

**SODYUM TETRABORATIN BÜYÜK BAL MUMU GÜVESİ *GALLERIA*
MELLONELLA L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)’NİN YAŞAMA, GELİŞİMİ VE
BAZI ENZİMLERİNİN AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Yonca DURMUŞ

**Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalında
Bilim Uzmanlığı Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

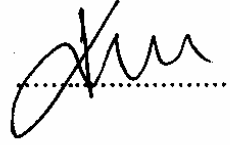
**ZONGULDAK
Ocak 2007**

KABUL:

Yonca DURMUŞ tarafından hazırlanan "SODYUM TETRABORATIN BÜYÜK BAL MUMU GÜVESİ *GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NİN YAŞAMA, GELİŞİMİ VE BAZI ENZİMLERİNİN AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ" başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi (ZKÜ) Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

22/01/2007

Başkan : Doç. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL (ZKÜ)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Ayşe KAPLAN (ZKÜ)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Hatice ÇÖLGEÇEN (ZKÜ)



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

22/01/2007



Doç. Dr. Mustafa SÖZEN Y.
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Bilim Uzmanlığı Tezi

**SODYUM TETRABORATIN BÜYÜK BAL MUMU GÜVESİ GALLERIA
MELLONELLA L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)’NİN YAŞAMA, GELİŞİMİ
VE BAZI ENZİMLERİNİN AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Yonca DURMUŞ

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL

Ocak 2007, 75 sayfa.

Büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* L. yapay besin ortamında beslenerek sodyum tetraboratın böceğin yaşama, gelişimi, ergin ömür uzunluğu ile 7. evre larvalarının hemolenf ve yağ dokusunda malondialdehid (MDA) ve lizozim miktarı, glutatyon S-transferaz (GST), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve asetil kolinesteraz (AChE) enzimlerinin aktivitesi üzerine etkisi incelendi. Sodyum tetraboratın 0,3 g’ı 7. evreye ulaşan larva oranını % $17,5 \pm 2,9$ ’a istatistiksel olarak önemli derecede düşürmüştür, 7. evreye ulaşma süresini ise ortalama 5 gün geciktirmiştir. Bu miktarı içeren besinden % 12,5 oranında pup ve ergin elde edilmiş ve bu evrelere ulaşmak için gerekli süre ise ortalama 5 gün uzamıştır. Kontrol besini ile yetiştirilen erginlerin ömür uzunluğu ortalama $9,0 \pm 0,7$ gün iken sodyum tetraboratın 0,2 g’ını içeren besin ile yetiştirilen erginler kontrole göre 4,2 gün daha uzun ($13,2 \pm 1,9$ gün) yaşamıştır. Denenen en yüksek

ÖZET (devam ediyor)

madde miktarı erginlerin ömür uzunluğunu önemli derecede kısaltmıştır. Sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonları larvaların hemolenf ve yağ doku MDA miktarını önemli derecede artırmıştır. Sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonları (0,2 ve 0,3 g) hemolenf GST aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir azalmaya sebep olurken, sodyum tetraboratın tüm konsantrasyonları yağ doku GST aktivitesini artırmıştır. En yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonu (0,3 g) yağ doku GST aktivitesini yaklaşık 12 kat artırmıştır. Besindeki sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonları, hemolenf ve yağ doku lizozim enzimi miktarını önemli derecede düşürmüştür. Sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonları yağ doku lizozim miktarını önemli derecede artırmıştır. Bu yüksek konsantrasyonlar hemolenf ALT, AST ve AChE aktivitesini önemli derecede azaltırken, yağ doku ALT, AST ve AChE aktivitesini önemli derecede artırmıştır. Bu çalışma sodyum tetraborat tarafından oluşturulan oksidatif stresin büyük bal mumu güvesinde bazı metabolik işlevleri ve sinaptik iletimi olumsuz yönde etkilediğini, oksidatif strese karşı böceğin çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik adaptasyon tepkileri verdiğini göstermiştir. Elde edilen sonuçlar sodyum tetraboratın böceğin yaşama, gelişme ve ömür uzunluğu üzerindeki olumsuz etkisinde oksidatif stresin önemli bir faktör olabileceğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: *Galleria mellonella*, sodyum tetraborat, yaşama, ömür uzunluğu, glutatyon S-transferaz, transaminazlar, asetilkolinesteraz

Bilim Kodu: 401.04.02

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

**EFFECTS OF SODIUM TETRABORATE ON SURVIVAL, DEVELOPMENT, AND
ACTIVITIES OF SOME ENZYMES OF GREATER WAX MOTH, *GALLERIA
MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)**

Yonca DURMUŞ

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

**Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL
January 2007, 75 pages.**

The effects of sodium tetraborate on survival, development, adult longevity, and hemolymph and fat body malondialdehyde (MDA) and lysozyme content, glutathione S-transferase (GST), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), acetylcholinesterase (AChE) activities and in 7th instar larvae (one-day old) of greater wax moth *Galleria mellonella* L. were investigated by rearing the larvae on artificial diets. The highest concentration of sodium tetraborate (0.3 g) significantly decreased the survival rate of 7th instars to 17.5 ± 2.9 % and prolonged the time required to reach 7th instar by 5 days. The diet containing this concentration produced 12.5 % of both pupae and adult yields and also prolonged development by 5 days. When compared to adult longevity (9.0 ± 0.7 days) from control diets, adults reared with 0.2 g of sodium tetraborate survived by about 4.2 days longer (13.2 ± 1.9 days). The highest concentration of sodium tetraborate resulted in decreased adult longevity in comparison to control. High concentrations of sodium

ABSTRACT (continued)

tetraborate significantly increased MDA content in hemolymph and fat body of the 7th instar larvae. The highest concentration of sodium tetraborate (0.3 g) increased MDA content from 0.008 ± 0.004 to 0.17 ± 0.015 nmol/mg protein. Sodium tetraborate at high concentrations (0.2 and 0.3 g) caused a significant decrease in hemolymph GST activity while all dietary concentrations of sodium tetraborate increased fat body GST activity. The highest concentration of sodium tetraborate (0.3 g) significantly increased fat body GST activity by 12-fold and raised to an activity of 1050 ± 73.8 nmol/mg protein/min. Lysozym content in hemolymph and fat body of 7th instars was decreased by high concentrations of sodium tetraborate. Sodium tetraborate at low concentrations resulted in significantly increased fat body lysozyme content. These high concentrations resulted in significantly decreased ALT, AST, AChE activities in hemolymph while they caused a significant increase in activities of the enzymes of fat body of larvae. This study showed that sodium tetraborate-induced oxidative stress caused the some metabolic and synaptic dysfunctions in greater wax moth and alter its biochemical physiology as adaptive response to oxidative stress. The results are consistent with the hypothesis that oxidative stress may be causative factor in deteriorative effects of sodium tetraborate on survival, development and longevity of the insect.

Key Words: *Galleria mellonella*, sodium tetraborate, survival, longevity, glutathione S-transferase, transaminases, acetylcholinesterase

Science Code: 401.04.02

TEŞEKKÜR

Bu konuda bana çalışma fırsatı veren, araştırma sırasında ilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e, çalışmamın her aşamasında değerli öneri ve bilgilerinden yararlandığım Biyoloji Bölümü Araştırma Görevlisi Ender BÜYÜKGÜZEL'e, lizozim deneylerime bilgi ve deneyimleriyle katkıda bulunan RNDr. Pavel HyrsI (Masaryk Üniversitesi Deneysel Biyoloji Enstitüsü Hayvan Fizyolojisi ve İmmünoloji Bölümü)'e teşekkürlerimi bir borç bilirim. Sodyum tetraboratı bu çalışma için hediye eden Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü'ne, çalışmamın deneysel ve yazma aşamasında moral desteği ve yardımlarını esirgemeyen eşim Mustafa DURMUŞ'a ve aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	12
BÖLÜM 2 MATERYAL VE METOT.....	25
2.1 BÖCEK KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI.....	25
2.2 BESİNLERİN HAZIRLANMASI.....	25
2.3 SODYUM TETRABORATIN DENEYLERDE KULLANILMASI.....	26
2.4 LARVALARIN ELDE EDİLMESİ.....	26
2.5 YAŞAMA, GELİŞME VE ÖMÜR UZUNLUĞU.....	26
2.6 ENZİM EKSTRAKSİYONU VE AKTİVİTE TAYİNİ.....	28
2.6.1 Yağ Doku ve Hemolenf İzolasyonu.....	28
2.6.2 Malondialdehid (MDA).....	28
2.6.3 Glutasyon S-Transferaz (GST).....	29
2.6.4 Alanin Aminotransferaz (ALT), Aspartat Aminotransferaz (AST), Asetilkolinesteraz (AChE).....	29
2.6.5 Lizozim.....	30
2.7 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	30

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

Sayfa

BÖLÜM 3 ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1 SODYUM TETRABORATIN <i>G. MELLONELLA</i> 'NİN YAŞAMA, GELİŞİMİNE ETKİSİ.....	31
3.2 SODYUM TETRABORATIN <i>G. MELLONELLA</i> 'NİN ÖMÜR UZUNLUĞUNA ETKİSİ.....	33
3.3 SODYUM TETRABORATIN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU MALONDİALDEHİD (MDA) MİKTARINA ETKİSİ.....	34
3.4 SODYUM TETRABORATIN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU GLUTATYON S-TRANSFERAZ (GST) ENZİM AKTİVİTESİNE ETKİSİ.....	36
3.5 SODYUM TETRABORATIN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU LİZOZİM ENZİMİNİN MİKTARINA ETKİSİ.....	38
3.6 SODYUM TETRABORATIN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU ALANİN AMİNOTRANSFERAZ (ALT) ENZİM AKTİVİTESİNE ETKİSİ.....	40
3.7 SODYUM TETRABORATIN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU ASPARTAT AMİNOTRANSFERAZ (AST) ENZİM AKTİVİTESİNE ETKİSİ.....	42
3.8 SODYUM TETRABORATIN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU ASETİLKOLİNESTERAZ (AChE) ENZİM AKTİVİTESİNE ETKİSİ.....	44
BÖLÜM 4 TARTIŞMA.....	47
KAYNAKLAR.....	60
ÖZGEÇMİŞ.....	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No:</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Lipid peroksidasyonu ürünü MDA'nın oluşumu.....	18
1.2 Oksidatif stres ve hücre hasarı.....	19
3.2 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> erginlerinin ömür uzunluğuna etkisi.....	33
3.3.1 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının hemolenf MDA miktarına etkisi.....	34
3.3.2 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının yağ doku MDA miktarına etkisi.....	35
3.4.1 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının hemolenf GST aktivitesine etkisi.....	36
3.4.2 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının yağ doku GST aktivitesine etkisi.....	37
3.5.1 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının hemolenf lizozim miktarına etkisi.....	38
3.5.2 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının yağ doku lizozim miktarına etkisi.....	39
3.6.1 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının hemolenf ALT aktivitesine etkisi.....	40
3.6.2 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının yağ doku ALT aktivitesine etkisi.....	41
3.7.1 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının hemolenf AST aktivitesine etkisi.....	42
3.7.2 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının yağ doku AST aktivitesine etkisi.....	43
3.8.1 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının hemolenf AChE aktivitesine etkisi.....	44
3.8.2 Sodyum tetraboratın <i>G. mellonella</i> larvalarının yağ doku AChE aktivitesine etkisi.....	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

No:

Sayfa

3.1 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının yaşama ve gelişmesine etkisi.....32

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Tarımsal zarara sebep olan en önemli canlı grubu böceklerdir. Lepidoptera takımına ait türler bu grup içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. Böcekler tarımsal ürünlerin çeşitlilik, kalite, verim, depolama, pazarlama kalitesini düşürürken aynı zamanda çeşitli hastalıkların taşınmasında aracı olduklarından halk sağlığı açısından da tehdit oluşturmaktadır. Ürün verimini ve kalitesini artırmak için böcekler ile mücadelede bir dizi kimyasal, biyolojik, fiziksel ve diğer bazı yöntemler kullanılmaktadır (Charriere and Imdorf, 1997). Ucuz olması, kısa sürede sonuç alınması ve kolay uygulanabilirliği sebebiyle çeşitli insektisitlerin kullanıldığı kimyasal mücadele daha çok tercih edilmektedir. Son zamanlarda özellikle organoklorlu ve organofosforlu insektisitler çevreye amaçsız, sınırsız ve kontrolsüz olarak uygulanan toksik kimyasallardır. İnsektisit kullanımının vazgeçilmez yararlarına karşın denetimsiz ve aşırı miktarlarda uygulanması insan dahil hedef olmayan diğer canlılarda önemli zararlı etkilere ve ölümlere neden olmakta, ekosistemlerin bozulmasına, besin zincirlerinde aksamalara ve kirlenmelere yol açmaktadır. İnsektisitler biyolojik birikimle canlıların vücutlarında yoğunlaşabilir. Besin zincirinde hareket ederken her aşamada daha büyük bir orana ulaşmaktadır. Etkili kimyasal insektisitlerin yaygın olarak kullanılmasından kısa süre sonra insanlar ve yabanıl yaşamda hedef olmayan canlılara zararlı etkileri ortaya konmaya başlanmıştır. İnsektisitlerin çevreye verdiği zararların insan sağlığı açısından tehlikeli boyutlara varması üzerine pek çok ülke ve kuruluş soruna titizlikle eğilirken, ülkemizde de son zamanlarda konuya önem verilmeye başlanmıştır. İnsektisitler toksik ve öldürücü etkiye sahiptir, bu sebeple uygulamalarda doğal yaşam da göz ardı edilmemelidir. Zararlı böcekler ile mücadele yapılırken seçilen insektisitin hedef olmayan canlılara zararlı etkilerinin düşük olmasına dikkat edilmelidir.

Hedef olmayan canlılar için toksik olan bu kimyasal maddelere alternatif olarak çevre dostu kimyasal maddelerin kullanıldığı mücadele yöntemleri geliştirebilmek için birçok zararlı türün laboratuvar şartlarında yapay besin ortamları ile kitle halinde üretimleri yapılmaktadır (Al-Izzi et al., 1987; Bernardi et al., 2000; Keena et al., 1995; Lopez et al.,

1996). Lepidoptera takımına ait zararlı türlerin yapay besinler ile kültüre alınması ekoloji ve fizyolojilerinin yanında bunların farklı evrelerindeki bazı metabolik olaylarının moleküler düzeyde incelenmesine de olanak sağlar (Mandato et al., 1997; Pohlen and Badwin 2001; Büyükgüzel et al., 2002; Tunaz et al., 2003). Böylece geliştirilen yeni insektisitlerin arazi uygulamasından önce laboratuvar şartlarında böcek üzerindeki etkileri araştırılmış olur.

Galleria mellonella L. bu konudaki çalışmalar için oldukça iyi bir fizyolojik model oluşturmakla beraber laboratuvar şartlarında kolayca kültürlü yapılabilir. Pyralidae familyasına ait diğer türler ile birlikte *G. mellonella* larvaları ve pupaları parazitoid böceklerin laboratuvar şartlarında çoğaltılabilmesi için yalancı konak olarak kullanılmaktadır (Wiedenmann et al., 1992; Bernardi et al, 2000; Gupta et al., 1996a; 1996b; Büyükgüzel, 2001). Günümüzde bazı parazitoid türlerin tarımsal alanlarda önemli zararlara sebep olan lepidoptera takımına ait türlerin biyolojik mücadelesinde halen kullanılması (Chen and Welter, 2002) bu güvelerin laboratuvar şartlarında yapay ortamda yetiştirilmesi çalışmalarının önemini arttırmaktadır. Bu yüzden yüksek ergin verimine ve kısa hayat devrine sahip olması, doğal besin olarak koyu renkli kuluçka bal peteği ve çeşitli yapay besinler üzerinde iyi gelişmesi sebebiyle, mum güvesi *G. mellonella* konak-parazitoid etkileşimi, biyolojik ve kimyasal mücadele çalışmaları için önemli bir deneysel model oluşturmaktadır (Jarosz, 1989). Bu böceğin larvaları arı kovanındaki peteklere ve diğer ürünlere zarar verdiği için arıcılık sektöründe önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Charrière and Imdorf, 1997).

Doğrudan sinir sistemine etkili olan malatyon gibi organofosforlu bileşiklerin, 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 Geraldine, 2001; He et al., 2002). Diğer taraftan, bu insektisitlere karşı böceklerin direnç geliştirdiği bilinmektedir. Bu amaçla son çalışmalar hedef olmayan yararlı böcekler, insan ve diğer canlılara karşı toksitesi düşük ve doğrudan etkisi bulunmayan bor bileşiklerinin alternatif kimyasal mücadele yöntemlerinde kullanılması üzerine yoğunlaşmıştır.

Sodyum tetraborat elementel borun bir türevidir. Bor minerali oksijenle birlikte boraks halinde bulunur. Önemli bileşikleri borik asit ve borakstır (sodyum tetraborat). Suda kolay

eriyen bor türevleri kokusuz, uçucu olmayan, beyaz kristal granüller veya toz halindedir ve uzun süreden beri hamamböceği başta olmak üzere kapalı alanlardaki böceklerin mücadelesinde kullanılmaktadır (Ebeling, 1995). Böceğin metabolizması üzerinde bir mide zehiri gibi etkisini gösteren borik asit ve türevleri son zamanlarda inorganik insektisit olarak farklı sulu çözeltiler şeklinde kullanımdaki yerini almaya başlamıştır. Bu madde ön bağırsağa (foregut) ve orta bağırsağa (midgut) zarar verdiğinden besin alınmasını ve alınan besinin sindirilmesini önleyerek böceğin ölümüne sebep olmaktadır (Cochran, 1995).

Borik asit ve sodyum tetraboratın zararlılarla mücadelede kullanılmasının diğer nedeni kısırlaştırıcı etkisinden dolayı böceğin çoğalmasını önlemesidir (Zhou and le Patourel, 1990). Borik asit ve sodyum tetraborat 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 moleküllerden yeterli derecede yararlanılmasını önler (Xue and Barnard, 2003).

Borik asit zararlı böceklerle mücadelede öldürücü (biyosidal) ve uzaklaştırıcı (repellant), tropikal meyvelerde fungusit olarak uzun yıllardan beri kullanılmaktadır. Borik asit ve farklı türevlerini içeren insektisitlerin çoğu Perma-Dust PT240 (Borik asit), Dragon (% 99 ortofosforik asit ve % 1 borik asit), Timbor veya Bora care (Sodyum borat, disodium oktaborat tetrahidrat) gibi birçok ticari isimlerle satışa sunulmuş olup emulsifiye edilebilir, sulandırılabilir ve çözünebilir toz şeklinde ya da mikrokapsüllenmiş halde kullanıma hazır olarak temin edilebilir. Zararlıların mücadelesi ile ilgilenen uzmanlar bu insektisitleri ağaçları enfekte eden bazı kın kanatlı böcekler ile termitlerin kontrol edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sodyum tetraboratın zararlı böcekler ile mücadelede kullanılmasının önemi memelilere karşı oldukça düşük bir toksiteye sahip olmasından ileri gelmektedir (Weir and Fisher, 1972). Bu özelliği sayesinde sodyum tetraboratın Amerika'da Çevre Koruma Ajansı tarafından pestisid formülasyonlarında aktif madde olarak kullanılması kararlaştırılmıştır (Borax Europe Limited Guildford, UK). Bazı zararlı böceklerin mücadelesinde hedef olmayan diğer canlılara karşı düşük toksisiteye sahip, uçucu olmayan inorganik insektisit 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 *Anastrepha suspensa* (Loew)'nın ölüm oranını artırmış ve üremesini yavaşlatmıştır (Yang

et al., 2000). Aynı maddenin % 0,5'lik çözeltisi yumurta üretimi ve açılımını azaltmıştır. Sodyum tetraborata uzun süreli maruz kalan *A. suspensa* erginlerinin yumurta üretimi ve bu yumurtaların açılma oranı düşmüştür. Benzer sonuçlar bir böcek büyüme düzenleyicisi kiromazin (cyromazine) uygulanan diptera takımına ait çeşitli meyve zararlıları *Ceratitis capitata* (Wiedemann), *A. obliqua* (Macquart), *A. serpentina* (Wiedemann) ve *A. ludens* (Loew) ile elde edilmiştir (Budia and Vinuela, 1996; Diaz et al., 1996). Laboratuvar şartlarında yapılan çalışmalar borik asitin % 1'lik çözeltisinin % 10'luk sükröz çözeltisi ile karışımının bir sivrisinek türü, *Aedes albopictus* (Skuse) populasyonunu % 98 oranında azalttığını ortaya çıkarmıştır (Xue and Barnard, 2003). Türkiyede zararlılarla yapılan mücadele çalışmalarında halk arasında geleneksel olarak kullanılan borik asit ve türevlerinin inorganik insektisit olarak ticari formülasyonları tarım ve haşere ilaçları üreten firmalarda bulunmamakta olup profesyonel anlamda kullanılmamaktadır. Benzer bir çalışma Alman hamam böceği *Blattella germanica* L. üzerinde yüksek konsantrasyonlarda (0,1- 0,5 M) sükröz çözeltisi ile hazırlanmış % 1 ve 2'lik borik asit çözeltisi kullanılarak yapılmıştır. Yüksek şeker konsantrasyonunda borik asit besin almayı önleyici etki yaparak böcek üzerinde etkili olmuştur. Borik asitin % 1'lik çözeltisi 0,5 M sükröz ile karıştırıldığında ise *B. germanica* populasyonunu önemli derecede düşürmüştür (Gore and Schal, 2004; Gore et al., 2004). Sodyum tetraborat ve diğer bor bileşiklerinin bir termit türü *Coptotermes formosanus* (Shiraki) (Grace, 1991), *B. germanica* (Bare, 1945; Cochran, 1995), bir karınca türü *Solenopsis invicta* (Buren) (Klotz et al., 1997), karasinek *Musca domestica* L. (Hogsette and Koehler, 1992; Mullens and Rodriguez, 1992), larvaları sıcak kanlı hayvanların dokularında parazit olarak yaşayan *Cochliomyia hominivorax* (Coquere) (Settepani et al., 1969) ve *M. autumnalis* (De Geer) (Lang and Treece, 1972) gibi böceklerin farklı gelişim evrelerinde öldürücü ve erginlerde ise kısırlaştırıcı etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Settepani et al. (1969) *C. hominivorax* erkek ve dişi bireylerin 5 gün süreyle % 1 oranında sodyum tetraborat içeren besin ile beslenilmesinin erginlerin % 87'sini öldürdüğünü ve dişilerin yumurta üretimini tamamen önlediğini göstermiştir. Borkovec et al., (1969) % 1'lik sodyum tetraborat ile beslenen yeni erginleşen karasinek *M. domestica*'nın yumurta açılımını ve açılan larvaların pup olma oranını önemli derecede etkilemediğini göstermiştir. Ancak, sodyum tetraborat konsantrasyonu % 2,5 ve 5'e çıkarıldığında yumurtaların açılması tamamen önlenmiştir. Nigg and Simpson (1997) sodyum tetraborat ile beslenen *A. suspensa* erginlerinde yumurta üretiminin 7 gün geciktiğini göstermiştir. Bu çalışmalarda bor türevi maddelerin böceğin yaşama, gelişme ve üremesi üzerine gösterdiği etkilerin mekanizması tam olarak belirlenememiştir. Ancak,

en azından borik asitin böceklerde kütikül tabakasının su kaybını önleyici özelliğini azaltması (Ebeling, 1975) ile ön bağırsak (Cochran, 1995) ve orta bağırsak (Habes et al., 2006) epitelinin yapısını bozmak suretiyle besin maddelerinin emilimini önleyerek ölüme sebebiyet verdiği yönünde bilgiler bulunmaktadır. Habes et al. (2006) *B. germanica* erginlerinin orta bağırsak epitel dokusundaki yapısal bozulmaya borik asit tarafından oluşturulan oksidatif hasarın sebep olduğunu öne sürmüştür. Aynı zamanda bu araştırmacılar borik asit ile beslenen böceğin orta bağırsak dokusunda oksidatif strese bağlı olarak glutasyon *S*-transferaz (GST) aktivitesinin önemli derecede yükseldiğini, asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesinin azaldığını ve ölüm oranının arttığını göstermiştir.

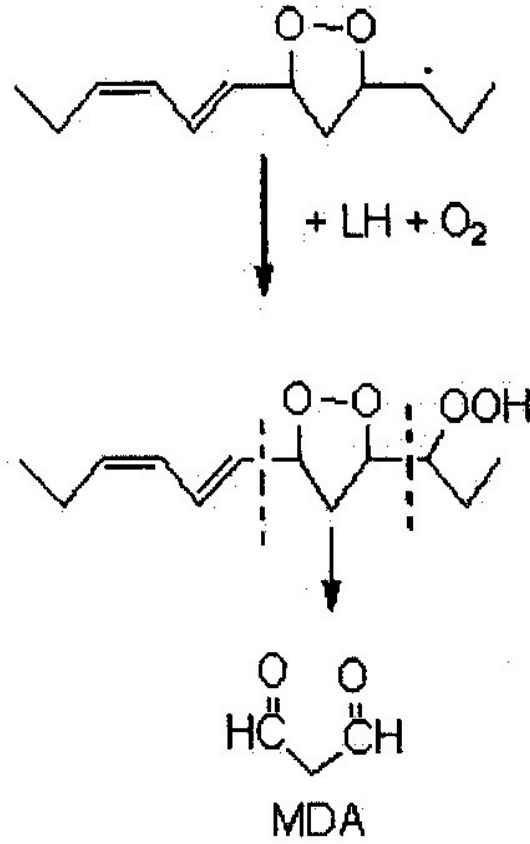
Bazı çalışmalarda çeşitli çevresel stres faktörlerine maruz kalan birkaç böcek türünün ömür uzunluğundaki artışın, lipid peroksidasyonu seviyesinin düşmesi (Setsini et al., 1991) ve antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyonla bağımlı antioksidan enzimlerin aktivitelerinin yükselmesi (Sohal et al., 1995; Bains et al., 1998; Sun et al., 2002) ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Uzun süre fenitrotiyona maruz bırakılan lepidoptera takımına ait *Spodoptera exigua* (Hübner)'nin erginlerinde artan SOD aktivitesi ile birlikte yaşama oranının ve ömür uzunluğunun arttığı gözlenmiştir (Adamski et al., 2003). Büyükgüzel et al. (2006) organofosforlu insektisitlerin öldürücü olmayan dozlarına karşı bir adaptasyon tepkisi olarak *Pimpla turionellae* L. erginlerinde SOD aktivitesinin ve ömür uzunluğunun arttığını göstermiştir. Kimyasal mücadelede kullanılan yeni insektisitlerin böcekler üzerindeki etkilerinin tespit edilmesinde yaşama, gelişme, ömür uzunluğu, yumurta verimi gibi biyolojik etkinlik parametrelerinin yanında biyokimyasal ve fizyolojik tepki mekanizmalarının da iyi bilinmesi gerekmektedir.

Canlıların insektisitlerin de dahil olduğu çeşitli kimyasal maddeler ve bazı çevresel stres faktörlerine maruz kalmaları, reaktif oksijen türevlerinin (ROT) oluşumuna ve dolayısıyla metabolik olayların bozulmasına neden olur (Felton and Summers, 1995). ROT'lar, sahip oldukları paylaşılmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif atom veya moleküllerdir. Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türevleri (ROT), süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($HO^\bullet$), nitrik oksit ($NO^\bullet$), peroksit radikali ($ROO^\bullet$) gibi serbest radikaller ile radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) oksidatif stresin en önemli nedenlerinden birisidir. Her ne kadar serbest radikal reaksiyonları, omurgalılarda bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil ve makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizmaları için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi hücre hasarı ve ölümü ile sonuçlanmaktadır. Aerobik yaşamın

normal bir aşaması olan oksidatif reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkan ROT'lar DNA, proteinler, karbonhidratlar ve lipidler gibi makromoleküler hücresel yapılara kovalent bağlanarak yapısal hasar meydana getirir. Bu reaktif türevler hücre zarının doymamış yağ asitlerine (lipid peroksidasyonu) ve protein bileşimine (protein oksidasyonu) zarar vermektedir (Halliwell, 1994; Heinle and Betz, 1994). Serbest radikaller zar ile etkileştiğinde zar ile fonksiyonel olarak etkileşim halinde olan enzimler, hormonlar ve nörotransmitterler olumsuz yönde etkilenmektedir.

Lipid peroksidasyonu, zarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından lipid peroksitler, alkoller, aldehidler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur (Felton and Summers, 1995). Lipid hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffuze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin (Linoleik, linolenik ve araşidonik asitler) peroksidasyonunda tiyobarbitürik asit ile ölçülebilen malondialdehid (MDA)'ın yanında 4-hidroksi-2 nonenol (4-HNE) meydana gelir (Bokov et al., 2004). MDA yağ asidi oksidasyonunun kantitatif bir indikatörüdür ve lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi uyum gösterir. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü olan bir aldehid (Şekil 1.1) olup oksidatif stresin derecesi ile orantılı olarak miktarı artmaktadır (Suwalsky et al., 2001). Oluşan MDA, hücre zarlarındaki iyon alış-verişine etki ederek zardaki bileşiklerin çapraz bağlanması, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişmesi gibi olumsuz sonuçlara neden olur.

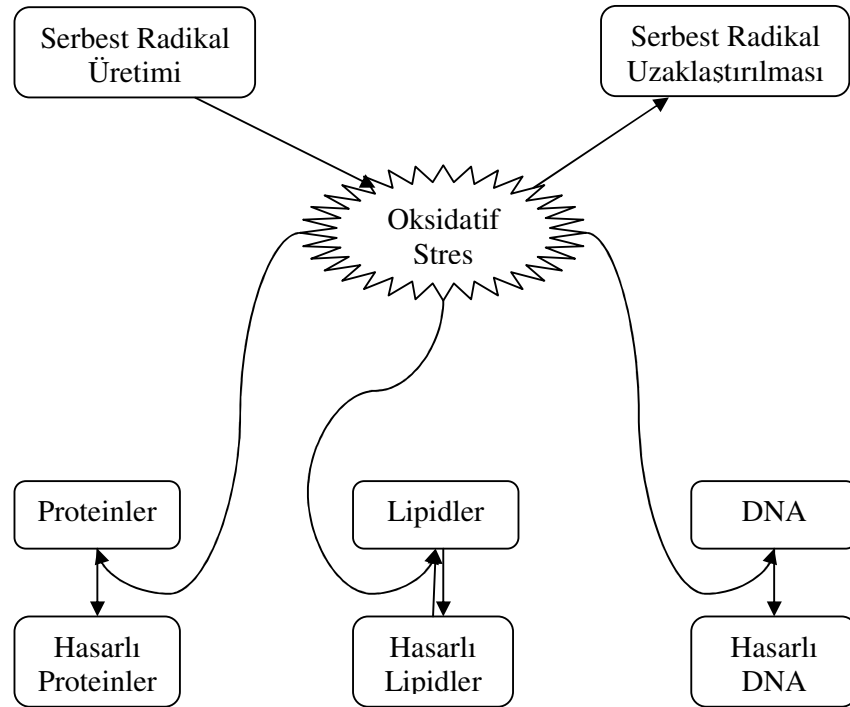
Canlıların tümünde antioksidan savunma sistemi, kimyasal maddelerin sebep olduğu endojen (metabolik) veya eksojen (besinsel) kaynaklı ROT'ların ortadan kaldırılmasından veya etkisiz hale getirilmesinden sorumludur (Halliwell and Gutteridge, 1999). Çevresel stres faktörleri canlı türlerinde biyolojik değişikliklere neden olabilir. Bu canlılar detoksifikasyon kapasitesilerine bağlı olarak bu faktörlerin zararlı etkisinden korunma yeteneğine sahiptir (Vasseur and Leguille, 2004). Patofizyolojik durumlarda üretilen ROT'lar antioksidan sistem ile uzaklaştırılır. Hücrelerde ROT'ların yapmış olduğu hasarı önleyen enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemleri vardır. Enzimatik olmayan savunma sistemlerinin başlıca elemanları glutatyon, vitamin E (α -tokoferol), vitamin C (askorbik asit), melatonin, karoten ve diğer maddelerdir (Hermes-Lima et al., 1998).



Şekil 1.1 Lipid peroksidasyonu ürünü MDA'nın oluşumu.

Enzimatik savunma sistemi ise SOD, CAT, glutatyon peroksidaz (GPx) üçlü enzim sistemi (Ahmad, 1995) ile glutatyon redüktaz (GR), GST (Yu, 2004) ve son zamanlarda önemi anlaşılan askorbat peroksidaz (APOX) enzimleridir. SOD enzimi, süperoksiti hidrojen peroksit ve moleküler oksijene parçalar. CAT ise oluşan hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene dönüştürür. Bu enzimlerin görevi hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır (Parker et al., 2004). GPx omurgalılarda oksidan strese karşı en etkili antioksidan olup hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerin indirgenmesini (redüksiyon) katalizleyen, dört alt birimden oluşan (tetramer) ve 4 selenyum atomu içeren sitozolik bir enzimdir (Manduzio et al., 2005). GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit düzeylerinin yükselmesine ve hücre hasarına yol açmaktadır (Schaeffer and Stainer, 1978; Ursini et al., 1982). GR ise oksitlenmiş glutatyonda (GSSG) oluşan disülfid bağının tekrar sülfidril yapısına indirgenerek daha sonraki konjugasyon reaksiyonları için hücreye indirgemiş glutatyon (GSH) sağlar.

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum “oksidatif denge” olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (Şekil 1.2). Oksijenli solunum yapan bütün organizmalarda kullanılan oksijenin çoğu sitokrom oksidaz tarafından mitokondride tam olarak indirgenerek su molekülü oluşturulduğu halde hücrelerde çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucu ROT’lar oluşmaktadır. Canlılar aynı zamanda doğrudan besinler ile bu reaktif oksijen radikalleri ve diğer serbest radikalleri almaktadırlar.



Şekil 1.2 Oksidatif stres ve hücre hasarı.

GST ksenobiyotiklerin biotransformasyonunda önemli rol oynayan faz II enzim sisteminin önemli bir enzimidir (Sivori et al., 1997; Sheehan et al., 2000). Başta araşidonik asit ve linolenik asitin (C18: $\Delta^{9,12,15}$) peroksidasyonu sonucu oluşan hidroperoksidler olmak üzere lipid peroksidlerine karşı selenyumdan bağımsız GPx aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluşturur. Hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak ilaç, herbisit ve insektisit gibi yabancı maddeleri glutatyon (GSH; γ -glutamil-sistenil-glisin)'daki sisteine ait -SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlarlar (O'Brien and Tew, 1996). Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar. GSH'dan glutamat ve glisin koparılmasından sonra sistenin serbest amino grubu asetillenerek merkaptirik asidlere dönüştürülür. Ksenobiyotiklerin omurgalılarıdaki klasik atılım ürünleri olan bu merkaptirik asitler daha sonra safra ile atılırlar. Metabolize edilmeyen lipofilik-hidrofilik pek çok bileşiği bağlamaları ise bu enzimlerin hücre içinde sınırlı çözünürlüğe sahip moleküller için depo ve taşıma rolü üstlendiğini gösterir.

Bu enzim üç alt birimden oluşan zara bağlı mikrozomal enzim ve iki alt birimden oluşan dimerik sitoplazmik enzim olarak iki gruba ayrılır. Böceklerde sitoplazmik GST'lerin büyük bölümü zeta, teta ve omega sınıfına dahildir (Ranson et al., 2000). GST'nin böceklerin insektisitlere karşı direnç geliştirmelerinde önemli bir rolü vardır (Syvanen et al., 1996; Wei et al., 2001; Hamimy et al., 2004). GST'ler böceklerde insektisitlerden korunmada rol alan detoksifikasyon enzimlerinin büyük bir ailesidir (Yu, 2004). Yüksek GST aktivitesi, insektisitlerin şiddetli toksitesinin izlendiği çoğu böcekte saptanmıştır (Punzo, 1993; Vontas et al., 2001). GST ve GSH, reaktif türlerin konjugasyonu ve lipid peroksidasyon ürünlerinin detoksifikasyonu ile oksidatif zararın önlenmesinde önemli bir rol oynarlar (Singh et al., 2001). *M. domestica*'da organofosforlu insektisitlere dirençli mutantların yüksek GST aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Zhou and Syvanen, 1997). GST, böceklerde insektisitlerin (Yu, 1996) ve konak bitkilerden salınan allelokimyasalların (Yu, 1993; Wadleigh, 1988) metabolik detoksifikasyonunda, ROT'ların toksik etkilerinden böcekleri korumada (Clark et al., 1985; Ahmad and Pardini, 1990; Parkes et al., 1993; Zaman et al., 1994; Vontas et al., 2001), aynı zamanda prostaglandin ve bazı hormonların biyosentezinde (Kanaoka et al., 2000) ve hücre içi iyon kanallarının düzenlenmesinde (Dulhunty et al., 2001) önemli role sahiptir. GSH, sahip olduğu sülfhidril grubu ile oksidatif hasar ve toksik maddelere karşı hücreleri koruyan bol miktarda tiyol ihtiva eden,

düşük moleküler ağırlıklı bir maddedir. Böceklerde GPx'in selenyumdan bağımsız tipi bulunmaktadır. Daha önceki çalışmalarda lepidopter böceklerin çoğunun hidrojen peroksiti uzaklaştırmak için önemli sayılabilecek derece GPx aktivitesine sahip olmadığını belirtilmiştir (Ahmad and Pardini, 1990). Son çalışmalar *Trichoplusia ni* (Hübner), *Spodoptera eridania* (Stoll), *Papilio polyxenes* (Fabricius) gibi lepidopter türlerde GPx aktivitesinin düşük de olsa bulunduğunu göstermiştir (Ahmad et al., 2005). Bu böceklerde düşük olan GPx aktivitesinin GST'nin peroksidaz aktivitesi tarafından desteklenmekte olduğu (Ahmad et al., 1989; Perić-Mataruga et al., 1997; Krishnan and Sehna, 2006) ve katalaz aktivitesinin de yüksek olduğu bulunmuştur. Katalaz enzimi sitoplazmada ve peroksizomlarda bulunmakta olup H₂O₂'yi oksijen ve suya parçalamaktadır (Wang et al., 2002). Böceklerin sahip oldukları GST lipid peroksitleri metabolize edebilir fakat H₂O₂'ye karşı reaktif değildir (Ahmad et al., 1991; Ahmad, 1992; Kono and Shishido, 1992). Böceklerde katalaz düşük konsantrasyonlarda iken H₂O₂'yi redükte etmekte başarısızdır (Ahmad et al., 1991; Felton and Duffey, 1991; Ahmad, 1992). Bu nedenle böcekler peroksitleri güvenli bir düzeyde tutmak için farklı mekanizmalara sahiptir. Askorbat peroksidaz (APOX) böceklerde bulunan diğer bir doğal antioksidan enzimdir. *Helicoverpa zea* (Boddie) larvalarında bu enzim askorbatın oksidasyonu ile eşzamanlı olarak H₂O₂'yi enzimatik olmayan yollardan redükte etmektedir (Mathews et al., 1997). Böceklerde reaktif oksijen türevlerine karşı enzimatik antioksidan savunma sistemleri tiyoredoksin redüktaz (TrxR) ve glutatyon redüktaz (GR) enzimlerini de içermektedir. Tiyoredoksin ve glutatyon peroksidaz (TPx ve GPx) substrat olarak glutatyonu kullanır. Fonksiyonel bir GR'den yoksun olan meyve sineği *Drosophila melanogaster* (Meigen) glutatyonu indirgeme olayında tiyoredoksin sistemini kullanılır (Missirlis et al., 2003).

Böcekler antioksidan savunma sistemi dışında antibakteriyel proteinlerin rol oynadığı bir humoral savunma sistemine sahiptir. Lizozimin böcek bağışıklık sistemindeki rolü tam olarak bilinmemesine rağmen fagosite edilmeden önce bakteri, virus ve parazitlerin hücre duvarını parçalaması yanında spesifik olmayan bir humoral savunma molekülü olarak sentezi uyarılır (Jarosz and Spiewak, 1979). Lepidoptera takımına ait türlerden *Bombyx mori* L., *G. mellonella* ve *Spodoptera littoralis* (Boisduval) ile yapılan çalışmalar bu üç türden izole edilen lizozimlerin c-tipi (tavuk yumurta lizozimi) lizozimlere ait olduğunu göstermiştir (Jolles et al., 1979). Bazı çözünür maddelerin enjekte edildiği *G. mellonella* larvaları ve pupalarında lizozim aktivitesi yüksek bulunmuştur. Puplara göre bu maddelere karşı larvalarda daha fazla lizozim salgılanmıştır. *M. domestica*'da lizozimin fizyolojik

pH'da *Micrococcus luteus* (Schroeter)'a karşı aktivite göstermediği kitine karşı aktivite gösterdiği görülmüştür. Bu enzim savunma amaçlı sentezlenen protein olmaktan çok böceğin orta bağırsağında bir sindirim enzimi gibi iş görmüştür (Ito et al., 1995). Bu özellik bazı memeli hayvanların midesindeki sindirim işlevinden sorumlu lizozim ile benzerlik göstermiştir (Fujita, 2004). Omurgalılarda da idrar ve serebrospinal sıvı hariç olmak üzere, tükürük, süt, ter, gözyaşı gibi salgılarda bulunan glikoprotein yapısında olan lizozim, mikroorganizmalarda bulunan peptidoglikan tabakasını ayrıştırarak bunları tahrip eder. Lizozim bilinen en genel antibakteriyel proteindir. Bakteri hücre duvarının peptidoglikan tabakasında bulunan N-asetilglukozamin (NAG) ve N-asetilmuramik asit (NAM) arasındaki β -1,4-glikozidik bağıyı hidrolize eden bir enzimdir. Fizyokimyasal ve moleküler yapısı göz önüne alındığında lizozim altı gruba ayrılmaktadır. Omurgasızlarda genel olarak i-tipi lizozimler bulunur. Lepidoptera, Ortoptera ve Diptera takımlarına ait çeşitli türlerde yaygın olmak üzere böceklerde c-tipi lizozimler (tavuk yumurta lizozimi) bulunmaktadır (Hultmark, 1996). Böceklerin sindirim kanalında besinle alınan bakterileri sindirmede ve vücut boşluklarına giren patojenlere karşı savunma amaçlı olarak lizozimin iki yönlü rolü vardır. (Ursic bedoya et al., 2005) *M. domestica*, *D. melanogaster* gibi türlerin sindirim sistemlerinde bulunan veya dışarıdan alınan bakterilerin sindirimi lizozim tarafından gerçekleştirilmektedir (Daffre et al., 1994; Lemos and Terra, 1991; Regel et al., 1998). Böceklerde lizozimin antimikrobiyal savunma ile ilişkisi uzun yıllardır bilinmektedir (Malke, 1965; Mohrig and Messner, 1968). Lizozim epidermal kitin tabakasında dış ortamdan bulaşabilecek mikrobiyal enfeksiyonlara karşı böceği korumaktadır (Lee and Brey, 1995). *B. mori*, *H. virescens* (Fabricius) ve *M. sexta* L. gibi çok sayıda Lepidoptera takımına ait türlerde lizozim üretiminin temel kaynağı yağ dokusudur. Bal arısı *Apis mellifera* L.'nın zehir salgısındaki litik aktivitenin lizozim ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Mohrig and Messner, 1968).

Oksidatif hasara karşı organizmalar antioksidan enzimler ile kendilerini savunurlar. Eğer antioksidan savunma sistemi yetersiz kalırsa oksidatif hasarın artması sonucunda hücresel yaşlanma, kanser oluşumu ve hücre ölümü gözükür. Transaminaz enzimlerinin aktiviteleri memelilerde organ fonksiyonlarını test etmek ve varsa fonksiyonel hasarları saptamak için özellikle yaygın olarak kullanılmaktadır (Rosenthal, 1997). Ancak bu testler son yıllarda özellikle çevre biyolojisi ve çevresel kirleticilerin canlılara etkileri ile ilgilenen araştırmacılar tarafından da kullanılmaya başlanmıştır. Genelde kimyasal maddeler ve biyolojik ajanlar doku hasarlarına yol açarak hücresel enzimlerin salınımına ve bunun

sonucunda da serum enzim konsantrasyonlarında artışa neden olurlar. Her iki enzim de hasarlı hücrelerden hücre zarındaki geçirgenliğin artışına veya hücre nekrozuna bağlı olarak salınım gösterir. İlerleyen doku ve hücre hasarının en önemli biyobelirteçleri aminotransferaz enzimlerinden alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) aktifliğindeki değişimdir (Sidlova et al., 2003). ALT ve AST enzimleri karbohidrat ve aminoasit metabolizmasıyla ilgili olup bir molekülden bir diğerine amino gruplarını aktararak hücre içindeki kimyasal reaksiyonları katalizlemektedirler (Zubay, 1993). Bazı omurgalı canlılarda da ALT, AST enzimleri çeşitli kimyasal etkenlere karşı oluşan doku hasarının önemli biyobelirteçleri olarak kullanılmaktadır (Blain, 1990, Oruç and Ünner, 2000; Göze et al., 2001). Böceklerde enzimler ile ilgili yapılan çalışmalar çoğunlukla insektisitlere karşı biyokimyasal tepki olarak antioksidan enzimlerin aktivitelerinin değişimi üzerinedir (Miota et al., 1998). Çevre kirliliğine karşı böceklerde oluşan tepkide transaminaz enzimlerinin aktivitesi hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Pretroidler ve DDT gibi insektisitlere maruz kalan *Culex fatigans* (Wiedemann) türü sivrisinekte ALT ve AST aktivitelerinde önemli değişim ortaya çıkarılmıştır (Verma and Rahman, 1984). Tetrasiklin ile beslenen *Philosamia ricini* (Boisduval) larvalarında AST miktarı iki kat artmıştır (Eid et al., 1989). ALT, AST enzim aktiviteleri böceklerde organ fonksiyonlarını test etmek ve varsa fonksiyonel hasarları saptamak için yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Yağ doku, böceklerde azot metabolizmasının merkezi organıdır ve omurgalılarıdaki karaciğerin işlevine benzer bir işleve sahiptir. Yağ dokudaki yapısal ve işlevsel değişimler organizmadaki metabolik olayları etkilemektedir. Hücre zarının geçirgenliğinin değişmesi veya hücrelerin parçalanması sonucu yağ dokudaki enzimlerin hemolenfe salınması nedeni ile ALT, AST gibi hücresel enzimlerin hemolenfteki aktiviteleri artmaktadır.

Asetilkolinesteraz (AChE) enzimindeki kalitatif ve kantitatif değişimler böceklerin insektisitlere karşı hassasiyetini etkiler. Organofosforlu insektisitlere maruz kalan *D. melanogaster*'in merkezi sinir sisteminde fazla miktarda AChE sentezlendiği ve yabancıl türlere göre daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Bunun aksine daha düşük seviyede AChE içeren böceklerin ise insektisite karşı daha duyarlı olduğu bulunmuştur (Villatte et al., 2000). Merkezi sinir sisteminin dışında diğer dokularda AChE enziminin aşırı üretilmesi de böcekleri insektisitlere karşı korur. Böceklerde sitoplazmik AChE üretilerek hemolenfe gönderilir ve insektisite karşı direnç sağlanır. Diğer taraftan AChE enzimindeki yapısal değişimde insektisit dirençliliğini sağlar (Fournier et al., 1993). Böceklerle

m¼cadelede geleneksel bazı insektisitler yaygın kullanıma sahiptir. Bunların en ¼nemlileri organoklorlu ve organofosforlu insektisitler ile pretroidler ve karbamat grubu insektisitlerdir. İnektisitlerin kendilerine ¼zg¼ etki mekanizmaları bulunmasına rağmen başta organofosforlu insektisitler olmak ¼zere birçok insektisit sinir sistemini olumsuz y¼nde etkilemektedir. Gelişmiş canlılarda sinir sistemi en duyarlı sistemlerin başında gelir. Organofosforlu insektisitlerin en ¼nemli ¼zellięi, hedef enzim olan AChE enzimini inhibe etmeleridir. Organofosforlu insektisitler AChE enziminin doğal substratı olan asetilkolini taklit ederek enzimin aktif merkezine fosfat aracılığıyla bağlanır. AChE b¼ceklerdeki merkezi sinir sisteminin kolinerjik sinapslarında n¼rotransmitter madde olan asetilkolinin hidrolizini katalizleyen ve sinir impluslarının sonlanmasında anahtar rol¼ oynayan bir enzimdir (Wang et al., 2004). Asetilkolin, AChE enzimi tarafından kolin ve asetik asite d¼n¼şt¼r¼l¼r. Asetilkolin hidroliz olmasına rağmen, insektisitler enzim-substrat kompleksine bağlı halde kalır. AChE enziminin aktivitesinin d¼ş¼r¼lmesi sinapslarda asetilkolinin birikmesine sebep olarak merkezi sinir sisteminin s¼rekli uyarılması sonucu ¼l¼m meydana gelir (Chen et al., 2001). Habes et al. (2006) borik asitin hamam b¼ceęinde AChE enzimini inhibe ettiğini g¼stermesine rağmen, bor t¼revi inorganik insektisitlerin AChE enzimine etkileri detaylı bilinmemektedir. AChE enziminin bu insektisitlerin toksitesine karşı direnç sağlamada etkili olup olmadığı ise a¼ıklanmayı bekleyen bir konudur.

Şimdiye kadar sodyum tetraboratın ve t¼revlerinin *G. mellonella* ve diğer lepidopter b¼cekler ¼zerindeki kalitatif ve kantitatif etkileri belirtilmemiştir. Bu ¼alıřmada yapay besine ilave edilen farklı konsantrasyonlardaki sodyum tetraboratın *G. mellonella*'nın yumurtadan yeni ¼ıkmiř larvalarının ergin evreye kadar yaşaması, gelişmesi, erginlerin ¼m¼r uzunluğuna etkisi incelenmiştir. Ayrıca bu maddenin b¼ceęin 7. evre larvalarının hemolenf ve yağ dokusunda lipid peroksidasyonu seviyesini g¼steren malondialdehid (MDA) miktarı, antibakteriyel bir protein olan lizozim miktarı, detoksifikasyon enzimi GST, aminoasit ve karbohidrat metabolizmasında rol oynayan AST, ALT ve sinaptik iletimin normal işleyişinden sorumlu AChE enzimlerinin aktivitelerinde sebep olduğu değişimler incelenmiştir. B¼ylece sodyum tetraboratın b¼ceęin biyolojik etkinlik parametreleri ¼zerindeki etki mekanizmasının oksidatif stres ve doku hasarı ile birlikte sinaptik depresyonla ilişkisinin biyokimyasal ve fizyolojik temelleri ortaya konmaya ¼alıřılmıřtır.

BÖLÜM 2

MATERYAL VE METOT

2.1 BÖCEK KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI

Büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) kültürünün devamı yumurtadan yeni çıkmış larvaların yapay besinde aseptik olmayan şartlarda yetiştirilmesi ile sağlandı (Bronskill, 1961). Kültür 30 ± 2 °C ve % 65 ± 5 nisbi nemde ve gün boyu devamlı karanlıkta yürütüldü.

G. mellonella larvalarını laboratuvar şartlarında yetiştirmek için Bronskill (1961) tarafından geliştirilen yapay besin kullanıldı. Hazırlanan besin bir litrelik cam kavanozların (80 x 180 mm) yaklaşık 1/3'ne kadar dolduruldu. Bu kavanozların içine 10-15 adet dişi bırakılarak tel kafesli kapak ile kapatıldı. Bu şekilde erginlerin besin üzerine yumurta bırakmaları sağlandı. Bu yumurtalardan çıkan larvalardan yaklaşık 25-30 gün sonra gelişimlerini tamamlayan 7. evre larvaları pup olmaları için diğer bir kavanoza aktarıldı. Bu kavanozun içine, larvaların pup olmaları için kuru ortam sağlamak üzere, katlanmış pelur kâğıt parçaları bırakıldı (Campos et al., 1990). Puplardan yaklaşık 7-8 gün sonra ergin bireyler meydana geldi. Bu erginlerin büyük bir çoğunluğu böcek kültürünün devamı, bazı erginler ise sodyum tetraborat ile ilgili beslenme çalışmaları için gerekli yumurtaların elde edilmesinde kullanıldı.

2.2 BESİNLERİN HAZIRLANMASI

Böcek kültürünün devamı için kullanılan besin sodyum tetraboratın böcek üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yürütülen beslenme deneylerinde kontrol besini olarak kullanıldı. Besin, 420 g kepek, 150 ml süzme bal, 150 ml gliserin (Merck, Darmstadt, Germany), 20 g öğütülmüş koyu renkli kuluçka peteği ve 30 ml saf sudan oluşmaktadır. Besinin bileşenlerinden gerekli miktarı geniş bir kap içerisinde karıştırıldı ve önce mekanik bir karıştırıcı ile homojen bir karışım oluşturuldu. Daha sonra el yardımı ile özenle ve uzun

süre karıştırılarak gliserinin diğer bileşenlerce emilmesi sağlandı. Bu karışım sıvı bileşenlerin katı bileşenler tarafından tam olarak emilebilmesi için 24 saat bekletildi.

2.3 SODYUM TETRABORATIN DENEYLERDE KULLANILMASI

Bu çalışmada denenen sodyum tetraborat dekahidrat (boraks, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü'nden temin edildi. Sodyum tetraboratın beslenme deneylerinde denenen konsantrasyonları g/100 g besin olarak ifade edildi. Sodyum tetraborat suda büyük oranda çözündüğü için bu miktarlar besinin hazırlanması sırasında doğrudan besine ilave edildi. Çalışmanın başlangıcında kontrol besini (sodyum tetraborat içermeyen) hariç sodyum tetraborat'ın 0,005, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5 g/100 g olmak üzere 5 farklı konsantrasyonu denendi. Yapılan ön denemeler sonucunda en yüksek konsantrasyon olan 0,5 g'da larvaların hiçbirisi yedinci evre ulaşamadığından bu çalışmada en yüksek konsantrasyon 0,3 g olarak belirlendi.

2.4 LARVALARIN ELDE EDİLMESİ

Beslenme deneylerinde kullanılacak larvalar, kapaklı, bir plastik kabın (ORLAB, 30 ml, L190030, 35 x 55 mm) iç yüzeyine *G. mellonella* dişileri tarafından bırakılan yumurtaların açılması ile elde edildi. Bunun için 2-3 dişi birey, delikli kapakları olan bu plastik kaplara konuldu ve yumurta bırakmak için stok kültürün devam ettirildiği ortam koşullarında bekletildi. Bırakılan yumurtalar yine aynı ortam şartlarında bekletilerek açılmaları sağlandı. Yumurtadan yeni çıkan larvaların kaçmasını önlemek için caydırıcı olarak kabın kapağına yakın iç yüzeyine yaklaşık 1 cm kadar genişlikte gliserin sürüldü. Yumurtaların açılması ile serbest kalan larvalar, yumuşak uçlu ve ucu gliserine batırılarak nemlendirilmiş fırça ile besinlere aktarıldı. Bu şekilde larvalar tarafından doğrudan besin ile alınan sodyum tetraboratın ergin evreye kadar yaşama, gelişime ve erginlerin ömür uzunluğuna etkisi incelendi.

2.5 YAŞAMA, GELİŞME VE ÖMÜR UZUNLUĞU

Sodyum tetraboratın *G. mellonella*'nın yaşama ve gelişimi üzerine etkilerini incelemek için yapılan deneyler sırasında besinin hazırlanması, yumurtaların elde edilmesi, bu yumurtalardan çıkan larvaların besine aşılması İçen et al., (2005)'nin yöntemine göre

yapıldı. Besinin hazırlanması, yumurtaların elde edilmesi, bu yumurtalardan çıkan larvaların besine aşılması işlemleri tamamen aseptik olmayan şartlarda yapıldı. Kontrol besini ve sodyum tetraboratın her bir konsantrasyonunu içeren besinlere başlangıçta 20'şer adet yumurtadan yeni çıkan larva aşılandı. Larvalar besine bırakıldıktan sonra gelişimlerini tamamlayan 7. evre olgun larvaları alınarak pup olmak üzere 15 ml'lik plastik örnek kaplarına (ORLAB, L190015, 35 x 33 mm) her kapta bir larva olacak şekilde bırakıldı. Larval olgunluğa (yedinci evre) kadar geçen süre (larval gelişme) ve yaşama oranı (larval yaşama) belirlendi. Bu kapların içerisine larvaların pup olması için ortam sağlamak üzere katlanmış, ince pelur kâğıt bırakıldı. Larvaların pup olma süreleri (pupal gelişme) ve pup olma oranı (pupal yaşama) ile bu puplardan erginleşen bireylerin ergin olma süreleri (ergin evreye gelişme) ve ergin olma oranı (ergin evrede yaşama) belirlendi.

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* üzerindeki etkisinin araştırıldığı deneylerin hepsinde larvaların aşılandığı 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 hariç beslenme deneylerinin tümü *G. mellonella* stok kültürünün yetiştirildiği şartlarda yürütüldü ve dörder defa tekrarlandı. Bir çok lepidopter türünün birinci evre larvalarında olduğu gibi *G. mellonella* larvalarının da besin ortamına konulduktan sonra ölüm oranının yüksek olduğu, ölen larvaların içlerinin boş olarak kuruduğu ve gözden kaybolduğu 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.

Sodyum tetraboratın ergin bireylerin yaşama süresine etkisini belirlemek için yapay besin ile beslenen larvalardan erginleşen bireyler kullanıldı. Bu amaçla yumurtadan yeni çıkmış *G. mellonella* larvaları sodyum tetraboratın farklı miktarlarını içeren yapay besin ile ergin evreye kadar beslendi. Kontrol grubu olarak sodyum tetraborat içermeyen besinler kullanıldı. Her bir deney için 10 adet ergin kullanıldı ve deneyler dört defa tekrarlandı. Erginleşen bireyler 30 ml'lik, geniş ağızlı, şeffaf, delikli kapaklı plastik kaplara (ORLAB, L190030, 35 x 55 mm) birer adet bırakıldı. Deney süresince bu erginlere herhangi bir besin verilmedi. Bu erginler 25 ± 2 °C de bırakıldı. Erginler, her gün belirli saatte kontrol edilerek yaşama süreleri belirlendi.

2.6 ENZİM EKSTRAKSİYONU VE AKTİVİTE TAYİNİ

2.6.1 Yağ Doku ve Hemolenf İzolasyonu

G. mellonella larvaları buz üzerinde 5 dakika bekletildikten sonra larvaların yüzeyi % 95'lik etil alkol ile steril edildi. Stereo mikroskop altında 7. evre larvalarından yağ doku (fat body) bir pens yardımıyla izole edildi içinde homojenizasyon tamponu (% 1,15'lik w/v KCL, 25 mM K₂HPO₄, 5 mM EDTA, 2 mM PMSF, 2 mM DDT, pH: 7,0) bulunan bir ependorf tüpüne konuldu. Fenol oksidaz aktifliğini önlemek için tüplere birkaç feniltiüre kristali konuldu. Olgun larvaların ön bacaklarının dip kısmından steril bir enjektör iğnesi ile delinmesi ile akıtılan hemolenf ise birkaç feniltiüre kristali içeren bir ependorf tüpe alındı.

Larvalardan alınan yağ doku ve hemolenf örnekleri analiz yapılincaya kadar derin dondurucuda (-86 °C) saklandı. Daha sonra örnekler +4 °C'de ultrasonik homojenizatörde (Bandelin Sonoplus HD2070, Berlin, Germany) (10 sn, 30 W) homojenize edildi. Enzim inaktivasyonunun önlenmesi için homojenizasyon dahil tüm işlevler buz ile sağlanan soğuk ortamda yapıldı. Homojenize edilen örnekler, +4 °C'de 16000 x g devirde soğutmalı santrifüjde 20 dakika santrifüj edildi. Çöküntü atılarak üst sıvılar enzim aktivitesinin ölçümünde kullanıldı.

2.6.2 Malondialdehid (MDA)

Jain and Levine (1995)'nın kullandığı metod temel alınarak 532 nm'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona giren lipid peroksidasyonun son ürünü malondialdehid (MDA) miktarı ölçüldü. Hemolenf ve yağ doku % 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 Na₂HPO₄), 0.04 M butillenmiş hidroksi toluen (BHT), % 30'luk triklorasetik asit (TCA) eklenerek, 2 saat buzun içerisinde bekletildikten sonra 4 °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 $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ kat sayısı kullanılarak nmol/mg protein olarak verildi.

2.6.3 Glutasyon S-transferaz (GST)

Habig et al. (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 glutasyon 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 glutasyon ile reaksiyona girerek tioether 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.

2.6.4 Alanin Aminotransferaz (ALT), Aspartat Aminotransferaz (AST) ve Asetilkolinesteraz (AChE)

Spektrofotometrede ALT (E.C.2.6.1.2, L-alanin 2-oksoglutarat aminotransferaz) için 340 nm, AST (E.C.2.6.1.1, L-aspartat 2-oksoglutarat aminotransferaz) için 405 nm, AChE (E.C.3.1.1.7, Asetilkolin asetilhidrolaz) için 405 nm dalga boylarında absorbanslar ölçülerek enzim aktiviteleri hesaplandı. ALT ve AST enzim aktivitelerinin tayininde Biomérieux teşhis kitleri [ALT, Kit No: 63313; AST, Kit No: 63213, Biomérieux diagnostik A.Ş., Marcy-l'Etoile, France], substrat olarak AST için L- aspartat ve 2-oksoglutarat, ALT için de L-alanine ve 2-oksoglutarat kullanıldı. AChE enzimi aktivitesi için Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, USA, Kit No: 420) kitleri kullanıldı. Bu üç enzimin aktivitelerinin belirlenmesinde otoanalizör (Hitachi, P 800, Tokyo, Japonya) kullanılmıştır.

Enzim tayinleri için elde edilen süpernatantlardan enzimlerin spesifik aktifliğini hesaplamak 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 Bovin serum albumini çözeltileri hazırlandı ve bir standart grafik oluşturuldu. Total protein miktarları bu standart grafiğe göre hesaplandı.

2.6.5 Lizozim

Lizozim miktarı in vitro koşullarda agarozda radyal dağılım esasına göre tespit edilmiştir (Hyršl and Marex, 1999). Bu yöntemde *Micrococcus luteus* (CCM 169) bakterisi kullanıldı. *Micrococcus luteus* bu enzime hassasiyeti en fazla olan mikroorganizmadır. (Powning and Davidson, 1973). 18 x 8,5 cm ebatlarındaki petri kapları içerisine bakteri ile önceden karıştırılmış ve kaynatılmış 20 ml agaroz çözeltisi 2 mm kalınlığında döküldü. Agaroz soğuyarak donduktan sonra üzerinde belirli çaplarda çukurluklar açıldı. Her bir deliğe 5 µl hemolenf ve yağ doku örnekleri konuldu. Kontrol çukurluklarına saf lizozim (E.C.3.2.1.17, Sigma)’den farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler konuldu. Petriler 24 saat oda sıcaklığında bekletildi. Deney sonucunda hemolenf ve yağ doku örneklerindeki lizozim miktarına bağlı olarak farklı büyüklüklerde zonlar oluştu. Örneklerle ait zon çapları ölçülerek standartlara ait zon çaplarıyla karşılaştırılarak örneklerde mevcut lizozim içeriği mg/ml olarak ifade edildi. Lizozim tayininde yağ dokunun homojenizasyonundan elde edilen supernatant kullanıldı ve enzim miktarı mg lizozim/ ml yağ doku süpernatantı olarak verildi.

2.7 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Denenen sodyum tetraboratın farklı konsantrasyonlarını içeren besinlerin böcek üzerindeki etkileri yaşama (7. evreye ulaşan larva oranı, pup ve ergin olma oranı), gelişim (7. evreye, pup ve ergin evreye ulaşmak için geçen, gün olarak, ortalama süre), ömür uzunluğu (ergin bireylerin gün olarak yaşama süresi) ile birlikte 7. evre larvalarının yağ doku ve hemolenfindeki MDA miktarları, GST, ALT, AST ve AChE aktiviteleri ve lizozim miktarındaki değişiklikler dikkate alınarak değerlendirildi. Böceğin gelişimi, ömür uzunluğu ile 7. evre larvalarının MDA miktarı, GST, ALT, AST ve AChE enzimlerinin aktiviteleri ve lizozim miktarı ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA), ortalamalar arasındaki farkın önemini saptamak için “LSD Testi” (SPSS, 1997), yaşama ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde ise “ χ^2 (Chi square) Testi” (Snedecor and Cochran, 1989) kullanıldı. Hemolenf ve yağ doku MDA miktarı ile enzim aktiviteleri arasındaki ilişkinin belirlenmesinde “Regresyon Analizi” (SPSS, 1997) kullanıldı. Sonuçlar 0.05 olasılık seviyesinde değerlendirildi.

BÖLÜM 3

ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1 SODYUM TETRABORATIN *G. MELLONELLA*'NİN YAŞAMA, GELİŞİMİNE ETKİSİ

Sodyum tetraboratın farklı konsantrasyonlarını içeren besinler ve bunların etkileri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Sodyum tetraboratın, besinin 100 g'ında, 0,2 g ve bunun üzerindeki miktarı böceğin yaşama oranını önemli derecede düşürmüş, gelişmesini geciktirmiştir. Sodyum tetraboratın 0,2 g'ı yalnızca yaşama oranını önemli derecede düşürürken gelişme süresi üzerine önemli bir etkisi olmamıştır. Bu maddenin denenen en yüksek konsantrasyonu (0,3 g) ise böceğin hem yaşama oranını hem de gelişme süresini olumsuz yönde etkilemiştir. Sodyum tetraborat içermeyen kontrol besininde birinci evre larvalarının % $62,5 \pm 15,5$ 'i 7. evreye, % $40,0 \pm 15,8$ 'i pup evresine ve % $32,5 \pm 11,9$ 'u ise ergin evreye ulaşmıştır. Bu maddenin düşük miktarları (0,005 ve 0,1 g) 7. evreye ulaşan larva oranını ve pup olma oranını düşürmesine rağmen istatistiksel olarak önemli bir etki ortaya çıkmamıştır. Benzer şekilde, bu konsantrasyonlar böceğin tüm evrelerine ulaşmak için gerekli süreyi uzatmalarına rağmen yapılan istatistiksel analizler gelişmedeki bu gecikmenin anlamlı olmadığını göstermiştir. Sodyum tetraboratın 0,1 g'ı ise ergin olma oranında istatistiksel olarak önemli olmayan bir artışa sebep olmuştur. Bu maddenin 0,2 g'ını içeren besin 7. evreye ulaşan larva oranını yaklaşık dörtte bir oranında önemli derecede düşürmüş olup kontrol besinindeki % $62,5 \pm 15,5$ olan yaşama oranını % $17,5 \pm 6,4$ 'e azaltmıştır. Bu miktar ergin olma oranını üçte bir oranında düşürmüş olup bu besinden % $11,2 \pm 3,5$ oranında ergin elde edilmiştir. Sodyum tetraboratın 0,3 g'ı 7. evreye ulaşan larva oranını % $17,5 \pm 2,9$ 'a istatistiksel olarak önemli derecede düşürmüş, 7. evreye ulaşma süresini ise ortalama 5 gün geciktirmiştir. Bu miktarı içeren besinlerden % 12,5 oranında pup ve ergin elde edilmiş ve bu evrelere ulaşmak için gerekli süre ise ortalama 5 gün uzamıştır.

Çizelge 3.1 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının yaşama ve gelişmesine etkisi

S. tetraborat miktarı (g/100 g besin)	7.evreye ulaşan larva oranı (%) (Ort* ± S.H) [†]	7.evreye ulaşma süresi (gün) (Ort* ± S.H) [†]	Pup olma oranı (%) (Ort* ± S.H) [†]	Pup olma süresi (gün) (Ort* ± S.H) [†]	Ergin olma oranı (%) (Ort* ± S.H) [†]	Ergin olma süresi (gün) (Ort* ± S.H) [†]
0,00 [§]	62,5 ± 15,5a	22,0 ± 2,90a	40,0 ± 15,8a	27,3 ± 1,60a	32,5 ± 11,9a	33,5 ± 1,80a
0,005	47,5 ± 17,0a	23,9 ± 1,10a	35,0 ± 14,7a	29,3 ± 3,00a	31,2 ± 10,3a	35,0 ± 3,40a
0,1	46,2 ± 17,5a,b	22,8 ± 1,00a	37,5 ± 13,2a	28,1 ± 1,40a	36,2 ± 14,9a	34,4 ± 2,00a
0,2	17,5 ± 6,4b	23,7 ± 3,6a	11,2 ± 7,50b	28,3 ± 2,30a	11,2 ± 3,5b	34,3 ± 2,90a
0,3	17,5 ± 2,9b	27,0 ± 2,3b	12,5 ± 2,50b	32,3 ± 1,50b	12,5 ± 2,3b	37,8 ± 2,20b

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

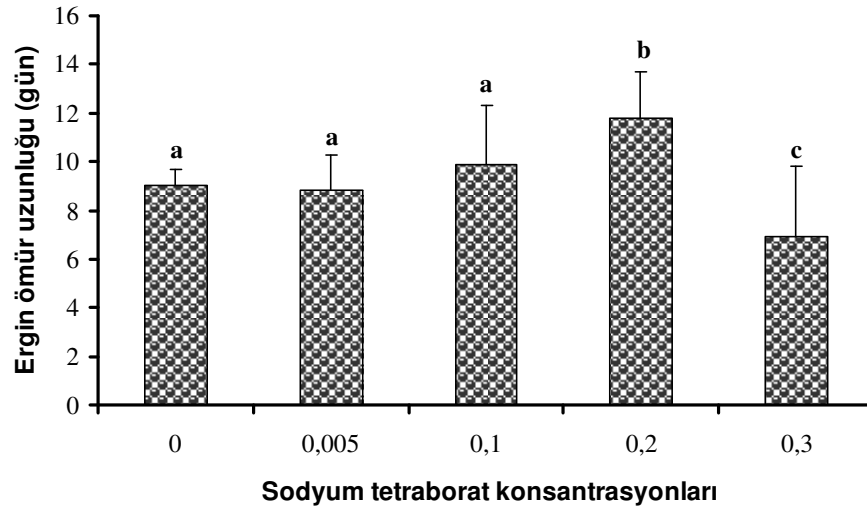
[†] Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P > 0,05

[§] Kontrol besini (Sodyum tetraborat içermeyen)

3.2 SODYUM TETRABORATIN *G. MELLONELLA*'NİN ÖMÜR UZUNLUĞUNA ETKİSİ

Sodyum tetraboratın farklı konsantrasyonlarını içeren besinler ve bunların etkileri Şekil 3.2’de verilmiştir.

Sodyum tetraboratın en düşük miktarı (0,005 g) *G. mellonella* erginlerinin ömür uzunluğu üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etki yapmamıştır ($P > 0,05$). Bu maddenin 0,1 g’ı ile yetiştirilen erginlerde ömür uzunluğu arttığı halde istatistiksel olarak önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Kontrol besini ile yetiştirilen erginlerin ömür uzunluğu ortalama $9,0 \pm 0,7$ gün iken sodyum tetraboratın 0,2 g’ını içeren besin ile yetiştirilen erginler kontrole göre 4,2 gün daha uzun ($13,2 \pm 1,9$ gün) yaşamış olup, istatistiksel olarak önemli bir fark ortaya çıkmıştır ($P < 0,05$). Sodyum tetraboratın denenen en yüksek konsantrasyonu (0,3 g), erginlerin ömür uzunluğunu kontrole göre önemli derecede kısaltmıştır. Sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonları ile karşılaştırıldığında denen en yüksek madde miktarı erginlerin ömür uzunluğunu önemli derecede kısaltmıştır. Bu erginler kontrole göre ortalama 2,1 gün daha az hayatta kalmışlardır. Denenen en yüksek sodyum tetraborat miktarı ergin ömür uzunluğunu 0,2 g’a göre ortalama 6,3 gün azaltmıştır.

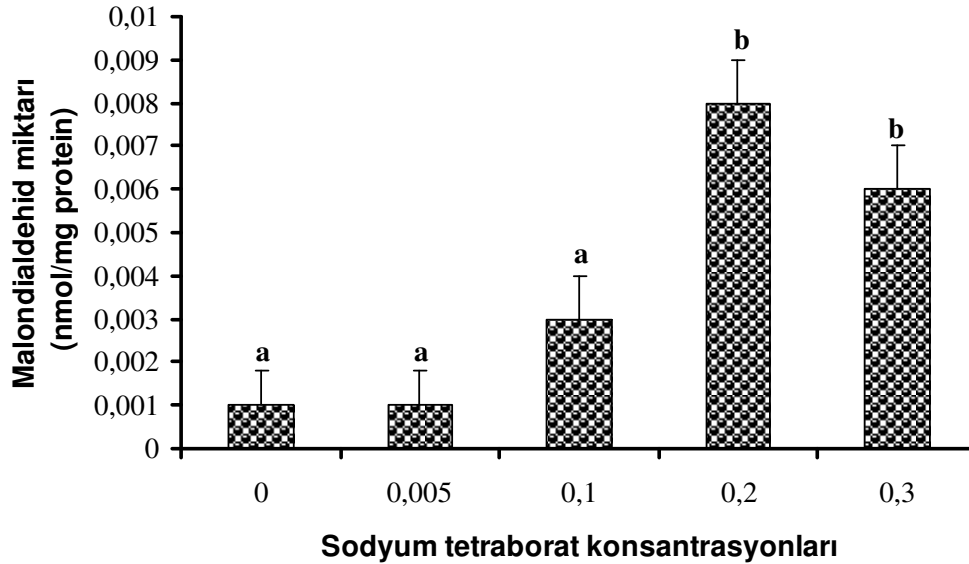


Şekil 3.2 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* erginlerinin ömür uzunluğuna etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

3.3 SODYUM TETRABORATIN *G. MELLONELLA* LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU MALONDİALDEHİD (MDA) MİKTARINA ETKİSİ

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının hemolenf MDA miktarına etkisi Şekil 3.3.1’de verilmiştir.

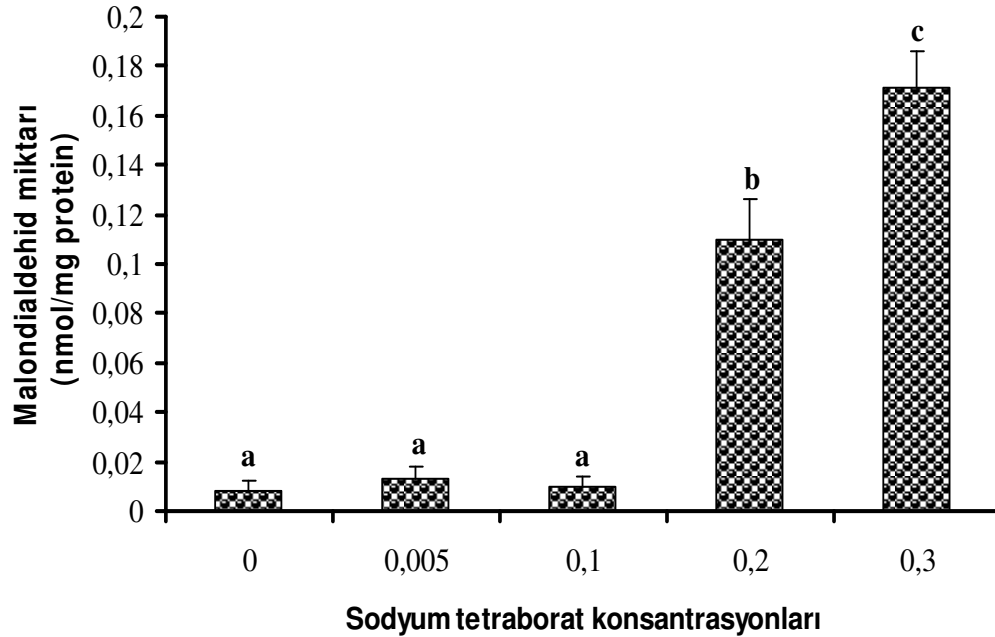
Kontrol besini ile karşılaştırıldığında sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonlarını içeren besinler larvaların hemolenf MDA miktarını önemli derecede etkilememiştir. Bu maddenin 0,1 g’ı kontrol larvalarındaki MDA miktarını $0,001 \pm 0,0008$ nmol/mg protein’den $0,003 \pm 0,001$ nmol/mg protein’e artırdığı halde bu artış istatistiksel olarak önemli değildir ($P > 0,05$). Bu maddenin 0,2 g’ı MDA miktarını kontrole göre istatistiksel olarak ($P < 0,05$) 8 kat artırmış olup 0,008 nmol/mg protein’e kadar yükseltmiştir. Sodyum tetraboratın besine ilave edilen en yüksek miktarı olan 0,3 g’ı MDA miktarını 0,006 nmol/mg protein’e istatistiksel olarak önemli derecede artırmıştır. Bu artış sodyum tetraboratın 0,2 g’ı ile karşılaştırıldığında daha düşük olup istatistiksel olarak önemli bir fark ortaya çıkmamıştır.



Şekil 3.3.1 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının hemolenf MDA miktarına etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının yağ doku MDA miktarına etkisi Şekil 3.3.2’de verilmiştir.

Son evre larvalarının yağ doku MDA miktarı besindeki artan sodyum tetraboratın konsantrasyonu ile orantılı olarak arttığı, yüksek konsantrasyonlarda ise kesin bir artışa sebep olduğu görülmüştür. Sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonlarını içeren besinler (0,005 ve 0,1 g) larvaların yağ doku MDA miktarını artırmış ancak kontrol besini ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış ortaya çıkmamıştır ($P > 0,05$). Bu maddenin 0,2 ve 0,3 g’ı kontrol larvalarındaki MDA miktarını $0,008 \pm 0,004$ nmol/mg protein’den sırasıyla $0,11 \pm 0,016$ ve $0,17 \pm 0,015$ nmol/mg protein’e istatistiksel olarak önemli derecede artırmıştır ($P < 0,05$). Sodyum tetraboratın en yüksek miktarı olan 0,3 g’ı yağ doku MDA miktarında kontrole göre yaklaşık 20 kat artışa neden olmuştur. Sodyum tetraboratın 0,2 g’ında ise yağ doku MDA miktarı yaklaşık 14 kat artmıştır.

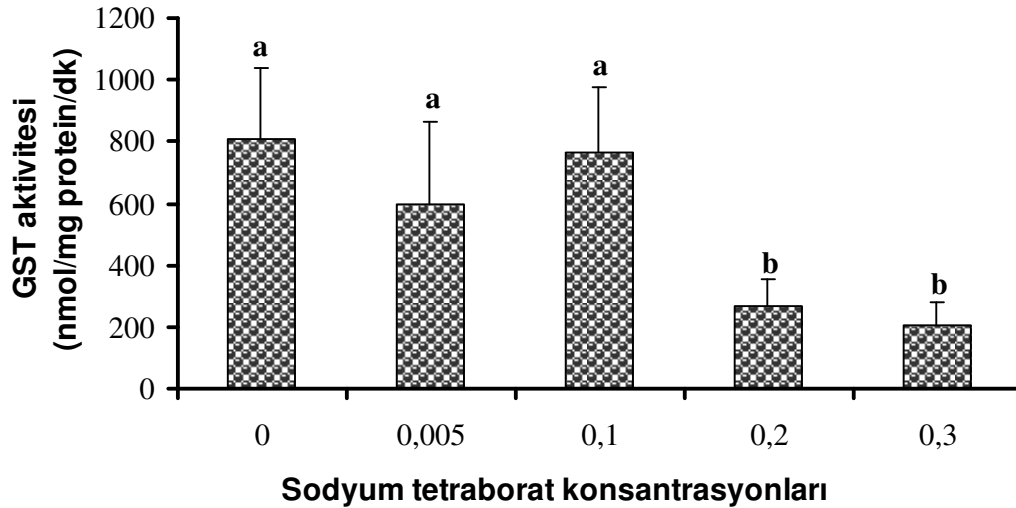


Şekil 3.3.2 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının yağ doku MDA miktarına etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

3.4 SODYUM TETRABORATIN *G. MELLONELLA* LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU GLUTATYON S-TRANSFERAZ (GST) ENZİM AKTİVİTESİNE ETKİSİ

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının hemolenf GST aktivitesine etkisi Şekil 3.4.1’de verilmiştir.

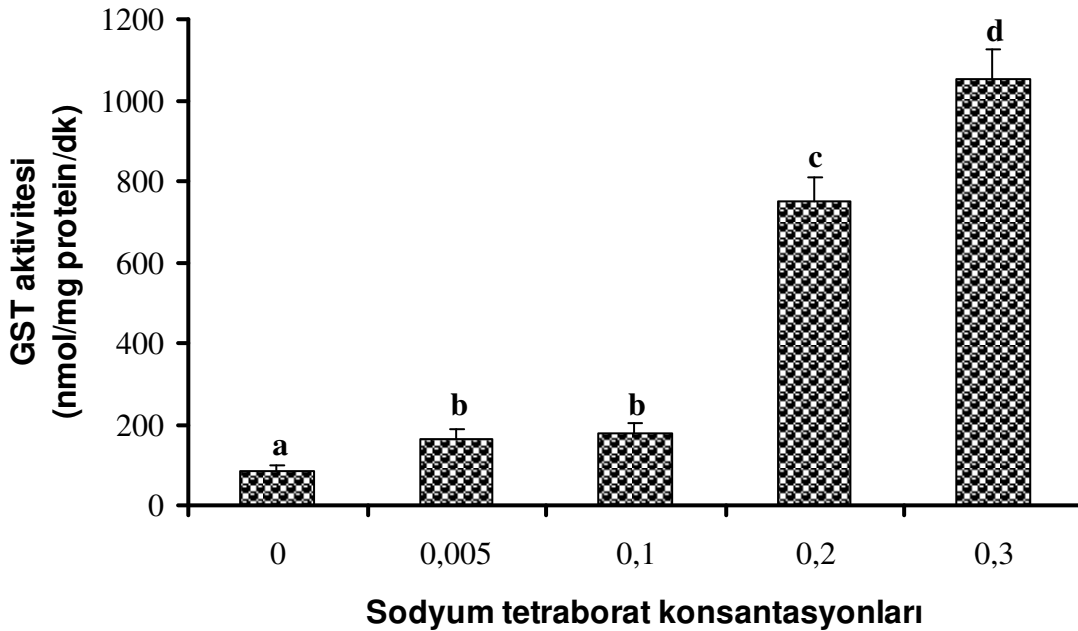
Kontrol besini ile karşılaştırıldığında, sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonları (0,005 ve 0,1 g) hemolenf GST aktivitesinde azalmaya neden olduğu halde istatistiksel olarak önemli bir fark ortaya çıkmamıştır ($P > 0,05$). Ancak yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonları (0,2 ve 0,3 g) GST aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir azalmaya sebep olmuştur ($P < 0,05$). Besine ilave edilen 0,2 g sodyum tetraborat, GST aktivitesini üçte bir oranında azaltarak kontrol besinindeki $808,24 \pm 232,45$ olan GST aktivitesini $268,53 \pm 85,79$ nmol/mg protein/dk’ya düşürmüştür. Besindeki en yüksek sodyum tetraborat miktarı (0,3 g) ise GST aktivitesinde yaklaşık dörtte bir oranında istatistiksel olarak önemli bir azalmaya sebep olarak $203,36 \pm 79,48$ nmol/mg protein/dk’ya düşürmüştür.



Şekil 3.4.1 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının hemolenf GST aktivitesine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının yağ doku GST aktivitesine etkisi Şekil 3.4.2’de verilmiştir.

Kontrol besini ile karşılaştırıldığında, sodyum tetraboratın denenen tüm konsantrasyonları yağ doku GST aktivitesini istatistiksel olarak önemli derecede artırmıştır. Bu maddenin düşük konsantrasyonları (0,005 ve 0,1 g) GST aktivisinde 2 kat artışa sebep olmuştur. Kontrol larvalarında $83,12 \pm 17,6$ nmol/mg protein/dk olan GST aktivitesi sodyum tetraboratın 0,1 g’ını içeren besindeki larvalarda $177,32 \pm 23,8$ nmol/mg protein/dk’ya ulaşmıştır. Sodyum tetraboratın 0,2 ve 0,3 g’ı yağ dokudaki GST aktivitesini kontrol besinine ve sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonlarına göre oldukça yükseltmiştir. Bu maddenin 0,2 g’ı kontrol larvalarında $83,12 \pm 17,6$ nmol/mg protein/dk olan GST aktivitesini yaklaşık 9 kat artırarak $750 \pm 57,9$ nmol/mg protein/dk’ya yükseltmiştir. Besindeki en yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonu (0,3 g) GST aktivitesini yaklaşık 12 kat artırarak $1050 \pm 73,8$ nmol/mg protein/dk’ya ulaştırmıştır.

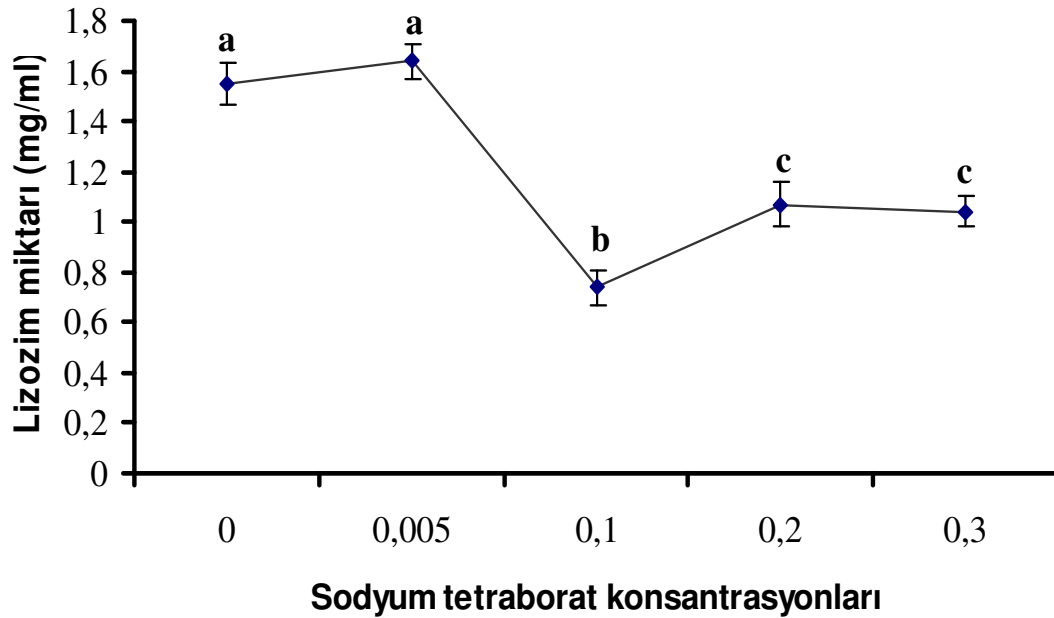


Şekil 3.4.2 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının yağ doku GST aktivitesine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

3.5 SODYUM TETRABORATIN *G. MELLONELLA* LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU LİZOZİM ENZİMİNİN MİKTARINA ETKİSİ

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının hemolenf lizozim enziminin miktarına etkisi Şekil 3.5.1’de verilmiştir.

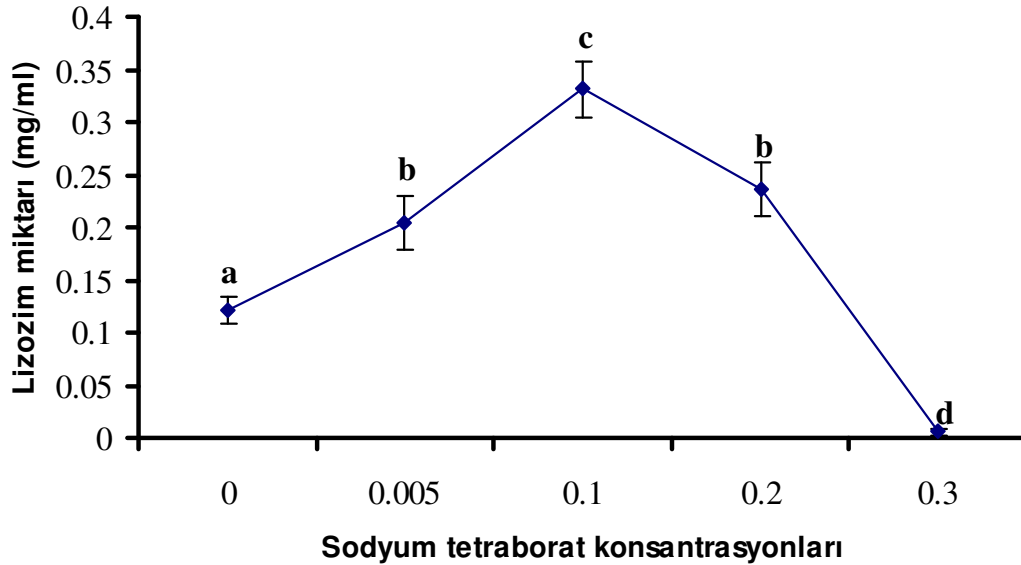
Kontrol besini ile karşılaştırıldığında, sodyum tetraboratın denenen en düşük konsantrasyonu (0,005 g) hemolenf lizozim miktarında istatistiksel bakımdan önemli olmayan bir artışa neden olmuştur ($P > 0,05$). Besindeki sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonları, bu enzimin miktarını önemli derecede düşürmüştür ($P < 0,05$). Bu maddenin 0,1 g’ı lizozim miktarını yaklaşık % 50 oranında azaltarak $1,55 \pm 0,08$ mg/ml’den $0,74 \pm 0,07$ mg/ml’ye düşürmüştür. Sodyum tetraboratın yüksek miktarları (0,2 ve 0,3 g) lizozim miktarını kontrol besinine göre önemli derecede azaltmış olup sırasıyla $1,07 \pm 0,09$ ve $1,04 \pm 0,06$ mg/ml’ye kadar düşürmüştür.



Şekil 3.5.1 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının hemolenf lizozim miktarına etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının yağ doku lizozim enziminin miktarına etkisi Şekil 3.5.2’de verilmiştir.

Kontrol besini ile karşılaştırıldığında, sodyum tetraboratın denenen en düşük konsantrasyonu (0,005 g) yağ doku lizozim miktarında istatistiksel bakımdan önemli bir artışa (yaklaşık 2 kat) neden olmuştur ($P < 0,05$). Benzer şekilde, besindeki sodyum tetraboratın 0,1 g’ı bu enzimin miktarını yaklaşık üç kat artırmıştır. Buna karşılık sodyum tetraboratın 0,2 g’ı sodyum tetraboratın 0,1 g’ı ile karşılaştırıldığında lizozim miktarını önemli derecede düşürmüştür. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonları (0,005, 0,1 ve 0,2 g) lizozim miktarında artışa sebep olurken sodyum tetraboratın denenen en yüksek konsantrasyonu lizozim miktarını önemli derecede düşürmüştür. Sodyum tetraboratın en yüksek miktarı kontrol larvalarının yağ dokudaki lizozim miktarını ($0,12 \pm 0,013$ mg/ml) yirmide bir oranında azaltarak $0,006 \pm 0,003$ mg/ml’ye kadar düşürmüştür.

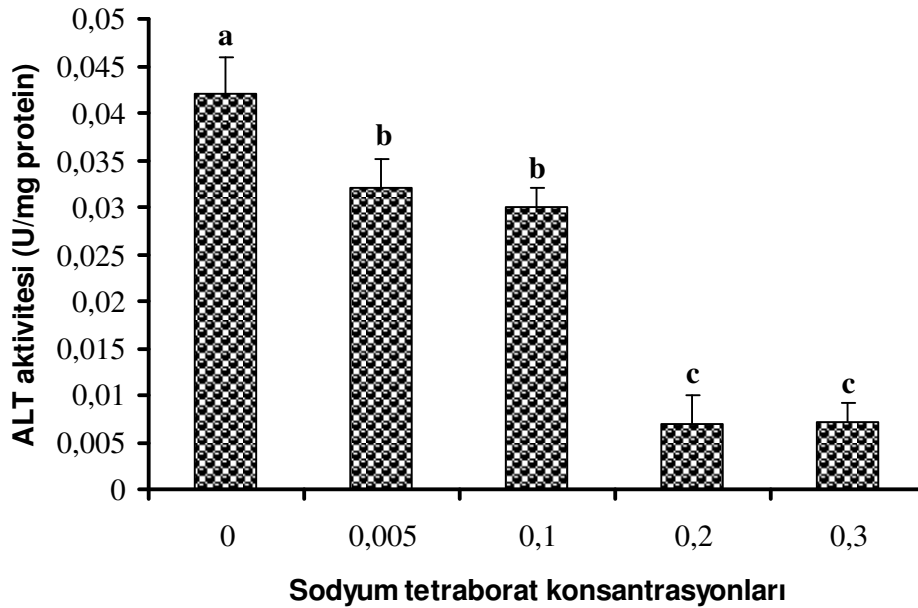


Şekil 3.5.2 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının yağ doku lizozim miktarına etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

3.6 SODYUM TETRABORATIN *G. MELLONELLA* LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU ALANİN AMİNOTRANSFERAZ (ALT) ENZİM AKTİVİTESİNE ETKİSİ

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının hemolenf ALT aktivitesine etkisi Şekil 3.6.1’de verilmiştir.

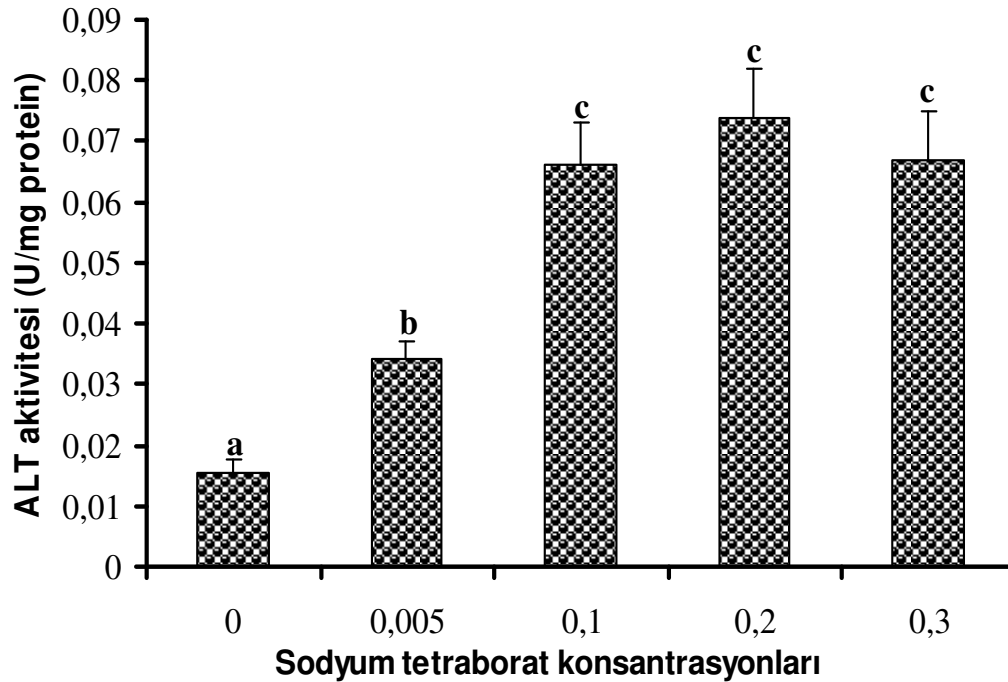
Kontrol besini ile karşılaştırıldığında, sodyum tetraboratın denenen tüm konsantrasyonları hemolenf ALT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli azalmaya neden olmuştur ($P < 0,05$). Artan sodyum tetraborat konsantrasyonu ile ters orantılı olarak ALT aktivitesinde düzenli azalma görülmüştür. Kontrol besini ile beslenen larvaların $0,042 \pm 0,004$ U/mg protein olan ALT aktivitesi, 0,005 ve 0,1 g sodyum tetraborat konsantrasyonları tarafından ortalama $0,032 \pm 0,003$ değerine düşürülmüştür. Enzim aktivitesi sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonlarında (0,2 ve 0,3 g) daha fazla düşerek, en yüksek sodyum tetraborat miktarında $0,007 \pm 0,002$ U/mg proteine ulaşmıştır.



Şekil 3.6.1 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının hemolenf ALT aktivitesine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının yağ doku ALT aktivitesine etkisi Şekil 3.6.2’de verilmiştir.

Sodyum tetraboratın denenen tüm konsantrasyonları yağ doku ALT aktivitesini kontrol besinine göre istatistiksel olarak önemli derecede artırmıştır ($P < 0,05$). Besine ilave edilen sodyum tetraborat konsantrasyonu arttıkça larvaların yağ doku ALT aktivitesi de doğru orantılı olarak artmıştır. Kontrol besini ile beslenen larvaların $0,015 \pm 0,001$ U/mg protein olan ALT aktivitesi, 0,005 g sodyum tetraborat konsantrasyonu tarafından ortalama $0,034 \pm 0,003$ değerine yükseltilmiştir. Enzim aktivitesi sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonlarında (0,1, 0,2 ve 0,3 g) yaklaşık 5 kat artış göstermiştir. Besine ilave edilen sodyum tetraboratın 0,2 g’ı ALT aktivitesini $0,074 \pm 0,008$ U/mg protein değerine ulaştırmıştır.

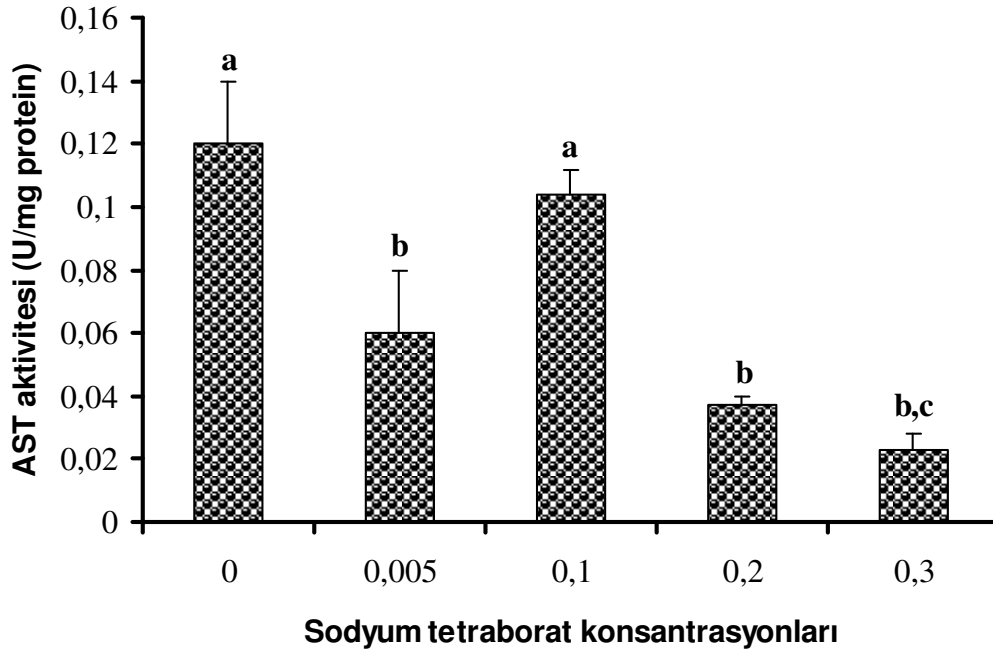


Şekil 3.6.2 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının yağ doku ALT aktivitesine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

3.7 SODYUM TETRABORATIN *G. MELLONELLA* LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU ASPARTAT AMİNOTRANSFERAZ (AST) ENZİM AKTİVİTESİNE ETKİSİ

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının hemolenf AST aktivitesine etkisi Şekil 3.7.1’de verilmiştir.

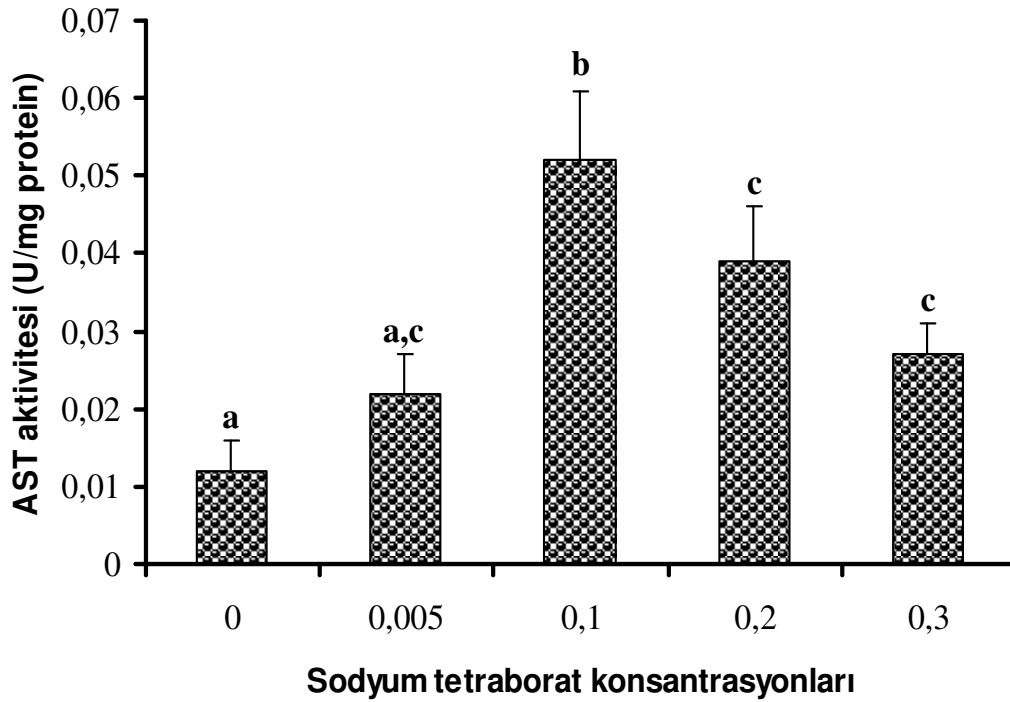
Sodyum tetraboratın denenen düşük konsantrasyonlarında meydana gelen hemolenf AST aktivitesindeki değişim uygulanan doz ile ilişkili olarak ortaya çıkmamıştır. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında bu maddenin 0,005 g’ı AST aktivitesini % 50 oranında önemli derecede ($P < 0,05$) düşürürken 0,1 g sodyum tetraborat miktarı enzim aktivitesini tekrar kontrol düzeyine getirmiştir. Kontrol besini ile beslenen larvaların $0,12 \pm 0,02$ U/mg protein olan AST aktivitesi 0,2 ve 0,3 g sodyum tetraborat konsantrasyonları tarafından üçte bir oranında azaltılmıştır.



Şekil 3.7.1 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının hemolenf AST aktivitesine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının yağ doku AST aktivitesine etkisi Şekil 3.7.2’de verilmiştir.

Sodyum tetraboratın denenen en düşük konsantrasyonu (0,005) kontrole göre yağ doku AST aktivitesinde artışa sebep olduğu halde aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark ortaya çıkmamıştır ($P > 0,05$). Sodyum tetraboratın 0,1 g’ı enzim aktivitesini kontrole göre yaklaşık 4 kat artırarak $0,052 \pm 0,009$ U/mg protein değerine ulaştırmıştır. Bu maddenin besine ilave edilen yüksek konsantrasyonları da (0,2 ve 0,3 g) kontrole göre AST aktivitesini önemli derecede artırmıştır. Ancak, bu yüksek konsantrasyonlar sodyum tetraboratın 0,1 g’ı ile karşılaştırıldığında AST aktivitesini önemli derecede düşürmüştür.

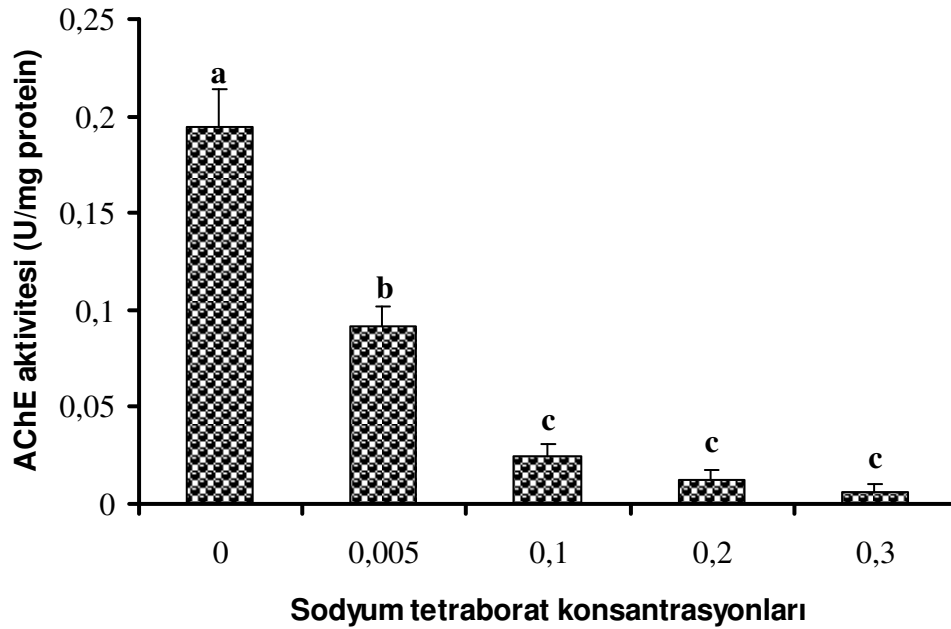


Şekil 3.7.2 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının yağ doku AST aktivitesine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

3.8 SODYUM TETRABORATIN *G. MELLONELLA* LARVALARININ HEMOLENF VE YAĞ DOKU ASETİLKOLİNESTERAZ (AChE) ENZİM AKTİVİTESİNE ETKİSİ

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının hemolenf AChE aktivitesine etkisi Şekil 3.8.1’de verilmiştir.

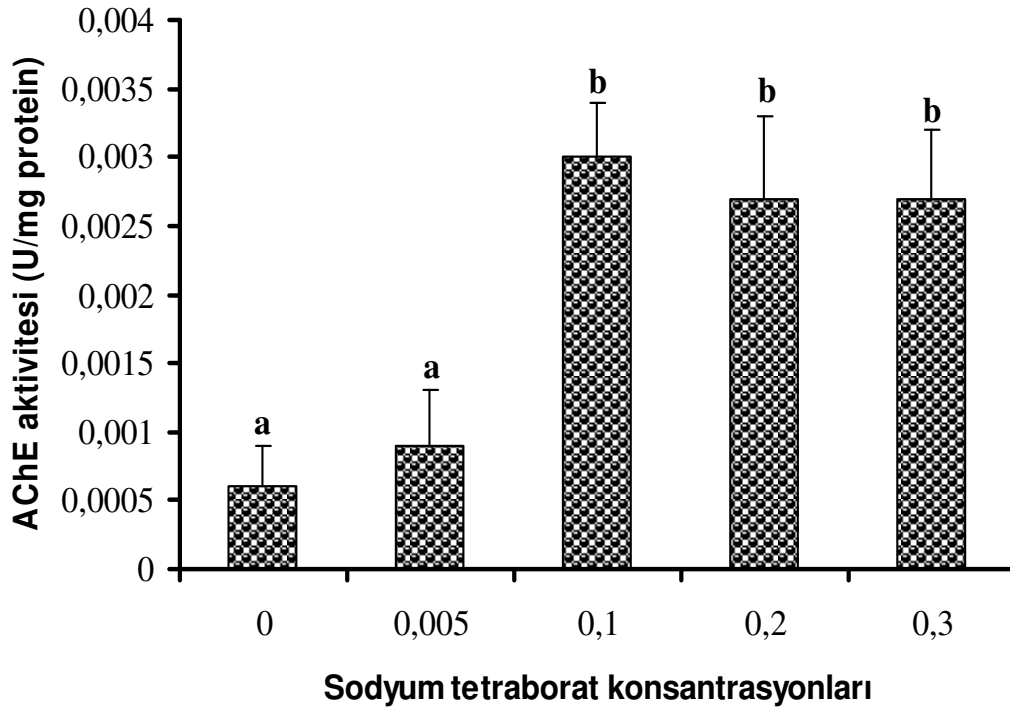
Sodyum tetraboratın besindeki artan konsantrasyonları ile hemolenf AChE aktivitesinin ilişkili olarak azaldığı gözlenmiştir. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında ($0,194 \pm 0,02$ U/mg protein) sodyum tetraboratın en düşük miktarını içeren besin AChE aktivitesini % 50 oranında önemli derecede düşürmüştür ($P < 0,05$). Bu enzimin aktifliği sodyum tetraboratın 0,1 g’ında yaklaşık sekizde bir oranında azalarak $0,025 \pm 0,006$ U/mg protein değerine kadar düşmüştür. Sodyum tetraboratın yüksek miktarlarından 0,2 g, bu enzimin aktivitesini onaltıda bir oranında, 0,3 g ise otuzikide bir oranında azaltmıştır. Yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonlarının (0,1, 0,2 ve 0,3 g) AChE aktivitesi üzerine olan etkileri bakımından aralarında önemli bir fark ortaya çıkmamıştır ($P > 0,05$).



Şekil 3.8.1 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının hemolenf AChE aktivitesine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

Sodyum tetraboratın *G. mellonella* 7. evre (bir günlük) larvalarının yağ doku AChE aktivitesine etkisi Şekil 3.8.2’de verilmiştir.

Sodyum tetraboratın besine ilave edilen en düşük konsantrasyonu (0,005) yağ doku AChE aktivitesini artırdığı halde istatistiksel olarak anlamlı bir artış ortaya çıkmamıştır ($P > 0,05$). Sodyum tetraboratın besindeki yüksek konsantrasyonları ise AChE aktivitesini önemli derecede artırmıştır ($P < 0,05$). Sodyum tetraboratın 0,1 g’ı AChE aktivitesinde 5 kat artmaya sebep olarak $0,0006 \pm 0,003$ U/mg protein değerinden $0,003 \pm 0,0004$ U/mg protein değerine ulaştırmıştır. Benzer şekilde sodyum tetraboratın diğer yüksek miktarları da kontrol besinine ($0,0006 \pm 0,003$ U/mg protein) göre AChE aktivitesini önemli derecede artırarak $0,0027$ U/mg protein değerine ulaştırmıştır.



Şekil 3.8.2 Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının yağ doku AChE aktivitesine etkisi. Aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda yirmi larva kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

Yedinci evre larvalarının yağ doku MDA miktarı ile GST aktivitesi arasında istatistiksel olarak önemli ve güçlü bir pozitif ilişki bulunmuştur ($R^2 = 0,99$ $P < 0,05$). Larvaların yağ dokusunda artan sodyum tetraborat konsantrasyonuna karşı MDA miktarı artarken GST aktivitesi de beraberinde artmıştır. Larvaların hemolenf MDA miktarı ile GST aktivitesi arasında yüksek oranda ters bir ilişki olmasına rağmen bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildir. Diğer bir anlamlı ve negatif ilişki ise larvaların hemolenf MDA miktarı ile ALT aktivitesi arasında ortaya çıkmıştır ($R^2 = 0,89$ $P < 0,05$). Larvaların hemolenf MDA miktarı artarken ters orantılı olarak ALT aktivitesi de düşüş göstermiştir.

BÖLÜM 4

TARTIŞMA

Lepidoptera takımına ait bir tür olan büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* larvalarını laboratuvarında ergin evreye kadar yetiştirmek için kullanılan yapay besine farklı miktarlarda katılan bir bor türevi sodyum tetraboratın böceğin farklı evrelerindeki yaşama, gelişimine, ergin ömür uzunluğuna ve yedinci evre larvalarının hemolenf ve yağ dokusunda lipid peroksidasyonunun önemli bir ürünü malondialdehid olan (MDA), antibakteriyel enzim lizozim miktarı, glutatyon S-transferaz (GST), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimlerinin aktivitesine etkisi incelendi. Bu çalışmanın sonuçları sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının yaşam parametreleri ile ilgili biyolojik etkinliğini olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir. Sodyum tetraboratın, oksidatif stresin göstergesi olan MDA miktarının artışına karşı, önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST ve doku hasarının önemli biyobelirteçleri ALT ve AST ile sinirsel iletimden sorumlu AChE enzimlerinin aktivitesinde değişimlere sebep olduğu açıkça görülmüştür. Bu sonuçlar *Galleria mellonella* L. larvalarının yaşaması, gelişmesi ve ömür uzunluğu üzerindeki olumsuz etkilerin sodyum tetraborat ile uyarılan oksidatif stresten kaynaklandığını göstermektedir.

Sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonları hem larval evrede hem de larva sonrası evrelerde böceğin yaşama ve gelişmesi üzerinde olumsuz etki yapmıştır. Bu maddenin denenen en yüksek konsantrasyonu (0,3 g) böceğin hem yaşama oranını hem de gelişme süresini olumsuz yönde etkilemiştir. Bu maddenin 0,2 g'ını içeren besin 7. evreye ulaşma süresini yaklaşık dörtte bir oranında önemli derecede düşürmüş olup kontrol besinindeki $62,5 \pm 15,5$ olan yaşama oranını $17,5 \pm 6,4$ 'e düşürmüştür. Bu miktar ergin olma oranını üçte bir oranında düşürmüş ve bu besinden $11,2 \pm 3,5$ oranında ergin elde edilmiştir. Sodyum tetraboratın 0,3 g'ı 7. evreye ulaşan larva oranını $17,5 \pm 2,9$ 'a istatistiksel olarak önemli derecede düşürmüş, 7. evreye ulaşma süresini ise ortalama 5 gün geciktirmiştir. Bu miktarı içeren besinlerden $12,5$ oranında pup ve ergin elde edilmiş ve bu evrelere ulaşmak için gerekli süre ise ortalama 5 gün uzamıştır. Aynı türün farklı gelişim evrelerinde bile değişik fizyolojik koşullara gereksinim duyulduğu

bilinmektedir (Grenier et al., 1986). Bu yüzden denenen sodyum tetraboratın etkisinin bu böceğin farklı gelişim evresine göre değişmesi de beklenen bir sonuçtur.

Zararlı böceklerin mücadelesi amacıyla çeşitli besinlere ilave edilen borik asit ve sodyum tetraborat gibi bor türevi çeşitli kimyasalların yüksek konsantrasyonlarda gelişmeyi geciktirdiği, ömür uzunluğunu artırdığı, yumurta üretimini ve açılımını azalttığı, larval ve pupal evrede ölüm oranını artırdığı gözlenmiştir (Zurek et al., 2003; Xue and Barnard, 2003; Gore and Schal, 2004). Sodyum tetraboratın böcek üzerindeki olumsuz 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 *Blatella germanica* L. 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 fizyolojisi ile ilgili yapısal ve işlevsel değişikliklere sebep olmuş 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., 2000). Bu sonuçlar ile uyumlu olarak sodyum tetraborat *G. mellonella* larvalarının pup ve ergin olma oranını önemli derecede düşürmüş gelişmeyi ise geciktirmiştir. Besinle alınan sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvaları üzerindeki toksitesinin yüksek olması larvaların besin alma oranının ve böylece sindirimin artması sonucu olabilir. Benzer bir mekanizma, çeşitli besin ortamları ile uygulanan borik asit ve türevlerinin farklı böcekler üzerindeki olumsuz etkisi ile ilgili olarak da ileri sürülmüştür (Appel et al., 2004; Cochran, 1995). Daha önce bu konuda yapılan beslenme çalışmaları yapay besinlere ilave edilen ve besinsel değeri bulunmayan bir kimyasalın böcek üzerindeki etkisinin besin maddeleri ile etkileşimine bağlı olarak ortaya çıkabileceğini belirtmiştir. Bu çalışmalarda, fiziksel ve kimyasal düzeyde ortaya çıkan bu etkileşimlerin larvaların besin tüketim oranını değiştirebileceği ileri sürülmüştür (Büyükgözel, 2001).

Bazı çalışmalarda çeşitli çevresel stres faktörlerine maruz kalan birkaç böcek türünün ömür uzunluğundaki artışın lipid peroksidasyonu düzeyinin düşmesi (Sestini et al., 1991) ve antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivitelerinin

yükselmesi (Bains et al., 1998; Sun et al., 2002) ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Sodyum tetraboratın en yüksek konsantrasyonunda *G. mellonella* larvalarının hemolenf MDA miktarında artış gözlenirken, ergin ömür uzunluğu ise önemli derecede azalmıştır. Antioksidan enzimler yüksek oksidatif stres durumunda oluşan reaktif moleküllere karşı hassas olduklarından (Pigeolet et al., 1990), sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonu tarafından üretilen serbest radikaller GST enziminde yapısal değişime sebep olarak enzimi inaktifleştirmiş olabilir. Elde edilen sonuçlar sodyum tetraboratın 0,2 g'ında yağ doku GST aktivitesi ile ergin ömür uzunluğu arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir. Bu konsantrasyonda GST aktivitesi ve ergin ömür uzunluğunda artış gözlenmiştir. *D. melanogaster*'de glutatyona bağımlı enzimlerin aktivitelerindeki artışın ömür uzunluğunda artışa neden olduğu ve oksidatif strese direncin arttığı gözlenmiştir (Sohal et al., 1995, Sun et al., 2002). Bu çalışmada sodyum tetraborat ile yetiştirilen erginlerin antioksidan enzimlerindeki değişimler incelenmemiştir. Ancak, Büyükgüzel et al., (2006) organofosforlu insektisitlerin öldürücü olmayan dozlarına karşı bir tepki olarak *P. turionellae* erginlerinde SOD aktivitesinin ve ömür uzunluğunun arttığını göstermiştir. Elde edilen sonuçlar uzun yaşama süresinin sodyum tetraboratın öldürücü olmayan dozlarında ortaya çıkan oksidatif stresi önlemek için antioksidan enzim aktivitesinin artışından ileri gelebileceğini göstermektedir. 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 ömür uzunluğu artabilir.

Sodyum tetraboratın besindeki miktarının artışı ile böcek üzerindeki etkisi arasında orantılı bir ilişki ortaya çıkmamıştır. Örneğin sodyum tetraboratın 0,1 g'ı böceğin ergin olma oranını istatistiksel olarak önemli olmayan derecede artırdığı halde bu artış en düşük miktar olan 0,005 g'da ortaya çıkmamıştır. Böceğin ömür uzunluğu, hemolenf ve yağ dokusundaki enzimlerin aktivitelerinde de benzer sonuçlar gözlenmiştir. Lepidoptera takımına ait bir tür olan *Lymantria dispar* L.'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 esteraz enzimi besine ilave edilen glikozitin düşük miktarları ile artarken yüksek miktarları bu enzimlerin aktivitelerini düşürmüştür (Hemming and Lindroth, 2000). Benzer sonuçlar sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarının yaşama, gelişimi ve 7. evre larvalarındaki enzim aktivitelerine etkilerinde de elde edilmiştir. Benzer bir sonuç holometabol böceklerden diptera takımına ait bir tür olan *Agria affinis* (Fallen) ve hymenoptera takımına ait *P. turionellae* larvalarını beslemek için kullanılan kimyasal yapısı bilinen yapay besine ilave edilen bazı antibiyotikler ile de elde edilmiştir (Singh and House, 1970a; Büyükgüzel ve Yazgan, 1996). Tam başkalaşım geçiren (holometabol) böceklerde besin maddelerinin sindirimi genellikle alkali bir ortama sahip olan orta bağırsakta gerçekleştirilmektedir (Terra, 1990). Besinle alınan sodyum tetraborat miktarlarının *G. mellonella*'nın orta bağırsağında ozmotik dengeyi ve ortamın reaksiyonunu (pH) etkilemesi sonucu farklı oranlarda emilimi gerçekleşebilir. Böylece denenen miktarların böcek üzerindeki etkisi de farklı olabilir. Lepidoptera takımına ait böceklerde besinsel maddelerin ve bitkisel allelokimyasalların sindirim kanalında (özellikle orta bağırsak) emilme oranlarının bunların bağırsaktaki miktarlarına, ortamın ozmotik ve iyonik dengesine ve indirgenme-yükseltgenme potansiyeline bağlı olduğu bilinmektedir (Krishnan and Kodrik, 2006). Diğer taraftan *G. mellonella* larvalarının bağırsağından emilerek dokulara yayılan sodyum tetraboratın metabolizma ürünlerinin olumsuz etkisi detoksifikasyon enzimleri tarafından devamlı olarak ortadan kaldırılabilir. Diğer bir ifade ile denenen bu maddenin düşük konsantrasyonlarda *G. mellonella* üzerindeki olumsuz etkilerinin düşük olması böceğin detoksifikasyon veya antioksidan enzimleri sayesinde bu zararlı ürünleri ortadan kaldırmaları sonucu olabilir. Alman hamam böceği *B. germanica*'da insektisitlere karşı detoksifikasyon enzimi sitokrom P450 monooksijenaz miktarında artış olduğunun tespit edilmesi ile bu düşünce önem kazanmıştır (Scharf et al., 1999). Liu and Chen (2000) bir kitin sentezi inhibitörü olan buprofezinin nöroptera takımına ait bir tür *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister)'in larval evresindeki olumsuz etkisinin çok az olmasını böceğin güçlü antioksidan kapasitesine bağlamıştır.

Besine ilave edilen yüksek miktarlardaki sodyum tetraboratın böceğin yaşama ve gelişimi üzerindeki olumsuz etkileri bu maddenin beslenme ortamının besinsel kalitesini ve fiziksel yapısını değiştirmesinden ileri gelebilir. Singh and House (1970c) besine ilave edilen antimikrobiyal maddelerin meydana getirdiği koku ve tat değişikliğinin larvaların besin tüketimi oranının değişiminde etkili olduğunu belirtmiştir. Larval evrede alınan besin

maddelerinin kalitesi ve besinsel dengesi bir çok böceğin üreme ve ömür uzunluğu üzerinde etkilidir (Slansky and Scriber, 1985; Eischen and Dietz, 1987; Ridgway and Mahr, 1990). Akdeniz meyve sineği *C. capitata* 'nın larval evrede aldığı besinin ergin oluşumu, vücut büyüklüğü, eşeysel olgunluğu, yumurta bırakma davranışı ve yaşama süresini etkilediği bilinmektedir (Chang et al., 2001). Delgarde and Rouland-Lefevre (2002) bir insektisit olan tiyometoksam'ın bazı termit türleri *Trinervitermes trinervius* (Rambur) ve *Odontotermes smeathmani* (Fuller), *Amitermes evuncifer* (Silvestri)'e karşı besin almayı önleyici etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir.

Besine çeşitli amaçlarla ilave edilen kimyasal maddelerin böcek üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi için farklı evrelerdeki toplam vücut bileşenlerinin 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 sodyum tetraboratın besine ilave edilen miktarları genel olarak larvaların hemolenf ve yağ doku lipid peroksidasyonu düzeyi ve enzim aktivitelerini 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 stresten etkilendiği bilinmektedir (Timmermann et al., 1999). Böcekleri besinsel kaynaklı 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).

Yağ dokusunda GST aktivitesinin yükselişi lipid peroksidasyonu sonucu artan MDA miktarından kaynaklanan oksidatif stresten ileri gelebilir. İndirgenmiş (redükte) glutatyon (GSH) 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 sodyum tetraboratın veya metabolizma ürünlerinin bir oksidan gibi davranarak serbest radikal oluşumunu hızlandırması ve buna bağlı olarak larvalarda oksidatif stresi meydana getirmeleri sonucu olabilir. Yedinci evre larvalarının

yağ doku MDA miktarı ile GST aktivitesi arasında istatistiksel olarak önemli ve güçlü bir pozitif ilişkinin ($R^2 = 0,99$ $P < 0,05$) bulunması bu görüşü desteklemektedir.

Lepidoptera takımına ait böceklerin larvaları çeşitli oksidan maddelerle beslendiği zaman orta bağırsaklarında peroksit radikalleri başta olmak üzere çeşitli ROT'lar olmaktadır. Bu peroksitler ya besinle alınan veya besin kanalında daha önceden bulunan demir gibi çeşitli aktif metal iyonları ile etkileşerek (Fenton reaksiyonu) hidroksil radikali (OH $\cdot$) 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). Denenen sodyum tetraboratın farklı konsantrasyonlarını içeren besinler ile beslenen böceğin hemolenf GST aktivitesindeki düşüş, lipid peroksidasyonu sonucu oksidatif hasarın yükselmiş olabileceğini göstermektedir. Sodyum tetraboratın toksitesi sonucunda serbest radikal oluşumunun artışı ile hemolenf lizozim miktarının, GST, ALT, AST ve AChE enzimlerinin aktifliklerinin düşmesi bu enzimlerin serbest radikaller tarafından inaktive edilmesinden kaynaklanabilir. Artan serbest radikaller bu enzimlerin kofaktörü olan metal iyonları ile veya enzim yapısındaki aktif aminoasitlerle etkileşerek enzimlerin aktivitesini düşürmüş olabilir (Saraswathy et al., 1998). Sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarında MDA düzeyini artırırken ters orantılı olarak enzimlerin aktivitelerini düşürmesi bu yorumu desteklemektedir.

Sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonları hemolenf ve yağ doku lipid peroksidasyonu düzeyini önemli derecede artırmıştır. Ancak yağ dokudaki lipid peroksidasyon ürünü MDA ile birlikte ALT, AST ve AChE enzimlerinin aktivitesi de artmıştır. Metabolik bakımdan aktif bu dokuda GST enziminin de önemli derecede artış göstermesi larvaların sodyum tetraboratın zararlı etkisine karşı direnç geliştirmeye veya oluşturdukları serbest radikalleri ortadan kaldırmaya yönelik bir savunma mekanizmasından ileri gelebilir. Böyle bir savunma mekanizması sonucunda enzimler serbest radikallerin ve lipid hidroperoksitlerin zararlı etkisinden korunmuş olur. *G. mellonella* larvalarında sodyum tetraborata karşı böyle bir mekanizmayla tolerans geliştirilmiş olabilir. Besin ile alınan sodyum tetraborat ve bunun böceklerdeki ara metabolizma ürünleri lipid peroksidasyonunu meydana getirebilecek derecede güçlü bir etkiye sahip olabilir. 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 *Lymantria 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*, *S. eridania* gibi çeşitli böcek türlerinin farklı gelişme evrelerinde de gözlenmiştir (Ahmad and Pardini, 1990; Zaman et al., 1994; Admad et al., 1995).

Antioksidan enzimlerin aktivitelerinin genellikle türe, gelişme evresine ve dokuya özgü olarak değiştiği gözlenmiştir (Ahmad and Pardini, 1990; Ahmad et al., 1995). *G. mellonella*'nın hemolenf ve yağ dokusunda denenen sodyum tetraboratın etkisi farklı şekilde ortaya çıkmıştır. Sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonları genellikle her iki dokuda da MDA miktarını arttırırken enzimlerin aktiviteleri dokuya göre değişkenlik göstermektedir. Bu sonuçlar denenen sodyum tetraboratın böceğin larval evresinde lipid peroksidasyonuna sebep olarak artan oksidatif strese bağlı olarak etkili olduğunu göstermektedir. Ancak her bir dokuda bu oksidatif strese karşı antioksidan savunma mekanizması ve hücre adaptasyonu değişiklik göstermektedir. Bu çalışmada larva sonrası evrelerdeki enzim aktivitelerinin değişimleri incelenmemiştir. Ancak sodyum tetraboratın bu evrelerdeki yaşama, gelişme ve ergin ömür uzunluğundaki etkilerinin farklı olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar böceğin antioksidan savunma sisteminin evrelere göre değişebileceğini işaret etmektedir. Çeşitli insektisitlere maruz kalmış pamuk kurdu *Heliothis armigera* (Hübner)'daki detoksifikasyon enzimlerinin aktivitelerinin larval ve ergin evreye göre değiştiği bilinmektedir (Leonova and Slynko, 1996). Bu sebeple sodyum tetraboratın larva sonrası evrelerdeki antioksidan savunma sistemine etkisini belirlemek amacıyla detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Böcekler çeşitli çevresel streslere karşı yaşamlarını sürdürebilmeleri için özel savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Roberts and Feder, 1999). Bu savunma mekanizmalarında görevli antibakteriyel proteinlerden lizozimin *G. mellonella* larvalarında yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonları ile önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. Lizozim enzimi böceklerde önemli iki role sahiptir. Birincisi orta bağırsakta sindirim sırasında bakterilerin sindirilmesi ve vücut boşluğuna (hemosöl) giren patojenlere karşı bir savunma reaksiyonu olarak salgılanmasıdır. *M. domestica* and *D. melanogaster* gibi yaşamı boyunca sindirim kanalında simbiotik bakteri bulunduran bir çok böcek türünde lizozimin önemli role sahip olduğu tespit edilmiştir (Regel et al., 1998). Lizozimin epidermal kütikül dokusunda

sentezlendiği ve dış etkenlere karşı önemli bir ilk savunma mekanizmasını oluşturduğu gösterilmiştir (Lee and Brey, 1995). *B. mori*, *H. virescens* ve *M. sexta* gibi bazı böceklerde de bakteriyel kontaminasyona karşı yağ dokuda lizozimin sentezlendiği görülmüştür (Lockey and Ourth, 1996). Lizozim bakteri hücre duvarındaki peptidoglikan yapısında bulunan N-asetilmuramikasit ve N-asetilglukozamin arasındaki glikozid bağını hidrolizleyen ve ‘muramidaz’ olarak da isimlendirilen enzimdir. Lizozim enzimi tüm ökaryot ve prokaryot organizmalarda bulunmaktadır. Bu enzim birçok böceğin hemolenfinde sürekli olarak bulunmakta olup bakteriyel kontaminasyona bağlı olarak hızlı bir artış göstermektedir. Böceklerde bakteriyel kontaminasyonlara karşı savunma amaçlı olarak lizozim enziminin salındığı ve bu enzim miktarının kontaminasyonu takiben hemolenf ve yağ doku gibi çeşitli dokularda arttığı bilinmektedir (Boman et al., 1974). Lepidoptera takımına ait türlerde hemolenfin normal bir bileşeni olarak c-tipi (tavuk yumurta beyazı lizozimi) lizozimin bulunduğu tespit edilmiştir (Jolles et al., 1979). Lizozim enzimi *G. mellonella* hemolenf hücrelerinden granülosit ve plazmatositlerin granüllerinde tipik lizozomal enzimler olan asit fosfataz, beta-glukuronidaz ve esteraz ile birlikte bulunur (Chain and Anderson, 1983). *G. mellonella*’da bazı maya ve küf kontaminasyonlarının hemolenfteki lizozim enzimi aracılığıyla temizlendiği bilinmektedir (Dunphy et al., 2003). Böceğin yabancı bir maddeye karşı kendini savunma mekanizması açısından ele alındığında sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonlarının bu enzimin miktarını düşürmesi beklenen bir durumdur. Diğer taraftan besinle alınan sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonlarına karşı larvaların hemolenf ve yağ dokusunda lizozim enziminin artış göstermesi bu maddeye karşı bir savunma tepkisinden ileri gelebilir. Sodyum tetraboratın yalnızca 0,005 g’ını içeren besinle beslenen *G. mellonella* larvalarında hemolenf lizozim miktarında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış olması ve sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonlarının (0,005, 0,1 ve 0,2) yağ doku lizozim miktarını önemli derecede artırması bu görüşümüzü desteklemektedir. Lizozim miktarının artışı değerlendirildiğinde sodyum tetraborata karşı en yüksek tepki yağ dokuda görülmüştür. Bu antibakteriyel protein sadece biyolojik kontaminasyon ajanlarına karşı değil vücuda besinle alınan kimyasal insektisitlere karşı da yağ dokuda sentezlenerek sindirim kanalına salınabilir. Bu amaçla böceğin orta bağırsağında lizozim analizinin yapılması gerekir. Böceklerde beslenme ve deri değiştirme işleminden hemen sonra lizozim genlerinin orta bağırsakta (midgut) ifade edildiği ve lizozim mRNA’sının yükseldiği gözlenmiştir (Kollien et al., 2003). Lizozim enziminin böceklerde sindirim işlevi ile ilgili olarak önemli role sahip olduğu bilinmektedir (Regel et al., 1998). *M.*

domestica'da lizozim enziminin fizyolojik pH'da *M. luteus*'a karşı aktivite göstermediği kitine karşı aktivite gösterdiği görülmüştür. Bu enzim savunma amaçlı sentezlenen protein olmaktan çok böceğin orta bağırsağında bir sindirim enzimi gibi iş görmüştür (Ito et al., 1995). Bu özellik bazı memeli hayvanların midesindeki sindirim işlevinden sorumlu lizozim enzimi ile benzerlik göstermiştir (Fujita, 2004). İpek böceğinde pup olmak üzere koza örmeye başlamadan önce lizozim miktarının 3 kat arttığı ve pup olduğunda ise bu miktarın yarı yarıya düştüğü gözlenmiştir. Hemolenf kaynaklı lizozim enzimi sadece bakteri hücre duvarını parçalamaya yönelik etkiye sahip olmayıp antibakteriyel proteinlerin sentezinin uyarılması için bir sinyal molekülü olarak da önemli role sahiptir (Dunn et al., 1985). Besindeki yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonlarında *G. mellonella* larvalarının hemolenf ve yağ doku lizozim miktarının düşmesi bu maddenin sebep olduğu oksidatif stres tarafından enzimin inaktif olmasından ileri gelebilir. Larvaların hemolenf ve yağ dokusunda oksidatif stresin önemli bir belirtici olan MDA miktarının yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonlarında önemli derecede artması bu görüşü desteklemektedir.

Sodyum tetraboratın farklı miktarlarının *G. mellonella* larvalarının hemolenf ALT ve AST enzimlerinin aktivitelerindeki düşmeye, yağ dokuda ise artışa neden olması böcekte oksidatif strese bağlı olarak doku hasarının oluştuğunu gösterebilir. Sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonlarında hemolenf ve yağ doku MDA miktarı yükselmekle beraber hemolenfte ALT ve AST enzimlerinin aktivitelerinin düştüğü yağ dokuda ise arttığı görülmektedir. Sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonlarında yağ dokudaki transaminaz enzimlerinin aktivitesinin önemli derecede artışı larvaların artan oksidatif strese karşı gösterdikleri adaptasyon mekanizmasından kaynaklanabilir. Diğer taraftan hemolenfte bu enzimlerin aktivitesinin önemli derecede düşmesi ise aşırı oksidatif strese bağlı olarak önemli detoksifikasyon enzimi olan GST aktivitesinin düşmesinden ileri gelebilir. Larvaların hemolenf MDA miktarı ile ALT aktivitesi arasında anlamlı ve negatif ilişkinin ($R^2 = 0,89$ $P < 0,05$) ortaya çıkması oksidatif strese bağlı bir hücre hasarının olabileceğini desteklemektedir. Antioksidan savunma sisteminin zayıflaması hücre hasarı ve sonuçta ölüme yol açabilir (İçen et al., 2005). Memelilerdeki gibi böceklerde de birçok dokuda bulunan aminotransferaz enzimleri ALT ve AST (Parenti et al., 1985), amino gruplarını ketoasitlere transfer ederek aminoasit ve karbohidrat metabolizması ile ilgili ara ürünler oluşturur (Halarncar and Schooley, 1995). Böceklerde bazı antibiyotikler (Eid et al., 1989) ve kimyasal insektisitler (İçen et al., 2005) tarafından oluşturulan hücre hasarı

sonucunda ALT ve AST aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir. Omurgalıların karaciğerinde ve diğer dokularında ALT ve AST aktivitelerindeki değişimler dokulardaki yapısal ve işlevsel hasarın değerlendirilmesi için önemli biyobelirteçleridir (Patil et al., 2003). Böceklerin yağ dokusu omurgalıların karaciğeri ile işlevsel benzerlik gösteren bir dokudur (Abel et al., 1992). Yağ dokusu böceklerin enerji temini ve diğer fizyolojik işlevler ile ilgili lipid, protein ve karbohidrat metabolizmasının gerçekleştirildiği bir dokudur. Bu doku birkaç hücre tabakasından oluşmakta olup dolaşım sıvısı hemolenf tarafından sarılmaktadır (Law and Wells, 1989). *G. mellonella* larvalarında ALT ve AST enzimlerinin aktivitelerindeki değişikliğin tespit edilmesi çeşitli insektisitlerin sebep olduğu biyokimyasal tepkilerin belirlenmesi için önemli bir göstergedir. Bu enzimlerin aktivitelerindeki artış, besinle alınan sodyum tetraboratın toksitesine karşı bir tepki olarak larvaların metabolizmasının hızlanmasından ileri gelebilir. Eid et al. (1989) tarafından yapılan bir çalışmada bazı antibiyotiklerin ilave edildiği doğal besinler ile beslenen lepidoptera takımına ait *Philosamia ricini* (Boisduval)'de biyokimyasal tepki olarak transaminaz enzimlerinin arttığı gözlenmiş olup bu sonuçlar bizim verilerimizle uygunluk göstermektedir. Sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonları ile beslenen larvaların hemolenfinde bu aminotransferazların aktivitelerinin düşük bulunması, serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif hasarın oldukça yüksek olmasına bağlı olabilir. Bunun sonucunda hücresel biyomoleküllerin oksidasyonu ile birlikte aminotransferaz enzimlerinin de aktiflik gösteremeyecek derecede yapısı bozulmuş olabilir. Sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonlarında MDA miktarının artması ve bunun tersine hemolenf GST, ALT ve AST'nin aktivitelerinin de düşmesi artan oksidatif hasara bağlı olarak gerçekleşen hücre ölümünün bir işareti olabilir. Sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonlarında böceğin tüm gelişme evrelerindeki yaşayan birey sayısının da önemli derecede azalması bu görüşü desteklemektedir.

Sodyum tetraborat ile beslenen larvaların hemolenf asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi önemli derecede azalmıştır. AChE böceklerdeki merkezi sinir sisteminin kolinerjik sinapslarında nörotransmitter asetilkolini hidrolizleyerek sinir uyarılarının iletimini sonlandıran anahtar bir enzimdir. Organa fosforlu ve karbomat türevi bazı insektisitlerin seçici olarak kolinesteraz aktivitesini inhibe ettikleri bilinmektedir. Asetilkolin sinirsel uyarıların sinapslardan geçişini kolaylaştıran bir nörotransmitter maddedir. Asetilkolin, asetilkolinesteraz (AChE) enzimi tarafından kolin ve asetik asite dönüştürülür. AChE enziminin aktivitesinin düşmesi böceklerin sinir sistemi ve sinir kas bağlantılarındaki

sinapsların, asetilkolinin birikmesine bağlı olarak, aşırı uyarılmasına sebep olur. Sinapslardaki asetilkolinin artan konsantrasyonundaki bu sonuçlar ve daha fazla uyarılmış merkezi sinir sistemi, kas zayıflamasına ve dejenerasyonuna sebep olarak ölüme yol açabilir (Chen et al., 2001). Benzer sonuçlar çeşitli organofosfatlı insektisitlere maruz kalan ipek böceği *B. mori* (Nath and Kumar, 1999), tütün tomurcuk kurdu *H. virescens* ve mısır koçan kurdu *H. zea* (Hamadain and Chambers, 2001) gibi lepidoptera takımına ait bazı türler ile diğer bazı zararlı böceklerde (Barata et al., 2001; Theophilis, 1997; Belden and Lydy, 2001) elde edilmiştir. Ancak bor türevi maddelerin böceklerdeki AChE aktivitesine etkisini inceleyen yalnızca bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada borik asit Alman hamam böceği *B. germanica*'nın sindirim kanalında GST enzimi ile birlikte AChE enziminin aktivitesini de düşürmüştür (Habes et al., 2006). AChE enziminin sodyum tetraborat ve borik asit gibi bor türevi maddelerin asıl etki mekanizmaları için hedef bir enzim olmadığı bilinmektedir. Bu sebeple, sodyum tetraboratın *G. mellonella* larvalarındaki AChE enzimi üzerine inhibe edici etkisinin mekanizması hakkında kesin bir sonuca varmak mümkün olmayacaktır. Sodyum tetraboratın hemolenf AChE aktivitesi üzerine bu olumsuz etkisi, aşırı oksidatif streten kaynaklanabilir. Diğer bir görüş ise sodyum tetraboratın oksijenaz enzimleri ile metabolize olması sonucu oluşan aktifleşmiş ara ürünlerin AChE enzimi üzerinde doğrudan ya da oksidatif stres oluşturarak inhibisyon etkisi göstermesidir. Benzer bir mekanizmanın çeşitli organofosfatlı insektisitlere maruz kalan diptera takımına ait bazı böceklerdeki AChE aktivitesinin düşmesinde de etkili olduğu ileri sürülmüştür (Anderson and Zhu, 2004). Buna karşın, böceklerde insektisitlerin toksik etkisini azaltıcı ve hatta yok edici direnç mekanizmaları gelişmiştir. Fizyolojik strese karşı dirençte etkili olduğu bilinen önemli enzim grubu glutathion S-transferazlar (GST)'dir (Yu, 2004). Böceklerde bu enzim ailesi (teta sınıfı) insektisitlerin toksik etkilerine karşı temel bir savunma olarak bilinir. GST bir faz II detoksifikasyon enzimi olup ksenobiyotikleri glutatyona (GSH; γ -glutamil-sisteinil-glisin) bağlayarak toksitesini azaltır. Diğer taraftan GST hücre içi iyon kanallarının düzenlenmesi ve madde taşınması, prostoglandin biyosentezi gibi çeşitli biyosentez yollarında da rol oynamaktadır (Wilce and Parker, 1994). Örneğin *M. domestica* 'da organofosforlu insektisitlere dirençli mutantların yüksek seviyede GST aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Çakır ve Yamanel, 2005). Bu sonuçlar ile uyumlu olarak sodyum tetraborat ile beslenen *G. mellonella* larvalarının yağ doku GST aktivitesi önemli derecede yükselmiştir. Diğer taraftan sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonlarında larvaların yağ dokusunda beklenmedik bir şekilde AChE aktivitesi artmıştır. Yağ dokuda artan GST aktivitesi sodyum tetraborat tarafından

oluşturulan oksidatif hasarı ortadan kaldırmış olabilir. Bunun sonucunda sodyum tetraborata karşı tolerans yükselmiş ve direnç mekanizması olarak AChE aktivitesi artmış olabilir. Merkezi sinir sisteminin dışında diğer dokularda AChE enziminin aşırı üretilmesi böcekleri insektisitlere karşı korur. Böceklerde sitoplazmik asetilkolinesteraz enzimi üretilerek hemolenfe gönderilir ve insektisite karşı direnç sağlanır. Diğer taraftan AChE enzimidaki yapısal değişimde insektisit dirençliliğini sağlar (Fournier et al., 1993). AChE'nin asetilkolini hidrolizleyerek sinir sisteminde uyarının sonlanmasına sebep olma gibi asıl etki mekanizmasının dışında, bu enzimin farklı formları hücre bölünmesi ve farklılaşmasında etkili olmakta ve de çeşitli stres faktörlerine karşı sentezi artmaktadır (Grisaru et al., 1999). Çalışmamızda AChE aktivitesindeki değişimler ile ilgili biyokimyasal veriler sodyum tetraboratın *G. mellonella*'da nörotoksik bir etki gösterdiğini açıkça göstermiştir. Diğer biyokimyasal belirteçlerin yanında AChE aktivitesinin ölçümü, bor ve türevlerinin böceklerdeki toksitesinin izlenmesinde kullanılan önemli bir biyobelirteç olduğu anlaşılmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre sodyum tetraboratın larvaların hemolenf ve yağ dokusunda sebep olduğu oksidatif hasara bağlı olarak antioksidan savunma sistemini bozması sonucu böceğin yaşama ve gelişimi üzerinde olumsuz etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Sodyum tetraboratın denenen en yüksek konsantrasyonlarında GST enziminin aktivitesindeki azalma ve MDA miktarındaki yükselme ile birlikte yaşama oranının düşmesi ve gelişim süresinin uzaması bu düşüncüyü destekleyen önemli sonuçlardır. Sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonlarında ise genelde hemolenf lizozim enziminin miktarı ile yağ doku ALT, AST ve AChE aktivitesinin artışı, larvaların oksidatif strese bir adaptasyon davranışı göstermesi sonucu olabilir. Diğer taraftan hemolenf AChE aktivitesinin düşmesi bu maddenin nörotoksik bir etki gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Ancak sodyum tetraborat, AChE enziminin aktivitesi üzerindeki bu önleyici etkisini oksidatif stresi artırarak göstermiş olabilir. Hemolenfte artan oksidatif stres ile ters orantılı olarak GST aktivitesinin önemli derecede düşmesi bu görüşü desteklemektedir. Diğer taraftan yağ dokuda artan oksidatif strese karşı GST aktivitesinin artması ile birlikte AChE aktivitesinin de artması mekanizmayı açıklamada yardımcı olmaktadır. Alman hamam böceği *B. germanica*'nın ortabağırsağında diğer bir bor türevi borik asitin GST ile birlikte AChE enziminin aktivitesini düşürmüştür. Diğer böcekler ve *G. mellonella* ile elde edilen sonuçlar sodyum tetraboratın ve diğer bor türevlerinin böceklerin biyolojik etkinlik parametreleri üzerindeki olumsuz etkisinde oksidatif stresin ve nörotoksik özelliğinin

önemli rol oynadığını açıkça göstermektedir. Sodyum tetraborat ve diğer bor türevlerinin 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.

KAYNAKLAR

- Abel, T., Bhatt, R. and Maniatis, T.A.** (1992) *Drosophila* CREB/ATF transcriptional activator binds to both fat body- and liver-specific regulatory elements, *Gene Dev.*, Vol. 6, pp. 466-480.
- Adamski, Z., Ziemnicki, K., Fila, K., Žikić, 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.*, Vol. 40, pp. 43-52.
- Ahmad, S.** (1992) Biochemical defence of pro-oxidant plant allelochemicals by herbivorous insects, *Biochem. Syst. Ecol.*, Vol. 20, pp. 269-296.
- Ahmad, S.** (1995) Oxidative stress from environmental pollutants, *Arch. Insect Biochem.*, Vol. 29, pp. 135-157.
- Ahmad, S. and Pardini, R.S.** (1990) Mechanisms for regulating oxygen toxicity in phytophagous insects, *Free Radic. Biol. Med.*, Vol. 8, pp. 401-413.
- Ahmad, S., Beilsen, M.A. and Pardini, R.S.** (1989) Glutathione peroxidase activity in insects: A reassessment, *Arch. Insect Biochem.*, Vol. 12, pp. 31-49.
- Ahmad, S., Duval, D.L., Weinhold, L.C. and Pardini, R.S.** (1991) Cabbage looper antioxidant enzymes: Tissue specificity, *Insect Biochem.*, Vol. 21, pp. 563-572.
- 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.*, Vol. 7, pp. 173-186.
- Ahmad, S., Zaman, K., MacGill, R.S., Batcabe, J.P., Pardini, R.** (1995) Dichloro-induced oxidative stress in a model insect species, *Spodoptera eridania*, *Arch. Environ. Cont. Toxicol.*, Vol. 29, pp. 442-448.
- 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.*, Vol. 80, pp. 277-280.
- 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.*, Vol. 80, pp. 54-64.
- 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.*, Vol. 97, pp. 1009-1016.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Bains, J.S., Garg, S.K. and Sharma, S.P.** (1998) Effect of butylated hydroxyanisole on catalase activity and malondialdehyde content in aging *Zaprionus paravittiger* (Diptera), *Gerontology*, Vol. 44, pp. 262-266.
- 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.*, Vol. 49, pp. 155-163.
- Barbehenn, R. and Stannard, J.** (2004) Antioxidant defense of the midgut epithelium by the peritrophic envelope in caterpillars, *J. Insect Physiol.*, Vol. 50, pp. 783-790.
- Barbehenn, R., Dodick, T., Poopat, U. and Spencer, B.** (2005) Fenton-type reaktionen and iron concentrations in the midgut fluids of tree-feeding caterpillars, *Arch. Insect Biochem.*, Vol. 60, pp. 32-43.
- Bare, O.S.** (1945) Boric acid as a stomach poison for the German cockroach, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 38, pp. 407.
- Belden, J.B. and Lydy, M.J.** (2001) Effects of atrazine on acetylcholinesterase activity in midges (*Chironomus tantans*) exposed to organophosphorus insecticides, *Chemosphere*, Vol. 44, pp. 1685-1689.
- Bernardi, E.B., Haddad, M.L. and Parra, J.R.P.** (2000) Comparison of artificial diet for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lepidoptera: Pyralidae) for *Trichogramma mass* production, *Rev. Brasil. Biol.*, Vol. 60 (19), pp. 45-52.
- Bhavan-Saravana, P. and Geraldine, P.** (2001) Biochemical reponses in tissues of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* on exposure to endosulfan, *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 2531, pp. 1-15.
- Blain, P.G.** (1990) Aspect of pesticide toxicology, *Adverse Drug React. Acute Poison. Rev.*, Vol. 9, pp. 37-68.
- Bokov, A., Chaudhuri, A. and Richardson, A.** (2004) The role of oxidative damage and stress in aging, *Mech. Ageing Dev.*, Vol. 125, pp. 811-826.
- Boman, H.G., Nilsson-Faye, I., Paul, K. and Rasmuson, T.** (1974) Insect Immunity. I. Characteristics of an inducible cell-free antibacterial reaction in hemolymph of *Samia cynthia* pupae, *Infec. Immun.*, Vol. 10 (1), pp. 136-145.
- 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.*, Vol. 62, pp. 1472-1480.
- Bronskill, J.** (1961) A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), *J. Lep. Soc.*, Vol. 15, pp. 102-104.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Budia, F. and Vinuela E.** (1996) Effect of cyromazine on adult *C. capitata* (Diptera: Tephritidae) on mortality and reproduction, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 89, pp. 826-831.
- Büyükgüzel, K.** (2001) Positive effects of some gyrase inhibitors on survival and development of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvae reared on an artificial diet, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 94, pp. 21-26.
- 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.*, Vol. 99, pp. 1225-1234.
- Büyükgüzel, K. ve Yazgan, Ş.** (1996). Bazı antibiyotiklerin endoparazitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın yaşama ve gelişimine etkileri, *Türk Zooloji Dergisi*, Cilt 20, s. 1-7.
- 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.*, Vol. 32 (4), pp. 435-443.
- Campos, F., Donskov, N., Arnason, J.T., Philogene, B.J.R., Atkinson, P.M. and Werstuik, N.H.** (1990) Biological effects and toxicokinetics of DIMBOA in *Diadegma terebrans* (Hymenoptera: Ichneumonidae), an endoparasitoid of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralide), *J. Econ. Entomol.*, Vol. 83, pp. 356-360.
- Chain, B.M and Anderson, R.S.** (1983) Observations on the cytochemistry of the hemocytes of an insect, *Galleria mellonella*, *J. Histochem. Cytochem.*, Vol. 31, pp. 601-607.
- Chang, C.L., Albrecht, C., El-Shall, S.S.A. and Kurashima, R.** (2001) Adult Reproductive capacity of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) on a chemically defined diet, *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 94, pp. 702-706.
- Charriere, J.D. and Imdorf, A.** (1997) Protection of honeycombs from moth damage. Swiss Bee Research Center Federal Dairy Research Station, *Communication*, Vol. 24, pp. 16.
- Chen, Y.H. and Welter, S.C.** (2002) Abundance of a native moth *Homoeosoma electellum* (Lepidoptera: Pyralidae) and activity of indigenous parasitoids in native and agricultural sunflower habitats, *Environ. Entomol.*, Vol. 31 (4), pp. 626-636.
- Chen, Z., Newcomb, R., Forbes, E., McKenzie, J. and Batterham, P.** (2001) The Acetylcholinesterase gene and organophosphorus resistance in the australian sheep blowfly, *Lucilia cuprina*, *Insect Biochem. Molec. Biology*, Vol. 31, pp. 805-811.
- 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.*, Vol. 15, pp. 35-44.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Cochran, D.G.** (1995) Toxic effects of boric acid on the German cockroach, *Experientia*, Vol. 51, pp. 561-563.
- Cohen, A.C. and Crittenden, P.** (2004) Deliberately added and "cryptic" antioxidants in three artificial diets for insects, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 97, pp. 265- 272.
- Çakır, Ş. ve Yamanel, Ş.** (2005) Böceklerde insektisitlere direnç, Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi, Sayı: 1, s. 21-29.
- Daffre, S., Kylsten, P., Samakovlis, C. and Hultmark, D.** (1994) The Iysozyme locus in *Drosophila melanogaster*: an expanded gene family adapted for expression in the digestive tract, *Mol. Gen. Genet.*, Vol. 242, pp. 152-162.
- 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.*, Vol 2(2), pp.195-202.
- 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.*, Vol. 95 (3), pp. 531-536.
- Diaz, F., Toledo, J., Enkerlin, W. and Fernandez, J.** (1996) Cyromazine: Effects on three species of *Anastrepha*. in: McPheron, B. and Steck, G. edn. Fruit Fly Pests: A world assessment of their biology and management. St. Lucie Press, Delray Beach, FL, pp. 336-337.
- Dulhunty, A., Gage, P., Curtis, S., Chelvanayagam, G. and Board, P.** (2001) The glutathione transferase structural family includes a nuclear chloride channel and a ryanodine receptor calcium release channel modulator, *Biol. Chem.*, Vol. 276, pp. 3319-3323.
- Dunn, P.E., Dai, W., Kanost, M.R., and Geng, C.** (1985) Soluble peptidoglycan fragments stimulate antibacterial protein synthesis by fat body from larvae of *Manduca sexta*, *Dev. Comp. Immunol.*, Vol. 9, pp. 559-568.
- Dunphy, G.B., Oberholzer, U., Whiteway, M., Zakarian, R.J. and Boomer, I.** (2003) Virulence of *Candida albicans* mutants toward larval *Galleria mellonella* (Insecta, Lepidoptera, Galleridae), *Can. J. Microbiol.*, Vol. 49, pp. 514-524.
- Ebeling, W.** (1995) Inorganic insecticides and dusts. Understanding and controlling the German cockroach. edn. M.K Rust, J.M Owens, D.A Reiersen, New York, Oxford University Press, pp. 193-230.
- Eid, M.A.A., El-Nakkadi, A.N. and Saleh, M.A.** (1989) Functional adaptation of silk gland after administration of antibiotic to larvae of *Philosamaia ricini* (Boisd), *Insect Sci. Appl.*, Vol. 10, pp. 139-143.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.*, Vol. 80, pp. 74-77.
- Felton, G.W. and Duffey, S.S.** (1991) Protective action of midgut catalase in Lepidopteran larvae against oxidative plant defenses, *J. Chem. Ecol.*, Vol. 17, pp. 1715-1732.
- Felton, G.W. and Summers, C.B.** (1995) Antioxidant systems in insects, *Arch. Insect Biochem.*, Vol. 29, pp. 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 State, *J. Exp. Anal. Env. Epid.*, Vol. 12, pp. 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*, Vol. 44, pp. 29-45.
- Fournier, D., Mutero, A., Pralavorio, M. and Bride, J.M.** (1993) *Drosophila* acetylcholinesterase: mechanisms of resistance to organophosphates, *Chem. Biol. Interact.*, Vol. 87, pp. 233-238.
- Fujita, A.** (2004) Lysozymes in insects: what role do they play in nitrogen metabolism? *Physiol. Entomol.*, Vol. 29, pp. 305-310.
- Gore, J.C. and Schal, C.** (2004) Laboratory evaluation of boric acid-sugar solutions as baits for management of German cockroach infestations, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 97, pp. 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 cockroach populations in livestock production system, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 97, pp. 715-720.
- Göze, İ., Yelkovan, İ., Bakır, S. and Çınar, Z.** (2001) The investigation of some enzyme levels in the kidney, spleen, heart and brain of rat to which diethylstilbestrol is administrated, *J. Pharmacy*, Ankara University, Vol. 30 (2), pp. 19-27.
- Grace, J.K.** (1991) Response of eastern and Formosan subterranean termites (Isoptera: Rhinoterminidae) to borate dust and soil treatments, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 84, pp. 1753-1757.
- Grenier, S., Delobel, B., and Bannot, G.** (1986) Physiological considerations of importance to the success of *in vitro* culture: an overview, *J. Insect Physiol.*, Vol. 32, pp. 403-408.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Grisaru, D., Sternfeld, M., Eldor, A., Click, D. and Soreg, H.** (1999) Structural roles of acetylcholinesterase variants in biology and pathology, *Eur. J. Biochem.*, Vol, 264, pp. 672-686.
- Gupta, P., Dillard, C.R. and Frekovich, S.M.** (1996b) Potential of an unnatural host, *G. mellonella* for rearing the corn earworm endoparasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 89, pp. 103-108.
- Gupta, P., Sloan, A., Dillard, C.R., and Ferkovich, S.M.** (1996a) Parasitism of factitious host, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) by an endoparasitoid: ovoposition and emergence of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae), *Fla. Entomol.*, Vol. 79 (2), pp. 221-229.
- 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 acetylcholinesterase and glutathione S- transferase activity, *Pestic. Biochem. Physiol.*, Vol. 84, pp. 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.*, Vol. 249, pp. 7130-7139.
- Halarankar, P.P. and Schooley, D.A.** (1995) A comparative catabolism study of isoleucine by insect and mammalian tissues, *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 110B, pp. 357-365.
- Halliwell, B.** (1994) Free radicals, antioxidant, and human disease: curiosity, Cause or Consequence *Lancet*. Vol, 344, pp. 721-724.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C.** (1999) Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd edn. Oxford University Press.
- Hamadain, E.I., and Chambers, H.W.** (2001) Susceptibility and mechanisms underlying the relative tolerance to five organophosphorus insecticides in tobacco budworms and corn earworms, *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 69, pp. 35-47.
- Hamimy, W., Ashour, E. and Afify, M.** (2004) Effect of regional epidural ropivacaine anesthesia on glutathione S-transferase: Comparison with low flow sevoflurane and total intravenous propofol anesthesia, *J. Biol. Sci.*, Vol. 4, pp. 398-404.
- 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.* Vol. 134, pp. 119-124.
- Heinle, H. and Betz, E.** (1994) Effects of dietary garlic supplementantation in rat model of atherosclerosis, *Arznei-for*, Vol. 44, pp. 614-617,

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.*, Vol. 29 (6), pp. 1108-1115.
- Hermes-Lima, M., Storey, J.M. and Storey, K.B.** (1998) Antioksidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails, *Com. Biochem. Physiol.*, Vol. 120B, pp. 437-448.
- Hogsette, J.A. and Koehler, P.G.** (1994) Repellency of aqueous solutions of boric acid and polybor 3 to house flies (Diptera: Muscidae), *J. Econ. Entomol.*, Vol. 87, pp. 1033-1037.
- Hultmark, D.** (1996) Insect Lysozymes, *Experientia. Suppl.*, Vol. 75, pp. 87-102.
- Hyršl, P. and Marex, M.** (1999) Influence of proleg ligature on the protein level in haemolymph of *Bombyx mori* L. larvae, *Biol. Bull. Poznań*, Vol. 36 (2), pp. 103-110.
- Ito, Y., Nakamura, M., Hotani, T. and Imoto, T.** (1995) Insect lysozyme from house fly (*Musca domestica*) larvae: possible digestive function based on sequence and enzymatic properties, *J. Biochem.*, Vol. 118, pp. 546-551.
- 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.*, Vol. 98, pp. 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.*, Vol. 18, pp. 337-341.
- Jarosz, J.** (1989) Simplified technique for preparing germ-free specimens of greater wax moth (Lepidoptera: Pyralidae) larvae, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 82, pp. 1478-1481.
- Jarosz, J. and Spiewak, N.** (1979) Comparative levels of lysozyme activity in larvae and pupae of *Galleria mellonella* after particulate and soluble materials injection, *Cytobios*, Vol. 26, pp. 203-219.
- Jolles, J., Schoentgen, F., Croizier, G., Croizier, L. and Jolles, P.** (1979) Insect lysozymes from three species of Lepidoptera: their structural relatedness to the C (Chicken) type lysozyme, *J. Mol. Evol.*, Vol. 14, pp. 267-271.
- Jolly, W.L.** (1991) Modern inorganic chemistry, 2nd Ed. McGraw-Hill, New York.
- Kanaoka, Y., Fujimori, K., Kikuno, R., Sakaguchi, Y., Urade, Y. and Hayaishi, O.** (2000) Structure and chromosomal localization of human and mouse genes for hematopoietic prostaglandin D synthase: conservation of the ancestral genomic structure of sigma-class glutathione S-transferase. *Europ. J. Biochem.*, Vol. 267, pp. 3315-3322.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.*, Vol. 88, pp. 672-679.
- Klotz, J.H., Vail, K.M. and Williams, D.F.** (1997) Toxicity of boric acid-sucrose water bait to *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae), *J. Econ. Entomol.*, Vol. 90, pp. 488-491.
- Kollien, A.H., Fechner, S., Waniek, P.J. and Schaub, G.A.** (2003) Isolation and characterization of a cDNA encoding for a lysozyme from the gut of the reduviid bug *Triatoma infestans*, *Arch Insect Biochem.*, Vol. 53, pp. 134-145.
- Kono, Y., Shishido, T.** (1992) Distribution of glutathione s-transferase activity in insect tissues, *Appl. Entomol. Zool.*, Vol. 27, pp. 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.*, Vol. 52, pp. 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.*, Vol. 63, pp. 1-10.
- Lang, J.T. and Treece, R.E.** (1972) Boric acid effects on face fly fecundity, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 65, pp. 740-741.
- Law, J.H. and Wells, M.A.** (1989) Insects as biochemical models, *J. Biol. Chem.*, Vol. 264, pp. 16335-16338.
- Lee, W.J. and Brey, P.T.** (1995) Isolation and characterization of the lysozyme-encoding gene from the silkworm *Bombyx mori*, *Gene.*, Vol. 161, pp. 199-203.
- Lemos, F.J. and Terra, W.R.** (1991) Digestion of bacteria and the role of midgut lysozyme in some insect larvae, *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 100B, pp. 256-268.
- 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.*, Vol. 32, pp. 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.*, Vol. 93 (2), pp. 234-239.
- Lockey, T.D., and Ourth, D.D.** (1996) Purification and characterization of lysozyme from hemolymph of *Heliothis virescens* larvae, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 220, pp. 502-508.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Lopez, J.D.Jr., Bull, D.L. and Lingren, P.D.** (1996) Feeding of adult *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) on dry sucrose, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 89 (1), pp. 119-123.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.L., Farr, A.L. and Randall, R.J.** (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, Vol. 19, p. 265.
- Malke, H.** (1965) On the presence of lysozyme in insects, *Z. Allg. Microbiol.*, Vol. 5, pp. 42-47.
- 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.*, Vol. 43 (1), pp. 1-8.
- Manduzio, H., Rocher, B., Durand, F., Galap, C. and Leboulenger, F.** (2005) The point about oxidative stress in molluscs, *Invertebrate Survival Journal*, Vol. 2, pp. 91-104.
- Mathews, M.C., Summers, C.B. and Felton, G.W.** (1997) Ascorbate peroxidase: a novel antioxidant enzyme in insects, *Arch. Insect Biochem.*, Vol. 34, pp. 57-68.
- Miota, F., Scharf, M.E., Ono, M., Marcon, P., Meinke, L.J., Wright, R.J., Chandler, L.D. and Siegfried, B.D.** (1998) Mechanisms of methyl and ethyl parathion resistance in the western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae), *Pestic. Biochem. Phys.* Vol. 61, pp. 39-52.
- 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.* Vol. 384 (3), pp. 463-472.
- Mohrig, W. and Messner, B.** (1968) Lysozyme as antibacterial agent in honey and bees venom, *Acta. Biol. Med. Ger.* Vol. 21, pp. 85-95.
- 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.*, Vol. 85, pp. 137-143.
- 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*, Vol. 42, p. 157-167.
- Nielsen, S.A. and Toft, S.** (2002) Responses of a detoxification enzyme to diet quality in the wolf spider, *Pardosa prativaga*, ed. S. Toft and N. Scharff, *European Arachnology*, Aarhus University Pres, Aarhus, pp. 65-70.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.
- O'Brien, M.L. and Tew, K.D.** (1996) Glutathione and related enzymes in multidrug resistance, *Europ J. Cancer*, Vol. 32, pp. 967-978.
- Oruç E.Ö. and Üner N.** (2000) Combined effects of 2,4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus*, *Comp. Biochem. Phys.*, Vol. 127, pp. 291-296.
- Parenti, P., Giordana, B., Sacchi, V.F., Hanozet, G.M. and Guerritore, A.** (1985) Metabolic activity related to the potassium pump in the midgut of *Bombyx mori* larvae, *J. Exp. Biol.*, Vol. 116, pp. 69-78.
- Parker, J.D., Parker, K.M. and Keller, L.** (2004) Molecular phylogenetic evidence for an extracellular Cu Zn superoxide dismutase gene in insects, *Insect Mol. Biol.*, Vol. 13, pp. 587-594.
- 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*, Vol. 36, pp. 1007-1014.
- Patil, J.A., Patil, A.J. and Govindwar, S.P.** (2003) Biochemical effects of various pesticides on sprayers of grape gardens, *Indian J. Clin. Biochem.*, Vol. 18, pp. 16-22.
- 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.*, Vol. 43, pp. 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.*, Vol. 51, pp. 283-297.
- Pohlon, E. and Baldwin, I.T.** (2001) Artificial diets 'capture' the dynamics of jasmonate-induced defenses in plants, *Entomol. Exp. Appl.*, Vol. 100, pp. 127-130.
- Powning, R.F. and Davidson, W.J.** (1973) Studies on insect bacteriolytic enzymes. I. Lysozyme in haemolymph of *Galleria mellonella* and *Bombyx mori*, *Comp. Biochem Physiol.* Vol. 45B, pp. 669-81.
- Punzo F.** (1993) Detoxification enzymes and the effects of temperature on the toxicity of pyrethroids to the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 105, pp 155–158.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ranson, H., Jensen, B., Wang, X., Prapanthadara, L., Hemingway, J. and Collins, F.H.** (2000) Genetic mapping of two loci affecting DDT resistance in the malaria vector, *Anopheles gambiae*, *Insect Mol. Biol.*, Vol. 9, pp. 499-507.
- Regel, R., Matioli, S.R., and Terra, W.R.** (1998) Molecular adaptation of *Drosophila melanogaster* lysozymes to a digestive function, *Insect Biochem Biol.*, Vol. 28, pp. 309-319.
- 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.*, Vol. 83, pp. 790-794.
- Roberts, S.P., and Feder, M.E.** (1999) Natural hyperthermia and expression of the heat shock protein Hsp 70 affect developmental abnormalities in *Drosophila melanogaster*, *Oecologia*, Vol. 121, pp. 323-329.
- Rosenthal, P.** (1997) Assessing liver function and hyperbilirubinemia in the newborn, *Clin. Chem.*, Vol. 43, pp. 228-234.
- Saraswathy, S.D., Suja, V., Gurumurthy, P. and Shyamala Devi, C.S.** (1998) Effect of Liv.100 against antitubercular drugs (Isoniazid, rifampicin and pyrazinamide) induced hepatotoxicity in rats, *Indian J. Pharmacol*, Vol. 30, pp. 233-238.
- Schaeffer, F. and Stainer, R.Y.** (1978) Glucose-6-phosphate dehydrogenase, kinetics and molecular properties, *Arch. Microbiol.*, pp. 116-119.
- Scharf, M.E., Lee, C.Y., Neal, J.J. and Bennett, G.W.** (1999) Cytochrome P450 MA expression in insecticide-resistant german cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae), *J. Econ. Entomol.*, Vol. 92, pp. 788-793.
- 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.*, Vol. 26, pp. 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.*, Vol. 62, pp. 375-383.
- Sheenhan D., Meade G., Foley, V.M. and Dowd, C.A.** (2001) Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily, *Biochem. J.*, Vol. 360, pp. 1-16.
- Sidlova, K., Skalicka, V., Kotaska, K., Pechova, M., Chada, M., Bartosova, J., Hrial, Z., Nevoral, J., Vavrova, V. and Prusa, R.** (2003) Glutathione S-transferase as a sensitive marker of hepatocellular serum damage in patients with cystic fibrosis, *Physiol. Res.*, Vol. 52, pp. 361-365.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Singh, P. and House, H.L.** (1970a) Antimicrobials. "Safe" levels in a synthetic diet of an insect, *Agria affinis*, *J. Insect Physiol.*, Vol. 16, pp. 1769-1782.
- Singh, P. and House, H.L.** (1970c) Antimicrobial agents: their detrimental effects on size of an insect, *Agria affinis*, *Can. Entomol.*, Vol. 102, pp. 1340-1344.
- 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.*, Vol. 268, pp. 2912-2923.
- Sívori, 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*, Vol. 92 (6) , pp. 797-802.
- Slansky, F.Jr. and Scriber, J.M.** (1985) Food consumption and utilization. *Compr. Insect Phys., Biochemistry and Pharmacology IV.*, edn. G.A Kerkut and L.I Gilbert, Pergamon Press, Oxford, Vol. 4, pp. 87-163.
- Snedecor, G.S. and Cochran, W.G.** (1989) Statistical methods, 8th edn., Iowa State University Press, Ames, IA.
- 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.*, Vol. 19, pp. 499-504.
- SPSS.** (1997) User's manual, version 10. SPSS, Chicago, IL.
- 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*, Vol. 161, pp. 661-672.
- Suwalsky, M., Ramos, P., Villena, F., Cardenas, H., Norris, B., Cuevas, F. and Sotomayer, C.P.** (2001) The organophosphorus insecticide parathion changes properties of natural and model membranes, *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 70, pp. 74-85.
- Syvanen, M., Zhou, Z., Wharton, J., Goldsberry, C. and Clark, A.** (1996) Heterogeneity of the glutathione transferase genes encoding enzymes responsible for insecticide degradation in the housefly, *J. Mol. Evol.*, Vol. 43, pp. 236-240.
- Terra, W.R.** (1990) Evolution of digestive systems of insects, *Ann. Rev. Entomol.*, Vol. 35, pp. 181-200.
- Theophilis, G.** (1997) Validation of the synaptic depression in the central nervous system of the *Locusta migratoria* caused by an organophosphate (Paraoxon) insecticide, *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 57, pp. 171-180.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.*, Vol. 42, pp. 26-36.
- Tunaz, H., Park, Y., Büyükgüzel, K., Bedick, J.C., Nor Aliza, A.R. and Stanley, D.W.** (2003) Eicosanoids in insect immunity: Bacterial infection stimulates hemocytic phospholipase A₂ activity in *Tobacco hornworms*, *Arch. Insect Biochem.*, Vol. 52 (1), pp. 1-6.
- Ursic bedoya, R.J., Mitzey, A.M., Obratsova, M. and Lowenberger, C.** (2005) Molecular cloning and transcriptional activation of lysozyme-encoding cDNAs in the mosquito *Aedes aegypti*, *Insect Mol. Biol.*, Vol. 14, pp. 89-94.
- Ursini, F., Maiorino, M., Valente, M., Feri, L. and Gregolin, C.** (1982) Purification from pig liver of a protein which protects liposomes and biomembranes from peroxidative degradation and exhibits glutathione peroxidase activity on phosphatidylcholine hydroperoxides, *Biochim. Biophys. Acta.*, Vol. 710, pp. 197-211.
- Vasseur, P. and Leguille, C.** (2004) Defense systems of benthic invertebrates in response to environmental stressors, *Environ. Toxicol.*, Vol. 19, pp. 433-436.
- Verma, K.V.S. and Rahman, S.J.** (1984) Comparative efficacy of synthetic pyrethroids, natural pyrethroids and DDT against mosquito larvae, *J. Commun Dis.*, Vol. 16, pp. 144-147.
- Villate, F., Ziliani, P., Marcel, V., Menozzi, P. and Fournier, D.** (2000) A high number of mutations in insect acetylcholinesterase may provide a z insecticide resistance. *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 67, pp. 95-102.
- Vontas, J.G., Small, G.J. and Hemingway, J.** (2001) Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*, *Biochem. J.*, Vol. 357, pp. 65-72.
- Wadleigh, R.W.** (1988) Metabolism of an organothiocyanate allelochemical by glutathione transferase in three lepidopterous insects, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 81, pp. 776-780.
- Wang, J.J., Cheng, W.X., Ding, W., Zhao Z.M.** (2004) The effect of the insecticide dichlorvos on esterase activity extracted from the psocids, *Liposcelis bostrychophila* and *L. entomophila*, *J. Insect Sci.*, Vol. 4, pp. 23.
- 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.*, Vol. 95, pp. 563-569.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Wei, S.H., Clark, A.G. and Syvanen, M.** (2001) Identification and cloning of a key insecticide-metabolizing glutathione S-transferase (MdGST-6A) from a hyper insecticide-resistant strain of the housefly *Musca domestica*, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, Vol. 31, pp. 1145-1153.
- Weir, R.J.Jr. and Fisher, R.S.** (1972) Toxicologic studies on borax and boric acid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, Vol. 23, pp. 351-364.
- Wiedenmann, R.N., Smith, J.W. and Darnell, P.O.** (1992) Laboratory rearing and biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host, *Environ. Entomol.*, Vol. 21, pp. 1160-1167.
- Wilce, M.C. and Parker, M.W.** (1994) Structure and function of glutathione S-transferases, *Biochem. Biophys. Acta.*, Vol. 1205, pp. 1-18.
- Xue R.D. and Barnard D.R.** (2003) Boric acid bait kills adult mosquitoes (Diptera: Culicidae), *J. Econ. Entomol.*, Vol. 96, pp. 1559-1562.
- Yang, L.K., Nigg, H.N., Simpson, S.E., Ramos, L.E., Cuyler, N.W., Barnes, J.I. and Gren, C.G.** (2000) Sodium tetraborate effects on mortality and reproduction of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae), *J. Econ. Entomol.*, Vol. 93, pp. 1485-1492.
- Yu, S.J.** (1993) Induction of detoxification enzymes in phytophagous insects: Roles of insecticide synergists, larval age, and species, *Arch. Insect Biochem.*, Vol. 24, pp. 21-32.
- Yu, S.J.** (1996) Insect glutathione-S-transferase, *Zool. Stud.*, Vol. 35, pp. 9-19.
- Yu, S.J.** (2004) Induction of detoxification enzymes by triazine herbicides in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, *Pestic. Biochem. Phys.*, Vol. 80, pp. 113-122.
- Zalucki, M.P., Clarke, A.R. and Malcolm, S.B.** (2002) Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera, *Ann. Rev. Entomol.*, Vol. 47, pp. 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.*, Vol. 26, pp. 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.*, Vol. 60, pp. 84-92.
- Zhou, H.A. and Syvanen, M.** (1997) A complex glutathione transferase gene family in the housefly *Musca domestica*, *Mol. Gen. Genet.*, Vol. 256, pp. 187-198.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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.*, Vol. 54, pp. 131-140.
- Zubay, G.** (1993) *Biochemistry*. 3rd. edn. Wm. C. Brown Publishing Company, Kerper, Boulevard, Dubuque, IA, USA.
- 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.*, Vol. 96, pp. 1362-1366.

ÖZGEÇMİŞ

Yonca DURMUŞ 1980’de Zonguldak’ta doğdu; İlk ve orta öğrenimini aynı şehirde tamamladı. Zonguldak Mehmet Çelikel Lisesi’nden mezun olduktan sonra 1998 yılında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’ne girdi; 2002 yılında iyi derece ile mezun olduktan sonra aynı yıl girdiği Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji Laboratuvarları’nda üç yıl süreyle çalıştı. 2005 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı. 2004 yılında girdiği ZKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Programını sürdürmektedir. 2006-2007 bahar döneminde Socrates-Erasmus öğrenci değişimi programı kapsamında Çek Cumhuriyeti Masaryk Üniversitesi, Fen Fakültesi Hayvan Fizyolojisi ve İmmünoloji Bölümü Deneysel Biyoloji Enstitüsü’nde bulunmaya hak kazanmıştır.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres: Bahçelievler mah. Işık Yönder cad.

Apt. No: 10 Kat: 1 Daire: 1 67100

ZONGULDAK

Tel : (372) 257 67 24

E-posta: yonca_yilmaz@hotmail.com

Yonca DURMUŞ