

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Hüda YAZICI PİROĞLU

KADMİYUM VE KADMİYUM+VİTAMİN E’NİN *Galleria mellonella* L’nin BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA 2020

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KADMİYUM VE KADMİYUM+VİTAMİN E'NİN *Galleria mellonella*
L.'nin BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Hüda YAZICI PİROĞLU

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 23/06/2020 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oy Birliği ile
Kabul Edilmiştir.

.....
Dr. Öğr. Üyesi Pınar ÖZALP
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Ramazan BİLGİN
ÜYE

.....
Doç. Dr. Mustafa COŞKUN
ÜYE

.....
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet SULANÇ
ÜYE

.....
Dr. Öğr. Üyesi Benay TUNÇSOY
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod. No.:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

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

ÖZ

DOKTORA TEZİ

**KADMIYUM VE KADMIYUM+VİTAMİN E’NİN *Galleria mellonella*
L.’nin BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Hüda YAZICI PİROĞLU

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

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Pınar ÖZALP
Yıl: 2020, Sayfa: 73
Juri : Dr. Öğr. Üyesi Pınar ÖZALP
: Prof.Dr. Ramazan BİLGİN
: Doç. Dr. Mustafa COŞKUN
: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet SULANÇ
: Dr. Öğr. Üyesi Benay TUNÇSOY

Sunulan çalışmada kadmiyumun farklı konsantrasyonlarının (0.05, 0.1, 0.5, 1.0 mg/ml) ve kadmiyum + vitamin E karışımlarının (125µL,250 µL,500 µL,1000 µL) *Galleria mellonella*’nın sentezlediği protein ve glikojen miktarlarına etkileri ile süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri araştırılmıştır. *Galleria mellonella* larvalarında Cd tek başına kullanıldığında, protein miktarında önemli bir fark gözlenmezken, Cd ile birlikte vitamin E uygulandığında protein miktarında azalma gözlenmiştir. Glikojen miktarı Cd ve Cd+vitamin E’nin artan konsantrasyonlarında azalma göstermiştir. CAT ve SOD aktiviteleri, Cd’un artan konsantrasyonlarında azalış gösterirken, Cd ile birlikte vitamin E uygulandığında, CAT aktivitesinde %0.1 ve %1.0 mg/ml konsantrasyonlarda azalma gözlenmiş, SOD aktivitesinde ise kontrole göre önemli bir fark gözlenmemiştir. Elde edilen sonuçlara göre kadmiyumun artan konsantrasyonlarının *Galleria mellonella* larvalarının biyolojik parametrelerini olumsuz etkilediği, vitamin E ilavesinin ise kadmiyumun toksik etkisini azaltıcı bir etki yapmadığı gözlenmiştir.

AnahtarKelimeler *Galleria mellonella*, Biyokimyasal parametreler, Kadmiyum, Vitamin E

ABSTRACT

PhD THESIS

EFFECTS OF CADMIUM AND CADMIUM+VITAMIN E ON SOME BIOLOGICAL PARAMETRES ON *Galleria mellonella* L.

Hüda YAZICI PİROĞLU

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Supervisor : Asst. Prof. Dr Pınar ÖZALP
Year: 2020, Page 73
Jury : Asst. Prof. Dr Pınar ÖZALP
: Prof.Dr. Ramazan BİLGİN
: Assoc. Prof. Dr. Mustafa COŞKUN
: Asst. Prof. Dr. Mehmet SULANÇ
: Asst. Prof. Dr Benay TUNÇSOY

In the presented study, the effects of different concentrations of cadmium (0.05, 0.1, 0.5, 1.0 mg / ml) and cadmium + vitamin E mixtures (125 µL, 250 µL, 500 µL, 1000 µL) on the protein and glycogen amounts synthesized by *Galleria mellonella* (SOD) and catalase (CAT) activities were investigated. In *Galleria mellonella* larvae, when Cd is used alone, there is no significant difference in the amount of protein, while vitamin E is applied together with Cd, a decrease in the amount of protein. The amount of glycogen has decreased in increasing concentrations of Cd and Cd + vitamin E. While CAT and SOD activities decreased in increasing concentrations of Cd, when vitamin E was applied with Cd, a decrease in 0.1% and 1.0% mg / ml concentrations in CAT activity was observed, while no significant difference was observed in SOD activity compared to control. According to the results obtained, it has been observed that increasing concentrations of cadmium negatively affect the biological parameters of *Galleria mellonella* larvae, and the addition of vitamin E does not reduce the toxic effect of cadmium.

Key Words: *Galleria mellonella*, Biological parametres, Cadmium, Vitamin E

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Kentsel yaşamın başlamasıyla birlikte çevre kirliliği sorunu ortaya çıkmış ve endüstrinin gelişimi ile birlikte önüne geçilemez duruma gelmiştir. Son yıllarda artan nüfus yoğunluğuna bağlı olarak büyüyen çevre kirliliği, canlılar için hayati kaynakların bozulmasına neden olmuş ve ekolojik dengenin hasarı giderek daha ciddi boyutlara ulaşmıştır. Çevre kirliliğinin en büyük sebeplerinden biri ağır metallerdir. Ağır metaller doğal kaynakların (volkanlar, erozyon, kaynak suları, bakteri aktivitesi) ve antropojenik aktivitelerin (fosil yakıt kullanımı, endüstriyel-tarımsal işlemler) bir sonucu olarak çevreye dağılırlar ve çevre kirlenmesine neden olurlar. Bununla birlikte doğada yaşayan canlılar bu metalleri bünyelerine alarak besin zincirine de katarlar.

Sunulan çalışmada *G. mellonella* larvalarına 48 saatlik süre boyunca, artan konsantrasyonlarda kadmiyum (%0.05, %0.1, %0.5, %1.0 mg/ml) ve kadmiyum ile birlikte vitamin E uygulaması sonucunda birey başına düşen yüzde protein, yüzde glikojen miktarı ile SOD ve CAT enzim aktiviteleri incelenmiştir.

Kadmiyumun artan konsantrasyonlarının besine ilave edilmesi sonucu larvalarda birey başına düşen yüzde protein miktarında önemli bir fark gözlenmemiş, kadmiyumun vitamin E ile birlikte uygulanması sonucunda ise tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna göre azalma gözlenmiştir.

Çalışmamızda kadmiyum ve Cd + vitamin E'nin artan konsantrasyonlarda uygulanması sonucu birey başına düşen yüzde glikojen miktarında tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna oranla azalma tespit edilmiştir.

Kadmiyumun artan konsantrasyonlarında CAT aktiviteleri tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna oranla azalma göstermiştir. Kadmiyumun vitamin E ile birlikte uygulanması sonucunda ise %0.1 ve %1.0 lik grupta kontrole göre azalma meydana gelirken, diğer konsantrasyonlarda önemli bir fark gözlenmemiştir.

SOD aktivitesi, kadmiyumun artan konsantrasyonları uygulanan tüm gruplarında kontrol grubuna göre azalma göstermiş, kadmiyum ile birlikte vitamin E uygulandığında ise istatistiki bir fark gözlenmemiştir.

Sonuç olarak, ağır metal olan kadmiyumun hücreler tarafından absorbe edilerek glikojen ve protein metabolizması üzerinde olumsuz etkiler yaptığı gözlenmiştir. Hücrelere giren kadmiyum mitokondri faaliyetlerine ve epitel hücrelerinin emilim yapmasına engel olmuş, bunun sonucunda da glikojen miktarı artan kadmiyum konsantrasyonlarında inhibe olmuştur.

SOD ve CAT enzim aktiviteleri de kadmiyumdan olumsuz etkilenmiş, enzim faaliyetleri inhibe olmuştur. Kadmiyum konsantrasyonları arttıkça hücre metabolizması bozulmuş, hücre yeterince beslenememiş ve protein sentezi etkilendiği için enzim sentezi de inhibe olmuştur. Güçlü bir antioksidan olan vitamin E'nin ise kadmiyumun toksik etkisine karşı, enzim aktivitesinde önemli bir değişime sebep olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Sunulan çalışmada, kadmiyum ve Vit. E'nin *G. mellonella* larvaları üzerinde etkileri incelenerek kadmiyumun bu türün morfolojik ve fizyolojik özellikleri üzerinde yaptığı değişimler gözlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince değerli bilgisini, birikimini ve tecrübelerini benimle paylaşarak bana yol gösterici olan ve her konuda desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Ç.Ü Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyelerinden Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pınar ÖZALP'e içtenlikle teşekkür ederim. Ayrıca bu yola ilk çıktığımda her zaman benim yanımda olan, çalışmayı yöneten ilk danışman hocam Sayın Prof. Dr. İskender Emre'ye teşekkürü bir borç bilir Allahtan rahmet dilerim.

Ayrıca değerli bilgi ve birikimlerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Ramazan BİLGİN, Sayın Doç. Dr. Mustafa COŞKUN, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet SULANÇ ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Benay TUNÇSOY'a teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmalarım ve deneylerim süresince yanımda olan ve benden desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Zehra BOLAT'a ve diğer laboratuvar arkadaşlarıma içtenlikle teşekkür ederim.

Son olarak her zaman olduğu gibi doktora eğitimim süresince de benim yanımda olan sevgili eşim Ertuğ PİROĞLU'na, oğlum Gökтуğ PİROĞLU'na ve bu günlere gelmemde çok emeği olan sevgili aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ	1
1.1. Ağır Metaller.....	5
1.1.1. Kadmiyum.....	7
1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri	8
1.2.1. Reaktif oksijen türleri (ROT)	9
1.2.2. Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri	10
1.2.3. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri	10
1.2.4. Serbest Radikallerin Lipidler üzerine Etkileri.....	11
1.2.5. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkisi.....	12
1.2.6. Oksidatif Stres	12
1.2.7. Süperoksit dismutaz (SOD).....	15
1.2.8. Katalaz (CAT)	16
1.2.9. Vitamin E (Tokoferol).....	16
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	19
3. MATERYAL METOD	27
3.1. Materyal	27
3.1.1. Stok Kültürün Hazırlanması, <i>Galleria mellonella</i> Larvalarının Elde Edilmesi	27
3.1.2. Deney Besinlerinin Hazırlanması.....	27

3.1.3. Deneyde Kullanılan Larvaların Elde Edilmesi.....	28
3.2. Metod	28
3.2.1. Böceklerin Homojenizasyonu	28
3.2.2. Biyokimyasal Analizler.....	28
3.2.2.1. Protein Miktarının Tayini	28
3.2.2.2. Glikojen Miktarının Tayini.....	30
3.2.2.3. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini	32
3.2.2.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini	33
3.2.3. Verilerin Değerlendirilmesi.....	36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	37
4.1. Bulgular.....	37
4.1.1. Cd ve Cd + Vit E'nin Protein Miktarı Üzerine Etkileri.....	37
4.1.2. Cd ve Cd + Vit. E'nin Glikojen Miktarına Etkileri.....	40
4.1.3. Cd ve Cd + Vit. E'nin CAT Aktivitesi Üzerine Etkileri	43
4.1.4. Cd ve Cd + Vit. E'nin SOD Aktivitesi Üzerine Etkileri	46
4.2. Tartışma	49
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	57
KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ	73

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1.	Lowry ve ark. (1951) protein miktarı ölçüm prosedürü.....	29
Çizelge 3.2.	Van Handel (1985) glikojen miktarı ölçüm prosedürü	31
Çizelge 3.3.	Aebi (1984) CAT aktivitesi ölçüm prosedürü	32
Çizelge 4.1.	Farklı Cd konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın birey başına düşen yüzde protein miktarına etkileri.....	37
Çizelge 4.2.	Farklı Cd + Vit E konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın birey başına düşen yüzde protein miktarına etkileri	39
Çizelge 4.3.	Farklı Cd konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın birey başına düşen yüzde glikojen miktarına etkileri.....	40
Çizelge 4.4.	Farklı Cd + Vit E konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın birey başına düşen yüzde glikojen miktarına etkileri.....	42
Çizelge 4.5.	Farklı Cd konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın CAT aktivitesi üzerine etkileri.....	43
Çizelge 4.6.	Farklı Cd + Vit E konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın CAT aktivitesi üzerine etkileri.....	45
Çizelge 4.7.	Farklı Cd konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın SOD aktivitesi üzerine etkileri.....	46
Çizelge 4.8.	Farklı Cd + Vit E konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın SOD aktivitesi üzerine etkileri.....	48



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil. 1.1	<i>Galleria mellonella</i> larvaları.....	4
Şekil. 1.2.	<i>Galleria mellonella</i> 'nın peteklere verdiği hasar	4
Şekil. 1.3.	Ağır metallerin hücre içi etkileri (Özbolet G., Tulin A., 2016)	6
Şekil. 1.4.	Metallerin Çevresel Etkileri (John H. Duffus, 1980).....	7
Şekil 1.5.	Oksidatif Denge (Özcan O., 2015).....	13
Şekil 1.6.	Alfa tokoferolün moleküler yapısı	16
Şekil 4.1.	Farklı Cd konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın birey başına düşen yüzde protein miktarına etkileri.....	38
Şekil 4.2.	Farklı Cd + Vit E konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın birey başına düşen yüzde protein miktarına etkileri.....	39
Şekil 4.3	Farklı Cd konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın birey başına düşen yüzde glikojen miktarına etkileri.....	41
Şekil 4.4.	Farklı Cd + Vit E konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın birey başına düşen yüzde glikojen miktarına etkileri.....	42
Şekil 4.5.	Farklı Cd konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın CAT aktivitesi üzerine etkileri	44
Şekil 4.7.	Farklı Cd konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın SOD aktivitesi üzerine etkileri	47
Şekil 4.8.	Farklı Cd + Vit E konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın SOD aktivitesi üzerine etkileri.....	48



SİMGELER VE KISALTMALAR

gr	: gram
mg	: miligram
ml	: mililitre
sn	: saniye
ADS	: Antioksidan Savunma Sistemi
Al	: Aliminyum
ATP	: Adenozintrifosfat
Cd	: Kadmiyum
CdCl ₂	: Kadmiyumklorür
°C	: santigrad derece
cm	: santimetre
Cr	: Krom
Cu	: Bakır
CAT	: Katalaz
dk	: dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DZN	: Diazinon
Fe	: Demir
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon –S-Transferaz
Hg	: Civa
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
H ₂ O	: Su
IgG	: İmmunglobulin G
LPO	: Lipid peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit

M	: molarite
MSC	: Mezenşimal kök hücresi
NADPH	: Nikotinamid adenindinükleotid fosfat
NaOH	: Sodyumhidroksit
O ₂	: Oksijen
OH ⁻	: Hidroksil radikali
Pb	: Kurşun
PCO	: Protein karbonil
ROT	: Reaktif oksijen türleri
-SH	: Sülfhidril grubu
SOD	: Süperoksit dismutaz
UV	: Ultraviyole
VİT E	: Vitamin E
µL	: Mikrolitre
Zn	: Çinko

1. GİRİŞ

Son yıllarda artan çevre kirliliği ekosistemi kötü etkileyen faktörlerin başında gelmektedir. Çevre kirliliğine sebep olan en önemli faktör ise hava, su ve toprak kirliliğine yol açan ve canlılar için toksik etki oluşturan ağır metallerdir. olmaları, ekosistemlerde olumsuz etki göstermeleri ve canlıların besin zincirine kolaylıkla dahil olmaları sebebiyle doğada bulunan kirleticiler arasında oldukça fazla önem taşırlar (Ortel 1995a).

Ağır metaller biyolojik süreçlere dahil olma şekline göre canlılar için hayati ve hayati olmayan olarak adlandırılırlar. Hayati önem taşıyanların canlı vücudunda eser miktarda bulunması önemli olup birçok kimyasal reaksiyonun gerçekleşmesini sağladıkları için günlük olarak besin yoluyla alınması şarttır. Örnek olarak ağır metallere olan bakır insanlarda olduğu gibi birçok canlı türünde de alyuvarlarda ve vücudun farklı yerlerinde oksidasyon gibi kimyasal tepkimelerinin vazgeçilmez parçasıdır (Kostić ve ark.; 1993). Fakat hayati öneme sahip olmayan ağır metallerin organizmada eser miktarda bulunması bile canlının biyolojik faaliyetlerini engelleyebilmekte ve birçok sağlık sorunlarına da yol açabilmektedir (Rodrigues ve ark.; 2008). Bir ağır metalin canlı için gerekli olup olmadığı canlı türleri arasında da farklılık gösterebilir. Bazı organizmalarda ağır metallerin etkisi canlı vücudundaki derişimine bağlı olarak değiştiğinden dolayı bu tür organizmalarda metallerin vücuttaki yoğunluğu göz önünde bulundurulmalıdır. Ağır metaller genel olarak organizmada belli bir derişimin üzerine çıktıklarında toksik etkiler yaratırlar (Shukla ve ark.; 1989). Buna karşın ağır metallerin organizmada yalnızca konsantrasyon yüksekliğine bağlı olarak değil aynı zamanda canlı türü ve metal iyonunun kimyasal yapısı, çözünürlük değeri, redoks ve kompleks oluşturma yeteneği, vücuda alınış şekline, çevrede bulunma sıklığına, lokal pH değeri gibi özelliklerine göre de toksik etki yaratmasında etkili olduğu çalışmalar sonucu gösterilmiştir (Weismann ve ark.; 1993b). Doğada canlılar için

yaşamsal olmayıp toksik etkileri olan birçok metal bulunmakla birlikte en tehlikeli olanlarından biri kadmiyumdur (Kocaoba , 2018).

En tehlikeli ağır metallerden olan kadmiyum hem sularımızda hem de atmosferde bulunabilmektedir. Özellikle fabrika atıkları ya da lağım sularının nehirlerle dökülmesi yolu ile sularımıza karıştığı gibi; madencilik, bazı metallerin eritilmesi, demir-çelik üretimi, fosil yakıtların kullanımı ve endüstriyel atık yakma sonucunda da atmosfere karışmaktadır (Fariss; 1991).

Doğada farklı şekillerde bulunan ve çeşitli yollarla organizmaya alınan kadmiyum canlı vücudundan atılamadığı için organizma üzerinde çeşitli biyolojik zararlar oluşturmaktadır (Jensen ve ark., 1992). Bu etkinin görüldüğü en önemli canlı gruplarından biri de böceklerdir. Kadmiyum, kurşun, bakır ve çinko gibi ağır metaller böceklerin hemolenf içeriğinde ve serbest aminoasit oluşumunda azalmaya sebep olarak toksik etki yaratmaktadır(Ortel, 1995b). Ayrıca bu metaller canlıda yüksek yoğunlukta bulunduklarında hemolenf ve dokularda karbohidrat seviyelerinde de değişikliklere sebep olmaktadır (Ortel, 1996).

Yaşamları boyunca ağır metallerin zararlı etkilerine maruz kalan böceklerin, bu maddeleri metabolize edecek veya zararlarını azalacak mekanizmalara sahip olmaları, zamanla var olan mekanizmaların daha da dirençli hale gelmesi, yararlı türlerin varlıklarını devam ettirebilmelerinde çok önemlidir. Böcekler kimyasalların neden olduğu toksik etkinin ortadan kaldırılmasına yönelik detoksifikasyon mekanizmasına sahiptir. Bu mekanizmaların en önemlilerinden biri olan antioksidan savunma sistemleri toksik maddelerin zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasında önemli rol oynarlar. Bu antioksidan savunma sistemin başında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutathion peroksidaz (GSH-Px) ve glutathion reduktaz gibi enzimlerle, vitamin E, beta-karoten, metallothionein, melatonin, bilirubin gibi moleküller gelmektedir (Mercan, 2004).

En önemli antioksidanlar arasında sayılan E vitamini bitki kökenli olup gereksinimi duyulan hayvanlar tarafından tüm yaşamları süresince dışarıdan alınmak zorunda oldukları bir besin bileşenidir. E vitamini, tokoferol ve

tokotrienoller olarak birbirinde farklı biyolojik aktiviteleri olan iki gruptan oluşmaktadır (Fraenkel ve ark.; 1946).

Doğada gün geçtikçe artan ağır metal birikimi, bunların canlılar üzerindeki zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için son yıllarda biyolojik mücadele yöntemleri büyük önem kazanmıştır. Çünkü kimyasal mücadele ülkeler için ekonomik yük oluşturduğu gibi aynı zamanda da ekolojik dengenin bozulmasına sebep olarak çevre kirliliğini büyük ölçüde arttırmaktadır. Özellikle son yıllarda bu konu ile ilgili bilimsel çalışmalar hız kazanmış olup zararlı türler laboratuvar ortamlarında kültüre alınarak yaşamsal faaliyet ve fizyolojileri ile birlikte yaşam evrelerindeki metabolik olayların moleküler düzeyde incelenmesine de olanak sağlanmıştır (Büyükgüzel ve ark. 2007; Tunaz ve ark., 2003). Böylelikle mücadele için kullanılan kimyasalların doğal çevreye ve diğer canlı türlerine etkileri önceden belirlenebilmektedir.

G. mellonella L. larvaları fizyolojik çalışmalar için laboratuvar ortamında kullanılan önemli türlerdendir. Arı kovanındaki peteklere ve diğer ürünlere zarar verdiği için arıcılık sektörü için oldukça önemli olan bu tür önemli ekonomik kayıplara yol açmakta , petekler üzerinde yerleşerek verimin düşmesine neden olmaktadır (Tutkun ve ark.; 1987). Bu tür canlılar ile biyolojik mücadele yöntemleri uygulanarak çevreye ve diğer canlılara verdiği zarar en aza indirilebilir (Haewoon ve ark.; 1995).Biyolojik mücadele için öncelikle bu türün parazitoidinin bulunması ve uygun koşullarda fazla sayıda üretilmesi gereklidir. Ayrıca kitle halinde üretilen böceğin morfolojik, kimyasal ve fizyolojik özelliklerinin de biliniyor olması önemlidir (Aktümsek, 2000). *G. mellonella* laboratuvar ortamında sıklıkla kullanılan türlerden biridir, çünkü insan ve hayvanlarda enfeksiyon oluşturan bazı küf, mantar ve bakterilerin patojenitesini belirlemede memeli deney hayvanlarına alternatif omurgasız bir konukçu model sistemi olarak (Altıncicek ve ark., 2007; Joyce et al., 2010) ve böcek-insektisit etkileşimi ile ilgili biyokimyasal ve fizyolojik çalışmalar için model olarak kullanılabilen oldukça uygun bir böcektir (Büyükgüzel ve ark.; 2007).



Şekil 1.1 *G. mellonella* (larva)



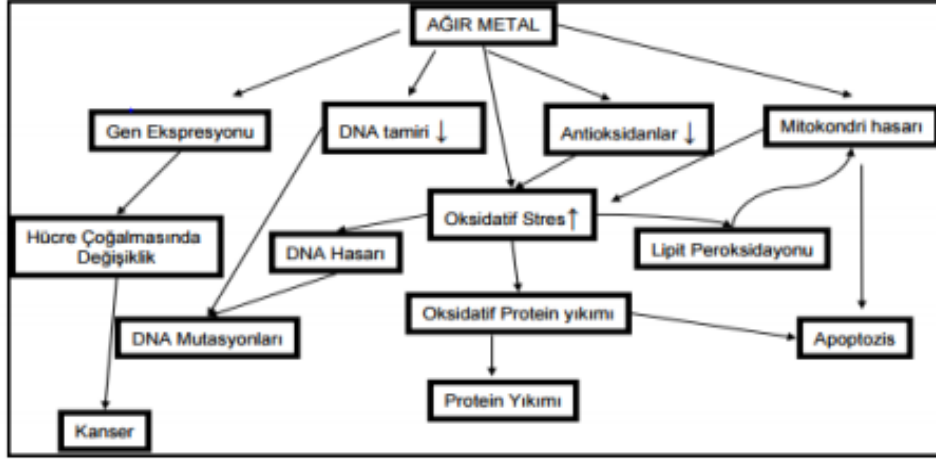
Şekil 1.2. *G. mellonella* larvalarının peteklere verdiği hasar

1.1. Ağır Metaller

Ağır metal kirliliği, gelişmekte olan ülkelerde normal olarak sanayileşmeye eşlik eden büyük bir sorun olup ciddi sağlık sorunlarına ve ekonomik zarara neden olmaktadır (Mendez ve ark.; 2007). Birincil tüketici (algler) tarafından kolayca biriktirilebilir ve insan sağlığına doğrudan etki eden besin zincirinin daha yüksek seviyelerinde iletimleri yoluyla biyomagnifiye edilebilirler (Page ve ark., 1987) .

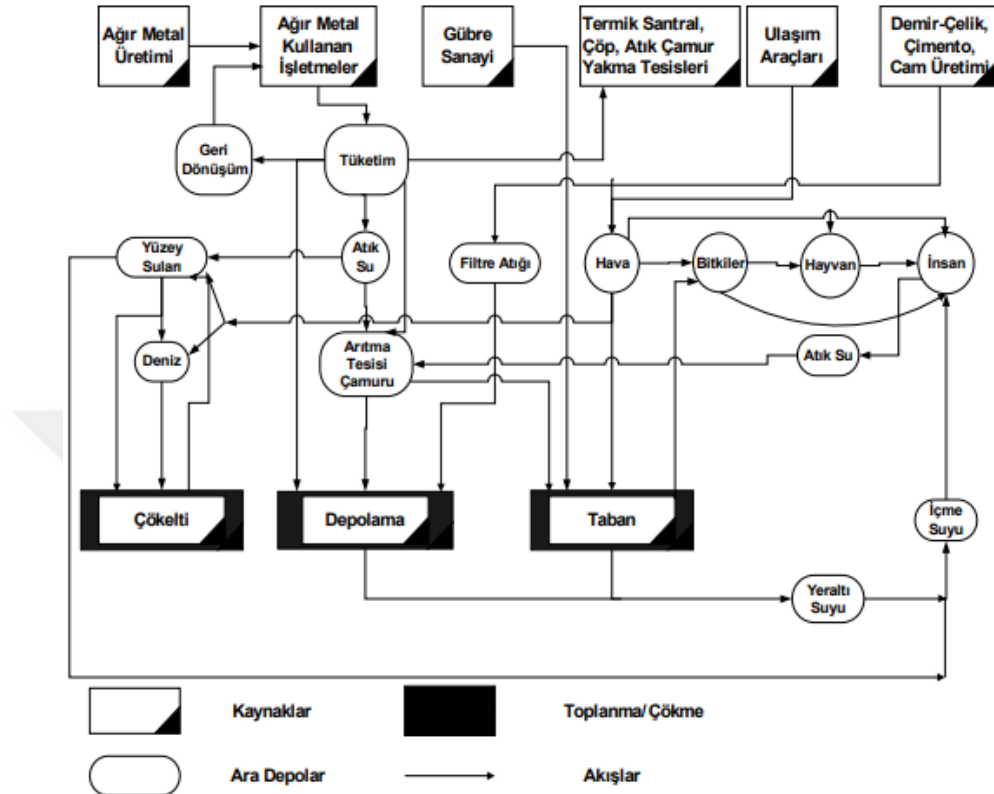
Bazı bölgelerde doğal olarak yüksek düzeyde ağır metal bulunurken, ağır metallerin çevreye salınımı toprak kirliliğini artırır. Topraktaki ağır metaller, toprak ana malzemesinden ve metal içeren çeşitli kaynaklardan elde edilir. Bu metaller sadece tarım topraklarını değil aynı zamanda kentsel toprakları da etkileyebilmektedir. Toprak mikroorganizmaları arasında mikorizal mantarlar, toprak ve kökler arasında doğrudan bir bağlantı sağlayan canlı grubudur. Topraktaki ağır metallerin yüksek konsantrasyonları mikroorganizmalar ve mikrobiyal süreçler üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Ağır metal mevcudiyetinde bu canlı grubu zarar göreceği için bitkilerin büyüme ve gelişmesi üzerinde de toksik etkiler görülmesi kaçınılmaz olup (Leyval ve ark., 1997), gen ekspresyonundaki değişiklikler ve metal detoksifiye edici peptitlerin sentezi dahil olmak üzere geniş bir hücre yanıtı dizisini tetikler (Alloway BJ., 2013). Toksik etkili ağır metaller arasında kurşun (Pb), çinko (Zn), kadmiyum (Cd) ve bakır (Cu) sayılabilir (Alloway BJ., 2013, (Wilczek ve ark.; 2004).

Ağır metaller organizmalar tarafından kolayca absorbe edilip daha sonra hücre için oldukça önemli makro moleküllerine bağlanarak hücrelerin faaliyetlerini etkilerler. Bu makro moleküller nükleik asitler, enzimler ve proteinler olarak sayılabilir. Birçok ağır metalin canlı organizmalar için toksik bir ajan olması, bu duruma karşı önlem alınmasını gerektirmektedir (Rayms-Keller ve ark.; 1998). Organizmaya farklı yollarla alınan ağır metaller canlı üzerinde çok çeşitli toksik etkiler yaratabilirler. Örneğin, bazıları temel elementlerin yerine geçerek toksik etki gösterirler, bazıları ise proteinlerle birleşerek hücre içinde birikime neden olurlar (Bremner, 1974).



Şekil.1.3. Ağır metallerin hücre içi etkileri (Özbolat G., Tulin A., 2016)

Ağır metallerin çevreye emisyonları, toprağa, yüzey sularına ve havaya girdikleri de dahil olmak üzere çok çeşitli süreçler yoluyla meydana gelir (Jarup, 2003). Ağır metal kirliliğinin sadece hayvanların hayatta kalma, büyüme, üreme ve metabolizmasında değil, aynı zamanda doğuştan gelen bağışıklık sisteminde de zararlı etkileri olabilir (Guo-Xing ve ark.; 2006). Nitekim, hayvanlarda ağır metal kirliliği ve stresle ilişkili hastalık durumları arasındaki olası korelasyonu aydınlatmaya yönelik büyük çaba sarf edilmiştir (Galloway ve Depledge, 2001).



Şekil. 1.4. Metallerin Çevresel Etkileri (John H. Duffus, 1980)

1.1.1. Kadmiyum

Kadmiyum (Cd) çok zehirli bir ağır metal olup toprakta, suda, havada, bazı gıdalarda ve sigara dumanında bulunan önemli bir çevresel kirleticidir. Kadmiyum toprak kabuğunda 0.1 ila 1.0 ppm konsantrasyon aralığında bulunur. Kadmiyum, doğada saf bir element olarak bulunmamakta, ancak ortamda kadmiyum oksit, kadmiyum klorür ve kadmiyum sülfat veya sülfid gibi bileşikler olarak temsil edilmektedir.

Kadmiyum, insan ve hayvanların çeşitli dokularında toksik etki yaratabilmektedir (Swiergosz ve ark. 1998). Toksik etkinin ana kaynağı, endüstriyel işlemler sırasında kadmiyum parçacıklarının veya dumanlarının solunmasıdır. Kadmiyumun akciğer, karaciğer, böbrek, testis, kemik, beyin ve

hatta plasenta da dahil olmak üzere çeşitli organlarda ciddi hasara neden olduğu gösterilmiştir. Kadmiyum toksisitesinden sorumlu mekanizmalar hücre tipine bağımlı olup canlıda çeşitli hasarlara sebep olurlar (Fornazier ve ark.; 2002). Bu hasarlar hücre membranına zarar verme, enzimatik aktiviteyi inhibe etme, proteinleri denatüre etme, hücre bölünmesini önleme, DNA'ya zarar verme ve protein sentezini önleme şeklinde gerçekleşebilir. Örneğin kadmiyum hücrede DNA parçalanması veya ATP tükenmesi olaylarına sebebiyet vererek hücre ölümüne ya da nefrotoksisiteye neden olabilir (Hazen- Martin ve ark, 1989). Kadmiyum kaynaklı toksisite, oksidatif stresin artmasına bağlı olabilir (Shaikh ve ark. 1999, Nunia ve Goyal, 2007; El-Sharaky ve ark., 2007; Bolkent ve ark., 2007). Bazı çalışmalar, oksidatif hasara bağlı lipit peroksidasyonunun, kadmiyum toksisitesinin birincil aracı olduğunu ileri sürmektedir (Warren ve ark., 2000). Memeliler üzerindeki son çalışmalar, kadmiyumun, süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali de dahil olmak üzere ROT'un oluşumunu uyardığını göstermiştir. Kadmiyum, dokulardaki lipit peroksidasyon düzeylerini artırır ve antioksidan savunma sistemini bozar (Stajn ve ark. 1997, El-Sharaky ve ark.,2007). Oksijen içermeyen radikallerin yüksek üretimi kısmen C, E ve A vitaminlerinin düşük seviyelerde antioksidan eksikliğinin mevcudiyetine bağlıdır (Freedman ve ark.; 2001). Antioksidanlar, ROT'u süpürerek veya peroksidasyon zinciri reaksiyonlarını bloke ederek koruyucu etki gösterirler ve bu da sonunda lipid peroksidasyonunu engeller. Böylece kadmiyumun toksik etkilerine karşı koruma sağlanabilir (El-Missiry ve Shalaby, 2000; Newairy ve diğ., 2007; El-Sharaky et al., 2007).

1.2. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemleri

Canlılar metabolik faaliyetlerini gerçekleştirebilmek için ATP enerjisine ihtiyaç duyarlar ve organizma için gerekli olan bu enerji solunum sonucu elde edilmektedir. Oksijenli solunum yapan canlılarda besinlerin oksijen kullanılarak enerji elde edildiği sırada organizmada serbest radikaller meydana gelir.

Organizmada oksijen metabolizması sonucu reaktif oksijen türleri olarak adlandırılan ve canlının temel bileşenlerine zarar verebilecek bazı ara ürünler oluşur. Reaktif oksijen türlerinin zarar verdiği en önemli moleküller lipid, protein ve DNA gibi temel bileşenlerdir. (Akkuş İ., 1995). Enerjilerini oksijenli solunum yaparak elde eden organizmalar oluşan serbest radikallerin zararlarını en aza indirmek ve kontrol altına alabilmek için antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler. Fakat sahip oldukları antioksidan savunma sistemleri organizmayı her zaman tam anlamıyla koruyamayabilir. Bunun sonucunda canlıda oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres, özellikle doku ve hücrelere etki ederek büyük hasarlar oluşturur. Organizmada serbest radikal oluşumuna sebep olan en önemli etkenler arasında güneşin zararlı ışınları, bazı ilaçlar, yağ oksidasyonu, bağışıklık sistemi reaksiyonları, radyasyon, stres, sigara ve alkol sayılabilir. Bu etkenler sonucu meydana gelen serbest radikaller, organizmada birçok hastalığın meydana gelmesine sebep olabilirler (Yalçın ve ark., 2010). Bu hastalıklar arasında kalp rahatsızlıkları, şeker hastalığı, böbrek rahatsızlıkları, bronşit, kanser, damar sertleşmesi, böbrek yetmezliği, beyinde önemli rahatsızlıklar ve doku bozuklukları sayılabilir (Waisberg ve ark.; 2003).

1.2.1. Reaktif oksijen türleri (ROT)

Reaktif oksijen türleri (ROT), normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^\bullet$)'dir. O_2 (Moleküler oksijen), Süperoksit radikali (süperoksit anyonu), H_2O_2 (Hidrojen peroksit), $H_2O + OH^\bullet$ (Hidroksil radikali), H_2O (Su) gibi reaktif oksijen türleri, çeşitli serbest radikallerin olduğu serbest radikal zincir reaksiyonlarını başlatabilirler ve hücrede karbon merkezli organik radikaller ($R^\bullet$), peroksit radikalleri ($ROO^\bullet$), alkoksi radikalleri ($RO^\bullet$), tiyil radikalleri ($RS^\bullet$), sülfenil radikalleri ($RSO^\bullet$), tiyil peroksit radikalleri ($RSO_2^\bullet$) gibi çeşitli serbest radikallerin oluşumuna neden olurlar (Akkuş İ., 1995).

1.2.2. Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri

Bazı serbest radikaller, canlılar için temel bileşenlerden biri olan karbonhidratlar ile etkileşime girerek karbonhidratlarda bulunan karbon atomlarından bir hidrojen atomu kopararak zararlı moleküllerin oluşumuna sebep olurlar. Oluşan bu radikaller organizma için gerekli olan hyaluronik asit gibi bazı moleküllerde zincir kırılmalarına yol açar (Devasagayam ve ark., 2004). Canlıda meydana gelen bu radikaller sonuç olarak çeşitli hastalıklara sebep olabilirler. Bu hastalıklar arasında kalp rahatsızlıkları, şeker hastalığı, yüksek tansiyon, bazı deri rahatsızlıkları, göz problemleri, kanser sayılabilir. Aynı zamanda yaşlı ya da hastalığa sahip olanlarda serbest radikal üretiminin diğer canlılara göre daha fazla olduğu ve antioksidan savunma sistemlerinin bu canlılarda yetersiz kaldığı araştırmalarla gösterilmiştir.

1.2.3. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri

Proteinlerin sahip oldukları aminoasit çeşitleri birbirinden farklı oldukları için serbest radikallerden etkilenme şekilleri de bu aminoasit çeşitliliğine bağlıdır. Proteinler genel olarak serbest radikallerden yağlara göre daha az etkilenirler. Fakat triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitler içeren proteinler serbest radikallerden daha çabuk etkilenebilirler. Bu aminoasitlerin serbest radikaller ile reaksiyonları sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Organizmada serbest radikallerin oluşumu sonucunda, immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi tersiyer yapıya sahip proteinlerin yapıları bozulur ve bu moleküller normal işlevlerini gerçekleştiremezler. Prolin ve lizin gibi aminoasitler ise bu reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobinin yapısında bulunan hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Örneğin oksijen ile hemoglobin birleşmesi sonucu oluşan oksihemoglobinin süperoksit radikali ($O_2 \cdot^-$) veya hidrojen peroksitle (H_2O_2) etkileşimi methemoglobin oluşumuna neden olur (Dawn BM., 1996).

1.2.4. Serbest Radikallerin Lipidler üzerine Etkileri

Hücre zarında ve hücre organellerinde bulunan lipidler reaktif oksijen türlerinden oldukça fazla etkilenirler. Organizmada oluşan serbest radikaller, lipitlere etki ederek organizma için zararlı sonuçlar yaratan lipid peroksidasyonuna sebep olular. Lipit peroksidasyonu sonucu toksik etkisini üretildikleri yerde göstermeyen birçok yan ürün oluşur ve bu ürünler ikinci haberciler gibi davranırlar. Ayrıca bu durumun yol açtığı hasar hücre içi faaliyetlerini de büyük ölçüde engeller (Devasagayam ve ark., 2004). Hücre zarı lipid yapıda olduğu için lipid peroksidasyonu zarın akışkan ve geçirgen yapısını bozarak büyük zararlar verir.

Hidroksil radikali gibi oldukça reaktif olan radikaller, çoklu doymamış yağ asitlerine saldırarak metilen grubundan bir hidrojen atomu ayrılmasına sebep olarak lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinde çift bağ sayısı fazla olduğu için hidrojen atomu koparılması da kolaylaşır. Bu nedenle çoklu doymamış yağ asitleri lipid peroksidasyonuna çok duyarlıdır (Rana ve ark.; 1996). Hidrojen atomu, bir elektron alarak molekülünden ayrıldığında, yağ asidinin karbonunda tek elektron kalır; çifte bağa komşu karbon atomundaki C-H bağındaki zayıflamanın giderilmesi amacıyla, karbon-merkezli radikal konjuge dien oluşturur. Konjuge dien, oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikali meydana gelmesine neden olur; bu basamakta oluşan lipid radikali, başka bir yağ asidinden hidrojen atomu kopararak bir zincir reaksiyonu başlatması sebebiyle önem taşımaktadır. Peroksil radikalleri, hidroksile göre daha az reaktif özellik gösterir; ancak, biyosistemlerde daha uzak bölgelere ulaşabilirler. Peroksil radikalleri, kendi aralarında reaksiyon verebileceği gibi, membran proteinlerine atak yapabilir veya komşu yağ asidi zincirinden hidrojen atomu kopararak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunun ilerlemesine yol açabilir (Pavlovic ve ark. 2001, Zıkıc ve ark.; 1998). Biyolojik membranlardaki lipid peroksidasyon, membran akışkanlığının ve membran potansiyelinin azalması, H⁺ ve diğer iyonlara permeabilitenin artması ve organel veya hücre bütünlüğünün bozulmasına yol

açabilir. Oluşan serbest radikaller ve elektrofilik ürünler (örneğin, 4-hidroksinonenal), yakınlarında bulunan membran proteinleri ile reaksiyon verebilecekleri gibi, difüze olarak DNA gibi uzaktaki moleküllerle de reaksiyon verebilir (Devasagayam ve ark., 2003; Devasagayam ve ark., 2004; Valko ve ark. 2007).

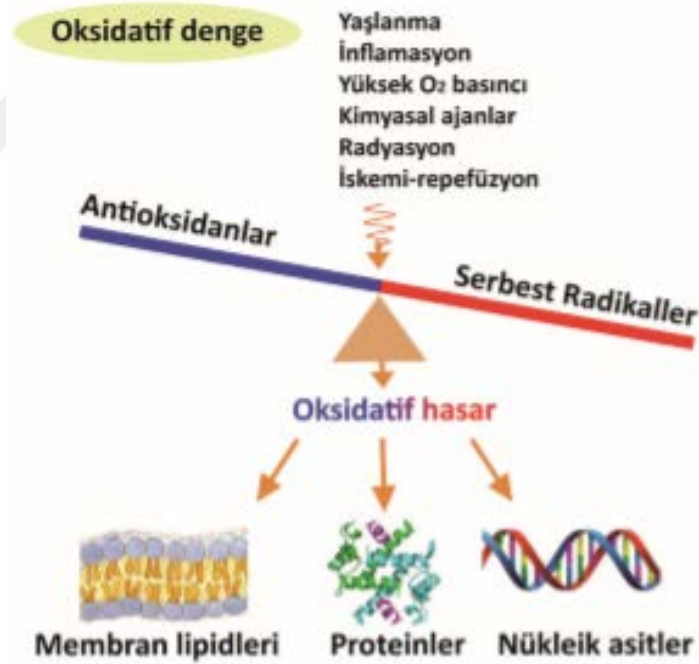
1.2.5. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkisi

Canlılarda oksijen metabolizması sonucunda açığa çıkan reaktif oksijen türleri DNA üzerinde olumsuz etkiler oluşturarak oksidatif hasara neden olur. DNA özellikle hidroksil radikali tarafından kolaylıkla hasara uğratılabilir. DNA'yı hasara uğratan radikaller DNA ile etkileşime geçerek sahip olduğu şekerden hidrojen atomlarının kopmasına sebep olur (Nzenque ve ark.; 2008). Özellikle, pirimidinin C4-C5 çift bağı hidroksil radikalının saldırılarına karşı çok hassastır. Bu reaksiyonlar sonucunda timin glikol, urasil glikol, ürekalıntısı, 5-hidroksideoksiüridin, 5-hidroksideoksisitidin ve hidantoin gibi oksidatif pirimidin hasar ürünleri oluşur. Aynı zamanda pürinler de hidroksil ile etkileşime geçerek hasara uğrarlar. Bu saldırılar 8-hidroksi deoksiguanozin ve 8-hidroksi deoksiadenozin formamidopirimidin ürünlerinin oluşumuna sebep olur. Serbest radikal saldırıları ayrıca poli sentetaz enzimini(ADP-riboz) aktifleştirerek programlanmış hücre ölümüne ve DNA'nın parçalanmasına sebep olur. Bu işlemler, elektron taşıma zincir fonksiyonlarını bozarak NAD⁺ seviyelerini hücresel düzeyde tüketir (Devasagayam ve ark., 2004).

1.2.6. Oksidatif Stres

Canlıda metabolik faaliyetler sonucunda meydana gelen reaktif oksijen türleri antioksidan sistemlerin hücreyi gerektiği gibi koruyamadığı durumlarda oksidatif dengenin bozulmasına sebep olurlar. Bu duruma oksidatif stres denir. Hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit hücredeki oksidatif

hasara sebep olan en önemli reaktif oksijen türleridir. Canlıda oksidatif stres sonucu oluşan ROT'lar hücre için önemli bileşenler ile etkileşime geçerek çift bağlarından bir hidrojen atomu koparırlar (Song; 2004). Bunun sonucunda canlıda zincirleme oksidasyon reaksiyonları başlatırlar. ROT'ların hücrede en çok saldırdığı moleküllerin başında lipid, DNA ve proteinler gelir. Bu reaksiyonlar sonucunda hücrede lipit, protein ve DNA molekülleri zarar görerek hücre hasarı ya da hücre ölümü meydana gelebilir (Bream; 2003). Serbest radikallerin etkileri ile makromoleküllerin oksidatif hasarı sonucunda açığa çıkan malondialdehit (MDA), protein karbonil (PCO), 8-hidroksiguanin (8-OHG) gibi ürünlerin vücut sıvıları ve dokularda biyokimyasal yöntemlerle ölçülmesi ile oksidatif hasar varlığı tespit edilir (Özcan O. ve ark., 2015).



Şekil 1.5. Oksidatif Denge (Özcan O., 2015)

Serbest Radikal Kaynakları;

- Aşırı alkol ve sigara tüketimi
- Radyasyon
- Ultraviyole ışınları
- Kronik inflamasyonlar
- Fazla demir yüklemesi
- Aşırı fiziksel aktivite
- İlerleyen yaş
- Doğum kontrol hapları
- Ağır metaller

Antioksidan Moleküller;

- Enzimler (SOD, Katalaz, GSHP-Px)
- Proteinler (Albümin, serüloplazmin)
- Selenyum
- Askorbik asit (C vitamini)
- Tokoferoller (E vitamini)
- Karotenoidler
- Flavonoidler
- Glutatyon ve tiyoller
- Koenzim Q, ubikinon ve türevleri (Özcan O. ve ark., 2015).

Canlı olumsuz koşullar altında iken meydana gelen serbest radikaller organizmada toksik etki yaratırlar. Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimler ve E vitamini canlıyı bu radikallere karşı korurlar (Saari H., 1991).

Antioksidanların organizmadaki etki yolları;

- a) Fazla oksijenin ortamdaki uzaklaşmasını sağlar ya da bulunduğu yerde derişimini düşürürler.
- b) Katalitik metal iyonlarını ortamdaki uzaklaştırırlar
- c) Reaktif oksijen türlerini bulundukları ortamdaki uzaklaştırırlar ya da zararı daha az olabilecek moleküllere çevirirler.
- d) Oksidatif hasara yol açan zincirleme reaksiyonların gerçekleşmesine engel olurlar.
- e) Serbest radikallerin sebep olduğu zararları onarıcı etkiler gösterirler.

1.2.7. Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD oldukça güçlü antioksidan bir enzim olup organizmada hasara yol açan süperoksit serbest radikalının ($O_2 \cdot^-$) moleküler oksijen ve hidrojen peroksit'e dönüşmesini sağlayan reaksiyonları meydana getirir. İnsanda SOD'un iki çeşidi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD stoplazmada bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. Mn SOD ise mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidle inhibe olmaz. Genelde hücrede en çok bulunan çeşidi stoplazmada bulunan Cu-Zn SOD'dır. SOD'ın hücredeki esas görevi hücreyi lipid peroksidasyonuna karşı korumaktır. Ayrıca SOD, fagositoza uğramış bazı bakterilerin hücrede yok edilmesinde de görev alır. Özellikle oksijeni fazla kullanan dokularda SOD derişimi ve aktivitesi daha fazladır. SOD'ın hücre dışı aktivitesi ise çok azdır. Cu-Zn SOD'ın spesifik aktivitesi Down sendromlu

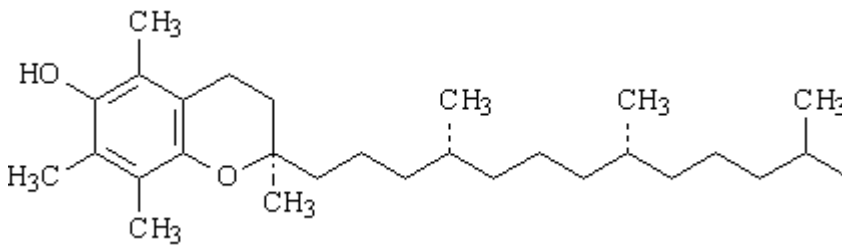
hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelerin ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur (Dawn BM., 1996).

1.2.8. Katalaz (CAT)

Katalaz yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz stoplazmada az miktarda , peroksizomlarda ise oldukça fazla bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi (H_2O_2) su ve oksijen moleküllerine parçalar. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi (H_2O_2) hidroksil serbest radikali ($OH\bullet$) oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır (Dawn BM., 1996).

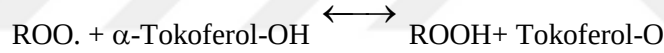
1.2.9. Vitamin E (Tokoferol)

Bitkisel kökenli güçlü bir antioksidan olan vitamin E, α , β , γ , δ -tokoferol olarak adlandırılan birçok forma sahiptir (Kakkar ve ark.; 1996). E vitamininin canlı vücudunda en çok bulunan ve biyolojik aktivitesi en fazla olan formu α -tokoferoldür. Vitaminin aktif kısmını yapısında bulunan fenolik hidroksil grubu içeren aromatik halka meydana getirir. Çift zarlı bir organel olan mitokondri ve mikrozom gibi yapılarda oldukça fazla bulunmaktadır. Vitamin E bakımından oldukça zengin olan tohumlar ve bitkisel yağlar en değerli besin öğeleri içinde yer alır (Halliwell ve Gutteridge, 1999).



Şekil 1.6. Alfa tokoferolün moleküler yapısı

Vitamin E (α -tokoferol) hücre zarında bulunan fosfolipid tabakasını oksijen metabolizması sonucu oluşan serbest radikallerin hasarından ilk koruyan moleküldür (Dadd ve ark.; 1979, Wang ve ark.; 1999). Vitamin E süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger (Björneboe ve ark.; 1990). Ayrıca organizmada hasara yol açan lipid peroksidasyonu vitamin E sayesinde engellenebilir (Chow, 1991; Blockhina ve ark., 2000). Lipid peroksidasyonu sırasında meydana gelen peroksil ve alkoksil radikalleri vitamin E'de bulunan OH grubundaki H atomu ile kolayca bağ kurabilirler. Böylece serbest radikallerin ortamdaki yağ asitleri ile bağ kurması vitamin E tarafından engellenmiş olur (Coşkun ve ark.; 2005). Bu olay sonucunda zincir reaksiyonu sonlanır ve lipid peroksidasyonu da sonlanmış olur (Turunen;1976). Bu sebeple α -Tokoferol zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinmektedir (Murray ve ark., 1993; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Blockhina ve ark., 2000).



Reaksiyon sonucunda α -tokoferol yine bir radikal olan tokoferol-O $\cdot$ (kromonoksil) radikalini oluşturur. Bu radikal zayıf bir reaktiviteye sahip olduğu için lipid peroksidasyonu sonlanmış olur (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Blockhina ve ark., 2003).

GSH-Px ve α -tokoferol birbirlerini tamamlayıcı bir antioksidan etki gösterirler. α -Tokoferol organizmada peroksitlerin oluşumunu engellerken, GSH-Px oluşmuş olan peroksitleri yok eder (Aydın ve ark., 2001).

Vitamin E selenyum metabolizmasında da önemli görev üstlenir (Navarro ve ark., 1999). Vitamin E selenyumu aktif şekilde tutar ve organizmadan kaybını önler (Chen; 1995). Bu şekilde organizmadaki selenyum ihtiyacı azaltmış olur. Ayrıca serbest radikaller organizmada kanser oluşumuna sebep olurken, Vitamin E

ve diğer antioksidan sistemler kanser oluşumunu engelleyerek antikanserojen etki gösterirler. (Dawn BM., 1996, Ognjanovic ve ark.; 2003).

Konu ile ilgili çalışmalara baktığımızda zehirli bir ağır metal olan Cd ve güçlü bir antioksidan olan vitamin E'nin *G. mellonella* üzerine etkileri konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır. Çalışmamızdaki amaç çevrede bulunan Cd ağır metali ve Cd ile birlikte E vitamininin *G. mellonella*'nın yüzde glikojen miktarı, yüzde protein miktarı ve antioksidan savunma sistemlerinden süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktivitesine nasıl etki ettiğini araştırmaktır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bryan ve Langston (1992), *G. mellonella*'nın 7. evre larvalarında besin içine konulan, kurşun ve kromun 5, 50 ve 100 mikrogram konsantrasyonlarında böceğin immün fonksiyonunun etkilendiği sonucuna varmışlardır.

Bischof (1995), *L. dispar* larvalarında 20. gününde en düşük kadmiyum konsantrasyonunda ve 30. günde %0,10mg kadmiyum içeren besinle beslenen böceklerde glikojen miktarında azalma gözlemiştir

Emre ve ark., (2013), yaptıkları bir çalışmada farklı kadmiyum oranlarının (1.25, 2.50, 5.00, 10.00, 20.00 ve 40.00 mg/100g besin) *Galleria mellonella* larvalarının glikojen, protein, lipit, superoksit dismutaz (SOD) ile katalaz (CAT) aktivitesi ve metal alımını üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Özellikle yüksek Cd konsantrasyonlarında (20.00 ve 40.00) protein, glikojen ve lipit seviyelerinde önemli azalmalar tespit etmişlerdir. Yüksek Cd konsantrasyonlarında SOD aktivitesinin arttığını, CAT aktivitesinin ise bütün konsantrasyonlarda azaldığını belirtmişlerdir. Çalışma sonucu model böcek *G. mellonella*'nın çevresel ağır metal kirliliğinin güvenilir bir biyobelirteçi olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşmışlardır.

Ortel (1995b), *Lymnatriidae* familyasından olan *Gypsy-moth* larvalarını ağır metal içeren besinle beslemiş, total hemolenf içeriği ile birlikte serbest amino asit bileşiminde de azalma olduğu sonucuna ulaşmıştır.

Crawford ve ark. (1996), *Acrididae* familyasına ait herbivor bir böcek türü olan *Locusta migratoria*'nın bakır ve kadmiyum gibi ağır metallerin farklı konsantrasyonları ile kontamine olmuş mısırla beslenmesi sonucu ağır metallerin bağırsaklardan vücuda emiliminin gerçekleştiği, ayrıca kadmiyumun bakıra oranla daha fazla birikim gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır.

Ortel (1996), *Lymnatria dispar* larvaları ile yaptığı bir çalışmada Cd, Pb, Cu ve Zn gibi ağır metal içeren besinlerle beslenen larvalarda karbonhidrat

miktarlarının denenen bütün metallerin artan derişimine bağı olarak azaldığı sonucuna ulaşmış, ayrıca hemolenf miktarında da önemli düşüşler olduğunu göstermiştir. Yaptığı deneylerde kadmiyumlu ve çinkolu besinlerle beslenmiş olan böceklerin hemolenf şekeri seviyesi, glikojen ve glikoz seviyelerinin artan metal konsantrasyonu ile birlikte düştüğünü göstermiştir.

Sezer ve Özalp (2011), böcekler için oldukça toksik olan azadirachtinin *G. mellonella* larvalarının glikojen miktarı üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada birey başına düşen glikojen miktarının uyguladıkları tüm gruplarda azalma gösterdiğini belirtmiştir. En yüksek konsantrasyonda ise glikojen miktarında azalmanın en fazla olduğu gösterilmiştir.

Vuori ve Kukkonen'nin (1996), sucul bir böcek türü olan Hydropsychidae familyasından olan *Hydropsyche pellucidula* larvalarında çeşitli metallerin vücut yüzeyine olan etkilerini incelemiş, Al, Cd, Cu, Pb ve Zn gibi metallerin vücut yüzeyinden absorpsiyon yolu ile alınarak ekzokütikül oluşumunu engelleyip morfolojik olarak değişiklikler oluşturduğunu göstermiştir. konsantrasyonlarının vücut yüzeyindeki dokulardan absorpsiyon yolu ile alındığı ve ekzokütikül oluşumunu etkileyerek morfolojik anormalliklere neden olduğunu göstermiştir.

Leyval ve ark. (1997) ağır metallerin mikorizal mantarların oluşumu üzerindeki etkileri, bu mikroorganizmalarda ağır metal toleransı ve bunların metal alımı ve bitkilere aktarımı üzerindeki etkileri de dahil olmak üzere, çeşitli metaller ve mikorizal mantarlar arasındaki etkileşimlerin çeşitli yönlerini araştırmışlardır.

A.Rayms-Keller ve ark. (1998) Ağır metallerin *Aedes aegypti* gelişimindeki biyolojik etkilerini belirlemek için çalışmalar yapılmıştır . Gelişme ve büyümelerinde ağır metalin olumsuz yönde etki ettiğini göstermişlerdir.

Gelegen ve Yeşilada (2000), kadmiyum nitratin *Drosophila melanogaster*'in gelişim basamaklarındaki etkilerini incelemiş, ergin evrede artan konsantrasyonlarda verilen kadmiyum ile birlikte konsantrasyonlarla doğru

orantılı olarak yumurta veriminin inhibe olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Çalışma sonunda kadmiyumun böcek gelişimini olumsuz yönde etkilediğini göstermişlerdir.

Kazimirova ve Ortel (2000), Tephritidae familyasına(Diptera) ait *Ceratitis capitata* üzerinde yaptıkları çalışmada ağır metallere olan bakır, kurşun ve kadmiyum içeren besinlerin canlı üzerindeki etkilerini incelemişler, ağır metallerin organizmada birikerek çeşitli hasarlara yol açtığını göstermişlerdir. Ayrıca bu metaller ile kontamine olmuş türün pupal parazitoidi olan Proctotrupoidae familyasından (Hymenoptera) *Coptera occidentalis*'de kadmiyum ve çinkonun kurşun ve bakırdan daha fazla biriktiğini ve sonuçta oksidatif strese sebep olduğunu göstermişlerdir.

Galloway ve Depledge (2001), sucul omurgasızlar ve omurgalıları üzerine yapmış olduğu çalışmada, yüksek derişimdeki ağır metallere maruz kalmanın düşük derişimdeki ağır metallere maruz kalmadan daha fazla immün sistemi etkilediğini gözlemlemiştir.

Shin ve ark. (2001), kadmiyum ağır metalinin *G. mellonella*'da total lipit ve yağ asitleri miktarına etkilerini incelemiş ve kadmiyumun total lipid miktarını önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir.

Wu ve ark. (2008), *Oreochromis mossambicus* larvalarına iki farklı $CdCl_2$ konsantrasyonu uygulamışlar ve Cd maruziyetinin, maruz kalma süresine ve dozuna bağlı olarak, larvalarda, metabolizmanın yanı sıra, büyüme ve gelişme üzerinde önemli olumsuz etkiler gösterdiğini göstermişlerdir.

El-Missiry ve ark. (2000) erkek MFI albino farelerinin karaciğerindeki lipit peroksidasyonu (LPO) ve antioksidan savunma sistemi (ADS) gibi oksidatif hasar belirteçleri üzerinde diazinonun (DZN) subkronik etkisine karşı vitamin E'nin (vit E) iyileştirici özelliklerini araştırmışlar ve Vit. E'nin DZN ile birlikte tedavisinin, DZN ile tedavi edilen farelerin oksidatif stresini önlediğini veya azalttığını ve DZN'nin neden olduğu karaciğer dokusu hasarına karşı varsayılan koruyucu bir ajan olarak hareket edebileceğini göstermişlerdir.

Korean J. Ecol., (2001) Farklı konsantrasyonlarda Cd'ye maruz kalan *G. mellonella*'nın lipit içeriğini analiz etmişler ve lipit konsantrasyonları fosfovanillin yöntemi ile fotometrik olarak ölçmüşler, Cd ile kontamine olmuş larva ve pupalarda toplam lipit içeriğinde anlamlı azalma saptamışlardır.

Ognjanovic ve ark.(2003) Kan antioksidan savunma sistemi, lipid peroksit konsantrasyonu ve hematolojik parametreler üzerindeki kadmiyum (Cd) 'ye akut maruziyetin ve ayrıca vitamin E'nin olası koruyucu rolünün etkileri araştırdılar. Vitamin E ile ön tedavi, kadmiyumun hematolojik değerler, lipit peroksit konsantrasyonu ve ayrıca antioksidan savunma sisteminin enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenleri üzerindeki toksik etkileri üzerinde koruyucu bir rol sergilemişlerdir.

Moe ve ark. (2001), düşük dozda kadmiyumun *Lucilia sericata* popülasyonuna etkilerini araştırmış, besin yoluyla organizmaya alınan kadmiyumun larval ve ergin evrede birikim oluşturduğunu ve popülasyon büyüklüğünü olumsuz etkilediğini göstermişlerdir. Ayrıca yetişkin bireylerde ömür uzunluğunu ve yumurta verimini düşürdüğünü bulmuşlardır.

Li ve ark. (2005), kadmiyum uygulanmış *Oxya chinensis*'de kadmiyumun antioksidan enzimleri üzerine olan etkilerini incelemiş, tüm uygulama gruplarında detoksifikant etkiyi en çok gösteren enzimin katalaz olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca artan Cd oranı ile birlikte glutatyon peroksidaz aktivitesinin azaldığını buna karşı SOD aktivitesinin ise arttığını göstermişlerdir. Sonuç olarak SOD'un orta dereceli, glutatyon peroksidazın ise düşük dereceli detoksifikasyon etki gösterdiği yorumunu yapmışlardır.

Sak ve ark. (2006), *Pimpla turionellae*'da sipermetrinin toplam vücut ağırlığı, glikojen, protein ve lipit miktarlarına etkilerini araştırdıkları çalışmalarında dişi böceklerin sipermetrinden daha fazla etkilendiğini, tüm gelişim evrelerinde protein, lipit ve glikojen düzeylerinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir.

Tapi ovan Ooik ve ark., (2006), ağır metal kirliliğinin geometrid güve (*Epirrita autumnna*)'nın gelişimi ve immün yanıtı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Büyüme oranında kontrol grubuna göre dikkate değer düşüş tespit etmişler, immün yanıtın kirliliğe maruz kalan kelebeklerde kontrol grubuna göre daha yüksek olmasını da, çevre kirliliğinin böceklerde bağışıklık sistemini geliştirdiğine dayandırmışlardır.

Karabulut-Bulan ve ark. (2008) C vitamini, E vitamini ve selenyumun, ratlarda kadmiyum kaynaklı renal toksisitesine karşı koruyucu etkisi olup olmadığını belirlemek için çalışma yapmış sonuç olarak hem antioksidan hem de kadmiyum verilen ratlarda serum üre ve kreatinin düzeylerinin azaldığı, Vitamin C, vitamin E ve selenyumun ratların böbreğinde koruyucu etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Kayış ve Emre (2012), ağır metal stresinin endoparazitoid *Pimpla turionellae* L.'nin protein ve glikojen sentezine etkilerini araştırdıkları çalışmada besin yoluyla uyguladıkları kadmiyumun sentezlenen protein ve glikojen miktarı üzerinde önemli etkileri olduğunu kaydetmişlerdir. Glikojen sentezinde kontrole oranla besin verilisinin 10. gününden itibaren artma gözlenirken, protein sentezinde 20. günde tüm konsantrasyonlarda kontrole göre azalma, 30. günde ise en düşük konsantrasyonda artış, en yüksek konsantrasyonda ise önemli ölçüde azalma gözlenmiştir.

Özalp ve Emre (1998), farklı sınıflara ait karbonhidratların *P. turionellae* ergin dişilerinde total protein ve glikojen miktarına etkilerini incelemişler, denedikleri karbonhidratların total glikojen miktarını etkilemediğini bulmuşlardır. Total protein miktarının ise glikoz ile azalıp ksiloz ile arttığını belirtmişlerdir.

Houston ve Keen (1984), yaptıkları çalışmada kadmiyumun, Japon Balığı *Carassius auratus*'da eritrosit oluşumunu engellediğini göstermiştir. Kadmiyuma ek olarak ortamda çinko ve bakır bulunduğu zaman balıklar üzerindeki toksik etkinin daha da arttığı belirtilmektedir.

Wu ve ark. (2014) krom (Cr) ve kurşun (Pb) 'nin *G. mellonella*'nın bağışıklık ve antioksidan sistemleri üzerindeki etkilerini incelemişler orta derecede Cr ve Pb'nin, *G. mellonella*'nın doğal bağışıklığını güçlendirdiğini, ancak büyük miktarlarda larval immün fonksiyonun inhibisyonuna yol açtığını ve ayrıca kullanılan Cr ve Pb'nin larvalarda güçlü oksidatif strese neden olduğunu göstermiştir.

Dadgar ve ark. (2016) vitamin E'nin kadmiyum klorit ile tedavi edilen sıçan kemik iliği mezenkimal kök hücreleri (MSC'ler) üzerindeki koruyucu fonksiyonunun incelenmesi için çalışma yapmışlar ve sonuçta E vitamininin sıçan kemik iliği MSC'lerinde çalışılan tüm parametreler üzerinde kadmiyumun toksik etkisine karşı koruyucu olduğunu göstermişlerdir.

Coşkun (2001) farklı oranlardaki vitamin E derişimlerinin *Pimpla trionellae* larvalarının eşey oranı üzerine etkilerini incelemiş E vitaminin dişi birey çıkışında önemli olduğunu vurgulamıştır.

Gongqing ve Yunhong (2015), *G. mellonella* larvalarında yaptıkları çalışmada, artan Pb ve Cr konsantrasayonlarının kontrole göre kıyaslandığında CAT ve SOD enzim aktivitesinde artışa neden olduğunu bulmuşlardır.

Ahmad ve ark. (1995), *Spodoptera eridania*'de dichlorenin antioksidan enzim faaliyetleri üzerine etkisini araştırmış, diclorenin organizmada oksidatif strese yol açtığını ve sonuç olarak antioksidatif enzim aktivitesini arttırdığını bulmuşlardır.

Bolter ve Chefurka (1990), *Sitophilus granariusta*'larda insektisitlerin enzim aktivitelere etkisi üzerine yaptıkları çalışmalarında fosfin insektisine maruz kalan organizmada SOD aktivitesinin arttığını, bununla birlikte CAT ve peroksidaz aktivitesinin ise azaldığını göstermişlerdir.

Zaman ve ark. (1994), *Musca domestica*'da ağır metallerden olan civanın antioksidan enzim aktiveleri üzerine etkisini incelemiş, civanın organizmada toksik etki yaratarak oksidatif strese yol açtığını ve bu stres sonucu SOD ve CAT aktivitesinin arttığını bulmuşlardır.

Seslija ve ark. (1999), *Acanthoscelides obtecus*'ın yaşlanmaları geciktirilerek SOD ve CAT aktiviteleri üzerindeki etkilerini araştırmış, yaşlı böceklerde kontrol grubuna göre SOD aktivitesinin arttığını fakat katalaz aktivitesine yaşlanmanın önemli bir etkisi olmadığını göstermişlerdir.





3. MATERYAL METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Stok Kültürün Hazırlanması, *Galleria mellonella* Larvalarının Elde Edilmesi

G. mellonella (L.) larvaları cam kavanozlarda, yarı sentetik besin kullanılarak (Bronskill, 1961) $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 60 ± 5 bağıl neme sahip karanlık laboratuvar ortamında yetiştirildi. Kültürün devamlılığı, *G. mellonella* ergin dişi ve erkeklerinin taze besin bulunan kavanozlarda çiftleşmelerinden sonra dişilerin yumurta bırakmasıyla açılan yumurtalardan gelişen larvalarla sağlandı.

3.1.2. Deney Besinlerinin Hazırlanması

Deney besinleri Bronskill tarafından geliştirilen besin ölçüleri kullanılarak hazırlandı. Her bir deney kabının içine belirli miktarlarda (70 gr kepek, 11 gr petek, 9 gr gliserin, 5 gr bal ve 5 gr su) besin içeriği eklendi. Kadmiyum besin içine su içinde çözünerek ilave edildi. % 0.05'lik Cd konsantrasyonunu sağlamak için deney kabına 0.10 mg Cd, % 0.10'luk deney kabına 0.20 mg Cd, % 0.50 deney kabına 1.02 mg Cd, % 1.0'lık deney kabına 2.03 mg Cd eklenerek deney düzenekleri oluşturuldu. Cd + vitamin E' li olan deney besinleri her bir konsantrasyondaki Cd miktarları sabit tutularak % 0.05 lik konsantrasyonda 125 mikrolitre, % 0.1'likte 250 mikrolitre, % 0.5' likte 500 mikrolitre, % 1.0'likte 1000 mikrolitre vitamin E eklenerek hazırlandı. Kontrol grubuna ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan kadmiyum, kadmiyum + vitamin E'li besinlerin her birine larvalardan 10 adet konularak, deney periyodundan 48 saat sonra örnekler besin ortamlarından alınarak biyokimyasal analizler yapıncaya kadar -80 derecede dondurucuda muhafaza edildi.

3.1.3. Deneyde Kullanılan Larvaların Elde Edilmesi

Larvalar 48 saat sonunda besin yerlerinden alınarak protein analizi için 3 adet, glikojen analizi için 2 adet, SOD ve CAT analizleri için 5 adet alınarak tartıldı, yaş ağırlıkları kaydedilerek numaralandırıldı. Böcekler homojenizasyon işlemine kadar -80°C’de muhafaza edildi. Deneyler değişik zamanlarda 3’er kez tekrar edildi.

3.2. Metod**3.2.1. Böceklerin Homojenizasyonu**

Her bir analiz için belirlenen sayıdaki örneklerin yaş ağırlıkları tartıldı. Tek tek ayrı tüplerde 1/20 oranında fosfat tamponu (pH 7,4) içerisinde 24000 devir/dk da homojenize edildi. Daha sonra homojenizatlar 10000 devir/dk da 30 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant enzim aktivitesi tayini ve protein miktarının belirlenmesinde, dipteki pellet ve yaklaşık 0.2 ml süpernatant ise glikojen miktarının belirlenmesinde kullanıldı.

3.2.2. Biyokimyasal Analizler

Deney örneklerinin protein, glikojen, SOD ve CAT analizleri için -80°C de saklanan larvaları kullanıldı.

3.2.2.1. Protein Miktarının Tayini

Proteinlerin alkali CuSO_4 ilavesiyle fosfotungustik asit ile mavi renkli kompleks oluşturması ilkesine dayanır.

Çözeltiler;

Çözelti A: [% 2 Na_2CO_3 (0.1 N NaOH içinde)] : 2 g Na_2CO_3 tartıldı ve 0.1 N NaOH içinde toplam hacim 100 ml olacak şekilde çözüldü.

Çözelti B1: (%1 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$): 1 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ tartıldı ve çözelti bidistile saf su ile toplam hacim 100 ml olacak şekilde çözüldü.

Çözelti B₂: (%2 Na-K-tartarat): 2 g Na-K-tartarat tartıldı ve çözelti bidistile saf su ile toplam hacim 100 ml olacak şekilde çözöldü.

Çözelti C: 50 hacim çözelti A, 1 hacim 1/1 oranındaki çözelti B₁ ve B₂ karışımı ile

karıştırıldı.

Folin-ciocalteu çözeltisi: Kullanılmadan önce 1/1.5 oranında bidistile saf su ile seyreltilti.

Çizelge 3.1. Lowry ve ark. (1951) protein miktarı ölçüm prosedürü

	Kör	Standart	Numune
Saf su (ml)	0.3	-	-
Standart (ml)	-	0.3	-
Örnek (ml)	-	-	0.3
Çözelti C (ml)	3	3	3
Karıştırılır ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilir			
Folin-ciocalteu (ml)	0.3	0.3	0.3

Protein miktarlarının ölçümünden önce 100 ml si 1 g albümin (Sigma; A-2153) içeren bir stok çözelti hazırlandı ve bu çözeltiden seyreltme yöntemi ile 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 ve 0.8 mg/ml albümin içeren standart çözelti elde edildi. Her bir standart çözeltiye (Lowry ve ark., 1951) protein tayini metodu uygulanarak spektrofotometrede (Cecil 5000) 750 nm de ışık absorpsiyon değeri okundu ve verilerden, standart protein grafiği (regresyon doğrusu) elde edildi.

$$(y = 0,768x + 0,087 \text{ } R^2 = 0,985)$$

Örneklerin protein miktarları, okunan absorbanların bu regresyon denkleminde yerine konulmasıyla hesaplandı. Protein miktarlarının belirlenmesi için, kör tüpüne 0.3 ml bidistile saf su konularak üzerine 3 ml çözelti C eklendi ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 0.3 ml Folin-ciocalteu ilave edildi. 30 dakika bekletildikten sonra 750 nm de okuma yapıldı. Örneklerin okunması için, 0.3 ml örnek üzerine 3 ml çözelti C eklenerek oda sıcaklığında 15 dk bekletildi ve üzerine 0.3 ml Folin-ciocalteu ilave edilerek 30 dakika bekletildi. Daha sonra 750 nm de köre karşı absorban değerleri okundu. Elde edilen ışık absorpsiyon değeri regresyon doğrusu denkleminde yerine konularak bir deney serisinin bir tekrarındaki böceklerin toplam protein miktarı elde edildi. Bu değer böcek sayısına bölünerek birey başına düşen protein miktarı saptandı. Yaş ağırlığına göre birey başına düşen protein oranı, birey başına düşen protein miktarının 100 ile çarpımının yaş ağırlığına bölünmesiyle elde edildi.

3.2.2.2. Glikojen Miktarının Tayini

Glikojen miktarının tayininde Van Handel'in (1985) geliştirmiş olduğu yöntem kullanıldı.

Kullanılan Çözeltiler:

Antron Çözeltisi: 750 mg antron tartıldı, 150 ml bidistile saf su ve 380 ml konsantre H_2SO_4 içerisinde çözülür.

%2'lik Sodyum Sülfat (Na_2SO_4) çözeltisi: 2 gr Na_2SO_4 tartıldı ve son hacim 100 ml olacak şekilde bidistile saf su ile çözülür.

Kloroform/metanol Karışımı (1/2): 10 ml kloroform ve 20 ml metanol erlenmayer içerisinde karıştırıldı ağzı sıkıca kapatılarak saklandı.

Çizelge 3.2. Van Handel (1985) glikojen miktarı ölçüm prosedürü

	Kör	Standart	Numune
Saf su (ml)	0.2	-	-
Standart (ml)	-	0.2	-
Örnek (ml)	-	-	0.2
Antron (ml)	1	1	1

90°C de 15 dk bekletilir ve buzdolabında soğutulur

Glikojen miktarının tayininden önce mililitresi 0.1 g saf glikojen (Sigma G-8751) içeren bir stok çözelti hazırlandı ve bundan seyreltme yöntemi ile 0.005, 0.010, 0.025, 0.050, ve 0.075 mg/ml glikojen standart çözeltileri elde edildi. Bu glikojen standardı serisine Van Handel (1985) metodu uygulanarak örneklerin ışık absorpsiyon değerleri 625 nm dalga boyundaki spektrofotometrede (Cecil 5000) okundu ve verilerden regresyon denklemi elde edildi.

$$y = 0,413x + 0,088 \quad (R^2=0,9984)$$

Örneklerin glikojen miktarlarının tayininde ise her bir tüpe önce 100 µl sodyum sülfat eklendi ve üzerine 900 µl kloroform-metanol (1:2) karışımı ilave edildikten sonra 15.000 devirde 4 dk santrifüj edildi. Dipte kalan pellet ve yaklaşık 0.2 ml süpernatant alınarak 90°C de ki sıcak su banyosuna kloroform-metanolün tamamen uçması sağlandı. Tüpler soğutulduktan sonra üzerlerine 1 ml antron çözeltisi eklenerek tekrar 90°C de 15 dakika bekletildi. Süre sonunda buzdolabında soğutulan tüplerin absorbansı 625 nm de okundu. Elde edilen absorpsiyon değerleri regresyon denkleminde yerine konularak örneğin 1 ml içindeki glikojen miktarı mg cinsinden elde edildi. Daha sonra bu değer o serideki böcek sayısına bölünerek

birey başına düşen glikojen miktarı saptandı. Yaş ağırlığa göre birey başına düşen glikojen oranı ise birey başına düşen glikojen miktarının 100 ile çarpımının birey başına düşen yaş ağırlığa bölünmesiyle elde edildi.

3.2.2.3. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini

Katalaz aktivitesinin belirlenmesinde Aebi (1984) metodu kullanılmıştır.

Prensip

Katalazın hidrojen peroksiti (H_2O_2) nötralize etmesi esasına dayanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler

Fosfat tamponu (50 mM): 6.81 gr KH_2PO_4 ve 7.1 gr Na_2HPO_4 bidistile suda çözündükten sonra pH 1N NaOH ile 7.4 e ayarlandı ve son hacim bidistile su ile 1 litreye tamamlandı.

H_2O_2 (30 mM): %30 luk H_2O_2 den 0.34 ml alınarak fosfat tamponu ile 100 ml ye tamamlandı.

Çizelge 3.3. Aebi (1984) CAT aktivitesi ölçüm prosedürü

	Kör	Numune
H_2O_2 (ml)	2.8	2.8
Fosfat tamponu (ml)	0.2	-
Örnek (ml)	-	0.2

CAT aktivitesinin tayini için iki tüp alındı ve kör ve numune tüpü olarak ayrılan bu tüplerden kör tüpüne 2.8 ml 30 mM H_2O_2 ilave edildi ve üzerine 0.2 ml fosfat tamponu eklendikten sonra seri bir şekilde çalkalanarak spektrofotometrede

(Varian, Carry 50) 240 nm de 30 saniye aralıklarla iki kez okundu. Örnek için kullanılan tüpe yine aynı miktar 30 mM H₂O₂ konuldu ve üzerine 0.2 ml örnek elenerek hızlı bir şekilde çalkalanarak 240 nm de absorbansları okundu. İlk okuma A₁, ikinci okuma A₂ olarak adlandırıldı.

Hesaplama:

$$U = \frac{2.3}{\Delta x} \times \log \frac{A_1}{A_2}$$

$$U = \frac{2.3}{30} \times \log \frac{A_1}{A_2}$$

Formülü ile hesaplanarak katalaz aktivitesi U/mg protein olarak ifade edildi.

3.2.2.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini

SOD aktivitesinin belirlenmesinde Sun ve ark. (1988) tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı.

Prensip

Yöntem reaksiyon ortamında enzimatik bir reaksiyonla üretilen süperoksit radikallerinin, ortamda bulunan nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgemesinin örnekteki SOD tarafından engellenmesi esasına dayanır. Yöntemde süperoksit radikali üretimi ksantin-ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile sağlanır. Bu şekilde oluşturulan süperoksit radikalleri NBT ile reaksiyona girerek maksimum absorbansını 560 nm de veren bir formazon oluşturur. Ortama ilave edilen enzimin üretilen radikalleri dismutasyona uğratması sonucunda NBT redüksiyon reaksiyonu yavaşlar ve sonuçta spektrofotometrede okunan absorbans değeri düşer.

Dolayısıyla formazon oluşumunun inhibisyonun tayiniyle SOD miktarı indirekt olarak saptanmaktadır.

Reaktif çözeltisinin bileşenleri

Ksantin çözeltisi (0.3 mM): 9.13 mg ksantin (Sigma; X7375) önce birkaç damla 1N NaOH ile çözüldü daha sonra hacim bidistile saf su ile 200 ml ye tamamlandı.

EDTA (0.6 mM): 22.3 mg EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$) (Sigma: E-1644) toplam hacim 100 ml olacak şekilde bidistile saf suda çözüldü.

NBT (150 µg/l): 12.3 mg NBT (Sigma; N6876) toplam hacim 100 ml olacak şekilde bidistile saf suda çözüldü.

Na₂CO₃ (400 mM): 4.24 g Na₂CO₃ toplam hacim 100 ml olacak şekilde bidistile saf suda çözüldü.

BSA (1 g/l): 25 mg BSA toplam hacim 25 ml olacak şekilde bidistile saf suda çözüldü.

Reaktif çözeltisi (20 testlik): 20 ml ksantin çözeltisi, 10 ml EDTA çözeltisi, 10 ml NBT çözeltisi, 6 ml Na₂CO₃ çözeltisi ve 3 ml BSA çözeltisi alındı ve karıştırıldı.

Ksantin oksidaz [(EC:1.17.3.2) (Sigma; X1875) (167 U/l)] enziminden 48 µl alındı, 3 ml 2M buz soğukluğunda (NH₄)₂SO₄ de çözüldü.

2M (NH₄)₂SO₄: 2.643 g (NH₄)₂SO₄ toplam hacim 10 ml olacak şekilde bidistile saf su içerisinde çözüldü.

CuCl₂·2H₂O (0.8 mM): 13.6 mg CuCl₂·2H₂O toplam hacim 100 ml olacak şekilde bidistile saf suda çözüldü.

Çizelge 3.4. Sun ve ark. (1988) SOD aktivitesi ölçüm prosedürü

	<u>Kör</u>	<u>Numune</u>
Reaktif (ml)	1.425	1.425
Örnek (ml)	-----	0.05
Ksantin oksidaz (ml)	0.025	0.025
Karıştırılır ve oda sıcaklığında 20 dk bekletilir		
CuCl ₂ (ml)	0.05	0.05
Örnek (ml)	0.05	-----

SOD aktivitesinin tayini için her bir örnek için iki tüp alındı. Birinci tüp kör için ikinci tüp ise örnek için kullanıldı. Kör tüpüne 1.425 ml reaktif karışımı konuldu üzerine 0.025 ml ksantin oksidaz çözeltisi ilave edildi, karıştırılarak 20 dakika oda sıcaklığında bekletildi, süre sonunda 0.05 ml bakır klorür eklenerek reaksiyon durduruldu. Son olarak proteinden kaynaklanan absorbansın sonuçları etkilememesi için 0.05 ml örnek eklendi ve spektrofotometrede (Cecil 5000) 560 nm de saf suya karşı okuma yapıldı. Örnek tüpüne yine 1.425 ml reaktif karışımı üzerine 0.05 ml örnek ve 0.025 ml ksantin oksidaz ilave edildi ve 20 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 0.05 ml bakır klorür ilave edilerek reaksiyon durduruldu ve 560 nm de absorbansları okundu.

Hesaplama:

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{(\text{Absorbans kör} - \text{Absorbans numune}) \times 100}{\text{Absorbans kör}} \quad (3.3)$$

$$\text{Aktivite (U/ml)} = \frac{\% \text{ İnhibisyon}}{50 \times 0.1} \quad (3.4)$$

$$\text{Spesifik aktivite (U/mg protein)} = \frac{\text{Aktivite (U/ml)}}{\text{Protein miktarı (mg/ml)}} \quad (3.5)$$

3.2.3. Verilerin Değerlendirilmesi

Deney aynı koşullarda üçer defa tekrar edildi. Bir deney serisinden elde edilen veriler, kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırılmak suretiyle değerlendirildi. Verilerin karşılaştırılmasında varyans analiz yöntemi, ortalamaların farkının önem kontrolünde ise student Newman Keul's (SNK) testi bilgisayarda SPSS 22.00 istatistik paketi kullanılarak yapıldı. Ortalamalar arası fark 0.05 olasılık seviyesinde F değerinden büyük olduğunda önemli olarak kabul edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

Laboratuvar koşullarında hazırlanan sentetik besini içine *G. mellonella* larvaları eklenmiş, kontrole göre artan konsantrasyonlarda kadmiyum ve kadmiyum + vitamin E ilave edilmiştir. Deney sonunda *G. mellonella* larvaları üzerinde yüzde protein miktarı, yüzde glikojen miktarı ve antioksidan enzimlerinden süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri gözlenmiştir.

4.1.1. Cd ve Cd + Vit E'nin Protein Miktarı Üzerine Etkileri

Farklı Cd konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın birey başına düşen yüzde protein miktarına etkileri çizelge 4.1 ve şekil 4.1'de gösterilmiştir

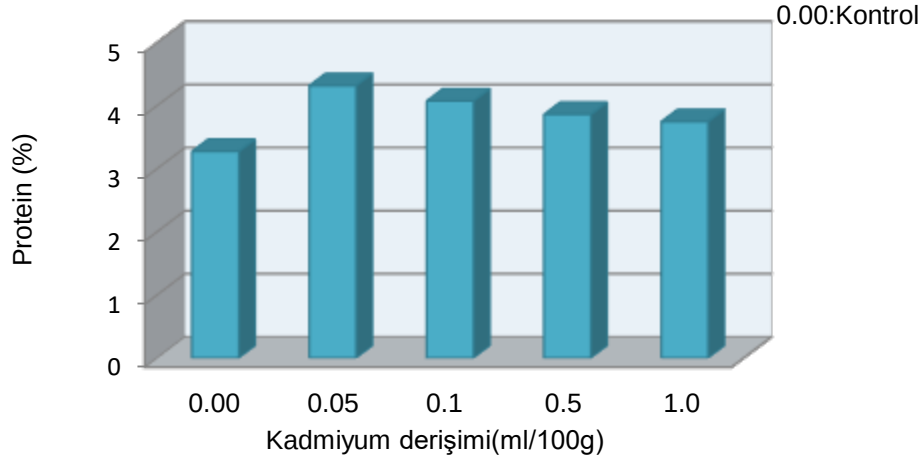
Çizelge 4.1. Farklı Cd konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın birey başına düşen yüzde protein miktarına etkileri

Kadmiyum Konsantrasyon (ml)	Yaş Ağırlık (mg)	Protein (%) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
0.0**	212.22	3.27 $\pm$ 0.35 a
0.05	177.77	4.32 $\pm$ 0.34 a
0.1	182.22	4.07 $\pm$ 0.46 a
0.5	184.44	3.86 $\pm$ 0.52 a
1.0	190.00	3.75 $\pm$ 0.56 a

* : SNK: Harfler konsantrasyonlar arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harf ile ifade edilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayırım vardır.

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

** : Kontrol



Şekil 4.1. Farklı Cd konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın birey başına düşen yüzde protein miktarına etkileri

Deney periyodunda kontrol grubunda yüzde protein miktarı 3.27'dir. Diğer konsantrasyonlarda yüzde protein miktarı sırasıyla % 0.05'lik konsantrasyonda 4.32, %0,1'de 4.07, %0,5'de 3.86 ve %1.0'de 3.75 olarak belirlenmiş, sonuç olarak istatistiki bir fark gözlenmemiştir.

Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın birey başına düşen yüzde protein miktarına etkileri çizelge 4.2 ve şekil 4.2'de gösterilmiştir

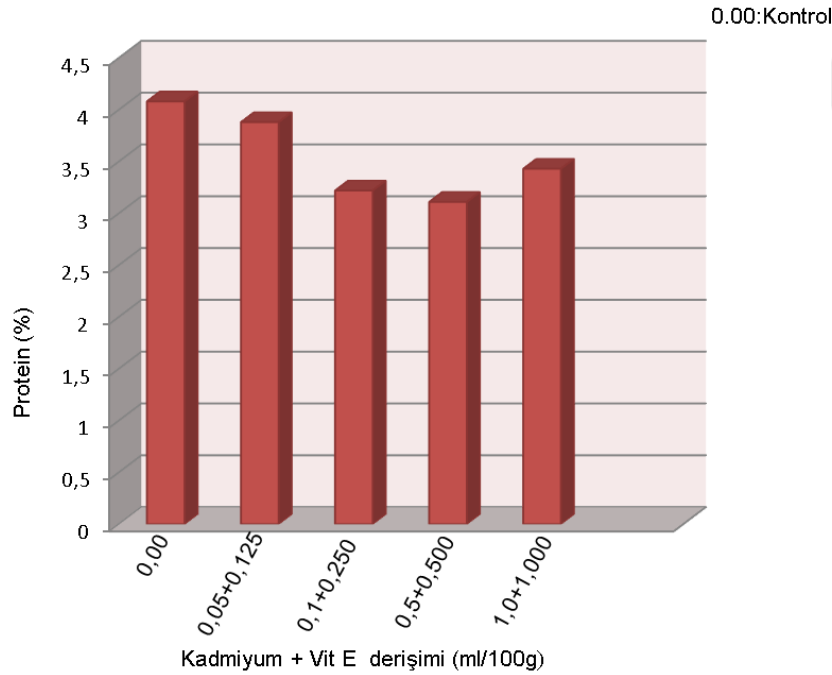
Çizelge 4.2. Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın birey başına düşen yüzde protein miktarına etkileri

Kadmiyum Konsantrasyon (ml)	Vit. E (ml)	Yaş Ağırlık (mg)	Protein (%) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
0.0**	0.00	185.66	4.08 $\pm$ 0.13 a
0.05	0.125	190.66	3.88 $\pm$ 0.16 a
0.1	0.250	186.66	3.22 $\pm$ 0.98 b
0.5	0.500	195.00	3.11 $\pm$ 0.08 b
1.0	1.000	174.00	3.43 $\pm$ 0.29 ab

* : SNK: Harfler konsantrasyonlar arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harf ile ifade edilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

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

** : Kontrol

Şekil 4.2. Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın birey başına düşen yüzde protein miktarına etkileri

Deney periyodundaki kontrol grubunda yüzde protein miktarı 4.08 iken diğer konsantrasyonlarda yüzde protein miktarı sırasıyla 3.88, 3.22, 3.11 ve 3.43 olarak belirlenmiş ve kontrol grubuna göre tüm uygulama gruplarında azalma gözlenmiştir. % 0.05 lik konsantrasyon kontrol grubu ile yakın değerler göstermiştir. %0.1 ve %0.5 lik konsantrasyonlar kontrol grubuna göre düşüş göstermiş ve istatistiki bir fark bulunmuştur.

4.1.2. Cd ve Cd + Vit. E'nin Glikojen Miktarına Etkileri

Farklı Cd konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın yüzde glikojen miktarına etkileri çizelge 4.3 ve şekil 4.3 gösterilmiştir

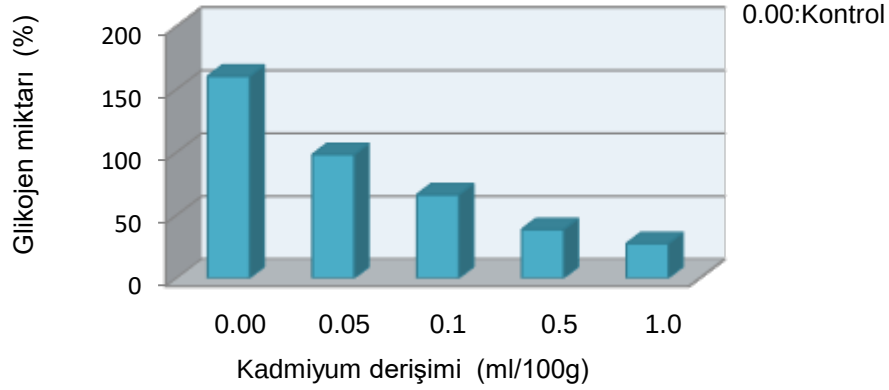
Çizelge 4.3. Farklı Cd konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın birey başına düşen yüzde glikojen miktarına etkileri

Kadmiyum Konsantrasyon (ml)	Yaş Ağırlık (mg)	Glikojen (%) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
0.0**	209.66	160.48 $\pm$ 5.92 a
0.05	204.00	98.24 $\pm$ 6.91 b
0.1	174.66	66.31 $\pm$ 1.82 c
0.5	183.33	38.65 $\pm$ 2.58 d
1.0	173.33	27.50 $\pm$ 12.90 d

* : SNK: Harfler konsantrasyonlar arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harf ile ifade edilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayırım vardır.

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

** : Kontrol



Şekil 4.3. Farklı Cd konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın birey başına düşen yüzde glikojen miktarına etkileri

Artan kadmiyum derişimlerinin glikojen miktarına etkileri incelendiğinde kontrol grubunda yüzde glikojen miktarı 160.48 olarak saptanmıştır. Denenen diğer konsantrasyonlarda sırasıyla, 98.24, 66.31, 38.65 ve 27.50 olarak belirlenmiş olup kontrol grubuna göre tüm uygulama gruplarında önemli miktarda azalma olduğu tespit edilmiş ve istatistiki bir fark gözlenmiştir.

Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının glikojenine etkileri çizelge 4.4 ve şekil 4.4'de gösterilmiştir.

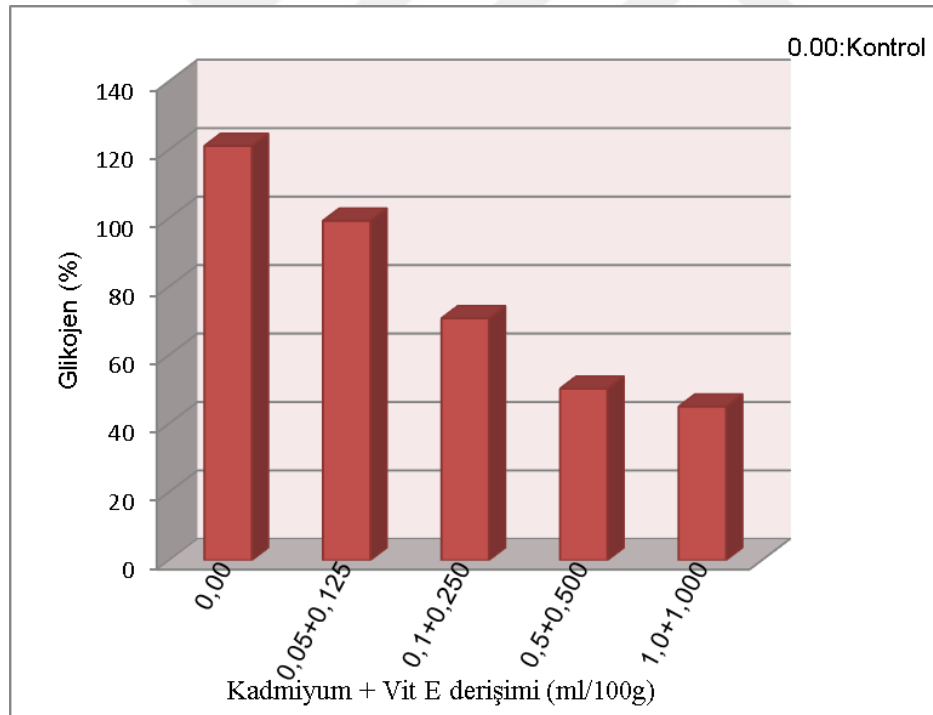
Çizelge 4.4. Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın birey başına düşen yüzde glikojen miktarına etkileri

Kadmiyum Konsantrasyon (ml)	Vit. E (ml)	Yaş Ağırlık (mg)	Glikojen (%) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
0.0**	0.0**	176.00	121.11 $\pm$ 11.45 a
0.05	0.125	181.33	99.22 $\pm$ 7.07 ab
0.1	0.250	218.66	70.73 $\pm$ 15.79 bc
0.5	0.500	168.66	50.18 $\pm$ 8.78 c
1.0	1.000	175.00	44.93 $\pm$ 5.53 c

* : SNK: Harfler konsantrasyonlar arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harf ile ifade edilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

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

** : Kontrol

Şekil 4.4. Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın birey başına düşen yüzde glikojen miktarına etkileri

Deney sonuçlarına bakıldığında kontrol grubunun yüzde glikojen miktarı 121.11 olarak tespit edilmiştir. Kadmiyum ve kadmiyum + vitamin E’li diğer konsantrasyonlarda ise sırasıyla 99.22, 70.73, 50.18 ve 44.93 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak konsantrasyon artışına bağlı olarak yüzde glikojen miktarında kontrol grubuna göre tüm uygulama gruplarında azalma gözlenmiştir. Bu sonuçlar istatistiki olarak önemli bir farkı göstermektedir.

4.1.3. Cd ve Cd + Vit. E’nin CAT Aktivitesi Üzerine Etkileri

Farklı Cd konsantrasyonlarının *G. mellonella*’nın CAT aktivitesi üzerine etkileri çizelge 4.5 ve şekil 4.5’de gösterilmiştir.

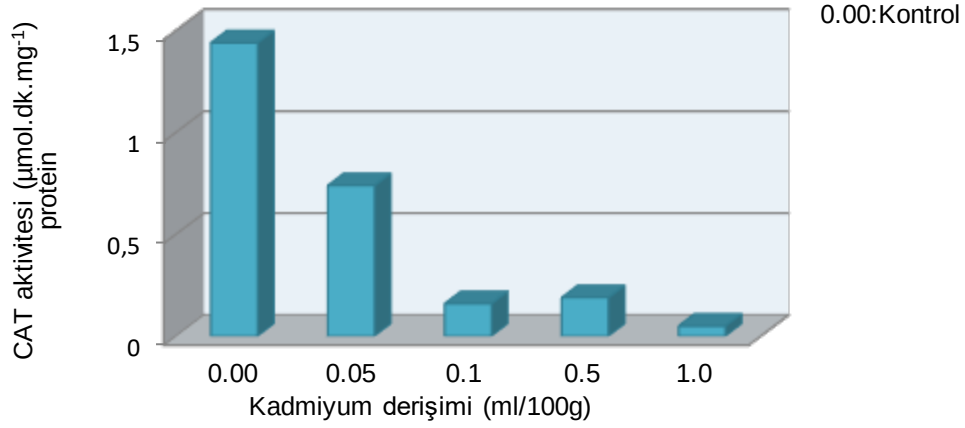
Çizelge 4.5. Farklı Cd konsantrasyonlarının *G. mellonella*’nın CAT aktivitesi üzerine etkileri

Kadmiyum Konsantrasyon (ml)	Yaş Ağırlık (mg)	CAT ($\mu\text{mol.dk.mg}^{-1}$ protein) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
0.0**	209.66	1.44 $\pm$ 0.16 a
0.05	204.00	0.74 $\pm$ 0.14 b
0.1	174.66	0.16 $\pm$ 0.07 c
0.5	183.33	0.19 $\pm$ 0.03 c
1.0	173.33	0.05 $\pm$ 0.02 c

* : SNK: Harfler konsantrasyonlar arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harf ile ifade edilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayırım vardır.

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

** : Kontrol



Şekil 4.5. Farklı Cd konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın CAT aktivitesi üzerine etkileri

CAT aktivitesinin artan Cd konsantrasyonlarında kontrol grubunda 1.44 $\mu\text{mol.dk.mg}^{-1}$ protein değerde olduğu belirlenmiştir. Diğer konsantrasyonlarda sırasıyla 0.74 $\mu\text{mol.dk.mg}^{-1}$ protein, 0.16 $\mu\text{mol.dk.mg}^{-1}$ protein, 0.19 $\mu\text{mol.dk.mg}^{-1}$ protein ve 0.05 $\mu\text{mol.dk.mg}^{-1}$ protein değerlerine ulaşarak kontrol grubuna göre tüm uygulama gruplarında azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$) (Çizelge 4.5).

Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın CAT aktiviteleri üzerine etkileri çizelge 4.6 ve şekil 4.6'de gösterilmiştir.

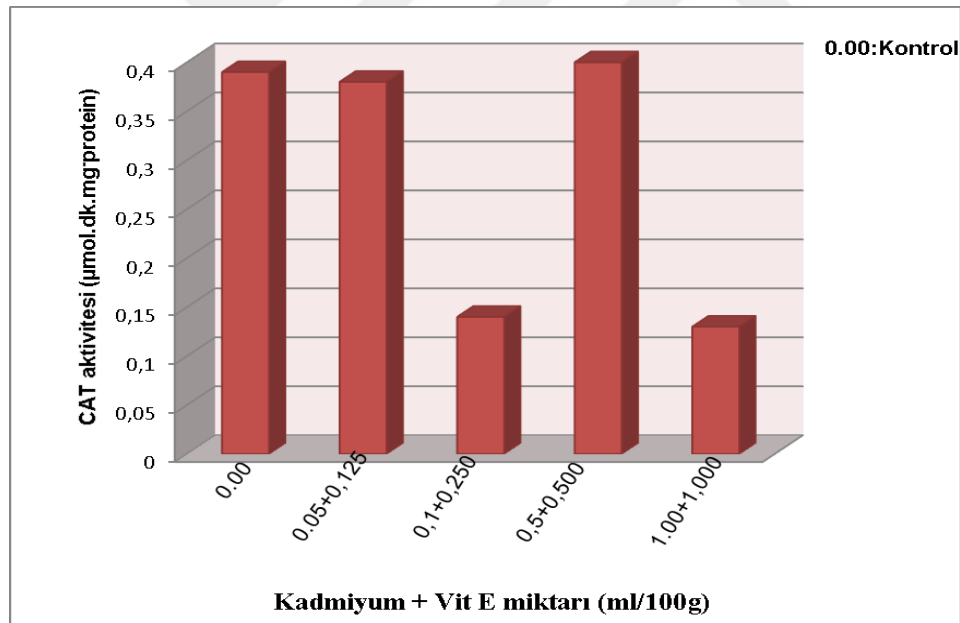
Çizelge 4.6. Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın CAT aktivitesi üzerine etkileri

Kadmiyum Konsantrasyon (ml)	Vit. E (ml)	Yaş Ağırlık (mg)	CAT ($\mu\text{mol.dk.mg}^{-1}\text{protein}$) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
0.0**	0.0**	176.00	0.39 ± 0.01 a
0.05	0.125	181.33	0.38 ± 0.05 a
0.1	0.250	218.66	0.14 ± 0.02 b
0.5	0,500	168.66	0.40 ± 0.03 a
1.0	1.000	175.00	0.13 ± 0.005 b

* : SNK: Harfler konsantrasyonlar arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harf ile ifade edilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

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

** : Kontrol

Şekil 4.6. Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın CAT aktivitesi üzerine etkileri

Kadmiyumun vitamin E ile birlikte uygulanması sonucunda CAT aktivitesi kontrol grubunda $0.39 \mu\text{mol.dk.mg}^{-1}$ protein değere ulaşırken, artan konsantrasyonlarda sırasıyla % 0.05'lik konsantrasyonda $0.38 \mu\text{mol.dk.mg}^{-1}$ protein, % 0.1'de $0.14 \mu\text{mol.dk.mg}^{-1}$ protein, % 0.5'te $0.40 \mu\text{mol.dk.mg}^{-1}$ protein, %1'de $0.13 \mu\text{mol.dk.mg}^{-1}$ protein olarak ölçülmüştür.

4.1.4. Cd ve Cd + Vit. E'nin SOD Aktivitesi Üzerine Etkileri

Farklı Cd konsantrasyonlarının) *G. mellonella*'nın SOD aktiviteleri üzerine etkileri çizelge 4.7 ve şekil 4.7'de gösterilmiştir.

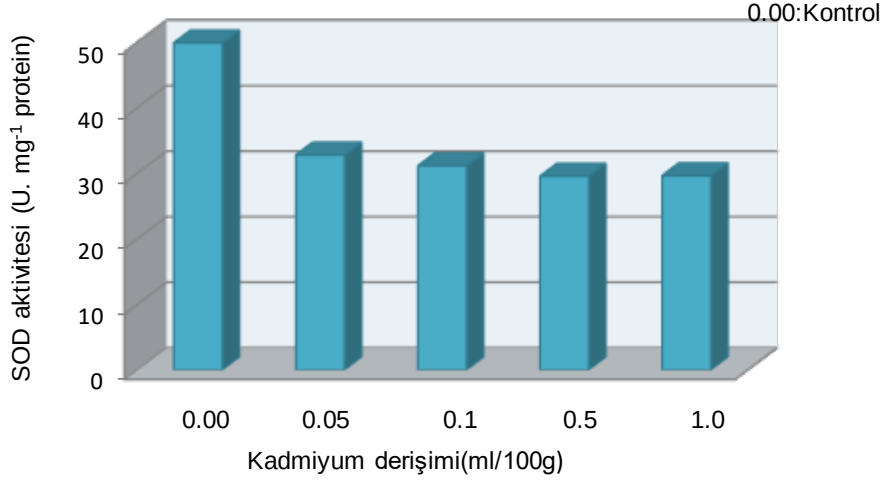
Çizelge 4.7. Farklı Cd konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD aktivitesi üzerine etkileri

Kadmiyum Konsantrasyon (ml)	Yaş Ağırlık (mg)	SOD (U/mg protein) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
0.0**	209.66	49.91 ± 0.29 a
0.05	204.00	32.8 ± 1.91 b
0.1	174.66	31.15 ± 3.98 b
0.5	183.33	29.57 ± 3.93 b
1.0	173.33	29.65 ± 0.89 b

* : SNK: Harfler konsantrasyonlar arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harf ile ifade edilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayırım vardır.

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

** : Kontrol



Şekil 4.7. Farklı Cd konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD aktivitesi üzerine etkileri

G. mellonella'nın farklı Cd derişimlerinde SOD aktivitesi kontrol grubunda 49.91U/mg protein olarak belirlenmiş olup diğer artan konsantrasyonlarda sırasıyla, 32.8 U/mg protein, 31.15 U/mg protein, 29.57 U/mg protein ve 29.65 U/mg protein olarak gözlenmiştir. Yapılan çalışmada SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre tüm uygulama gruplarında azaldığı gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar denenen tüm gruplarda kontrol grubuna göre istatistiki bir farkın olduğunu göstermektedir.

Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının SOD aktivitesi üzerine etkileri çizelge 4.8 ve şekil 4.8'de gösterilmiştir.

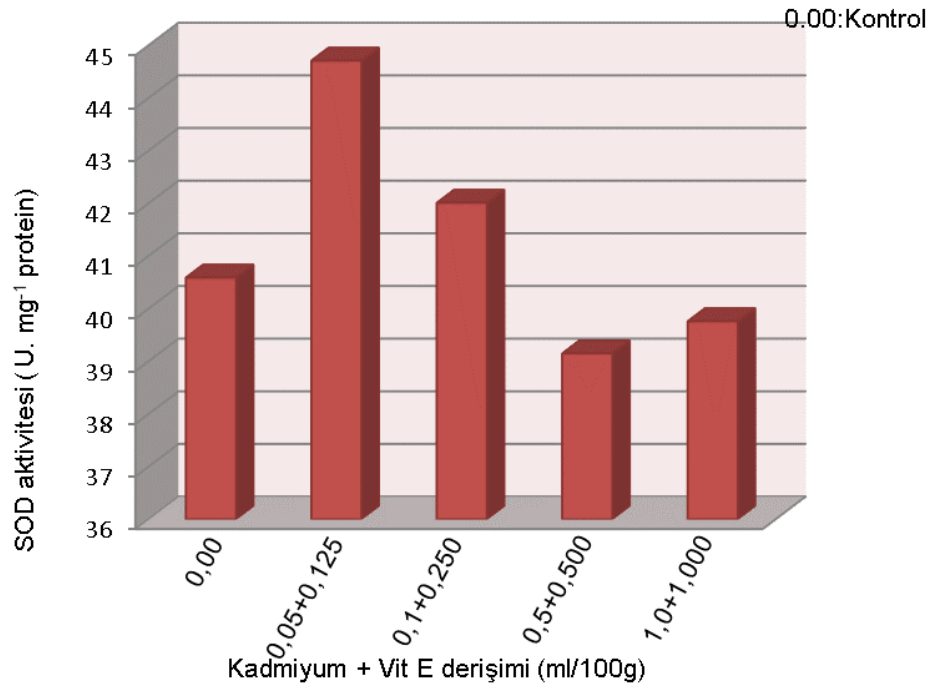
Çizelge 4.8. Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD aktivitesi üzerine etkileri

Kadmiyum Konsantrasyon (ml)	Vit. E (ml)	Yaş Ağırlık (mg)	SOD (U/mg protein) ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
0.0**	0.0**	176.00	40.59 $\pm$ 2.41 a
0.05	0.125	181.33	44.71 $\pm$ 2.91 a
0.1	0.250	218.66	42.01 $\pm$ 1.67 a
0.5	0.500	168.66	39.15 $\pm$ 4.23 a
1.0	1.000	175.00	39.76 $\pm$ 4.08 a

* : SNK: Harfler konsantrasyonlar arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harf ile ifade edilen veriler arasında $P < 0.05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır.

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

** : Kontrol

Şekil 4.8. Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD aktivitesi üzerine etkileri

Farklı Cd + vitamin E konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD aktiviteleri üzerine etkileri incelendiğinde kontrol grubuna göre denenen diğer konsantrasyonlarda önemli bir ayrımın olmadığı gözlenmiştir. Kontrol grubunda SOD aktivitesi 40,59U/mg protein olarak belirlenmiş, Cd ve vitamin E konsantrasyonları arttıkça sırasıyla 44.71U/mg protein, 42.01U/mg protein, 39.15U/mg protein, 39.76U/mg protein olarak gözlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.8).

4.2. Tartışma

Sunulan çalışmada kadmiyumun farklı derişimleri (%0.05, %0.1,%0.5, %1.0) ve kadmiyum + vitamin E karışımı besinlerin *G. mellonella* larvalarında birey başına düşen yüzde protein, yüzde glikojen miktarına etkileri ile süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri incelendi..

Çevre kirliliği hava, toprak ve su kirliliği olarak üçlü bir çember içerisinde doğada oluşmakta ve sonuçta insanın da dahil olduğu tüm ekosistemi etkilemektedir. Ağır metallerin sebep olduğu çevre kirliliği, su, hava ve doğrudan toprak kirliliğine yol açan madencilik çalışmaları, gübre ve pestisitler, sanayi atıkları ve hidrokarbon yanma ürünleri ile toprağa ulaşabilmektedir. Sonuçta ağır metaller, kontamine olmuş topraklarda yapılan bitkisel üretimler ve meraların da kirlenmesi ile gıda zincirine dahil olmakta, tüm canlı sistemlerini etkilediği gibi insan sağlığını da olumsuz olarak etkilemektedir. Çevre kirliliğine sebep olan başlıca ağır metaller arasında kurşun (Pb), civa (Hg), arsenik (As), çinko (Zn), bakır (Cu), krom (Cr) ve kadmiyum (Cd) sayılabilir. Metaller hava, su ve toprak yolu ile besinlere ve içme sularına bulaşır. Ağır metaller dokularda birikerek etkilerini yıllar sonra gösterebilir. Ağır metaller akut zehirlenmelere neden olduğu gibi kronik hastalıkların gelişiminden de sorumludur. Kronik hastalıkların yanı sıra DNA hasarına da yol açarak kanserojen etki gösterirler. (Çağlarırnak N., 2010).

Ağır metallerin besin zincirine katılmasını sağlayan canlı gruplarından biri de böceklerdir. Böcekler, çeşitli habitatlarda yaşayan memeliler ve kuşlar dahil birçok hayvan için protein kaynağı olduğundan, ekosistemdeki besin zincirinde çok

önemli role sahiptirler (Zhang ve ark., 2009). Böceklerin ağır metallerle etkileşimi sonucu bu metalleri vücutlarında biriktirdikleri ve besin zinciri yoluyla bu metallerin diğer hayvanlara transfer edildiği görülmüştür (Zheng ve ark.,2008).

Besin zinciri yolu ile canlı vücuduna giren toksik maddeler hayvanlar için oldukça zararlı olup hücresel ve sistemik işlevsel birçok bozukluklara sebep olabilmektedir. Bu bozukluklar arasında ATP ve ADP'nin fosfat gruplarıyla olan reaksiyonları, hücre zarının zarar görmesi, temel iyonların yerini almaları ve esas metabolitlerle rekabete girmeleri sayılabilir (Gintenreiter ve ark.,1993a).

Proteinleri oluşturan aminoasitlerin her canlıda olduğu gibi böceklerin büyüme ve gelişmelerinde de önemli bir yer tuttuğu bilinmektedir. Yapılan birçok çalışma proteinlerin böcek türlerinde büyüme, gelişme ve üreme üzerinde doğrudan etkili olduğunu doğrulamıştır(Hinton ve ark., 1951).

Çalışmamızda artan kadmiyum konsantrasyonlarının, *G. mellonella*'da birey başına düşen yüzde protein miktarını, kontrole oranla az miktarda arttırdığı gözlenmiş, fakat istatistiki olarak önemli kabul edilmemiştir. Protein miktarında görülen bu artış, ağır metal etkisinde protein sentezinin değiştiği ve bu değişimin nedenlerinden birinin de glikoprotein ve metallotionein gibi metal bağlayıcı proteinler olduğunu göstermektedir (Braeckman ve ark., 1999,Cicik ve Erdem, 1992). Yapılan benzer bir çalışmada sentetik besine ilave edilen kadmiyumum genel olarak protein miktarlarına negatif yönde etki ettiği, fakat düşük kadmiyum konsantrasyonlarda (%0.05) protein miktarında kontrole göre artışlar olduğu gösterilmiştir (Kayış ve Emre, 2012). Bu durum Aedes hücrelerinde de görüldüğü gibi ağır metallerin toksik etkilerine karşı gösterilen bir tepki olarak düşünülebilir (Braeckman ve ark., 1999). Bu durumun sebebi kadmiyum bağlayıcı proteinlerdeki artış olabileceği gibi kesin bir yargı için daha ayrıntılı çalışmalar gerekmektedir. (Braeckman ve ark., 1999). Başlıca ağır metal detoksifiye edici proteinler olarak karakterize edilen bu proteinler, hem omurgalılarda hemde omurgasızlarda özellikle kadmiyum bağlayan ve sülfür içeren proteinler olarak bilinmektedir (George ve ark.,1996, Fowler ve ark., 1986).

Yapılan çalışmalar besin yoluyla alınan ve toksik özellik gösteren kadmiyumun sublethal dozlarının larval ve ergin evrede organizmada biriktiğini, aynı zamanda erginlerde ömür uzunluğunu ve fertilitiyi düşürdüğünü göstermiştir (Moe ve ark., 2001). Kadmiyumun subletal etkisinin artan ağırlığa rağmen larval evrede erişkin beslenmesini bozduğu belirtilmiştir. Bu durum populasyon büyüme oranında azalmaya yol açmıştır. Populasyon büyümesi üzerine toksik maddelerin etkisini önlemek ve populasyon büyümesinde görülen bu değişimlerin mekanizmasını anlamak için elde edilen bu bilgiler oldukça önemli görülmektedir. Benzer çalışmalarda kadmiyumun yüksek konsantrasyonlarının protein sentezini inhibe ettiği ve organizmada protein miktarını azalttığı gösterilmiş, yapılan çalışmalar bu azalışın sebebinin protein sentez mekanizmasının bozulmasından kaynaklandığını göstermiştir (Paris-Palacios ve ark., 2000).

Çalışmamızda deney besini içine Cd ile birlikte artan konsantrasyonlarda vitamin E ilave edildiğinde protein sentezinin kontrol grubuna göre azaldığı gözlenmiştir. Yapmış olduğumuz çalışma ve elde ettiğimiz veriler doğrultusunda, protein miktarında görülen azalışın, ağır metallerin böcekler üzerinde oluşturduğu strese karşı koyma amacıyla protein katabolizmasının uyarılması sonucu oluşan fizyolojik adaptasyon olduğu söylenebilir (Ribeiro ve ark., 2001). Ayrıca bu azalmanın sebebinin, organizmada oluşan stres karşısında hasar gören hücre ve doku organellerinin tamir edilmesinde kullanılmak üzere lipoprotein oluşumunun artmasına da bağlı olabileceği de ileri sürülmüştür (Sancho ve ark., 1998). Şekil 4.2 ve çizelge 4.2' de gözlenen protein miktarındaki artan konsantrasyonlardaki azalışın bir diğer sebebinin ise canlı için toksik olan ağır metallerin etkisi ile epitel hücrelerinin emilim gerçekleştirememesi ve bu nedenle de beslenme eksikliği olarak açıklamak mümkündür. (Rharrabe ve ark., 2008a). Bu durumda güçlü bir antioksidan olan vitamin E' nin kadmiyum toksitesine karşı protein sentezinde bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır (Beyer, 1994).

Böceklerde glikozun fazlası enerji deposu olarak kullanılan glikojen şeklinde yağ dokuda depolanır (Nath, 2000) ve metabolik ve fiziksel faaliyetlerinin

yürütülmesinde ilk başvuru enerji kaynağı olarak bilinmektedir (Akpınar ve ark, 2003; Lorenz ve Anand, 2004). Glikojenin dokulardaki birikim düzeyi böceğin beslenme rejimi ve çevrenin kirlilik düzeyi ile de ilgilidir. Yapılan çalışmalar ile toksik maddelerin böceklerin yağ dokusundaki karbohidrat metabolizmasına etkileri incelenmiş ve bu maddelerin toksik stres oluşturarak karbohidrat düzeylerini etkilediklerini göstermiştir (Nath, 2000). Örneğin, parazitlenmiş *L. dispar* larvalarının hemolenf ve total vücut dokularındaki karbohidrat miktarı, ağır metal stresinin etkileriyle önemli ölçüde azalmakta (Bischof, 1995a), aynı böcek türünde Cd, Pb ve Cu gibi ağır metallerin düşük derişimlerde verilmesi glikojen miktarının artmasına (Ortel, 1996) sebep olabilmektedir.

Sunulan çalışmada kadmiyum içeren besinle beslenen *G. mellonella* larvalarında Cd konsantrasyonları arttıkça glikojen miktarında kontrol grubuna oranla azalma gözlenmiştir. Besin ile hücrelere giren ağır metaller mitokondrinin içine girerek oksidatif fosforilasyonu inhibe ederek (Zaba ve Haris, 1978) etki gösterdikleri gibi bu metallerin meydana getirdiği stres sonucunda glikogenolitik süreçte hızlanma şeklinde de etki gösterebilirler. Çalışmamızda glikojen miktarının kontrole oranla azalması bu etkilerin bir sonucu olabilir. Bu durumda ağır metale maruz kalan böcekler gereksinim duyduğu enerjiyi karşılamada vücut depolarını kullanma yolunu tercih etmiş olup organizmadaki glikoneogenez hızlanmıştır (George; 1996).

Yaptığımız çalışmada deney gruplarından birinde besine eklenen Cd ile birlikte vitamin E glikojen miktarının kontrol gruplarına göre azalmasını değiştirmemiş bütün deney gruplarında yüzde glikojen miktarı vitamin E varlığında da devam etmiştir. Sonuç olarak vitamin E glikojen sentezinde herhangi bir etki göstermemiştir.

Antioksidan savunma sistemleri organizmalarda çeşitli sebeplerle oluşan serbest radikalleri vücut dengesini bozmayacak şekilde yok ederler. Serbest radikallerin organizmaya zarar verecek şekilde artması veya antioksidan savunma sistemlerinin yeterince çalışmaması durumunda vücudun dengesi bozulur ve

serbest radikaller zarar verici boyuta ulaşabilirler. Bunun sonucunda da oksidatif stres oluşarak (Ahmad ve ark., 1995) organizmada çeşitli hasarlara yol açar (Mercan, 2004).

Ağır metaller organizmalarda reaktif oksijen türlerinin oluşumunu hızlandırmakta ve bunun sonucunda canlıda çeşitli hasarlar oluşmaktadır. Özellikle Cd ağır metalinin dokularda süperoksit oluşumu ile birlikte lipid peroksidasyonuna sebep olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir(Sarkar ve ark., 1995).

Lipit peroksidasyonu bağışıklığı, büyümeyi ve üremeyi de içeren fizyolojik fonksiyonların bozulmasına yol açar. Bazı antioksidan enzimler, E ve C vitamini gibi eksojen vitaminler ile bazı mineraller, hücreleri lipit peroksidasyonuna karşı korurlar. Fakat stres durumlarında bu vitamin ve minerallere olan gereksinim artar. Antioksidan vitaminler ve mineraller bir arada çalıştıkları için, bunlardan sadece bir veya ikisinin yüksek oranda ilavesi çok işe yaramaz. Stres durumlarında hücrelerin serbest radikallerden korunmaları için bunların hepsinin daha yüksek miktarlarda tüketimi önemlidir. (Altınar ve ark., 2017).

Ökaryotik hücrelerin yüksek oranda reaktif oksijen kaynaklı serbest radikallerle sürekli olarak başa çıkmaları gerekir.Bu serbest radikallere karşı savunmaları, doğal antioksidan moleküllerin yanı sıra antioksidan enzimler tarafından gerçekleştirilir. SOD ve CAT bu enzimler arasındadır. Bu enzimler normal koşullarda bile hücrenin hayatta kalması ve korunması için gereklidir.Ek olarak, bu enzimler küresel bir hücre korumasını sağlamak için işbirlikçi veya sinerjik bir şekilde etki eder. Bununla birlikte, optimum koruma sadece bu enzimlerin aktiviteleri arasında uygun bir denge sağlandığında sağlanır. Serbest radikallerin zararlı etkilerinin yorumlanması, sadece üretilen serbest radikallerin miktarının bir fonksiyonu olarak değil, aynı zamanda bu enzimatik ve kimyasal antioksidan sistemlerinin etkinliği ve etkinliklerine göre de analiz edilmelidir (Michiels ve ark. , 1994).

Sunulan çalışmada *G. mellonella* larvalarına uygulanan kadmiyum konsantrasyonları arttıkça CAT aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. Bu durumun

ağır metal etkisiyle larvaların oksijen tüketiminde meydana gelen değişmelerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. (Tucker ve ark. , 2004). *Sitophilus granariusta* üzerinde fosfin insektisitinin etkisinin incelendiği bir çalışmada fosfin etkisinde organizmada SOD aktivitesinin arttığını, buna karşı CAT ve peroksidaz aktivitelerinin ise azaldığını tespit etmişlerdir. Artan Cd konsantrasyonları ile birlikte azalan CAT aktivitesinin bir diğer sebebin ise ağır metale bir tepkinin sonucu olup, yüksek ağır metal derişiminin CAT enziminin normal işlevini bozduğu söylenebilir (Bolter ve Chefurka, 1990).

Çalışmamızda besine kadmiyum ile birlikte artan konsantrasyonlarda vitamin E ilave edildiğinde, %0.1 ve %1.0 konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre CAT enzimi aktivitesi azalmış, diğer konsantrasyonlarda ise kontrol grubuna oranla önemli bir fark gözlenmemiştir. CAT enzim aktivitesinde görülen azalmanın sebebi ise enzim yapısının ve işlevinin ağır metal etkisi ile bozulması olarak değerlendirilmektedir (Freedmen ve ark.; 2001). Ayrıca antioksidan enzim sistemlerinin bir bütün olarak çalıştığı ve ağır metal derişiminin arttıkça hücrenin daha fazla E vitaminine ihtiyaç duyduğu çalışmalar ile desteklenmiştir (Altiner ve ark.; 2018). Sunulan çalışmada da en yüksek konsantrasyonda (%1.0) enzim aktivitesinin en düşük seviyede olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.6).

Yapılan çalışmalarda ağır metallerin *G. mellonella*'nın bağışıklık ve antioksidan sistemleri üzerindeki etkilere bakıldığında orta derecede ağır metalin doğal bağışıklığını güçlendirdiğini, ancak büyük miktarlarda ise larval immün fonksiyonun inhibisyonuna yol açtığını ve ayrıca kullanılan ağır metallerin larvalarda güçlü oksidatif strese neden olduğunu gösterilmiştir (Wu ve ark., 2014).

Süperoksit dismutaz (SOD), reaktif oksijen türleri (ROT) ve süperoksit anyon radikallerine karşı en önemli antioksidan savunma sistemidir. SOD bir süperoksit radikalini O_2 molekülüne yükseltgeyip, diğer bir süperoksit radikalini ise daha az reaktif bir molekül olan hidrojen perokside (H_2O_2) indirgenmesini katalize eder(Wu ve ark. ;2014).

Yaptığımız çalışmada *G. mellonella* larvalarının besinine ilave edilen kadmiyum konsantrasyonu arttıkça SOD aktivitesinin azaldığı sonucuna varılmıştır. SOD aktivitesinde görülen azalmanın, Cd'un SOD enziminde bulunan metal iyonlarının yerini alarak enzim aktivitesini inaktif hale getirmesinin sonucu olduğu düşünülmektedir. Çünkü ağır metaller, büyümenin gecikmesine, reaktif oksijen türlerinin oluşumuna, hücre membranının bütünlüğünün bozulmasına ve enzimlerin inhibisyonuna neden olurlar (Viarengo, 1985; Regoli ve Principato, 1995, Canesi ve ark.; 1998). Yüksek konsantrasyonlarda SOD aktivitesindeki ani azalışın diğer bir sebebi ise canlıda ağır metal stresi sonucu beslenme eksikliği ve hücre bütünlüğünün tamamen yok olması olarak düşünülebilir.

Deney gruplarına Cd ile birlikte artan konsantrasyonlarda vitamin E ilave edildiğinde düşük konsantrasyonlarda SOD aktivitesi az miktarda artmış, fakat bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Vitamin E antioksidan özellik gösterdiği için Cd ile birlikte deney gruplarına uygulandığında oksidatif stres sonucu artan süperoksit radikallerinin ortamdan uzaklaştırılabilmesi için SOD aktivitesinin bir miktar arttığı şeklinde yorumlanmıştır (Freedmen ve ark.; 2001).

Bu çalışma ile kadmiyumun, *G. mellonella* larvalarının glikojen, protein, SOD ve CAT aktivitesi gibi biyolojik parametreleri üzerindeki olumsuz etkileri araştırılmış, vitamin E'nin toksik etkiyi azaltıcı etki yaratıp yaratmayacağı incelenmiştir. Bu çalışma, bundan sonraki yapılacak benzer çalışmalarda, antioksidan ve ağır metallerin etkilerinin incelenmesi açısından yapılacak yeni çalışmalara ışık tutacaktır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda ağır bir metal olan kadmiyumun farklı konsantrasyonlarının (0.05, 0.1, 0.5, 1.0 mg/ml) ve kadmiyum ile birlikte vitamin E konsantrasyonlarının (125 mikrolitre, 250 mikrolitre, 500 mikrolitre, 1000 mikrolitre) *G. mellonella*'nın protein, glikojen miktarlarına etkileri, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri araştırılmıştır. Deney sonuçlarına bakılarak kadmiyumun *G. mellonella* larvalarının biyolojik parametrelerinde oldukça farklı sonuçlar ortaya çıkardığı görülmüştür.

Deneylerde kadmiyumun besinlere ilave edilen tüm derişimlerinde, protein miktarında kontrole oranla önemli bir fark gözlenmemişken, glikojen miktarında kontrol grubuna oranla azalma gözlenmiştir. Besinlere artan konsantrasyonlarda ilave edilen Cd sonucu SOD ve CAT enzim aktivitelerinde azalma meydana gelmiştir.

Toksik etkili ağır metaller hücre zarından hücre içine alınırlar ve hücrede protein sentezi, enerji sentezi, enzim sentezi gibi önemli biyolojik reaksiyonları engelleyerek metabolik faaliyetlerde bozulmalara sebep olurlar. Bu olay glikojen sentezinin artan Cd konsantrasyonunda azalmasının sebebi olarak gösterilebilir. Yaptığımız çalışma *G. mellonella*'da sonucunda glikojen miktarının protein miktarına göre ağır metallerden daha çabuk etkilendiği sonucuna varılmış ve bu durum da glikojenin biyokimyasal toksitite çalışmalarında belirleyici olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Güçlü bir antioksidan olan vitamin E çalışmamızda önemli bir yer tutmakta olup Cd ile birlikte besine ilave edildiğinde glikojen, protein miktarları, SOD ve CAT enzim aktiviteleri üzerinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı gözlenmiştir. Fakat vitamin E'nin *G. mellonella*'nın biyolojik parametreleri üzerinde etkilerini görmek için daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılması öngörülmektedir.

Bu çalışmada çevre ve canlılar için toksik etki gösteren kadmiyumun *G. mellonella* larvaları üzerindeki etkilerine bakıldığında , larvalarda beslenme bozukluğuna sebep olduğu, hücre içine kolayca girebildiği ve hücre içi fonksiyonlarını engellediği görülmüştür.

Sunulan çalışmada *G. mellonella* larvalarının ağır metal etkisinde gösterdikleri morfolojik ve fizyolojik değişiklikler gözlenmiş,kadmiyum etkisinde larvaların protein, glikojen ve antioksidan enzim aktivitelerinin olumsuz etkilendikleri sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuçlara bakılarak E vitamini konsantrasyonlarının arttırılması ile ileride yapılacak immünolojik ve fizyolojik çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aebi, H., 1984. Catalase *in vitro*. Methods Enzymol., 121-126.
- Alloway, B. J., 2013. Sources of Heavy Metals and Metalloids in Soils. Springer, Dordrecht, 597s.
- Altınççek, B., M. Linder, D. Linder, K.T. Preissner & A. Vilcinskas. 2007. Microbial metalloproteinases mediate sensing of invading pathogens and activate innate immune responses in the lepidopteran model host *Galleria mellonella*. Infection and Immunity, 75: 175-183.
- Altınar, A. , Atalay H. , Bilal T., 2016. Bir Antioksidan Olarak E Vitamini. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, 6(3):149-157.
- Altınar, A. , Atalay H. , Bilal T., 2018. Serbest Radikaller ve Stres ile İlişkisi. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, 7(3):51-55.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya.
- Akpınar, E.K., Biçer R, Y., Yıldız, C., 2003. Thin Layer Drying of Red Pepper. Journal of Food Engineering, 59:99–104.
- Aktümsek, A., Nurullahoğlu Z. Ü, Kalyoncu L., 2000. *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera:Pyralidae) Larva ve Pupunun Yağ Asidi Bileşimi. S. Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi, 17: 29-32.
- Aydın, A., Sayal, A. ve Işimer, A., 2001. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Ankara, 110s.
- Beyer, R.E., 1994. The Role of Ascorbate in Antioxidant Protection of Biomolecules: Interaction with Vitamin E and Coenzyme Q. J Bioenerg Biomemb, 26:349-358.
- Björneboe, A., Björneboe G.E.A., Drevon C.A., 1990. Absorption, Transport and Distribution of Vitamin E. J Nutr, 120:233-242.

- Bischof, C., 1995. Effects of Heavy Metal Stress on Carbohydrate and Lipid Concentrations in the Haemolymph and Total Body Tissue of Parasitized *Lymantria dispar* L. Larvae (Lymantriidae). *Comp. Biochem. and Physiol.*, 112:87–92.
- Blockhina, Academic Dissertation., 2000. ISSN1239-9469, ISBN 951-45-9631-5, ISBN 951-45-9632-3, ISBN 951-45-9633.
- Braeckman B., Houthoofd K., Devreese A., Vanfleteren J. 1999. Apparent uncoupling of energy production and consumption in long-lived *clk* mutants of *Caenorhabditis elegans*. *Current Biology*, 9(9):493-497.
- Bream, A.S., 2003. Laboratory Evaluation of Heavy Metals Stress on Certain Biochemical Parameters of The Aquatic Insect, *Sphaerodema urinator* Duf. (Hemiptera: Belostomatidae). *Communications in Agricultural and Applied Biological Science*, 68(4): 291-297.
- Bremner, I., 1974. Heavy Metal Toxicities *Quart. J. Biophys.*, 7:74–124.
- Bronskill, J.K., 1961. A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae). *J. Lep. Soc.*, 102-104.
- Bryan, G.W., Langston, W.J., 1992. Bioavailability, Accumulation And Effects Of Heavy Metals In Sediments With Special Reference To United Kingdom Estuaries: a Review. *Environ.Pollut.*,76:89-31.
- Bolkent, S., Koyutürk, M., Bulan, O.K., Tunalı, S., Yanardağ, R., Tabakoğlu, A. O., 2007. The Effects of Combined Alpha-Tocopherol, Ascorbic Acid, and Selenium Against Cadmium Toxicity in Rat Intestine. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 26(1):21–27.
- Büyükgüzel, E. & Y. Kalender, 2007. Penicillin-induced oxidative stress: Effects on antioxidative response of midgut tissues in larval instars of *G. mellonella*. *Journal of Economic Entomology*, 100: 1533-1541.
- Canesi, L., Ciacci, c., Piccoli, G., stocchi, V., Viarengo, A., and Gallo, G., 1998. In Vitro and In Vivo Effects of Heavy Metals on Mussel Digestive Gland Hexokinase Activity: The Role of Glutathione. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 120: 261-268.

- Chen, H., Tappel A.L., 1995. Protection By Vitamin E, Selenium, Trolox C, Ascorbic Acid, Palmitate, Acetylcysteine, Coenzyme Q0, Coenzyme Q10, Beta-Carotene, Canthaxantine, and (+)-Catechin Against Oxidative Damage to Rat Blood and Tissues in Vivo. *Free Radic Biol Med*, 18: 949-953.
- Chow, C.K., 1991. Vitamin E and Oxidative Stress. *Free Radic. Biol. Med.*, 11(2):215-232.
- Cicik, B. ve Erdem, C. 1992. Effect of Copper on The Quantitative Protein Changes in Liver and Muscle Tissues of *Tilapia Nilotica*. *Biyokimya Dergisi*, 1:54-64.
- Crawford, L.A., Lepp, N.W. and Hodgkinson, I.D., 1996. Accumulation and Egestion of Dietary Copper and Cadmium by the Grasshopper Locusta Migratoria R&F (Orthoptera: Acrididae). *Environ. Pollut.*, 92(3):241-246.
- Coşkun, M., Özalp, P. and Emre, I., 2005. Effects of Vitamin E Concentrations on Sex Ratio of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) Adults. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 98(3):336-339.
- Çağlar Y., Tutkun E., Tutar A., Yılmaz B., 2001. Balmumu Güvesi Mücadelesinde Kullanılan Kükürtdioksitin (SO₂) Farklı Dozlarının Etkisi Üzerine Aratırmalar. *Türkiye 3. Arıcılık Kongresi Adana*.
- Çağlarırnak, N. ve ark., 2010. Ağır Metal Toprak Kirliliğinin Gıda Zinciri ve İnsan Sağlığına Etkisi. *Akademik Gıda* , 8 (2):31-35.
- Dadd, R.H. and Kleinjan, J.E., 1979. Vitamin E Ascorbly Palmitate or Propyl Gallate Protect Arachidonic Acid in Synthetic Diets for Mosquitoes. *Ent. Exp. App.*, 26: 222-226.
- Dawn, BM, Allan DM, Colleen M. S., 1996. *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach*. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.
- Devasagayam TPA, 2003. Bloor KK and Ramsarma T. Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview). *Indian J Bioche Biophys*, 40:8-300.

- El-Missiry, M. A., Shalaby, F. 2000. Role of β -Carotene in Ameliorating the Cadmium-induced Oxidative Stress in Rat Brain and Testis. *J. Biochem. Mol. Toxicol*, 14:238–243.
- El-Sharaky, A. S., Newairy, A. A., Badreldeen, M. M., Eweda, S. M., Sheweita, S. A. 2007. Protective Role of Selenium Against Renal Toxicity Induced by Cadmium in Rats. *Toxicology*, 235(3):185–193.
- Emre İ., Kayış T., Coskun M., Dursun O., Cogun H., 2013. Changes in antioxidative enzyme activity, glycogen, lipid, protein, and malondialdehyde content in cadmium-treated *Galleria mellonella* larvae. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 106 (3), 371-37.
- Fariss, M.W., 1991. Cadmium Toxicity: Unique Cytoprotective Properties of Alpha Tocopheryl Succinate In Hepatocytes. *Toxicology*, 69:63-77.
- Fraenkel, G. and Blewett, M., 1946. Linoleic Acid, Vitamin E and Other Fat-Soluble Substances in the Nutrition of Certain Insects. *J. Exp. Biol.*, 129: 179-190.
- Freedman J., Mattie M.; 2001. Protective Effects of Aspirin and Vitamin E (α -Tocopherol) against Copper- and Cadmium-Induced Toxicity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 285:921-925.
- Fornazier, R.F., Ferreira, R.R., Pereira, G.J.G., Molina, S.M.G., Smith, R.J., Lea, P.J. and Azevedo, R.A., 2002. Cadmium Stress in Sugar Cane Callus Cultures: Effect on Antioxidant Enzymes. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 71:125-131.
- Fowler, B.A., Carmichael, N.G. Squibb, S.K. Engel D.W. Brouwer, M., 1986. Purification and Characterization Studies of Cadmium-Binding Proteins from the American Oyster (*Crassostrea virginica*). *Environmental Health Perspective*, 65:63-69.
- Galloway, T.S., Depledge, M.H., 2001. Immunotoxicity in Invertebrates: Measurement And Ecotoxicological Relevance. *Ecotoxicology*, 10:5-23.

- Gelegen, L., Yeşilada, E., 2000. *Drosophila melanogaster*'in Bazı Gelişimsel Özellikleri Üzerine Kadmiyum Nitratın Etkisi. TÜBİTAK Türk J Biol, 24:585–591.
- George, S. G., Todd, K., Wright, J., 1996. Regulations of MT in teleosts: Induction of MT mRNA and protein by Cadmium in hepatic and extrahepatic tissues of marine flatfish, the turbot (*Scophthalmus maximus*). Comparative Biochemistry and Physiology, 113:109-115
- Ginterreiter, S., Ortel, J., Nopp, H.J., 1993a. Effects of different dietary levels of cadmium, lead copper, and zinc on the vitality of the forest pest insect *Lymantria dispar* L. (Lymantriidae, Lepid). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 25:62–66.
- Gongqing, W., Yunhong, Y., 2015. Effects Of Dietary Heavy Metals On The Immune and Antioxidant Systems of *Galleria mellonella* Larvae. Comparative Biochemistry and Physiology, 167:131-139.
- Guo-Xing, W.U., Gong-Yin Y.E., 2006. Accumulation of Cadmium And Its Effects On Growth, Development And Hemolymph Biochemical Compositions in *Boettcherisca peregrina*, larvae (Diptera: Sarcophagidae). Insect Science, 13:31-39.
- Haewoon, O., Manyong, L., Youngduck, Chang., 1995. Developing Periods and Damage Patterns of Combs By The Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*. Korean Journal of Apiculture, 10(1):5-10.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition, Oxford University Press. Inc., New York, s. 936.
- Hazen-Martin, D. J., Sens, D. A., Blackburn, J. G., Annsens, M., 1989. Cadmium Nephrotoxicity In Human Proximal Tubule Cell Cultures In Vitro Cell. Dev. Biol., 25(9):784–790.
- Hinton, T., Noyes, D. T. and Ellis, J., 1951. Amino Acids and Growth Factors in Chemically Defined Medium for *Drosophila*. Physiol. Zool., 24:335-353.

- Houston, A.H., Keen, J.E., 1984. Cadmium İnhibition Of Erythropoiesis İn Goldfish (*Carassius auratus*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 41:18-34.
- Jarup, L., 2003. Hazards of Heavy Metal Contamination. Br. Med. Bull., 68:167-182.
- John H. Duffus, "Environmental toxicology", New York : Wiley, 1980.
- Joyce, S.A. & C.G.M. Gahan, 2010. Molecular pathogenesis of listeria monocytogenes in the alternative model host *Galleria mellonella*. Microbiology, 156: 3456-3468.
- Kakkar, R., Bains, J.S. and Sharma, S.P., 1996. Effect of Vitamin E on Life Span, Malondialdehyde Content and Antioxidant Enzymes in Aging *Zaprionus Paravittiger*. Gerontology, 42:312-321.
- Kayış, T., Emre, İ., 2012. Effects of Heavy Metal Stress on Protein and Glycogen Synthesis Of *Pimpla Turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Ekoloji, 21:61-67.
- Kazımırova, M. and Ortel, J., 2000. Metal Accumulation by *Ceratitis capitata* (Diptera) and Transfer to the Parasitic Wasp *Coptera occidentalis* (Hymenoptera). Environ. Toxicol. And Chem., 19(7):1822–1829.
- Kocaoba, S., 2018. Besinlerle Alınan Ağır Metaller ve Canlılar Üzerine Etkisi. Arısoy M, editör. Besin Kirliliği ve İnsan Sağlığına Olan Etkileri. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 25-37.
- Kim, S. C., Cho, M. K., Kim, S. G., 2003. Cadmium-İnduced Nonapoptotic Cell Death Mediated By Oxidative Stress Under The Condition Of Sulfhydryl Deficiency. Toxicol. Lett., 144:325–336.
- Korean, J., Ecol., 2001. Effects of Cadmium on Total Lipid Content and Fatty Acids of the Gre Ater Wax Moth, *Galleria mellonella* .Shin, Byung-Sik, Ri Na Choi and Choong-Un Lee Department of Biology. Colege of Natural Science, Changwon National University, 24(6):349-352.

- Kostić, M.M., Ognjanović B., Dimitrijević S., Ćikić R.V., Ätajn A., Rosić G.L., Ćivković R.V., 1993. Cadmiuminduced Changes Of Antioxidant And Metabolic Status In Red Blood Cells Of Rats: in Vivo Effects. Eur. J. Haematol , 51:86-92.
- Kostić, M.M., Ognjanović, B., Ćikić, R.V., Ätajn, A., Rosić, G.L., 1993. Effects of Cadmium On Antioxidant Enzymes, Glutathione And Lipid Peroxidation In Brown Adipose Tissue. Iugoslav Physiol Pharmacol Acta, 29:137-145.
- Leyval, C., Turnau, K. and Haselwandter, K., Mycorrhiza, 1997. Heavy Metal Stress. Activation of Distinct Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways by Copper and Cadmium , Hirofumi Nakagami, and Heribert Hirt Gregor Mendel Institute of Molecular Plant Biology, Austrian Academy of Sciences and Institute of Microbiology and Genetics, University of Vienna, Vienna Biocenter, A-1030 Vienna, 7:139.
- Li, L., Lui, X., Guo, Y. and M.A., E., 2005. Activity of the Enzymes of the Antioxidative System in Cadmium-Treated *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acridoidae). Environ. Toxicol. Pharmacol., 20:412-416.
- Lorenz, M.W., and Anand0, A.N., 2004. Changes in The Biochemical Composition of Fat Body Stores During Adult Development Of Female Crickets, *Gryllus Bimaculatus*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 56:110–119.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. J. Biol. Chem., 193(1): 75-265.
- Mendez-Armenta, M., Rios, C., 2007. Cadmium Neurotoxicity. Environ Toxicol Pharmacol, 23:8-350.
- Mercan, U. 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet. Fak. Derg., 15 (1-2). 91-96.

- Michiels, C., Raes M., Toussaint O., Remacle J., 1994. Importance of SE-glutathione peroxidase, catalase, and CU/ZN-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 17(3):235-248.
- Miyata, S., M. Casey, D.W. Frank, F.M. Ausubel & E. Drenkard, 2003. Use of the *Galleria mellonella* caterpillar as a model host to study the role of the type III secretion system in *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Infection and Immunity*, 71: 2404-2413.
- Moe, S.J., Stenseth, N.C. and Smith, R.H., 2001. Effects of a Toxicant on Population Growth Rates: Sublethal and Delayed Responses in Blowfly Populations. *Functional Ecology*, 15:712–721.
- Moe, S.J., Stenseth, N.C. and Smith, R.H., 2001. Effects of a Toxicant on Population Growth Rates: Sublethal and Delayed Responses in Blowfly Populations. *Functional Ecology*, 15:712–721.
- Murray, R. K., Mayes, P.A., Granner, D.K. and Radwell, V.W., 1993. Harper'in Biyokimyası. (Ed G. Menten, B Ersöz). Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 650-700s.
- Nunia, V., Goyal, P. K., 2007. Protective Effect of Diltiazem (A Calcium-Channel Blocker) Against Cadmium-Induced Toxicity In Mice. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 26(3):185–193.
- Newairy, A. A., El-Sharaky, A. S., Badreldeen, M. M., Eweda, S. M., Sheweita, S. A., 2007. The Hepatoprotective Effects of Selenium Against Cadmium Toxicity in Rats. *Toxicology*, 242(1–3): 23–30.
- Nzengue, Y., Steiman, R., Garrel, C, 2008. Oxidative Stress and DNA Damage Induced By Cadmium In The Human Keratinocyte HaCaT Cell Line: Role Of Glutathione In The Resistance To Cadmium. *Toxicology*, 243:193-206.
- Navarro, F., Arroyo, A., Martin, S.F., Bello, R.I., De Cabo R., Burgess J.R., Navas P., Villalba J.M., 1999. Protective Role of Ubiquinone in Vitamin E and Selenium-Deficient Plasma Membranes. *BioFactors*, 9:163-170.

- Nath, S.B., 2000. Changes in Carbohydrate Metabolism in Hemolymph and Fat Body of the Silkworm *Bombix mori* L., Exposed to Organophosphorus Insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 68:127-137.
- Ognjanović, B., Ćikić, R.V., Ātajn, A., Saićić, Z.S., Kostić, M.M., Petrović, V.M., 1995. The Effects Of Selenium On The Antioxidant Defense System In The Liver Of Rats Exposed To Cadmium. *Physiol Res.*, 44:293-300.
- Ortel, J., 1995a. Accumulation of Cd and Pb in successive stages of *Galleria mellonella* and metal transfer to the pupal parasitoid *Pimpla turionellae*. *Entomologia Experimentalis et Applicats*, 77(1):89-97.
- Ortel, J., 1995b. Changes in Protein – Content and Free Amino Acid Composition in Metal Contaminated Gypsy-Moth Larvae (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepidoptera). *Comparative Biochemistry and Physiology CPharmacology Toxicolgy Endocrinology*, 112 (3): 291–298.
- Ortel, J., 1996. Metal-Supplemented Diets Alter Carbohydrate Levels In Tissue And Hemolymph Of Gypsy Moth Larvae (*Lymantria dispar*, Lymantriidae, Lepidoptera). *Environ. Toxicol. and Chem.*, 15(7):1171-1176.
- Özcan, O. ve ark., 2015. Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3): 331-336.
- Özbolat, G., Tuli, A., 2016. Ağır Metal Toksititesinin İnsan Sağlığına Etkileri. *Ç.Ü. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25 (4):502-521.
- Page, A. L. Chang, A. C. and El-Amamy, M., 1987. Cadmium Levels In Soils, And Crops In The United States. *Dept. of Soil and Environmental Sciences*, 10:119-146.
- Paris-Palacios, S., Biagianti-Risbourg, S., and Vernet, G., 2000. Biochemical and (ultra)structural Hepatic Perturbations of *Brachydanio rerio* (Teleostei, Cyprinidae) Exposed to Two Sublethal Concentrations of Copper Sulfate. *Aquatic Toxicology*, 50: 109-124.

- Pavlovic, Z. S., Ognjanovic, B. I., Stajn, A. S., Zikic, R. V., Saicic, Z. S., Petrovic, V. M., 2001. The Effect Of Coenzyme Q10 on Blood Ascorbic Acid, Vitamin E, and Lipid Peroxide In Chronic Cadmium Intoxication. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 20:133–140.
- Rayms-Keller, A., Olsonm, E., Mcgawc.Orayj. O., Carlsonb. J., Beat, 1998. Effect of Heavy Metals on *Aedes Aegypti* (Diptera:Culicidae) Larvae. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 39(1):41-47.
- Rana, S. V. S., Verma, S., 1996. Protective Effects of GSH, Vitamin E, and Selenium on Lipid Peroxidation In Cadmium-Fed Rats. *Biol. Trace Element Res.*, 51:161–168.
- Regoli, F. and Principato, G., 1995. Glutathione, Glutathione-dependent and Antioxidant Enzymes in Mussel, *Mytilus galloprovincialis*, Exposed to Metals under Field and Laboratory Conditions: Implications for the Use of Biochemical Biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 31: 143-164.
- Rharrabe K., Amri H., Bouayad N., Sayah F. 2008a. Effects of azadirachtin on post-embryonic development, energy reserves and α -amylase activity of *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research*, 44(3): 290-294.
- Riberio, S., Sousa, J.P., Nogueira, A.J.A. and Soares, A.M.V.M., 2001. Effect of Endosulfan and Parathion on Energy Reserves and Physiological Parameters of the Terrestrial Isopod *Porcellio dilatatus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 49:131-138.
- Rodrigues, A., Cunha, L., Amaral, A., Medeiros, J., Garcia, P., 2008. Bioavailability of Heavy Metals and Their Effects on The Midgut Cells of A Phytophagous Insect Inhabiting Volcanic Environments. *Science of The Total Environment*, 406:116–122.
- Kalender, S., Kalender, Y., Ögütçü A., Uzunhisarcıklı, M., Durak, D., Açıkgöz, F., 2004. Endosulfan-Induced Cardiotoxicity and Free Radical Metabolism in Rats: The Protective Effect of Vitamin E. *Toxicology*, 3:227-235.

- Saari, H., 1991. Oxygen derived free radicals and synovial fluid hyaluronate. *Ann Rheum Dis.*, 50:389-92.
- Sak, O., Uçkan, F. and Ergin, E., 2006. Effects of Cypermethrin on Total Body Weight, Glycogen, Protein, and Lipid Contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera:Ichneumonidae). *Bel. J. Zool.*, 136(1):53-58.
- Sarkar, S., Yadav, P., Trivedi, R., Bansal, A.K., Bhatnager, D., 1995. Cadmium-Induced Lipid Peroxidation And The Status Antioxidant System In Rat Tissues. *J Trace Elem. Med. Biol.*, 9:144-149.
- Sancho, E., Fernando, M.D., Fernandez, C. and Andreu, E., 1998. Liver Energy Metabolism of *Anguila anguila* After Exposure to Fenitrothion. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 41:168-175.
- Seslija, D., Blaogjević, D., Spasić, M. and Tucić, N., 1999. Activity of Superoxide Dismutase and Catalase in the Bean Weevil (*Acanthoscelides obtectus*) Selected for Postponed Senescence. *Exp. Gerontol.*, 34:185-195.
- Sezer B., Özalp P., 2011. Azadirachtinin *Galleria mellonella* Larvalarında Total Glikojen Miktarına Etkisi. *Ekoloji*, 20(81): 67-72.
- Shaikh, Z. A., Vu, T. T., Zaman, K., 1999. Oxidative Stress As A Mechanism of Chronic Cadmium-Induced Hepatotoxicity And Renal Toxicity And Protection By Antioxidants. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 154:256–263.
- Shin, Byung, S.I.K., Na Choi, R.I., and Choong-Un Lee, 2001. Effect of Cadmium on Total Lipid Content and Fatty Acids of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*. *Korean J. Ecol.*, 24(6):349–352.
- Shukla, G.S., Chandra, S.V., 1989. Cadmium Toxicity And Bioantioxidants: Status Of Vitamin E And Ascorbic Acid Of Selected Organs In Rat. *J Appl Toxicol.*, 9:119-122.
- Song, O., 2004. Oxidative Stress: A Theoretical Model or Biological Reality?. *C.R. Biologies.*, 327:649-662.

- Stajn, A., Zikic, R. V., Ognjanovic, B., Saicic, Z. S., Pavlovic, S. Z., Kostic, M. M., Petrovic, V. M., 1997. Effect of Cadmium And Selenium On The Antioxidant Defense System İn Rat Kidneys. *Comp. Biochem. Physiol.*, 117:167–172.
- Sun, Y., Oberley Y, L.W. and LI, Y., 1988. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *Clin. Chem.*, 34(3), 497–500.
- Sun, J., Folk, D., Bradley, T.J. and Tower, J. 2002. Induced overexpression of mitochondrial Mn-Superoxide dismutase extends the life span of adult *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 161:661-672.
- Swiergosz, R., Zakrzewska, M., Sawicka-Kapusta, K., Bacia, K., Jankowska, I., 1998. Accumulation of Cadmium And İts Effect On Bank Vole Tissues After Chronic Exposure. *Ecotoxicol Environ.*, 41:130-136 .
- Tapi, Ovan O.O.I.K., Rantala, Markus J., IRMA S., 2006. Diet-Mediated Effects of Heavy Metal Pollution on Growth and Immune Response in the Geometrid Moth *Epirrita autumnata*. *Environmental Pollution*, 145:348-354.
- Tucker, F.B., Wang, K.X., Fang, J. and Lu, S.L., 2004. Effect of Chromium on Hemolymph Catalase Activity and Cocoon Quality of Two Mulberry Silkworm (*Bombix mori* L.) Races. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 73: 443-447.
- Tunaz, H., Park, Y., Büyükgüzel, K., Bedick, J.C., Nor Aliza, A.R. and Stainley, D.W. 2003. Eicosanoids in insect immunity: Bacterial infection stimulates hemocytic phospholipase A2 activity in Tobacco hornworms. *Arch. Insect Biochem.*, 52 (1):1-6.
- Turunen, S., 1976. Vitamin E: Effect of Lipid Synthesis and Acculuation of Linolenic Acid in *Pierris brassiae*. *Ann. Zool. Feen.*, 13:148-152.
- Tutkun, E., Çakmakçı, L., Boşgelmez, A., 1987. Bal Arısı Kolonilerinde *Bacillus thurugiensis* Preparatlarının Büyük Mum Güvesi (*Galleria mellonella*) Larvalarına Karşı Kullanım Olanakları Üzerinde Araştırmalar. TÜBİTAK, Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu, Tarımsal Mikrobiyoloji Ünitesi Proje no: Tarmik-8-34.

- Valko M, Leibfritz D., Monkol J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39 (1): 44-84.
- Van Handel, E., 1985. Rapid Determination of Glycogen and Sugars in Mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.*, 1:199-301.
- Viarengo, A., 1985. Biochemical Effects of Trace Metals. *Marine Pollution Bulletin*, 16 (4): 153-158.
- Viarengo, A., Canesi, L., Pertlca, M., Pool, G., Moore, M.N, and Orunesu, M., 1990. Heavy Metal Effects on Lipid Peroxidation in the Tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lam. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 97: 37-42.
- Vuori, K.M., and Kukkonen, J., 1996. Metal Concentrations in *Hydropsyche pellucidula* Larvae (Trichoptera, Hydropstchidae) in Relation to the Anal Papillae Abnormalities and Age of Exocuticle. *Wat. Res.*, 30(10)2265–2272.
- Wang, X. and Quinn, P.J., 1999. Vitamin E and Its Function In Membranes. *Prog. Lipid Res.*, 38:309-336
- Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., Beyersmann, D., 2003. Molecular and Cellular Mechanisms of Cadmium Carcinogenesis. *Toxicology*, 192:95–117.
- Warren, S., Patel, S., Kapron, C. M., 2000. The Effect Of Vitamin E Exposure On Cadmium Toxicity In Mouse Embryo Cells In Vitro. *Toxicology*, 142:119–126.
- Weismann, L. and Rehakova, M., 1993b. Toxic effect of selected industrial immissions and heavy metals on postembryonic developmental stages of insects. *Entomol. Probl. (Bratislava)*, 24(1):13-29.
- Wilczek, G., Babczynska, A., Augustyniak, M., Migula, P., 2004. Relations Between Metals (Zn, Pb, Cd And Cu) and Glutathione-Dependent Detoxifying Enzymes in Spiders From A Heavy Metal Pollution Gradient. *Environmental Pollution*, 132:453-461.

- Wu, S. M., Lin H.C., 2008. The Effects Of Maternal Cd On The Metallothionein Expression İn Tilapia (*Oreochromis Mossambicus*) Embryos and Larvae. *Aquatic Toxicology*, 87(4):296-302.
- Yalçın, A.S., Kılınç, A., Cobek, B., 2010. Evaluation of a Simple Colorimetric Analysis For Urinary Malondialdehyde Determination: Pathology and Laboratory Medicine. *International*, 2:23–26.
- Yılmaz, N. 2013. Farklı Bakır Oranlarının Ergin *Pimpla turionellae* L.'nın Yaşam Süresi ve Yumurta Verimi ile Sentezlediği Protein ve Glikojen Miktarına Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana.
- Zaba, B.N. and Harris, E.J., 1978. Accumulation and Effects of Trace Metal Ions in Fish Liver Mitochondria. *Comp. Biochem. Physiol.*, 61C (1): 57–66
- Zaman, K., Macgill, R.S., Johnson, J.E., Ahmad, 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*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 26(1):114-118.
- Zhang, Y. L., B. Q. Qin, L. Zhang, G. W. Zhu, and W. M. Chen. 2009. The Contribution of Phytoplankton Degradation to Chromophoric Dissolved Organic Matter (CDOM) in Eutrophic Shallow Lakes: Field and Experimental evidence. *Water Res.*, 43: 4685–4697.
- Zheng, Y., WildongerI, J., Ye, B., Zhang, Y., Kita, A., Younger, S.H., Zimmerman, S., Jan, L.Y., Jan, Y.N. 2008. Dynein is Required For Polarized Dendritic Transport and Uniform Microtubule Orientation in Axons. *Nat. Cell Biol.*, 10(10): 1172-1180.
- Zikić R.V., Ātajn A., Ognjanović, B., Saičić, Z.S., Kostić, M.M., Pavlović, S.Z., Petrović, V.M., 1998. The Effect Of Cadmium And Selenium On The Antioxidant Enzyme Activities İn Rat Heart. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.*, 17:259-264.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Karabük'te doğdu. İlk ve orta öğrenimini 2000 yılında Karabük Şehit Mehmet Dinçel İlköğretim Okulu'nda, , lise öğrenimini ise 2004 yılında Karabük Cumhuriyet Lisesi'nde tamamladı.

2004 yılında Gazi Üniversitesi Biyoloji bölümünü kazandı. 2008 yılında lisans eğitimini tamamlayarak mezun oldu. 2009 yılında Gazi Üniveristesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. 2010 yılında Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne Araştırma Görevlisi olarak atandı. 2012 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı. 2013 yılında MEB'te Biyoloji öğretmeni olarak göreve başladı. Aynı yıl doktora eğitimine Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında başladı.