

**BAZI ANTİBİYOTİKLERİN *GALLERIA MELLONELLA* L.'NİN
(LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) YAŞAMA ORANINA, GELİŞME
SÜRESİNE VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Ender BÜYÜKGÜZEL

**DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

EKİM 2007

ANKARA

Ender BÜYÜKGÜZEL tarafından hazırlanan BAZI ANTİBİYOTİKLERİN *GALLERIA MELLONELLA* L.'NİN (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) YAŞAMA ORANINA, GELİŞME SÜRESİNE VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ adlı bu tezin Doktora tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Yusuf KALENDER

.....

Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zekiye SULUDERE

.....

Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Metin AKTAŞ

.....

Zooloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Yusuf KALENDER

.....

Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Doç. Dr. Reyhan ÇOLAK

.....

Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. Nursel GÜL

.....

Zooloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Tarih: 25/10/2007

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Doktora derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Nermin ERTAN

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ender BÜYÜKGÜZEL

**BAZI ANTİBİYOTİKLERİN *GALLERIA MELLONELLA* L.'NİN
(LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) YAŞAMA ORANINA, GELİŞME
SÜRESİNE VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ
(Doktora Tezi)**

Ender BÜYÜKGÜZEL

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Ekim 2007**

ÖZET

Büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* L. yapay besin ortamında beslenerek penisilin, streptomisin, flukonazol ve griseofulvin antibiyotiklerinin böceğin larval evrelerinin ortabağırsağında lipid peroksidasyonu ürünü malondialdehid (MDA), antioksidan enzimler süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon S-transferaz (GST) ve glutatyon peroksidaz (GPx) ile transaminaz enzimleri, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) aktivitelerine etkisi incelendi. Böceğin birinci evre larvaları antibiyotiklerin 0,001, 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larını içeren yapay besinler ile beslendi. Antibiyotiklerin böceğin yaş ağırlığı, yaşama oranı, gelişme süresi ve erginlerin toplam protein miktarına etkileri de araştırıldı. Antibiyotiklerin artan konsantrasyonları ile oksidatif stresin bir belirtici olan MDA miktarı önemli derecede artmıştır. Elde edilen sonuçlar antioksidan enzimlerin aktivitelerinin uygulanan doza, larval evrelere ve antibiyotikler tarafından meydana getirilen oksidatif stresin düzeyine göre değiştiğini de göstermiştir. Tüm larval evrelerde antibiyotik konsantrasyonlarına karşı önemli bir hassasiyet gözlenmiştir. Besine ilave edilen penisilin konsantrasyonları böceğin yaş ağırlığını önemli derecede artırmıştır. Flukonazol, griseofulvin ve streptomisinin düşük konsantrasyonları yaş ağırlığını önemli derecede artırırken bu antibiyotiklerin yüksek konsantrasyonları yaş ağırlığı

düşürmüştür. Denenen antibiyotiklerin tümü larvaların yaşama oranını düşürmüş, gelişme süresini uzatmıştır. Griseofulvin genellikle gelişimi kısaltmış ve erginlerin toplam protein miktarını düşürmüştür. Diğer antibiyotikler de erginlerin toplam protein miktarını düşürmüşlerdir. Toplam protein miktarı antibiyotik çeşidine ve konsantrasyonlarına göre değişiklik göstermiştir. Bu sonuçlar antibiyotikler tarafından bazı konsantrasyonlarda oluşturulan toksisitenin farklı şekilde ortaya çıktığını ve hormetik etki denilen bu mekanizmanın *G. mellonella*'da prooksidan ve antioksidan sistem ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Penisilin ve streptomisin ile beslenen 7. evre larvalarının yaşama oranı ile orta bağırsak MDA miktarı arasında negatif ancak, yaşama ve GST enzimi arasında pozitif bir ilişkinin bulunduğu tespit edildi. Flukonazol ve griseofulvin ile beslenen larvaların yaşama oranı ve MDA miktarı arasında negatif ancak istatistiksel olarak önemli olmayan bir ilişki bulunurken yaşama oranı ile GST ve ALT arasında önemli bir ilişki bulunmuştur. Penisilin ile yetiştirilen 7. evre larvalarının ortabağırsağındaki MDA miktarı ile SOD ve GST enzimleri arasında önemli derecede bir ilişki tespit edilmiştir. Bu çalışma antibiyotikler tarafından uyarılan oksidatif stresin böceğin biyolojik etkinliğini olumsuz yönde etkileyen önemli bir faktör olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan bu çalışma, antibiyotiklerin öldürücü olmayan dozlarına karşılık orta bağırsakta artış gösteren SOD ve GST aktivitesinin, *G. mellonella*'da meydana gelen zararlı fizyolojik değişimlere sebep olan oksidatif hasarı azaltabileceğini işaret etmektedir.

Bilim Kodu	: 203.1.105
Anahtar kelimeler	: <i>Galleria mellonella</i>, antibiyotikler, antioksidan enzimler, orta bağırsak, malondialdehit, yaşama oranı
Sayfa Adedi	: 85
Tez Yöneticisi	: Prof. Dr. Yusuf KALENDER

**EFFECTS OF SOME ANTIBIOTICS ON SURVIVAL RATE,
DEVELOPMENTAL TIME AND ANTIOXIDANT DEFENCE SYSTEM OF
GALLERIA MELLONELLA (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)
(Ph.D. Thesis)**

Ender BÜYÜKGÜZEL

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
October 2007**

ABSTRACT

The effects of antibiotics, penicilin, streptomycin, fluconazole and griseofulvin on the lipid peroxidation product, malondialdehyde (MDA), antioxidant enzymes activities [superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione *S*-transferase (GST) and glutathione peroxidase (GPx)] of greater wax moth, *Galleria mellonella* (L.), were investigated in midgut of larval instars. The insects were reared from first-instar larvae on an artificial diets containing 0.001, 0.01, 0.1 or 1.0 g of antibiotics. The effects of antibiotics on wet weight, survivorship, development of the insect and also adult protein contents were investigated. An oxidative stress indicator, MDA was significantly increased in the larval midguts at increasing concentrations of antibiotics. The results also showed a dose- and larval stage-dependent variation in activities of antioxidative enzymes and their activities were altered in response to the perceived levels of antibiotics-induced oxidative stress. An important sensitivity of larval instars was observed for all antibiotics concentrations. Addition of penicillin concentrations in dietary were significantly increased wet weight of the insect. Low dietary fluconazole, griseofulvine and streptomycin concentrations significantly increased wet weight while high concentrations decreased wet weight. Dietary antibiotic treatment resulted in significantly

decreased survivorship and increased developmental time of larvae. Griseofulvin decreased of larval development and markedly decreased total protein content of adults. Other antibiotics also resulted in decreased total protein content of adults. The total protein content were shown alterations with antibiotics and their concentrtaions. We infer the mechanism of antibiotics-induced toxicity at certain concentrations operates through a biphasic mechanism involving a hormetic response coupled to pro-oxidant/anti-oxidant systems in *G. mellonella*. The survivorship was negatively correlated with MDA content but positively correlated with GST activity in midgut of 7th instars reared on penicillin and streptomycin. The survivorship was negatively but nonsignificantly correlated with MDA content while it was correlated with GST and ALT activities of the larvae exposed to fluconazole and griseofulvin. There was a significant correlation of MDA content with SOD and GST activities in 7th instar larvae. This study suggested that antibiotic-induced oxidative stress was causative factor in the deterioration of biological fitness and that increased SOD and GST activities may have resulted in decreased oxidative damage which retarded the rate of deteriorative physiological changes in *G. mellonella* in response to sublethal doses of antibiotics.

Science Code	: 203.1.105
Key Words	: <i>Galleria mellonella</i> , antibiotics, antioxidant enzymes, midgut, malondialdehyde, survival rate
Page Number	: 85
Adviser	: Prof. Dr. Yusuf KALENDER

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Yusuf KALENDER'e içtenlikle teşekkür ederim.

Tez izleme komisyonunda bulunan ve bilgileriyle tezime yön veren değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Zekiye SULUDERE'ye (Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü) ve Sayın Prof. Dr. Cevat AYVALI'ya (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü), samimi ve içten desteklerini sürekli bana hissettiren Araştırma Görevlisi arkadaşlarım, Meltem UZUNHİSARCIKLI ve Ayşe ÖĞÜTCÜ' ye teşekkürlerimi bir borç bilirim. Çalışmalarımın deneysel ve yazma aşamasında moral desteği ve yardımlarını esirgemeyen aileme en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvii
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	7
2.1. <i>Galleria mellonella</i> L. Kültürü	7
2.2. Beslenme Deneyleri ve Antibiyotikler.....	8
2.3. Yaşama Oranı, Gelişme Süresi ve Yaş Ağırlık.....	9
2.4. Erginlerde Toplam Protein Tayini	10
2.5. Biyokimyasal Analizler.....	11
2.6. Örnek Hazırlanması, Malondialdehit Miktarının Belirlenmesi, Antioksidan Enzimlerin Tayinleri	12
2.6.1. Malondialdehit (MDA) miktarının tayini	12
2.6.2. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi.....	13
2.6.3. Katalaz (CAT) enzimi.....	13
2.6.4. Glutatyon-S-transferaz (GST) enzimi.....	14
2.6.5. Glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi.....	14

2.6.6. Alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) enzimleri.....	15
2.7. Verilerin Değerlendirilmesi	16
3. ARAŞTIRMA BULGULAR	17
3.1. Penisilinin <i>G. mellonella</i> 'nın Yaş ağırlığı, Yaşama Oranı, Gelişme Süresi ve Toplam Protein Miktarına Etkisi.....	17
3.1.1. Yaş ağırlık	17
3.1.2. Yaşama oranı.....	18
3.1.3. Gelişme süresi	18
3.1.4. Toplam protein miktarı	19
3.2. Penisilinin Orta Bağırsak Malondialdehit (MDA) Miktarı ve Enzim Aktivitelerine Etkisi	20
3.3. Streptomisin'in <i>G. mellonella</i> 'nın Yaş ağırlığı, Yaşama Oranı, Gelişme Süresi ve Toplam Protein Miktarına Etkisi.....	28
3.3.1. Yaş ağırlık	28
3.3.2. Yaşama oranı.....	29
3.3.3. Gelişme süresi	29
3.3.4. Toplam protein miktarı	30
3.4. Streptomisin'in Orta Bağırsak Malondialdehit (MDA) Miktarı ve Enzim Aktivitelerine Etkisi	31
3.5. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> 'nın Yaş ağırlığı, Yaşama Oranı, Gelişme Süresi ve Toplam Protein Miktarına Etkisi.....	39
3.5.1. Yaş ağırlık	39
3.5.2. Yaşama oranı.....	40
3.5.3. Gelişme süresi	40
3.5.4. Toplam protein miktarı	41

3.6. Flukonazolun Orta Bağırsak Malondialdehit (MDA) Miktarı ve Enzim Aktivitelerine Etkisi	42
3.7. Griseofulvinin <i>G. mellonella</i> 'nın Yaş ağırlığı, Yaşama Oranı, Gelişme Süresi ve Toplam Protein Miktarına Etkisi	50
3.7.1. Yaş ağırlık	50
3.7.2. Yaşama oranı.....	50
3.7.3. Gelişme süresi	51
3.7.4. Toplam protein miktarı	52
3.8. Griseofulvinin Orta Bağırsak Malondialdehit (MDA) Miktarı ve Enzim Aktivitelerine Etkisi	53
3.9. Antibiyotiklerin Karşılaştırmalı Etkileri	60
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ	85

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Antibiyotiklerin <i>G. mellonella</i> 'nın biyolojik parametrelerine ve toplam protein miktarına karşılaştırmalı etkileri.....	61
Çizelge 3.2. Antibiyotiklerin <i>G. mellonella</i> 'nın antioksidan enzimleri,malondialdehit miktarı ve aminotransferaz enzimlerinin aktivitelerine karşılaştırmalı etkileri	61

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Penisilinin <i>G. mellonella</i> 'nın yaş ağırlığı üzerine etkisi.....	17
Şekil 3.2. Penisilinin <i>G. mellonella</i> 'nın yaşama oranı üzerine etkisi.....	18
Şekil 3.3. Penisilinin <i>G. mellonella</i> 'nın gelişme süresi üzerine etkisi.....	19
Şekil 3.4. Penisilinin <i>G. mellonella</i> 'nın toplam protein miktarı üzerine etkisi.....	20
Şekil 3.5. Penisilinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsak MDA miktarı üzerine etkisi.....	21
Şekil 3.6. Penisilinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında SOD aktivitesi üzerine etkisi	22
Şekil 3.7. Penisilinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında CAT aktivitesi üzerine etkisi.....	23
Şekil 3.8. Penisilinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında GST aktivitesi üzerine etkisi.....	24
Şekil 3.9. Penisilinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında GPx aktivitesi üzerine etkisi.....	25
Şekil 3.10. Penisilinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında ALT aktivitesi üzerine etkisi.....	26
Şekil 3.11. Penisilinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında AST aktivitesi üzerine etkisi.....	27
Şekil 3.12. Streptomisinin <i>G. mellonella</i> 'nın yaş ağırlığı üzerine etkisi	28
Şekil 3.13. Streptomisinin <i>G. mellonella</i> 'nın yaşama oranı üzerine etkisi	29
Şekil 3.14. Streptomisinin <i>G. mellonella</i> 'nın gelişme süresi üzerine etkisi.....	30
Şekil 3.15. Streptomisinin <i>G. mellonella</i> 'nın toplam protein miktarı üzerine etkisi .	31
Şekil 3.16. Streptomisinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında MDA miktarı üzerine etkisi.....	32
Şekil 3.17. Streptomisinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında SOD aktivitesi üzerine etkisi.....	33

Şekil	Sayfa
Şekil 3.18. Streptomisin'in <i>G. mellonella</i> larvalarının ortabağırsağında CAT aktivitesi üzerine etkisi.....	34
Şekil 3.19. Streptomisin'in <i>G. mellonella</i> larvalarının ortabağırsağında GST aktivitesi üzerine etkisi.....	35
Şekil 3.20. Streptomisin'in <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında GPx aktivitesi üzerine etkisi.....	36
Şekil 3.21. Streptomisin'in <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında ALT aktivitesi üzerine etkisi.....	37
Şekil 3.22. Streptomisin'in <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında AST aktivitesi üzerine etkisi.....	38
Şekil 3.23. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> 'nın yaş ağırlığı üzerine etkisi.....	39
Şekil 3.24. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> 'nın yaşama oranı üzerine etkisi.....	40
Şekil 3.25. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> larvalarının gelişme süresi üzerine etkisi ...	41
Şekil 3.26. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> 'nın toplam protein miktarı üzerine etkisi...	42
Şekil 3.27. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında MDA miktarı üzerine etkisi.....	43
Şekil 3.28. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında SOD aktivitesi üzerine etkisi.....	44
Şekil 3.29. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında CAT aktivitesi üzerine etkisi.....	45
Şekil 3.30. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında GST aktivitesi üzerine etkisi.....	46
Şekil 3.31. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> larvalarının ortabağırsağında GPx aktivitesi üzerine etkisi.....	47
Şekil 3.32. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında ALT aktivitesi üzerine etkisi.....	48
Şekil 3.33. Flukonazolun <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında AST aktivitesi üzerine etkisi.....	49
Şekil 3.34. Griseofulvin'in <i>G. mellonella</i> 'nın yaş ağırlığı üzerine etkisi.....	50

Şekil	Sayfa
Şekil 3.35. Griseofulvinin <i>G. mellonella</i> 'nın yaşama oranı üzerine etkisi	51
Şekil 3.36. Griseofulvinin <i>G. mellonella</i> 'nın gelişimi üzerine etkisi.....	52
Şekil 3.37. Griseofulvinin <i>G. mellonella</i> 'nın toplam protein miktarı üzerine etkisi..	53
Şekil 3.38. Griseofulvinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında MDA miktarı üzerine etkisi.....	54
Şekil 3.39. Griseofulvinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında SOD aktivitesi üzerine etkisi.....	55
Şekil 3.40. Griseofulvinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında CAT aktivitesi üzerine etkisi.....	56
Şekil 3.41. Griseofulvinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında GST aktivitesi üzerine etkisi.....	57
Şekil 3.42. Griseofulvinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında GPx aktivitesi üzerine etkisi.....	58
Şekil 3.43. Griseofulvinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında ALT aktivitesi üzerine etkisi.....	59
Şekil 3.44. Griseofulvinin <i>G. mellonella</i> larvalarının orta bağırsağında AST aktivitesi üzerine etkisi.....	60

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>G. mellonella</i> 'nın gelişme evreleri.....	8

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklama
ALT	Alanin aminotransferaz
APOX	Askorbat peroksidaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BSA	Sığır serum albumini
CAT	Katalaz
CDNB	1-Kloro-2,4-dinitrobenzen
DDT	Ditiyotreitol
EDTA	Etilen-diamintetraasetik asit
GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Redükte glutasyon
GS-SG	Okside glutasyon
GST	Glutasyon S-transferaz
H₂O₂	Hidrojen peroksit
KCl	Potasyum klorür
MDA	Malondialdehid
Na₂HPO₄	Sodyum hidrojen fosfat
NaCl	Sodyum klorür
NADP	Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat
NADPH	Redükte nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat
O₂	Moleküler oksijen
PMSF	Fenilmetilsülfonil florür
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Trikloro asetik asit

1. GİRİŞ

Büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* L. larvaları kovanlarda bal peteği, mum ve bal ile beslenerek arıcılık sektöründe önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır [Charriere ve Imdorf, 1997]. Fizyolojik araştırmalarda kullanılmak üzere mikrobiyal floradan arındırılmış böcek elde etmek amacıyla, bu böceğin larvaları laboratuvar şartlarında çeşitli antibakteriyel ve antifungal antibiyotikleri içeren yapay besinler ile yetiştirilmeye çalışılmıştır [Jarosz, 1979, 1981, 1989]. Bu çalışmalar denenen antibiyotiklerin larvaların yaşama oranı ve gelişme süresini olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir. Antiviral antibiyotik olan asiklovirin ilave edilen besinler ile beslenen *G. mellonella* larvalarının yaşama oranı azalmış, gelişme süresi uzamış ve yaş ağırlığı azalmıştır [İçen, 2003]. Ancak bu böcek üzerinde denenen antibiyotiklerin oksidatif stres oluşturup oluşturmadıkları ve antioksidatif savunma sistemine etkisini inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalarda daha çok bazı çevresel kirleticilerin *G. mellonella* ve Lepidoptera takımına ait diğer bazı böceklerin hemolenfinde oksidatif stres ve bu strese karşı antioksidatif savunma mekanizması üzerine etkisi incelenmiştir [Slepneva ve ark., 1999; Glupov ve ark., 2001, 2003; Lozinskaya ve ark., 2004; Aucoin ve ark., 2005]. Ancak, bu böceğin ortabağırsağında çevresel stres faktörlerine karşı oluşturulacak dokuya özgü bir antioksidatif cevap hakkındaki bilgiler oldukça yetersizdir [Dubovskiy ve ark., 2005]. Buna karşılık antibiyotiklerin böceğin yaşama oranı, gelişme süresi ve diğer biyolojik özelliklerini etkileyecek düzeyde orta bağırsakta oksidatif strese sebep olduğu ve bu strese karşı antioksidatif tepki mekanizmasını uyarıp uyarmadığı konusunda yapılan çalışma bulunmamaktadır.

Böceklerde sindirim enzimlerinin salgılandığı, besinlerin sindirilerek emilime uğradığı orta bağırsak, sindirim kanalının önemli bir bölümüdür [Sehna ve Zitnan, 1996]. Lepidoptera takımına ait bazı türlerin larvalarında allelokimyasalların sindirimi ile oluşturulan reaktif oksijen türlerinin orta bağırsak hücrelerinde oksidatif hasara sebep olduğu ve enzimatik antioksidan savunma sistemini zayıflattığı tespit edilmiştir [Perić-Mataruga ve ark., 1997; Krishnan ve Sehna, 2006; Krishnan ve

ark., 2007]. Lepidoptera takımına ait böceklerin orta bağırsağının alkali ve geniş bir indirgenme-yükseltgenme potansiyeline sahip olması antibiyotiklerin sindirimi sırasında reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu kolaylaştırabilir [Terra ve ark., 1996]. Böceklerin yağ dokusu ve diğer bazı dokularında antibiyotiklerin oksijenaz enzimleri ile oksidasyonu sırasında da yan ürün olarak ROT'lar oluşabilir [Graf ve Benz, 1970]. Antibiyotiklerin büyük bal mumu güvesi larvaları üzerindeki olumsuz etkileri orta bağırsakta oluşturdukları ROT'lar tarafından uyarılan oksidatif stresin antioksidatif savunma sistemini bozması ile ortaya çıkabilir. Lepidoptera takımına ait bazı böcekler orta bağırsakta allelokimyasal toksisitesine karşı özel sitokrom P-450 monooksijenaz enzimleri ile savunma gösterirler [Ivie ve ark., 1983]. Böcek ortabağırsağında antibiyotiklerin sebep olduğu oksidatif strese karşı enzimatik antioksidatif savunma sisteminin önemi üzerinde durulmamıştır. Böceklerde enzimatik antioksidatif savunma sistemi ile çalışmalar daha çok insektisit toksisitesi ile ilgili olup bu konuda yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğu tüm vücut özütlerinde yapılmıştır. Antibiyotiklerin sindirimi sırasında orta bağırsak karşılaşılan ilk engel olduğundan bu çalışmada besinle alınan antibiyotiklere karşı bir savunma mekanizması olarak orta bağırsak antioksidan enzimlerinin önemi belirlenecektir.

Antibiyotikler mikrobiyal kontaminasyonları önlemek, böcekler üzerindeki etkisiz miktarlarını tespit etmek, büyümeyi hızlandırmak ve beslenmeyi uyarmak amacıyla böcekleri beslemek için kullanılan yapay besinlere ilave edilmektedir [Liles, 1958; Ouye, 1962; Vail ve ark., 1968; Singh ve House, 1970; Xie ve ark., 1986; Grenier ve Liu, 1990; Pearson ve Raybould, 1998; Büyükgüzel, 2001; Büyükgüzel ve Yazgan, 2002; Alverson ve Cohen, 2002; Inglis ve Cohen, 2004]. Bu antibiyotiklerin düşük konsantrasyonları gelişimi hızlandırmış, yaşama oranını, ergin ömür uzunluğunu ve vücut ağırlığını artırırken, yüksek konsantrasyonlarda ise böcekler üzerinde olumsuz etkiler yapmıştır [Chamberlain ve Schol, 1991; Hirose ve ark., 2006]. Böceğin yaşama oranı ve gelişme süresi üzerine etkisiz olan konsantrasyonların üzerindeki konsantrasyonlarda penisilin G, streptomisin sülfat, ve geleneksel olarak kullanılan antifungallerinde dahil olduğu birçok antimikrobiyal madde *Agria affinis* (Fallen)'ın gelişimini geciktirmiş, larval ve pupal evrelerinde ölüm oranını arttırmıştır [Singh ve House, 1970]. Besine farklı konsantrasyonlarda ilave edilen antibakteriyel antibiyotik

novobiyosin Hymenoptera takımına ait endoparazitoid bir tür olan *Pimpla turionellae*'nin yaşama oranını düşürmüş gelişime süresini ise uzatmıştır [Büyükgüzel, 2001]. Alverson ve Cohen yaygın kullanıma sahip bazı antifungal maddelerin *Lygus hesperus* (Knight)'ın yaşaması, gelişimi, üremesi ve erginlerin kuru ağırlığı üzerine önemli derecede olumsuz etkiler yaptığını göstermişlerdir [Alverson ve Cohen, 2002]. *Bemisia tabaci* (Gennadius) erginlerinin rifampisin ile muamale edilmesi gelişimi önemli derecede geciktirmiş ve yaşamayı düşürmüştür [Ruan ve ark., 2006]. Antibiyotikler böceklerin biyolojisi üzerinde olumsuz etkiler göstermelerine rağmen böceklerdeki etki mekanizmaları tam olarak ortaya çıkarılamamıştır. Bazı antiviral antibiyotiklerin böcek hücreleri üzerinde öldürücü etkiye sahip olduğunun gösterilmesi dikkatleri antibiyotiklerin böceklerdeki etki mekanizmasını aydınlatmaya yönelik çalışmalara yöneltmiştir [Sula ve ark., 1987].

Antibiyotiklerin böceğin biyolojik parametreleri üzerindeki bu etkilerinin yanında Lepidoptera takımına ait böceklerin toplam vücut ağırlığı ve protein miktarındaki değişimler de antibiyotiklere karşı oluşturulan önemli fizyolojik adaptasyon mekanizmalarıdır [Eid ve ark., 1989]. Çeşitli organofosforlu insektisitler içeren besinler ile beslenen *G. mellonella* larvaları da benzer adaptasyon mekanizmaları göstermiştir [İçen ve ark., 2005]. İnsektisitlere dirençli böceklerin yağ doku hücrelerinde önemli derecede protein depolandığının tespit edilmesi ve bu böceklerin daha fazla vücut ağırlığına sahip olması, toksik maddelere maruz kalan bir organizmanın yaşamının devamını sağlamak için yeterli miktarda enerji depoladığını göstermiştir [Guedes ve ark., 2006]. Yeterli miktarda enerji kaynağı bulunmadığı durumda böceğin gelişimi, yaşamı ve üremesi olumsuz yönde etkilenmektedir [Harak ve ark., 1999]. İnsektisitler böceklerde besin maddelerinin depolandığı dokuların hücre hacmini, karbohidrat ve protein miktarını ve bunların metabolizmalarını etkilemektedir [Orr ve Downer, 1982; Nath ve ark., 1997]. Larval evrede besinle alınarak depolanan proteinler ergin gelişimi sırasında önemli role sahiptir [Hahn ve Wheeler, 2003]. Yapay besinlere ilave edilen antibiyotiklerin farklı böcek gruplarında protein sentezi ve diğer bazı metabolik olayları etkilediği bilinmektedir [Mittler, 1971; Griffiths ve Beck, 1974; Keeley ve Olson, 1977; Holmes ve Keeley, 1975; Byers ve Wood, 1981]. Bir böceğin yaş ağırlığı, tüm vücuttaki ya da belirli bir

dokudaki toplam protein miktarındaki değişimler besinsel antibiyotiklerin toksisitesinin değerlendirilmesinde önemli biyobelirteçler olarak kullanılmaktadır [Thayer, 1973; Büyükgüzel, 2002; Büyükgüzel ve İçen, 2004]. Antibiyotiklerin böcek üzerindeki etki mekanizmalarının değerlendirilmesinde böceğin toplam vücut protein miktarındaki değişimler bu konuda önemli ipuçları vermektedir.

Penisilin, streptomisin, flukonazol ve griseofulvin insan ve hayvanlarda bakteriyel ve fungal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan klinik açıdan önemli antibiyotiklerdir [Jawetz ve ark., 1984]. Penisilin bakteri hücre duvarından sorumlu enzimleri inhibe eder. Streptomisin hücre zarına zarar vererek ve protein sentezini önleyerek bakterilerin büyümesini durdurur. Flukonazol funguslarda sterol biyosentezinden sorumlu sitokrom P450 14 α -demetilaz enziminin aktifliğini önler [Lyman ve Walsh, 1992]. Griseofulvin ise mitotik ipliklerin polimerizasyonunu bozarak fungal mitozun işleyişini bozar [Gull ve Trinci, 1973]. Bu durumda çözüm bekleyen en önemli sorulardan biri, bu antibakteriyel ve antifungal antibiyotiklerin böceklerin yaşama oranını ve gelişme süresini hangi mekanizma ile etkiledikleridir. Bu çalışmada, antibiyotiklerin asıl etki mekanizmalarının yanında ikincil bir etki mekanizması olarak oluşturdıkları oksidatif stres aracılığıyla böceklerin yaşam parametrelerini ve diğer biyokimyasal işlevlerini etkileyebileceği düşünülmüştür. Bu amaçla böceklerdeki antibiyotik toksisitesi hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır. Antibiyotikler prokaryotik organizmalardaki asıl etki mekanizmalarının yanı sıra, omurgalılarda reaktif oksijen türleri oluşturarak lipid peroksidasyonuna ve antioksidan enzim aktivitesinin değişimine sebep olmaktadır [Miyachi ve ark., 1986; Vijayalekshmy ve ark., 1992; Abdrashitosa ve Ramanov, 2001].

Böcekler kimyasal açıdan uygun olmayan bir ortamda yaşamlarını sürdürebilmeleri için metabolizmaları sırasında ROT'ların oluşumuna sebep olan toksik ya da zararlı kimyasal maddeleri oksitleyebilme yeteneğine sahiptir. Reaktif oksijen türleri lipid peroksidasyonuna, protein ve enzim oksidasyonuna ve hücresel glutatyon miktarının eksilmesine sebep olarak böcek dokularında oksidatif hasar oluşturur [Ahmad, 1995]. Hücresel lipidlerin ve diğer biyomoleküllerin oksidatif hasar görmesi oksidatif

stresin önemli bir göstergesidir. Oksidatif olarak yapısı bozulan lipid molekülleri bir seri zincir reaksiyonu ile son ürün olarak MDA parçalanır [Cheesman, 1993]. Lipid peroksidasyonu ürünü ve önemli bir aldehid türevi olan MDA proteinlerin amino grubu, fosfolipidler ve nükleik asitler ile reaksiyona girerek bu moleküllerin yapısının bozulmasına ve sonuçta oksidatif hasara sebep olur. Böceklerin ortabağırsağında oksidatif hasardan kaynaklanan oksidatif stresin önemli nedeni süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) radikallerinin oluşumudur [Perić-Mataruga ve ark., 1997; Krishnan ve Kodrik, 2006]. Diğer ökaryotik organizmalar gibi böcekler de oksidatif radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için antioksidan enzim sistemine sahiptir [Ahmad, 1992]. Ayrıca böceklerin ortabağırsağı düşük moleküler ağırlığa sahip antioksidanlar, peritrofik zar ve çeşitli antioksidan enzimlerden oluşan dokuya özgü bir antioksidatif savunma mekanizmasına sahiptir [Ahmad, 1992; Felton ve Summers, 1995; Barbehenn ve Stannard, 2004]. Böceklerde başlıca bulunan antioksidan enzimler SOD, CAT, GPx, GST ve askorbat peroksidaz (APOX) dır [Ahmad ve ark., 1990]. Antioksidan enzimler arasında ksenobiyotiklerin detoksifikasyonundan sorumlu olan GST enzimi geniş bir substrat spesifikliğı gösterir [Vontas ve ark., 2001]. Lepidoptera takımına ait türlerde selenyuma bağımlı GPx enziminin aktivitesi oldukça düşüktür. Bu enzim hidrojen peroksit ve zararlı lipid peroksitleri, substrat olarak indirgenmiş glutatyonu kullanarak metabolize eder [Ahmad ve ark., 1989]. SOD, CAT ve GPx enzimleri, reaktif oksijen türlerine karşı birlikte iş gören bir antioksidan savunma grubunu oluşturur. SOD, süperoksit radikallerinin H_2O_2 ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen bir enzim olup besinsel kaynaklı prooksidanlara karşı ilk antioksidan tepkiyi oluşturan enzimlerden biridir [Ahmad ve Pardini, 1990]. CAT enzimi, H_2O_2 'i su ve oksijene indirgemekte olup, APOX enzimi de normal şartlarda CAT tarafından uzaklaştırılamayacak (süpürülemeyecek) kadar düşük konsantrasyonlardaki H_2O_2 'i indirgemektedir [Ahmad ve ark., 1991; Clavaron-Mathews ve ark., 1997]. Lepidoptera takımına ait türlerin besinsel toksik maddelere karşı gösterdikleri fizyolojik bir adaptasyon olarak orta bağırsak dokusunda GST ve GST enziminin GPx benzeri aktivitesinde yükselme olduğu gözlenmiştir [Perić-Mataruga ve ark., 1997]. Ayrıca, *G. mellonella*'da insektisit toksisitesinin şiddetini ortaya koyan belirteçler olarak transaminazlar ALT ve AST enzimlerinin aktivitelerindeki

değişimlerin de önemli olduğu belirtilmiştir [Verma ve Rahman 1984; İçen ve ark, 2005]. Bazı antibiyotikleri içeren doğal besinler ile beslenen *Philosamia ricini* (Boisd.) larvalarında normal metabolizmanın işleyişinin bozulmasının bir göstergesi olarak bu transaminaz enzimlerinin aktifliğinde artış gözlenmiştir [Eid ve ark., 1989]. Transaminaz enzimleri lepidoptera takımına ait böceklerin ortabağırsağında meydana gelen trikarboksilik asit devrine aminoasit metabolizması aracılığıyla substrat sağlamaktadır [Parenti ve ark., 1985].

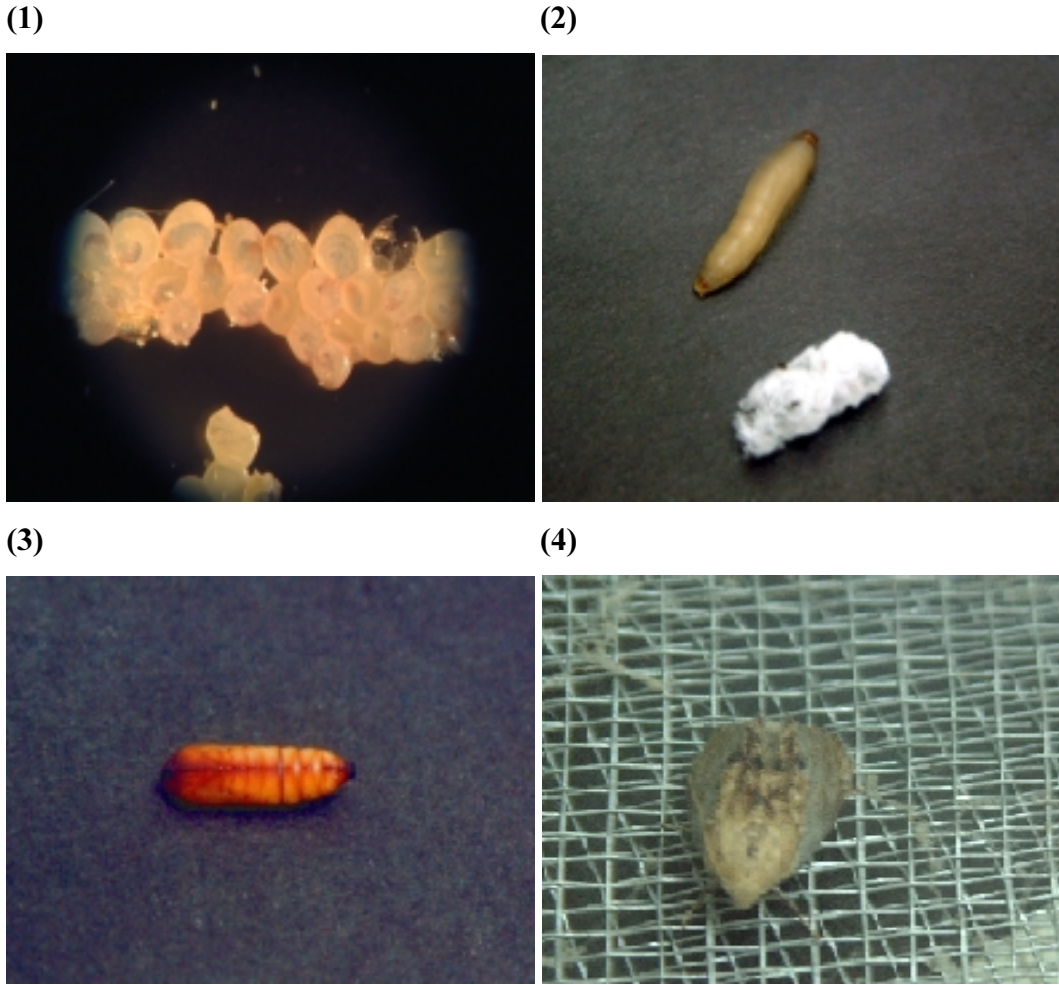
Bu çalışmada yapay besinlere ilave edilen biyokimyasal olarak farklı etki mekanizmalarına ve farklı yapılara sahip antibakteriyel ve antifungal antibiyotikler penisilin, streptomisin, flukonazol ve griseofulvinin *G. mellonella* larvalarının farklı evrelerinin ortabağırsağında antioksidan enzimler SOD, CAT, GPx, ve GST ile transaminaz enzimleri ALT ve AST aktivitelerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada, ayrıca antibiyotiklerin böceğin yaşama oranı, gelişme süresi ve toplam vücut proteini üzerindeki olumsuz etkilerinin orta bağırsakta bu antibiyotiklerin oluşturdukları oksidatif stres ile ilişkisi araştırılacaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. *Galleria mellonella* L. Kültürü

Büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) kültürünün devamı, böceğin yumurtadan yeni çıkmış larvalarını yarı sentetik besin ile besleyerek sağlandı. Kültür 30 ± 1 °C ve % 65 ± 5 nisbi nemde soğutmalı inkübatörde ve devamlı gün boyu karanlıkta yürütüldü. Kontrol besini olarak *G. mellonella* larvalarını laboratuvar şartlarında yetiştirmek için Bronskill tarafından geliştirilen yarı sentetik besin kullanıldı [Bronskill, 1961]. Besinin bileşimi 150 ml süzme bal, 150 ml gliserin (Merck, Darmstadt, Germany), 20 g öğütülmüş koyu petek, 420 g kepek ve 30 ml saf sudan oluşmaktadır.

Besinin bileşenleri gerekli miktarda tartılarak geniş bir kap içerisinde karıştırıldı ve homojen bir karışım oluşturulduktan sonra bir litrelik cam kavanozlara (80x180 mm) yaklaşık 1/3 oranında dağıtıldı. Bu kavanozların içine 10-15 adet ergin dişi birey bırakılarak yumurta bırakması sağlandı. Gelişimlerini tamamlayan olgun larvalar (7. evre larvaları) pup olmaları için diğer bir kavanoza aktarıldı. Oluşan puplardan meydana gelen erginler tekrar *G. mellonella* kültürünün devamı için kullanıldı. Besinin hazırlanması, kavanozlara aktarılması, *G. mellonella* yumurtalarının elde edilmesi, larvaların açılması ve besinlere bırakılması İçen ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı [İçen ve ark., 2005].



Şekil 2.1. *Galleria mellonella*'nın gelişme evreleri (1) Yumurta (2) Larva (3) Pup (4) Ergin

2.2. Beslenme Deneyleri ve Antibiyotikler

Penisilin G (% 98, BC Biochemie Frankfurt, Germany), streptomisin sülfat (Saf, kristal, Sigma Chemical Co., St. Louis, USA), flukonazol (% 100, Pfizer Ireland Pharmaceuticals Group, Cork, Ireland) ve griseofulvin (% 95, Sigma Chemical Co., St. Louis, USA)'dan temin edildi. Denenen antimikrobiyal ajanların konsantrasyonu g/100g besin olarak hazırlandı. Antibiyotikler besinlerin hazırlanması aşamasında doğrudan besine ilave edildi. Bu çalışmada denenecek antibakteriyel antibiyotikler ve konsantrasyonları zararlı bazı böcek türleri ile yapılan önceki çalışmalar esas alınarak belirlendi [Liles, 1958; Ouye, 1962; Fytizas ve Tzanakakis, 1966; Singh ve

House, 1970; Alverson ve Cohen, 2002]. Flukonazol ve griseofulvin ise klinik açıdan önemli antifungaller olup daha önce herhangi bir çalışmada böcekler üzerindeki etkisi incelenmemiştir. Denenecek konsantrasyonların aralığını belirlemek amacıyla antibiyotikler ile *G. mellonella* üzerinde ön beslenme deneyleri yapıldı. Böceğin ergin evreye kadar gelişimini tamamlayabileceği konsantrasyon aralığında her bir antibiyotiğin en düşük denenecek miktarı 0.001 gr, en yüksek denenecek miktarı ise 1.0 g/100g besin olarak tespit edildi. Kontrol besini hariç her antibiyotiğin 0,001, 0,01, 0,1, 1,0 g/100 g besin olarak dört farklı konsantrasyonu denendi. Standart şartlar kullanılarak antibiyotiklerin böcek üzerindeki etkisini incelemek için iki grup deney yürütüldü. Birinci grup deneyde antibiyotiklerin 3., 4., 5., 6. ve 7. evre larvalarının ortabağırsağında lipid peroksidasyonu miktarı, antioksidan enzimler ve transaminaz enzimlerinin aktivitelerine etkisi incelendi. Bu evrelerdeki yeni gömlek değiştirmiş larvalar baş kapsülü ölçülerine göre belirlendi [Sehnal, 1966]. Ön deneylerin antibiyotiklerin asıl etkilerinin çoğunlukla larval evreler üzerine olduğunu göstermesi sebebiyle biyokimyasal analizlerde aktif besin alan bu larval evreler kullanıldı. İkinci grup deneylerde, antibiyotiklerin böceğin ergin oluncaya kadar farklı gelişim evrelerinde yaşama oranı ve gelişme süresine etkisi ile yeni erginleşen bireylerdeki toplam protein miktarına etkisi incelendi.

2.3. Yaşama Oranı, Gelişme Süresi ve Yaş Ağırlık

Beslenme deneylerinde kullanılacak larvaların elde edilmesinde *G. mellonella* ergin dişi bireyleri tarafından 30 ml' lik geniş ağızlı, vida kapaklı bir plastik kabın (ORLAB, 35x55 mm) iç yüzeyine bırakılan yumurtalar kullanıldı. Bunun için 2-3 dişi birey kapakları delikli bu plastik kaplara konulup ve stok kültürün devam ettirildiği ortam koşullarında bekletilerek yumurta bırakması sağlandı. Yumurtaların açılması ile serbest kalan birinci evre larvaları ucu gliserine batırılarak nemlendirilmiş yumuşak uçlu bir fırça ile içlerinde 200 g besin bulunan orta boy cam kavanozlara (80x140 mm) her kavanoza 20 larva olacak şekilde bırakıldı. Bu larvalar denenen antibiyotiklerin farklı konsantrasyonlarını içeren besinlerde ergin evreye kadar yetiştirildi. Kontrol grubu olarak bir grup larva antibiyotik içermeyen besinde yetiştirildi. Antibiyotiklerin *G. mellonella* üzerindeki toksik özelliklerinin

değerlendirilmesinde birinci evre larvalarının 7. (son larval evre) evreye ulaşma süresi ile pup ve ergin olma süreleri, bu evrelerdeki yaşama oranı ve yaş ağırlıkları biyolojik etkinlik parametreleri olarak kullanıldı.

Larvaların bırakıldığı besin kapları kısa bir günlük inceleme periyodu hariç larval olgunluğa kadar sürekli olarak karanlıkta tutuldu. Beslenme deneylerinin tümü, besinin hazırlanması ve larvaların besine bırakılma süreleri hariç *G. mellonella* kültürünün yetiştirildiği şartlarda yürütüldü. Besinin hazırlanması, yumurtaların elde edilmesi, bu yumurtalardan çıkan larvaların besine bırakılma işlemleri tamamen aseptik olmayan şartlarda yapıldı. Bu işlemlerin uygulanmasında İçen ve arkadaşları tarafından uygulanan metod temel alındı [İçen ve ark.,2005].

Larvalar besine bırakıldıktan sonra 7. evreye ulaşan larvalar alınarak pup olmak üzere 30 ml'lik plastik örnek kaplarına her kapta bir larva olacak şekilde bırakıldı. Larvalar bırakılmadan önce, bu kapların içerisine larvaların pup olmasını kolaylaştırmak ve kuru ortam sağlamak amacıyla filtre kağıdı kaplandı. Bu larvaların 7. evreye ulaşma süreleri gün olarak kaydedildi ve yaş ağırlıkları belirlendi. Pup olan bireylerin yaş ağırlığı ve pup olma süreleri ile bu puplardan erginleşen bireylerin ergin olma süreleri ve yaş ağırlıkları da belirlendi. Yaşama oranı ve gelişme deneyleri her bir tekrarda 20 larva kullanılarak dörder defa tekrarlandı.

2.4. Erginlerde Toplam Protein Tayini

Denenen antibiyotiklerin belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinlerde yetiştirilen erginler, ergin olur olmaz alınarak tartıldı (Precisa Series XB, Dietikon, Switzerland) ve -80 °C de kullanılıncaya kadar saklandı. Her bir tekrar için alınan on adet ergin 0,05 M fosfat tamponunda (pH: 8) 24000 rpm'lik doku öğütücü homojenizatörde (Ultra Turrax, Ika T18 basic NC, USA) parçalanmıştır. Üzerine % 10'luk trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi ilave edilerek +4 °C de, 10000 x g'de 10 dk santrifuj edildi. Tüplerdeki üst sıvı atılarak, dipteki çöküntü (protein) üzerine bir miktar TCA çözeltisi ilave edilerek çözüldü. Bu karışım tekrar santrifüj edilerek üst sıvı atıldı. Bu işlem iki defa daha tekrar edildi. Protein tamamen çöktükten sonra %

99'luk etil alkol ilave edilerek homojenize edildi. Bu karışım +4 °C' de, 10000 x g devirde 10 dakika santrifuj edildi. Üst sıvı atılarak lipidler uzaklaştırıldı. Bu işlem iki defa daha tekrarlandı. Tüpün dibindeki protein çöküntüsü belirli bir hacime tamamlandı ve karıştırılarak homojenize edildi [Robyt ve White, 1990]. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede 600 nm'de Folin-Lowry metoduna göre ölçülerek toplam protein miktarı tespit edildi [Lowry ve ark., 1951]. Standart protein çözeltisi olarak sığır serum albumini (BSA) kullanıldı.

2.5. Biyokimyasal Analizler

G. mellonella'nın 1. evre larvaları her bir antibiyotiğin belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile 7. evreye kadar yetiştirildi. Lipid peroksidasyonu ürünü, MDA miktarı ile antioksidan enzimler SOD, CAT, GST ve GPx ile transaminaz enzimleri ALT ve AST aktiviteleri 3., 4., 5., 6. ve 7. evre larvalarının ortabağırsağında belirlendi. Larvalar buz üzerinde 5 dk bekletildikten sonra % 95 etil alkol ile yüzeyleri dezenfekte edildi ve parafinle doldurulmuş petrikabına sırt kısmı parafine gelecek şekilde sabitlendi. Daha sonra larvalar birinci çift torasik bacakların önünden itibaren üçüncü abdominal bacak çiftine kadar uzunlamasına karın kısmından orta eksen boyunca ince uçlu diseksiyon makası ile kesildi ve stereomikroskop (Olympus SZ61, Tokyo, Japan) altında ince uçlu bir pens ile sindirim kanalı çıkarıldı. Üç bölümden oluşan sindirim kanalından orta bağırsak ön ve son bağırsaktan ayrılarak alındı. Ortabağırsağa tutunmuş yağ doku, malpiki tüpçükleri ve bağırsak içeriği uzaklaştırıldı. Alınan orta bağırsaklar, soğuk homojenizasyon tamponu [a/h % 1,15 KCL, 25 mM K₂HPO₄, 5 mM Etilen-diamintetraasetik asit (EDTA), 2 mM fenilmetilsülfonil florür (PMSF), 2 mM ditiyotritol (DDT), pH: 7,4] bulunan tüpe konuldu ve -80 °C de saklandı. Kullanılmadan önce bu tüpler oda sıcaklığında bekletilerek çözünmesi sağlandı.

2.6. Örnek Hazırlanması, Malondialdehit Miktarının Belirlenmesi, Antioksidan Enzimlerin Tayinleri

Orta bağırsak ekstraksiyonu, homojenizasyon tamponu içerisinde ultrasonik homojenizatör (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany)' de +4 °C 10'ar saniyelik süreler ile üçer defa (30 W, 10s) yapıldı. Daha sonra 10000 x g' de 15 dk süre ile +4 °C de santrifüj (Hettich Zentrifugen Mikro200R, Germany) edildi. Süpernatant biyokimyasal analizler için kullanıldı. Elde edilen bu süpernatant 1000 x g' de +4 °C'de 10 dk santrifüjlenerek üst sıvıdan SOD ve CAT tayini, 16000 x g' de 20 dk santrifüjlenerek GST, GPx, ALT ve AST tayini yapıldı. MDA miktarı ve antioksidan enzim aktivitesi spektroskopik (Shimadzu 1700, UV/VIS Spektrofotometre, Kyoto, Japan) yöntem ile belirlendi. Deneyler, on orta bağırsak kullanılarak dört defa tekrarlandı. Protein miktarı, standart olarak sığır serum albumin proteini kullanılarak belirlendi [Lowry ve ark., 1951]. Biyokimyasal analizlerde kullanılan kimyasal maddelerin tümü Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)'ten temin edildi.

2.6.1. Malondialdehit (MDA) miktarının tayini

Jain ve Levine'nin kullandığı metod temel alınarak 532 nm'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona giren lipid peroksidasyonun son ürünü MDA miktarı ölçüldü [Jain ve Levine, 1995]. Dokular % 1,15'lik KCL ile ultrasonik homojenizatör (10 sn, 30 W) ile parçalandı. Homojenize edilen örneklerle pH 7,4 olan fosfat tamponu (18 mM NaCl, 18 mM Na₂HPO₄), 0,04 M butüllenmiş hidroksi toluen (BHT), % 30'luk trikloro asetik asit (TCA) eklendi, 2 saat buzun içerisinde bekletildikten sonra 4 °C, 2000 x g'de 15 dakika santrifüj edildi. Tüplerden alınan üst sıvıya 0,1 M'lık EDTA ve % 1'lik TBA ilave edilerek kaynar su banyosunda (95 °C) 45 dakika bekletildi, daha sonra spektrofotometrede 532 nm'de absorbansı okundu. Sabit sayı, $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, kullanılarak lipid peroksidasyon ürünü olan Malondialdehit (MDA) miktarı nmol/mg protein olarak verildi.

2.6.2. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi

Toplam SOD (EC 1.15.1.1) tayininde Marklund ve Marklund'un metodu kullanılarak pyrogallol'un 3 dakikada 440 nm'de alkali ortamda otooksidasyonu ile yükselen absorbans ölçüldü [Marklund ve Marklund, 1974]. Bu enzim aktivitesinin ölçülmesinde 3 ml'lik 7 adet plastik küvete 2,80 ml Tris-EDTA tamponu (50 mM Tris, 10 mM EDTA, pH 8,2) ve 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50 µl'lik değişen hacimlerde süpernatant konularak enzim kaynağı ilave edildi. Her küvetin son hacimi Tris-EDTA tamponu ile 2,90 ml'ye tamamlandı. Bu karışımların üzerlerine 100 µl 15 mM pyrogallol ilave edilerek pyrogallol'un otooksidasyonu başlatıldı. Her bir karışımın % inhibisyon miktarları hesaplanarak bir grafik elde edildi bu grafik kullanılarak bir ünite toplam SOD aktivitesi pyrogallol'un otooksidasyonun % 50 inhibisyonuna sebep olan protein miktarı olarak hesaplandı. Daha sonra homojenattaki 1mg protein başına toplam SOD aktivitesini bulmak için $1 / (\text{mg prot. pyrogallolun otooksidasyonun \% 50 inhibisyonu})$ eşitliği kullanılarak enzim aktivitesi U/mg protein olarak verildi.

2.6.3. Katalaz (CAT) enzimi

Katalaz (EC 1.11.1.6) enziminin aktivite tayini Aebi tarafından belirtilen metod ile yapılmıştır [Aebi, 1984]. Spektrofotometrede absorbans okumadan önce elde edilen süpernatanta peroksizomlardaki katalazı açığa çıkarmak için % 1'lik Triton X-100 (h/h) ilave edildi, daha sonra 50 mM fosfat tamponu (pH 7) eklenerek seyreltme yapıldı. Daha sonra spektrofotometrede (UV dalga boyunda) kullanacağımız cam küvete en son sulandırılmış örnekten 2 ml konarak üzerine 1 ml % 30'luk hidrojen peroksit eklendi ve enzimatik reaksiyon başlatıldı. Üç dakika boyunca 240 nm'de H_2O_2 'in parçalanmasını gösteren azalan absorbans ölçüldü. Sabit sayı, ϵ_{240} : 0,0394 mM/cm) kullanılarak birim zaman başına absorbansdaki değişimler katalaz aktivitesinin ölçümü olarak alındı. Enzim aktivitesi mmol/mg protein/dk birimiyle verildi.

2.6.4. Glutasyon-S-transferaz (GST) enzimi

Glutasyon S-transferaz (EC 2.5.1.18) tayini Habig ve arkadaşları tarafından geliştirilen metoda göre yapıldı [Habig ve ark., 1974]. GST'in bütün izozimleri için 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) substrat olarak kullanılmaktadır. GST enzimi tarafından CDNB, indirgenmiş glutasyon (GSH) ile konjuge edilerek glutasyonun oksidasyonuna bağlı olarak 340 nm'de örneğin absorbans yükselmektedir. Bu enzimin aktivitesinin ölçülmesi için 3 ml'lik cam küvetlere 2,5 ml 50 mM fosfat tamponu, 200 µl 20mM indirgenmiş glutasyon ve 1/50 oranında sulandırılmış süpernatant ilave edildi. Bu karışıma 150 µl 25 mM CDNB eklenerek enzimatik reaksiyon başlatıldı ve 3 dakika boyunca 340 nm'de yükselen absorbans okundu. Yükselen absorbans CDNB'nin redükte glutasyon ile reaksiyona girerek tioether yapısının oluşumunu göstermektedir. Enzim aktivitesi 340 nm'de (ϵ_{340} : 9.6 mM/cm) 1 dakikada süpernatantta bulunan 1 mg toplam protein başına oluşturulan tioether miktarı olarak hesaplandı ve enzimin spesifik aktivitesi µmol/mg protein/dk olarak verildi.

2.6.5. Glutasyon peroksidaz (GPx) enzimi

Glutasyon peroksidaz (EC 1.11.1.9) tayini Paglia ve Valentine tarafından belirtilen metoda göre yapıldı [Paglia ve Valentine, 1987]. Bu metod okside glutasyon (GS-SG) ve NADPH'ı substrat olarak kullanan glutasyon redüktazın 340 nm'de Nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat (NADPH)'ı okside etmesi ile meydana gelen azalan absorbansın ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Okside glutasyon, glutasyon peroksidaz tarafından oluşturulduğu için NADPH'ın azalması GPx aktivitesi ile doğru orantılıdır. NADPH'ın Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADP)'a yükseltgenmesi 340 nm'de absorbansın azalmasına sebep olur, böylece dolaylı olarak GPx'in aktivitesinin tespitinde kullanılmaktadır. Bu enzimin spesifik aktivitesini ölçmek için 3 ml'lik cam küvetlere 2,525 ml 0,1 M'lık Tris-HCl tamponu, 75 µl 80 mM redükte glutasyon, 100 µl seyreltilmiş süpernatant, 100 µl 2 mM NADPH, 100 µl 0,24 ünite glutasyon redüktaz ilave edildi ve 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bu karışımın üzerine 100 µl 1,5 mM hidrojen peroksit

eklenerek enzimatik reaksiyon başlatıldı ve 3 dakika boyunca 340 nm’de azalan absorbanslar okundu. GPx aktivitesi (ϵ_{340} : 6220 M/cm) 1 dakikada 1 mg protein tarafından harcanan NADPH miktarı olarak hesaplandı ve enziminin spesifik aktivitesi nmol/mg protein/dk olarak verildi.

2.6.6. Alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) Enzimleri

Enzim özütlenmesinde ve aktivite belirlenmesinde Azmi ve arkadaşları tarafından belirtilen metod kullanıldı [Azmi ve ark., 2002]. Spektrofotometrede (Shimadzu 1700 UV/Vis Double-beam Spectrophotometer, Kyoto, Japan) ALT (E.C.2.6.1.2, L-Alanin 2-oksoglutarat aminotransferaz) için 340 nm dalga boyunda, AST (E.C.2.6.1.1, L-Aspartat 2-oksoglutarat aminotransferaz) için 405 nm dalga boyunda absorbanslar ölçülerek enzim aktiviteleri hesaplandı. Enzim aktivitelerinin tayin edilmesinde Biomérieux kitleri (ALT, Kit No: 63313; AST, Kit No: 63411, Marcy-I’Etoile, France), substrat olarak AST için L- aspartat ve 2-oksoglutarat, ALT içinde L-alanin ve 2-oksoglutarat kullanıldı. Transaminaz enzimlerinin aktivitelerinin belirlenmesinde Reitman ve Frankel ile Frankel metodları temel alınmıştır [Reitman ve Frankel, 1957; Frankel, 1970]. Enzimlerin aktiviteleri U/mg protein olarak hesaplandı.

Enzim tayinleri için elde edilen süpernatantlardan enzimlerin spesifik aktifliğini hesaplamak için toplam protein tayini yapılmıştır. Bu amaçla örneklerin absorbansı spektrofotometrede 600 nm’de Folin-Lowry metoduna göre ölçülerek toplam protein miktarı tespit edildi [Lowry ve ark., 1951]. Bu hesaplamayı yapmak için öncelikle farklı konsantrasyonlarda Bovin serum albumini çözeltileri hazırlandı ve bir standart grafik oluşturuldu. Toplam protein miktarları bu standart grafiğe göre hesaplandı.

2.7. Verilerin Değerlendirilmesi

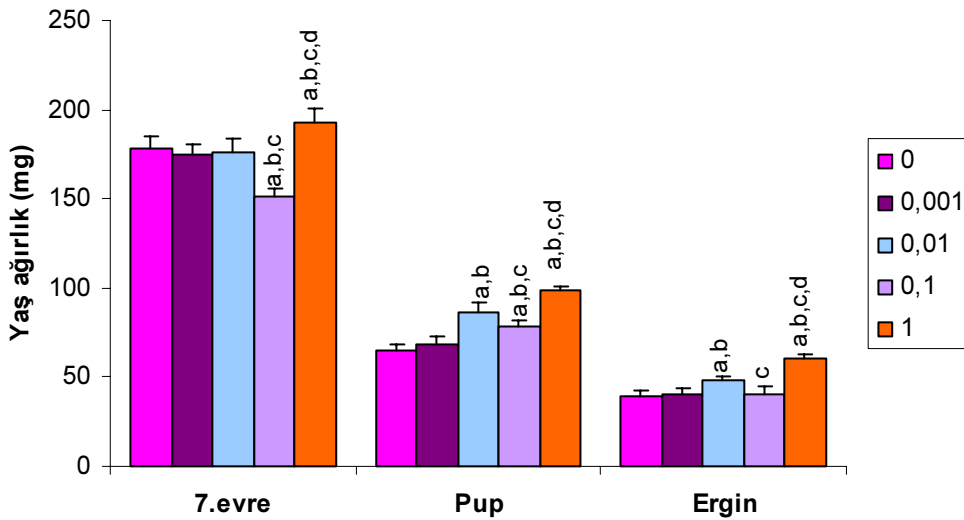
Antibiyotiklerin farklı miktarlarını içeren besinlerin böcek üzerindeki etkisi gelişme süresi (yedinci larval evreye, pup evresine ve ergin evreye ulaşmak için geçen gün olarak ortalama süre), yaşama oranı (bu evrelerde yaşayan yüzde olarak birey sayısı) ve yaş ağırlıkları (bu evrelere ulaşan bireylerin mg olarak ortalama yaş ağırlığı) dikkate alınarak değerlendirildi. Antibiyotiklerin erginlerin protein sentezine etkilerini saptamada ise erginlerin yaş ağırlık başına mg olarak toplam protein miktarları dikkate alındı. Malondialdehit, antioksidan enzimler SOD, CAT, GST ve GPx ile transaminaz enzimleri ALT ve AST aktiflikleri, gelişim ve yaş ağırlık ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde “Varyans Analizi” (ANOVA) yöntemi ortalamalar arasındaki farkı saptamak için En Küçük Önem Farkı (LSD) SPSS testi kullanıldı [SPSS, 1997]. Yaşama oranı ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde ise Ki kare (χ^2) testi kullanıldı [Snedecor ve Cochran, 1989]. Ortalamalar arası fark 0.05 olasılık seviyesinde F ve χ^2 'nin değerinden büyük olduğu zaman önemli kabul edildi. MDA miktarı ile antioksidan enzimler ve yaşama oranı arasındaki ilişkinin belirlenmesinde “Regresyon analizi” kullanıldı [SPSS, 1997].

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Penisilinin *G. mellonella*'nın Yaş Ağırlığı, Yaşama Oranı, Gelişme Süresi ve Toplam Protein Miktarına Etkisi

3.1.1. Yaş ağırlık

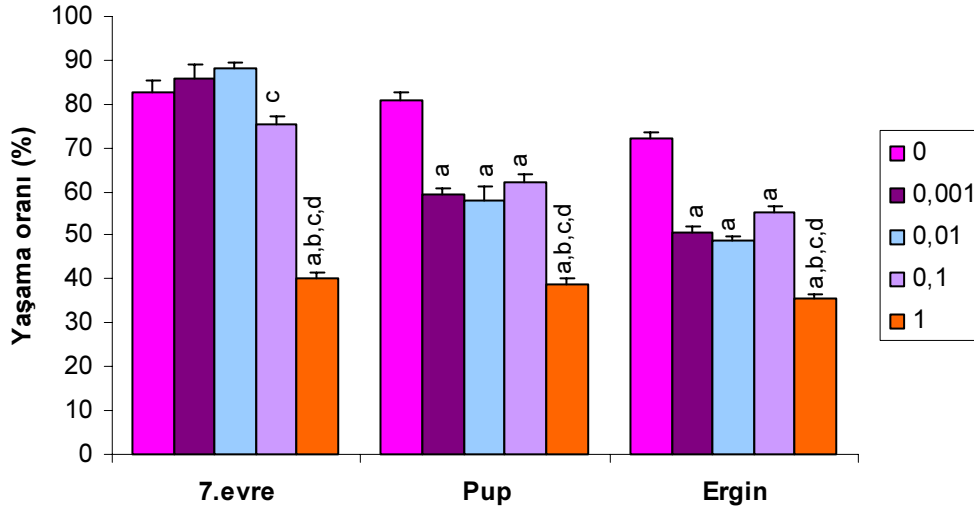
Kontrol ile karşılaştırıldığında ($178,4 \pm 6,2$) penisilinin 0,1 g'ı yedinci evre larvalarının yaş ağırlığını önemli derecede düşürdüğü halde antibiyotığın en yüksek konsantrasyonu yaş ağırlığı arttırmıştır ($192,3 \pm 8,0$) (Şekil 3.1). Penisilinin yüksek konsantrasyonları (0,01, 0,1 ve 1,0 g) pupal yaş ağırlığı önemli derecede artırdığı halde yalnızca 0,01 and 1,0 g penisilin konsantrasyonları erginlerin yaş ağırlığını arttırmıştır.



Şekil 3.1. Penisilinin *G. mellonella*'nın yaş ağırlığı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile penisilinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Penisilinin 0,001 g' ile penisilinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Penisilinin 0,01 g' ile penisilinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Penisilinin 0,1 g' ile penisilinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 20 larva kullanılmıştır

3.1.2. Yaşama oranı

Besindeki en yüksek penisilin konsantrasyonu (1,0 g) 7. evre larvalarının yaşama oranını $82,5 \pm 2,8$ 'den $40,8 \pm 1,1$ 'e önemli derecede düşürürken penisilin düşük konsantrasyonları larval yaşama üzerinde önemli bir etki yapmamıştır (Şekil 3.2). Antibiyotiğin tüm konsantrasyonları pup ve ergin olma oranını düşürmüştür. Penisilin 1,0 g' ının ilave edildiği besin kontrol besinine göre pup ve ergin olma oranını % 50 oranında azaltmıştır.

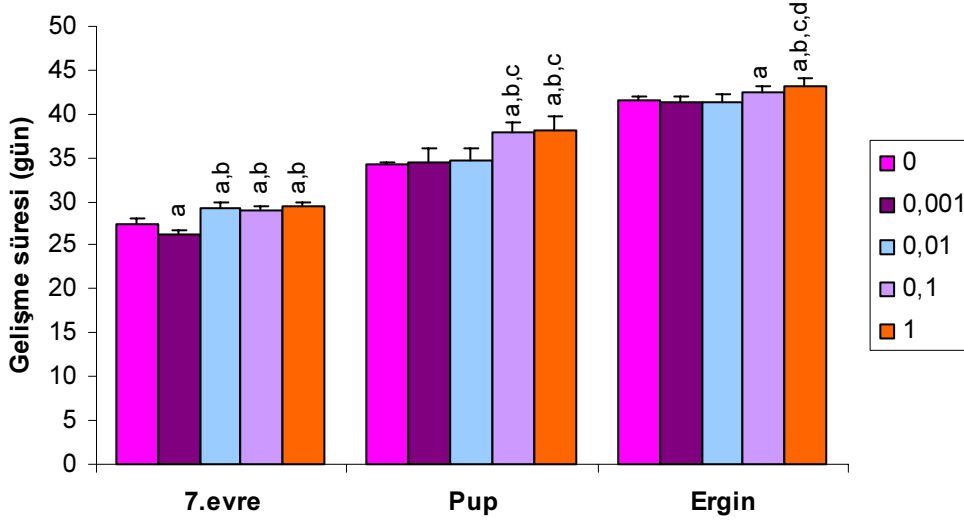


Şekil 3.2. Penisilin *G. mellonella*'nın yaşama oranı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile penisilin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Penisilin 0,001 g' ile penisilin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Penisilin 0,01 g' ile penisilin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Penisilin 0,1 g' ile penisilin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 20 larva kullanılmıştır.

3.1.3. Gelişme süresi

Penisilin 0,001 g'ını içeren besin 7. evreye ulaşma süresini önemli derecede kısaltırken bu antibiyotiğin yüksek konsantrasyonları (0,01, 0,1 ve 1,0 g) kontrole göre bu sürede önemli artışa sebep olmuştur (Şekil 3.3). Penisilin 0,1 ve 1,0 g'ı pup ve ergin evreye ulaşma süresini önemli derecede uzatmıştır. Besindeki yüksek

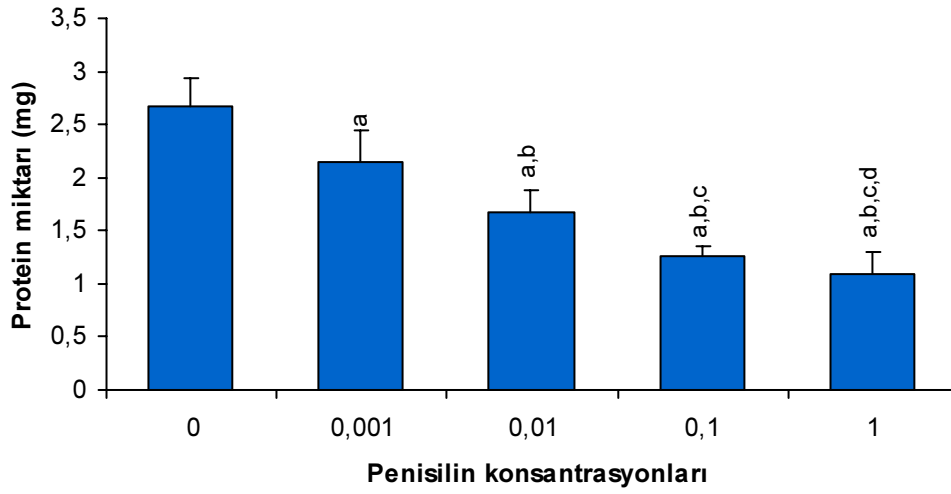
penisilin konsantrasyonları ergin olma süresini $41,5 \pm 0,4$ günden $43,2 \pm 0,8$ güne anlamlı derecede uzatmıştır.



Şekil 3.3. Penisilinin *G. mellonella*'nın gelişimi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile penisilinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Penisilinin 0,001 g' ile penisilinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Penisilinin 0,01 g' ile penisilinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Penisilinin 0,1 g' ile penisilinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 20 larva kullanılmıştır

3.1.4. Toplam protein miktarı

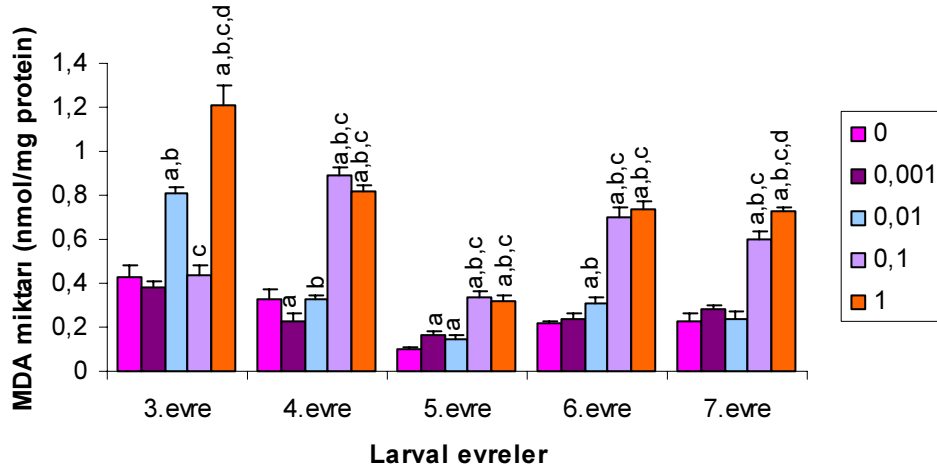
Kontrol ile karşılaştırıldığında erginlerin toplam protein miktarı penisilinin artan konsantrasyonları ile orantılı olarak azaltmıştır. Antibiyotiğin besindeki en yüksek konsantrasyonu erginlerdeki protein miktarını $2,68 \pm 0,014$ 'den $1,10 \pm 0,013$ mg'a önemli derecede azaltmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Penisilinin *G. mellonella*'nın toplam protein miktarı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile penisilinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Penisilinin 0,001 g' ile penisilinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Penisilinin 0,01 g' ile penisilinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Penisilinin 0,1 g' ile penisilinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 ergin kullanılmıştır

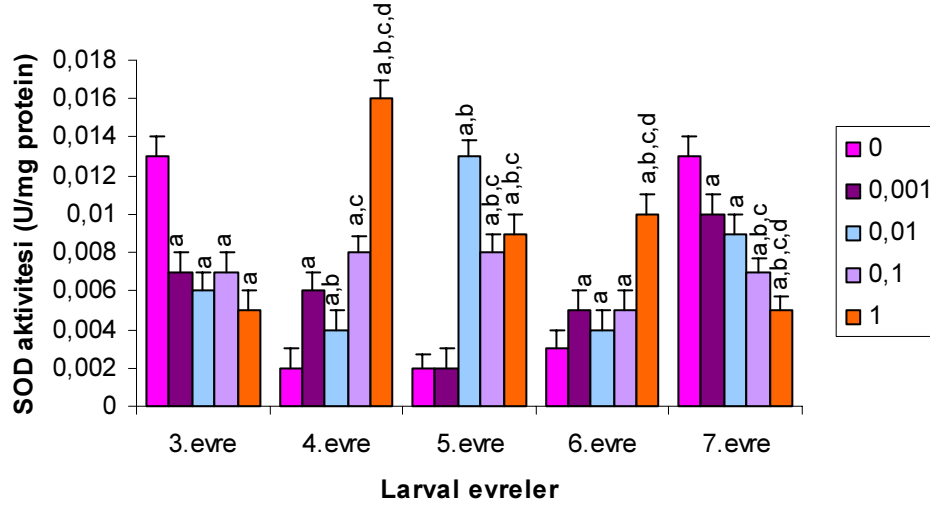
3.2. Penisilinin Orta Bağırsak Malondialdehit (MDA) Miktarı ve Enzim Aktivitelerine Etkisi

Besindeki 0,01 ve 1,0 g penisilin konsantrasyonları 3. evre larvalarının ortabağırsağında MDA miktarını iki katı oranında önemli derecede arttırmıştır. Penisilinin yüksek konsantrasyonları 4., 6. ve 7. evre larvalarında MDA miktarını arttırmıştır. Penisilinin besine ilave edilen 0,01, 0,1 ve 1,0 g'ları ile yetiştirilen 6. evre larvalarının ortabağırsağında MDA miktarı önemli derecede artmıştır. Buna karşılık, penisilinin tüm konsantrasyonları ise 5. evre larvalarının ortabağırsağında MDA miktarını önemli dercede artmıştır (Şekil 3.5).



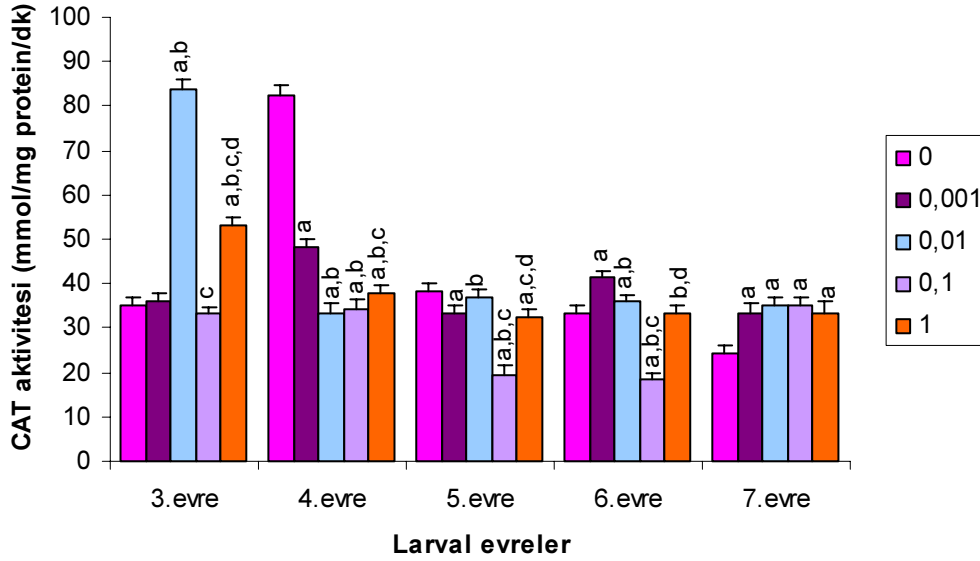
Şekil 3.5. Penisilinin *G. mellonella* larvalarının orta bağırsak MDA miktarı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile penisilinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Penisilinin 0,001 g' ile penisilinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Penisilinin 0,01 g' ile penisilinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Penisilinin 0,1 g' ile penisilinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Böceğin 5. evre larvalarının ortabağırsağındaki SOD aktivitesi penisilinin en düşük konsantrasyonu ile etkilenmemiştir. Ancak, antibiyotiğin bu konsantrasyonu 4. evre larvalarında SOD aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. Besindeki artan penisilin konsantrasyonları 3. ve 7. evre larvalarının orta bağırsak enzim aktivitelerini önemli derecede azaltmıştır. Penisilinin yüksek konsantrasyonlarını (0,01, 0,1, 1,0 g) içeren besinler 5. evre larvalarındaki SOD aktivitesini arttırmıştır. Besindeki tüm penisilin konsantrasyonları 4. ve 6. evre larvalarındaki enzim aktivitesini anlamlı olarak arttırmıştır (Şekil 3.6).



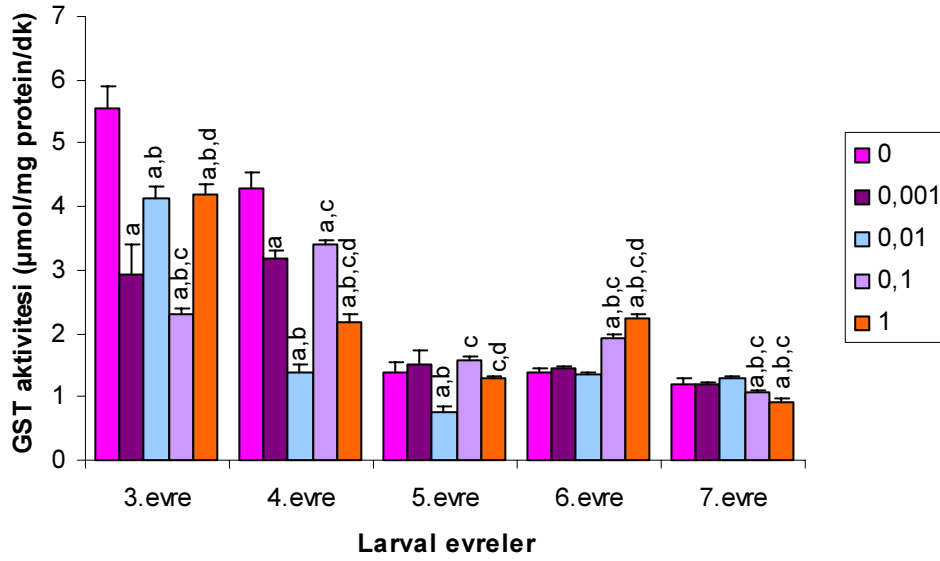
Şekil 3.6. Penisilinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında SOD aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile pensilinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Penisilinin 0,001 g' ile penisilinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Penisilinin 0,01 g' ile penisilinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Penisilinin 0,1 g' ile penisilinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Penisilinin en düşük konsantrasyonunu içeren besin 3. evre larvalarının orta bağırsak CAT enzimi aktivitesine önemli bir etki yapmazken 5. evre larvalarında enzim aktivitesini azaltmıştır. Ancak, antibiyotiğin bu konsantrasyonu 6. evre larvalarının ortabağırsağında enzim aktifliğini arttırmıştır. Penisilinin tüm konsantrasyonları 4. evrede enzim miktarını % 50 oranında azaltırken 7. evrede CAT aktivitesini arttırmıştır. Bu antibiyotiğin 0,01 g'ı 3. evre larvalarının ortabağırsağında enzim aktivitesini iki kat arttırmıştır (Şekil 3.7).



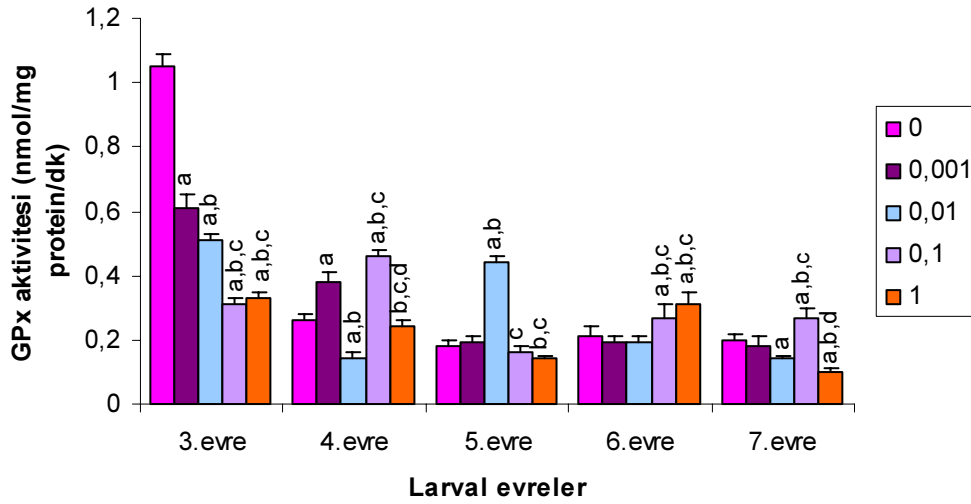
Şekil 3.7. Penisilinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında CAT aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile penisilinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Penisilinin 0,001 g' ile penisilinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Penisilinin 0,01 g' ile penisilinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Penisilinin 0,1 g' ile penisilinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Orta bağırsak GST enzimi aktivitesindeki değişim besindeki artan penisilin konsantrasyonu ile uyumlu olarak meydana gelmemiştir. Antibiyotiğin denenen tüm konsantrasyonları 3. ve 4. evre larvalarının ortabağırsağındaki GST aktivitesini önemli derecede azaltmıştır. Penisilinin 0,1 ve 1,0 g'ları 6. evre larvalarında orta bağırsak GST aktivitesini arttırmıştır. Besindeki 0,1 g antibiyotik konsantrasyonu 7. evre larvalarındaki GST aktivitesini arttırmış ancak antibiyotiğin 1,0 g'ı bu enzimin aktivitesini azaltmıştır. Beşinci evre larvalarının orta bağırsak dokusundaki enzim aktivitesi 0,01 g penisilin tarafından önemli derecede azaltmıştır (Şekil 3.8).



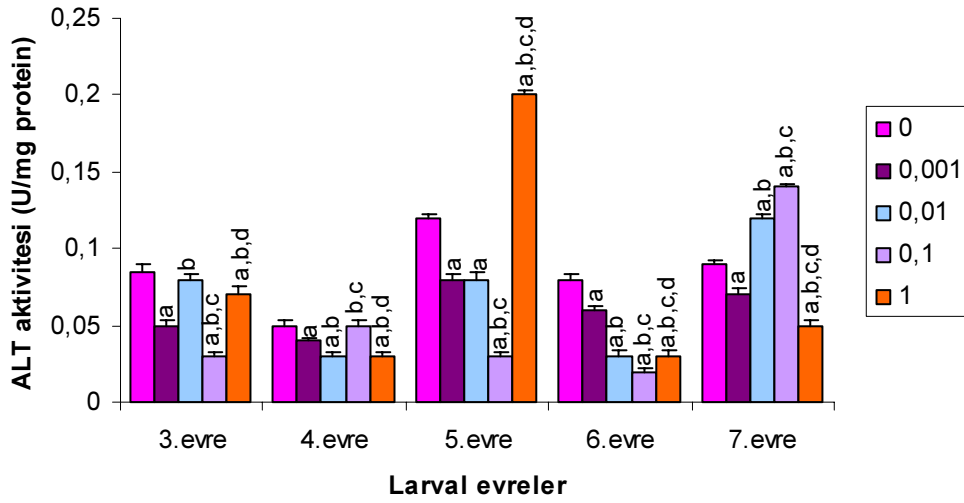
Şekil 3.8. Penisilinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında GST aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile penisilinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Penisilinin 0,001 g' ile penisilinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Penisilinin 0,01 g' ile penisilinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Penisilinin 0,1 g' ile penisilinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Penisilinin besindeki artan konsantrasyonları tarafından 3. evre larvalarının ortabağırsağında GPx enziminin aktivitesi önemli derece azaltılmıştır. Penisilinin en yüksek konsantrasyonu 3. evre larvalarındaki enzim aktivitesini $1,05 \pm 0,04$ ' den $0,33 \pm 0,02$ nmol/mg protein/dk. değerine düşürmüştür. Denenen en yüksek antibiyotik konsantrasyonu 7. evre larvalarındaki enzim aktivitesini azaltmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında penisilinin 0,01 g'ı 4. ve 7. evrelerde GPx aktivitesini azaltmıştır. Ancak, penisilinin 0,1 g'ı 4. evre larvalarında GPx aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. Antibiyotiğin 0,1 ve 1,0 g'ı 6. evre larvalarının ortabağırsağında enzim aktivitesini arttırmıştır (Şekil 3.9).



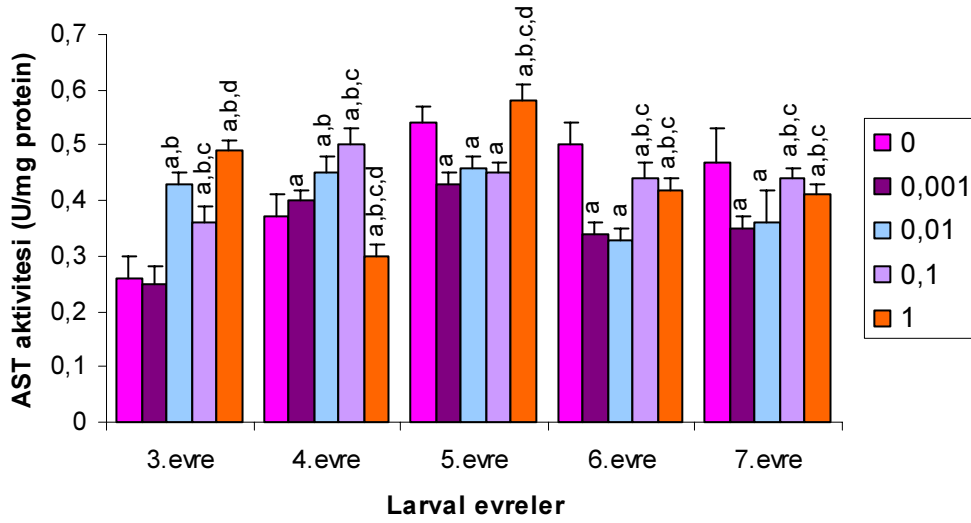
Şekil 3.9. Penisilinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında GPx aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile penisilinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Penisilinin 0,001 g ile penisilinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Penisilinin 0,01 g ile penisilinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Penisilinin 0,1 g ile penisilinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Denenen tüm penisilin konsantrasyonları 6. evre larvalarının ortabağırsağındaki ALT enziminin aktivitesini önemli derecede azaltmıştır. Diğer larval evrelerin orta bağırsak ALT aktivitesindeki değişimler antibiyotiğin besindeki artan konsantrasyonları ile uyumlu değildir. Penisilinin 0,1 g'ı hariç, diğer konsantrasyonları 4. larval evrede ALT aktivitesini önemli derecede azaltmıştır. Antibiyotiğin düşük konsantrasyonları (0,001, 0,01 ve 0,1 g) 5. evrede ALT aktivitesini önemli derecede azaltırken, en yüksek konsantrasyonu enzim aktivitesini arttırmıştır. Böceğin 3. ve 7. evre larvalarının enzim aktiviteleri de denenen antibiyotik konsantrasyonu ile değişim göstermiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Penisilinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında ALT aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile penisilinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Penisilinin 0,001 g' ile penisilinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Penisilinin 0,01 g' ile penisilinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (d) Penisilinin 0,1 g' ile penisilinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Penisilinin yüksek konsantrasyonlarını içeren besinler 3. evre larvalarının ortabağırsağında AST enziminin aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. Ancak, penisilinin denenen tüm konsantrasyonları 6. ve 7. larval evrelerde enzim aktivitesinde önemli düşmeye sebep olmuştur. Düşük penisilin konsantrasyonları 4. evrede AST aktivitesini artırırken penisilinin en yüksek konsantrasyonu enzim aktivitesini azaltmıştır. Penisilinin düşük konsantrasyonları 5. evre larvalarında AST aktivitesini azaltmıştır (Şekil 3.11).



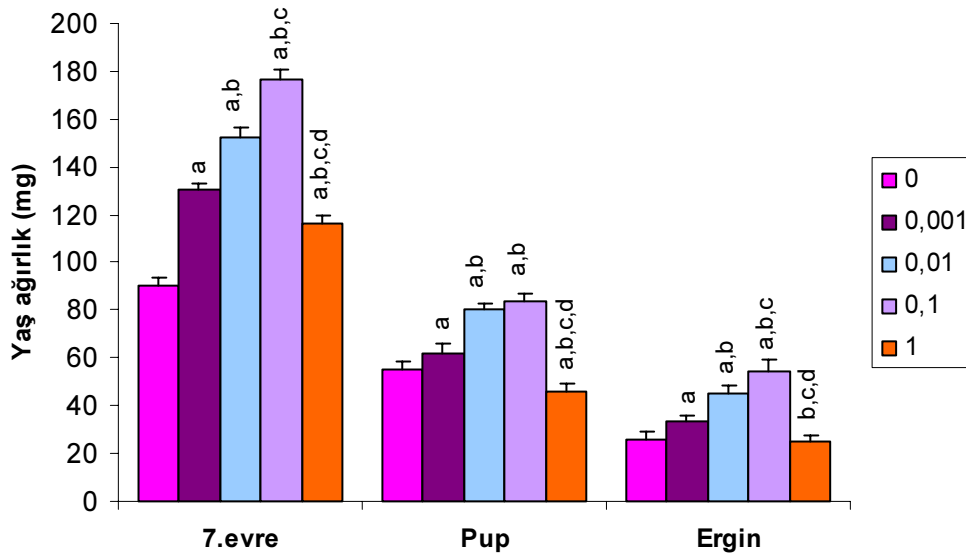
Şekil 3.11. Penisilinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında AST aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile penisilinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Penisilinin 0,001 g' ile penisilinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Penisilinin 0,01 g' ile penisilinin 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması ($P < 0,05$). (d) Penisilinin 0,1 g' ile penisilinin 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Penisilin ile beslenen 7. evre larvalarının orta bağırsak MDA miktarı ile SOD ($R = 0.88$, $P < 0.05$) ve GST ($R = 0.96$, $P < 0.05$) aktiviteleri arasında negatif bir ilişki tespit edilmiştir. *G. mellonella* 7. evre larvalarının orta bağırsak SOD aktivitesi ile CAT aktivitesi arasında da negatif bir ilişki ($R = 0.89$, $P < 0.05$) tespit edilmiştir. Diğer larval evrelerin ortabağırsağındaki MDA miktarı ile antioksidan enzimleri arasında önemli bir ilişki bulunmamıştır. Korelasyon analizlerinin sonuçlarına göre penisilinin artan konsantrasyonları tarafından meydana getirilen orta bağırsaktaki yüksek MDA miktarının 7. evre larvalarının SOD ve GST enzimlerinde düşüşe sebep olduğu görülmektedir. Diğer taraftan, penisilin konsantrasyonlarını içeren 7. evre larvalarının yaşamı ile orta bağırsak MDA miktarı arasında önemli bir negatif ilişki ($R = 0.88$, $P < 0.05$) bulunmuştur. Aynı zamanda, yaşama oranı ve orta bağırsak GST enzimi aktivitesi arasında önemli ve pozitif bir ilişki ($R = 0.93$, $P < 0.05$) tespit edilmiştir.

3.3. Streptomisin'in *G. mellonella*'nın Yaş Ağırlığı, Yaşama Oranı, Gelişme Süresi ve Toplam Protein Miktarına Etkisi

3.3.1. Yaş ağırlık

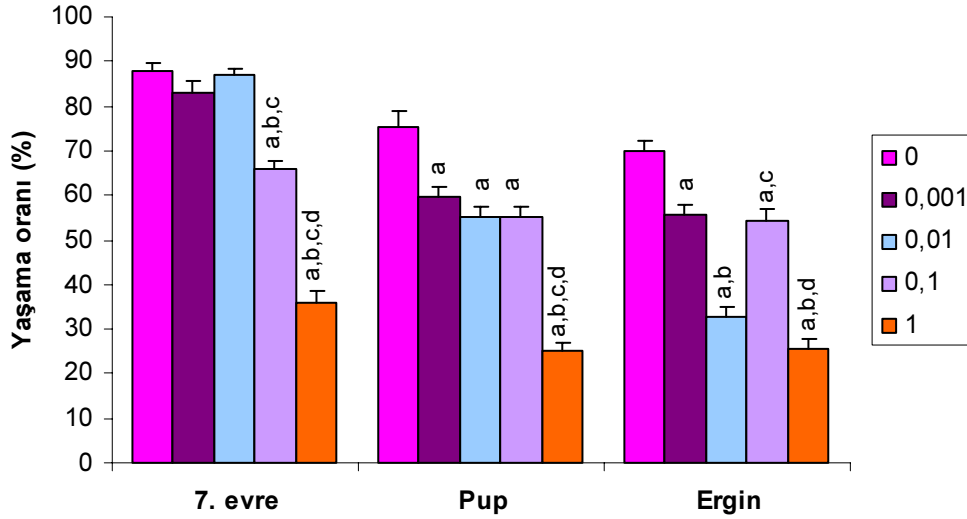
Kontrol besini ile karşılaştırıldığında, streptomisin'in tüm denenen konsantrasyonları 7.evre larvalarının yaş ağırlığını önemli derecede arttırmıştır (Şekil 3.12). Streptomisin'in 0,1 g'ını içeren besin larvaların yaş ağırlığını $90 \pm 3,4$ 'den $176,3 \pm 3,5$ mg'a arttırmıştır. Bu antibiyotiğin en yüksek konsantrasyonu pupal yaş ağırlığı önemli derecede azaltırken ergin yaş ağırlığını etkilememiştir. Ancak, streptomisin'in düşük besinsel konsantrasyonları (0,001, 0,01 ve 0,1 g) pup ve erginlerin yaş ağırlığını antibiyotiğin konsantrasyonuna bağımlı bir şekilde önemli derecede arttırmıştır.



Şekil 3.12. Streptomisin'in *G. mellonella*'nın yaş ağırlığı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile streptomisin'in tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Streptomisin'in 0,001 g'ı ile streptomisin'in 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Streptomisin'in 0,01 g' ile streptomisin'in 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Streptomisin'in 0,1 g' ile streptomisin'in 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 20 larva kullanılmıştır

3.3.2. Yaşama oranı

Streptomisinin düşük konsantrasyonlarını içeren besinler 7. evre larvalarının yaşamı üzerine etki etmezken yüksek konsantrasyonları içeren besinler bu evrede yaşamı önemli derecede azaltmıştır (Şekil 3.13). Kontrol besini ile karşılaştırıldığında, streptomisinin tüm konsantrasyonlarını içeren besinler pup ve ergin yaşama oranını önemli derecede azaltmıştır. Streptomisin en yüksek besinsel konsantrasyonu (1,0 g) ile yetiştirilen larvaların % 36'sı 7. evreye ulaşmış olup ancak % 25'i ise pup ve ergin olabilmektedir.

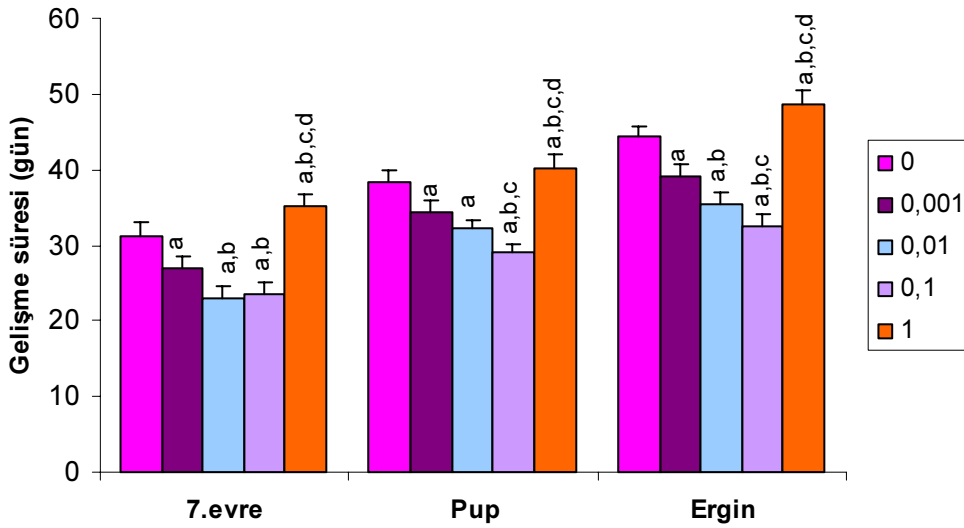


Şekil 3.13. Streptomisin *G. mellonella*'nın yaşama oranı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile streptomisin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Streptomisin 0,001 g'ı ile streptomisin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Streptomisin 0,01 g' ile streptomisin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Streptomisin 0,1 g' ile streptomisin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 20 larva kullanılmıştır

3.3.3. Gelişme süresi

Streptomisin 0,001, 0,01 ve 0,1 g'ını içeren besinler larvaların 7. evreye ulaşma, pup ve ergin olma sürelerini önemli derecede kısaltmıştır. Ancak, streptomisin en yüksek konsantrasyonu tüm evrelere ulaşmak için gerekli süreyi önemli derecede

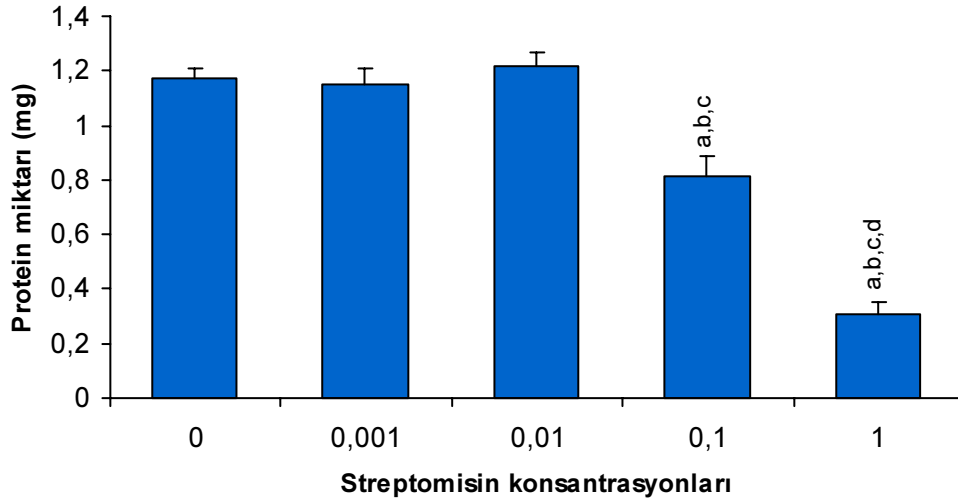
uzatmıştır (Şekil 3.14). Streptomisin bu konsantrasyonu ergin gelişimini yaklaşık 4 gün uzatmıştır.



Şekil 3.14. Streptomisin *G. mellonella*'nın gelişimi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile streptomisin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Streptomisin 0,001 g'ı ile streptomisin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Streptomisin 0,01 g' ile streptomisin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Streptomisin 0,1 g' ile streptomisin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 20 larva kullanılmıştır

3.3.4. Toplam protein miktarı

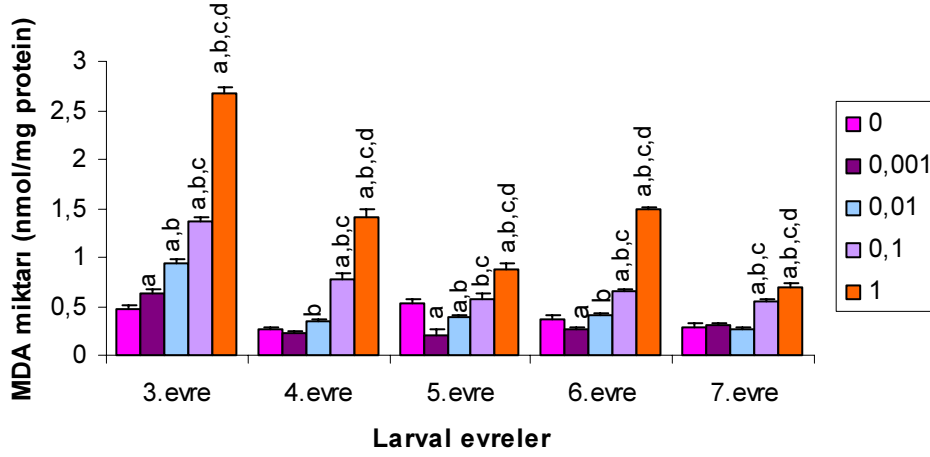
Streptomisin düşük konsantrasyonları erginlerin toplam protein miktarını etkilememesine rağmen bu antibiyotiğin yüksek konsantrasyonları protein miktarını önemli derecede azaltmıştır (Şekil 3.15). Streptomisin en yüksek konsantrasyonu toplam protein miktarını $1,17 \pm 0,04$ 'den $0,31 \pm 0,05$ mg'a azaltmıştır.



Şekil 3.15. Streptomisin'in *G. mellonella*'nın toplam protein miktarı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile streptomisin'in tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Streptomisin'in 0,001 g'ı ile streptomisin'in 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Streptomisin'in 0,01 g' ile streptomisin'in 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Streptomisin'in 0,1 g' ile streptomisin'in 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 ergin kullanılmıştır

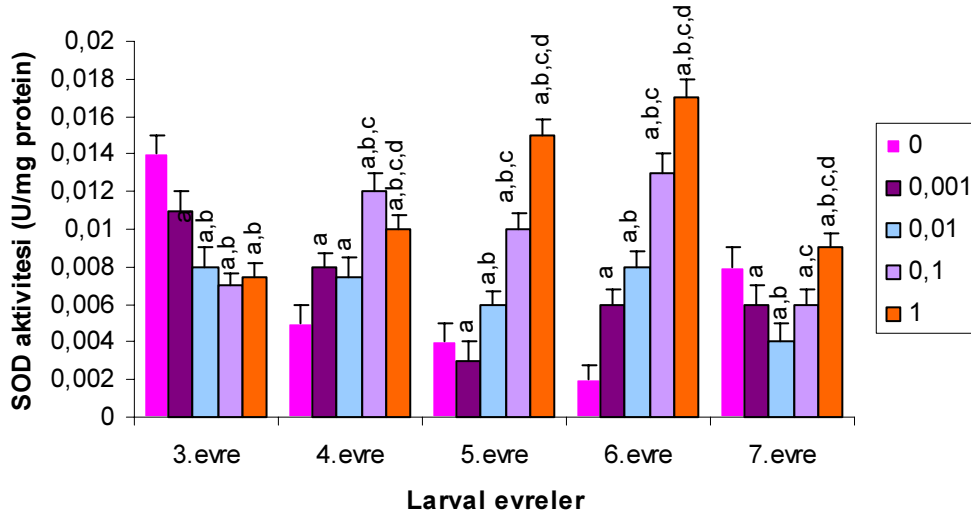
3.4. Streptomisin'in Orta Bağırsak Malondialdehit (MDA) Miktarı ve Enzim Aktivitelerine Etkisi

Streptomisin'in tüm konsantrasyonları 3. evre larvalarının ortabağırsağında MDA miktarını önemli derecede arttırmıştır. Antibiyotiğin en yüksek konsantrasyonunu içeren besin 3. ve 4. evrelerde MDA miktarını 5 katı arttırmıştır. Streptomisin'in düşük konsantrasyonları ise 5. evrede MDA miktarını düşürdüğü halde, en yüksek streptomisin konsantrasyonu (1,0 g) MDA miktarını arttırmıştır. Antibiyotiğin yüksek konsantrasyonları tarafından 6. ve 7. evre larvalarında MDA miktarı önemli derecede arttırmıştır (Şekil 3.16).



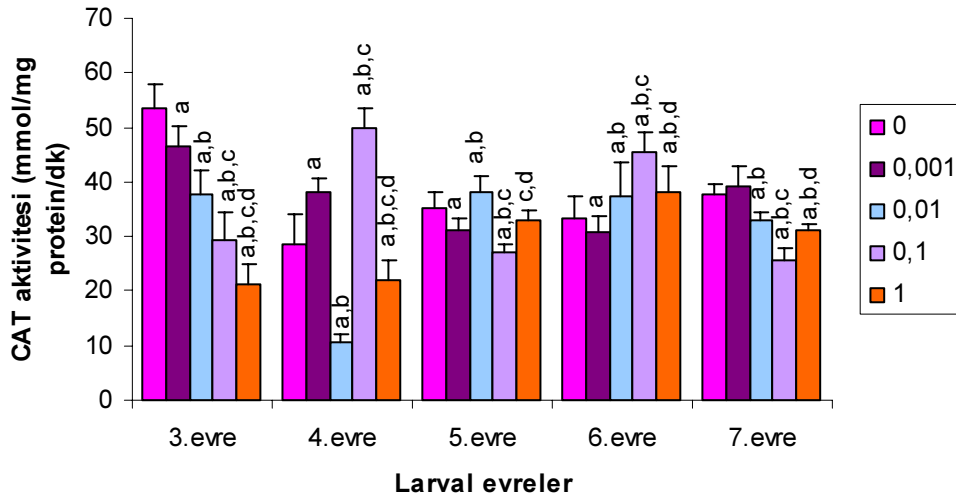
Şekil 3.16. Streptomisin'in *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında MDA miktarı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile streptomisin'in tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Streptomisin'in 0,001 g'ı ile streptomisin'in 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Streptomisin'in 0,01 g' ile streptomisin'in 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Streptomisin'in 0,1 g' ile streptomisin'in 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Streptomisin'in artan konsantrasyonları ile orantılı olarak 3. evre larvalarının orta bağırsak SOD aktivitesi önemli derecede azaltmıştır. Ancak, 4. ve 6. evre larvalarının orta bağırsak enzim aktivitesi streptomisin'in denenen konsantrasyonları ile artmıştır. Böceğin 5. evre larvalarının ortabağırsağındaki SOD aktivitesi streptomisin'in yüksek konsantrasyonları tarafından artırılmıştır. Bu antibiyotiğin en yüksek konsantrasyonunu içeren besin 5. ve 7. evrelerde SOD aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. Düşük antibiyotik konsantrasyonları ise 7. evrede enzim aktivitesini önemli derecede azaltmıştır (Şekil 3.17).



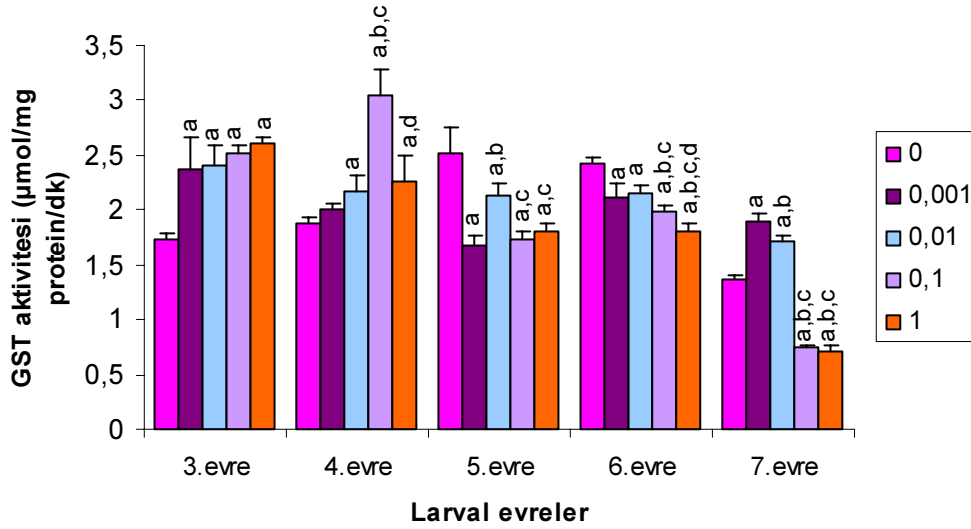
Şekil 3.17. Streptomisin'in *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında SOD aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile streptomisin'in tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Streptomisin'in 0,001 g'ı ile streptomisin'in 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Streptomisin'in 0,01 g' ile streptomisin'in 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Streptomisin'in 0,1 g' ile streptomisin'in 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Besine ilave edilen streptomisin konsantrasyonları 3. evre larvalarının ortabağırsağında CAT enziminin aktivitesini önemli derecede düşürürken 6. evrede bu enzimin aktivitesini arttırmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında, antibiyotiğin 0,01, 0,1 and 1,0 g'lık konsantrasyonları 7. evrede CAT aktivitesini önemli derecede azaltmıştır. Böceğin 4. ve 5. evre larvalarında orta bağırsak CAT aktivitesi uygulanan antibiyotiğin konsantrasyonuna bağımlı olarak değişim göstermiştir. Streptomisin'in 0,1 g'ı 4. evre larvalarında CAT aktivitesini artırırken 0,01 g'ı enzim aktivitesinde önemli bir azalmaya sebep olmuştur (Şekil 3.18).



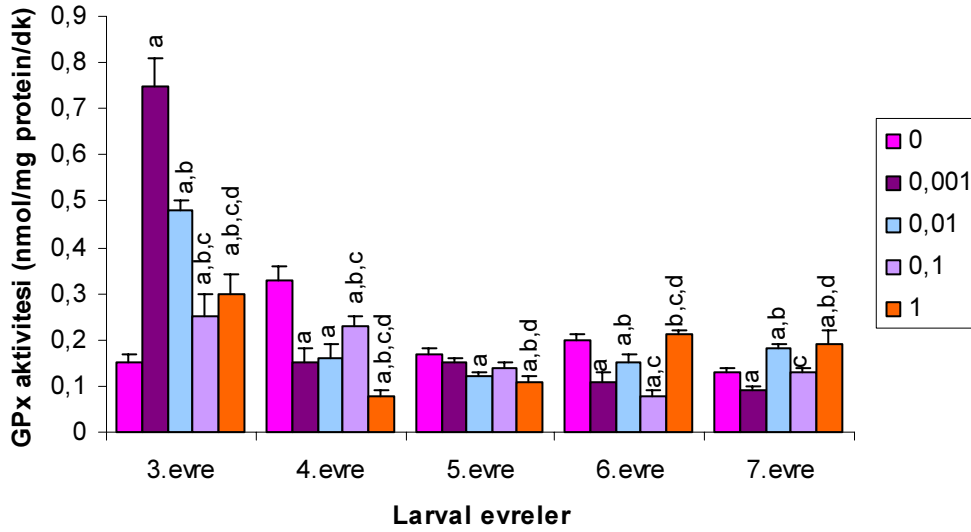
Şekil 3.18. Streptomisin'in *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında CAT aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile streptomisin'in tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Streptomisin'in 0,001 g'ı ile streptomisin'in 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Streptomisin'in 0,01 g' ile streptomisin'in 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Streptomisin'in 0,1 g' ile streptomisin'in 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Kontrol besini ile karşılaştırıldığında, besine ilave edilen tüm streptomisin miktarları 3. ve 4. evre larvalarının ortabağırsağında GST aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. Ancak, streptomisin 5. ve 6. evrede bu enzimin aktivitesini azaltmıştır. Antibiyotiğin 0,1 g'ı 4. evre larvalarında GST aktivitesini önemli derecede arttırmıştır (Şekil 3.19).



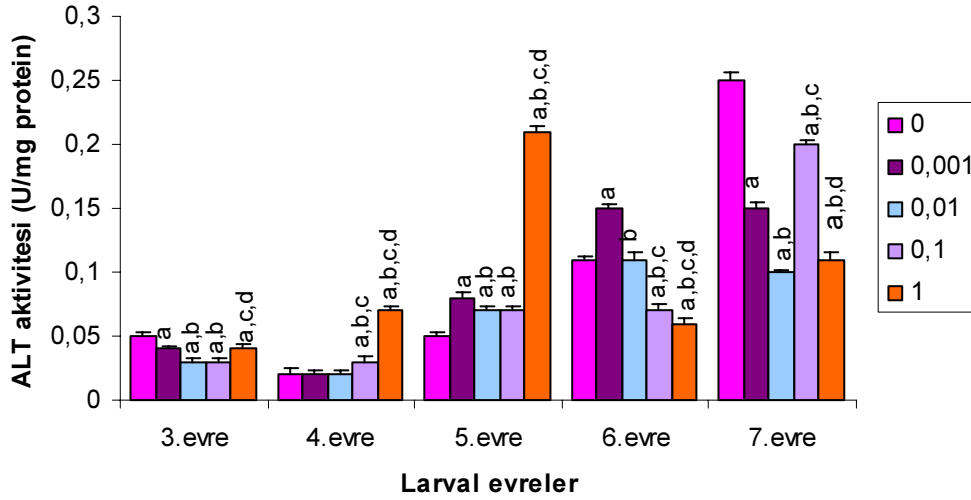
Şekil 3.19. Streptomisin'in *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında GST aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile streptomisin'in tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Streptomisin'in 0,001 g'ı ile streptomisin'in 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Streptomisin'in 0,01 g' ile streptomisin'in 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Streptomisin'in 0,1 g' ile streptomisin'in 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Streptomisin'in besindeki konsantrasyonları 3. evre larvalarının ortabağırsağında GPx aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında ($0,15 \pm 0,02$ nmol/mg protein/dk), en düşük streptomisin konsantrasyonu 3. evre larvalarında GPx aktivitesinde beş katı artışa sebep olmuştur. En yüksek antibiyotik konsantrasyonu ise 3. evrede enzim aktivitesini iki katı arttırmıştır. Böceğin 4. evre larvalarında streptomisin konsantrasyonları GPx aktivitesini önemli derecede azaltmıştır. Antibiyotiğin en düşük konsantrasyonu 7. evre larvalarının ortabağırsağında GPx aktivitesini düşürürken bu antibiyotiğin 0,01 ve 1,0 g'ı enzim aktivitesini arttırmıştır (Şekil 3.20). Antibiyotiğin düşük konsantrasyonları 6. evre larvalarının enzim aktivitesini önemli derecede azaltmıştır.



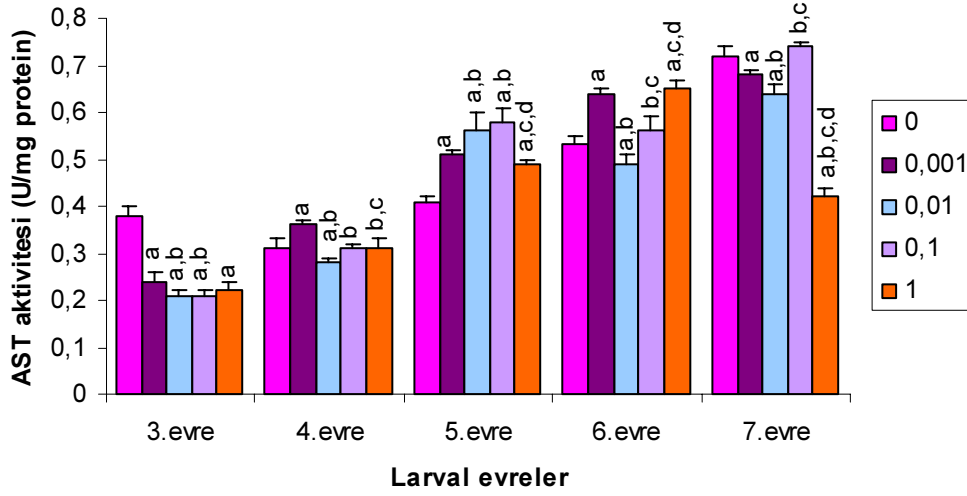
Şekil 3.20. Streptomisin'in *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında GPx aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile streptomisin'in tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Streptomisin'in 0,001 g'ı ile streptomisin'in 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Streptomisin'in 0,01 g' ile streptomisin'in 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Streptomisin'in 0,1 g' ile streptomisin'in 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Streptomisin'in tüm besinsel konsantrasyonları 3. ve 7. evre larvalarının ortabağırsağında ALT aktivitesini önemli derecede düşürmüştür. Antibiyotiğin en yüksek konsantrasyonunda 7. evre larvalarının enzim aktivitesi % 50 oranında azaltılmıştır. Buna karşılık, streptomisin konsantrasyonları 5. evre larvalarının ortabağırsağında ALT aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. Antibiyotiğin yüksek konsantrasyonları 4. evre larvalarında enzim aktivitesini arttırmıştır (Şekil 3.21).



Şekil 3.21. Streptomisin'in *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında ALT aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile streptomisin'in tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Streptomisin'in 0,001 g'ı ile streptomisin'in 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Streptomisin'in 0,01 g' ile streptomisin'in 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Streptomisin'in 0,1 g' ile streptomisin'in 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Streptomisin'in tüm denenen konsantrasyonları ile beslenen 3. evre larvalarının ortabağırsağında AST aktivitesi önemli derecede azalmıştır. Ancak, streptomisin 5. evrede enzim aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. Streptomisin'in en düşük besinsel konsantrasyonu 4. ve 6. evrelerde AST enziminin aktivitesini önemli derecede arttırmış ancak 0,01 g streptomisin bu evrelerde enzim aktivitesini azaltmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında streptomisin'in 0,001, 0,01 ve 1,0 g'ı 7. evre larvalarının enzim aktivitesini azaltmıştır. En yüksek antibiyotik konsantrasyonu bu evrede AST aktivitesini % 50 oranında azaltmıştır (Şekil 3.22).



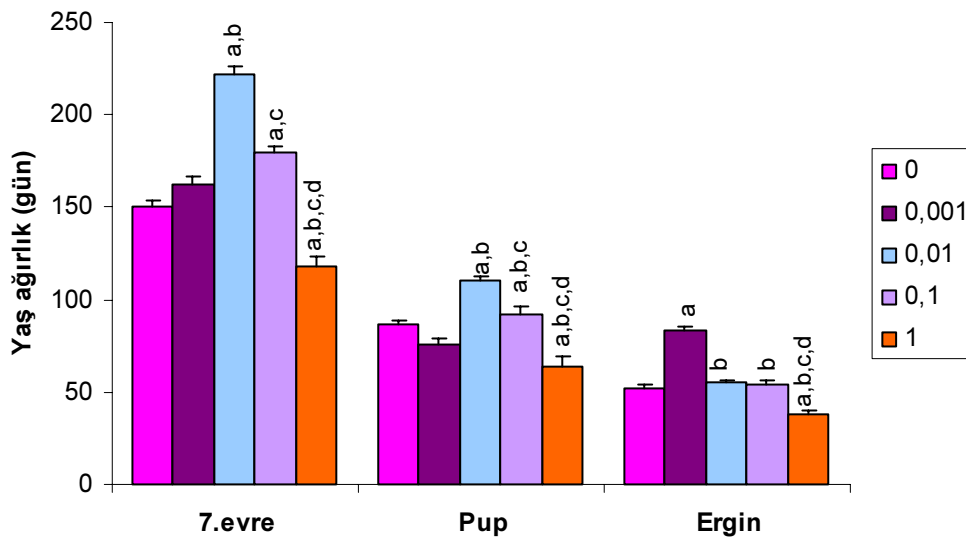
Şekil 3.22. Streptomisin'in *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında AST aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile streptomisin'in tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Streptomisin'in 0,001 g'ı ile streptomisin'in 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Streptomisin'in 0,01 g' ile streptomisin'in 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Streptomisin'in 0,1 g' ile streptomisin'in 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Streptomisin ile beslenen 7. evre larvalarının ortabağırsağındaki MDA miktarı ile GST enzimi aktivitesi arasında negatif bir ilişki ($R = 0.91$, $P < 0.05$) tespit edilmiştir. Regresyon analizinin sonuçları streptomisin'in besindeki artan konsantrasyonları ile yükselen MDA miktarının 7. evre larvalarında GST enziminin aktivitesini düşürdüğünü işaret etmektedir. Streptomisin ile yetiştirilen 7. evre larvalarında, orta bağırsak MDA miktarı ile yaşama arasında negatif ve güçlü bir ilişki ($R = 0.97$, $P < 0.05$) bulunmuştur.

3.5. Flukonazolun *G. mellonella*'nın Yaş ağırlığı, Yaşam, Gelişimi ve Toplam Protein Miktarına Etkisi

3.5.1. Yaş ağırlık

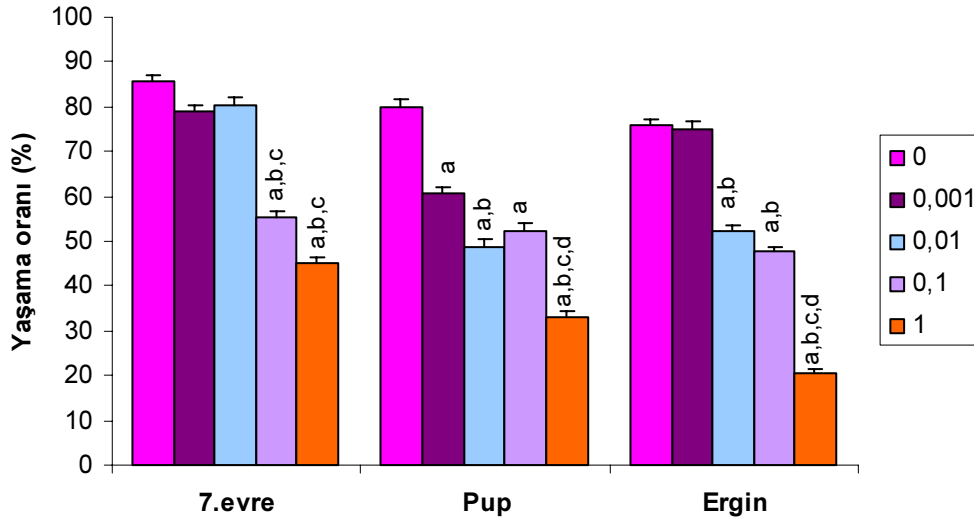
Flukonazolun en düşük konsantrasyonu, 7. evre larvaları ve pup yaş ağırlığında bir etki yapmamıştır. Ancak bu konsantrasyon ergin yaş ağırlığında önemli artışa neden olmuştur (Şekil 3.23). Flukonazolun 0,01 ve 0,1 g'ını içeren besinler ergin yaş ağırlığında önemli bir etki göstermemesine karşın larval ve pup yaş ağırlıklarını önemli derecede arttırmıştır. Flukonazolun en yüksek konsantrasyonu tüm gelişme evrelerinde yaş ağırlığı önemli derecede azaltmıştır.



Şekil 3.23. Flukonazolun *G. mellonella*'nın yaş ağırlığı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Flukonazolun tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Flukonazolun 0,001 g' ile Flukonazolun 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Flukonazolun 0,01 g' ile Flukonazolun 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Flukonazolun 0,1 g' ile Flukonazolun 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

3.5.2. Yaşama oranı

Besindeki 0,1 ve 1,0 g flukonazol konsantrasyonları 7. evre larvalarının yaşama oranını önemli derecede azaltmıştır. Flukonazolun en yüksek konsantrasyonu larval evredeki yaşama oranını % $85,5 \pm 1,6$ 'den % $45,0 \pm 1,4$ 'e azaltmıştır. Besindeki flukonazolun yüksek konsantrasyonları ($\geq 0,01$ g) ergin yaşama oranını azaltırken bu maddenin denenen tüm konsantrasyonları pupal yaşama oranını benzer şekilde azaltmıştır (Şekil 3.24). En yüksek antibiyotik konsantrasyonu kontrol (% $75,9 \pm 1,4$) besini ile karşılaştırıldığında ergin yaşama oranını % $20,5 \pm 1,0$ 'e azaltmıştır.

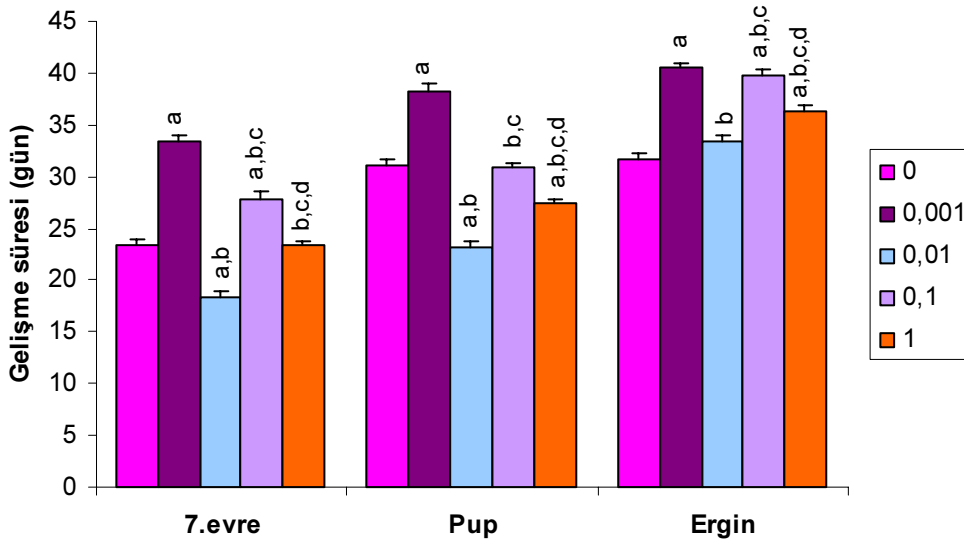


Şekil 3.24. Flukonazolun *G. mellonella*'nın yaşama oranı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Flukonazolun tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Flukonazolun 0,001 g' ile Flukonazolun 0,01, 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Flukonazolun 0,01 g' ile Flukonazolun 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması. (d) Flukonazolun 0,1 g' ile Flukonazolun 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

3.5.3. Gelişme süresi

Flukonazolun en düşük konsantrasyonu (0,001 g) 7. evre, pup ve erginlerin gelişme sürelerini önemli derecede uzatmıştır (Şekil 3.25). Besindeki yüksek konsantrasyonlar (0,1 ve 1,0 g) ergin evreye ulaşma süresinin uzamasına neden

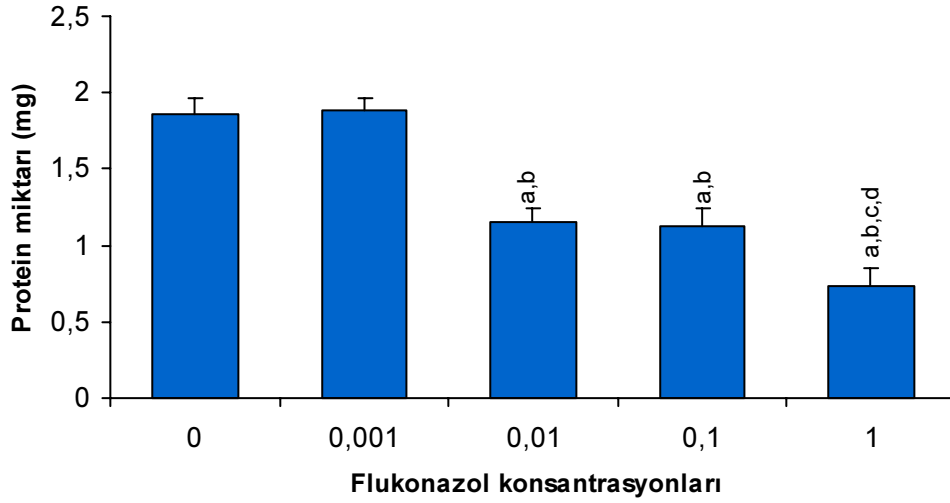
olmuştur. Flukonazolun 0,1 g'ını içeren besin kontrol besini ile karşılaştırıldığında ergin gelişme süresini yaklaşık 8 gün uzatmıştır.



Şekil 3.25. Flukonazolun *G. mellonella* larvalarının gelişimi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Flukonazolun tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Flukonazolun 0,001 g' ile Flukonazolun 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Flukonazolun 0,01 g' ile Flukonazolun 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Flukonazolun 0,1 g' ile Flukonazolun 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

3.5.4. Toplam protein miktarı

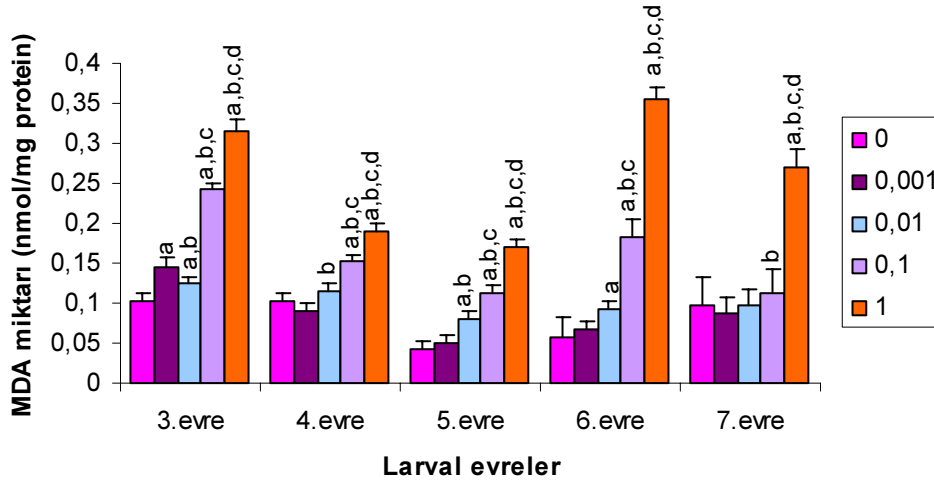
Flukonazolun en düşük konsantrasyonu ergin protein miktarında önemli bir etki yapmamıştır. Ancak antibiyotiğin yüksek konsantrasyonları ergin protein miktarını azaltmıştır (Şekil 3.26). Flukonazolun en yüksek konsantrasyonu toplam protein miktarını $1,86 \pm 0,011$ 'den $0,07 \pm 0,010$ 'a önemli derecede azaltmıştır.



Şekil 3.26. Flukonazolun *G. mellonella*'nın toplam protein miktarı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Flukonazolun tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Flukonazolun 0,001 g' ile Flukonazolun 0,01, 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Flukonazolun 0,01 g' ile Flukonazolun 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması. (d) Flukonazolun 0,1 g' ile Flukonazolun 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

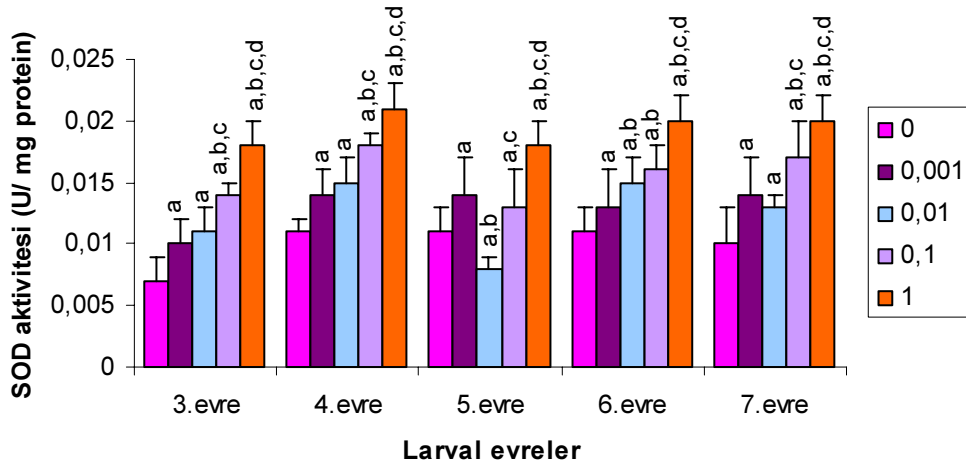
3.6. Flukonazolun Orta Bağırsak Malondialdehit (MDA) Miktarı ve Enzim Aktivitelerine Etkisi

Besindeki tüm flukonazol konsantrasyonları 3. evre larvalarının ortabağırsağında MDA miktarının önemli derecede artmasına neden olmuştur. Yüksek flukonazol konsantrasyonları 4., 5. ve 6. evre larvalarında MDA miktarını arttırmıştır. En yüksek antibiyotik konsantrasyonunda 6. evre larvalarında MDA miktarı 7 kat daha arttığı gözlenmiştir (Şekil 3.27). 7. evre larvaları flukonazolun yüksek konsantrasyonlarında önemli derecede artmıştır.



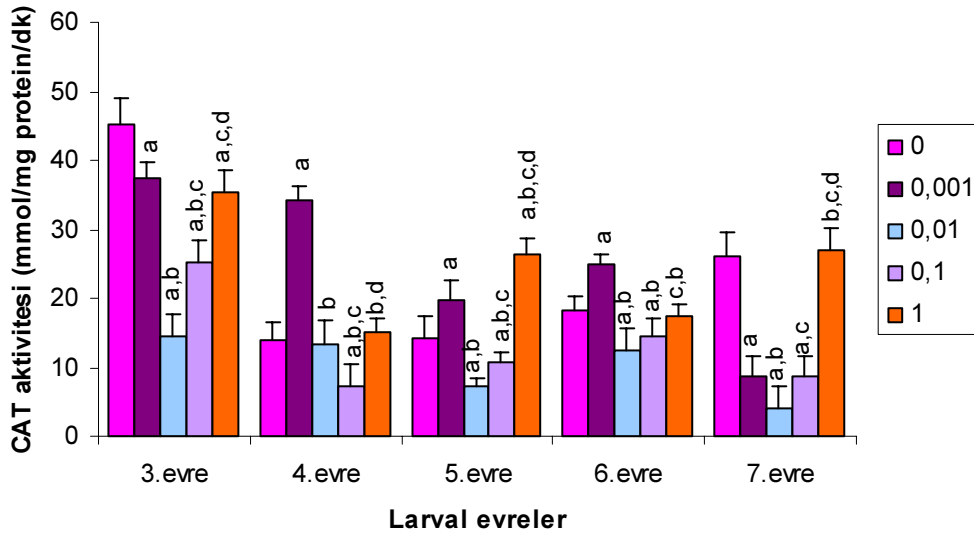
Şekil 3.27. Flukonazolun *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında MDA miktarı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Flukonazolun tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Flukonazolun 0,001 g' ile Flukonazolun 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Flukonazolun 0,01 g' ile Flukonazolun 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Flukonazolun 0,1 g' ile Flukonazolun 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Besindeki tüm flukonazol konsantrasyonları 3., 4., 5., 6., ve 7. evre larvalarının ortabağırsağındaki SOD aktivitesini arttırmıştır. SOD aktivitesindeki önemli azalma antibiyotik 0,01 g'ında 5. evre larvalarında gözlenmiştir. Fakat diğer denenen tüm antibiyotik konsantrasyonları bu evrede SOD aktivitesinin artmasına neden olmuştur (Şekil 3.28).



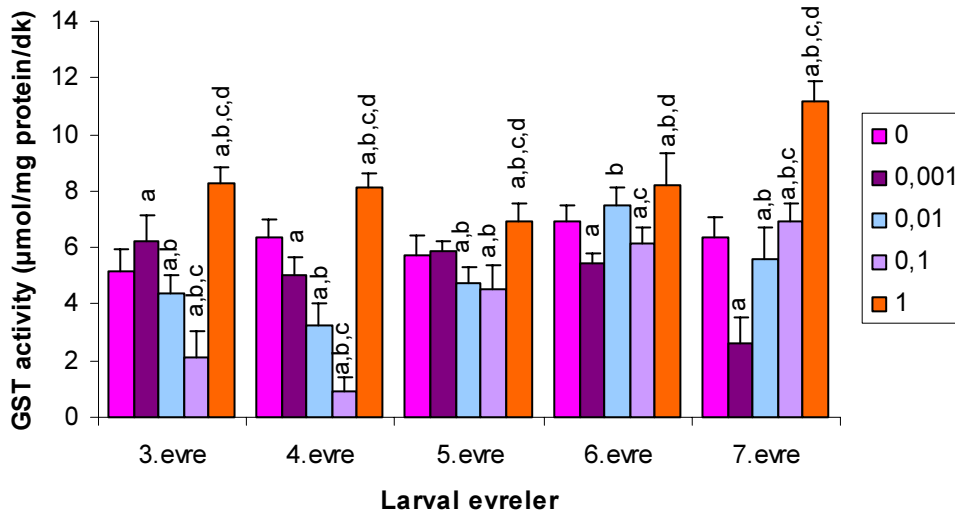
Şekil 3.28. Flukonazolun *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında SOD aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Flukonazolun tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Flukonazolun 0,001 g' ile Flukonazolun 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Flukonazolun 0,01 g' ile Flukonazolun 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Flukonazolun 0,1 g' ile Flukonazolun 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Flukonazolun denenen tüm konsantrasyonları 3. evre larvalarının ortabağırsağında CAT aktivitesini önemli derecede azaltmıştır. Besindeki en düşük flukonazol konsantrasyonu 4., 5. ve 6. evre larvalarındaki CAT aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. 0,01 ve 0,1 g antibiyotik konsantrasyonları 5. evre larvalarında enzim aktivitesini azaltırken yüksek antibiyotik konsantrasyonları bu evrede CAT aktivitesini arttırmıştır (Şekil 3.29).



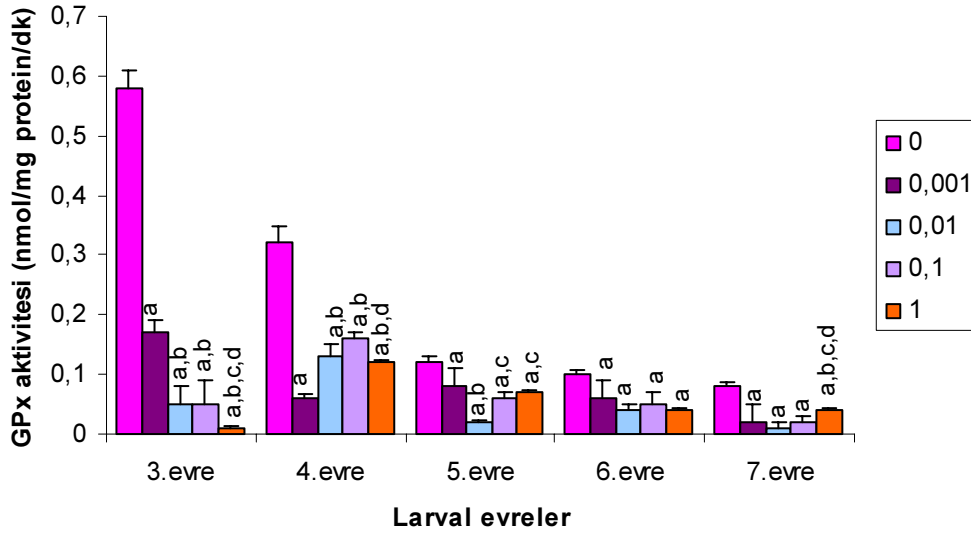
Şekil 3.29. Flukonazolun *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında CAT aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Flukonazolun tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Flukonazolun 0,001 g' ile Flukonazolun 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Flukonazolun 0,01 g' ile Flukonazolun 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Flukonazolun 0,1 g' ile Flukonazolun 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Flukonazolun düşük konsantrasyonları 3., 4., 6. ve 7. evre larvalarının orta bağırsaktaki GST aktivitesini önemli derecede azaltmıştır. 0,1 g flukonazol 3. ve 4. evre larvalarındaki GST aktivitesini çarpıcı şekilde azaltmıştır. Buna karşın antibiyotiğin en yüksek konsantrasyonu tüm larval evrelerde önemli derecede artışa neden olmuştur (Şekil 3.30).



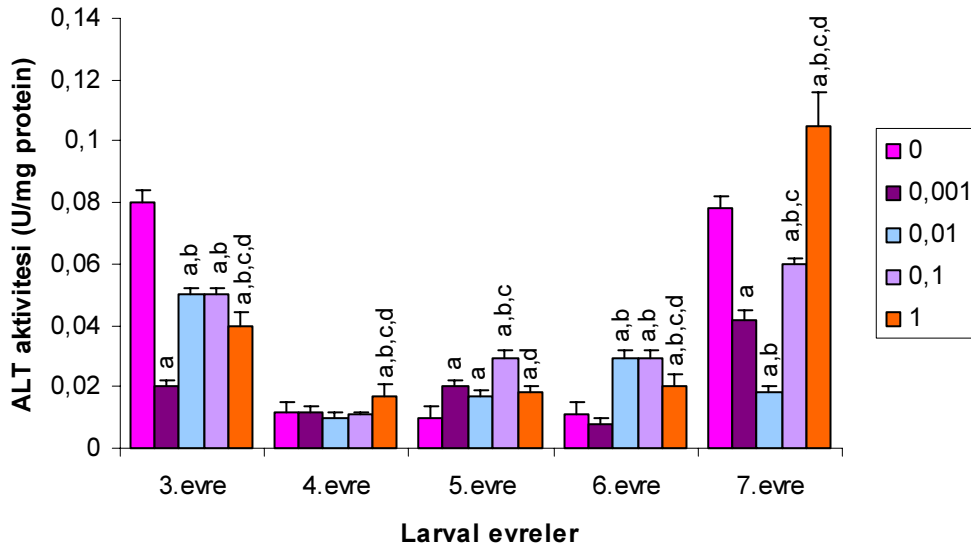
Şekil 3.30. Flukonazolun *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında GST aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Flukonazolun tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Flukonazolun 0,001 g' ile Flukonazolun 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Flukonazolun 0,01 g' ile Flukonazolun 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Flukonazolun 0,1 g' ile Flukonazolun 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Besindeki flukonazol konsantrasyonları tüm larval evrede GPx aktivitesini önemli derecede azaltmıştır. Enzim aktivitesindeki en çarpıcı azalma, antibiyotiğin en yüksek konsantrasyonu ile beslenen 3. evre larvalarında gözlenmiştir. Bu en yüksek konsantrasyon enzim aktivitesini $0,58 \pm 0,03$ 'den $0,02 \pm 0,008$ nmol/mg protein/dk'a azaltmıştır. 4. evre larvaları denenen en yüksek antibiyotik konsantrasyonunda enzim aktivitesini % 50 oranında azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 3.31).



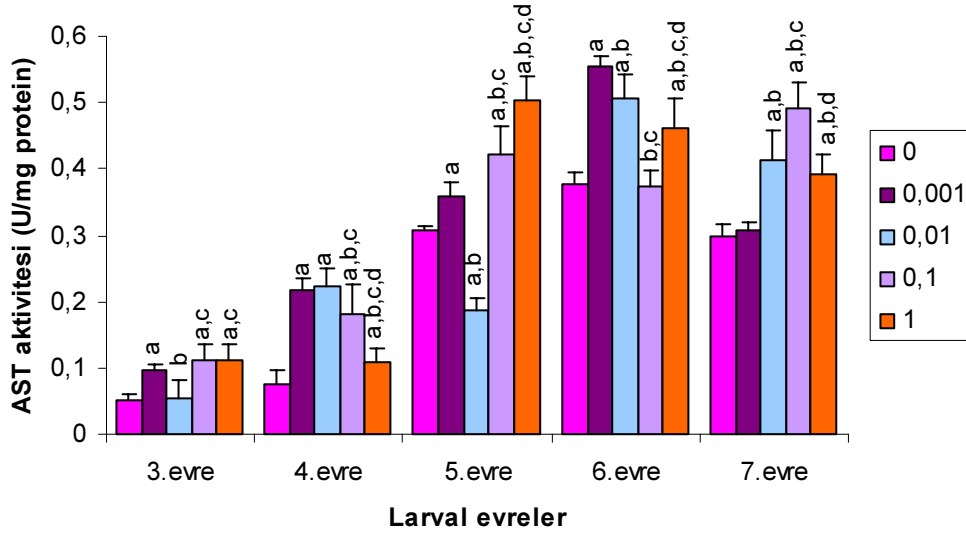
Şekil 3.31. Flukonazolun *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında GPx aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Flukonazolun tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Flukonazolun 0,001 g' ile Flukonazolun 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Flukonazolun 0,01 g' ile Flukonazolun 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Flukonazolun 0,1 g' ile Flukonazolun 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Denenen tüm flukonazol konsantrasyonları 3. evre larvalarının ortabağırsağında ALT aktivitesini önemli derecede azaltmıştır. Bu konsantrasyonlar 5. evre larvalarında enzim aktivitesinin artmasına neden olmuştur. En düşük konsantrasyon 3. evre larvalarının ortabağırsağında ALT aktivitesini % 80 oranında azaltmıştır. En yüksek konsantrasyon 4. evre larvalarında enzim aktivitesinde artışa neden olurken denenen diğer konsantrasyonlar bu evre üzerinde bir etki yapmamıştır. Besindeki yüksek antibiyotik konsantrasyonları 6. evre larvalarının ortabağırsağında ALT aktivitesinin artmasına neden olmuştur. Düşük antibiyotik konsantrasyonları ise 7. evre larvalarında ALT enziminin aktivitesini azaltırken yüksek konsantrasyonlar enzim aktivitesini artırmışlardır (Şekil 3.32).



Şekil 3.32. Flukonazolun *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında ALT aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Flukonazolun tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Flukonazolun 0,001 g' ile Flukonazolun 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Flukonazolun 0,01 g' ile Flukonazolun 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Flukonazolun 0,1 g' ile Flukonazolun 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Tüm larval evrelerdeki AST enziminin aktivitesi antibiyotik konsantrasyonuna bağlı olmayan bir artış gözlenmiştir. Besindeki 0,001, 0,1 ve 1,0 g flukonazol konsantrasyonları 3. evre larvalarının ortabağırsağındaki enzim aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. 4. evre larvalarında tüm denenen konsantrasyonlar AST aktivitesini arttırmıştır. 0,01 g antibiyotik konsantrasyonu 5. evre larvalarında enzim aktivitesini önemli derecede azaltırken yüksek konsantrasyonlar bu enzim aktivitesini arttırmıştır. Denenen yüksek konsantrasyonlar 7. evre larvalarında da artışa neden olmuştur (Şekil 3.33).



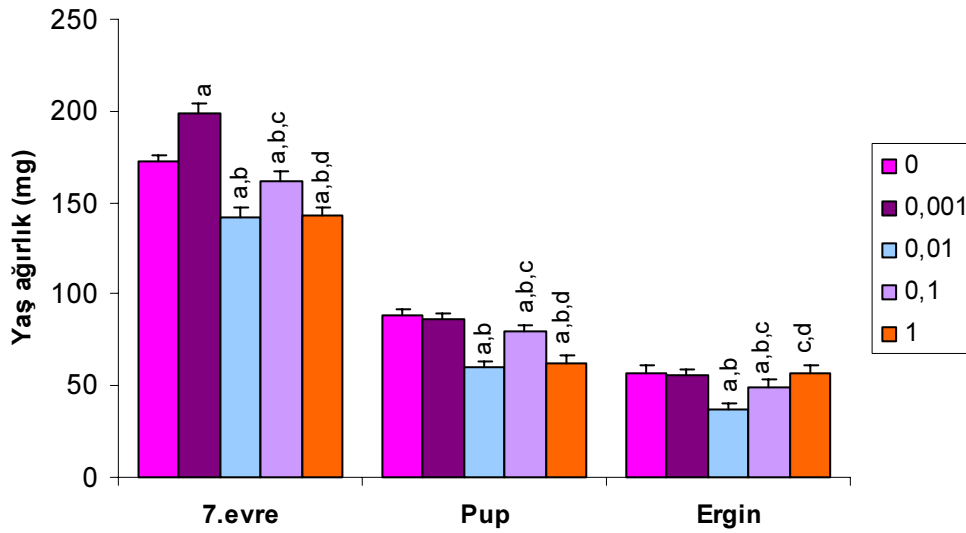
Şekil 3.33. Flukonazolun *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında AST aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Flukonazolun tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Flukonazolun 0,001 g' ile Flukonazolun 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Flukonazolun 0,01 g' ile Flukonazolun 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Flukonazolun 0,1 g' ile Flukonazolun 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Flukonazol maddesine maruz kalmış *G. mellonella*'nın 3. ($R = 0,99$, $P < 0,05$) ve 7. ($R = 0,88$, $P < 0,05$) evre larvalarında MDA miktarı ile GST aktivitesi arasında pozitif bir ilişki vardır. 7. evre larvalarında MDA miktarı ve SOD ($R = 0,98$, $P < 0,05$) aktivitesi arasında paralellik gösteren pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Yapılan analizlere göre, artan flukonazol konsantrasyonları ile artan MDA miktarına bağlı olarak 7. evre larvalarında GST aktivitesi artma eğilimindedir. En yüksek flukonazol konsantrasyonu (1,0 g) ile beslenen 7. evre larvaları MDA miktarını ($0,09 \pm 0,01$ 'den $0,27 \pm 0,02$ 'e nmol/mg protein) ve GST ($3,7 \pm 0,6$ 'den $11,20 \pm 0,74$ 'e μ mol/mg protein/min) aktivitesini artırdığını göstermiştir.

3.7. Griseofulvinin *G. mellonella*'nın Yaş ağırlığı, Yaşama Oranı, Gelişme Süresi ve Toplam Protein Miktarına Etkisi

3.7.1. Yaş ağırlık

Besindeki griseofulvinin en düşük konsantrasyonu 7. evre larvalarının yaş ağırlığını önemli derecede artırırken pup ve erginlerin yaş ağırlığını etkilememiştir (Şekil 3.34). Griseofulvinin yüksek konsantrasyonlarını içeren besinler larva, pup ve erginlerin yaş ağırlığını önemli derecede azaltmıştır. Bu antifungal maddenin en yüksek konsantrasyonu (1,0 g) ise ergin yaş ağırlığı üzerine etkili olmamıştır.

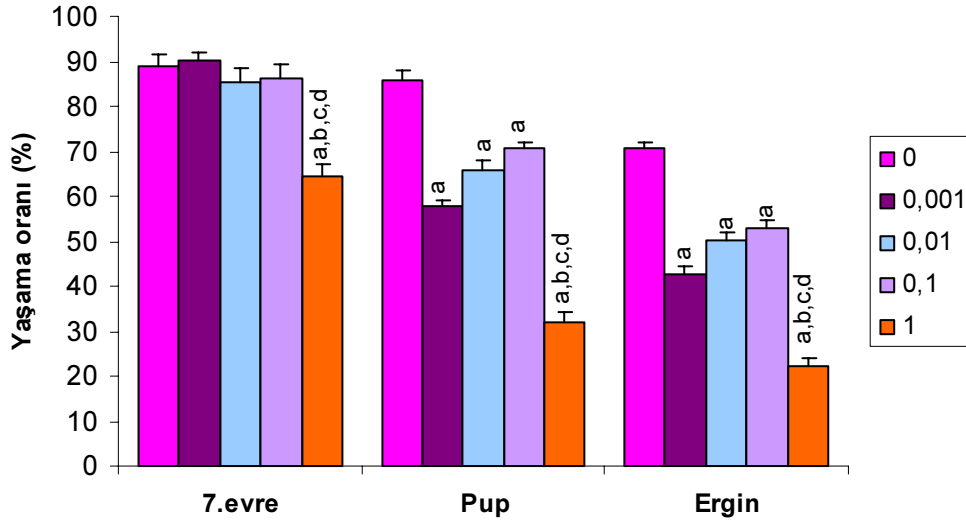


Şekil 3.34. Griseofulvinin *G. mellonella*'nın yaş ağırlığı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile griseofulvinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Griseofulvinin 0,001 g'ı ile griseofulvinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Griseofulvinin 0,01 g' ile griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Griseofulvinin 0,1 g' ile griseofulvinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 20 larva kullanılmıştır

3.7.2. Yaşama oranı

Griseofulvinin en yüksek konsantrasyonunu içeren besin 7. evre larvalarının yaşamasını önemli derecede düşürürken bu antibiyotiğin düşük konsantrasyonları bu evredeki yaşama oranı üzerinde etkili olmamıştır. Besindeki griseofulvin

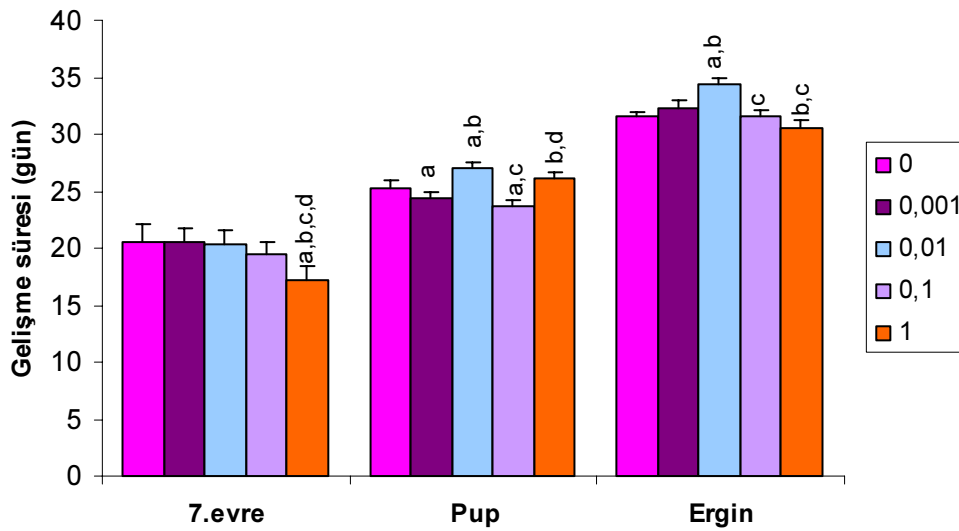
konsantrasyonları pup ve ergin olma oranını önemli derecede azaltmıştır. En yüksek antibiyotik konsantrasyonu ise ergin olma oranını % $70,6 \pm 1,5$ 'den % $22,4 \pm 1,4$ 'e düşürmüştür (Şekil 3.35).



Şekil 3.35. Griseofulvinin *G. mellonella*'nın yaşama oranı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile griseofulvinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Griseofulvinin 0,001 g'ı ile griseofulvinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Griseofulvinin 0,01 g' ile griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Griseofulvinin 0,1 g' ile griseofulvinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 20 larva kullanılmıştır

3.7.3. Gelişme süresi

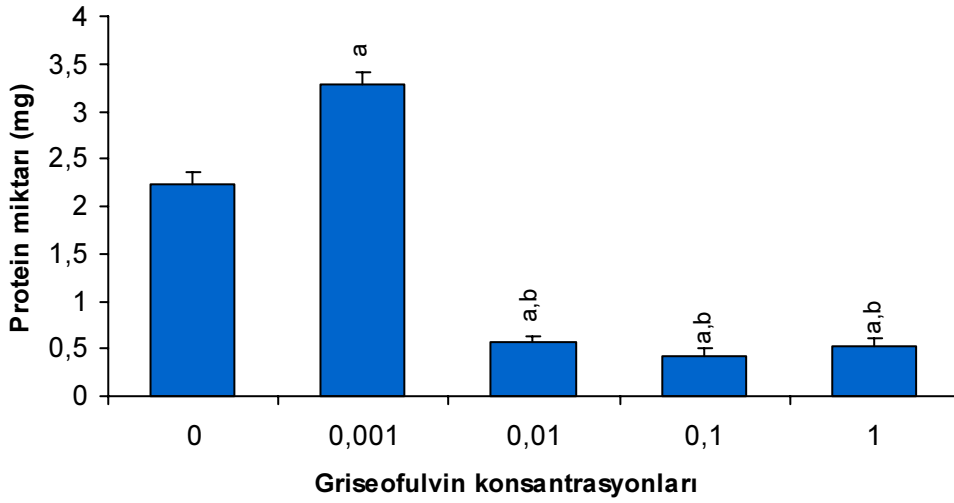
Griseofulvinin en yüksek konsantrasyonu 7. evre larvalarının gelişimini önemli derecede kısaltmıştır. Bu antifungalın düşük konsantrasyonları ise larval gelişimi etkilememiştir (Şekil 3.36). Griseofulvinin 0,01 g'ı pup ve ergin evreye ulaşma süresini önemli derecede uzatmıştır. Bu maddenin besindeki yüksek konsantrasyonları (0,1 ve 1,0 g) ergin evreye ulaşma süresi üzerinde önemli bir etki yapmamıştır.



Şekil 3.36. Griseofulvinin *G. mellonella*'nın gelişimi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile griseofulvinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Griseofulvinin 0,001 g'ı ile griseofulvinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Griseofulvinin 0,01 g' ile griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Griseofulvinin 0,1 g' ile griseofulvinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 20 larva kullanılmıştır

3.7.4. Toplam protein miktarı

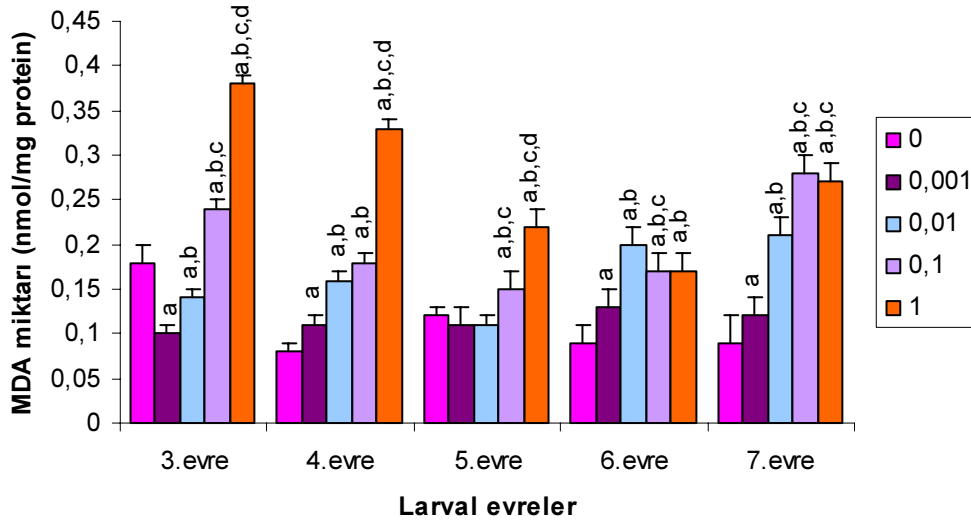
Griseofulvinin besindeki yüksek konsantrasyonları erginlerin toplam protein miktarını önemli derecede düşürdüğü halde en düşük antibiyotik konsantrasyonu protein miktarını arttırmıştır. Griseofulvinin en yüksek konsantrasyonu erginlerin protein miktarını $2,23 \pm 0,13$ 'den $0,53 \pm 0,01$ mg'a düşürmüştür (Şekil 3.37).



Şekil 3.37. Griseofulvinin *G. mellonella*'nın toplam protein miktarı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile griseofulvinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Griseofulvinin 0,001 g'ı ile griseofulvinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Griseofulvinin 0,01 g' ile griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Griseofulvinin 0,1 g' ile griseofulvinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 ergin kullanılmıştır

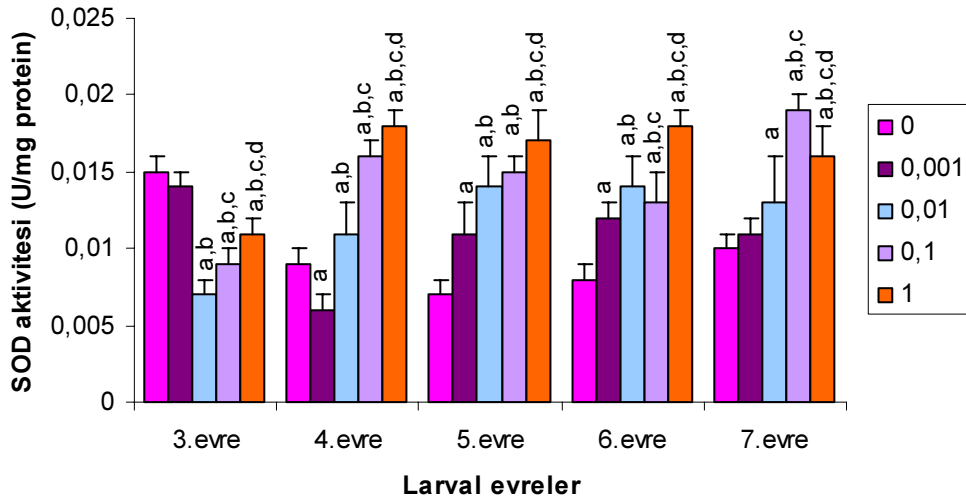
3.8. Griseofulvinin Orta Bağırsak Malondialdehit (MDA) Miktarı ve Enzim Aktivitelerine Etkisi

Besindeki griseofulvin konsantrasyonları 4., 6. ve 7. evre larvalarının ortabağırsağında MDA miktarını önemli derecede arttırmıştır. Denenen en yüksek griseofulvin konsantrasyonu 4. evre larvalarının ortabağırsağında MDA miktarını 4 kat, 6. ve 7. evre larvalarında ise 2-3 kat arttırmıştır. Griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'ları 3. ve 5. evre larvalarının MDA miktarını önemli derecede arttırmıştır. Buna karşın düşük antibiyotik konsantrasyonları 3. evre larvalarında MDA miktarını azaltmıştır (Şekil 3.38).



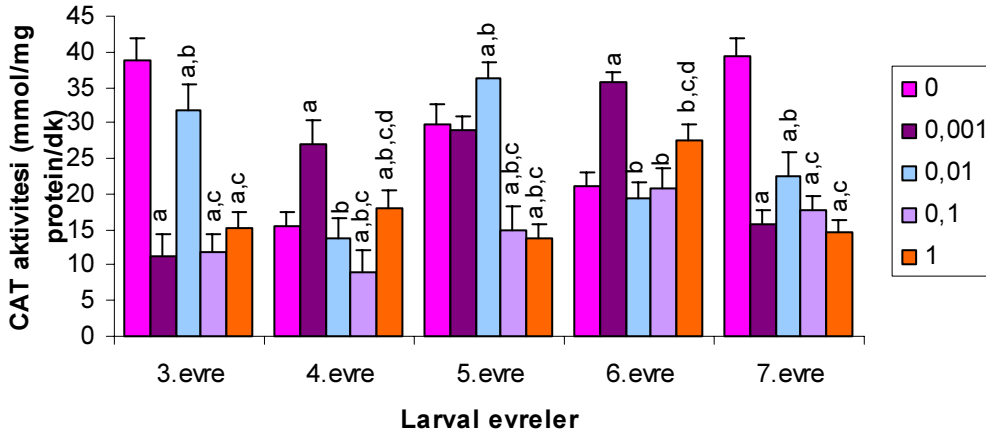
Şekil 3.38. Griseofulvinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında MDA miktarı üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Griseofulvinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Griseofulvinin 0,001 g' ile Griseofulvinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Griseofulvinin 0,01 g' ile Griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması. (d) Griseofulvinin 0,1 g' ile Griseofulvinin 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Besindeki yüksek antibiyotik konsantrasyonları 3. evre larvalarının orta bağırsak SOD aktivitesini önemli derecede azaltmıştır. Tüm antibiyotik konsantrasyonları 5. ve 6. evre larvalarında SOD aktivitesinin artmasına neden olmuştur. Enzim aktivitesindeki azalma en düşük konsantrasyonda 4. evre larvalarında da gözlenmiştir. Yüksek antibiyotik konsantrasyonları 4. ve 7. evre larvalarının orta bağırsaklarındaki SOD aktivitesi önemli derecede artmıştır. Bu larval evrelerde en yüksek antibiyotik konsantrasyonunda enzim aktivitesinin 2 kat arttığı gözlenmiştir (Şekil 3.39).



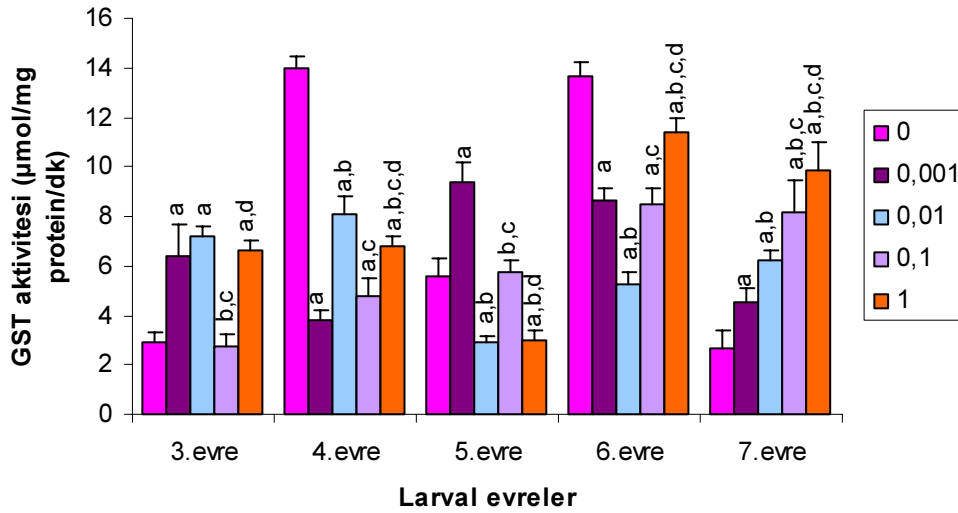
Şekil 3.39. Griseofulvinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında SOD aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Griseofulvinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Griseofulvinin 0,001 g' ile Griseofulvinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Griseofulvinin 0,01 g' ile Griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması. (d) Griseofulvinin 0,1 g' ile Griseofulvinin 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Besindeki griseofulvin konsantrasyonları ile CAT aktiviteleri arasında bir uyum gözlenmemiştir. Griseofulvinin tüm konsantrasyonları 3. ve 7. evre larvalarının ortabağırsağında CAT aktivitesini önemli derecede azaltmıştır. Bu konsantrasyonlar 7. evre larvalarında yaklaşık % 50 oranında bir azalmaya neden olmuştur. 4., 5. ve 6. evre larvalarında düşük antibiyotik konsantrasyonları CAT aktivitesini önemli derecede artırırken, besindeki yüksek konsantrasyonlar enzim aktivitesini azaltmıştır (Şekil 3.40).



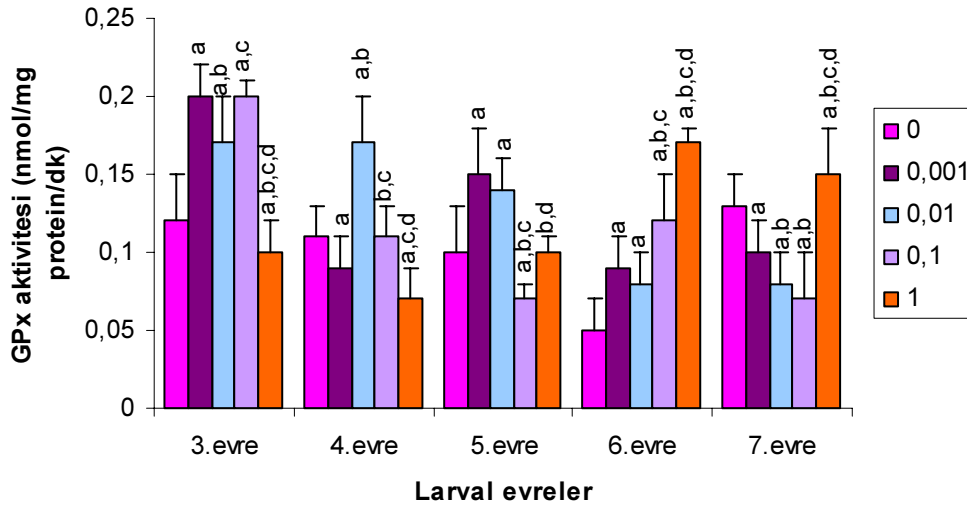
Şekil 3.40. Griseofulvinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında CAT aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Griseofulvinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Griseofulvinin 0,001 g' ile Griseofulvinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Griseofulvinin 0,01 g' ile Griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'larının karşılaştırılması. (d) Griseofulvinin 0,1 g' ile Griseofulvinin 1,0 g'nın karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Griseofulvinin 0,001, 0,01 ve 1,0 g'ları 3. evre larvalarının ortabağırsağında GST aktivitesini yaklaşık 3 kat arttırmıştır. 4. ve 6. evre larvalarında enzim aktivitesinin doza bağlı olmayan önemli derecede azalma eğilimi gözlenmiştir. En düşük antibiyotik konsantrasyonu 5. evre larvalarında enzim aktivitesinin 2 kat artmasına neden olmuştur. 7. evre larvalarında GST aktivitesi artan antibiyotik konsantrasyonuyla birlikte artış göstermiştir (Şekil 3.41).



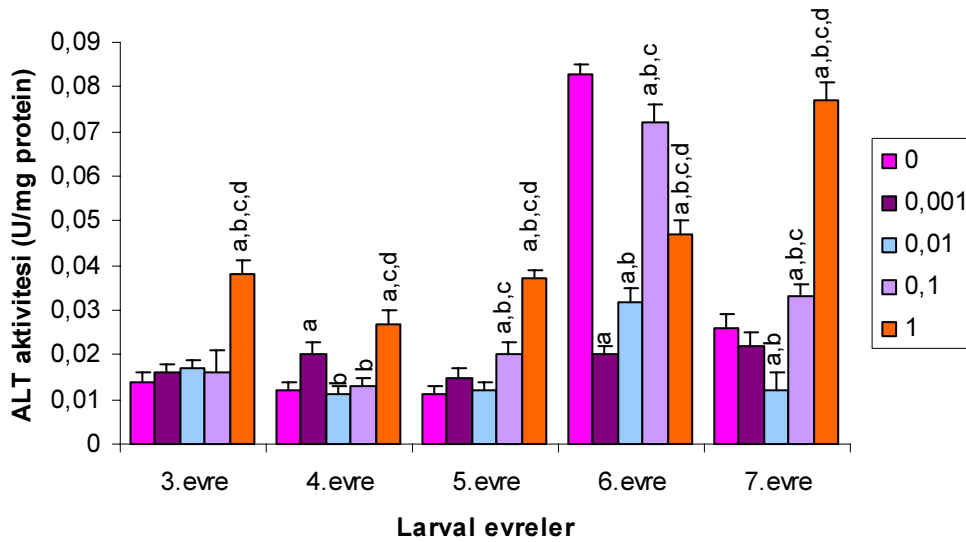
Şekil 3.41. Griseofulvinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında GST aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Griseofulvinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P<0,05$). (b) Griseofulvinin 0,001 g' ile Griseofulvinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması ($P<0,05$). (c) Griseofulvinin 0,01 g' ile Griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması. (d) Griseofulvinin 0,1 g' ile Griseofulvinin 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P<0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Griseofulvinin düşük konsantrasyonları 3. ve 5. evre larvalarının ortabağırsağında GPx aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. Antibiyotiğin 0,01 g 4. evre larvalarında enzim aktivitesini kontrol besinle karşılaştırıldığında önemli derecede artmıştır. Besindeki griseofulvin tüm konsantrasyonları 6. evre larvalarında sırasıyla GPx aktivitesini arttırmıştır. Düşük antibiyotik konsantrasyonları 7. evre larvalarında enzim aktivitesini önemli derecede azaltırken en yüksek konsantrasyon aynı larval evrede enzim aktivitesini arttırmıştır (Şekil 3.42).



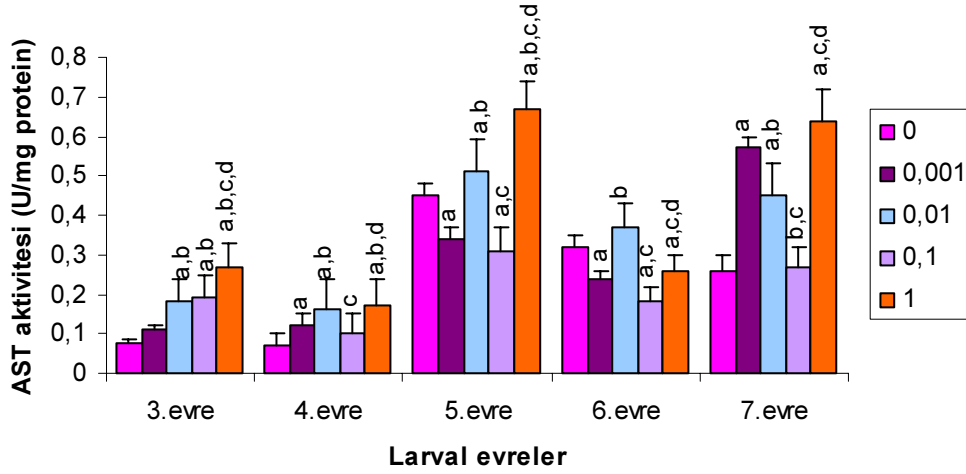
Şekil 3.42. Griseofulvinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında GPx aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Griseofulvinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Griseofulvinin 0,001 g' ile Griseofulvinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Griseofulvinin 0,01 g' ile Griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması. (d) Griseofulvinin 0,1 g' ile Griseofulvinin 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Griseofulvinin en düşük konsantrasyonu 4. evre larvalarında ALT aktivitesini arttırmıştır. Besine ilave edilen yüksek konsantrasyonlar 3., 4., 5. ve 7. evre larvalarının ortabağırsağında ALT aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. Denenen tüm konsantrasyonlar 6. evre larvalarında enzim aktivitesinin azalmasına neden olmuştur. Griseofulvinin en yüksek konsantrasyonu bu evrede ALT aktivitesini yaklaşık % 50 oranında azaltmıştır. Bu konsantrasyon 7. evre larvalarında enzim aktivitesinin 3 kat artmasına neden olmuştur (Şekil 3.43).



Şekil 3.43. Griseofulvinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında ALT aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Griseofulvinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Griseofulvinin 0,001 g' ile Griseofulvinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Griseofulvinin 0,01 g' ile Griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması. (d) Griseofulvinin 0,1 g' ile Griseofulvinin 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Besindeki yüksek konsantrasyonlar 3. evre larvalarında AST aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. 0,001, 0,01 ve 1,0 g antibiyotik konsantrasyonları 4. ve 7. evre larvalardaki enzim aktivitesini arttırmıştır. Griseofulvinin en yüksek konsantrasyonu AST aktivitesini 7. evre larvalarında 2 kat arttırmıştır. Bu konsantrasyon benzer şekilde 5. evre larvalarında da enzim aktivitesinin artmasına neden olmuştur. Bazı griseofulvin konsantrasyonları 5. ve 6. evre larvalarında AST aktivitesini önemli derecede azaltmıştır (Şekil 3.44).



Şekil 3.44. Griseofulvinin *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında AST aktivitesi üzerine etkisi. (a) Kontrol ile Griseofulvinin tüm konsantrasyonlarının karşılaştırılması ($P < 0,05$). (b) Griseofulvinin 0,001 g' ile Griseofulvinin 0,01, 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması ($P < 0,05$). (c) Griseofulvinin 0,01 g' ile Griseofulvinin 0,1 ve 1,0 g'lerinin karşılaştırılması. (d) Griseofulvinin 0,1 g' ile Griseofulvinin 1,0 g'nin karşılaştırılması ($P < 0,05$). Çubuklar dört tekrarın ($\pm$ S.E.) ortalamasını göstermektedir. Her bir tekrarda 10 orta bağırsak kullanılmıştır

Griseofulvin içeren besinlerle beslenen *G. mellonella*'nın 7. evre larvalarında GST aktivitesi ($R = 0,92$, $P < 0,05$) ve SOD aktivitesi ($R = 0,95$, $P < 0,05$) MDA miktarı ile pozitif yönde uyum göstermektedir. Yapılan analizlere göre, 7. evre larvalarında griseofulvin konsantrasyonları arttıkça MDA miktarında artmasına ve buna bağlı olarak GST ve SOD aktivitesinin artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. 7. evre larvalarında en yüksek griseofulvin konsantrasyonu MDA miktarının ($0,09 \pm 0,01$ 'den $0,25 \pm 0,02$ 'e nmol/mg protein) ve GST aktivitesinin ($2,67 \pm 0,47$ 'den $9,87 \pm 1,17$ 'e μ mol/mg protein/dk) artmasına neden olmuştur.

3.9. Antibiyotiklerin Karşılaştırmalı Etkileri

Yapılan deneyler sonucu denenen dört antibiyotiğin yaş ağırlık, yaşama oranı ve gelişme süresi üzerine etkileri aşağıdaki tabloda verilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Antibiyotiklerin *G. mellonella*'nın biyolojik parametrelerine ve toplam protein miktarına karşılaştırmalı etkileri

Antibiyotikler	Yaş Ağırlık	Yaşama Oranı	Gelişme Süresi	Toplam Protein Miktarı
Streptomisin	+	+++	+++	++
Flukonazol	++	++	++	++
Penisilin	+	++	++	++
Griseofulvin	++	+	+	+++

(+) Az Toksik, (++) Orta Dereceli Toksik, (+++) Şiddetli Toksik

Denenen dört antibiyotiğin böceğin antioksidan enzimleri, malondialdehit miktarı ve aminotransferaz enzimlerinin aktiviteleri üzerine etkileri aşağıdaki tabloda verilmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Antibiyotiklerin *G. mellonella*'nın antioksidan enzimleri, malondialdehit miktarı ve aminotransferaz enzimlerinin aktivitelerine karşılaştırmalı etkileri

	MDA	SOD	CAT	GST	GPx	ALT	AST
Flukonazol	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
Streptomisin	+++	++	+++	++	+++	+++	+++
Griseofulvin	+++	++	++	++	+	+++	++
Penisilin	+++	+	+	++	++	++	++

(+) Az Toksik, (++) Orta Dereceli Toksik, (+++) Şiddetli Toksik

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Zararlı bazı böcek türlerinin gelişimi ve üremesi için gerekli besin maddelerinin sağlanmasında önemli role sahip olan orta bağırsaktaki endosimbiyont mikroorganizmaların antibiyotikler tarafından öldürülmesi sonucu bu böcekler ile mücadeleye yönelik çalışmalar antibiyotiklerin böcekler için önemini ortaya koymuştur [Costa ve ark., 1997; Pearson ve Raybould, 1998; Miao ve ark., 2004]. Diğer taraftan antibiyotikler, böceklerin yapay besinler ile yetiştirilmesi sırasında muhtemel bakteriyel ve fungal kontaminasyonları önlemek, besin almalarını uyarmak ve büyümelerini hızlandırmak amacıyla besinlere ilave edilmektedir. Bazı çalışmalarda çeşitli amaçlar ile kullanılan antibiyotiklerin, böceğin yaşama oranı ve gelişme süresine etki etmeyen ancak kontaminasyonu önleyebilen besinsel miktarları belirlenmiş olup, böcek üzerinde olumsuz etkilere sahip olan miktarlarının ise etki mekanizması üzerinde durulmamıştır [Liles, 1958; Singh ve House, 1970; Griffiths ve Beck, 1974; Costa ve ark., 1997]. Böceklerin ortabağırsağı besinlerin parçalanması ve sindirimi sırasında meydana gelebilecek oksidatif hasara karşı oldukça hassas olduğunun bilinmesine rağmen, böceklerin sindirim dokusunda antibiyotiklere karşı biyokimyasal stres belirteci olarak oksidatif ve antioksidatif tepki mekanizmaları hakkında bilgi bulunmamaktadır [Krishnan ve Kodrik, 2006]. Bu çalışmanın sonuçları denenen besinsel antibiyotiklerin böceğin yaşama oranı ve gelişme süresi üzerindeki olumsuz etkilerinin larvaların ortabağırsağına ulaşan antibiyotikler ile doğrudan uyarılan oksidatif hasara bağlı olabileceğini desteklemektedir. Bunu kanıtlayan önemli sonuçlar elde edilmiştir. Birincisi, antibiyotiklerin farklı miktarlarını içeren besinler ile beslenen *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında lipid peroksidasyon düzeyi önemli derecede yüksek bulunmuştur. İkinci olarak, denenen antibiyotiklerin etkileri her ne kadar doza bağımlı olmasa da antioksidan enzim aktivitelerinde önemli değişimlere sebep olmuştur. Bu sonuçlar besinsel antibiyotiklerin böceğin biyolojik parametreleri üzerindeki olumsuz etkilerinin, antibiyotiklerin prooksidatif etkilerine bağlı olabileceğini göstermiştir.

Denenen antibiyotiklerin besinsel konsantrasyonlarına bağlı olarak vücutta biriktirilen antibiyotik miktarı, larval safhada besin tüketiminin düzenlenmesi veya ergin oluşumu sırasında dışkı ile antibiyotiğin okside olmuş ürünlerinin atılması ile düzenlenir. Bu şekilde böcekler çoğu zaman antibiyotiklere karşı bir tolerans gösterebilmektedir. Sikorowski ve Thompson streptomisin sülfat ilave edilen besinler ile beslenen *Heliothis virescens* (Fabricius)'in dokularında antibiyotik birikiminin gözlemlendiği ve bu antibiyotiğin büyük bir bölümünün pup evresinden ergine gelişim sırasında dışkı ile atıldığını göstermiştir [Sikorowski ve Thompson, 1985].

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar *G. mellonella* larvalarının denenen antibiyotiklere karşı oldukça hassas olduğunu göstermiştir. Bu antibiyotiklerin besindeki yüksek konsantrasyonları böceğin yaşama oranı ve gelişme süresini olumsuz yönde etkilemiştir. Bu konu ile ilgili yapılan diğer çalışmalar benzer sonuçları ortaya çıkarmış olup antibiyotiklerin yüksek konsantrasyonlarının yapay besin ortamlarının kalitesini azalttıkları ve toksisiteyi arttırdıklarını göstermiştir. Besinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin bu antibiyotikler ile değişmesine bağlı olarak çeşitli böceklerde ölüm oranı artmış, gelişme süresi ise uzamıştır [Singh ve House, 1970; Alverson ve Cohen, 2002; Ruan ve ark., 2006]. Penisilinin besindeki % 0,1 ve %1 oranındaki konsantrasyonları bezelye afidi, *Acyrtosiphon pisum* (Harris)'un ortabağırsağında simbiyont mikroorganizmaları öldürmüş olup böceğin kendisine toksik etki yapmıştır [Griffiths ve Beck, 1974]. *A. affinis* erginlerinin yaşama oranı Penisilin G'nin besindeki 1,6 g'ı tarafından % 90,7'den % 49,3'e, streptomisin sülfatın 1 g'ı tarafından % 90,7 den % 30,7'ye kadar düşürülmüştür [Singh ve House, 1970]. Bu iki antibiyotik *A. affinis* larvalarının gelişim süresini ise % 70 oranında geciktirmiştir. Bu çalışmaların sonuçları ile uyumlu olarak, % 1 oranında penisilin ve streptomisin içeren besinler ile beslenen *G. mellonella* larvalarında % 50 oranında ölüm gözlenmiş, gelişme süresi ise önemli derecede uzamıştır. Bu antibakteriyel antibiyotiklerin en yüksek miktarlarını içeren besinler ile yetiştirilen larvalar sırasıyla % 35,5 ve % 25,5 gibi düşük oranda ergin oluşturabilmişlerdir. Antifungal antibiyotikler olan flukonazol ve griseofulvinin en yüksek miktarları ile beslenen larvalardan % 20 oranında ergin elde edilmiştir. Besinle alınan bu antibiyotiklerin yaşama oranı üzerindeki olumsuz etkileri

antibiyotik alımının artması sonucu olabilir. Daha önce yapılan çalışmalar, besine öldürücü olmayan dozlarda ilave edilen antibiyotiklerin etkilerinin bu miktarların besin bileşimleri ile etkileşimlerine bağlı olarak değiştiğini ve dolayısıyla larvaların besin tüketimi oranının değişimine sebep olduklarını göstermiştir [Büyüküz, 2001]. Çok yakın zamanda yapılan bir çalışmada, antibiyotik olan norfloksasin ilave edilmiş besin ile beslenen ipek böceği *Bombyx mori* L. larvalarının besin tüketimi oranı ve sindirim hızının arttığı belirtilmiştir [Rahmatulla ve ark., 2006]. Besin tüketiminin artmasına bağlı olarak fazla miktarda antibiyotik alımı ve sindirimin hızlanması önemli derecede indirgen ve yükseltgen potansiyele sahip orta bağırsakta doku hasarına neden olabilecek ROT üretimini arttırabilir [Chamberlin ve King, 1998]. Habes ve arkadaşları orta bağırsakta oksidatif stres aracılığıyla meydana gelen doku hasarı ve antioksidan savunma mekanizmasındaki zayıflamanın, besinle alınan kimyasalların olumsuz etkilerinin artmasına neden olduğunu göstermiştir [Habes ve ark., 2006]. Benzer sonuçlar bu çalışmada çeşitli antibakteriyel ve antifungal antibiyotikler ile beslenen *G. mellonella* larvalarında da elde edilmiştir.

Bu çalışmada penisilinin öldürücü olmayan dozlarında *G. mellonella* 7. evre larvalarının gelişiminin hızlandığı, yaşama oranının ve yaş ağırlığının arttığı gözlenmiştir. Streptomisin besindeki düşük konsantrasyonlarında 7. evre larvalarının gelişim süresi beş gün erginlerinki ise 4 gün kısalmıştır. Benzer şekilde, streptomisin 0,01 g'ı *Nezara viridula* L.'nin gelişimini yaklaşık 2 gün kısaltmış, yaşama oranını artırmış ve ergin ömür uzunluğunu iki katı oranında uzatmıştır [Hirose ve ark., 2006]. Bu antibiyotiklerin böceklerin biyolojik parametrelerindeki olumlu etkileri besindeki düşük konsantrasyonlarda antioksidan bir madde gibi oksidan süpürücü özelliğe sahip olmalarından ileri gelebilir. Bu görüş antibiyotiklerin antioksidan özelliğe sahip olduklarını gösteren çalışmalar tarafından desteklenmektedir. Belirli konsantrasyonlarda ampisilin ve bazı beta laktam antibiyotikler ökaryotik hücrelerde H₂O₂'i uzaklaştırarak oldukça toksik olan hidroksil radikalının oluşumunu önlemektedir [Gunther ve ark., 1993; Carreer ve ark., 1998]. Bazı antibiyotikler ekonomik öneme sahip böceklerin ekonomik özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla büyümeyi hızlandırıcı ve besin almalarını uyarıcı olarak yapay besinlere ilave edilmektedir [Eid ve ark., 1989; Govindan ve

ark., 1990, 1993; Saha ve ark., 1995]. Bu çalışmalardan anlaşıldığı üzere diğer ökaryotik organizmalar için de geçerli olduğu gibi böceklerin toksik özelliği düşük maddelere karşı koymak amacıyla biyolojik özelliklerini iyileştirici bazı metabolik adaptasyon tepkileri verdiği bilinmektedir [Calabrese ve Baldwin, 2003; Cohen, 2006]. Biyolojik etkinlik parametreleri üzerindeki olumlu etkiler, böceğin normal homeostazisini sağlamaya ve sürdürmeye yönelik bir fizyolojik işlev olabilir. Diğer taraftan antibiyotiklerin öldürücü olmayan dozlarının *G. mellonella* larvalarının orta bağırsak dokusundaki antioksidan enzimlerini uyarması yaşam parametrelerinin iyileştirilmesine katkıda bulunabilir. Bu durum Diptera takımına ait diğer bazı türler için ileri sürüldüğü gibi ROT ve lipid peroksitlerin antioksidan enzimler tarafından ortadan kaldırılmasına bağlı olarak oksidatif moleküler hasarın azalması şeklinde açıklanabilir [Sestini ve ark., 1991]. Lepidoptera takımına ait bir tür *Spodoptera exigua* (Hübner)'da bazı organofosforlu insektisitlerin düşük konsantrasyonlarının toksisitesine karşı larval yaşama oranı ile birlikte detoksifikasyon enzimlerinin aktifliklerinin de arttığı gözlenmiştir [Adamski ve ark., 2003]. Büyükgözel, insektisitlerin düşük konsantrasyonlarında artan SOD aktivitesi ile birlikte yaşama oranının ve yumurta veriminin arttığını, ergin evredeki yaşama süresinin (ömür uzunluğu) uzadığını göstermiştir [Büyükgözel, 2006]. Glutatyona bağımlı enzimlerin aktivitelerinin artması *Drosophila melanogaster* Meigen erginlerinin oksidatif strese dirençli olmasını ve daha uzun yaşamalarını sağlamaktadır [Sohal ve ark., 1995; Sun ve ark., 2002].

Griseofulvinin yüksek konsantrasyonları ile yetiştirilen *G. mellonella* erginlerinin daha düşük vücut ağırlığına ve toplam proteine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar yaşama oranına ve gelişme süresine olumsuz etki yapan antibiyotiklere karşı koruyucu mekanizmalar için gerekli enerji sağlamak üzere depolanan enerji maddelerinin kullanıldığını işaret etmektedir. Diğer taraftan, insektisitlerin öldürücü olmayan dozlarına maruz kalan organizmalarda bu insektisitlerin toksik etkilerine karşı geliştirilen direnç ile orantılı olarak protein miktarının arttığı tespit edilmiştir [Philip ve Rajasree, 1996]. Bu sonuçlar ile uyumlu olarak griseofulvinin en düşük konsantrasyonunu içeren besin ile beslenen *G. mellonella* erginlerinin toplam protein miktarında önemli artış gözlenmiştir. Streptomisin ve flukonazolun düşük

konsantrasyonlarını içeren besinler ile yetiştirilen erginlerin toplam protein miktarında da istatistiksel bakımdan önemli olmayan bir artış bulunmuştur. İnsektisit ile maruz kalındığında, enerji üretimi için gerekli yedek besin molekülleri ve detoksifikasyon enzimlerinin oluşturulması açısından protein sentezinde kullanılabilecek serbest amino asitleri sağlamak üzere proteazlar önemli rol oynamaktadır [Ramaswamy, 1987]. Thayer ve arkadaşları penisilin ve oksitetrasiklinin *Aedes aegypti* L. de bazı amino asitlerin miktarını etkilediğini göstermiştir [Thayer ve ark., 1973]. Eid ve arkadaşları bazı antibiyotikler ile muamele edilen doğal besinlerle beslenen *P. ricini*'nin ipek proteini ve vücut ağırlığında önemli bir artış sağlarken, ipek proteinine amino asitlerin katılımını ise hızlandırdığını belirtmişlerdir [Eid ve ark., 1989]. Antibiyotiklerin ipek böceği *Bombyx mori* L., larvalarının besindeki azot kaynağını etkili bir şekilde kullanımını sağladığı ve böceğin yaş ağırlığını arttırdığını göstermiştir [Murthy ve ark., 1954; Saha ve ark., 1995].

Penisilin ve diğer denenen antibiyotiklerin böceklerde önemli bir etki mekanizması olarak protein sentezini engelleyici bir rollerinin olduğu tam olarak bilinmemektedir. Buna karşılık, besin alımına ve besin kullanımına etkisini anlamak amacıyla besine ilave edilen antibiyotiklerin bazı böceklerin toplam vücut proteini bileşimine etkilerini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır [Büyükgüzel, 2002; Büyükgüzel ve İçen, 2004]. Ayrıca, bazı besinsel katkı maddelerinin *G. mellonella* üzerindeki etkisini değerlendirebilmek için böceğin toplam doku protein miktarındaki değişimlerin önemli bir belirteç olduğuna dair güçlü kanıtlar mevcuttur [Hanley ve ark., 2003]. Toplam protein miktarındaki değişimler *G. mellonella* larvalarının besinle alınan antibiyotiklere karşı oldukça hassas olduğunu işaret etmiştir. Böceğin biyolojik parametreleri üzerindeki olumsuz etkiler orta bağırsakta antibiyotiğin yüksek oranda emilimi, bağırsağın osmotik dengesini ve pH'ını değiştirmesi sonucu ortaya çıkmış olabilir. Streptomisin alkali pH'da, penisilin ise düşük pH'da oldukça aktiftir [Katzung, 1987; Toala ve ark., 1970]. Flukonazol ve griseofulvin oral yolla alındıktan sonra yüksek bir biyoyararlanma özelliğine sahip olmalarına rağmen bağırsaktan emilimleri pH'a bağımlı değildir [Koks ve ark., 1996]. Flukonazol sterol biyosentezi sırasında lanosterolü ergosterole dönüştüren sitokrom P-450 14 α -

demetilaz enzimini inhibe eder [Lyman ve Walsh, 1992]. Bu antibiyotiklerin etki gösterebildikleri hedef organizmalarındaki etki mekanizmaları bilinmesine rağmen, böceklerdeki etkilerini hangi mekanizma ile gösterdikleri merak edilen bir konudur. Böceklerde bu antibiyotiklerin etki mekanizmalarından birisi olarak ROT'ları oluşturdukları henüz tam olarak bilinmemektedir. Bazı çalışmalar antibiyotiklerin asıl etki mekanizmalarının yanı sıra ikincil etki mekanizması olarak ROT üretimi ile bakterileri öldürdüklerini göstermiştir [Miyachi ve ark., 1986]. Bu sebeple, *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında antibiyotiklerin sindirimi sırasında ROT'ların oluşabileceği söylenebilir. Orta bağırsak MDA miktarının oldukça yüksek bulunması *G. mellonella* larvalarının besinle alınan prooksidanların sindirimi ile önemli derecede etkilenebildiğini göstermiştir.

Lipid peroksidasyonunun önemli bir belirteci olan MDA düzeyi böceğin larval gelişme evreleri ve antibiyotik konsantrasyonlarına göre değişiklik göstermiştir. Orta bağırsakta artan MDA miktarı, besin ile alınan antibiyotiğe bağlı olarak reaktif oksijen radikallerinin üretiminin artması ve buna bağlı olarak antioksidan savunma sisteminin zayıflamasından ileri gelebilir. Yüksek antibiyotik konsantrasyonlarında larvaların ortabağırsağındaki MDA miktarında artış görülmesi bu görüşü desteklemektedir. Bazı larval evrelerde orta bağırsaktaki antioksidan enzimlerin aktivitelerinin penisilin, streptomisin, flukonazolun ve griseofulvinin çeşitli konsantrasyonları tarafından düşürüldüğü tespit edilmiştir. Korelasyon analizleri çeşitli larval evrelerin orta bağırsak MDA miktarı ile SOD ve GST enzimi arasında negatif ilişki bulunduğunu göstermiştir. Benzer ilişki çeşitli çevresel kirleticiler ile maruz bırakılan böceklerde de gözlenmiş olup artan toksisiteye bağlı olarak antioksidan enzimlerin aktivitelerinde önemli düşüş olmuştur [Cervera ve ark., 2003]. Diğer taraftan antibiyotiklerin bazı konsantrasyonları MDA miktarında bir artışa sebep olurken, orta bağırsaktaki antioksidan enzimlerin aktivitelerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Artan MDA miktarına karşılık antioksidan enzimlerde bir değişiklik olmayışı oluşan ROT'ları süpürmek için antioksidan enzimlerin hücredeki bazal aktivitelerinin yeterli olduğunu işaret etmektedir. Diğer taraftan bu durumu böceklerin ortabağırsağının düşük moleküler ağırlığında antioksidan maddeler içermesi ve peritrofik zarla çevrilmesi sonucu kendilerini dokuya özgü antioksidatif

savunma mekanizmalarıyla koruması ile açıklamak mümkündür [Barbehenn ve Stannard, 2004]. Böceğin ortabağırsağında antioksidan enzim aktivitelerinin yükselmesi, artan oksidatif strese karşı adaptasyonu sağlamak için metabolizmanın hızlandığını işaret edebilir. Bu görüşü desteklemek için *G. mellonella*'da detaylı çalışmalara gereksinim duyulmasına rağmen çeşitli çevresel kirleticilere maruz kalan diğer bazı böceklerde metabolizmanın hızlandığı, oksijen tüketiminin artması ile anlaşılmıştır [Ahmad, 1995; Pardini, 1995].

G. mellonella larvalarının ortabağırsağındaki SOD ve CAT aktiviteleri denen en antibiyotiklerin bazı konsantrasyonları tarafından artırılmıştır. Pritsos ve arkadaşları süperoksit oluşumunu katalizleyen çeşitli maddeler ile maruz bırakılan Lepidoptera takımına ait bazı böceklerde SOD ve CAT enzimlerinin önemli derecede yükseldiğini göstermiştir [Pritsos ve ark., 1990]. Felton ve Summers tarafından da ileri sürüldüğü gibi antibiyotikler ile beslenen larvaların SOD ve CAT enzimlerinin aktiviteleri arasında ters bir ilişki ortaya çıkmıştır [Felton ve Summers, 1995]. Örneğin, penisilin ile beslenen 7. evre *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında SOD aktivitesi artarken CAT aktivitesi düşmüştür. Bu sonuçlar CAT aktivitesindeki azalmanın larvaların ortabağırsağındaki fazla miktarda biriken antibiyotiğin sindirimi sırasında yüksek oranda oluşan süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil ($\cdot OH$) radikallerinden kaynaklanabileceğini göstermektedir.

Antibiyotikle beslenen larvaların ortabağırsağında artan MDA miktarı ile orantılı olarak yükselen GST aktifliği, antibiyotikler tarafından uyarılan oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı bu enzimin koruyucu role sahip olabileceğini gösterir. GST enzimi, substratı olan indirgenmiş glutatyon (GSH) aracılığıyla reaktif oksijen türlerinin ve lipid peroksitlerin detoksifikasyonu ile oksidatif hasarın ortadan kaldırılmasında önemli role sahiptir [Singh ve ark., 2001]. Larvaların ortabağırsağında GST aktifliğinin azalması ile birlikte MDA miktarında artış gözlenmesi, yüksek antibiyotik toksisitesi sırasında GSH miktarının yetersiz kalmasından ileri gelebilir. GST izoformları böceklerde insektisit dirençliliğini sağlayan detoksifikasyon enzimlerinin önemli grubudur [Yu ve ark., 2004]. Şiddetli insektisit toksisitesine maruz kalan böceklerde GST aktivitesinin önemli derecede

yüksek olduğu bulunmuştur [Punzo, 1993; Vontas ve ark., 2001]. Bu çalışmalarda bulunan sonuçlar en yüksek antibiyotik konsantrasyonları ile beslenen *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında tespit edilen yüksek GST aktiviteleri ile uygunluk göstermektedir. Sonuç olarak GST aktivitesinin, antibiyotikler tarafından uyarılan oksidatif stres ile ilişkili olarak arttığı gözlenmiştir.

G. mellonella larvalarının ortabağırsağında GPx aktifliğinin artması, antibiyotik toksisitesine ve serbest radikal üretiminin kaçınılmaz bir sonucu olan lipid peroksidasyonu seviyesinin yükselmesine karşı böceğin metabolik bir adaptasyon göstermesinin sonucu olabilir. Diğer taraftan, antibiyotiklerin yüksek konsantrasyonları tarafından GPx aktivitesinin önemli derecede düşürülmesi, aşırı serbest radikal üretimi yüzünden enzim inaktivasyonuna dayandırılabilir. GPx enzimi, lipid hidroperoksitler ve hidrojen peroksitleri glutatyon aracılığıyla indirgeyerek zararlı etkilerini ortadan kaldırmaktadır. GPx enzimi, indirgenme yükseltgenme reaksiyonları ve çeşitli hücresel işlevler ile ilişkili olabilen farklı kaynaklı oksidatif stresler aracılığıyla yapısı bozularak işlevini yitirebilmektedir [Miyamoto ve ark., 2003]. Bazı antibiyotik konsantrasyonları tarafından orta bağırsak GST aktivitesi düşürülürken GPx aktivitesinin yükselmesi antibiyotik stresi sırasında diğer GST izoformlarının da rol oynayabileceğine işaret etmektedir. Krishnan ve Sehna Lepidoptera takımına ait bir türün ortabağırsağında GST enziminin GPx benzeri bir aktifliğinin (GST-GPx) önemli derecede yükseldiğini göstermiştir [Krishnan ve Sehna, 2006].

SOD, CAT ve GPx enzimleri ROT'lara karşı savunmada birlikte önemli rol oynayan bir antioksidan enzim grubudur [Bandhopadhyay ve ark., 1999]. Diğer ökaryotik hücrelerde olduğu gibi orta bağırsak hücrelerinde antibiyotiklerin oksidasyonu sırasında süperoksit radikalleri oluşturulabilir [Vijayalakshmy ve ark., 1992; Abdrashitosa ve Ramanov, 2001]. Bazı oksijenaz enzimleri tarafından antibiyotiklerin oksidatif olarak aktiveleştirilmesi sırasında süperoksitlerin aşırı üretimi antioksidan enzimleri inaktifleştirebilir [Kono ve Fridovich, 1982]. Böylece antioksidan enzimlerin oksidatif inaktivasyonu sonucu orta bağırsak dokusundaki biyomoleküllerde oksidatif olarak hasar oluşabilir. Krishnan ve Kodrik sindirilen

allelokimyasallara bağı olarak artan oksidatif stres ile *Spodoptera littoralis* (Boisduval) larvalarının orta bağırsak dokusundaki biyomoleküllerin önemli derecede hasara uğradığını tespit etmiştir [Krishnan ve Kodrik, 2006]. Oluşan serbest radikallerin *G. mellonella* için temel yağ asitleri olan linoleik ve linolenik asit ile etkileşimleri böceğin gelişimine olumsuz etki yapabilecek derecede lipid hidroperoksitleri oluşturabilir [Dadd, 1985; Stanley-Samuelson ve ark., 1987]. Yüksek SOD ve GPx aktiflikleri orta bağırsaktaki lipid hidroperoksitleri ve diğer ROT'ları uzaklaştırabilir. Hücresel antioksidan savunma sistemi artan lipid peroksitleri ve ROT'ları uzaklaştıramayacak şekilde zayıfladığında hücresel hasar ortaya çıkmaktadır. Yani artan lipid peroksidasyon düzeyine bağı olarak sitozolik bileşenlerin dağılması ve sonuçta hücre ölümüne sebep olacak düzeyde hücre zarı lipidlerinde bozulma görülebilir.

Bu çalışma ayrıca diğer önemli bir sonucu ortaya çıkarmıştır. Antibiyotiklerin özellikle flukonazol ve griseofulvinin yüksek konsantrasyonları ile beslenen larvaların ortabağırsağında lipid peroksidasyonu ile birlikte transaminaz enzimleri ALT ve AST aktivitelerinde de önemli artış olmuştur. Bu sonuçlar antibiyotiklerin serbest radikaller üzerinden lipid peroksidasyonunu başlatarak böceğin orta bağırsak dokusunda şiddetli metabolik bozukluklara ve nekrotik hücre ölümüne neden olabileceğini göstermektedir. Antibiyotiklerin ökaryotik organizmalarda hücre ölümüne yol açtığı ve etkinin antibiyotik konsantrasyonuna bağı olarak arttığı bilinmektedir [Kumakura ve ark., 2004]. ALT ve AST böceklerin orta bağırsak ve diğer bir çok organında bulunur [Parenti ve ark., 1985]. Bu enzimler memelilerde olduğu gibi Lepidoptera takımına ait böceklerin dokularında da enerji kaynağı moleküller arasında geçiş sağlamak için amino asitlerden α -keto asitlere amino grubunu transfer ederler [Halarikar ve Schooley, 1995]. Antibiyotikler ile beslenen *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında ALT ve AST aktifliklerinin artması amino asit metabolizmasının bozulmasına bağı olarak metabolik aktivitenin hızlandığının bir göstergesi olabilir. Antibiyotikler ve diğer insektisitler tarafından bu dokularda meydana getirilen oksidatif hasarın ALT ve AST aktivitelerini artırdığı ortaya çıkarılmıştır [Eid ve ark., 1989; İçen ve ark., 2005]. Ortabağırsağa özgü antioksidan enzimlerin bazal seviyeleri orta bağırsak epitelinin, çeşitli oksidanlar

tarafından uyarılan hücre hasarından koruyabilir [Lee ve Berenbaum, 1989; Barbehenn, 2002]. Buna rağmen, antibiyotiklerden kaynaklanan oksidatif stresin fazlası hücre ölümüne yol açabilecek derecede orta bağırsak dokusundaki biyomoleküllere oksidatif olarak hasar verebilir. *G. mellonella* larvalarının ortabağırsağında antioksidan enzimler ve transaminazların aktivitelerindeki değişimin antibiyotiklerin besindeki artan konsantrasyonları ile ilişkili olarak ortaya çıkmadığı tespit edilmiştir. Antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki bu düzensiz değişim antibiyotiklerin farklı konsantrasyonları ile uyarılan oksidatif stresin farklı oranlarda algılanması sonucu olabilir. Bazı DNA sentezi inhibitörleri ile yapılan daha önceki çalışmalar, antibiyotiklerin besindeki farklı konsantrasyonlarının böcekler üzerindeki düzensiz etkilerinin bu miktarların besin bileşenleri ile etkileşimine bağlı olduğunu göstermiştir [Büyükgüzel, 2001; Büyükgüzel ve İçen, 2004]. Lepidoptera takımına ait bazı türlerin yapay besinine ilave edilen katkı maddelerinin konsantrasyonları ile çeşitli detoksifikasyon enzimlerinin aktiviteleri arasında doğrusal bir ilişki bulunamamıştır [Hemming ve Lindroth, 2000].

Antibakteriyel antibiyotikler penisilin ve streptomisin ile beslenen *G. mellonella* 7. evre larvalarının MDA miktarı ile yaşama oranı arasında negatif bir ilişki bulunmuştur. Ayrıca penisilin ile beslenen larvaların yaşama oranı ile GST enzimi arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Flukonazol ve griseofulvin ile beslenen larvaların MDA miktarı ile yaşama oranı arasında negatif ancak istatistiksel olarak önemli olmayan bir ilişki, flukonazol ile beslenen larvaların yaşama oranı ile GST enzimi arasında ise önemli olmayan pozitif ilişki tespit edilmiştir. Antibiyotikler tarafından orta bağırsakta antioksidan enzimlerin aktivitelerinin düşürülmesi sonucu üretimi artan ROT'ların antibiyotiklerin böceğin yaşama oranı ve gelişme süresi üzerindeki olumsuz etkilerinde önemli rolleri bulunabilir. Ayrıca griseofulvin içeren besinler ile beslenen larvaların ortabağırsağındaki ALT aktivitesi ile yaşam ve gelişim arasında negatif bir ilişki bulunmuştur. Bu çalışmadan elde edilen veriler antibiyotiklerin düşük konsantrasyonlarında yaşama oranı ve gelişme süresi üzerinde ortaya çıkan olumlu etkilerin böceğin enzimatik antioksidan kapasitesinin artırılması sonucu oksidatif stresin azalmasından ileri gelebileceğini göstermiştir. Larvaların orta bağırsak dokusunda antioksidan enzimlerin aktifliklerinin artması sonucu

antibakteriyel antibiyotiklerin sebep olduğu serbest radikallerin zarar verecekleri biyomoleküllerden daha çok antioksidan enzimler ile karşılaşmaları sonucu, verdikleri zarar en az düzeyde olur. ALT ve AST aktivitelerinde önemli değişimler olmasına rağmen flukonazol ve griseofulvinin böcek üzerindeki etkilerinde de bir dereceye kadar oksidatif stres etkili olabilir. Antioksidan enzimlerin yüksek orandaki oksidatif stres altında serbest radikallerin saldırısına oldukça hassas olduğu bilinmektedir [Kono ve Fridovich, 1982; Pigeolet ve ark., 1990; Miyamoto ve ark., 2003]. Fazla miktardaki ROT tarafından orta bağırsakta antioksidan enzimlerin ve transaminaz enzimlerin inaktif duruma getirilmesi ile hücre hasarı oluşturulabilir.

Lipid, karbohidrat ve protein böceklerin fizyolojik işlevleri için kullanılmak üzere gerekli enerji kaynağını sağlayan ve yağ dokuda depolanan başlıca biyomoleküllerdir [van der Horst ve ark., 1987]. Penisilin, streptomisin ve flukonazol antibiyotiklerinin yüksek miktarlarını içeren besinler yaş ağırlığı arttırmış ancak *G. mellonella* erginlerinin toplam protein miktarını düşürmüştür. Bu sonuçlar böceklerin yoğun antibiyotik toksisitesi altında enerji ihtiyacını karşılamak üzere kimyasal bileşimini değiştirerek vücut büyüklüğünü ayarlaması şeklinde bir adaptasyon gösterdiklerini işaret etmektedir. Diğer böcek türleri ile yapılan çalışmalardan bu görüşleri destekleyen önemli sonuçlar elde edilmiştir. Park ve Keeley bazı insektisitlerin hamam böceği türü, *Blaberus discoidalis* (Serville)'te enerji depo maddelerinin azalmasına sebep olarak ölüm oranını arttırdığını göstermiştir [Park ve Keeley, 1998]. *Sitophilus zeamais* Mots. ile yapılan bir çalışmada bu böceğin insektisitlere dirençli olanlarının, hassas olanlara göre daha fazla proteine sahip olduğu belirlenmiştir [Guedes ve ark., 2006]. Diğer taraftan, insektisitlerin toksik özelliklerinin ortadan kaldırılması ile toplam vücut proteini arasında anlamlı bir ilişki bulunduğunu vurgulayan çalışmalar mevcuttur [Nath ve ark. 1997; Ahmed ve ark., 2002]. Bu araştırmacılar şiddetli insektisit toksitesi altındaki böceklerde temel bir fizyolojik olay olarak proteaz aktifliğinin enerji ihtiyacını karşılamak amacıyla arttığını göstermişlerdir. Fragoso ve arkadaşları bir böceğin gelişmesi ve üremesi bakımından en iyi performansta olması enerji için gerekli biyomoleküllerin daha etkili depolanmasına bağlı olarak daha fazla bir vücut ağırlığına sahip olması ile mümkün olacağını belirtmiştir [Fragoso ve ark., 2005].

Bu çalışmanın sonuçları denenen antibiyotiklerin *G. mellonella* larvalarının sindirim kanalının önemli bir bölümü olan orta bağırsakta oksidatif strese sebep olarak böceğin hem larval hem de larva evresi sonrasındaki yaşama oranını ve gelişme süresini olumsuz yönde etkilediğini ortaya çıkarmıştır. Elde edilen sonuçlar aynı zamanda antibiyotiklerin böceğin tüm gelişim evrelerindeki yaşama oranı, gelişme süresi ve yaş ağırlığı yanında ergin bireylerin toplam vücut proteini miktarı üzerinde de etkili olduğunu göstermiştir. Böylece zararlı böcekler ile mücadelede seçilecek kimyasal maddenin böceğin sindirim sistemine etki edecek şekilde seçilmesi oldukça önemlidir. Bu çalışma böceklerin ortabağırsağında sindirimden sorumlu enzimler kadar sindirim sırasında meydana gelebilecek reaktif ürünlerin zararlarını ortadan kaldıracak olan antioksidan savunma sistemi enzimlerinin aktiflikleri önlenerek de kimyasal mücadele yapılabileceğini göstermektedir [Baker ve ark., 1984; Broadway, 1997]. Son zamanlarda dünyadaki çalışmalar kimyasal mücadelede yeni bir hedef mekanizma arama yönünde odaklanmış olup beslenme ve sindirim fizyolojisinin bu amaçla kullanılan kimyasal insektisitlerin etki edebileceği güçlü bir hedef olabileceği kararına varılmıştır [Oppert ve Johnson, 2004]. Antibiyotiklerin kendilerine özgü etki mekanizmaları ile belirli konsantrasyonlarda insan ve yüksek organizasyonlu hayvanların bazı bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarının tedavisinde konak organizmaya zarar vermeden kullanıldığı bilinmektedir. Geleneksel sentetik insektisitler ile karşılaştırıldığında, bu çalışmada kullanılan antibakteriyel ve antifungal antibiyotikler penisilin, streptomisin, flukonazol ve griseofulvin tüm canlılar için genel olan hedef bir mekanizmayı etkileme yerine böceklerin sindirim kanalında oksidatif stres oluşturarak seçici bir etki mekanizması ile zararlı böceklerin kimyasal mücadelesinde hedef olmayan canlılara karşı daha güvenilir olarak kullanılabilir. Bu konuda farklı antibiyotikler ve daha geniş bir zararlı böcek grubuyla detaylı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

Abdrashitosa N.F., Ramanov Y.A., “Effects of antibiotics on reactive oxygen species generation by neutrophils”, *Bulletin Experiment. Biol. Med.*, 132: 1163-1165 (2001).

Adamski, Z., Ziemnicki, K., Fila, K., Žikić, R., Štajn, A., “Effects of long-term exposure to fenitrothion on *Spodoptera exigua* and *Tenebrio molitor* larval development and antioxidant enzyme activity”, *Biology Letters.*, 40: 43-52 (2003).

Aebi, H., “Catalase in vitro”, *Method Enzymol.*, 105: 121-126 (1984).

Ahmad, S., Beilsen M.A., Pardini R.S., “Glutathione peroxidase activity in insects: A reassessment”, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 12: 31-49 (1989).

Ahmad, S., Pardini R.S., “Mechanisms for regulating oxygen toxicity in phytophagous insects”, *Free Radic. Biol. Med.*, 8: 401-413 (1990).

Ahmad, S., Pritsos C.A., Pardini R.S., “Antioxidant enzyme activities in subcellular fractions of larvae of the black swallowtail butterfly, *Papilio polyxenes*”, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 15: 101-109 (1990).

Ahmad, S., Duval D.L., Weinhold L.C., Pardini R.S., “Cabbage looper antioxidant enzymes: Tissue Specificity”, *Insect Biochem.*, 21: 563-572 (1991).

Ahmad, S., “Biochemical defence of pro-oxidant plant allelochemicals by herbivorous insects”, *Biochem. Ecology Syst.*, 20: 269-296 (1992).

Ahmad, S., “Oxidative stress from environmental pollutants”, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 29: 135-157 (1995).

Ahmed, S., Wilkins, R., Mantle, D., “Comparative effect of various insecticides on intracellular proteases in an insecticide-resistant and susceptible strains of *Musca domestica* L”, *J. Biol. Sci.*, 2: 183-185 (2002).

Alverson, J., Cohen, A.C., “Effect of antifungal agents on biological fitness of *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae)”, *J. Econ. Entomol.*, 95: 256-260 (2002).

Aucoin, R.R., Philogene, B.J.R., Arnason, J.T., “Antioxidant enzymes as biochemical defenses against phytotoxin-induced oxidative stress in three species of herbivorous lepidoptera”, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 16: 139-152 (2005).

Azmi, M.A., Ahmad, I., Nagvi, S.N.H., Akhtar, K., “Level of lactate dehydrogenase (LDH) in resistant and susceptible strains of culicine mosquitoes of the Karachi Region after treatment with DDT, Malathion and cyfluthrin”, *Tr. J. Zool.*, 24: 483-488 (2002).

Baker, J.E., Woo, S.M., Mullen, M.A., "Distribution of proteinases and carbohydrates in the midgut of the larvae of the sweet potato weevil *Cyrtolabus formicarius* and response of proteinase to inhibitors from sweet potato", *Entomol. Exp. Appl.*, 36: 97-105 (1984).

Bandhopadhyay, U., Das, D., Banerjee, K.R., "Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis", *Curr. Sci. India.*, 77: 658-665 (1999).

Barbehenn, R., Stannard, J., "Antioxidant defense of the midgut epithelium by the peritrophic envelope in caterpillars", *J. Insect Physiol.*, 50: 783-790 (2004).

Barbehenn, R.V., "Gut-Based antioxidant enzymes in a polyphagous and a Graminivorous grasshopper", *J. Chem. Ecol.*, 28: 1329-1347 (2002).

Broadway, R.M., "Dietary regulation of serine proteinases that are resistant to serine proteinase inhibitors", *Insect Biochem. Molec.*, 43: 855-874 (1997).

Bronskill, J., "A Cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae)", *J. Lep. Soc.*, 15: 102-104 (1961).

Büyükgüzel, K., "Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp: Effect on adult emergence, longevity, fecundity, oxidative and antioxidative response of the *Pimpla turionellae*", *J. Econ. Entomol.*, 99: 1225-1234 (2006).

Büyükgüzel, K., "Positive effects of some gyrase inhibitors on survival and development of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvae reared on an artificial diet", *J. Econ. Entomol.*, 94: 21-26 (2001).

Büyükgüzel, K., İçen, E., "Effects of gyrase inhibitors on the total protein content of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvae reared on an artificial diet", *J. Entomol. Sci.*, 39: 108-116 (2004).

Büyükgüzel, K., Yazgan, Ş., "Effects of antimicrobial agents on survival and development of larvae of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) reared on an artificial diet", *Turk. J. Zool.*, 26: 111-119 (2002).

Büyükgüzel, K., "Effects of some antimicrobial agents on the total protein content of the endoparasitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)", *Turk. J. Zool.*, 26: 101-109 (2002)

Byers, J.A., Wood, D.L., "Antibiotic-induced inhibition of pheromone synthesis in a bark beetle", *Science*, 231: 763-764 (1981).

Calabrese, E.J., Baldwin, L.A., "Hormesis: the dose-response revolution." *Annual review of pharmacological Toxicology*, 43: 175-197 (2003).

Carreer, R., Deby-Dupont, G., Deby, C., Jadoul, L., Mathy, M., “Oxidant-scavenging activities of beta-lactam agents”, *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 17: 43-46 (1998).

Cervera, A., Maymó, A.C., Martínoz-Pardo, R., Garcerá, M.D., “Antioxidant enzymes in *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae) exposed to cadmium”. *Environ. Entomol.*, 32: 705-710 (2003).

Chamberlain, W.F., Schol, P.J., “New procedures to enhance survival of third instar *Hypoderma lineatum* (Villers) (Diptera: Oestridae) in artificial media”, *J. Med. Entomol.*, 82: 266-269 (1991).

Chamberlin, M.E., King, M.E., “Changes in midgut active ion transport and metabolism during the fifth instar of the tobacco hornworm (*Manduca sexta*)”, *J. Experimen. zool.*, 280: 135-141 (1998).

Charriere, J.D., Imdorf, A., “Protection of honeycombs from moth damage”. Communication. *Swiss Bee Research Center Federal Dairy Research Station*,. Nr. 24: 1-14 (1997).

Cheeseman, K.H., “Lipid Peroxidation in Biological System”, In B. Halliwell and O. K. Aruoma [eds.],. Ellis Horwood, *DNA and Free Radicals*, London, United Kindom., 201-211 (1993).

Clavaron-Mathews, M., Summers, C.B., Felton, G.W., “Ascorbate peroxidase: A novel antioxidant enzyme in insects”, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 34: 57-68 (1997).

Cohen, E., “Pesticide-mediated homeostatic modulation in Arthropods”, *Pestic. Biochem. Phys.*, 85: 21-27 (2006).

Costa, H.S., Thomas, J.H., Nick, C.T., “Effects of antibacterial materials on *Bemisia argentifolii* (Homoptera:Aleyrodidae) oviposition, growth, survival, and sex ratio”, *J. Econ. Entomol.*, 90: 333-339 (1997).

Dadd, R.H., “Nutrition: Organisms” In: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology (Ed. by Kerkut, G.A. and Gilbert, L.I.). *Pergamon Press*, Oxford, 4: 313-390 (1985).

Dubovskiy, I.M., Olifirenko, O.A., Glupov, V.V., “Activity of antioxidants in the gut of larvae *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera, Pyralidae) infected by bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. *Galleriae*”, *J. Evol. Biochem. Physiol.*, 41: 18-22 (2005).

Eid, M.A.A., El-Nakkadi, A., Saleh, M.A., “Functional adaptation of silk glands after administration of antibiotic to larvae *Philosamia ricini* (Boisd)”, *Insect Sci. Its Appl.*, 10: 139-143 (1989).

Felton, G.W., Summers, C.B., “Antioxidant Systems in Insects”, *Arch. Insect Biochem Physiol.*, 29: 187–197 (1995).

Fragoso, D.B., Guedes, R.N.C., Peternelli, L.A., “Developmental rates and population growth of insecticide-resistant and susceptible populations of *Sitophilus zeamais*”, *J. Stored Prod. Res.*, 41: 271–281 (2005).

Frankel, S., “Enzymes”, In: Reitman, S. and Sonnenwirth, A. C. [Eds.] Gradwohl's, 7th Ed. V.I. The C. V. Mosby company, *Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*, Saint Louis, USA., 104-142 (1970).

Fytizas, P.E., Tzanakakis, M.E., “Some effects of streptomycin, when added to the adult food, on the adults of *Dacus oleae* (Diptera: Tephritidae) and their progeny”, *Ann. Ent. Soc. Am.*, 59: 269-273 (1966).

Glupov, V.V., Slepneva, I.A., Serebrova, V.V., Khvoshevskaya, M.F., Martem'yanov, V.V., Dubovskiy, I.M., “Influence of the fungal infection on the production of reactive metabolites and antioxidant state in hemolymph of *Galleria mellonella* larvae”, *Russian Entomological Journal*, 12: 103-108 (2003).

Glupov, V.V., Khvoshevskaya, M.F., Lozinskaya, Ya.L., Dubovski, I.M., Martem'yanov, V.V., Sokolova, Ju.Ya., “Application of the method NBT-Reduction for studies on the production of reactive oxygen species in insect haemocytes”, *Cytobios.*, 106: 165-178 (2001).

Govindan, R., Magadum, S.B., Krishna, B.G. Magadum, V.B., Devaiah M.C., Narayanaswamy, T.K., “Effect of fortification of streptomycin and procaine penicillin on economic traits of eri silkworm”, *Curr. Res.*, 19: 196-197 (1990).

Govindan, R., Magadum, S.B., Krishna, B.G., Magadum V.B., Narayanaswamy, T.K., “Effect of antibiotics chloramphenicol and oxytetracycline on economic traits of eri silkworm [*Samia cynthia ricini*]”, *Curr. Res.*, University of Agricultural Sciences, Bangalore., 22: 11-12 (1993).

Graf, E., Benz, G., “Toxicity of streptomycin and terramycin, and influence on growth and developmental time of *Drosophila melanogaster*”, *Experientia.*, 26: 1339-1341 (1970).

Grenier, S., Liu, W.H., “Antifungals: Mold control and safe levels in artificial Media for *Trichogramma* [Hymenoptera:Trichogrammatidae]”, *Entomophaga.*, 35: 283-291 (1990).

Griffiths, G.W., Beck, S.D., “Effects of antibiotics on intracellular symbiotes in the Pea Aphid, *Acyrtosiphon pisum*”, *Cell Tissue Res.*, 148: 287-300 (1974).

Guedes, R.N.C., Oliveira, E.E., Guedes, N.M.P., Ribeiro, B., Serrão, J.E., “Cost and Mitigation of Insecticide Resistance in the Maize Weevil, *Sitophilus zeamais*”, *Physiol. Entomol.*, 31: 30-38 (2006).

Gull, K., Trinci, A.P.J., “Griseofulvin inhibits fungal mitosis”, *Nature*, 244: 292-294 (1973).

Gunther, M.R., Mao, J., Cohen, M.S., “Oxidant-scavenging activities of ampicillin and sulbactam and their effects on neutrophil functions”, *Antimicrob Agents Chemother.*, 37: 950–956 (1993).

Habes, D., Morakchi, S., Aribi, N., Farine, J.-P., Soltani, N., “Boric acid toxicity to the German Cockroach, *Blattella germanica*: Alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione S- transferase activity”, *Pestic. Biochem. Phys.*, 84: 17-24 (2006).

Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., “Glutathione-S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation”, *J. Biol. Chem.*, 249: 7130-7139 (1974).

Hahn, D.A., Wheeler, D.E., “Presence of a single abundant storage hexamerin in larvae and adults of the Grasshopper, *Schistocerca americana*”, *J. Insect Physiol.*, 49: 1189-1197 (2003).

Halarnkar, P.P., Schooley, D.A., “Comparative catabolism study of isoleucine by insect and mammalian tissues”, *Comp. Biochem. Physiol. B*, 110: 357-65 (1995).

Hanley, A.V., Huang, Z.Y., Pett, W.L., “Effects of dietary transgenic Bt corn pollen on larvae of *Apis mellifera* and *Galleria mellonella*”, *J. Apicult. Res.*, 42: 77-81 (2003).

Harak, M., Lamprecht, I., Kuusik, A., Hiiesaar, K., Metspalu, L. Tartes, U., “Calorimetric investigations of insect metabolism and development under the influence of a toxic plant extract”, *Thermochimica Acta*, 333: 39–48 (1999).

Hemming, J.D.C., Lindroth, R., “Effects of phenolic glycosides and protein on Gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) and Forest tent caterpillar (Lepidoptera: Lasiocampidae) performance and detoxication activities”, *Environ. Entomol.*, 2: 1108-1115 (2000).

Hirose, E., Panizzi, A.R., Cattelan, A.J., “Potential use of antibiotic to improve performance of laboratory-reared *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae)”, *Neotropical Entomology*, 35: 279-281 (2006).

Holmes, E.A.; Keeley, L.L., “Metabolic inhibitors: Effects on metamorphosis and flight muscle mitochondrial development in the moth, *Heliothis virescens*”, *Insect Biochem.*, 5: 349-355 (1975).

Inglis, G.D., Cohen, A.C., “Influence of antimicrobial agents on the spoilage of a meat-based entomophage diet”, *J. Econ. Entomol.*, 97: 235-250 (2004).

Ivie, G.W., Bull, D.L., Beier, R.C., Pryor, N.W., Oertli, E.H., “Metabolic detoxification: Mechanism of insect resistance to plant psoralens”, *Science*, 221: 347-351 (1983).

İçen E., “Effects of antiviral agent, acyclovir on growth, survival and development of greater wax moth *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)”, Yüksek Lisans tezi, *Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Zonguldak, 40-54 (2003).

İçen, E., Armutçu, F., Büyükgüzel, K., Gürel A., “Biochemical stress indicators of greater wax moth *Galleria mellonella* L. exposure to organophosphorus insecticides”, *J. Econ. Entomol.*, 98: 358-366 (2005).

Jain, S.K., Levine, S.N., “Elevated lipid peroxidation and vitamin E-quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats”, *Free Radic. Biol. Med.*, 18: 337-341 (1995).

Jarosz, J., “Yeastlike fungi from greater wax moth larvae (*Galleria mellonella*) fed antibiotics”, *J. Invertebr. Pathol.*, 34: 257-262 (1979).

Jarosz, J., “Use of oxytetracycline–nystatin combination in obtaining germ-free larvae of *Galleria mellonella* for gnotobiotic studies”, *Cytobios.*, 32: 107-120 (1981).

Jarosz, J., “Simplified technique for preparing germ-free specimens of greater wax moth (Lepidoptera: Pyralidae) larvae”, *J. Econ. Entomol.*, 82: 1478-1481 (1989).

Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., “Antimicrobial chemotherapy”. In: Review of Medical Microbiology. 16th edition. *Lange Medical Publications*, Losaltos, CA. 122-151 (1984).

Katzung, B.G., “Basic and Clinical Pharmacology”, Third Edition. *Appleton and Lange. Norwalk*, CT. 637-654 (1987).

Keeley, L.L., Olson, J.K., “Toxic effects of mitochondrial DNA inhibitors on insect growth and development”, *J. Insect Physiol.*, 23: 303-307 (1977).

Koks, C.H.W., Meenhorst, P.L., Hillebrand, M.J.X., Bult, A., Beijnen, J.H., “Pharmacokinetics of fluconazole in saliva and plasma after administration of an oral suspension and capsules”, *Antimicrob. Agents Ch.*, 40: 1935–1937 (1996).

Kono, Y., Fridovich, I., “Superoxide radical inhibits catalase”, *J. Biol. Chem.*, 257: 5751–5764 (1982).

Krishnan, N., Kodrik, D., “Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): Are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress”, **J. Insect Physiol.**, 52: 11–20 (2006).

Krishnan, N., Kodrik, D., Turanli, F., Sehnal, F., “Stage specific distribution of oxidative radicals and antioxidant enzymes in the midgut of *Leptinotarsa decemlineata*”, **J. Insect Physiol.**, 53: 67-74 (2007).

Krishnan, N., Sehnal, F., “Compartmentalization of oxidative stress and antioxidant defense in the larval gut of *Spodoptera littoralis*”, **Arch. Insect Biochem. Physiol.**, 63: 1-10 (2006).

Kumakura, I. K., Uchida, S., Tsutsui, M., “Effects of eight antibacterial agents on cell survival and expression of epithelial-cell- or cell adhesion-related genes in human gingival epithelial cells”, **J. Periodont. Res.**, 39: 50-58 (2004).

Lee, K., Berenbaum, M.R., “Action of antioxidant enzymes and cytochrome P-450 monooxygenases in the *Cabbage looper* in response to plant phototoxins”, **Archs Insect Biochem. Physiol.**, 10: 151-162 (1989).

Liles, J.N., “Some effects of dietary penicillin on the german cockroach, *Blattella germanica* (L.) (Orthoptera: Blattidae)”, **Ohio J. Sci.**, 58: 84-96 (1958).

Lowry, O.H., Rosebrough, N.L., Farr, A.L., Randall, R.J., “Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent”, **J. Biol. Chem.**, 19: 265 (1951).

Lozinskaya, Y.L., Slepneva, I.A., Khramtsov, V.V., Glupov, V.V., “Changes of the antioxidant status and system of generation of free radicals in hemolymph of *Galleria mellonella* larvae at microsporidiosis”, **J. Evol. Biochem. Physiol.**, 40: 119-125 (2004).

Lyman, C.A., Walsh, T.J., “Systemically administered antifungal agents: A Review of their clinical pharmacology and therapeutic applications”, **Drugs.**, 44: 9-35 (1992).

Marklund S, Marklund, G., “Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase”, **Eur. J. Biochem.**, 47: 469-474 (1974).

Miao, X., Huang, Y., Zhu, X., Ding, D., “A comparative study on development and reproduction of the parasitoid *Lysiphlebus japonicus* (Hymenoptera: Aphididae) in symbiotic and aposymbiotic host aphids”, **Appl. Entomol. Zool.**, 39: 243-248 (2004).

Mittler, T. E., “Some effects on the aphid *Myzus persicae* of ingesting antibiotics incorporated into artificial diets (Hom. Aphididae)”, **J. Insect Physiol.**, 17: 1333-1347 (1971).

Miyachi, Y., Yoshioka, A., Imamura, S., Niwa, Y., “Effects of antibiotics on generation of reactive oxygen species”, **J. Invest. Dermatol.**, 9: 449-453 (1986).

Miyamoto, Y., Koh, Y.H., Park, Y.S., Fujiwara, N., Sakiyama, H., Misonou, Y., Ookawara, T., Suzuki, K., Honke, K., Taniguchi, N., “Oxidative stress caused by inactivation of glutathione peroxidase and adaptive responses”, **Biol. Chem.**, 384: 567-574 (2003).

Murty, M.R.V., Shankaranarayana, D. Sreenivasaya, M., “Role of chloromycetin in the nutrition of the silkworm *Bombyx mori* Linn”, **J. Sci. Industr. Res.**, 13: 331-335 (1954).

Nath, B.S., Suresh, A., Varma, B.M., Kumar, R.P.S., “Changes in protein metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) in response to organophosphorus insecticides toxicity”, **Ecotoxicol. Environ. Safety.**, 6: 169–173 (1997).

Oppert, B., Johnson, K., “Insect digestion: Potential applications in insect management”, **Arch. Insect Biochem.**, 55: 4-5 (2004).

Orr, G.L., Downer, R.G.H., “Effect of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) on carbohydrate and lipid reserves in the American cockroach, *Periplaneta americana* L.”, **Pesticide Biochem. Physiol.**, 17: 89–102 (1982).

Ouye, M.T., “Effects of antimicrobial agents on microorganisms and pink bollworm development”, **J. Econ. Entomol.**, 55: 854-857 (1962).

Paglia, D.E., Valentine, W.N., Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathion peroxidase. **J. Lab. Med.**, 70: 158-165. (1987).

Pardini, R.S., “Toxicity of Oxygen from Naturally Occuring Redox-active Prooxidants”, **Arch. Insect Biochem. Physiol.**, 29: 101-118 (1995).

Parenti, P., Giordana, B., Sacchi, V.F., Hanozet, G.M., Gueritore, A., “Metabolic activity related to the potassium pump in the midgut of *Bombyx mori* larvae”, **J. Exp. Biol.**, 116: 69-78 (1985).

Park, J.H., Keeley, L.L., “The Effect of biogenic amines and their analogs on carbohydrate metabolism in the fat body of the cockroach *Blaberus discoidalis*”, **General and Comp. Endocrinology.**, 110: 88–95 (1998).

Pearson, B., Raybould, A.F., “The Effects of antibiotics on the development of larvae and the possible role of bacterial load in caste determination and diapause in *Myrmica rubra* (Hymenoptera: Formicidae)”, **Sociobiology.**, 31: 77-90 (1998).

Peric-Mataruga, V., Blagojevic, D., Spasic, M.B., Ivanovic, J., Jankovic-Hladni, M., “Effect of the host plant on the antioxidative defence in the midgut of *Lymantria*

dispar L. caterpillars of different population origins”, **J. Insect Physiol.**, 43: 101-106 (1997).

Philip, G., Rajasree, B., “Action of cypermethrin on tissue transaminations during nitrogen metabolisms in *Cyprinus carpio*”, **Ecotoxicol. Environ. Safety.**, 34: 174-180 (1996).

Pigeolet, E., Corbisier P., Houbion A., Lambert, D., Michiels C., Raes, M., Zachary, M. D., Remacle, J., “Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals”, **Mech. Ageing Dev.**, 51: 283-297 (1990).

Pritsos, A.C., Ahmad, S., Elliott, J.A., Pardini, S.R., “Antioxidant enzyme level response to prooxidant allelochemicals in larvae of the southern armyworm moth, *Spodoptera eridania*”, **Free Radical Res. Commun.**, 9: 127–133 (1990).

Punzo, F., “Detoxification enzymes and the effects of temperature on the toxicity of pyrethroids to the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)”, **Comp. Biochem. Physiol. C**, 105: 155–158 (1993).

Rahmatulla, V.K., Nayak, P., Vindya, G.S. Himantharaj, M.T., Rajan, R.K., “Influence of antibiotic on feed conversion efficiency of mulberry silkworm (*Bombyx mori* L.)”, **Anim. Biol.**, 56: 13-22 (2006).

Ramaswamy, M., “Effects of sevin on blood free amino acid levels of the fish *Sarotherodon mossambicus*”, **Environ. Ecol.**, 5: 633-637 (1987).

Reitman, S., S. Frankel., “A Colometric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases”, **Am. J. Clin. Pathol.**, 28: 56-63 (1957).

Robyt, J.F., White, B.J., “Qualitative and quantitative methods for determining biological molecules”, In biochemical techniques: theory and practice illinois, **Waveland pres, Inc.**, 213-243 (1990).

Ruan, Y.-M., Xu, J., Liu, S.-S., “Effects of antibiotics on fitness of the B biotype and a non-B biotype of the whitefly *Bemisia tabaci*”, **Entomol. Exp. Appl.**, 121: 159-166 (2006).

Saha, A.K., Rahaman, M.S., Saha, B. N., Rahman, M., Das, B.K., “Effects of antibiotics on the growth and rearing performance of silkworm, *Bombyx mori* L”, **J. Asiatic Soc. Bangladesh Sci.**, 21: 289-292 (1995).

Sehnal, F., “Kritisches studiumder bionomie und biometric der in verschiedenen lebensbedingungen gezuchteten waschmotte *Galleria mellonella* (Lepidoptera)”, **Z. Wiss. Zool.**, 174: 53-82 (1966).

Sehna, F., Zitnan, D., "Midgut endocrine cells", In: Lehane, M.J., Billingsley, P.F. (Eds.), *The Biology of the Insect Midgut*, **Chapman and Hall**, London, 56–85 (1996).

Sestini, E. A., Carlson J.C., Allsopp, R., "The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A₂ activity in *Drosophila melanogaster*", **Exp. Gerontol.**, 26: 385-395 (1991).

Sikorowski, P.P., Thompson, A.C., "Residual quantities of streptomycin sulfate in haemolymph and tissue of *Heliothis virescens* reared on treated diet", **Pharmacol Biochem. Behav.**, 23: 525-528 (1985).

Singh, P., House, H.L., "Antimicrobials 'Safe' levels in a synthetic diet of an insect, *Agria affinis*", **J. Insect Physiol.**, 16: 1769-1782 (1970).

Singh, S.P., Coronella, J.A., Benes, H., Cochrane, B.J., Zimniak, P., "Catalytic function of *Drosophila melanogaster* glutathione S-transferase DmGSTS1-1 (GST-2) in conjugation of lipid peroxidation and products", **Eur. J. Biochem.**, 268: 2912-2923 (2001).

Slepneva, I.A., Glupov, V.V., Sergeevs, S.V., Khramtsov, V.V., "EPR detection of reactive oxygen species in hemolymph of *Galleria mellonella* and *Dendrolimus superans sibiricus* (Lepidoptera) larvae", **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 264: 212-215 (1999).

Snedecor, G.S., Cochran, W.G., "Statistical Methods", **Iowa State University Press**, 8th ed., Ames, IA. 158-160 (1989).

Sohal R.S., Sohal, B.H., Orr, W.C., "Mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide generation, protein oxidative damage, and longevity in different species of flies", **Free Radical Bio. Med.**, 19: 499-504 (1995).

SPSS.. "User's manual, version 11. SPSS", Chicago, IL. (1997).

Stanley-Samuelson, D.W., Jurenka, R.A., Loher, W., Blomquist, G.J., "Metabolism of polyunsaturated fatty acids by larvae of the waxmoth, *Galleria mellonella*", **Arch. Insect Biochem.**, 6: 141-149 (1987).

Šula, J., Gelbič, I., Socha, R., "The effects of (RS)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenine on the reproduction and protein spectrum in hemolymph and ovaries of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera, Pyrrhocoridae)", **Acta Entomol. Bohemaslov.**, 84: 1-9 (1987).

Sun, J., Folk, D., Bradley, T.J., Tower, J., "Induced overexpression of mitochondrial Mn-Superoxide dismutase extends the life span of adult *Drosophila melanogaster*", **Genetics.**, 161: 661-672 (2002).

Terra, W.R., Ferreira, C., Baker, J.E., “Compartmentalization of Digestion”, In: Lehane, J. and Billingsley, P. F. (Eds.). *Biology of Insect Midgut*, **MChapman and Hall**, London, 206-235 (1996).

Thayer, D.W., “Effect of antibiotics and antimalarials on free amino acids of *Aedes aegypti*”, **J. Med. Ent.**, 10: -62 (1973).

Toala, P., Wilcox, C., Finland, M., “Effect of pH of medium and size of inoculum on activity of antibiotics against group D *Streptococcus (Enterococcus)*”, **Appl. Microbiol.**, 19: 629–637 (1970).

Vail, P. V., Hennebery, T. J., Kishaba, A.N., Arakawa, K.Y., “Sodium hypochlorite and formalin as antiviral agents against nuclear polyhedrosis virus in larvae of the *Cabbage looper*”, **J. Invertebr. Pathol.**, 10: 84-93 (1968).

van der Horst, D.J., Vroemen, S.F., van Marrewijk, W.J.A., “Metabolism of stored reserves in insect fat body: Hormonal signal transduction implicated in glycogen mobilization and biosynthesis of the lipophorin system”, **Comp. Biochem. Physiol. B**, 117: 463–474 (1997).

Verma, K.V.S., Rahman, S.J., “Comparative efficacy of synthetic pyrethroids, natural pyrethroids and DDT against mosquito larvae”, **J. Commun Dis.**, 16: 144-147 (1984).

Vijayalekshmy, K.S., Menon, V.P., Leelamma, S., “Role of antibiotics in lipid peroxidation”, **Indian J. Biochem. Biophys.**, 29: 371-374 (1992).

Vontas, J.G., Small, G.J., Hemingway, J., “Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*”, **Biochem. J.**, 357: 65-72 (2001).

Xie, Z.N., Nettles Jr, C.W., Morrison, R.K., Irie, K., Vinson, S.B., “Three methods for the in vitro culture of *Trichogramma pretiosum* riley”, **J. Entomol. Sci.**, 21: 133-138 (1986).

Yu, S.J., “Induction of detoxification enzymes by triazine herbicides in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*”, **Pestic. Biochem. Phys.**, 80: 113-122 (2004).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : BÜYÜKGÜZEL, Ender
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 13.12.1978 Zonguldak
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (372) 2575926
 Faks : -----
 e-mail : endericen@hotmail.com.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi/Biyoloji	2007
Yüksek Lisans	Zonguldak Karaelmas Üniversitesi/Biyoloji	2003
Lisans	Süleyman Demirel Üniversitesi/Biyoloji	2001
Lise	TED Zonguldak Koleji	1996

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Basketbol, Doğa gezileri, Belgesel izlemek.