peteği içeren Bronskill'in (1961) yapay besini kullanıldı. Borik asitin denenen miktarları ppm, şekerin denenen miktarları ise M (molarite) olarak hesaplanıp gerekli miktarları besinlerin hazırlanması sırasında ilave edilerek homojen olarak karışması sağlandı. Daha sonra kontrol besinleri ve borik asiti içeren diğer besinler uygun besin kaplarına (Cam kavanozlar, 60 x120

mm) taksim edildi. Her bir besin için 20 larva kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı. Larvalar farklı konsantrasyonlarda laktoz ve borik asit ile laktoz karışımlarını içeren besinlere bırakıldıktan sonra gelişimlerini tamamlayan olgun *G. mellonella* larvaları (7. evre larvalar) alınarak pup olmak üzere 30 ml'lik plastik örnek kaplarına (ORLAB, L190030, 35x55 mm) her kapta bir larva olacak şekilde bırakıldı. Bu kapların içerisine larvaların pup olması için ortam sağlamak üzere katlanmış, ince pelur kağıt bırakıldı. Son larva evresine ulaşan larvaların oranı ile her bir larvanın 1. larva evresinden itibaren son larval evreye ulaşması için geçen süre (gün) kaydedildi. Pup olan bireylerin oranı, 1. larva evresinden itibaren pup olma süreleri (gün) ile bu puplardan erginleşen bireylerin oranı ve ergin olma süreleri (gün) ile erginleşen bireylerin erkek ve dişi oranı belirlendi. Denemede kullanılan erginlerin eşey ayrımı, erginlerinin vücut büyüklüğüne ve abdomenlerinin son segmentindeki genital yapıya göre yapıldı.

Farklı konsantrasyonlarda laktoz, borik asit ve laktoz karışımlarının ergin bireylerin yaşama süresine (ömür uzunluğu) etkisini belirlemek için yumurtadan yeni çıkmış *G. mellonella* larvaları borik asitin ve laktozun miktarlarını içeren yapay besinler ile ergin evreye kadar beslendi. Her bir deney için 10 adet ergin kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı. Erginleşen bireyler 30 ml'lik, geniş ağızlı, şeffaf, delikli kapaklı plastik kaplara (ORLAB, L190030, 35x55 mm) birer adet bırakıldı. *G. mellonella* erginleri besin almadığı için deney süresince herhangi bir besin verilmedi. Bu erginler stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında bırakıldı. Erginler, her gün belirli saatte kontrol edilerek en son erginin ölümüne kadar her erginin yaşama süresi belirlendi.

3.7 DIŞİLERİN YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANI İLE İLGİLİ DENEYLER

Farklı konsantrasyonlarda laktoz, borik asit ve laktoz karışımlarının sentetik besinle yetiştirilen *G. mellonella* dışilerinin yumurta verimine etkisini incelemek için yumurtadan yeni çıkan larvalar bu inorganik insektisit farklı miktarlarını içeren yapay besinler ile ergin evreye kadar beslendi. Bu amaçla yeni erginleşmiş ve döllenmemiş bir günlük dışiler kullanıldı. *G. mellonella* dışileri geniş ağızlı, delikli kapaklı, plastik kaplara (15 ml, ORLAB) her kapta bir adet dişi olacak şekilde bırakıldı. *G. mellonella*'nın erginleri besin almadığı (Charrière and Imdorf 1997) için bu dışilere yumurta bırakma süresi içerisinde herhangi bir besin verilmedi. Dışiler tarafından bırakılan yumurtalar siyah bir zemin üzerine konulan petri kutusu içinde sayıldı. Yapılan ön denemeler erginleşen dışilerin ilk 48 saat içinde

yumurtalarının çoğunluğunu bıraktığını göstermiştir. Bu yüzden ilk iki gün içinde bırakılan yumurtalar sayılarak açılması için stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında bekletildi. Yumurta üretimi, bir günde dişi başına bırakılan yumurta sayısı ele alınarak değerlendirildi ve dişinin verimliliği olarak ifade edildi. Her gün açılan larvalar yine siyah bir zemin üzerinde sayılarak yumurtaların açılma oranı (fertilite) tespit edildi. Kontrol, laktoz, borik asit ve laktoz karışımlarının her bir miktarı için 10 adet dişi kullanıldı ve deneyler dört defa tekrarlandı.

Kontrol, laktoz, borik asit ve laktoz karışımlarının *G. mellonella* üzerindeki etkisinin araştırıldığı deneylerin hepsinde larvaların aşılacağı besin kapları ve olgun larvaların pup olmaları için hazırlanan kaplar kısa bir günlük inceleme periyodu hariç sürekli olarak karanlıkta tutuldu. Besinin hazırlanması ve larvaların aşılama beslenmesi deneylerinin tümü böceklerin stok kültürünün yetiştirildiği şartlarda yürütüldü. Besinin hazırlanması, yumurtaların elde edilmesi, bu yumurtalardan çıkan larvaların besine aşılama işlemleri tamamen aseptik olmayan şartlarda yapıldı (İçen et al. 2005, Büyükgüzel et al. 2007, Büyükgüzel and Kalender 2007). Bu işlemlerin uygulanmasında Laing ve Hagen (1970)'nın meyve güvesi *Grapholitha molesta* (Busck) ile Campos vd. (1990)'ın mısır kurdu *Ostrinia nubilalis* (Hübner) için kullandığı yöntemler temel alındı ve bir ölçüde değiştirilerek uygulandı. Bir çok lepidopter türünün birinci evre larvalarında olduğu gibi *G. mellonella* larvalarının da ilk evrelerinde besin ortamında ölüm oranının yüksek olduğu, ölen larvaların içlerinin boş olarak kuruduğu ve göz ile görülemediği için besine aşılama her bir larvanın olgun evreye ulaşmaya kadar günlük olarak takip edilmesi mümkün olamamıştır (Zalucki et al. 2002). Bu yüzden farklı evrelerdeki yaşama oranı tespit edilirken deney süresince yaşayan larva sayısı olarak, besine başlangıçta aşılama larvaların sayısı dikkate alındı.

3.8 MDA MİKTARI VE GST AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ

Farklı konsantrasyonlarda laktoz, borik asit ve laktoz karışımlarını içeren besinler ile yetiştirilen *G. mellonella*'nın son evre larvalarının hemolenfinde lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarı ve GST aktivitesi, ölçüldü. Deneyler her bir tekrarda 10 adet son evre larvası kullanılarak dörder defa tekrarlandı.

3.8.1 Hemolenf İzolasyonu

G. mellonella son evre larvaları buz üzerinde 5 dakika bekletildikten sonra larvaların yüzeyi % 95'lik etil alkol ile steril edildi. Olgun larvaların ön bacaklarının dip kısmından steril bir enjektör iğnesi ile delinerek akıtılan hemolenf içinde homojenizasyon tamponu [% 1,15'lik potasyum klorür (KCL) w/v, 25 mM dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4), 5 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA), 2 mM fenilmetilsülfonil (PMSF), 2 mM ditiyotritol (DTT), pH: 7,4] bulunan bir ependorf tüpe alındı. Hemolenfteki fenol oksidaz aktifliğini önlemek için tüplere birkaç feniltiyoüre kristali konuldu. Larvalardan alınan hemolenf örnekleri analiz yapılmaya kadar derin dondurucuda ($-80^{\circ}C$) saklandı.

3.8.2 Malondialdehid (MDA)

Jain ve Levine (1995)'nin kullandığı metod temel alınarak 532 nm'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona giren lipid peroksidasyonun son ürünü MDA miktarı ölçüldü. Hemolenf % 1,15'lik KCl ile ultrasonik homojenizatör (10 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus HD2070, Berlin, Germany) ile parçalandı. Homojenize edilen örnekler pH 7,4 olan fosfat tamponu (18 mM NaCl, 18 mM Na_2HPO_4), 0,04 M butillenmiş hidroksi toluen (BHT), % 30'luk triklorasetik asit (TCA)] eklenerek 2 saat buzun içerisinde bekletildikten sonra $4^{\circ}C$ de, 2000 x g devirde 15 dakika santrifüj edildi. Tüplerden alınan üst sıvıya 0,1 M EDTA ve % 1'lik TBA ilave edilerek kaynar su banyosunda 45 dakika bekletildi, daha sonra spektrofotometrede (Shimadzu 1700 UV/Vis, Kyoto, Japan) 532 nm'de absorbansı okundu. MDA miktarı $1,56 \times 10^5 M^{-1}cm^{-1}$ kat sayısı kullanılarak nmol/mg protein olarak verildi.

3.8.3 Glutasyon S-transferaz (GST)

Örnekler $+4^{\circ}C$ 'de ultrasonik homojenizatörde (Bandelin Sonoplus HD2070, Berlin, Germany) (10 sn, 30 W) homojenize edildi. Enzim inaktivasyonunun önlenmesi için homojenizasyon dahil tüm işlemler buz ile sağlanan soğuk ortamda yapıldı. Homojenize edilen örnekler, $+4^{\circ}C$ 'de 16000 x g devirde soğutmalı santrifüjde 20 dakika santrifüj edildi. Çöküntü atılarak üst sıvılar GST aktivitesinin ölçümünde kullanıldı. GST aktivitesinin ölçümünde Habig vd. (1974) tarafından geliştirilen metod uygulandı. GST'nin bütün izozimleri için 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) yaygın bir substrattır. CDNB 340 nm'de yükselen absorbans gösteren glutasyon oksidasyonunu katalizleyen GST enzimi için substrat

olarak kullanıldı. Bu enzimin aktivitesinin ölçülmesi için 3 ml'lik cam küvetlere 2,5 ml 50 mM fosfat tamponu, 200 µl 20 mM redükte glutatyon ve 150 µl süpernatant ilave edildi. Enzimatik reaksiyon bu karışıma 150 µl 25 mM CDNB eklenerek başlatıldı ve 2 dakika boyunca yükselen absorbanslar okundu. Yükselen absorbans CDNB'nin redükte glutatyon ile reaksiyona girerek tiyoether yapısının oluşumunu göstermektedir. Enzim aktivitesi 340 nm'de (ϵ_{340} : 0,0096 $\mu\text{M} \cdot \text{cm}^{-1}$) süpernatantta bulunan 1 mg toplam protein başına 1 dakikada oluşturulan tioether miktarı olarak ölçüldü ve enzimin spesifik aktivitesi nmol/mg protein/dk olarak verildi.

(GST)

GSH + ksenobiyotik ----- ksenobiyotik – GSH konjugasyonu

Hemolenf örneğinden elde edilen süpernatanttan enzimlerin spesifik aktifliğini hesaplamak ve MDA miktarını mg protein başına vermek için çözünür toplam protein tayini yapıldı. Bu amaçla örneklerin absorbansı spektrofotometrede 600 nm'de Folin-Lowry (Lowry et al. 1951) metoduna göre ölçülerek total protein miktarı tespit edildi. Bu hesaplamayı yapmak için öncelikle farklı konsantrasyonlarda standart protein olarak, bovin serum albumini (BSA) çözeltileri hazırlandı ve bir standart grafik oluşturuldu. Total protein miktarları bu standart grafiğe göre hesaplandı.

3.9 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Farklı konsantrasyonlarda laktoz, borik asit ve laktoz karışımlarının *G. mellonella*'nın yaşama ve gelişimi üzerindeki etkileri olgun larva (7. evre), pup ve ergin evresine ulaşan bireylerin yüzdesi ve bu evrelere ulaşmak için geçen ortalama süre (gün) dikkate alınarak değerlendirildi. Ergin eşey oranına etkisi erginleşen erkek ve dişi bireylerin yüzdesi dikkate alınarak değerlendirildi. Ergin bireylerin yaşama süresine etkisi erginleşen bireylerin hayatta kaldıkları gün olarak ortalama süre (ömür uzunluğu) belirlenerek değerlendirildi. Dişilerin verimliliği üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde ise bırakılan yumurta sayısı ve açılma oranı dikkate alındı. Farklı konsantrasyonlarda laktoz ve borik asit ile laktoz karışımlarının böceğin detoksifikasyon kapasitesine ve lipid peroksidasyonu düzeyi üzerine etkilerinin değerlendirilmesinde ise hemolenf GST enzimi ile lipid peroksidasyonu ürünlerinden MDA miktarındaki değişimler dikkate alındı. Yaşama, gelişim, erginlerin ömür süresi ve dişilerin yumurta verimi ve yumurtaların açılma oranı, hemolenf MDA miktarı ve GST aktivitesi ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü "Varyans Analizi" (ANOVA) (SPSS 1997),

ortalamlar arasındaki farkın önemini saptamak için “LSD Testi” (SPSS 1997), yaşama ve eşey oranı ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde ise “ χ^2 (Chi square) Testi” (Snedecor and Cochran 1989) kullanıldı. Ortalamaların önemi 0,05 olasılık seviyesinde değerlendirildi.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 BORİK ASİTİN VE LAKTOZUN (0,05 M) *G. MELLONELLA* LARVALARININ YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANINA ETKİSİ

Borik asitin 1250 ve 2500 ppm'ini 0,05 M laktoz ile birlikte ayrı ayrı içeren besinlerde larvalar 3. ve 4. larval evreden öteye gelişmemişlerdir.

Laktoz ve borik asit içermeyen kontrol besine göre laktozun 0,05 M'ını içeren besin böceğin 7. evre, pup ve ergin evrelerindeki yaşayan birey sayısını önemli derecede düşürmüştür. Kontrol besininden % $73,6 \pm 6,01$ oranında ergin elde edilirken, laktozun 0,05 M'ını içeren besin bu oranı % $49,9 \pm 8,33$ 'a düşürmüş olup böceğin gelişme süresi üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etki yapmamıştır. Laktozun 0,05 M'ını içeren besine ayrı ayrı 156 ve 620 ppm borik asit ilave edilmesi *G. mellonella*'nın gelişim evrelerindeki yaşama oranını önemli derecede düşürmüş ancak gelişme süresini etkilememiştir. Borik asitin denenen en yüksek konsantrasyonu olan 620 ppm'ini 0,05 M laktoz ile birlikte içeren besin ergin oranını % $20,8 \pm 2,30$ 'e düşürmüştür. Buna karşılık bu besin 7. evreye ulaşma süresini, pup ve ergin olma süresini yaklaşık 4 gün geciktirdiği halde kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir etki ortaya çıkmamıştır (Çizelge 4.1).

Borik asit ve laktoz içermeyen kontrol besininden % $73,6 \pm 6,01$ oranında ergin elde edilmiş olup bu erginlerin % $47,2 \pm 3,10$ 'si erkek, % $26,4 \pm 4,95$ 'ü dişidir. 0,05 M laktozu tek başına içeren besin ve şekerin bu konsantrasyonunu 156 ppm borik asit ile birlikte içeren besin erkek birey oranını önemli derecede düşürürken, dişi oranı üzerinde istatistiksel olarak önemli olmayan bir azalmaya sebep olmuştur. Laktozun 0,05 M'ını 156 ppm borik asit ile birlikte içeren besin erkek oranını % $29,1 \pm 7,18$ 'e önemli derecede düşürmüştür. Bu besinin dişi oranında kontrole göre sebep olduğu % 10'luk düşüş ise istatistiksel olarak önemli olmamıştır.

Borik asitin denenen en yüksek konsantrasyonu olan 620 ppm'ini 0,05 M laktoz ile birlikte içeren besin erkek oranını % $12,5 \pm 3,60$ 'e, dişi oranını ise % $8,3 \pm 1,39$ 'e düşürmüştür. Kontrol besini ile benzer şekilde, 0,05 M laktoz ile ayrı ayrı 156 ve 620 ppm borik asiti birlikte içeren besinler dişi oranına göre erkek oranında artışa sebep olmuştur (Çizelge 4.1).

4.2 BORİK ASİTİN VE LAKTOZUN (0,05 M) *G. MELLONELLA*'NİN ÖMÜR UZUNLUĞU, YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANINA ETKİSİ

Borik asit ve laktoz içermeyen kontrol besini ile karşılaştırıldığında, 0,05 M laktoz içeren besin ve borik asitin 156 ve 620 ppm'ini 0,05 M laktoz ile birlikte içeren besinler böceğin ergin ömür uzunluğu üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etki yapmamıştır (Çizelge 4.2). 0,05 M laktoz içeren besin, borik asit ve laktoz içermeyen kontrol besine göre, yumurta verimini $73,5 \pm 2,58$ 'den $49,0 \pm 7,05$ 'a önemli derecede düşürürken yumurtaların açılma oranını etkilememiştir. Laktozun 0,05 M'ını ayrı ayrı 156 ve 620 ppm borik asit ile birlikte içeren besinler dişilerin bir günde bıraktıkları yumurta sayısını önemli derecede düşürmüştür. Borik asitin 156 ppm'ini 0,05 M laktoz ile birlikte içeren besin yumurtaların açılma oranını etkilememiştir. Borik asitin denenen en yüksek konsantrasyonu olan 620 ppm borik asiti 0,05 M laktoz ile birlikte içeren besin ise yumurta verimini ve bırakılan yumurtaların açılma oranını kontrol besine göre önemli derecede azaltmıştır. Bu besin kontrol besininden elde edilen dişilerin bir günde bıraktığı yumurta sayısını $73,5 \pm 2,58$ 'den $31,5 \pm 3,61$ 'e, yumurtaların açılma oranını ise % $93,2 \pm 1,57$ 'den % $63,1 \pm 6,95$ 'e düşürmüştür. Yumurta verimi ve açılma oranındaki bu azalma 0,05 M laktoz içeren besine ve bu konsantrasyondaki şekeri 156 ppm borik asit ile birlikte içeren besine göre istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2).

4.3 BORİK ASİTİN VE LAKTOZUN (0,25 M) *G. MELLONELLA* LARVALARININ YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANINA ETKİSİ

Borik asitin 1250 ve 2500 ppm'ini 0,25 M laktoz ile birlikte ayrı ayrı içeren besinlerde larvalar 3. ve 4. larval evreden öteye gelişmemişlerdir.

Borik asit ve laktoz içermeyen kontrol besini ile karşılaştırıldığında 0,25 M laktozu tek başına içeren besin *G. mellonella* larvalarının 7. larval, pup ve ergin evrelerine ulaşma oranlarını önemli derecede düşürmüştür. Kontrol besini ile beslenen larvaların % $76,3 \pm 4,95$ 'ü ergin

olurken 0,25 M laktozu tek başına içeren besindeki larvaların % $37,4 \pm 4,96$ 'ü ergin olabilmektedir. Bu besin 7. evreye ulaşma süresini ve pup olma süresini yaklaşık 1 gün uzatmış ergin olma süresini ise 2 gün dolayında uzatmış olmasına rağmen kontrole göre önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Borik asitin 156 ve 620 ppm'ini 0,25 M laktoz ile birlikte ayrı ayrı içeren besinler böceğin tüm evrelerindeki yaşama oranını önemli derecede düşürmüştür. Buna karşılık bu iki besin böceğin 7. evreye ulaşma süresini, pup ve ergin olma süresini uzatmasına rağmen bu uzama kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli değildir. Borik asitin denenen en yüksek konsantrasyonu olan 620 ppm'ini 0,25 M laktoz ile birlikte içeren besin ergin olma oranını % $22,2 \pm 2,77$ 'ye düşürmüştür. Bu ergin oranı aynı zamanda 0,25 M laktozu tek başına içeren besine göre de istatistiksel olarak önemli derecede düşüktür (Çizelge 4.3).

Borik asit ve laktoz içermeyen kontrol besininden % $40,2 \pm 4,10$ erkek ve % $36,1 \pm 2,40$ dişi elde edilmiştir. Laktozun 0,25 M'ını içeren besin erkek ve dişi birey oranını önemli derecede düşürmüştür. Benzer şekilde bu şeker konsantrasyonu ile 156 ppm borik asit içeren besin de her iki eşeyin oranını kontrole göre önemli derecede düşürmüştür. Bu besindeki borik asit miktarı 620 ppm'e çıkarıldığında artan borik asit miktarı ile orantılı olarak erkek ve dişi oranı azalmış olup her iki bireyin oranı da % 11,1 düzeyine inmiştir. Kontrol besini erkek ve dişi oranı arasında önemli bir fark oluşturmazken 0,25 M laktoz ve bu şekere 156 ppm borik asit ilave edilmesi erkek eşey oranını artırmıştır (Çizelge 4.3).

4.4 BORİK ASİTİN VE LAKTOZUN (0,25 M) *G. MELLONELLA*'NİN ÖMÜR UZUNLUĞU, YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANINA ETKİSİ

G. mellonella erginlerinin ömür uzunluğu 0,25 M laktozu tek başına içeren besin ve bu şeker konsantrasyonu ile 156 ve 620 ppm borik asiti birlikte içeren besinler tarafından istatistiksel olarak önemli derecede etkilenmemiştir. 0,25 M laktozu ayrı ayrı 156 ve 620 ppm borik asiti birlikte içeren besinler erginlerin ömründe önemli olmayan bir uzamaya sebep olmuşlardır (Çizelge 4.4).

0,25 M laktozu tek başına içeren besin borik asit ve laktoz içermeyen kontrol besini ile karşılaştırıldığında dişilerin bir günde bıraktığı yumurta sayısını $70,9 \pm 2,47$ 'dan $46,7 \pm 1,72$ 'ye önemli derecede düşürmüştür. Bu besin bırakılan yumurtaların açılma oranını istatistiksel açıdan önemli derecede etkilememiştir. Ancak bu besine ilave edilen borik asitin artan konsantrasyonu ile orantılı olarak yumurta verimi ve açılma oranı gittikçe azalmıştır. Borik asitin 156 ppm'ini 0,25 M

laktoz ile birlikte içeren besin kontrole göre hem yumurta verimini hem de açılma oranını önemli derecede düşürmüş olup yumurta sayısını $37,3 \pm 1,05$ 'e açılma oranını ise $63,9 \pm 1,24$ 'a kadar azaltmıştır. Bu besindeki borik asit miktarının 620 ppm'e çıkarılması yumurta sayısını $27,8 \pm 2,21$ 'e, açılma oranını ise $53,2 \pm 4,44$ 'ye önemli derecede düşürmüştür (Çizelge 4.4).

4.5 BORİK ASİTİN VE LAKTOZUN *G. MELLONELLA* LARVALARININ HEMOLENF MDA MİKTARI VE GST AKTİVİTESİNE ETKİSİ

Borik asit ve laktozu içermeyen kontrol besine göre, 0,05 M laktozu tek başına içeren besin ve bu şeker konsantrasyonu ile birlikte borik asitin 620 ppm'ini içeren besin larvaların hemolenf MDA miktarı ve GST aktivitesini önemli derecede artırmıştır. 0,05 M laktoz ile 620 ppm borik asiti birlikte içeren besin MDA miktarını $0,10 \pm 0,01$ nmol/mg protein'den $0,35 \pm 0,02$ nmol/mg protein'e, GST aktivitesini $0,09 \pm 0,01$ nmol/mg protein/dk'dan $0,36 \pm 0,06$ nmol/mg protein/dk'ya çıkarmıştır. 0,05 M laktoz ile 156 ppm borik asiti birlikte içeren besin ise MDA miktarı ve GST aktivitesi üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır (Şekil 4.1).

Borik asit ve laktozu içermeyen kontrol besine göre, 0,25 M laktozu tek başına içeren besin larvaların hemolenf MDA miktarında önemli olmayan bir artışa sebep olurken GST aktivitesini önemli derecede artırmıştır. Laktozun 0,25 M'ını 156 ve 620 ppm borik asit ile birlikte ayrı ayrı içeren besinler borik asit ve laktoz içermeyen kontrol besine ve 0,25 M laktozu tek başına içeren besine göre MDA miktarını ve GST aktivitesini önemli derecede artırmıştır. Borik asitin en yüksek miktarını (620 ppm) 0,25 M laktoz ile birlikte içeren besin MDA miktarını $0,04 \pm 0,01$ 'den $0,45 \pm 0,03$ nmol/mg protein'e, GST aktivitesini 0,10'dan $0,89 \pm 0,02$ nmol/mg protein/dk'ya artırmıştır (Şekil 4.2).

Çizelge 4.1 Borik asitin ve laktozun *G. mellonella* larvalarının yaşama, gelişme ve eşey oranına etkisi.

Borik asit (ppm)	Laktoz (M)	7.evreye ulaşan	7.evreye ulaşma	Pup olma	Pup olma	Ergin olma	Ergin olma	Eşey oranı (%)	
		larva oranı (%)	süresi (gün)	oranı (%)	süresi (gün)	oranı (%)	süresi (gün)	Erkek	Dişi
		(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]
0,00	0,00 [§]	83,3 ± 7,08a	29,9 ± 1,40a	77,7 ± 6,80a	35,2 ± 1,49a	73,6 ± 6,01a	41,6 ± 1,28a	47,2 ± 3,10a	26,4 ± 4,95a
0,00	0,05 [¥]	63,8 ± 10,48b	29,2 ± 1,68a	55,5 ± 8,09b	35,8 ± 1,94a	49,9 ± 8,33b	41,3 ± 1,98a	27,7 ± 1,96b	22,2 ± 6,51a
156	0,05	66,6 ± 10,20b	30,3 ± 1,34a	52,7 ± 10,66b	37,4 ± 1,61a	45,8 ± 8,18b	42,2 ± 1,46a	29,1 ± 7,18b	16,7 ± 3,40ab
620	0,05	27,7 ± 4,39c	33,1 ± 1,60a	23,6 ± 3,02c	39,1 ± 1,08a	20,8 ± 2,30c	45,1 ± 1,37a	12,5 ± 3,60c	8,3 ± 1,39b

* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 larva kullanıldı.

[†] Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P > 0,05 (χ^2 testi, LSD Testi).

[§] Kontrol besini (Borik asit ve laktoz içermeyen).

[¥] Kontrol besini (sadece laktoz içeren).

Çizelge 4.2 Borik asitin ve laktozun *G. mellonella*'nın ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranına etkisi.

Borik asit (ppm)	Laktoz (M)	Ergin Ömür uzunluğu (gün) (Ort* ± S.H) [†]	Yumurta verimi (yumurta sayısı/gün/dişi) (Ort* ± S.H) [†]	Açılma oranı (%) Ort* ± S.H) [†]
0,00	0,00 [§]	7,1 ± 0,60a	73,5 ± 2,58a	93,2 ± 1,57a
0,00	0,05 [¥]	6,5 ± 0,76a	49,0 ± 7,05b	84,9 ± 1,68a
156	0,05	7,2 ± 0,60a	50,9 ± 4,39b	84,0 ± 1,44a
620	0,05	7,5 ± 0,77a	31,5 ± 3,61c	63,1 ± 6,95b

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 10 ergin kullanıldı.

[†] Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P > 0,05 (LSD Testi).

[§] Kontrol besini (Borik asit ve laktoz içermeyen).

[¥] Kontrol besini (sadece laktoz içeren).

Çizelge 4.3 Borik asitin ve laktozun *G. mellonella* larvalarının yaşama, gelişme ve eşey oranına etkisi.

Borik asit (ppm)	Laktoz (M)	7.evreye ulaşan	7.evreye ulaşma	Pup olma	Pup olma	Ergin olma	Ergin olma	Eşey oranı (%)	
		larva oranı (%)	süresi (gün)	oranı (%)	süresi (gün)	oranı (%)	süresi (gün)	Erkek	Dişi
		(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]	(Ort* ± S.H) [†]
0,00	0,00 [§]	86,1 ± 5,72a	25,1 ± 1,05a	81,9 ± 5,33a	31,7 ± 0,62a	76,3 ± 4,95a	38,0 ± 0,35a	40,2 ± 4,10a	36,1 ± 2,40a
0,00	0,25 [¥]	56,9 ± 7,94b	26,4 ± 0,79a	45,8 ± 6,32b	32,7 ± 1,59a	37,4 ± 4,96b	40,1 ± 1,34a	25,0 ± 4,60b	12,4 ± 1,20b
156	0,25	56,9 ± 8,41b	27,6 ± 1,27a	43,0 ± 8,18b	34,1 ± 0,82a	34,7 ± 5,33bc	40,5 ± 1,29a	20,8 ± 2,30bc	13,9 ± 3,10b
620	0,25	33,3 ± 2,77c	28,6 ± 1,18a	24,9 ± 3,10c	34,2 ± 1,29a	22,2 ± 2,77c	40,0 ± 1,45a	11,1 ± 1,96c	11,1 ± 3,40b

* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 larva kullanıldı.

[†] Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P > 0,05 (χ^2 testi, LSD Testi).

[§] Kontrol besini (Borik asit ve laktoz içermeyen).

[¥] Kontrol besini (sadece laktoz içeren).

Çizelge 4.4 Borik asitin ve laktozun *G. mellonella*'nın ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranına etkisi.

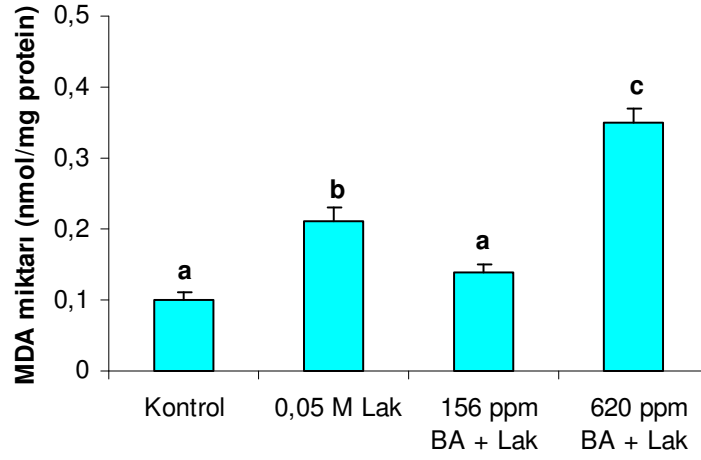
Borik asit (ppm)	Laktoz (M)	Ergin Ömür uzunluğu (gün) (Ort [*] ± S.H) [†]	Yumurta verimi (yumurta sayısı/gün/dişi) (Ort [*] ± S.H) [†]	Açılma oranı (%) Ort [*] ± S.H) [†]
0,00	0,00 [§]	6,8 ± 0,21a	70,9 ± 2,47a	91,3 ± 2,80a
0,00	0,25 [¥]	6,8 ± 0,39a	46,7 ± 1,72b	82,3 ± 2,31a
156	0,25	7,5 ± 0,42a	37,3 ± 1,05c	63,9 ± 1,24b
620	0,25	7,2 ± 0,63a	27,8 ± 2,21d	53,2 ± 4,44c

^{*} Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 10 ergin kullanıldı.

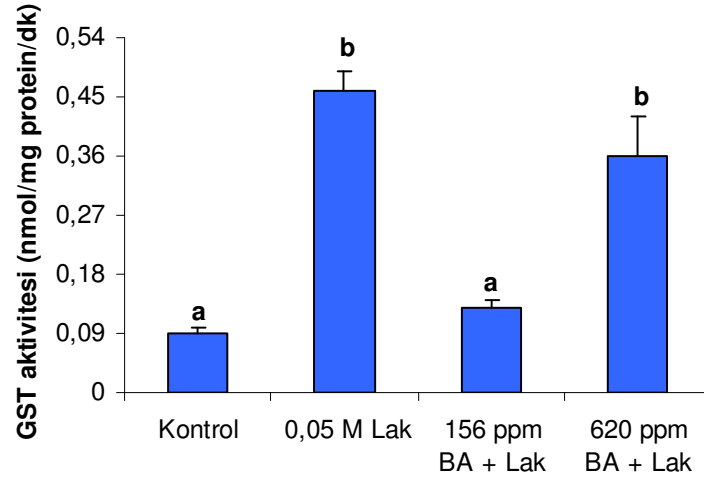
[†] Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P > 0,05 (LSD Testi).

[§] Kontrol besini (Borik asit ve laktoz içermeyen).

[¥] Kontrol besini (sadece laktoz içeren).

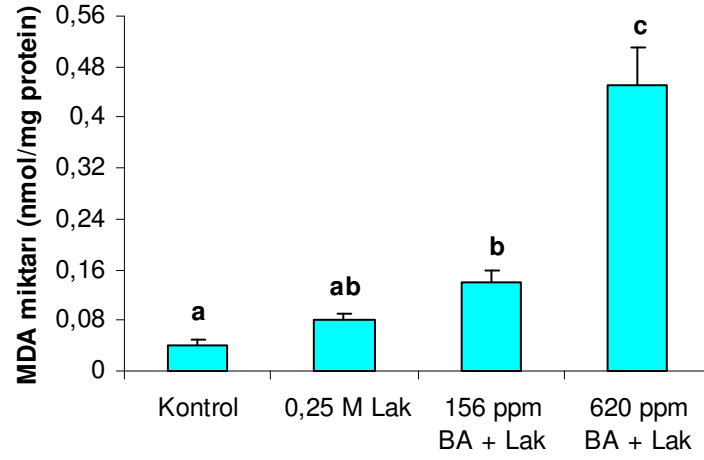


(a)

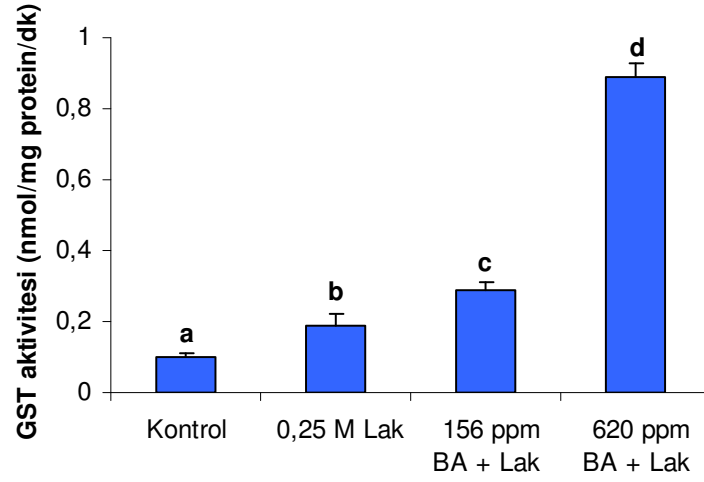


(b)

Şekil 4.1 Borik asitin ve laktozun (0,05 M) *G. mellonella* larvalarının hemolenf MDA miktarı (a) ve GST aktivitesine (b) etkisi.



(a)



(b)

Şekil 4.2 Borik asitin ve laktozun (0,25 M) *G. mellonella* larvalarının hemolenf MDA miktarı (a) ve GST aktivitesine (b) etkisi.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Bu çalışmada Pyralidae ailesine ait olan büyük bal mümü güvesi *G. mellonella* model alınarak ülkemizde tarımsal ürünlere zarar veren öncelikle Pyralidae familyasına ait türlerin ve genelde ise diğer zararlı türlerin kimyasal mücadelesinde doğal bor rezervlerimizden üretilen borik asitin disakkarit yapısındaki laktoz şekeri ile birlikte besinsel karışımlarının kullanılabilirliğinin laboratuvar şartlarında araştırılması amaçlanmıştır. Borik asitin ve sodyum tetraboratın tek başlarına besinsel karışımlarının etkileri *G. mellonella* üzerinde denenmiş olup (Hyršl et al. 2007, Durmuş and Büyükgüzel 2008) bu maddeler ile birlikte karbohidratlar gibi bazı besin katkı maddelerinin sinerjistik ya da antagonistik etkileri denenmemiştir. Dünyada ve ülkemizde tarım alanındaki zararlılar ile mücadele ederek daha kaliteli ürün elde etmek amacıyla geniş etkili kimyasal insektisitler yoğun olarak kullanılmaktadır. Tarımsal alanda kullanılan bu insektisitler hedef organizmaları yok ederek ürün artışına neden olduğu gibi hedef olmayan canlılara da zarar vermektedir. Tarım bitkileri zararlısı böcekler ile mücadelede Lepidoptera takımına ait türlerin laboratuvarda yapay ortamlarda yetiştirilme çalışmaları yeni pestisitlerin geliştirilmesi ve keşfedilmesi doğrultusunda büyük bir hızla artmakta olup bu amaçla farklı model böcek türleri ve beslenme teknikleri kullanılmaktadır.

Lepidoptera takımına ait büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* larvalarını laboratuvarda ergin evreye kadar yetiştirmek için kullanılan yapay besine farklı miktarlarda katılan bir bor türevi borik asitin laktoz ile birlikte böceklerin farklı evrelerindeki yaşama, gelişimine, eşey oranına, ergin ömür uzunluğuna, yumurta verimi ve açılma oranına, son evre larvalarının hemolenfinde lipid peroksidasyonunun önemli bir ürünü olan MDA miktarına, detoksifikasyon enzimi GST aktivitesine etkisi incelendi. Bu çalışmanın sonuçları borik asitin denenilen şeker ile karışımlarının çalışılan böceğin yaşam parametreleri ile ilgili biyolojik etkinliğini ve biyokimyasal parametrelerini olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir. Benzer biyolojik tepkiler borik asit ve diğer bor türevi maddeler (sodyum tetraborat) ile maruz kalan diğer

zararlı böcekler için de kaydedilmiştir (Nigg and Simpson 1997, Yang et al. 2000b). Borik asitin, oksidatif stresin göstergesi olan lipid peroksidasyonu ürünü MDA miktarının artışına karşı, önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST aktivitesinde değişimlere sebep olduğu açıkça görülmüştür. Bu sonuçlar *G. mellonella* larvalarının yaşaması, gelişmesi, ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranı üzerindeki olumsuz etkilerin borik asitin laktoz karışımları ile uyarılan oksidatif stresten kaynaklanabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada ayrıca borik asitin *G. mellonella* üzerinde fizyolojik ve biyokimyasal etkisinin araştırılmasında, son evre larvalarının hemolenfinde lipid peroksidasyonu seviyesi ile önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST aktivitesindeki değişimlerin tespit edilmesi ve bu değişimler ile birlikte, böceğin yaşama oranı, gelişme süresi, yumurta verimi, yumurtaların açılma oranı, ergin ömür uzunluğu ve eşey oranını olumsuz yönde etkileyen konsantrasyonların belirlenmesi borik asitin inorganik insektisit olarak kullanılabilirliğinin kararlaştırılmasında önemli kriterler olmuştur. Böylece ülkemizin kendi öz kaynaklarının işlenmesi ile geliştirilen bir ürünün zararlı böceklerin mücadelesinde kullanımı ile ilgili bu yeni yaklaşım tarımsal ürünlerin korunmasında çevreye duyarlı bir yöntem olmaya adaydır. Bu çalışma sodyum tetraborat, sodyum oktaborat, susuz borat gibi diğer bor türevlerinin de tarımsal zararlı böceklerin mücadelesinde çevre dostu ve ucuz inorganik insektisitler olarak kullanılma denemelerini teşvik edebilecektir.

Aynı türün farklı gelişim evrelerinde bile değişik fizyolojik koşullara gereksinim duyulduğu bilinmektedir (Grenier et al. 1986). Bu yüzden denenen borik asitin tek başına veya laktoz ile besinsel karışım halinde etkisinin böceğin farklı gelişim evresine göre değişmesi de beklenen bir sonuçtur. Bunun yanında herhangi bir insektisit uygulama yöntemi, formülasyonu ve insektisit etkinliği de önemlidir (Appel et al. 2004). Bu çalışmada böcek üzerindeki etki borik asitin uygulanan miktarlarının birlikte denendiği laktozun farklı konsantrasyonları ile değişmiştir. Borik asitin denenen konsantrasyonlarının 0,05 ve 0,25 M laktoz ile birlikte içeren besinler böceğin gelişme evrelerindeki yaşama oranını önemli derecede düşürürken, gelişme süresini ve ergin ömür uzunluğunu etkilememiştir. Borik asitin 156 ve 620 ppm'ini 0,25 M laktoz ile birlikte içeren besinler *G. mellonella*'nın erkek ve dişi oranını, dişilerin yumurta verimi ve bırakılan yumurtaların açılma oranını önemli derecede düşürürken borik asitin 156 ppm'ini 0,05 M laktoz ile birlikte içeren besin ise sadece erkek oranını ve yumurta verimini düşürmüştür. Borik asitin 156 ppm'ini 0,05 M laktoz ile birlikte içeren besinden dişi oranına göre % 13 oranında daha fazla erkek birey elde edilmiştir.

Yalnızca 0,05 M laktoz içeren besin kontrol besinine göre *G. mellonella* son evre larvalarının hemolenf MDA miktarını ve GST aktivitesini önemli derecede artırmıştır. Bu besine 156 ppm borik asit ilave edilmesi oksidan etki göstermemiş olup MDA ve GST seviyesinde kontrole göre önemli bir değişim oluşturmamıştır. Laktozun 0,05 M'ını içeren besinde borik asit miktarının 620 ppm'e çıkarılması MDA miktarını ve GST aktivitesini yaklaşık 4 katı artırmıştır. Borik asitin 156 ve 620 ppm'ini 0,25 M laktoz ile birlikte içeren besinlerde de MDA miktarı ve GST aktivitesi önemli derecede artmıştır.

Bir bor türevi olan borik asiti tek başına kullanarak yürütülen daha önceki bir çalışma bu inorganik insektisit 620 ppm ve daha yüksek konsantrasyonlarının (1250 ve 2500 ppm) *G. mellonella*'nın yaşama oranını düşürdüğü, gelişme süresini kısalttığı, ergin ömür süresini ise uzattığını göstermiştir. Bu konsantrasyonlar böceğin son evre larvaları ile yeni pup olmuş bireylerin hemolenf ve yağ dokusundaki MDA miktarını artırmış, antioksidan enzimler SOD, CAT, GST ve GPx aktivitelerini ise önemli derecede değiştirmişlerdir (Hyrsl et al. 2007). Buna karşın, bu çalışmada ise borik asitin 1250 ve 2500 ppm'i laktozun denenen konsantrasyonları (0,05 ve 0,25 M) ile karıştırıldığında *G. mellonella* larvalarının hiç biri 3. ve 4. larval evreden öteye gelişmemişlerdir.

Borik asitin böcek üzerinde önemli derecede olumsuz etki yapan konsantrasyonu besine borik asit ile birlikte ilave edilen laktozun konsantrasyonuna göre değişmiştir. Borik asitin laktoz ile birlikte besinsel karışımlarının yüksek konsantrasyonları hem larval evrede hem de larva sonrası evrelerde böceklerin yaşama, gelişme, eşey oranı, yumurta verimi ve açılma oranı üzerinde olumsuz etki yaptığı gibi böcek üzerinde en etkili borik asit konsantrasyonu daha da düşmüştür.

Borik asit uzun süreden beri hamam böceği başta olmak üzere kapalı alanlarda insan ve hayvan sağlığını doğrudan ya da dolaylı tehdit eden böceklerin mücadelesinde kullanılmaktadır (Ebeling 1995). Böceğin metabolizması üzerinde bir mide zehiri gibi etkisini gösteren borik asit son zamanlarda inorganik insektisit olarak kullanımdaki yerini almaya başlamıştır. Bu madde ön (foregut) ve orta bağırsağa (midgut) zarar verdiğinden besin alınmasını ve alınan besinin sindirilmesini önleyerek böceğin ölmesine sebep olmaktadır (Cochran 1995). Borik asitin böceklerdeki etki mekanizması tam olarak ortaya çıkarılmamış ancak bor mineralinin sindirim işlemini bozarak böcekleri öldürdüğü bilinmektedir. Bu durum böceğin yaşama ve gelişimi için gerekli olan besinsel ihtiyacı karşılayamamasına

sebebolmaktadır. Borat iyonları aynı zamanda bir çok işlevsel organik grup ve şeker alkolleri ile güçlü kompleksler oluştururlar (Willams and Atalla 1981, Hu et al. 1997). Diğer taraftan borun hücreler arasındaki bağlantı bölgelerini tahrip ettiği bilinmektedir (Klotz et al. 2000). Ayrıca borik asitin zararlılarla mücadelede kullanılmasının diğer nedeni kısırlaştırıcı etkisinden dolayı böceğin çoğalmasını önlemesidir (Zhou and le Patourel 1990). Borik asitin düşük konsantrasyonlarda besinsel karışımları böceğin besin almasını uyarır. Bunun sonucunda tüketilen besin miktarının artması ile alınan borik asit miktarı da artar. Borik asit özellikle bal arıları, kuş, balık, sucul omurgasızlar ve biyolojik kontrol ajanı yararlı böceklerle ve memelilere karşı toksik etkisi çok düşüktür (Weir and Fisher 1972). Fosfor ve kalsiyum böceklerin larval evresi için oldukça önemli besinsel elementlerdir. Borik asit ve sodyum tetraboraks kalsiyum, magnezyum, bakır ve fosfor gibi besinsel elementlerin metabolizmasını etkiler. Borik asit karbohidratlar (monosakkarit ve polisakkaritler), nükleotidler (adenozin monofosfat, NAD) ve vitaminler (askorbik asit, pridoksin ve riboflavin) ile kompleks oluşturarak bu besinsel moleküllerin böcekler tarafından yeterli derecede alınmasını önler (Xue and Barnard 2003).

Zararlı böceklerin mücadelesi amacıyla çeşitli besinlere ilave edilen borik asit ve sodyum tetraborat gibi bor türevi çeşitli kimyasalların yüksek konsantrasyonlarda gelişmeyi geciktirdiği, yumurta üretimini ve açılımını azalttığı, larval ve pupal evrede ölüm oranını ve ergin ömür uzunluğunu artırdığı gözlenmiştir (Zurek et al. 2003, Xue and Barnard 2003, Gore and Schal 2004, Gore et al. 2004, Hyrs et al. 2007). Borik asitin % 1'lik konsantrasyonu *A. albopictus* (Diptera: Culicidae)'un % 98'ini öldürmüştür (Xue and Barnard 2003). Mullens ve Rodriguez (1992) göre disodyum oktaborat tetrahidratın % 1 ve 2'lik konsantrasyonu ev sineği *M. domestica* ve küçük ev sineği *Fannia canicularis* (Linnaeus) (Diptera: Muscidae)'in yaşama oranını önemli derecede düşürmüştür. *A. mellifera*'nın besinine 2,5 ve 7,5 mg/g (mg/g besin) oranında ilave edilen borik asit, kontrol grubuna göre işçi larvaların ölüm oranını ilerleyen günlere göre artırmış olup borik asitin 2,5 mg'ı 5. ve 6. günde larvaları % 100 oranında öldürürken, 7,5 mg'da 4. günde %100 ölüm oranına ulaşılmıştır (Cruz et al. 2009). Bu çalışmada ışık mikroskopi analizleri besine 1,0 ve 2,5 mg borik asit ilave edildiğinde orta bağırsak hücrelerinde sitoplazmik vakuolleşmenin başladığı, 7,5 mg borik asitte ise yoğun bir vakuolleşme olduğunu göstermiştir. Ayrıca yağ doku hücrelerinde piknotik çekirdekler ile birlikte hücre fragmentasyonları görülmüştür. Ultrayapı analizi ile ilgili olarak yapılan taramalı elektron mikroskop çalışmaları ise 7,5 mg borik asitin mitokondrilerin bazı

bölgelerinde elektron yoğun granüllerin oluşumuna, mitokondrilerin hacimlerinde artıştan dolayı tipik morfolojik yapılarında bozulmaya sebep olduğunu göstermiştir (Cruz et al. 2009).

Borik asitin böcek üzerindeki patofizyolojik etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber borik asit gibi bazı bor türevi kimyasalların moleküler oksijene elektron transfer ederek süperoksit radikallerinin oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir (Jolly 1991). Diğer taraftan borik asitin Alman hamam böceği *B. germanica* erginlerinin orta bağırsak epitel dokusunda oksidatif hasara sebep olduğu ve GST aktivitesini artırdığı ortaya çıkarılmıştır (Habes et al. 2006). Bu çalışmada borik asitin böceğin besin almasını uyarması sonucu fazla miktarda kimyasal tüketmesine bağlı olarak beslenme fizyolojisinde değişikliklere sebep olabileceği düşünülmektedir. Tropik meyve sineği *A. suspensa* erginlerinin % 4'lük sodyum tetraborat içeren besin ile beslenilmesi erginlerin ölüm oranını artırdığı gibi yumurta verimini ve açılımını önemli derecede düşürmüştür (Yang et al. 2000b). Bu sonuçlar ile uyumlu olarak borik asit *G. mellonella* larvalarının pup ve ergin olma oranını önemli derecede düşürmüş, gelişmeyi ise geciktirmiştir. Besinle alınan borik asitin böceklerin larvaları üzerindeki toksitesinin yüksek olması larvaların besin tüketimi oranının artması sonucu olabilir.

Böcekler yaşamlarını devam ettirebilmeleri, beslenme, uçuş, üreme ve diğer aktivitelerini gerçekleştirebilmeleri için düzenli olarak karbohidrat tüketmek zorundadırlar (Foster 1995). Çalışmalar erkek ve dişi erginlerin bu amaçla bitki orijinli şekerleri bitkisel konakları üzerinde beslenmeleri sırasında aldıklarını ya da ergin evrede kullanmak üzere larval evrede bu şekerleri temin ettiklerini göstermiştir (Burkett et al. 1999). Besine ilave edilen galaktoz *P. brassicae*'nin son evre larvalarının orta bağırsağında % 90 oranında sindirilmiştir. Emilimden sonra hemolenfteki miktarı hızla artmış olup orta bağırsaktaki miktarı düşük bulunmuştur (Turunen 1992). Bu çalışmanın sonucunda galaktoz orta bağırsak hücrelerinde tamamen glukozla çevrilmekte ve glukoz hemolenfe salınarak yağ dokuda hızlı bir şekilde trehaloza dönüştüğü gözlenmiştir. Orta bağırsak hücrelerinde galaktoz emilimi sonrasında lipidlerin sentezlendiği (fosfotidil kolin, fosfotidil etanolamin, triaçil gliserol) görülmüştür. Genellikle şekerlerin lepidoptera takımına ait bir çok türün beslenme davranışını uyardığı uzun süreden bu yana bilinmektedir. Sükroz, fruktoz, glukoz ve maltozun *Manduca sexta* (Linnaeus) (Yamamoto and Fraenkel 1960), *Bombyx mori* (Linnaeus) (Ito 1960), *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Heron 1965), *Gnorimoschema operculella* (Zell) (Meisner et al. 1974), *Heliothis zea* (Boddie) (Jones et al. 1972), *O. nubilalis* (Hübner) (Beck 1957), *Plodia interpunctella* (Hübner) (Baker and Mabie 1973), *Spodoptera exempta* (Walker)

(Ma and Kubo 1977), *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Meisner et al. 1972), *Trichoplusia ni* (Hübner) (Gothliff and Beck 1967) ve *Uraba lugens* (Walker) (Cobbinah et al. 1982)'ın beslenmelerini uyardığı gösterilmiştir. Bazı şekerler (sükroz, glukoz, fruktoz ve maltoz) ile besinsel değeri olmayan çeşitli şeker bileşenleri (aspartam içeren formülasyon) bir elma güvesi türü *Cydia pomonella* (Linnaeus) üzerinde denendiğinde glukoz, fruktoz ve maltozun elma yapraklarının tüketimi üzerinde etkisi olmamıştır. Buna karşın sükrozun yüksek konsantrasyonları larvaların yaprak tüketimini önemli derecede düşürmüş ve besine yönelmelerini de geciktirmiştir (Pszczolkowski and Brown 2003). Benzer şekilde, laktozun 0,05 M'ı ile borik asitin 620 ppm'ini içeren besin karışımı *G. mellonella*'nın ergin olma oranını önemli derecede azaltmıştır. *G. mellonella* larvalarını beslemek için kullanılan laktozun 0,05 ve 0,25 M'ı larvaların yaşama oranını düşürdüğü ve diğer bazı ergin özelliklerini olumsuz yönde etkilediği görülmüştür. Buna karşın bu şekerin denenen konsantrasyonları borik asitin denenen konsantrasyonları ile birlikte besinlere katıldığında *G. mellonella* üzerindeki olumsuz etkiler önemli derecede artmıştır.

Bir endoparazitoit hymenopter tür *Pimpla turionellae* (Linnaeus) dişileri üzerinde denenen karbohidratlardan ksiloz, riboz, ramnoz mannoz, maltoz, sellobioz, melezitoz, raffinöz, glikojen, şeker alkollerinden dulsitol ve mannitol böceğin total glikojen miktarını önemli derecede düşürmüş, arabinoz, fruktoz, galaktoz, glukoz, sorboz, laktoz, melibioz, trehaloz, nişasta, sorbitol ve α -metil D-glikozit ise önemli bir etkide bulunmamıştır. Diğer taraftan aynı böceğin dişilerinin total protein miktarını ksiloz arttırmış, glukoz ise azaltmıştır. Denenen diğer karbohidratlar böceğin protein miktarı üzerine önemli bir etkide bulunmamıştır (Özalp ve Emre 1996). Bu böceğin glikojen miktarı üzerinde maltoz ve melezitozun düşürücü etkisine karşın yaşam süresi ve yumurta üretimini önemli derecede etkilememesi bu şekerlerin metabolik kullanımından çok fagostimülant etki yapmasından ileri gelebileceği ileri sürülmüştür. Bunun yanında ksiloz şekeri *P. turionellae* ergin dişilerinin total glikojen miktarını düşürürken total protein miktarını artırmıştır. Bu etkinin borik asit ve laktoz karışımları ile *G. mellonella*'da elde ettiğimiz sonuçlar ile uyumlu olarak bazı ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda iş gören enzimlerin sentezini uyarmalarının bir sonucu olabileceği vurgulanmıştır. *G. mellonella* ile yapılan bu çalışmada da borik asitin yüksek konsantrasyonları ile laktozun 0,05 veya 0,25 M'ını içeren besinler ile beslenen larvaların hemolenfinde GST enziminin aktivitesi oldukça yüksek bulunmuştur. Sükroz ile fruktoz ve glukozun yüksek konsantrasyonlarda *Heteronychus arator* (Fabricius) (Scarabaeidae: Coleoptera) için güçlü bir fagostimülant olduğu gösterilmiştir (Sutherland and Hillier 1976).

Sükrozun 0,1 M'lık çözeltisi ile beslenen boz kesici kurt *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) dişi ve erkek erginlerinin ömür uzunluğu su ile beslenen ya da aç bırakılan erginlere göre önemli derecede uzamıştır (Binder 1996). Benzer şekilde bu çalışmada laktoz ile beslenen *G. mellonella* larvalarından elde edilen erginlerin ömür uzunluğu, yumurta verimi ve yumurtaların açılım oranındaki değişimler farklı karbohidrat çözeltileri ile beslenen diğer güve türlerinde de görülmüştür (Willers et al. 1987, Adler 1989). Kimyasal yapısı bilinen sentetik besinlere ilave edilen bazı karbohidratlar ile beslenen *P. turionellae* erginlerinin ömür uzunluğunu fruktoz ve galaktoz önemli derecede kısaltırken glukoz bu hususta etkili olmamıştır. Fruktoz aynı zamanda böceğin yaşama oranını düşürmüştür (Özalp and Emre 2001). Bu çalışmada *G. mellonella* üzerindeki olumsuz etkisinden dolayı laktozun yüksek konsantrasyonlarda besin almayı önleyici etki yaptığı düşünülmüştür. Benzer şekilde bazı karbohidratların örneğin böcekler tarafından en iyi şekilde yararlanılan bir şeker olan fruktozun besindeki miktarının artması *Locusta migratoria migratorioides* (Reiche & Fairmaire)'in besin alımını düşürmüştür (Emre 1984). Diğer taraftan fruktoz düşük miktarlarda Akdeniz meyve sineği *Ceratitis capitata* (Weidemann)'nın yumurta verimini artırmıştır (Zucoloto 1992). Şekerlerin besinsel etkilerini ortaya çıkarmaya yönelik olan bu çalışmalar böceklerin biyolojik parametreleri üzerindeki olumsuz etkinin şekerlerin belirli bir metabolik yolu önlemesinden ziyade böceğin yararlanabileceği konsantrasyonların üzerindeki toksik etkilerinden dolayı metabolik ve fizyolojik işlevleri baskılamalarından ileri geldiğini göstermiştir. Şekerlerin fagositümlant etkileri ile ilgili çalışmalar dikkate alındığında ise besine birlikte ilave edilen inorganik insektisit borik asitin alımını artırarak daha düşük borik asit konsantrasyonlarında böcek üzerindeki olumsuz etkinin daha da artmasına sebep olmaları beklenen bir sonuçtur. Larval evrede alınan besinin besinsel kalite ve miktarının ergin gelişimi ve erginlerin biyolojik özellikleri için önemli olduğu bilinmektedir (Slansky and Scriber 1985). Bu şekildeki beslenme davranışı böceklerin kimyasal mücadelesinde besin almayı artırıcı olarak şekere dayalı toksik besinlerin kullanımını gündeme getirmiştir. Bu şekilde hazırlanan borik asit içeren besinsel karışımların çeşitli bitkilerin yüzeyine püskürtme yöntemi ile uygulanması mide zehiri gibi etki ederek bitki şekeri ve nektar sıvısı arayan böcekler için toksik etki yaparak böceklerin ölümüne sebep olabilir. Şeker karışımlarına dayalı toksik besin karışımlarının öldürücü olmayan dozlarının böceğin yaşama oranını, konak arama ve beslenme davranışını, yumurta verimini etkilemesi beklenen bir durumdur.

Son çalışmalar borik asit ile birlikte sükroz ya da maltoz içeren sıvı besin karışımlarının çeşitli karınca (Klotz et al. 2000) ve hamam böceği (Gore and Schal 2004) türlerinin mücadelesinde

etkili olduğunu göstermesine rağmen bu formülasyonlar ekonomik açıdan önemli tarımsal zararlı böceklerle karşı yaygın bir şekilde denenmemiştir. Bazı tarımsal ve endüstriyel bitki zararlılarının mücadelesinde hedef olmayan diğer canlılara karşı düşük toksisiteye sahip, uçucu olmayan inorganik insektisitler borik asit ve türevleri sodyum tetraborat , disodyum oktaborat tetrahidratın şeker çözeltileri ile oluşturulduğu karışımlar kullanılmıştır. Bu karışımlar sivrisinek gibi halk sağlığını tehdit eden bazı virüs, bakteri ve diğer hastalık ajanlarının taşıyıcısı bir çok böcek ile hamam böceği ve karınca gibi kapalı alan zararlılarının kontrolünde de eskiden beri alışlagelmiş bir şekilde kullanılmaktadır (Hayes and Laws 1991, Klotz et al. 1997a, Xue and Barnard 2003, Zurek et al. 2003). Bu böceklerin mücadelesinde borik asitin şeker ile karışımları jel, püskürtme veya toz şeklinde kapalı alanlara uygulanabildiği gibi tarımsal alanlarda bitkilerin yaprak, kök ve gövdelerine de benzer yollar ile uygulanabilmektedir. Benzer bir çalışma Alman hamam böceği *B. germanica* üzerinde yüksek konsantrasyonlarda (0,1-0,5 M) süktroz çözeltisi ile hazırlanmış % 1 ve 2'lik borik asit çözeltisi kullanılarak yapılmıştır. Ancak yüksek borik asit ve şeker konsantrasyonunda borik asit besin almayı önleyici etki yaparak böcek üzerinde olumsuz yönde etkili olmamıştır. Borik asitin % 1'lik çözeltisi 0,5 M süktroz ile karıştırıldığında ise *B. germanica* popülasyonunu önemli derecede düşürmüştür (Gore and Schal 2004, Gore et al. 2004). Sodyum tetraboratın % 0,1'lik konsantrasyonu tropik meyvelere zarar veren *A. suspensa*'nın ölüm oranını artırmış, üremesini yavaşlatmıştır (Yang et al. 2000b). Aynı maddenin % 0,5'lik çözeltisi yumurta üretimi ve açılımını azaltmıştır. Laboratuvar şartlarında yapılan çalışmalar borik asitin % 1'lik çözeltisinin % 10'luk süktroz çözeltisi ile karışımının bir sivrisinek türü, *A. albopictus* popülasyonunu % 98 oranında azalttığını ortaya çıkarmıştır (Xue and Barnard 2003). Fipronil, hidrametilon, diflubenzuron gibi insektisitlerin besinsel karışımları ile bazı piretroid ve organofosfat insektisitlerin öldürücü olmayan dozlarının çeşitli böceklerin mücadelesinde kullanıldığında borik asite göre hedef böceğe verdikleri zarar yanında çevreye ve hedef olmayan organizmalara da zararlı oldukları tespit edilmiştir (Ulloa-Chacon and Jaramillo 2003, Zhang et al. 1990). Borik asitin % 10'luk şeker çözeltisi içinde % 0,5'lik besinsel karışımı hayalet karınca *T. melanocephalum*'nın işçi, kraliçe erginleri ile larva ve puplarını üç hafta sonunda % 100 oranında öldürmüştür. Buna karşın, fipronilin % 0,05 konsantrasyonu ilk hafta içinde bu karınca türünün tüm kolonilerini öldürmüş, hidrametilonun % 2 konsantrasyonu ise kolonilerin % 83'ünü ancak dördüncü haftanın sonunda öldürmüştür (Ulloa-Chacon and Jaramillo 2003).

Borik asitin tek başına ya da borik asitin çeşitli biyolojik kontrol ajanları entomopatojenik bakteri ve virüsler ile karışım halinde çeşitli zararlı böceklerin mücadelesinde kullanımı çalışmaları çok eskilere dayanmaktadır. Borik asitin besinler ile karışım halinde, kara sineklerin ve Alman hamam böceğinin mücadelesinde oldukça etkili olduğu 1940'larda tespit edilmiştir (Midgley and Dunklee 1943, Bare 1945). Doanne ve Wallis (1964) *B. thuringiensis*'in patojenitesi üzerine etkisini araştırdıkları bir çok kimyasal arasından borik asit ve *B. thuringiensis* kombinasyonunun bir kır tırtılı türü *P. dispar* larvalarının ölüm oranını artırdığını tespit etmiştir. Bazı termit türleri, *M. championi*, *O. obesus* ve *B. beesonii* (Gardner)'ye karşı % 1'lik borik asit tarafından *B. thuringiensis*'in patojenitesini artırmaya yönelik çalışma yapılmıştır (Khan 2006). Bu çalışmada % 1'lik borik asitin tek başına bu termit türlerine toksik etki yaptığı belirlenirken, % 1'lik borik asit ve belirli dozlarda *B. thuringiensis* karışımı ile beslenen böceklerin ölüm oranının önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. Borik asitin bazı bakulovirüslerin böcekler üzerindeki aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir (Shapiro and Bell 1982, Morris et al. 1995). Örneğin, soya fasülyesi zararlısı, *A. gemmatilis*'in nükleopolihedrovirüsünün öldürücü konsantrasyonu (LC), bu virüs borik asitin % 0,045'lik konsantrasyonu ile birlikte denendiğinde önemli derecede düşmüştür (Morales et al. 1997). Benzer sonuçlar % 0,5 ve % 1 oranında borik asitin *L. dispar* ve *S. litura*'nın nükleopolihedrovirüsleri (NPV) ile hazırlanan karışımlarından da elde edilmiştir (Shapiro and Bell 1982, Chaudhari 1992). Cisneros vd. (2002) *S. frugiperda* nükleopolihedrovirüs (sfMNPV)'ü ile birlikte bir fagostimülant ya da virüs etkisini artırıcı bir madde olarak borik asiti kullanarak bu virüsün *S. frugiperda* üzerinde öldürücü etkisini artırmaya çalışmıştır. Bu çalışmada borik asitin % 0,5 ve %1'lik konsantrasyonları tek başına *S. frugiperda*'nın ölüm oranı üzerine etkili olmamıştır. Borik asit % 1'lik konsantrasyonun üzerindeki konsantrasyonlarda virüsün belirli konsantrasyonu (80 OBs/mm²) ile karıştırıldığında virüsün böceğin ikinci evre larvaları üzerindeki öldürücü etkisi artarak virüsün tek başına sebep olduğu ölüm oranına göre önemli derecede artmaktadır. Aynı çalışmada yapılan arazi denemelerinde virüs ve % 1 borik asit içeren mısır unu granüllerinin mısır bitkisine uygulanmasının da virüsün tek başına uygulanmasına göre böceğin ölüm oranının önemli derecede arttığı görülmüştür. Cisneros vd. (2002) aynı çalışmada laboratuvar ortamında % 1 ve % 4 borik asit içeren mısır unu granüllerinin Dermaptera takımına ait tür olan kulağa kaçan *D. taeniatum*'a karşı toksik olmadığını belirlemiştir. Diğer taraftan, aynı araştırmacılar mısır bitkilerine arazide püskürtme yöntemi ile uygulanan aynı konsantrasyonlardaki borik asitin (% 1 ve % 4) sentetik insektisitlere (klorpirifos) göre doğal düşmanların [kulağa kaçan böcekleri, predatör böcekler, predatör nöropterler ve kın kanatlılar, örümcekler, avcı sinek larvaları

(syrphid)] ya da diğerk hedef olmayan böceklerin [(lepidopter larvaları, fitofaj kınkanatlılar, tripler ve yaprak biti kolonileri (afitler)] bulunma oranını önemli derecede azaltmadığını göstermişlerdir.

Larval evrede alınan doğal ve yapay besin maddelerinin kalitesi ve besinsel dengesi çoğuböceğın erginlerinin üreme ve diğerk bazı özellikleri ile ergin ömür uzunluğub (hayatta kalma süresi) üzerinde etkilidir (Slansky and Scriber 1985, Eischen and Dietz 1987, Ridgway and Mahr 1990). Zararlı bir dipter tür olan Akdeniz meyve sineğib *C. capitata*'nın larval evrede aldığı besinin ergin oluşumunu, vücut büyüklüğünü, eşeyssel olgunluğub, yumurta bırakma davranışını ve yaşama süresini etkilediğib bilinmektedir (Chang et al. 2001). Borik asitin denenen laktoz ile birlikte besinsel karışımalarının hiç biri *G. mellonella* ergin ömür uzunluğub üzerinde istatistiksel olarak etkili olmamıştır. *G. mellonella*'nın ergin ömür uzunluğub mevsime (kış ve yaz ayları) göre değışmekte olup dişilerin ömür uzunluğub erkeklere göre oldukça kısadır, eşey oranları ise her mevsimde 1:1,1 (populasyon içi paylar %50: % 55) oranındadır (Chang and Hsieh 1992). Bu çalışmada erkek ve dişib bireylerin ömür uzunluğub ayrı ayrı ele alınmamıştır. Ancak Kılınçer (1976)'de, yapmış olduğub çalışmasında belirli bir doğal konak ile yetiştirilen *Bracon hebetor* (Say) erginlerinden erkek bireylerin dişilere göre daha kısa yaşadığını, erkek bireylerin ömür uzunluğubunun ortalama $7,4 \pm 2,6$ (4-14) gün, dişib bireylerin ömür uzunluğubunun ise ortalama $19,7 \pm 2,6$ (10-30) gün olduğunu belirtmiştir. Ancak denenen borik asitin ve şeker karışımalarının erkek ve dişib ömür uzunluğuba ayrı ayrı etkisinin incelenmesi borik asitin etkisi açısından daha net sonuçlar ortaya koyacaktır.

Bazı çalışmalarda çeşitli çevresel stres faktörlerine maruz kalan birkaç böcek türünün ergin ömür uzunluğubundaki artışın lipid peroksidasyonu düzeyinin düşmesi (Sestini et al. 1991) ve antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktivitelerinin yükselmesi (Bains et al. 1998, Sun et al. 2002) ile ilişkili olduğub ileri sürülmüştür. Daha önceki çalışmamızda borik asitin tek başına denenen yüksek konsantrasyonlarında (620-2500 ppm) *G. mellonella* larvalarının hemolenf ve yağ doku MDA miktarında artış gözlenirken, pupal hemolenf MDA miktarında düşme gözlenmiş, pupal yağ dokuda ise MDA miktarı artmıştır. Buna karşılık yüksek borik asit konsantrasyonlarında (1250 ve 2500 ppm) son evre larvalarının hemolenf GST aktivitesi önemli derecede değışiklik göstermiş olup ergin ömür uzunluğub ise önemli derecede kısalmıştır (Hyrsi et al. 2007). Bu çalışmada en yüksek borik asit konsantrasyonu olan 620 ppm ile laktozun denenen konsantrasyonlarının (0,05 ve 0,25 M) karışımı hemolenf MDA ve GST miktarında artışa sebep olsa da oluşan bu oksidatif stresin ömür uzunluğub üzerinde etkili

olamadığı görülmektedir. Antioksidan enzimler yüksek oksidatif stres durumunda oluşan reaktif moleküllere karşı hassas olduklarından (Pigeolet et al. 1990), borik asitin yüksek konsantrasyonu tarafından üretilen serbest radikaller GST enziminin aktivitesini artırmış olabilir. *Drosophila melanogaster* (Meigen)'de glutatyona bağımlı enzimlerin (GST ve GPx) aktivitelerindeki artışın ömür uzunluğunda artışa neden olduğu ve oksidatif strese direncin arttığı gözlenmiştir (Parkes et al. 1993, Sohal et al. 1995, Sun et al. 2002). Bu çalışmada borik asit ile yetiştirilen erginlerin ömür uzunluğunun antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki değişimler ile ilişkisi incelenmemiştir. Ancak, Büyükgüzel (2006) organofosforlu insektisitlerin öldürücü olmayan dozlarına karşı bir tepki olarak *P. turionellae* erginlerinde SOD aktivitesinin ve ömür uzunluğunun arttığını göstermiştir. Uzun süre fenitrotiyona maruz bırakılan lepidoptera takımına ait *S. exigua*'nın erginlerinde artan SOD aktivitesi ile birlikte yaşama oranının ve ömür uzunluğunun arttığı gözlenmiştir (Adamski et al. 2003). Oksidatif strese karşı antioksidan enzimlerin sentezinin aşırı artması durumunda, serbest radikaller, zarar vermek üzere hedef moleküllere saldırma fırsatı bulamayarak antioksidan enzimler ile karşılaşma ihtimalleri artabilir. Böylece oksidatif stresin olumsuz etkileri ortadan kalktığında böceğin yaşama oranı ve ömür uzunluğu artabilir. Daha önce yapılan bu çalışmaların sonuçları ve *G. mellonella* ile yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar birlikte ele alındığında oksidatif-antioksidatif tepki ile ilişkili olarak ömür uzunluğundaki değişme böceğin türü ile denenen oksidan maddenin türüne ve konsantrasyonuna bağlı olduğu görülmektedir.

Borik asitin 156 ppm'i ile laktozun 0,05 M'ını içeren besin ile beslenen larvalardan daha fazla erkek birey meydana gelmiştir. Dişi birey sayısının az olması bırakılan yumurta sayısının azalması sebebiyle zararlı böceklerin tarımsal alanlarda çoğalmasının sınırlandırılması ve sonraki döllerde bitkilere verilecek zararın azalması anlamına gelmektedir. Gülel (1988) bazı böceklerde eşey oranının fazlasıyla değişebildiğini belirtmiştir. Eşey oranındaki bu değişimler yumurta bırakan dişiye, erkek ve dişi larvalar arasındaki ölüm farkına, dişilerdeki çiftleşme sayısı gibi genetiksel olmayan faktörler yanında genetik faktörlere de bağlı olarak açıklanmaktadır.

İnsan veya diğer memelilerdeki erkek gamet ya da sperm hücreleri heterogametik olup iki tip eşey kromozomundan birini içerir. Bunlar X ve Y kromozomlarıdır. Lepidoptera takımına ait böcekler (güve ve kelebekler) ile yakın akraba olan Trichoptera takımına ait türler XX-XY eşey mekanizmasının aksine erkek eşeyin homogametik, dişi eşeyin ise heterogametik olduğu bilinmektedir. X yerine Z, Y yerine W harfi kullanılır. Buna göre erkekler ZZ, dişiler ZW

gonozomlarını taşırlar (Traut et al. 2007). W kromozomu bir çok türde heterokromatiktir. Heterogametik eşey kromozomları içeren *Ephesia kuehniella* (Zeller) ve *G. mellonella*'nın W kromozomunda da karşılaştırmalı genomik hibridizasyon yöntemi ile eşeyi tayin eden iki farklı bölge tespit edilmiştir (Sahara et al. 2003). Hamam böceği ve çekirgelerin dahil olduğu Orthoptera takımı ile Heteroptera takımının bir çok türünde ise Y kromozomu tamamen ortadan kalkmıştır. Bu türlerde XX kromozomlarını taşıyan birey dişi, tek X kromozomu taşıyan birey ise erkek (X0) olmaktadır. Böylece XO bireyleri, *Drosophila*'dakinin aksine verimli erkeklerdir. XO içeren *Drosophila* erkekleri ise kısırdır (De Falco et al. 2008).

Lepidoptera takımına ait türlerde kromozomal olarak genetik eşey belirlenmesinin dışında ekstrakromozomal şekilde dişi böcek tarafından yumurta aracılığıyla kalıtsal olarak nesilden nesile nakledilen *Wolbachia* cinsi bakteriler [*Wolbachia pipientis* (Hertig)] tarafından böceğin üreme şekli değiştirilmektedir. Bu türlerde *Wolbachia*'nın sitoplazmik enfeksiyonu sonucunda büyük oranda dişi birey oluşturulmaktadır. Bu mikroorganizma tarafından uyarılan aşırı dişi üretimi üç mekanizma ile gerçekleşmektedir (Kageyama et al. 1998). Mekanizmalardan birincisi, bu mikroorganizmaların partenogenezi uyararak büyük oranda dişi birey oluşumunu sağlaması, ikincisi, erken evrelerde seçici olarak erkeklerin ölümü (male killing) ve üçüncüsü ise erkeklerin genetik olarak dişileştirilmesidir. Dişi böcek tarafından kalıtsal olarak dölden dölle geçirilen *Wolbachia* ile enfekte olan tamamen dişi döl meydana getiren *Ostrinia scapularis* (Walker) dişileri tetrasiklin ve diğer bazı antibiyotikler ile birkaç nesil beslendiğinde eşey oranı erkek birey lehine değişmiştir (Kageyama et al. 2003).

Lepidoptera takımına ait türlerin çoğunluğu dişi eşey yönelimli döl vermesine rağmen en az 11 türün yabancı tipleri yalnızca dişi döl vermektedir (Ishihara 1992). Apollo kelebeği *Parnassius apollo* (Linnaeus)'nun yabancı tipi ise ağırlıklı bir şekilde erkek yönelimli döl vermekte olup eşey oranı 2:1 oranına oldukça yakındır (Pawel 2004). Eşey oranı genellikle populasyon yoğunluğuna göre de değişmektedir. Kelebek türü *Bolora aquilonaris* (Lepidoptera: Nymphalidae) erkekleri uçuş döneminin başlangıcında oldukça fazla iken dişiler bu periyodun sonuna doğru artmaktadır. Populasyon içerisindeki erkeklerin oranı populasyonun yoğunluğu azaldığında yükselme eğilimindedir (Gorbach 1998). Yaklaşık 1000 türü içine alan keseli kurt (bagworm) ailesinden (Lepidoptera: Psychidae) laboratuvarda yetiştirilen türlerde erkek yönelimli eşey oranı elde edilmektedir (Rhainds et al. 2009). Bu türlerin tarla populasyonlarında erkek birey oranı dişi oranına göre daha fazla, daha düşük ya da eşit yoğunluktadır. Ancak dişi larvaların erkeklerden daha fazla beslenmeye ihtiyaç

duyması ve besin bakımından tür içi rekabete daha hassas olması sebebiyle populasyonun yoğunluğu genellikle erkek yönelimli eşey oranı ile ilişkilidir. Kır tırtılı güvesinin birkaç yıl boyunca düşük ve yoğun olduğu üç bölgeden toplanan yumurtalardan açılan larvaların laboratuvarda beslenilmesi sonucunda eşey oranı yumurtaların toplandığı populasyonun yoğunluğuna göre değişmiştir. Düşük yoğunluklu bölgeden toplanan yumurtalar yüksek yoğunluklu bölgeden toplanan yumurtalara göre daha fazla sayıda dişi birey oluşturmuştur (Myers et al. 1998). *Heliothis armigera* (Hübner)'da cinsiyet oranı (dişi: erkek) pupalarda ortalama 1,00:1,07, dişi ve erkeklerin populasyon içindeki payları ise sırasıyla % 48,3 ve % 51,7, erginler üzerindeki cinsiyet oranı ise ortalama 1,00-1,08, dişi ve erkeklerin populasyon içindeki payları ise % 47,9 ve % 52,1 olarak bulunmuştur (Kaya ve Kovancı 2000). Bu çalışmada ayrıca cinsiyet oranının yıllara göre, tarla ve laboratuvar populasyonuna göre değiştiğini, sonuç olarak cinsiyet oranının erkekler lehine olduğu, erkeklerin populasyondaki paylarının dişilere oranla biraz daha fazla olduğu belirtilmiştir. Yaprak delici kurdu *Perthida glyphopa* (Common) dişileri haziran ve eylül süresince yapraklar ile beslenme safhasında baskın olup eşey oranı (erkek: dişi) 0,74:1,00 dir. Eylül ayının sonlarına doğru toprakta diyapoza giren larvaların eşey oranı 1,47:1,00, martta pupaların cinsiyet oranı 1,30:1,00 ve nisan-mayıs aylarında ise erginlerin eşey oranı 1,56:1,00 olarak erkek lehine artmıştır (Mazanec 2007). Tüm bu çalışmalardan anlaşıldığı gibi lepidoptera takımına ait böceklerin eşey oranı çok değişik faktörlerin etkisi altındadır. Borik asitin laktozun bazı konsantrasyonları ile kombinasyonlarını içeren besinlerde *G. mellonella*'nın erkek eşey oranı artış göstermesine rağmen istatistiksel olarak önemli bir artış olmadığı görülmektedir. Yürütülen bu çalışmada bu faktörlerden ziyade erkek sayısının çok olması ise borik asitin besinsel etkisi ile açıklanabilir. Ancak borik asitin eşey oranı üzerindeki muhtemel etkisini ortaya çıkarmaya yönelik daha detaylı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Borik asitin yüksek miktarlarını (156 ve 620 ppm) laktozun denenen konsantrasyonları (0,05 veya 0,25 M) ile birlikte içeren besin dişilerin yumurta verimini ve yumurtaların açılma oranını olumsuz yönde etkilemiştir. Bu miktarları içeren besinlerde yetiştirilen dişilerin yumurta veriminde önemli bir azalma olmuş, bırakılan yumurtaların büyük bir çoğunluğunun embriyonik gelişimi tamamlayamadığı ve normal olarak açılmadığı görülmüştür. Ekonomik olarak zarara sebep olan böceklerin yumurta sayısının azalması ve bu yumurtaların canlılık oranının düşük olması böceklerin kontrolünde önemlidir. Bazı çalışmalar çeşitli bor türevlerinin lepidoptera ve diğer takımlara ait zararlı türlerin yumurta üretimini çoğunlukla olumsuz yönde etkilediğini ortaya çıkarmıştır. Besine ilave edilen sodyum tetraborat *G. mellonella* dişilerinin yumurta

verimini ve bırakılan yumurtaların açılma oranını düşürmüş olup denenen en yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonunda (% 0,3) dişilerin hiçbir yumurta bırakmamıştır. Sodyum tetraboratın % 0,2'lik besinsel konsantrasyonu yumurta sayısını $57,2 \pm 3,0$ 'den $33,2 \pm 2,7$ 'ye, açılma oranını ise % $83,4 \pm 3,3$ 'den $38,8 \pm 2,9$ 'e düşürmüştür (Durmuş and Büyükgüzel 2008). *G. mellonella* ile elde edilen sonuçlar Yang vd. (2000b) tarafından *A. suspensa*'da sodyum tetraborat için elde edilen sonuçlar ile uygunluk göstermektedir. Bu çalışmada % 0,1'lik sodyum tetraborat *A. suspensa* yumurta verimini ve açılma oranını önemli derecede düşürmüş daha yüksek konsantrasyonlardaki sodyum tetraborat ise yumurta üretimini tamamen önlemiştir. Mullens ve Rodriguez (1992) % 1 ve 2'lik disodyum oktaborat tetrahidratın *M. domestica* ve *F. canicularis* dişilerinin yumurta açılımını % 10'un altına düşürdüğünü belirtmişlerdir. Sodyum tetraborat 10 g bezelye tohumu ile karıştırıldığında depolanmış ürün zararlısı *Callosobruchus analis* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae) dişilerinin yumurta sayısını % 24 oranında düşürdüğü yaşama oranını ise % 7,5'e indirdiğini göstermişlerdir (Khan et al. 1996). Kimyasal mücadelede kullanılan bazı insektisitlerin heteropter böceklerden *Pyrrhocoris apterus* (Linnaeus)'da ve *Dysdercus cingulatus* (Fabr.)'da ovaryum ve folikül hücrelerinin yapısının bozulmasına, embriyo gelişimi için önemli olan vitellin proteininin sentezinin önlenmesine bağlı olarak embriyonik gelişimin gerilemesine sebep olmuştur (Sláma et al. 1983, Šula et al. 1987, Socha et al. 1988, Gelbič and Holy 1985). Bazı kimyasallar çeşitli böceklerde ovaryumlardaki yumurta verimini juvenil hormon (JH) titresini değiştirmek suretiyle etkilemektedir (Šula et al. 1987). JH ve ovaryum ekdisteroidleri yumurta hücresinin büyümesini, vitellus sentezi ve oluşumu, embriyo gelişimini düzenlemektedir (Gäde and Hoffmann 2005). Borik asit bazı böceklerde AChE enzimini inhibe etmiş olup zehirlenme ile kendini gösteren nörotoksik etkiler göstermiştir (Habes et al. 2006). Bu çalışmada denenen borik asitin laktoz ile besinsel karışımlarının *G. mellonella*'da merkezi sinir sistemini etkileyerek bu hormonların işlevinde önemli değişikliklere sebep olabilir. Borik asitin Alman hamam böceği *B. germanica*'daki toksik özelliğinin yumurtaların olgunlaşmadan folikül ile birlikte atılması, normal bırakılan yumurtaların açılma oranının düşmesi gibi olumsuz etkilerden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Zhou and le Patourel 1990). Borik asitin *B. germanica*'nın ilk gonadotrofik döngüsü (0, 2, 4 ve 6.günler) boyunca üreme üzerindeki etkisi araştırılmış olup bu inorganik insektisit her iki ovaryumda da oosit sayısını ve oositlerin boyutunu azalttığı tespit edilmiştir (Kilani-Morakchi et al. 2005). Ayrıca bu çalışma borik asitin yumurtalıkların protein, lipid ve karbohidrat bileşenlerini önemli derecede azalttığını göstermiştir. Diğer taraftan, bazı nükleozit türevi sentetik insektisitler *P. apterus*'da hemolenf, yağ doku ve ovaryumdaki protein içeriğinde önemli değişikliğe sebep olmuş, yumurta oluşumunu tamamen önlemiştir (Gelbič and Šula 1990).

Bir çok böcekte yumurta bırakma davranışının başlaması için ovaryumun gelişimi, yumurta üretimi ve olgunlaşmasına ihtiyaç duyulur. Ovaryumların gelişmesi ve yumurta hücrelerinin büyümesi vitellin proteininin sentezi sayesinde olup bunların hepsi hormonal kontrol altındadır (Zeng et al. 2000, Engelman 1979). Diğer taraftan yumurta bırakma davranışı çevresel sinir sisteminden daha çok merkezi sinir sistemi tarafından yönetilen ve hormonal seviyede gerçekleştirilen karmaşık bir aktivitedir (Loher 1984). Bu yüzden *G. mellonella*'ya besinle verilen laktoz, borik asit ile laktoz karışımlarının metabolizması sonucu oluşan ara ürünlerinin doğrudan hemolenfe karışarak kısa bir süre içinde yumurta üretimi, olgunlaşması, bırakımı ve bu yumurtaların açılması gibi fizyolojik davranışları olumsuz yönde etkilemesi beklenen durumdur.

Besine çeşitli amaçlarla ilave edilen kimyasal maddelerin böcek üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi için belirli evrelerdeki biyokimyasal analizlerinin yapılması ve fizyolojik değişimlerin ortaya konulması önemli kriterlerdir (Ferkovich et al. 1999, Wang et al. 2002, Zapata et al. 2005). Bu çalışmada kullanılan borik asit ve laktozun birlikte besine ilave edilen miktarları genel olarak larvaların hemolenf lipid peroksidasyonu düzeyi ve GST aktivitesini etkilemiştir. Aynı zamanda besin kalitesinin düşük olması böceklerde birçok fizyolojik ve davranışsal değişime sebep olur (Slansky and Scriber 1985). Çeşitli toksinlere maruz kalarak besinsel değeri azalmış doğal besin ile beslenen predatör bir örümcek türü *Pardosa prativaga* (L. Koch)'da GST enziminin aktivitesi oldukça düşük bulunmuştur (Nielsen and Toft 2002). Böceklerin serbest radikallerden ve genel oksidatif strese etkilediği bilinmektedir (Timmermann et al. 1999). Böcekleri yetiştirmek için kullanılan yapay besinlerin besin bileşenleri kendi aralarında ve besine ilave edilen madde ile etkileşerek reaktif oksijen türevlerinin (ROT) oluşmasına sebep olurlar. Besinlerde oluşan serbest radikaller toksitenin artmasına bağlı olarak larvaların besin tüketim oranını değiştirmektedir (Cohen and Crittenden 2004).

Canlıların kimyasal maddeler veya çevre kirliliğine neden olan maddeler gibi çeşitli yabancı maddelerin etkileri altında kalmaları, serbest oksijen radikallerinin oluşumuna ve dolayısıyla metabolik olayların bozulmasına neden olur. Serbest oksijen radikalleri sahip oldukları paylaşılmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif atom ve moleküllerdir. Bu radikaller hücre zarının doymamış yağ asitleri ve protein bileşimi üzerine zarar vermektedir (Halliwell 1994, Heinle and Betz 1994). Serbest radikallerin zar ile etkileştiği durumda enzimler, hormonlar ve nörotransmitter maddeler olumsuz yönde etkilenmektedir.

Patofizyolojik durumlarda üretilen serbest oksijen radikalleri ve organik hidroperoksitleri detoksifikasyon ve antioksidan sistemler tarafından uzaklaştırılır. Ayrıca oluşan serbest radikaller sonucu hücre zarının ve diğer hücresel lipid yapısının bozulmasıyla lipid peroksidasyonu olarak tanımlanan bir dizi reaksiyon gerçekleşir ve sonuçta aldehit türevleri özellikle MDA oluşur. MDA miktarının yükselmesi lipid peroksidasyonu seviyesinin önemli bir göstergesidir (Mano et al.1995). Bu kullanılan inorganik insektisit borik asitin böceğin metabolik faaliyetleri üzerine etkilerinin araştırılması, diğer böceklerle mücadelede kullanılan maddeler için de bir ışık olacaktır. Bir organofosfat insektisit olan fenitrotiyonun pamuk çizgili yaprak kurdu *S. exigua* ve un kurdu *T. molitor* türlerinin yağ dokusu ağırlığında ve antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktiviteleri üzerinde değişikliğe sebep olduğu gösterilmiştir (Adamski et al. 2003). Kadmiyum, bir heteropter tür *O. fasciatus* (Dallas)'un lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA seviyesini arttırmış ve bazı antioksidan enzimlerin aktivitelerini düşürmüştür (Cervera et al. 2003). Önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST *N. lugens* türünde piretroid grubu insektisitlere karşı direnç kazanmasını sağlamıştır (Vontas et al. 2001). Endosülfanın, *H. armigera*'nın farklı evrelerindeki çeşitli dokularında (tüm vücut, orta bağırsak, hemolenf, yağ doku, kutikula) GST aktivitesi incelenmiş ve aktivitenin yağ dokuda en yüksek olduğu, yumurta evresinde ise en düşük olduğu ortaya çıkarılmıştır (Rajurkar et al. 2003). *A. mellifera* ile yapılan bir çalışmada işçi arı, erkek arı ve kraliçe arının farklı dokularında (kas, mide, hemolenf, spermetaka ve semen) CAT, SOD, GST aktiviteleri incelenmiştir (Weirich et al. 2002). Yakınlarda yapılan bir çalışmada Alman hamam böceği *B. germanica*'nın besinine ilave edilen borik asitin orta bağırsağın yapısında histolojik değişime sebep olduğu ve GST aktivitesini artırdığı ortaya çıkarılmıştır (Habes et al. 2006).

Böceklerde insektisitlerin toksik etkisini azaltıcı ve hatta yok edici direnç mekanizmaları gelişmiştir. Oksidatif strese karşı dirençte etkili olduğu bilinen önemli enzim grubu GST'dir (Parkes et al. 1993, Yu 1993, 2004, Sivori et al. 1997, Wei 2001). Böceklerde bu enzim ailesi (teta sınıfı) insektisitlerin toksik etkilerine karşı savunma ve direnç geliştirme amaçlı iş görmektedir (Clark et al. 1985, Singh et al. 2001). GST bir faz II detoksifikasyon enzimi olup ksenobiyotikleri glutatyon (GSH; γ -glutamil-sisteinil-glisin) bağlayarak toksitesini azaltır. Diğer taraftan GST hücre içi iyon kanallarının düzenlenmesi ve madde taşınması, prostaglandin biyosentezi gibi çeşitli biyosentez yollarında da rol oynamaktadır (Wilce and Parker 1994).

M. domestica'da organofosforlu insektisitlere dirençli mutantların yüksek seviyede GST aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Çakır ve Yamanel 2005). Bu sonuçlar ile uyumlu

olarak borik asiti laktoz ile birlikte içeren besinler ile beslenen *G. mellonella* larvalarının hemolenf GST aktivitesi önemli derecede yükselmiştir. Hemolenfte GST aktivitesinin yükselişi borik asit tarafından oluşturulan endojen ve eksojen kaynaklı ROT'ların sebep olduğu lipid peroksidasyonu sonucu artan MDA miktarından kaynaklanan oksidatif strese ileri gelebilir. Bu nedenle GST enziminin ROT ve diğer organik hidroperoksitlerin zararlı etkilerini yok etmek için aktivitesi yükselmiş olabilir (Halliwell and Gutteridge 1999). Besinsel kalitesi düşük olan doğal besinlerle beslenen bir lepidopter tür *L. dispar*'ın orta bağırsağında antioksidan enzimlerin aktivitelerinin arttığı ve bu enzim aktivitesindeki artışın farklı larval evrelere bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir (Peric-Mataruga et al. 1997). Benzer sonuçlar farklı prooksidanlara maruz kalan *M. domestica*, *T. ni*, *Spodoptera eridania* (Stoll) gibi çeşitli böcek türlerinin farklı gelişme evrelerinde de gözlenmiştir (Ahmad and Pardini 1990, Zaman et al. 1994, Ahmad et al. 1995). Her ne kadar detaylı çalışmalara gereksinim duyulsa da indirgenmiş (redükte) glutatyon miktarının düşmesi ile paralel olarak bu enzimin aktivitesi artmış olabilir. GSH bu enzimin kofaktörü olup bazı organik ve inorganik peroksitlerin ve diğer serbest radikallerin konjuge edilerek zararlı etkisinin ortadan kaldırılmasında kullanılır (Dandapat et al. 2003). Bu enzimin aktivitesindeki artış borik asitin veya metabolizma ürünlerinin bir oksidan gibi davranarak serbest radikal oluşumunu hızlandırması ve buna bağlı olarak larvalarda oksidatif stresi meydana getirmeleri sonucu olabilir.

Lepidoptera takımına ait böceklerin larvaları çeşitli oksidan maddelerle beslendiği zaman orta bağırsaklarında peroksit radikalleri başta olmak üzere çeşitli ROT'lar oluşmaktadır. Bu peroksitler ya besinle alınan veya besin kanalında daha önceden bulunan demir gibi çeşitli aktif metal iyonları ile etkileşerek (Fenton reaksiyonu) hidroksil radikali (OH[•]) ve diğer ROT'ları oluşturabilir (Barbehenn et al. 2005). Bu reaktif türevler orta bağırsak epitel dokusunda ve peritrofik zarda protein ve lipid oksidasyonuna bağlı oksidatif hasar meydana getirmektedir (Barbehenn and Stannard 2004). Durmuş ve Büyükgözel (2008) tarafından sodyum tetraboratın *G. mellonella* üzerindeki etkisi için ileri sürüldüğü gibi bu çalışmada borik asitin toksitesi sonucunda serbest radikal oluşumunun artışı ile hemolenf GST enziminin aktifliği artmış olabilir.

Antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerin aktivitelerinin genellikle türe, gelişme evresine ve dokuya özgü olarak değiştiği gözlenmiştir (Ahmad and Pardini 1990, Ahmad et al. 1995). Bu çalışmada larva sonrası evrelerdeki enzim aktivitelerinin değişimleri incelenmemiştir. Ancak

borik asitin laktoz ile kombinasyonları bu evrelerdeki yaşama, gelişme ve ergin ömür uzunluğundaki etkilerinin farklı olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar böceğin detoksifikasyon kapasitesinin evrelere göre değişebileceğini işaret etmektedir. Çeşitli insektisitlere maruz kalmış pamuk kurdu *H. armigera*'daki detoksifikasyon enzimlerinin aktivitelerinin larval ve ergin evreye göre değiştiği bilinmektedir (Leonova and Slynko 1996). Bu sebeple borik asitin larva sonrası evrelerdeki detoksifikasyon kapasitesine etkisini belirlemek amacıyla detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Borik asit ile laktozun besindeki miktarlarının artışı ile böcekler üzerindeki etkisi arasında orantılı bir ilişki ortaya çıkmamıştır. Örneğin borik asit ile laktoz karışımını içeren bazı besinlerin (156 ppm borik asit ile 0,05 M laktoz) böceğin 7. larval evredeki yaşama oranını 0,05 M laktozu tek başına içeren besine göre istatistiksel olarak önemli olmayan derecede artırması bu besine daha sonra borik asitin en yüksek miktarının ilave edilmesinin bu olumlu etkiyi ortadan kaldırması ilginçtir. Hormetik etki denilen bu mekanizma insektisitlerin düşük miktarlarına karşı tolerans geliştirme yönünde kısa süreli bir adaptasyon tepkisidir. Hyršl vd. (2007) borik asitin 156 ppm'inin *G. mellonella* 7. evre larvalarının ve pupların yaşama oranında artışa sebep olduğunu, ergin ömür süresini de yaklaşık 3 gün uzattığını göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca son evre larvalarının hemolenf SOD, GST ve GPx aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. Bu çeşit etkilerin böceklerde prooksidan ve antioksidan sistem ile ilişkili olduğu gösterilmektedir (Büyükgüzel 2006). Benzer şekilde, lepidoptera takımına ait bir tür olan *L. dispar*'nin besinine ilave edilen fenolik bir glikozitin böceğin gelişme süresi ve büyüme oranı gibi bazı biyolojik özellikleri ile detoksifikasyon enzimleri üzerine etkisi bu glikozitin besindeki artan konsantrasyonları ile uyumlu bir değişim göstermemiştir. Bu böcekteki GST ve esterase enzimi besine ilave edilen glikozitin düşük miktarları ile artarken yüksek miktarları bu enzimlerin aktivitelerini düşürmüştür (Hemming and Lindroth 2000). Benzer sonuçlar borik asitin (Hyrsil et al. 2007) ve sodyum tetraboratın (Durmuş and Büyükgüzel 2008) *G. mellonella* üzerindeki tek başlarına gösterdikleri etkilerde de görülmüştür. Holometabol böceklerde besin maddelerinin sindirimi genellikle alkali bir ortama sahip olan orta bağırsakta gerçekleştirilmektedir (Terra 1990). Böylece bu çalışmada besinle alınan farklı konsantrasyonlardaki borik asit ile laktoz karışımları miktarlarının *G. mellonella*'nın orta bağırsağında ozmotik dengeyi ve ortamın reaksiyonunu (pH) etkilemesi sonucu farklı oranlarda emilimleri gerçekleşebilir. Daha önceki bir çalışmada Cisneros vd. (2002) tarafından borik asit içeren besinler ile beslenen lepidopter zararlı bir böcek olan *S. frugiperda* için ileri sürüldüğü gibi bu çalışmada denenen borik asit ile laktoz karışımlarının

böceğin bağırsağının fiziksel ve kimyasal yapısını değiştirerek sindirim işlemini etkilemiş olabilir. Bu görüş ile uyumlu olarak Yang vd. (2000a) % 0,5 sodyum tetraboratın *A. suspensa*'nın orta bağırsağında proteinaz aktivitesini önemli derecede düşürdüğünü göstermiştir. Diğer taraftan *G. mellonella* larvalarının bağırsağından emilerek dokulara ulaşan borik asitin ve metabolizma ürünlerinin olumsuz etkisi detoksifikasyon ile ortadan kaldırılabilir. Bu çalışmamızda borik asit ile laktoz karışımlarının yüksek konsantrasyonlarını içeren besinler tarafından artan MDA miktarına oranla önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST enziminin aktivitesinin de artırılması ile bu görüş destek bulunmaktadır. Benzer bir düşünce Graf ve Benz (1970)'in bazı sentetik antimikrobiyal insektisitlerin *D. melanogaster*'in yaşama ve gelişimi üzerine etkisini incelediği çalışmada da ileri sürülmüştür. Alman hamam böceği *B. germanica*'da insektisitlerin detoksifikasyonunu sağlayan sitokrom P450 monooksijenaz miktarında artış olduğunun tespit edilmesi ile bu yaklaşım daha da ağırlık kazanmıştır (Scharf et al. 1999). Liu ve Chen (2000) bir kitin sentezi inhibitörü olan buprofezinin nöropter bir tür olan *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) (Burmeister)'in larval evresindeki olumsuz etkisinin çok az olmasını böceğin detoksifikasyon kapasitesinin yüksek olmasına bağlamıştır. Borik asit ile laktoz karışımlarının yüksek konsantrasyonlarını içeren besinlerde *G. mellonella* larvalarının gelişmesi gecikmesine rağmen düşük oranda da olsa gelişimlerini ergin evreye kadar devam ettirebilmişlerdir.

Bu çalışmada denenen borik asitin yüksek konsantrasyonları ile birlikte laktozun denenen konsantrasyonlarını içeren besinler böceklerin larvalarının besin almalarını hızlandırmış olabilir. Laktozun yüksek konsantrasyonları ile borik asit birlikte alındığında yaşama oranındaki önemli düşmenin şekerin muhtemel fagostimülant etkisi sebebiyle borik asitin besinle alınan miktarının artmasına bağlanabilir. Bu savunulan görüş, besindeki disodyum oktaborat tetrahidratın *Coptotermes formosanus* (Shiraki)'in üzerinde besinsel uzaklaştırıcı bir etkiye sahip olmadığı ancak besinle alındığında toksik etkiye sahip olmasının gösterilmesi (Maistrello et al. 2002) ile destek görmektedir. Benzer bir mekanizma diğer bir bor türevi olan borik asit ile farklı besinsel formülasyonlar ile beslenen çeşitli zararlı böcekler için de ileri sürülmüştür (Cochran 1995, Appel et al. 2004). Daha önceki çalışmalar herhangi bir besinsel değeri olmayan bir katkı maddesinin öldürücü olmayan (subletal) etkilerinin bu maddenin besinsel bileşenler ile etkileşimine dayanarak larvaların besin tüketim oranının değiştirmesine bağlı olduğunu belirtmiştir (Büyükgüzel and İçen 2004, Büyükgüzel and Kalender 2007). Bir antibiyotik insektisit olarak denenen novobiyosinin yüksek miktarları ile beslenen endoparasitoid bir hymenopter tür *P. turionellae* larvalarının yaşama ve gelişimi de olumsuz

yönde etkilenirken bu maddenin denenen en düşük miktarı böceğin yaşama oranını önemli derecede artırmıştır (Büyükgüzel 2001). Singh ve House (1970a,b) besindeki antimikrobiyal maddelerin meydana getirdiği koku ve tat değişikliğinin larvaların besin alma işlevinde etkili olduğunu belirtmiştir. Delgarde ve Rouland-Lefevre (2002) nikotin benzeri bir insektisit olan tiyometoksam'ın bazı termit türleri, *Trinervitermes trinervius* (Rambur), *Odontotermes smeathmani* (Fuller) ve *Amitermes evuncifer* (Silvestri)'e karşı besin almayı önleyici etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre borik asitin laktoz ile birlikte kombinasyonları larvaların hemolenfinde sebep olduğu oksidatif hasara bağlı olarak detoksifikasyon ve antioksidan savunma mekanizmasını bozması sonucu böceğin yaşama ve gelişimi, yumurta verimi ve açılma oranı üzerinde olumsuz etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Borik asitin denenen en yüksek konsantrasyonlarında GST enziminin aktivitesindeki önemli değişme ve MDA miktarındaki yükselme ile birlikte yaşama oranının düşmesi ve gelişim süresinin uzaması bu düşüncüyü destekleyen önemli sonuçlardır. Borik asitin laktoz ile birlikte düşük konsantrasyonlarında da GST enziminin aktivitesinin artışı, larvaların oksidatif strese bir adaptasyon davranışı göstermesi sonucu olabilir. Diğer bazı zararlı böceklerin ele alındığı önceki çalışmalarda (Hyrs et al. 2007, Durmuş and Büyükgüzel 2008) ve bu çalışmada *G. mellonella* ile elde edilen sonuçlar borik asitin ve diğer bor türevlerinin böceklerin biyolojik etkinlik parametreleri üzerindeki olumsuz etkisinde oksidatif stresin önemli rol oynayabileceğini açıkça göstermiştir. Borik asit ve diğer bor türevlerinin şekerler ile birlikte böcek üzerinde gösterdiği toksik etki mekanizmasının anlaşılması zararlı böceklerle mücadelede, hedef olmayan canlılara ve çevreye daha az olumsuz etkisi olan yeni kimyasal yöntemlerin geliştirilmesine olanak sağlayabilir. Bu çalışmada sırasıyla şu sonuçlar elde edilmiştir. Bunlardan ilki böcek üzerinde en etkili olan borik asit konsantrasyonunun, besin almayı uyarıcı olarak borik asit çözeltisine ilave edilen şekerin konsantrasyonuna göre değiştiğinin belirlenmesidir. İkincisi ise borik asitin böcek üzerindeki etkilerinin biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmalarını anlayabilmek amacıyla, borik asit ile beslenen böceklerin GST enzimi temel alınarak detoksifikasyon kapasitelerindeki değişim gösterilmiştir. Sonuç olarak *G. mellonella* üzerinde en olumsuz etki yapan laktoz konsantrasyonu 0,25 M'dır. Laktozun belirtilen konsantrasyonlarını içeren besindeki borik asitin 620 ppm'i böceğin yaşama oranı, gelişme süresi ve eşey oranı, yumurta verimi ve açılma oranını düşürmüştür. Belirtilen konsantrasyonlardaki borik asit ile laktoz böceğin son evre larvalarının hemolenf MDA miktarını artırmış GST aktivitesinde ise önemli derecede değişimlere sebep olmuştur. Bu

Çalışmadan elde edilen sonuçlar borik asitin tek başına denendiğinde böcek üzerinde önemli derecede olumsuz etki yapan konsantrasyonlarının (1250 ve 2500 ppm) (Hyrşl et al. 2007) laktoz ile karıştırıldığında 620 ppm'e kadar düştüğünü açıkça göstermiştir. Bu sonuç düşük miktardaki kimyasal insektisit ile çevreye ve hedef olmayan canlılara zarar vermeden hedef böcek ile mücadele bakımından önemlidir.

Bu çalışmadan elde edilen en önemli sonuç zararlı böcekler ile mücadelede evre ve hedef olmayan canlılara şu anda kullanımda olan insektisitler kadar zararlı olmayan inorganik insektisit olan borik asitin kullanımına yönelik bir stratejiye öncülük edilmiş olmasıdır.

KAYNAKLAR

- Adamski Z, Ziemnicki K, Fila K, Źikić R and Štajn A** (2003) Effects of long-term exposure to fenitrothion on *Spodoptera exigua* and *Tenebrio molitor* larval development and antioxidant enzyme activity. *Biol Lett.*, 40: 43-52.
- Adler P H** (1989) Sugar feeding of the adult corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae) in the laboratory. *J. Econ. Entomol.*, 89: 1344-1349.
- Agrios G N** (2005) *Plant Pathology*. Elsevier Academic Press. 30 Corporate Drive, Suite 400, Burlington, MA 01803, USA, 922 pp.
- Ahmad M** (1994) Biological control of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. *J. Apicultural Research* (Pakistan), 32 (3): 319-323.
- Ahmad S, Beilsen M A and Pardini R S** (1989) Glutathione peroxidase activity in insects: a reassessment. *Arch. Insect Biochem.*, 12: 31-49.
- Ahmad S** (1992) Biochemical defence of pro-oxidant plant allelochemicals by herbivorous insects. *Biochem. Syst. Ecol.*, 20: 269-296.
- Ahmad S, Duval D L, Weinhold L C and Pardini R S** (1991) Cabbage looper antioxidant enzymes: tissue specificity. *Insect Biochem.*, 21: 563-572.
- Ahmad S and Pardini R S** (1990) Mechanisms for regulating oxygen toxicity in phytophagous insects. *Free Radic. Biol. Med.*, 8: 401-413.
- Ahmad S, Pritsos C A, Bowen S M, Heisler C R, Blomquist G J and Pardini R S** (2005) Subcellular distribution and activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in the southern armyworm, *Spodoptera eridania*. *Arch. Insect Biochem.*, 7: 173-18.
- Ahmad S, Zaman K, MacGill R S, Batcabe J P and Pardini R** (1995) Dichloro-induced oxidative stress in a model insect species, *Spodoptera eridania*. *Arch. Environ. Cont. Toxicol.*, 29: 442-448.
- Akyol E, Yeninar H, Şahinler N ve Ceylan D A** (2009) Büyük balmumu güvesi *Galleria mellonella* L.'nin (Lepidoptera: Pyralidae) kontrolünde karbondioksitin (CO₂) kullanımı. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 9: 26-31.
- Al-izzi M A J, Al-Maliki S K and Jabbo N F** (1987) Culturing the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), on an artificial diet. *J. Econ. Entomol.*, 80: 277-280.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ali A, Xue R D and Barnard D R** (2006) Effects of sublethal exposure to boric acid sugar bait on adult survival, host-seeking, blood feeding behavior, and reproduction of *Stegomyia albopicta*. *J. Am. Mosquito Contr.*, 22: 464-468.
- Allan N L** (2000) Wax Moth and Its Control, Department of Agriculture Western Australia, <http://www.agric.wa.gov.au/agency/pubns/farmnote/2000/f00697.htm>.
- Anderson T D and Zhu K Y** (2004) Synergistic and antagonistic effects of atrazine on the toxicity of organophosphorodithioate and organophosphorothioate insecticides to *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Pestic. Biochem. Phys.*, 80: 54-64.
- Anon.** (2004) Avrupa Perakendecileri Ürün Çalışma Grubu'nun İyi Tarım Teknikleri uygulamaları (EUREPGAP). Akdeniz Yaş Meyve Sebze İhracatçıları Birliği, ARGE Dış İlişkileri Şube Müdürlüğü, 36 s.
- Anon.** (2002) Gıdalarda Zirai İlaç Kalıntı Düzeylerinin Tespiti (8-18), Gıdalarda Katkı Kalıntı ve Bulaşanların İzlenmesi II. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Bursa, 99 s.
- Anon.** (2006) *Tarım İstatistikleri Özeti*. DİE, Başbakanlık, Ankara.
- Appel A G, Gehret M J and Tanley M J** (2004) Effects of moisture on the toxicity of inorganic and organic insecticidal dust formulations to German cockroaches (Blattodea: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, 97: 1009-1016.
- Auclair J L, Shanta T, Srivastava and Srivastav P N** (1973) Utilization of sugars by the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera: Lygaeidae) maintained on chemically defined diets. *Ent. Exp. Appl.*, 16: 525-540.
- Aydinoğlu H, Dursun H Y ve Bayraktar L** (2002) Bitki Koruma Ürünleri. T.C. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, 292 s.
- Bains J S, Garg S K and Sharma S P** (1998) Effect of butylated hydroxyanisole on catalase activity and malondialdehyde content in aging *Zaprionus parvittiger* (Diptera). *Gerontology*, 44: 262-266.
- Baker J E and Mabie J A** (1973) Feeding behavior of larvae of *Plodia interpunctella*. *Environ. Entomol.*, 2: 627-632.
- Barata C, Baird D J, Soares A M V M and Guilhermino L** (2001) Biochemical factors contributing to response variation among resistant and sensitive clones of *Daphnia magna* straus exposed to ethyl parathion. *Ecotox. Environ. Safe.*, 49: 155-163.
- Barbehenn R, Dodick T, Poopat U and Spencer B** (2005) Fenton-type reactions and iron concentrations in the midgut fluids of tree-feeding caterpillars. *Arch. Insect Biochem.*, 60: 32-43.
- Barbehenn R and Stannard J** (2004) Antioxidant defense of the midgut epithelium by the peritrophic envelope in caterpillars. *J. Insect Physiol.*, 50: 783-790.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Bare O S** (1945) Boric acid as a stomach poison for the German cockroach. *J. Econ. Entomol.*, 38: 407.
- Baykal N** (1995) *Fitopatoloji*. Uludağ Üniversitesi Yayınları, No: 7-027-0229. ISBN 975-7657-59-X, 368 s.
- Beck S D** (1957) The European corn borer, *Pyrausta nubilalis* (Hübner.) and its principal host plant IV. Larval saccharotrophism and host plants resistance. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 50: 247-250.
- Bennett A, Rowe R I, Soch N and Eckhert C D** (1999) Boron stimulates yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) growth. *J. Nutr.*, 129: 2236–2238.
- Bergmann W** (1992) *Nutritional Disorders of Plants*. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Bhavan-Saravana P and Geraldine P** (2001) Biochemical responses in tissues of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* on exposure to endosulfan. *Pestic. Biochem. Phys.*, 2531: 1-15.
- Binder B F** (1996) Effect of carbohydrate on age-related feeding behaviors and longevity in adult black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Insect Behavior*, 9: 215-222.
- Borkovec A B, Settepani J A, La Brecque G C and Fye R L** (1969) Boron compounds as chemosterilants for house flies. *J. Econ. Entomol.*, 62: 1472-1480.
- Bronskill J** (1961) A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Lep. Soc.*, 15: 102-104.
- Bucker-Davis F** (1998) Effects of environmental synthetic chemicals on thyroid function. *Thyroid*, 8: 827-856.
- Budia F and Vinuela E** (1996). Effect of cyromazine on adult *C. capitata* (Diptera: Tephritidae) on mortality and reproduction. *J. Econ. Entomol.*, 89: 826-831.
- Burkett D A, Kline D L and Carlson D A** (1999) Sugar meal composition of five north central florida *Mosquito Species* (Diptera: Culicidae) as determined by gas chromatography. *J. Med. Entomol.*, 36: 462-467.
- Büyükgüzel E and Kalender Y** (2007) Penicillin-induced oxidative stress: Effects on antioxidative response of midgut tissues in larval instars of *G. mellonella*. *J. Econ. Entomol.*, 100: 1533-1541.
- Büyükgüzel E, Tunaz H, Stanley D W and Büyükgüzel K** (2007) Eicosanoids mediate *Galleria mellonella* cellular immune response to viral infection. *J. Insect Physiol.*, 53: 99-105.
- Büyükgüzel K** (2001) DNA gyrase inhibitors: Novobiocin enhances the survival of *Pimpla turionellae* larvae reared on an artificial diet but other antibiotics do not. *J. Appl. Entomol.*, 125: 583-587.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Büyükgüzel K and İcen E** (2004) Effects of gyrase inhibitors on the total protein content of *Pimpla turionellae* L. reared on an artificial diet. *J. Entomol. Sci.*, 39 (1): 108-116.
- Büyükgüzel K** (2006) Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp: Effect on adult emergence, longevity, fecundity, oxidative and antioxidative response of the *Pimpla turionellae*. *J. Econ. Entomol.*, 99: 1225-1234.
- Büyükgüzel K, Tunaz H, Putnam S M and Stanley D W** (2002) Prostaglandin biosynthesis by midgut tissue isolated from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Molec.*, 32: 435-443.
- Campos F, Donskov N, Arnason J T, Philogene B J R, Atkinson P M and Werstuck N H** (1990) Biological effects and toxicokinetics of DIMBOA in *Diadegma terebrans* (Hymenoptera: Ichneumonidae), an endoparasitoid of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralide). *J. Econ. Entomol.*, 83: 356-360.
- Cervera A, Maymó A C, Martínez-Pardo R and Garcerá M D** (2003) Antioxidant enzymes in *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae) exposed to cadmium. *Environ Entomol.*, 32: 705-710.
- Cevri H** (1999) *Türkiye Örtü Altı Sebze Alanları*. T.C. Tar. ve Köy İş. Bak. Narenciye ve seracılık. Araş. Ens. Müd. Yay., Antalya.
- Chang C L, Albrecht C, El-Shall S S A and Kurashima R** (2001) Adult reproductive capacity of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) on a chemically defined diet. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 94: 702-706.
- Chang C O and Hsieh F K** (1992) Morphology and bionomics of *Galleria mellonella* L. *Chines. J. Entomol.*, 12: 121-129.
- Charriere J D and Imdorf A** (1997) Protection of honeycombs from moth damage, swiss bee research center federal dairy research station. *Communication*, 24: 16.
- Chaudhari S** (1992) Formulation of nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera litura* with boric acid. *Indian J. Entomol.*, 54: 202-206.
- Chapman R F** (1998) *The Insects: Structure and Function*. 4th edition. Cambridge University Press, UK. 770 pp.
- Cisneros J, Perez J A, Penagos D I, Goulson D, Caballero, Cave D R and Williams T** (2002) Formulation of a nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* in maize. *Biological Cont.*, 23: 87-95.
- Clark A G, Dick G L, Martindale S M and Smith J N** (1985) Glutathione s-transferases from the New Zealand grass grub, *Costelytra zealandica*. *Insect Biochem.*, 15: 35-44.
- Coats R J** (1991) Pesticide degradation mechanism and environmental activation. In: *Pesticide Transformation Products Fate and Significance in the Environment*, eds. Somasundaram L, Coats R J, ACS Symposium Series, 459, American Chemical Society, Washington D.C.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Cobbinah J R, Morgan E D and Douglas T J** (1982) Feeding responses of the gum leaf skeletonist *Uraba lugens* Walker, to sugars, amino acids, lipids, sterols, salts, vitamins and certain extracts of eucalypt leaves. *J. Aust. Entomol. Soc.*, 21: 225-236.
- Cochran D G** (1995) Toxic effects of boric acid on the German cockroach. *Experientia*, 51: 561-563.
- Cohen A C and Crittenden P** (2004) Deliberately added and “cryptic” antioxidants in three artificial diets for insects. *J. Econ. Entomol.*, 97: 265- 272.
- Colborn T** (1998) Endocrine disruption from environmental toxicants. *In: Environmental And Occupational Medicine*, eds. Rom W N, 3. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, pp. 807-815.
- Coşkuncu K S ve Kovancı B** (2005) Bursa ili un fabrikalarında zarar yapan, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)’nın ergin popülasyon dalgalanması. *Türk. Entomol. Derg.*, 29 (1): 35-48.
- Cruz S A, Silva-Zacarin E C M, Bueno O C and Malaspina O** (2009) Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honey bee (*Apis mellifera*) larvae. *Cell Biol Toxicol.* (in pres).
- Çağlar Y, Tutkun E, Tutar A ve Yılmaz B** (2001) Balmumu Güvesi Mücadelesinde Kullanılan Kükürtdioksitin (SO₂) Farklı Dozlarının Etkisi Üzerine Araştırmalar, Türkiye 3. Arıcılık Kongresi, Adana.
- Çakır Ş ve Yamanel Ş** (2005) Böceklerde insektisitlere direnç. *Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi*, 1: 21-29.
- Daar S** (1988) *Borik Acid Outperforms Dursban® In School District IPM Program for Cockroaches*. The IPM Practitioner, Bio-Integral Research Center, Berkeley, CA, 5 pp.
- Dadd R H** (1985) Nutrition: Organisms. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, eds. Kerkut G A. and Gilbert L I, Pergamon, Oxford. National Academy Press, Washington, DC, pp. 313–390.
- Dadd R H** (1960) The nutritional requirements of locusts-III. Carbohydrate requirements and utilization. *J. Insect Physiol.*, 5: 301-316.
- Dandapat J, Chainy G B N and Rao K J** (2003) Improved post-larval production in giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* through modulation of antioxidant defence system by dietary vitamin-E. *Indian J. Biotechnol.*, 2 (2): 195-202.
- De Falco T, Camara N, Le Bras S and Van Doren M** (2008) Nonautonomous sex determination controls sexually dimorphic development of the *Drosophila* gonad. *Dev. Cell.*, 14: 275-86.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Delaware M** (2000) *New Jersey, Pennsylvania, Westingia and the USDA Cooperating.* MAAREC Publication, 4.5.
- Delen N, Koplay C, Yıldız M, Güngör N, Kınay P, Yıldız F and Çoşkuntuna A** (2004) Sensitivity in *Botrytis cinerea* isolates to some fungicides with specific mode of action. XIII. Botrytis Symposium, Antalya, 131 pp.
- 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 Mühendisliği 6. Teknik Kongresi (3-7 Ocak, 2005 Milli Kütüphane, Ankara) Bildirisi , 21 s.
- Delen N ve Tosun N** (1996) Fungisitlere Dayanıklılığı Önleyici Stratejiler. II. Ulusal Ziraî Mücadele İlaçları Simp., 18-20 Ekim 1996 Bildirilen, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, s. 239-244.
- Delgarde S and Rouland-Lefevre C** (2002) Evaluation of the effects of thiamethoxam on three species of African termite (Isoptera: Termitidae) crop pests. *J. Econ Entomol.*, 95 (3): 531-536.
- De Waard M A, Georgopoulos SG, Hollaman D W, Ishii H, Leroux P, Ragsdale N N and Schwinin F J** (1993) Chemical control of plant diseases: Problem and prospects. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 31: 403-421.
- Dhadialla T S, Retnakaran A and Smagghe G** (2005) Insect growth and developmental disturbing insecticides. *Comprehensive Molecular Insect Science*, eds. Gilbert L I, Iatrou K, Gill S K, Elsevier, Oxford, pp. 55-116.
- Doane C C and Wallis R C** (1964) Enhancement of the action of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner on *Porthetria dispar* (Linnaeus) in laboratory tests. *J. Insect Pathol.*, 6: 423-429.
- Dong K, Valles S M, Scharf M E, Zeichner B and Bennett G W** (1998) The knockdown resistance (Kdr) mutation in pyrethroid-resistant German cockroaches. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 60: 195-204.
- Dordas C, Chrispeels M J and Brown P** (2000) Permeability and channel-mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots. *Plant Physiol.* 124: 1349–1361.
- Durmuş Y and Büyükgüzel K** (2008) Biological and immune response of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) to sodium tetraborate. *J. Econ Entomol.*, 101: 777-783.
- Ebeling W** (1995) Inorganic insecticides and dusts. *Understanding and Controlling the German cockroach*, eds. Rust M K, Owens J M and Reiersen D A, Oxford University Press, New York, pp. 193-226.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ebeling W, Reiersen D A, Pence R J and Viray M S** (1975) Silica aerogel and boric acid against cockroaches: external and internal action. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 5: 81-89.
- Eischen F and Dietz A** (1987) Growth and survival of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larva fed diets containing honey bee-collected plant resins. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 80: 74-77.
- Emre İ** (1984) Effects of carbohydrates on feeding of *Locusta migratoria migratorioides* R and F Nymph. *Doğa Bilim Dergisi*, 8: 56-60.
- Engelman F** (1979) Insect vitellogenin: identification, biosynthesis, and role in vitellogenesis. *Adv. Insect Physiol.*, 27: 49-108.
- EPA** (1999a) *Summary Of OPP Reduced- Risk Pesticides Initavite*. US EPA, 2 pp.
- EPA** (1999b) *Fisal Year 1999 Work Plan*. US EPA, 4 pp.
- Felton G W and Duffey S S** (1991) Protective action of midgut catalase in lepidopteran larvae against oxidative plant defenses. *J. Chem. Ecol.*, 17: 1715-1732.
- Felton G W and Summers C B** (1995) Antioxidant systems in insects. *Arch. Insect Biochem.*, 29: 187-197.
- Fenske R A, Kedan G, Lu C S, Fisker-Andersen J A and Curl C L** (2002) Assessment of organophosphorous pesticide exposures in the diets of preschool children in Washington Stat. *J. Exp. Anal. Env. Epid.*, 12: 21-28.
- Ferkovich S M, Morales-Ramos J A, Rojas M G, Oberlander H, Carpenter J E and Greany P** (1999) Rearing of ectoparasitoid *Diapetimorpha introita* on an artificial diet: supplementation with insect cell line-derived factors. *Biocontrol*, 44: 29-45.
- Ford D J, Propst T L, Stover E L, Strong P L and Murray F J** (1998) Adverse reproductive and developmental effects in xenopus from insufficient boron. *Biol Trace Element Res*, 66: 237-259.
- Foster W A** (1995) Mosquito sugar feeding and reproductive energetic. *Annu. Rew. Entomol.*, 40: 443-474.
- Gäde G and Hoffmann K H** (2005) Neuropeptides regulating development and reproduction in insects. *Physiol. Entomol.*, 30: 103-121.
- Galun R and Fraenkel G** (1957) Physiological effects of carbohydrates in the nutrition of a mosquito, *Aedes aegypti*, *Musca domestica* and *Sarcophaga bulata*. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 50: 1-23.
- Gelbič I and Holy A** (1985) Effects of antiviral agent (RS)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenin on the larval development of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera). *Acta Entomol. Bohemoslov.*, 82: 22-27.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Gelbič I and Šula J** (1990) Ovicidal and biochemical effects of hempa and a nucleoside analogue on *Pyrrhocoris apterus* (L.) (Het., Pyrrhocoridae). *J. Appl. Entomol.*, 109: 401-409.
- Genç H** (2006) General principles of insect nutritional ecology. *Trakya Üniv. J. Sci.* 7: 53-57.
- Georghiou G P and Lagunes-Tejeda A** (1991) The Occurrence of resistance to pesticides in arthropods. *Food and Agriculture Organization of the United Nation*, Rome.
- Glaser D** (2002) Specialization and phyletic trends of sweetness reception in animals. *Pure Appl. Chem.*, 74: 1153-1158.
- Gorbach V V** (1998) Seasonal dynamics and sex ratio in a population of the butterfly *Boloria aquilonaris* (Lepidoptera, Nymphalidae). *Zoologičeskij žurnal*, 77: 576-581.
- Gordon H T** (1968) Intake rates of various solid carbohydrates by male German cockroaches. *J. Insect. Physiol.*, 14: 41-52.
- Gore J C and Schal C** (2004) Laboratory evaluation of boric acid-sugar solutions as baits for management of German cockroach infestation. *J. Econ. Entomol.*, 97: 581-587.
- Gore J C, Zurek L, Santangelo R G, Stringham S M, Watson D W and Schal C** (2004) Water solutions of boric acid and sugar for management of German cocroach populations in livestock production system. *J. Econ. Entomol.*, 97: 715-720.
- Gothlif S and Beck S D** (1967) Larval feeding behavior of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *J. Insect Physiol.*, 13: 1039-1054.
- Graf E and Benz G** (1970) Toxicity of streptomycin and terramycin on growth and developmental time of *Drosophila melanogaster*. *Experientia*, 26: 1339-1341.
- Grenier S, Delobel B and Bannot G** (1986) Physiological considerations of importance to the success of in vitro culture: an overview. *J. Insect Physiol.*, 32: 403-408.
- Gullino M L and Kuijpers L A M** (1994) Social and political implication of managing plant diseases with restricted fungicides in Europe. *Annu. Rev. Phytopath.*, 32: 559-579.
- Gülel A** (1988) Çiftleşmenin *Dibrachys boarmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae) erkeklerinin hayat süresine ve eşey oranına etkileri. *Doğa Tu Zooloji Dergisi*, 12 (3): 225-2230.
- Habes D, Morakchi S, Aribi N, Farine J P and Soltani N** (2006) Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: Alterations in midgut structure, and acetylcholinestrase and glutathione-s-transferase activity. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 84: 17-24.
- Habig W H, Pabst M J and Jakoby W B** (1974) Glutathione-s-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249: 7130-7139.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Haewoon O, ManYoung L and Young D C** (1995) Developing periods and damage patterns of combs by the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Korean Journal of Apiculture*, 10 (1): 5-10.
- Halliwell B and Gutteridge J M C** (1999) *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd edn. Oxford University Pres.
- Halliwell B** (1994) Free radicals, antioxidant, and human disease: curiosity. *Cause or Consequence Lancet*, 344: 721-724.
- Hayes W J and Jr. Laws E R** (1991) *Handbook of Pesticide Toxicology*. Academic Pres, San Diego.
- He F S, Chen S Y, Tang X Y, Gan W Q, Tao B G and Wen B Y** (2002) Biological monitoring of combined exposure to organophosphates and pyrethroids. *Toxicol. Lett.*, 134: 119-124.
- Heinle H and Betz E** (1994) Effects of dietary garlic supplementantation in rat model of atherosclerosis. *Arznei-for*, 44: 614-617.
- Hemming J D C and Lindroth R** (2000) Effects of phenolic glycosides and protein on gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) and forest tent caterpillar (Lepidoptera: Lasiocampidae) performance and detoxication activities. *Environ. Entomol.*, 29 (6): 1108-1115.
- Heron R J** (1965) The role of chemotactic stimuli in the feeding behavior of spruce budworm larvae on white spruce. *Can. J. Zool.*, 43: 247-269.
- Horowitz A R and Ishaaya I** (2002) Biorational insecticides-mechanisms, selectivity and importance in pest management. *Insect Pest Management, Field And Protected Crops*, pp. 1-28.
- Hu H and Brown P H** (1997) Absorption of boron by plant roots. *Plant Soil*, 193: 49–58.
- Hu H, Penn S G, Lebrilla C B and Browm P H** (1997) Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants. *Plant Physiol.*, 113: 649-655.
- Hyrls P, Büyüküz el E and Büyüküz el K** (2008) Boric acid-induced effects on protein profiles of *G. mellonella* hemolymph and fat body. *Acta Biologica Hungarica*, 59: 281-288.
- Hyrls P, Büyüküz el E and Büyüküz el K** (2007) The effects of boric acid-induced oxidative stress on antioxidant enzymes and survivorship in *Galleria mellonella*. *Arch. Insect Biochem.*, 66: 23-31.
- Ishaaya I and Horowitz A R** (1998) Insecticides with novel mode of actions: Overview. *Insecticides With Novel Mode Of Action Mechanisms And Application*, eds. Ishaaya I, Degheel D, Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 1-24.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ishihara M** (1992) Persistence of females that produce only female progeny in Lepidoptera. *Res. Popul. Ecol.*, 34: 331-347.
- Ishii T and Matsunaga T** (1996) Isolation and characterization of a boron-rhamnogalacturonan-II complex from cell walls of sugar beet pulp. *Carbohydr Res.*, 284: 1-9.
- Ito T** (1960) Effect of sugars on feeding of larvae of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.*, 5: 95-107.
- İçen E, Armutçu F, Büyükgüzel K and Gürel A** (2005) Biochemical stress indicators of greater wax moth *Galleria mellonella* L. exposure to organophosphorus insecticides. *J. Econ Entomol.*, 98 (2): 358-366.
- Jain S K and Levine S N** (1995) Elevated lipid Peroxidation and vitamin E-Quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radic. Biol. Med.*, 18: 337-341.
- Jolly W L** (1991) *Modern Inorganic Chemistry*. 2nd Ed. McGraw-Hill, New York.
- Jones R L, McMillan W W and Wiseman B R** (1972) Chemicals in kernels of corn that elicit a feeding response from larvae of the corn earworm. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 65: 821-824.
- Kageyama D, Hoshizaki S and Ishikawa Y** (1998) Female-biased sex ratio in the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*: Evidence for the occurrence of feminizing bacteria in an insect. *Heredity*, 81: 311-316.
- Kageyama D, Nishimura G, Hoshizaki S and Ishikawa Y** (2003) Two kinds of sex ratio distorters in a moth, *Ostrinia scapularis*. *Genome*, 46: 974-982.
- Karabay Ü** (2000) Bazı Sinerjistik Etkili İnsektisitlerin Memeli Sistemleri Üzerinde Toksik Etkilerinin Araştırılması. (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kaya A, Karakaya H C, Fomenko D E, Gladyshev V N and Koc A** (2009) Identification of a novel system for boron transport: atr1 is a main boron exporter in yeast. *Mol. Cell. Biol.* 29: 3665-3674.
- Kaya M ve Kovancı B** (2000) Bursa İlinde Yeşil Kurt *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)'nın Biyolojisi Üzerinde Araştırmalar. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, 10: 37-43.
- Keena M A, Odell T M and Tanner J A** (1995) Effects of diet ingredient source and preparation method on larval development of laboratory-reared gypsy moth (Lepidoptera: Lymantridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 88: 672-679.
- Khan K I** (2006) Enhancement of virulence of *Bacillus Thuringiensis* and *Serratia Marcescens* by chemicals. *Journal of Research (Science), Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan*, 17: 35-43.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Khan M Z, Tabassum R, Naqvi S N H M, Azmi A and Khan M F** (1996) Effect of sodium tetraborate and boric acid on the mortality and fecundity of a stored grainpest, *Callosobruchus analis*. *Proc. Pak. Congr. Zool.*, 16: 27-31.
- Kılınçer N** (1976) *Dibrachys cavus* (Walk.) (Hymenoptera – Pteromalidae), *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera–Braconidae) ve *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera- Galleridae) Arasındaki Bazı Biyolojik ve Fizyolojik İlişkiler Üzerinde Araştırmalar. (Doçentlik tezi), Ankara.
- Kilani-Morakchi S, Aribi N, Farine J P, Everaerts C and Soltani N** (2005) Effets de l'acide borique sur les profils d'hydrocarbures cuticulaires chez un insecte à intérêt médical, *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Soc. Alger. Chim.*, 15 (2): 225-231.
- Klotz J, Greenburg L and Venn E C** (1998) Liquid boric acid for control of the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 91: 910-914.
- Klotz J H, Greenberg L, Amrhein C and Rust M K** (2000) Toxicity and repellency of borate sucrose water baits to Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 93: 1256-1258.
- Klotz J H and Moss J I** (1996) Oral toxicity of a boric acid-sucrose water bait to florida Carpenter ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Entomol. Sci.*, 31: 9-12.
- Klotz J H, Oi D H, Vail K M and Williams D F** (1996) Laboratory evaluation of a boric acid liquid bait on colonies of *Tapinoma melanocephalum* Argentine ants and Pharaoh ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 89: 673-677.
- Klotz J H, Vail K M and Williams D F** (1997a) Liquid boric acid baits for control of structural infestations of Pharaoh ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 90: 523-526.
- Klotz J H, Vail K M and Williams D F** (1997b) Toxicity of a boric acid-sucrose water bait to *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 90: 488-491.
- Kobayashi M, Matoh T and Azuma J** (1996) Two chain of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. *Plant Physiol.*, 110: 1017–1020.
- Kono Y and Shishido T** (1992) Distribution of glutathione s-transferase activity in insect tissues. *Appl. Entomol. Zool.*, 27: 391–397.
- Krishnan N and Kodrik D** (2006) Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress?. *J. Insect Physiol.*, 52: 11-20.
- Krishnan N and Sehna F** (2006) Compartmentalization of oxidative stress and antioxidant defense in the larval gut of *Spodoptera littoralis*. *Arch. Insect Biochem.*, 63: 1-10.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Krishnan N, Kodr k D, K udkiewicz B and Sehnal F** (2009) Glutathione-ascorbic acid redox cycle and thioredoxin reductase activity in the digestive tract of *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 39: 180-188.
- Kumova U and Korkmaz A** (2002) Peteklerin Büyük Bal Mumu Güvesi (*Galleria mellonella* L.)'ne Kar ı Korunması  zerine Bir Ara tırma. Türkiye 3. Arıcılık Kongresi, Adana.
- Laing D R and Hagen K S A** (1970) Xenic, partially synthetic diet for the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Olethreutidae). *Can. Entomol.*, 102: 250-252.
- Lang J T and Treece R E** (1972) Boric acid effects on face fly fecundity. *J. Econ. Entomol.*, 65: 740-741.
- Leonova I N and Slynko N M** (1996) Comparative study of insecticide susceptibility and activities of detoxification enzymes in larvae and adults of cotton bollworm, *Heliothis armigera*. *Arch. Insect Biochem.*, 32: 157-172.
- Liu T X and Chen T Y** (2000) Effects of the chitin synthesis inhibitor buprofezin on survival and development of immatures of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Econ. Entomol.*, 93 (2): 234-239.
- Loher W, Clark W H, Jr. Fischer A, Olive P J W and Nent D F** (1984) Behavioral and physiological changes in cricket-females after mating. *Adv. In Invertebrate Reproduction*, eds. Engles, Elsevier, Amsterdam, pp.189-201.
- Lowry O H, Rosebrough N L, Farr A L and Randall R J** (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 19: 265.
- Ma W C and Kubo I** (1977) Phagostimulants for *Spodoptera exempta*: identification of adenosine from *Zea mays*. *Entomol. Exp. Appl.*, 22: 107-112.
- Maistrello L, Henderson G and Laine R A** (2002) Comparative effects of vetiver oil, nootkatone and disodium octaborate tetrahydrate on *Coptotermes formosanus* and its symbiotic fauna. *Pest Manag. Sci.*, 59: 58-68.
- Mandato C A, Diehl-Jones W L, Moore S J and Downer R G H** (1997) The effects of eicosanoids biosynthesis inhibitors on prophenoloxidase activation, phagocytosis and cell spreading in *Galleria mellonella*. *J. Insect Physiol.*, 43 (1): 1-8.
- Mano T, Sinohara R, Sawai Y, Oda N, Nishida Y, Mokuno T, Kotake M, Hamada M, Masanuga R, Nakai A and Nagasaka A** (1995) Effects of thyroid hormone on coenzyme Q and other free radical scavengers in rat heart muscle. *Journal of Endocrinology*, 145: 131-136.
- Mathews M C, Summers C B and Felton G W** (1998) Ascorbate peroxidase: a novel antioxidant enzyme in insects. *Arch. Insect Biochem.*, 34: 57-68.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Mazanec Z** (2007) Studies on the sex ratio in the jarrah leafminer *Perthida glyphopa* (Lepidoptera: Incurvariidae). *Australian J. Entomol.*, 23: 69-74.
- Mehmetoğlu R and Başhan M** (1996) *Melanogryllus desertus* (Pall.) (Orthoptera: Gryllidae)'nin karbohidrat ihtiyaçları. *Turk. J. Biol.*, 23: 91-100.
- Meisner J, Ascher K R S and Flowers H M** (1972) The feeding response of the larvae of the Egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* Boisd., to sugars and related compounds I. phagostimulatory and deterrent effects. *Comp. Biochem. Physiol.* 42: 899-914.
- Meisner J, Ascher K R S and Lavie D** (1974) Phagostimulants for the larva of the potato tuber moth, *Gnorimoschema operculella* Zell. *Z. Angew. Entomol.*, 77: 67-91.
- Midgley A R and Dunklee D E** (1943) Using borax and boric acid to control house flies in manure. *Vermont. Agric. Expr. Sta. Pamphlet*, 5: 7.
- 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.
- Missirlis F, Rahlfs S, Dimopoulos N, Bauer H, Becker K, Hilliker A and Phillips J P** (2003) A putative glutathione peroxidase of *Drosophila* encodes thioredoxin peroxidase that provides resistance against oxidative stress but fails to complement a lack of catalase activity. *Biol. Chem.*, 384 (3): 463-472.
- Morales L, Moscardi F, Sosa-Gomez D R, Paro F E and Soldorio I L** (1997) Enhanced activity of *Anticarsia gemmalis* Hüb. (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus by boric acid in the laboratory. *An. Soc. Entomol. Brasil*, 26: 115-120.
- Morris O N, Converse V and Kanagaratnam P** (1995) Chemical additive effects on the efficacy of *Bacillus thuringiensis* Berliner Subsp. *kurstaki* against *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, 88: 815-824.
- Mullens B A and Rodriguez J L** (1992) Effects of disodium octaborate tetrahydrate on survival, behavior, and egg viability of adult muscoid flies (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.*, 85: 137-143.
- Myers J H, Boetner G and Elkinton J** (1998) Maternal effects in gypsy moth: only sex ratio varies with population density. *Ecology*, 79: 305-314.
- Nath B S and Kumar R P S** (1999) Toxic impact of organophosphorus insecticides on acetylcholinesterase activity in the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 42: 157-167.
- Nation J L** (2001) *Insect Physiology and Biochemistry*. Boca Raton, Fla., CRC Press. 485 pp.
- Nettles W C, Parro J R B, Sharbaugh C and Mangum C L** (1972) Trehalose and other Carbohydrates in diapausing and starvating Boll weevil. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 65: 554-558.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Nielsen S A and Toft S** (2002) Responses of a detoxification enzyme to diet quality in the wolf spider. *Pardosa prativaga*. *European Arachnology*, eds. Toft S and Scharff N, Aarhus University Press, Aarhus, pp. 65-70.
- Nigg H N and Simpson S E** (1997) Use of borax toxicants to control tephritidae fruit flies. U.S. Patent 5.698.208 December 16, 28 panels.
- Nuttall C Y** (2000) Boron Tolerance And Uptake in Higher Plants. PhD Thesis, University of Cambridge, Cambridge, UK.
- O'Neill M A, Warrenfeltz D W, Kates K, Pellerin P, Doco T, Darvill A G and Albersheim P** (1996) Rhamnogalacturonan-II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cell, forms a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester. *J. Biol. Chem.*, 271: 22923–22930.
- Ortel J** (1995) Accumulation of cd and pb in successive stages of *Galleria mellonella* and metal transfer to the pupal parasitoid *Pimpla turionellae*. *Entomol. Exp. Appl.*, 77: 89-97.
- Özalp P and Emre İ** (2001) The effects of carbohydrates upon the survival and reproduction of adult female *Pimpla turionellae* L. (Hym., Ichneumonidae). *J. Appl. Entomol.*, 125: 177-180.
- Özmen Y** (2007) AB müktesebatına göre hazırlanan bitki koruma ürünlerinin piyasaya arzı ile ilgili yönetmeliğin genel bir değerlendirilmesi. *Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi*, Ankara, 392 s.
- Öztürk S** (1997) *Tarım İlaçları*. Genişletilmiş 2. Baskı, Ak Basımevi, İstanbul, 553 s.
- Park M, Li Q, Shcheynikov N, Zeng W and Muallern S** (2004) NaBC1 is a ubiquitous electrogenic Na⁺-coupled borate transporter essential for cellular boron homeostasis and cell growth and proliferation. *Mol Cell*, 16: 331–341.
- Parkes T L, Hilliker A J and Phillips J P** (1993) Genetic and biochemical analysis of Glutathione S-transferase in the oxygen defense system of *Drosophila melanogaster*. *Genome*, 36: 1007-1014.
- Pawel A** (2004) Sex ratio of apollo butterfly *Parnassius apollo* (Lepidoptera: Papilionidae)-facts and artifacts. *European J. Entomol.*, 101: 341-344.
- Peric-Mataruga V, Blagojevic D, Spasic M B, Ivanovic J and Jankovic-Hladni M** (1997) Effect of the host plant on the antioxidative defence in the midgut of *Lymantria dispar* L. caterpillars of different population origins. *J. Insect Physiol.*, 43: 101-106.
- Pigeolet E, Corbisier P, Houbion A, Lambert D, Michiels C, Raes M, Zachary M D and Remacle J** (1990) Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. *Mech. Ageing Dev.*, 51: 283-297.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Pohlon E and Baldwin I T** (2001) Artificial diets ‘capture’ the dynamics of jasmonate-induced defenses in plants. *Entomol. Exp. Appl.*, 100: 127-130.
- Pszczolkowski M A and Brown J J** (2003) Effect of sugars and non-nutritive sugar substitutes on consumption of apple leaves by codling moth neonates. *Phytoparasitica*, 31: 283-291.
- Rajurkar R B, Khan Z H and Gujar G T** (2003) Studies on levels of glutathione-s-transferase, its isolation and purification from *Helicoverpa armigera*. *Current Science*, 85: 1355-1360.
- Renwick J A and Huang X P** (1995) Rejection of host plant by larvae of cabbage butterfly: diet-dependent sensitivity to an antifeedant. *J. Chem. Ecol.*, 21 (4): 465-475.
- Rhainds M, Davis D R and Price P W** (2009) Bionomics of bagworms (Lepidoptera: Psychidae). *Annu. Rev. Entomol.*, 54: 2009-2026.
- Ridgway N M and Mahr D L** (1990) Reproduction, development, and longevity of *Pholetesor ornigis* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of spotted tentiform leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae), in the laboratory. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 83: 790-794.
- Ritter W, Perschil F and Vogel R**, (1992) Comparision of the effect of various methods for the control of wax moths. *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 26 (1): 11-13.
- Rowe R I, Bouzan C, Nabili S and Eckart C D** (1998) The response of trout and zebrafish embryos to low and high boron concentrations is u-shaped. *Biol Trace Element Res*, 66: 261–270.
- Sahara K, Marec F, Eickhoff U and Traut W** (2003) Moth sex chromatin probed by comparative genomic hybridization (CGH). *Genome*, 46: 339-342.
- 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>.
- Scharf M E, Lee C Y, Neal J J and Bennett G W** (1999) Cytochrome P450 MA expression in insecticide-resistant German cockraches (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, 92: 788-793.
- Scott J G, Cochran D G and Siegfried B D** (1990) Insecticide toxicity, synergism and resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, 83: 1698-1703.
- Seçkin E ve Ünal E** (1994) Marmara bölgesinde zeytin sineği (*Bactrocera oleae* Gmel.) mücadelesine esas olmak üzere biyoteknik yöntemlerin araştırılması, geliştirilmesi ve uygulanması. *Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Bilimsel Araştırma ve incelemeler Yayın No:50*, Yalova.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Sestini E A, Carlson J C and Allsopp R** (1991) The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A₂ activity in *Drosophila melanogaster*. *Exp. Gerontol.*, 26: 385-395.
- Settepani J A, Crystal M M and Borkovec A B** (1969) Boron chemosterilants against screw-worm flies: structure-activity relationship. *J. Econ. Entomol.*, 62: 375-383.
- Shapiro M and Bell R A** (1982) Enhanced effectiveness of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) nucleopolyhedrosis virus formulated with boric acid. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 75: 346-349.
- Singh P and House H L** (1970a) Antimicrobial agents: their detrimental effects on size of an insect. *Agria affinis*. *Can. Entomol.*, 102: 1340-1344.
- Singh P and House H L** (1970b) Antimicrobials "safe" levels in a synthetic diet of an insect. *Agria affinis*. *J. Insect Physiol.*, 16: 1769-1782.
- Singh S P, Coronella J A, Benes H, Cochrane B J and Zimniak P** (2001) Catalytic function of *Drosophila melanogaster* glutathione s-transferase DmGSTS1-1 (GST-2) in conjugation of lipid peroxidation end products. *Eur. J. Biochem.*, 268: 2912-2923.
- Sivori J L, Casabé N, Zerba E N and Wood E J** (1997) Induction of glutathione-s-transferase activity in *Triatoma infestans*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 92 (6): 797-802.
- Slāma K, Holý A and Votruba I** (1983) Insect sterility induced by a broad-spectrum antiviral agent (S)-9-(2,3-Dihydroxypropyl) adenine. *Entomol. Exp. Appl.*, 33: 9-14.
- Slansky F J and Scriber J M** (1985) Food consumption and utilization. *Compr. Insect Phys., Biochemistry and Pharmacology IV.*, eds. Kerkut G A and Gilbert L I, Pergamon, Press, Oxford, pp. 87-163.
- Snedecor G S and Cochran W G** (1989) *Statistical Method*. Iowa State University Press, 8th ed., Ames, IA.
- Socha R, Gelbič I and Šula J** (1988) Histopathological effects of (R,S)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenine on the ovaries of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera, Pyrrhocoridae). *Acta Entomol. Bohemoslov.*, 85: 408-417.
- Sohal R S, Sohal B H and Orr W C** (1995) Mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide generation, protein oxidative damage, and longevity in different species of flies. *Free Radic. Biol. Med.*, 19: 499-504.
- SPSS Inc** (1997) User's manual, version 10. SPSS Inc., Chicago, IL.
- Šula J, Gelbič I and Socha R** (1987) The effects of (RS)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenine on the reproduction and protein spectrum in hemolymph and ovaries of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera, Pyrrhocoridae). *Acta Entomol. Bohemoslov.*, 84: 1-9.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Sumasundaram L and Coats R J** (1991) *Pesticide Transformation Products in The Environment*, eds. Sumasundaram L, Coats R J, ACS Symposium Series, Washington D.C.
- Sun J, Folk D, Bradley T J and Tower J** (2002) Induced overexpression of mitochondrial Mn-superoxide dismutase extends the life Span of adult *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 161: 661-672.
- Sutherland O R W and Hillier J R** (1976) The influence of maltose and other carbohydrates on the feeding behaviour of *Heteronychus arator* (Scarabaeidae: Coleoptera). *Experientia*, 32: 701-702.
- Takano J, Noguchi K, Yasumori M, Kobayashi M, Gajdos Z, Miwa K, Hayashi H, Yoneyama T and Fujiwara T** (2002) Arabidopsis boron transporter for xylem loading. *Nature*, 420: 337-340.
- Terra W R** (1990) Evolution of digestive systems of insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 35: 181-200.
- Timmermann S E, Zangerl A R and Berenbaum M R** (1999) Ascorbic and uric acid responses to xanthotoxin ingestion in a generalist and a specialist caterpillar. *Arch. Insect Biochem.*, 42: 26-36.
- Traut W, Sahara K and Marec F** (2007) Sex chromosomes and sex determination in Lepidoptera. *Sexual Development*, 1: 332-346.
- Tunaz H, Putnam S M and Stanley D W** (2002) Prostaglandin biosynthesis by fat body from larvae of the beetle, *Zophobas atratus*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 49: 80-93.
- Turunen S** (1992) Efficient use of dietary galactose in *Pieris brassicae*. *J. Insect. Physiol.*, 38: 503-509.
- Tutkun E, Çakmakçı L ve Bosgelmez A** (1987) Bal arısı kolonilerinde *Bacillus thurugiensis* preparatlarının büyük mum güvesi (*G. Mellonella*) larvalarına karşı kullanım olanakları üzerinde araştırmalar. *TÜBİTAK, Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu, Tarımsal Mikrobiyoloji Ünitesi* Proje no: Tarmik, s. 8-34.
- Ujváry I** (2002) Transforming natural products into natural pesticides experience and expectations. *Phytoparasitica*, 30: 439-442.
- Ulloa-Chacón P and Jaramillo G I** (2003) Effects of boric acid, fipronil, hydramethylnon, and diflubenzuron baits on colonies of ghost ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 96: 856-862.
- Vontas J G, Small G J and Hemingway J** (2001) Glutathione-s-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *J. Biochem.*, 357: 65-72.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Wang Q, Shi G, Song D, Rogers D J, Davis L K and Chen X** (2002) Development, survival, body weight, longevity, and reproductive potential of *Oemena hirta* (Coleoptera: Cerambycidae) under different rearing condition. *J. Econ. Entomol.*, 95: 563-569.
- Warington K** (1923) The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Ann Bot*, 37: 629-672.
- Ware G W** (1994) *The Pesticide Book*. 4th edition, Thomsan Publication, Colifornia, 386 pp.
- Wei S H, Clark A G and Syvanen M** (2001) Identification and cloning of akey insecticide-metabolizing glutathione-s-transferase (MdGST-6A) from a hyper insecticide-resistant strain of the housefly *Musca domestica*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31: 1145-1153.
- Weir R J J and Fisher R S** (1972) Toxicologic studies on borax and boric acid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 23: 351-364.
- Weirich G F, Collins A M and Williams V P** (2002) Antioxidant enzymes in thye honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 33: 3-14.
- Whitcomb W J** (1946) Feding bees for comb production. *Glean. Bee cult.*, 74: 198-202.
- Wilce M C and Parker M W** (1994) Structure and function of glutathione s-transferases. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1205: 1-18.
- Willers J L, Schnider J C and Ramaswamy S B** (1987) Fecundity, longevity and caloric patterns in female *Heliothis virescens*: changes with age due to flight and supplemental carbohydrate. *J. Insect Physiol.*, 33: 803-808.
- Williams R M and Atalla R H** (1981) Interaction of group II cations and borate anions with nonionic saccharides. *Solution Properties of Polysaccharides*, eds. Brant D A, American Chemical Society Symposium Series, pp. 317-330.
- Xue R D, Kline D L, Ali A and Branard D R** (2006) Application of boric acid baits to plant foliage for adult mosquito control. *J. Am. Mosquito Contr.*, 22: 497-500.
- Xue R D and Barnard D R** (2003) Boric acid bait kills adult mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J Econ. Entomol.*, 96: 1559-1562.
- Yacobson B, Navarro S, Donahaye E J, Azrielli A, Sloyevsky Y and Ephrati H** (1997) Control of beeswax moths using carbondioxide in flexible plastic and metal structure. In: *Proc. Int. Conf., Controlled Atmosphere and Fumigation in Grain Storages*, 21-26 April 1996, Nicosia Cyprus, pp. 169-174.
- Yamamoto R T and Fraenkel G** (1960) Assay of the principal gustatory stimulants for the tobacco hornworm, *Protoparce sexta*, from solanaceous plants. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 53: 499-503.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Yang L K, Nigg H N, Fraser S, Burns E and Simpson S E** (2000a) Midgut proteinase types and sodium tetraborate effects on midgut proteinase activities of female *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 93: 602-609.
- Yang L K, Nigg H N, Simpson S E, Ramos L E, Cuyler N W, Barnes J I and Gren C G** (2000b). Sodium tetraborate effects on mortality and reproduction of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.*, 93: 1485-1492.
- Yu S J** (1993) Induction of detoxification enzymes in phytophagous insects: roles of insecticide synergists, larval age, and species. *Arch. Insect Biochem.*, 24: 21-32.
- Yücer M M** (2008) *Ruhsatlı Tarım İlaçları 2008*. Hasad Yayıncılık Ltd. Şti.P.K.22 Üsküdar 34673, İstanbul.
- Yücer M M** (2003) *Tarım İlaçları 2003*. Hasat Yayıncılık Ltd. Şti. ISBN 975-8377-16-7, 186 pp.
- Zalucki M P, Clarke A R and Malcolm S B** (2002) Ecology and behavior of first instar larval lepidoptera. *Ann. Rev. Entomol.*, 47: 361-393.
- Zaman K, MacGill R S, Johnson J E, Amad S and Pardini R S** (1994) An insect model for assessing mercury toxicity: effect of mercury on antioxidant enzyme activities of the housefly (*Musca domestica*) and the cabbage looper moth (*Trichoplusia ni*). *Arch. Environ. Cont. Toxicol.*, 26: 114-118.
- Zapata R, Specty O, Grenier S, Febvay G, Pageaux J F, Delobel B and Castane C** (2005) Carcass analysis to improve a meat, based diet for the artificial rearing of the predatory mirid bug *Dicyphus tamaninii*. *Arch. Insect Biochem.*, 60: 84-92.
- Zeng F, Shu S, Ramaswamy S B and Srinivasan A** (2000) Vitellogenin in pupal hemolymph of *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 93: 291-294.
- Zhang B M, Xue R D, Zeng F, Xu R M and Lu B L** (1990) Effect of low dosage of alphacypermethrin on larval development and oviposition of *Culex pipiens pallens*, *Chin. J. Parasit Dis. Control.*, 3: 286-289.
- Zhou J J and Le Patourel G N J** (1990) Hatching of oothecae from female *Blattella germanica* Exposed to hydramethylnon and boric acid baits. *Entomol. Exp. Appl.*, 54: 131-140.
- Zucoloto F S** (1992) Egg production by *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) fed with different carbohydrates. *Revta Bras. Ent.*, 36: 235-240.
- Zurek L, Gore J C, Stringham M S, Watson D W, Waldvogel M G and Schal C** (2003) Boric acid dust as a component of an integrated cockroach management program in confined swine production. *J. Econ. Entomol.*, 96: 1362-1366.

ÖZGEÇMİŞ

Veli ŞAHİN 1985’de Sivas’ın Zara ilçesinde doğdu; İlk ve orta öğrenimini aynı ilçede tamamladı. Zara Çok Programlı Lisesi’nden mezun olduktan sonra 2003 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi (ZKÜ) Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’ne girdi; 2006 ve 2007 yıllarında Fen Edebiyat Fakültesinde yüksek onur öğrencisi seçildi; 2008 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitinde okul birincisi olarak mezun olduktan sonra aynı yıl girdiği ZKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Programını sürdürmektedir.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres: Hürriyet mah. Yasa cad.

2031. sokak No: 33

Gebze / KOCAELİ

Tel : (262) 743 70 28

E-posta: bioveli_58@hotmail.com

Veli ŞAHİN