

**ANTİVİRAL AJAN ASİKLOVİRİN BÜYÜK BAL MUMU GÜVESİ  
GALLERIA MELLONELLA L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NİN  
BÜYÜME, YAŞAMA VE GELİŞİMİNE ETKİLERİ**

139980

**Ender İÇEN**

139980

**Zonguldak Karaelmas Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Biyoloji Anabilim Dalında**

**Bilim Uzmanlığı Tezi**

**Olarak Hazırlanmıştır**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
BOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**ZONGULDAK**

**Mart 2003**

**KABUL:**

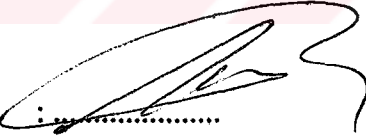
Ender İÇEN tarafından hazırlanan “ANTİVİRAL AJAN ASİKLOVİRİN BÜYÜK BAL MUMU GÜVESİ *GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)’NİN BÜYÜME, YAŞAMA VE GELİŞİMİNE ETKİLERİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Biyoloji Anabilim Dalında Bilim Uzmanlığı tezi olarak kabul edilmiştir. 05 / 03 / 2003

Başkan: 

Doç.Dr. Mustafa SÖZEN

Üye : 

Yrd.Doç.Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL  
(Tez Danışmanı)

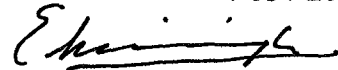
Üye : 

Yrd.Doç.Dr. Burak ÇOBAN

**ONAY:**

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

12/03/2003



Prof. Dr. Etem KİŞİOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZET

Bilim Uzmanlığı Tezi

ANTİVİRAL AJAN ASİKLOVİRİN BÜYÜK BAL MUMU GÜVESİ  
*GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NİN  
BÜYÜME, YAŞAMA VE GELİŞİMİNE ETKİLERİ

Ender İÇEN

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL

Mart 2003, 69 sayfa.

Antiviral madde asiklovirin bal peteğinin önemli bir zararlısı olan büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* L.'nin değişik yapay ve doğal besinlerine ilave edilmesi ve farklı gelişim evrelerine uygulanması ile böceğin yaş ağırlığı, yaşama, gelişimi, ergin evredeki yaşama süresi, yumurta verimi ve yumurtaların açılma oranına etkileri incelendi. Bu etkiler beslenme ortamına, gelişim evresine ve asiklovirin uygulanma şekline göre değişmiştir. Asiklovirin düşük miktarlarını içeren yapay besinler (0,001 ve 0,01 g/100 ml besin) yaşamayı önemli derecede azaltmıştır. Bu maddenin 0,1 ve 1,0 g'ını içeren yapay ve doğal besinlerin hiç biri böceğin yaşamı üzerinde etkili olmamıştır. Haydak'ın yapay besininde bulunan asiklovirin 1,0 g'ı larvaların yaş ağırlığını düşürmüş ergin olma süresini ise

## ÖZET (devam ediyor)

önemli derecede geciktirmiştir. Bu miktar, doğal besin olarak bol miktarda bal içeren petekte ise yaş ağırlığı artırmış, gelişimi hızlandırmıştır. Asiklovirin denenen en yüksek miktarı (3,0 g) her iki yapay besinde ve doğal besinde, koyu renkli eski bal peteğinde yaşamayı önemli derecede azaltmış gelişimi de geciktirmiştir. Asiklovirin 1,0 g'ının ilave edildiği Bronskill'in yapay besini ve doğal besin, koyu renkli eski bal peteği erginlerin yaşama süresini önemli derecede uzatmıştır. Asiklovirin bu miktarı besin ortamlarındaki bakteri, küf ve maya kontaminasyonunu önlemede etkili olmuştur. Bu etki besindeki mikrobiyal organizmaların türüne, sayısına ve beslenme ortamına göre değişmiştir. Yumurtaların % 0,01'lik asiklovir çözeltisine batırılması yeni açılan larvaların ergin evreye kadar yaşamını önemli derecede artırmış gelişim süresini ise kısaltmıştır. Bu çözelti erginlerin yaş ağırlığını etkilememiştir. Yumurtadan yeni çıkmış larvaların asiklovirin % 0,01'lik çözeltisi ile muamele edilmesi ise yalnızca olgunlaşan larva yüzdesini artırmıştır. Asiklovir miktarlarının hepsi bu larvaların ergin olma süresini kısalttığı gibi erginlerin yaş ağırlığını da artırmıştır. Asiklovirin denenen yüksek konsantrasyonlu çözeltileri (3,0 ve 6,0 g/100 ml)) ile muamele edilen dördüncü evre larvalarının ergin evredeki yaşamı azalmış gelişimi ise gecikmiştir. Asiklovirin % 1,0 ve 6,0'lık çözeltisi bir günlük pupların ergin olma oranını önemli derecede artırmış; ancak bu evreye ulaşmak için gerekli süreyi etkilememiştir. Asiklovirin % 6,0'lık çözeltisinin olgun larvalara enjekte edilmesi ergin olma oranını düşürmüştür, gelişimi geciktirmiştir. Ergin dişilere enjekte edilen % 1,0'lık asiklovir çözeltisi bir günde dişi başına bırakılan yumurtaların sayısını azaltmış ancak açılan yumurta sayısını ve oranını artırmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Galleria mellonella*, asiklovir, yaşama, yapay ve doğal besin, beslenme

Bilim Kodu: 401.04.02

## **ABSTRACT**

**M. Sc. Thesis**

**EFFECTS OF ANTIVIRAL AGENT ACYCLOVIR ON THE GROWTH,  
SURVIVAL AND DEVELOPMENT OF GREATER WAX MOTH,  
*GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)**

**Ender İÇEN**

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

**Thesis Advisor: Asist. Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL**

**March 2003, 69 pages.**

The effects of antiviral agent, acyclovir, on wet weight, survival, development, adult longevity, fecundity and hatchability of a serious honeycomb pest, greater wax moth *Galleria mellonella* L. were investigated by adding this agent into various natural food and synthetic diets, and by applying to different developmental stages. These effects varied with the rearing media, developmental stages and application type of acyclovir. The synthetic diets with the low amounts of acyclovir (0.001 and 0.01 g/100 g of diet) significantly decreased the survival. None of the synthetic diet and natural food with 0.1 and 1.0 g of this agent had effect on survival of the insect. Haydak's synthetic diet with 1.0 g of acyclovir decreased wet weight and significantly prolonged developmental time for adult emergence. The natural food (honeycomb containing abundantly honey) with this amount increased the wet weight and accelerated development of the insect. Each

## ABSTRACT (continued)

synthetic diet and natural food (dark old honeycomb) with the highest amount of acyclovir (3.0 g) significantly decreased survival and delayed development. Addition of acyclovir (1.0 g) into Bronskill's synthetic diet and dark old honeycomb as natural food increased the longevity of adults. This amount of acyclovir was also capable of preventing the bacterium, mold and yeast growth in both synthetic diet and natural food. This capability varied according to species and number of microbial organisms, and rearing media. Dipping of eggs in 0.01% of acyclovir (0.01 g/100 ml) significantly increased the survival and shortened the development of newly-hatched larvae until adult stage. This solution had no effect on the wet weight of adults. When newly-hatched larvae were directly treated with the concentration of 0.01% acyclovir, only percentage of mature larvae was increased. This antiviral agent at all tested concentrations shortened the developmental time of these larvae to adult emergence and increased the wet weight of the adults. Treating of fourth instar larvae with the high concentrations of acyclovir (3.0 and 6.0 g/100 ml) significantly reduced the survival and prolonged the development to adult stage. Acyclovir at the concentration of 1.0 and 6.0% significantly increased the rate of adult emergence of the one-day old pupae but was not effective on developmental time for adult stage. Injection of 6.0% acyclovir into mature larvae reduced the rate of adult emergence and prolonged the development to adult stage. Acyclovir at the concentration of 1.0% reduced number of eggs laid per female per day however, the number of eggs hatched and hatchability were increased when females were injected.

**Key Words:** *Galleria mellonella*, acyclovir, survival, synthetic and natural diet, nutrition

Science Code: 401.04.02

## TEŞEKKÜR

Bu konuda bana çalışma fırsatı veren, araştırma sırasında ilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e, çalışmamın her aşamasında madde ve malzeme temininde her türlü kolaylığı sağlayan Fen-Edebiyat Fakültesi Dekanı, Sayın Prof. Dr. Türkan KOPAÇ'a, Dekan Yardımcısı ve Biyoloji Bölümü Başkanı Sayın Doç. Dr. Mustafa SÖZEN'e, değerli öneri ve bilgilerinden yararlandığım Biyoloji Bölümü diğer Öğretim Üyelerine, samimi ve içten desteklerini sürekli bana hissettiren Araştırma Görevlisi ve Yüksek Lisans Öğrencisi arkadaşlarıma teşekkürlerimi bir borç bilirim. Ayrıca, laboratuvarımızda *Galleria mellonella* stok kültürünün oluşturulması için her türlü zahmete katlanarak bize böcek gönderen Balıkesir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN'a, asikloviri bu çalışma için Biofarma İlaç Sanayi ve Ticaret A. Ş. adına hediye olarak verilmesini sağlayan bu şirketin Üretim Pazarlama Müdürü Eczacı Sayın Marya Maraş'a, mikrobiyolojik ekimlerin yapılmasında yardımcı olan Zonguldak İl Halk Sağlığı laboratuvarından Biyolog Erdoğan Kapusuz'a, çalışmamın deneysel ve yazma aşamasında moral desteği ve yardımlarını esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
BÖLÜM 1 GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2 MATERYAL VE METOD.....	8
2.1 BÖCEK KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI.....	8
2.2 BESİNLERİN HAZIRLANMASI.....	9
2.3 ASİKLOVİRİN DENEYLERDE KULLANILMASI.....	9
2.4 LARVALARIN ELDE EDİLMESİ.....	10
2.5 BESLENME DENEYLERİ.....	11
2.6 ASİKLOVİRİN MİKROBİYAL ORGANİZMALARA ETKİSİ.....	12
2.7 YUMURTALARIN ASİKLOVİR ÇÖZELTİSİNE BATIRILMASI.....	13
2.8 LARVALARIN ASİKLOVİR ÇÖZELTİSİNE BATIRILMASI.....	13
2.9 PUPLARIN ASİKLOVİR ÇÖZELTİSİNE BATIRILMASI.....	14
2.10 ASİKLOVİRİN LARVALARA ENJEKTE EDİLMESİ.....	14
2.11 ASİKLOVİRİN DIŞILERE ENJEKSİYON İLE UYGULANMASI.....	16
2.12 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	16
BÖLÜM 3 DENEYLER VE SONUÇLAR.....	18
3.1 ASİKLOVİRİN BRONSKİLL'İN YAPAY BESİNİ İLE BESLENEN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARINA ETKİSİ.....	18
3.2 ASİKLOVİRİN HAYDAK'IN YAPAY BESİNİ İLE BESLENEN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARINA ETKİSİ.....	20

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

Sayfa

3.3 ASİKLOVİRİN BOŞ ESKİ BAL PETEĞİ (KULUÇKA PETEĞİ) İLE BESLENEN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARINA ETKİSİ .....	22
3.4 ASİKLOVİRİN BALLI PETEK İLE BESLENEN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARINA ETKİSİ.....	24
3.5 ASİKLOVİRİN <i>G. MELLONELLA</i> ERGİNLERİNİN YAŞAMA SÜRESİNE ETKİSİ .....	24
3.6 ASİKLOVİRİN BESİN ORTAMLARINDAKİ MİKROBİYAL ORGANİZMALARA ETKİSİ .....	27
3.7 ASİKLOVİRİN <i>G. MELLONELLA</i> 'NİN YUMURTALARINA ETKİSİ.....	29
3.8 ASİKLOVİRİN <i>G. MELLONELLA</i> 'NİN YUMURTADAN YENİ ÇIKAN LARVALARINA ETKİSİ .....	31
3.9 ASİKLOVİRİN <i>G. MELLONELLA</i> 'NİN OLGUNLAŞMAMIŞ LARVALARINA ETKİSİ.....	31
3.10 ASİKLOVİRİN <i>G. MELLONELLA</i> 'NİN GENÇ PUPLARINA ETKİSİ.....	34
3.11 ASİKLOVİRİN <i>G. MELLONELLA</i> 'NİN OLGUN LARVALARINA ETKİSİ .....	34
3.12 ASİKLOVİRİN <i>G. MELLONELLA</i> DIŞİLERİNİN YUMURTA VERİMİNE ETKİSİ .....	37
BÖLÜM 4 TARTIŞMA .....	40
KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	69

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No:</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Asiklovirin 3,0g'ını içeren besinde beslenen ve pup evresine normal gelişimini tamamlayamayan <i>G. mellonella</i> larvası. ....	20
3.2. Asiklovirin % 6,0'lık çözeltisinin enjekte edildiği bazı <i>G. mellonella</i> olgun larvalarının oluşturduğu anormal vücut yapısına sahip ergin.....	37



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No:</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Asiklovirin koyu renkli bal peteği içeren Bronskill'in yapay besini ile beslenen <i>G. mellonella</i> larvalarının yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesine etkisi .....	19
3.2 Asiklovirin kuru toz maya ve süt tozu içeren Haydak'ın yapay besin ile beslenen <i>G. mellonella</i> larvalarının yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesine etkisi.....	21
3.3 Asiklovirin doğal besin, koyu renkli bal peteği (kuluçka peteği) ile beslenen <i>G. mellonella</i> larvalarının yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesine etkisi .....	23
3.4 Asiklovirin, arı tarafından doğal olarak bal ile doldurulmuş petekde beslenen <i>G. mellonella</i> larvalarının yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesine etkisi .....	25
3.5 Asiklovirin yapay ve doğal besin ortamlarında yetiştirilen <i>G. mellonella</i> erginlerinin yaşama süresine etkisi.....	26
3.6 Asiklovirin <i>G. mellonella</i> 'nın yapay ve doğal besin ortamlarındaki mikrobiyal organizmalara etkisi.....	28
3.7 <i>G. mellonella</i> 'nın yumurtalarına yüzeysel uygulanan asiklovirin yeni açılan larvaların yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesine etkisi .....	30
3.8 <i>G. mellonella</i> 'nın yumurtadan yeni çıkmış larvalarına yüzeysel uygulanan asiklovirin yaş ağırlık, yaşama ve gelişmeye etkisi.....	32
3.9 <i>G. mellonella</i> 'nın olgunlaşmamış larvalarına yüzeysel olarak uygulanan asiklovirin yaşama ve gelişmeye etkisi.....	33
3.10 <i>G. mellonella</i> 'nın puplarına yüzeysel uygulanan asiklovirin yaşama ve gelişmeye etkisi .....	35
3.11 <i>G. mellonella</i> 'nın olgun larvalarına enjeksiyon ile uygulanan asiklovirin yaşama ve gelişmeye etkisi .....	36
3.12 <i>G. mellonella</i> dişilerine enjeksiyon ile uygulanan asiklovirin bırakılan yumurta sayısı ve açılma oranına etkisi .....	38

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Lepidoptera takımına ait türlerin büyük bir çoğunluğu tarım zararlısı olduklarından ekonomik olarak önemli böceklerdir. Bu böceklerin kimyasal ekolojilerinin ve biyokimyasal fizyolojilerinin çalışılabilmesi için laboratuvar şartlarında yetiştirilmeleri gereklidir. Bu durum doğal besine göre daha düşük maliyeti olan yapay besinlerin ve *in vitro* kültür tekniklerinin geliştirilmesi zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır. Zararlı lepidopter türlerin geliştirilen yapay besinler ile kültüre alınması ekoloji ve fizyolojilerinin yanında bunların farklı evrelerindeki bazı metabolik olaylarının moleküler düzeyde incelenmesine de olanak sağlar (Mandato et al., 1997; Pohlen and Baldwin 2001; Büyükgüzel et al., 2002; Tunaz et al., 2002).

*Galleria mellonella* L'nin da dahil olduğu bazı zararlı lepidopter türlerini laboratuvar ortamında yetiştirmek amacıyla ilk defa Haydak (1936) tarafından yapay bir besin ortamı geliştirilmiştir. Daha sonra bu besin kullanılarak *G. mellonella* L.'nin bazı besinsel ihtiyaçları belirlenmeye çalışılmıştır (Haydak, 1941). Bu çalışmaları izleyen yıllarda, geliştirilen diğer bazı yapay besin karışımları ile bu zararlı türün kısa sürede daha verimli bir şekilde kitle üretimi yapılabilmiştir (Waterhouse, 1959; Bronskill, 1961; Dutky et al., 1962). Benzer yapay besin ortamları ve beslenme teknikleri ekonomik olarak önemli diğer lepidopter türlerden lahanalar için *Trichoplusia ni* (Hübner) ve meyve güvesi *Grapholitha molesta* (Busck)'nin laboratuvar şartlarında yetiştirilmesinde kullanılmıştır (Ignoffo, 1963; Laing and Hagen, 1970). Bu konudaki beslenme çalışmaları halen büyük bir hızla devam etmekte olup son zamanlarda nar güvesi *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller), meşe güvesi *Lymantria dispar* L. ve mısır kurdu *Helicoverpa* (= *Heliothis*) *zea*

(Boddie) larvaları yapay besin ortamlarında ergin evreye kadar yetiştirilmeye çalışılmıştır (Al-Izzi et al., 1987; Keena et al., 1995; Lopez et al., 1996).

Lepidoptera takımına ait türlerin laboratuvarında yapay besin ortamları ile yetiştirilmesinde karşılaşılan en önemli sorun mikrobiyal kontaminasyonlardır. Bu besinler küf, maya, mantar ve bakterilerin üremelerine uygun zemin sağladığı gibi besin bileşenleri ise çoğu zaman çeşitli viral kontaminasyonlara sebep olabilmektedir (Fleming, 1992). Larval evrede alınan besinin kalitesi bu böceklerin büyüme, yaşama, gelişme, ergin oluşumu ve erginleşen bireylerin bazı özellikleri üzerinde etkili olmaktadır (Chang et al., 2001). Bu yüzden beslenme çalışmaları sırasında yapay besin ortamlarındaki kontaminasyonlardan böceği koruyarak yüksek kalitede ergin bireyler yetiştirmek amacıyla antibakteriyel ve antifungal maddeler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Childress and Williams, 1973). Besinsel kaynaklı patojen mikroorganizmaların ve bunların sebep olduğu hastalıkların insan ve ekonomik olarak öneme sahip diğer yüksek organizasyonlu hayvanlarda da verimlilik kaybına yol açtığı bilinmektedir (Buzby et al., 1996). Son zamanlarda, özellikle antibakteriyel maddeler büyümeyi uyarıcı ve beslenme verimliliğini artırıcı olarak ekonomik öneme sahip yüksek organizasyonlu hayvanların besinlerinde uzun zamandan beri kullanılmaktadır (Levy, 1987; Gorbach, 2001).

*G. mellonella*'nın laboratuvar kültürü sırasında mikrobiyal kontaminasyonlara sıklıkla rastlanmaktadır. Diğer taraftan bu böceğin larva ve pupları dışilerden yumurta aracılığıyla taşınan mikroflora tarafından da kontamine edilmektedir. Bu yüzden ilk beslenme çalışmalarında yumurta yüzeyinin dezenfeksiyonu ile ilgili yöntemler geliştirilmeye çalışılmıştır (Waterhouse, 1959; Dudziak, 1975). Ancak bu sterilizasyon yöntemlerinin zahmetli olması ve yumurtaların kolayca zarar görmesi daha uygun aseptik önlemlerin alınmasını gerektirmiştir. Bu amaçla *G. mellonella* larvalarının doğal besinine nistatin ve oksitetrasiklin'in bazı kombinasyonları ilave edilmiştir (Jarosz, 1981). Diğer taraftan olgun larvalara bu antibiyotiklerin enjekte edilmesiyle laboratuvar şartlarında güvenilir fizyolojik çalışmalar yapmak ve parazitoidlerin verimli olarak kitle üretimini sağlamak için

mikroorganizmalardan arındırılmış konak böceklerin yetiştirilmesi amaçlanmıştır (Jarosz, 1979; Jarosz, 1989). Ancak, besine ilave edilen ya da herhangi bir yöntem ile uygulanan bu antimikrobiyal maddelerin kontaminasyonu önlemesi yanında böceğin yaşama ve gelişimini etkilememesi ya da en az etkiye sahip olması gerekir. Buna karşın, yapay besin ortamlarına kontaminasyonu önlemek amacıyla ilave edilen çeşitli antimikrobiyal maddelerin ve kimyasalların lepidopter türler üzerinde bazı olumsuz etkilere sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır. Kishaba et al. (1968) farklı antifungal maddelerin yüksek miktarlarının *T. ni*'nin dört nesil boyunca pup ağırlığı, deri değiştirmesi ve yumurta verimine olumsuz etki yaptığını gözlemiştir. Akriflavin, kloramfenikol ve sikloheksimid yeşil tütün kapsül kurdu *Heliothis virescens* (F.)'te, akriflavin ve etidyum bromid ise *H. zea* erginlerinde şekil bozukluğuna ve uçuş yeteneğinin azalmasına sebep olmuştur (Holmes and Keeley, 1975; Keeley and Olson, 1977). Antifungal özelliğe sahip olan manganez bileşiği, maneb, *H. virescens*'in pup ve ergin verimini önemli derecede düşürmüştür (Felton and Dahlman, 1984). Formanilid ve formamidin gibi bazı kimyasal maddeler birlikte denedikleri çeşitli insektisitlerin *H. zea* üzerindeki toksik etkilerini önemli derecede artırmıştır (El-sayed and Knowles, 1984). Mısır bitkisinde bulunan hidroksamik asit, pralid bir tür olan avrupa mısır kurdu, *Ostrinia nubilalis* (Hübner)'in pup ve ergin evreye ulaşan bireylerin ağırlığı ve bu evrelere ulaşma süresi üzerinde olumsuz etki yapmıştır (Campos et al., 1990). Makrolakton yapısındaki bazı antibiyotikler ile beslenen *L. dispar* larvalarının yaklaşık yarısının öldüğü gözlenmiştir (Deecher et al., 1989). Kontaminasyonu önlemek amacıyla yapay besine belirli miktarlarda ilave edilen kloramfenikol, dihidrostreptomisin, propiyonik asit ve sorbik asit'in yüksek miktarları ipek böceği *Bombyx mori* L.'nin gelişimini olumsuz yönde etkilemiştir (Liaw et al., 1991b). Kitin sentezi inhibitörü olan klorfluazuron noktuoid (Noctuidae) bir lepidopter tür olan yaprak kesici kurdu, *Spodoptera litura* (F.)'nin ovaryum gelişimini yavaşlatmış, olgunlaşan yumurta sayısını ise azaltmıştır (Perveen and Miyata, 2000).

Zararlı lepidopter türler dışında antimikrobiyal ajanlar isopterlerden bir termit türü *Retikulitermes flavipes* (Kollar), Coleopterlerden *Xyleborus ferrugineus* (Fabr.)

ile beyaz kıvrımlı kelebek, *Graphognathus* spp., homopterlerden şeftali afiti, *Myzus persicae* (Sulzer), bezelye afiti, *Acyrtosiphon pisum* (Harris) ve yaprak afiti, *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring gibi çeşitli türler, dipterlerden meyve sineği, *Drosophila melanogaster* L., sarkofajid bir tür olan *Agria affinis* (*A. housei*) Fallén ve zeytin meyve sineği *Dacus oleae* (Gmelin), parazitik hymenopter türlerden yumurta paraziti olan bazı *Trichogramma* türleri, endoparazitoid *Pimpla turionellae* L. ve bir karınca türü *Myrmica rubra* L.'nin büyüme, yaşama ve gelişmesi üzerinde olumsuz etki yapmıştır (Bready and Friedman, 1963; Baker and Norris, 1968; Bass and Barnes, 1969; Mittler, 1971a, 1971b; Srivastava and Auclair, 1976; Costa et al., 1997; Graf and Benz, 1970; Singh and House 1970a, 1970b; Tzanakakis and Lambrou, 1975; Xie et al., 1986; Grenier and Liu, 1990, 1991; Büyükgüzel ve Yazgan 1996; 1999; 2002; Pearson and Raybould, 1998).

Doğal veya sentetik besine ilave edilen bazı antibiyotikler ise *B. mori*, Amerikan hamam böceği *Periplanata americana* L., coleopterlerden pamuk kurdu *Anthonomus grandis* Boheman, dipterlerden sivrisinek türü, *Anopheles stephensi* Listan, soğan kurdu, *Hylemya* (= *Delia*) *antiqua* (Meigen) ve mısır tohumu kurdu, *H. platura* (Meigen), *Hypoderma lineatum* (Villers), ve parazitik hymenopter tür *P. turionellae*'nin yaşama ve gelişmesi üzerine olumlu etkilerde bulunmuştur (Murthy et al., 1954; Bhaumik, 1977; Villavaso, 1978; Reisen, 1975; Ishikawa et al., 1983; Chamberlain and Scholl, 1991; Büyükgüzel, 2001a, 2001b).

Lepidopter türler ile ilgili beslenme çalışmalarında karşılaşılan diğer önemli bir sorun virus kontaminasyonudur. Bu virüslerin en önemlisi, lepidopter türler ile birlikte dipter, hymenopter, coleopter ve homopter türlerin çoğunlukla larval evrelerini enfekte eden bakülovirüslerdir (Baculoviridae) (Stoltz and Vinson, 1979; Barnum, 1988; Schmidt, 1990). Bu virüsler ancak larva tarafından besin ile alındığında aktif hale geçer. Polidnavirüsleri (PDV) olarak bilinen ve virüs benzeri partiküller (VLPs) olan nükleopolihedrovirüsler bunların en önemlisidir (Stoltz and Whitefield, 1992). Bu virüsler lepidopter konak böceklere parazitik böcekler ile bulaştırıldığı gibi doğada zarar verdikleri bitkileri sindirmeleri ya da

laboratuvar şartlarında böceklerin yetiştirilmesi için kullanılan besin bileşenlerinden de bulaşabilir (Fleming, 1992). Bu virüslerin konak böceğin hemositlerinin şekil ve davranışını bozmak ve fenoloksidaz aktifliğini önlemek suretiyle konağın bağışıklık sistemini zayıflattığı bilinmektedir (Strand and Pech, 1995). Bazı parazitik ichneumonid türlerin konak böcek *H. virescens*'e yumurtalarını bırakmaları sırasında bulaştırdıkları virüslerin (ichnovirus) böceğin protein sentezini ve böylece başkalaşımını engellediği ortaya çıkarılmıştır (Shelby and Webb 1997; Edson et al., 1981). *G. mellonella*'nın en önemli bakülovirüsü çoklu kapsit bulunduran nükleopolihedrovirüsüdür (GmMNPv). Bu böceğin diğer bir virüsü ise Parvoviridae familyasına ait olan densonükleovirüstür (GmDNV). Diğer taraftan bu böceğin kültüre alınan hücrelerinde üreyen GmCLV virüsü de önemli viral patojenleri arasındadır. Bu çeşit kontaminasyonları önleyerek virüsten arındırılmış böceklerin yetiştirilmesi için besinlere çeşitli antiviral maddelerin ilave edilmesi gerekmektedir. Bakteriyel ve fungal kontaminasyonları önlemek için yaygın olarak kullanıma sahip olan maddeler çoğu zaman virüs kontaminasyonunu önlemede yeterli olamamaktadır. Ancak, beslenme çalışmalarında antiviral maddelerin kullanımı da yaygın değildir. Diğer taraftan hem bakteriyel hem de viral kontaminasyonları önleyebilecek bir maddenin kullanılması daha uygun olacaktır. Antiviral ajan olarak yaygın bir kullanıma sahip olan nükleozid analogları aynı zamanda antibakteriyel etkiye sahiptir (Al-Masoudi et al., 2000). Bu maddeler etkilerini nükleik asitler üzerinde gösterdikleri için düşük miktarlar da bile besindeki kontaminasyonu önleyebilir. Böylece besine ilave edilen düşük miktarlar sayesinde besinin fiziksel ve kimyasal yapısı dolayısıyla böceğin yaşama ve gelişimi üzerindeki olumsuz etkiler en aza indirilebilir (Büyükgüzel, 2001b).

Yumurta yüzey dezenfeksiyonu yapılmadan ve besinlere antimikrobiyal ajanlar ilave edilmeden önceki beslenme çalışmalarında nükleopolihedrovirüsler, lepidopter larvalarının laboratuvar şartlarında yetiştirilmesinde önemli sorun oluşturmuştur (Getzin, 1962). Ancak, bu virüsü kontrol etmek amacıyla *T. ni*'nin besinine ilave edilen sodyum hipoklorür ve formalinin yüksek miktarları yumurtaların açılma oranını ve bu yumurtalardan çıkan larvaların pup evresine

ulaşma oranını dūřürmüřtür (Vail et al., 1968). Beslenme çalışmalarında virüs kontaminasyonunu önlemek amacıyla yaygın olarak kullanılan formalin ekonomik olarak önemli tarım zararlısı olan *Lygus hesperus* Knight'ın yaşaması, gelişimi, vücut ağırlığı, yumurta bırakma davranışı ve yumurta üretimine önemli derecede olumsuz etki yapmıştır (Alverson and Cohen, 2002). Bir nükleozid analogu olan geniş spektrumlu antiviral madde (R,S)-9-(2,3-dihidroksipropil) adenin'in lepidopter tür *Spodoptera littoralis* (Boisd)'in pup oluşumunu engellediği gözlenmiştir (Gelbi and Holý, 1985). Bu antiviral madde heteropter böceklerden *Pyrrhocoris apterus* L.'da üreme ve hemolenf proteinleri üzerinde olumsuz etki yaptığı, *Dysdercus cingulatus* (Fabr.)'da erkek ve diři bireylerde kısırlaşmaya sebep olduğu bilinmektedir (Sláma et al., 1983; Sula et al., 1987; Gelbi and řvec, 1988; Gelbi et al., 1991). Bazı nükleozit analoglarının *Rhodnius prolixus* Stål'ın yumurta verimi üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir (Gelbi and Soldán, 1997).

Diğer pralid türler gibi *G. mellonella* larvaları ve pupları parazitoid böceklerin laboratuvar şartlarında çoğaltılabilmesi için yalancı konak olarak kullanılmaktadır (Wiedenmann et al., 1992; Bernardi et al., 2000; Gupta et al., 1996a; 1996b; Büyükgüzel, 2001a). Günümüzde bazı parazitoid türlerin tarımsal alanlarda önemli zararlara sebep olan pralid güvelerin biyolojik mücadelesinde halen kullanılması (Chen and Welter, 2002) bu güvelerin laboratuvar şartlarında yapay ortamlarda yetiştirilmesi çalışmalarının önemini artırmaktadır. Bu yüzden, yüksek ergin verimine ve kısa hayat devrine sahip olması, doğal besin olarak koyu renkli eski bal peteği (kuluçka peteği) ve çeşitli yapay besinler üzerinde iyi gelişmesi sebebiyle mum güvesi *G. mellonella* konak-parazitoid etkileşimi, biyolojik ve kimyasal mücadele çalışmaları için önemli bir deneysel model oluşurmaktadır (Jarosz, 1989). Bu böceğin larvaları arı kovanlarındaki peteklere ve diğer ürünlere zarar verdiği için arıcılık sektöründe önemli ekonomik kayıba yol açmaktadır (Charrière and Imdorf, 1997). Buna rağmen diğer zararlı pralid türler ile karşılaştırıldığında (Roe et al., 1982; Wilson, 1990) *G. mellonella* ile ilgili beslenme çalışmaları oldukça sınırlıdır. Bu çalışmaların sadece birkaçında ise farklı şekillerde uygulanan antibakteriyel ve antifungal maddeler ile

mikroorganizmalardan arındırılmış *G. mellonella* larva ve puplarının yetiştirilmesi amaçlanmıştır. Bu maddelerin böceğin yaşama ve gelişimi üzerindeki kalitatif ve kantitatif etkileri detaylı olarak belirtilmediği gibi antiviral maddeler ile ilgili bu hususta çalışma bulunmamaktadır. Önemli bir antiviral madde olan asiklovir bir guanozin türevidir (asikloguanozin) olup insan ve hayvanlarda *Herpes simplex* virusu ve diğer herpes virus tiplerinin sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılır (Adour et al., 1996). Bu madde yalnızca virusların DNA sentezini önlemekte olup ökaryotik canlıların DNA sentezine bir etkisi bulunmamaktadır (Parfitt, 1999; Katzung, 1987). Bu durum asiklovirin böcek beslenmesi çalışmalarında önemli bir sorun oluşturan viral ve diğer mikrobiyal kontaminasyonların kontrol edilmesinde önemli bir rol oynayabileceği fikrini ortaya çıkarmaktadır. Böyle maddelerin besinlere ilave edilmeden önce böcek üzerindeki etkilerinin detaylı olarak belirlenmesi gerekmektedir.

Bu amaçla asiklovirin çeşitli besin ortamlarına ilave edilmesi, böceğin yumurtalarına ve farklı evrelerine değişik yöntemler aracılığıyla uygulanması ile *G. mellonella*'nın ergin evreye kadar yaş ağırlığı, yaşama, gelişimi, ergin evredeki yaşama süresine ve yumurta verimine ve yumurtaların açılma oranına etkileri incelenmiştir.

## BÖLÜM 2

### MATERYAL VE METOD

#### 2.1 BÖCEK KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI

Büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) pup ve erginleri Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden temin edildi ve bölümümüz laboratuvarında yetiştirilerek stok kültür oluşturuldu. Böcek kültürünün devamı yumurtadan yeni çıkmış larvaların yapay besinde aseptik olmayan şartlarda beslenilmesi ile sağlandı (Bronskill, 1961). Deneylerde böcek tarafından yeni bırakılan yumurtalar, yumurtadan yeni çıkmış larvalar (birinci evre), genç larvalar (dördüncü evre), olgun larvalar (son evre larvası; yedinci evre), genç puplar (bir günlük) ve yeni erginleşen bireyler kullanıldı. Kültür  $30 \pm 2$  °C ve %  $65 \pm 5$  nisbi nemde soğutmalı inkübatörde (Nüve, ES 500) ve gün boyu devamlı karanlıkta yürütüldü.

*G. mellonella* larvalarını laboratuvar şartlarında yetiştirmek için Bronskill (1961) tarafından geliştirilen öğütülmüş koyu renkli eski bal peteği (kuluçka peteği) içeren yapay besin kullanıldı. Hazırlanan besin bir litrelik cam kavanozların (80x180 mm) yaklaşık 1/3'ne kadar dolduruldu. Kavanozun içine konulacak dişilerin yumurta bırakması ve yeni açılan larvaların beslenmesi için besinin üzerine küçük bir parça bal peteği bırakıldı (Ortel, 1995). Bu kavanozların içine 10-15 adet dişi bırakılarak ağızları tel kafes yerleştirilmiş kapak ile kapatıldı. Yaklaşık 25-30 gün sonra gelişimlerini tamamlayan olgunlaşan larvalar (7. evre) pup olmaları için diğer bir kavanoza aktarıldı. Bu kavanozun içine, larvaların pup olmaları için kuru ortam sağlamak üzere, katlanmış pelur kağıt parçaları bırakıldı (Campos et al., 1990). Oluşan puplardan yaklaşık 7-8 gün sonra ergin bireyler meydana geldi. Bu erginlerin büyük bir çoğunluğu böcek kültürünün devamı, bazı

erginler ise antimikrobiyal ajanlar ile ilgili beslenme çalışmaları için gerekli yumurtaların elde edilmesinde kullanıldı.

## **2.2 BESİNLERİN HAZIRLANMASI**

Böcek költürünün devamı için kullanılan Bronskill'in besini, aynı zamanda asiklovirin böcek üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yürütölen beslenme deneylerinde kontrol besini olarak kullanıldı. Besin, 420 g kepek, 150 ml süzme bal, 150 ml gliserin (Merck, Darmstadt, Germany), 20 g öğütölmüş koyu renkli eski petek ve 30 ml saf sudan oluşmaktadır. Besinin bileşenleri gerekli miktarda tartılarak geniş bir kap içerisinde karıştırıldı ve karıştırıcı ile homojen bir karışım oluşturuldu. Bu karışım sıvı bileşenlerin katı bileşenler tarafından tam olarak emilebilmesi için 24 saat bekletildi.

Asiklovirin etkisinin incelendiği deneylerde ikinci kontrol besini olarak kuru toz maya ve süt tozu içeren bir yapay besin (Haydak, 1936) kullanıldı. Bu besinin ise bileşiminde 500 g süzme bal, 500 g gliserin, 445 g un, 445 g süt tozu, 222 g maya ve 445 g kepek bulunmaktadır. Besinin hazırlanması sırasında, bir kapta gliserin ve süzme bal, başka bir kapta ise diğeri bileşenler karıştırıldı. Bu iki stok bileşenden 1:1 oranında alınarak homojen bir karışım oluşturuldu. Daha sonra bu besine asiklovirin farklı miktarları ilave edilerek böceğin larvalarının büyüme, yaşama ve gelişmesi üzerine etkileri incelendi. Asiklovirin doğal ortamda böcek üzerindeki etkisini incelemek için kullanılan koyu renkli eski bal peteği (kuluçka peteği, kabartılmış boş petek) ve arı tarafından tam olarak bal ile doldurulan petek Zonguldak ve çevresindeki arıcılardan temin edildi.

## **2.3 ASİKLOVİRİN DENEYLERDE KULLANILMASI**

Bu çalışmada denenen asiklovir (asikloguanozin; 9-[2-hidroksietoksi)metil] guanin; micronize, % 100.76) Biofarma İlaç Sanayi ve Tic. A. ř. (Samandıra, İstanbul)'den temin edildi. Asiklovirin besine ilave edilmesi ile yürütölen beslenme deneylerinde denenen miktarların konsantrasyonu g/100 g besin olarak ifade edildi. Asiklovir suda büyük oranda özöldüğü için bu miktarlar, besinin

hazırlanması sırasında doğrudan besine ilave edildi. Kontrol besini (asiklovir içermeyen) hariç asiklovirin 0,001, 0,01, 0,1, 1,0 ve 3,0 g/100 g olmak üzere beş farklı konsantrasyonu denendi. Diğer deneylerde kullanılan asiklovir miktarları ise saf suda çözümlenerek konsantrasyonları g/100 ml çözelti olarak ifade edildi. Bu maddenin çözeltileri manyetik karıştırıcıda (IKA® LABORTECHNIK) dakikada 5000 devir ve 30 °C de karıştırılarak hazırlandı. Bu deneylerde ise asiklovirin 0,01, 0,1, 1,0, 3,0 ve 6,0 g/100ml'lik çözeltileri kullanıldı. Kontrol deneylerinde ise yalnızca distile su kullanıldı.

## 2.4 LARVALARIN ELDE EDİLMESİ

Beslenme deneylerinde kullanılacak larvalar, kapaklı, 30 ml'lik bir plastik kabın (ORLAB, L190030, 35x55 mm) iç yüzeyine *G. mellonella* dişileri tarafından bırakılan yumurtaların açılması ile elde edildi. Bunun için 2-3 dişi birey, delikli kapakları olan bu plastik kaplara konuldu ve yumurta bırakmaları için stok kültürün devam ettirildiği ortam koşullarında bekletildi. Bırakılan yumurtalar yine aynı ortam şartlarında bekletilerek açılması sağlandı. Yumurtadan yeni çıkan larvaların kaçmasını önlemek için caydırıcı olarak kabın kapağa yakın iç yüzeyine yaklaşık 1 cm kadar genişlikte gliserin sürüldü. Yumurtaların açılması ile serbest kalan larvalar, yumuşak uçlu ve ucu gliserine batırılarak nemlendirilmiş bir fırça ile besinlere aktarıldı. Bu şekilde larvalar tarafından doğrudan besin ile alınan asiklovirin ergin evreye kadar yaş ağırlık, yaşama ve gelişime etkisi incelendi. Diğer taraftan asiklovir böceğin farklı evrelerine yüzeysel olarak uygulandı. Bu amaçla asiklovirin farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerine batırılan yumurtalardan açılan larvalar, bu çözeltiler ile doğrudan muamele edilen birinci evre larvaları ve olgunlaşmamış genç larvalar (4. evre) Bronskill'in besini ile beslenerek ergin evreye kadar yetiştirildi. Böylece asiklovirin böceğin yaş ağırlığı, yaşama ve gelişimi üzerine etkisi incelendi. Bu larvaların beslenmesinde diğer yapay besine göre daha ucuz ve hazırlanması kolay olması sebebiyle Bronskill'in besini tercih edilmiştir. Araştırmanın diğer bir aşamasında asiklovirin farklı konsantrasyonlarındaki çözeltileri değişik yöntemler ile böceğin olgun larvalarına (7. evre) ve bir günlük puplarına uygulanarak böceğin ergin evreye kadar yaşama ve gelişimi izlendi. Ayrıca dişilere enjekte edilen farklı konsantrasyonlardaki

asiklovir çözeltilerinin yumurta verimine ve yumurtaların açılma oranına etkisi belirlendi.

## 2.5 BESLENME DENEYLERİ

Farklı besin ortamlarında asiklovirin böceğin yaş ağırlığı, yaşamı ve gelişimi üzerindeki etkisini incelemek için iki farklı yapay ve doğal besin ortamı kullanıldı. Yapay besin karışımı olarak *G. mellonella* stok kültürünün devamı için kullanılan öğütülmüş koyu renkli bal peteği içeren Bronskill'in (1961) besini ile kuru toz maya ve süt tozu içeren Haydak'ın (1936) besini kullanıldı. Asiklovirin denenen miktarları, 100 gram besin başına, besinlerin hazırlanması sırasında ilave edilerek homojen olarak karışması sağlandı. Daha sonra kontrol besini ve asiklovir içeren diğer besinler küçük cam kavanozlara (60 x120 mm) taksim edildi. Her bir besin için 10 larva kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı.

Asiklovirin doğal besin ortamında beslenen *Galleria mellonella* larvaları üzerindeki etkisini belirlemek için yumurtadan yeni çıkan larvalar iki farklı bal peteği ile beslendi. Bu amaçla koyu renkli eski petek (kuluçka peteği) ve doğal şartlarda arı tarafından tamamem bal ile doldurulmuş taze petek kullanılarak iki farklı deney yürütüldü. Antimikrobiyal ajanların gerekli miktarları distile su ile çözülerek farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltiler püskürtmeli bir şişe yardımıyla yaklaşık 20 cm<sup>2</sup>lik petek parçalarının her iki yüzüne serpiştirildi. Larvalar besine aşılardan önce, bu petek parçaları oda sıcaklığında bekletilerek kurumaları sağlandı. Kontrol olarak kullanılacak petek parçasına ise aynı miktar distile su serpildi. Her bir peteğe yumurtadan yeni çıkan larvalar aşılandıktan sonra doğal ortam sağlamak için, bu petek parçasının her iki tarafına diğer petek parçaları bırakıldı. Bu peteklere de antibiyotik çözeltisi püskürtüldü. Kontrol grubu dahil asiklovirin her bir konsantrasyonu için 10'ar larva kullanıldı. Beslenme deneyleri stok kültürün yetiştirildiği ortam şartlarında yürütüldü ve dörder defa tekrarlandı. Doğal besin olarak kullanılan peteklerin hazırlanması, yumurtalardan yeni çıkan larvaların doğal besine aşılardan işlemleri tamamen aseptik olmayan şartlarda yapıldı. Bu işlemlerin uygulanmasında Jarosz (1979; 1981)'un kullandığı yöntemler temel alındı.

Asiklovirin ergin bireylerin yaşama süresine etkisini belirlemek için farklı sentetik ve doğal besinler ile beslenen larvalardan erginleşen bireyler kullanıldı. Bu amaçla yumurtadan yeni çıkmış *G. mellonella* larvaları asiklovirin farklı miktarlarını içeren iki farklı yapay besin karışımı (Haydak, 1936; Bronskill, 1961) ve doğal besin olarak yalnızca koyu renkli eski bal peteği (Jarosz 1979; 1981) ile ergin evreye kadar beslendi. Asiklovirin dört farklı miktarı (0,01, 0,1, 1,0 ve 3,0 g/100 g) ayrı ayrı her iki yapay besinin 100 g'ına ilave edildi. Kontrol grubu olarak asiklovir içermeyen besinler kullanıldı. Doğal besine ise bu miktarların çözeltileri (0,01, 0,1, 1,0 ve 3,0 g/100 ml) püskürtme yöntemi ile uygulandı. Her bir deney için 10 adet ergin dişi kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı. Erginleşen bireyler 30 ml'lik, geniş ağızlı, şeffaf, delikli kapaklı plastik kaplara (ORLAB, L190030, 35x55 mm) birer adet bırakıldı. Deney süresince bu erginlere herhangi bir besin verilmedi. Bu erginler stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında bırakıldı. Erginler, her gün belirli saatte kontrol edilerek yaşama süresi belirlendi.

## 2.6 ASIKLOVİRİN MİKROBİYAL ORGANİZMALARA ETKİSİ

Asiklovirin mikrobiyal organizmalara etkisi (antimikrobiyal etki), Bronskill'in yapay besin karışımı ile doğal besin olan koyu renkli eski bal peteğinin mikrobiyal florası üzerinde incelendi. Bu iki besin, ucuz olması ve kolay hazırlanması sebebiyle *G. mellonella*'nın laboratuvar şartlarında yetiştirilmesinde, yaygın olarak kullanılmaktadır. Asiklovirin 1,0 g'ını içeren besinler kontrol besini ile karşılaştırıldığında ergin olma oranı üzerine istatistiki bakımdan önemli bir etki yapmamıştır. Bu yüzden, denenen diğer besinler arasında, yalnızca asiklovirin 1,0 g'ını içeren yapay ve doğal besinden mikrobiyolojik analiz yapıldı. Asiklovirin denenen düşük miktarları genel olarak böceğin yaşama oranında istatistiksel olarak önemli olmasa da azalmaya sebep olduğundan bu miktarları içeren besinlerin mikrobiyal analizinin yapılmasına gerek duyulmamıştır. Asiklovirin antimikrobiyal etkisinin değerlendirilebilmesi için bu maddeyi içermeyen yapay ve doğal kontrol besinlerinin (kontrol besinleri) mikrobiyolojik analizi de yapıldı. Bu işlemler farklı zamanlarda iki defa tekrarlandı. Larvaların tümü son evreye ulaştıktan sonra pup olmaları için besinden alındıkları zaman

besinlerin bulunduğu kapların ağızları sıkıca kapatıldı. Kabın yüzeyi % 95'lik etil alkol ile silinerek ortamdaki mikroorganizmalardan arındırıldı. Mikrobiyolojik analizler Zonguldak İl Halk Sağlığı Laboratuvarında yapıldı. Gıdalarda önemli sorun oluşturan *Staphylococcus aureus* ve koliform grubu bakteriler ile genel olarak küf ve maya kontaminasyonu ile ilgili ekim yöntemleri (Chapman et al., 1937; Mallmann and Darby, 1941; Galloway and Borges, 1952) kullanıldı (Chapman et al., 1937; Mallmann and Darby, 1941; Galloway and Borges, 1952). Besiyerinde üreyen bakteri, küf ve mantarların miktarı besinin gramı başına koloni oluşturma birimi (kob/g) olarak verildi.

## 2.7 YUMURTALARIN ASİKLOVİR ÇÖZELTİSİNE BATIRILMASI

*G. mellonella* dişilerinin yeni bıraktığı yumurtalar ayrı ayrı saat camlarına, sıkı gözenekli bir elek içinde bırakılarak üzerine denenecek asiklovir çözeltisinden 1'er ml ilave edildi. Çözeltinin tam olarak etki edebilmesi için yumurtalar stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında 24 saat bekletildi. Kontrol grubu yumurtaları ise distile suya batırılarak aynı şartlarda bekletildi. Bu süre sonunda sıvı kısım buharlaşıp tamamen kuruyan yumurtalar delikli kapaklı, küçük plastik kaplara aktarılarak aynı ortam şartlarında açılması için beklendi. Serbest kalan larvalar Bronskill'in yapay besinine aşılansarak ergin evreye kadar yetiştirildi. Böylece yumurtaya uygulanan asiklovirin bu yumurtalardan çıkan larvaların yaş ağırlığı, yaşama ve gelişime etkisi incelendi. Kontrol dahil her bir deney grubu için 10 adet larva kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı.

## 2.8 LARVALARIN ASİKLOVİR ÇÖZELTİSİNE BATIRILMASI

Bu yöntem ile asiklovirin *G. mellonella*'nın farklı evrelerindeki larvalarının yaş ağırlığı, yaşamı ve gelişimine etkisi incelendi. İlk aşamada yumurtadan yeni çıkmış bir günlük larvalar bu amaç için kullanıldı. Saat camlarına asiklovirin denenecek çözeltilerinden 1'er ml konuldu. Bu çözeltilere yumuşak uçlu bir fırça ile belirli sayıda larva bırakılarak stok kültürün devamının sağlandığı ortam şartlarında 20 dakika bekletildi. Bu süre sonunda larvalar temiz bir filtre kağıdı üzerine alındı. Üzerlerindeki sıvının fazlasının uzaklaşması ve tamamen kuruması

için oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Bu larvalardan canlı olanlar Bronskill'in yapay besini ile ergin evreye kadar yetiştirildi. Kontrol dahil her bir deney grubu için 10 adet larva kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı. Daha sonraki aşamada asiklovirin, böceğin henüz olgunlaşmamış genç larvalarının (4. evre) yaşama ve gelişimine etkisi incelendi. Plastik örnek kaplarına (15 ml, ORLAB, L190015, 35x33 mm) asiklovirin denenen miktarlarını içeren çözeltilerden 5'er ml konuldu. Bu çözeltilere stereomikroskop ile ağız yapılarına göre ayırt edilen belirli sayıda 4. evre larvalarından bırakılarak stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında 20 dakika bekletildi. Bu süre sonunda temiz bir filtre kağıdı üzerine alınarak kurutulan larvalardan canlı olanlar Bronskill'in yapay besini ile ergin evreye kadar yetiştirildi. Kontrol dahil her bir deney grubu için 10 adet larva kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı.

## **2.9 PUPLARIN ASİKLOVİR ÇÖZELTİSİNE BATIRILMASI**

Plastik örnek kaplarına (15 ml, ORLAB) asiklovirin denenen miktarlarını içeren çözeltilerden 5'er ml konuldu. Bu çözeltilere yeni oluşan puplardan (bir günlük) 10'ar adet bırakılarak stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında 20 dakika bekletildi. Bu süre sonunda temiz bir filtre kağıdı üzerine alınan puplar havada tamamen kurutulduktan sonra örnek kaplarına (15 ml, ORLAB) konarak stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında ergin olmaları için bekletildi. Kontrol grubu olarak kullanılan puplar saf suya batırılarak aynı şartlarda bekletildi. Her bir deney dörder defa tekrarlandı.

## **2.10 ASİKLOVİRİN LARVALARA ENJEKTE EDİLMESİ**

Bu deney grubunda son evre larvalarına (olgun larva) enjekte edilen asiklovirin farklı miktarlarının pup ve ergin olma oranına ve bu evrelere ulaşma sürelerine etkileri incelendi. Stok kültürün devamı için kullanılan besin ile beslenerek olgunlaşan belirli sayıda larva (7. evre) buz üzerinde 10 dakika bekletilerek soğutuldu. Kontaminasyonu önlemek için larvaların yüzeyleri % 95'lik etil alkol ile silindi. Denenecek asiklovir çözeltileri 50 µl'lik mikroşırınga (Hamilton, Reno, NV) ile 30 µl'lik hacimler halinde larvalara enjekte edildi. Enjeksiyon işlemi

larvaların abdomeninin sol yan tarafına son iki segment arasına yüzeye paralel olarak yapıldı. Bu larvalar pup olmaları için geniş ağızlı, delikli kapaklı, plastik kaplara (30 ml, ORLAB) bırakılarak stok kültürün devamı için gerekli ortam şartlarında bekletildi.

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

Besinlere aşıldıktan sonra gelişimlerini tamamlayarak olgunlaşan larvaların pup oluşturmaları için 15 ml'lik plastik örnek kaplarına her kaptaki bir larva olacak şekilde bırakıldı. Olgunlaşan larva sayısı belirlenerek her larvanın yaş ağırlığı hassas terazide (Presica XB 620M) tartıldı ve larval olgunluğa kadar geçen süre kaydedildi. Bu kapların içerisine larvaların pup olması için ortam sağlamak üzere katlanmış, ince pelur kağıt bırakıldı. Pup olan bireylerin sayısı, yaş ağırlığı ve pup olma süreleri belirlendi. Bu puplardan erginleşen bireylerin sayısı, yaş ağırlığı ve ergin olma süreleri belirlendi. Denemeler sırasında ortaya çıkan normal olmayan

gelişim evrelerinin fotoğrafları (40X) steromikroskoba (Nikon SMZ1000) takılan otomatik kamera (Nikon E995) ile çekildi.

## 2.11 ASİKLOVİRİN DİŞİLERE ENJEKSİYON İLE UYGULANMASI

Asiklovirin *G. mellonella* dişilerinin yumurta verimine etkisini incelemek için yeni erginleşen döllenenmemiş bir günlük dişiler kullanıldı. Bu dişilere asiklovir çözeltisi enjekte edildikten sonra geniş ağızlı, delikli kapaklı, plastik kaplara (15 ml, ORLAB) her kapta bir adet dişi olacak şekilde bırakıldı. Kontrol grubu dişilerine ise yalnızca saf su enjekte edildi. *G. mellonella*'nın erginleri besin almadığı (Charrière and Imdorf, 1997) için bu dişilere yumurta bırakma süresi içerisinde herhangi bir besin verilmedi. Enjekte edilecek bölge kontaminasyonu önlemek için % 95'lik etil alkol ile temizlendi. Enjeksiyon işlemi dişilerin abdomeninin sol yan tarafından son iki segment arasına yüzeye paralel olarak yapıldı. Denenecek asiklovir çözeltileri 10 µl'lik mikroşırınga (Hamilton, Reno, NV) ile 5 µl'lik hacimler halinde larvalara enjekte edildi. Enjeksiyon işleminde Stanley et al. (1986)'ın uyguladığı yöntemler izlendi. Kontrol ve asiklovirin her bir miktarı (0,1, 1,0 ve 3,0 g) için 10 adet dişi kullanıldı ve deneyler dört defa tekrarlandı. Dişiler tarafından bırakılan yumurtalar siyah bir zemin üzerine konulan petri kutusu içinde sayıldı. Yapılan ön denemeler erginleşen dişilerin ilk 48 saat içinde yumurtalarının çoğunluğunu bıraktığını göstermiştir. Bu yüzden ilk iki gün içinde bırakılan yumurtalar sayılarak tartıldı ve açılması için stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında bekletildi. Yumurta üretimi, bir günde dişi başına bırakılan yumurta sayısı ele alınarak değerlendirildi ve dişinin verimliliği olarak ifade edildi. Her gün açılan larvalar yine siyah bir zemin üzerinde sayılarak yumurtaların açılma oranı tespit edildi.

## 2.12 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Asiklovirin *G. Mellonella*'nın büyüme, yaşama ve gelişimi üzerindeki etkileri olgun larva, pup ve ergin evresine ulaşan bireylerin yaş ağırlığı, yüzdesi ve bu evrelere ulaşmak için geçen ortalama süre (gün) dikkate alınarak değerlendirildi. Asiklovirin yapay ve doğal besinler ile yetiştirilen ergin bireylerin yaşama

süresine etkisi erginleşen bireylerin hayatta kaldıkları gün olarak ortalama süre belirlenerek değerlendirildi. Asiklovirin *G. mellonella* dişilerinin verimliliği üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde ise bırakılan yumurta sayısı, yumurtaların toplam ağırlığı ve açılma oranı dikkate alındı. Asiklovirin besindeki muhtemel mikrobiyal organizmalara etkisinin (antimikrobiyal etki) belirlenmesinde bu maddeyi içeren (1,0 g/100g) ve içermeyen (kontrol besini) besinlerin, belirli mikrobiyal organizmalar için yapılan mikrobiyolojik ekimlerin sonuçları dikkate alındı ve bu sonuçlar t-testi ile değerlendirildi (Sokal and Rohlf, 1969). Yaş ağırlık, yaşama, gelişim, erginlerin yaşama süresi ve dişilerin verimliliği ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde “Varyans Analizi” (ANOVA) (Snedecor and Cochran, 1967), ortalamalar arasındaki farkın önemini saptamak için Duncan (1955)’in “Multiple Range Test”i kullanıldı. Ortalamaların önemi 0,05 olasılık seviyesinde değerlendirildi.

## BÖLÜM 3

### DENEYLER VE SONUÇLAR

#### 3.1 ASİKLOVİRİN BRONSKİLL'İN YAPAY BESİNİ İLE BESLENEN *G. MELLONELLA* LARVALARINA ETKİSİ

Asiklovirin farklı miktarlarını içeren besinlerin larvaların ortalama yaş ağırlığı, yaşama ve gelişimine etkileri Çizelge 3.1'de görülmektedir.

Bu antiviral maddenin denenen en düşük miktarı (0,001g) larvaların olgunlaşma süresini önemli derecede uzatırken bu olumsuz etki ergin evreye doğru ortadan kalkmıştır. Bu miktarın aynı zamanda ergin olma oranı üzerinde de önemli bir etkisi olmamıştır. Asiklovirin 0,01 ve 3,0 g'ını içeren besinler ise hem olgun larva oranı hem de larva sonrası evrelerdeki yaşama oranını istatistiksel olarak önemli derecede düşürmüştür. Asiklovirin bu miktarlarını içeren besinlerdeki larvalar ancak ortalama % 12,0 ± 8,6 gibi oldukça düşük bir oranda ergin oluşturmuştur. Asiklovirin 3,0 g'ını içeren besin yaşama üzerindeki bu olumsuz etkisinin yanında larvaların ergin olma süresini de önemli derecede uzatmıştır. Bu besin ile beslenen larvaların kontrol besinine göre pup evresine ulaşma süresi yaklaşık beş gün uzamış olup bu puplar ortalama üç gün daha geç erginleşmiştir. Asiklovirin denenen bu en yüksek miktarı (3,0 g) ile beslenen larvaların prepup evresine geçişinde larval deriyi uzaklaştırmada zorlandığı gözlenmiştir (Şekil 3.1). Kontrol besini ile karşılaştırıldığında, asiklovirin 0,1 g'ı olgun larvaların ortalama yaş ağırlığını istatistiksel olarak önemli derecede artırmıştır. Bu miktar böceğin larva, pup ve ergin evredeki yaşama oranında istatistiki açıdan önemli olmayan bir azalmaya sebep olurken bu evrelere ulaşmak için gerekli olan süre üzerinde de önemli bir etkide bulunmamıştır. Bu antiviral maddenin 1,0 g'ını içeren besin ise böceğin ortalama yaş ağırlığı, yaşamı ve gelişimi üzerine önemli bir etkisi olmamıştır.

Çizelge 3.1 Asiklovirin koyu renkli bal peteği içeren Bronskill'in yapay besini ile beslenen *G. mellonella* larvalarının yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesine etkisi

Asiklovir miktarı	Larval yaş ağırlık (mg)	Olgun larva oranı (%)	Larval olgun. Süresi (gün)	Pupal yaş ağırlık (mg)	Pup olma oranı (%)	Pup olma süresi (gün)	Ergin yaş ağırlığı (mg)	Ergin olma oranı (%)	Ergin olma süresi (gün)
g/100 g besin*	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†
0,000§	132,5 ± 3,6 <sup>a</sup>	52,5 ± 14,7 <sup>a</sup>	31,8 ± 3,6 <sup>a</sup>	66,9 ± 2,4 <sup>a</sup>	37,5 ± 8,3 <sup>a</sup>	34,7 ± 4,6 <sup>a</sup>	34,1 ± 4,5 <sup>a</sup>	30,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	45,2 ± 2,2 <sup>a</sup>
0,001	132,9 ± 7,2 <sup>a</sup>	52,5 ± 8,2 <sup>a</sup>	35,6 ± 2,9 <sup>b</sup>	63,8 ± 1,1 <sup>a</sup>	30,0 ± 7,1 <sup>a,b</sup>	36,7 ± 3,8 <sup>a,b</sup>	33,1 ± 4,1 <sup>a</sup>	22,5 ± 4,3 <sup>a,b</sup>	46,0 ± 1,6 <sup>a,b</sup>
0,01	136,8 ± 0,8 <sup>a</sup>	27,5 ± 8,3 <sup>b</sup>	32,2 ± 3,5 <sup>a,c</sup>	69,0 ± 6,9 <sup>a</sup>	15,0 ± 5,0 <sup>b</sup>	36,3 ± 2,6 <sup>a,b</sup>	33,2 ± 5,7 <sup>a</sup>	12,5 ± 4,3 <sup>b</sup>	45,0 ± 2,1 <sup>a</sup>
0,1	168,5 ± 10,9 <sup>b</sup>	47,5 ± 9,5 <sup>a,b</sup>	30,1 ± 4,4 <sup>a</sup>	84,9 ± 15,2 <sup>a,b</sup>	27,5 ± 8,2 <sup>a,b</sup>	37,6 ± 2,7 <sup>a,b</sup>	34,3 ± 10,3 <sup>a</sup>	20,0 ± 7,1 <sup>a,b</sup>	44,2 ± 3,4 <sup>a</sup>
1,0	143,8 ± 4,8 <sup>a</sup>	45,0 ± 5,0 <sup>a,b</sup>	32,4 ± 2,6 <sup>a,c</sup>	61,2 ± 1,1 <sup>a</sup>	37,5 ± 4,3 <sup>a</sup>	37,3 ± 3,1 <sup>a,b</sup>	31,3 ± 3,7 <sup>a,b</sup>	35,0 ± 7,2 <sup>a,c</sup>	45,8 ± 2,8 <sup>a</sup>
3,0	138,6 ± 11,5 <sup>a</sup>	25,0 ± 12,3 <sup>b</sup>	34,4 ± 1,7 <sup>b,c</sup>	65,9 ± 12,1 <sup>a</sup>	20,0 ± 17,3 <sup>b</sup>	39,3 ± 2,4 <sup>b</sup>	29,8 ± 8,3 <sup>a,b</sup>	12,0 ± 8,6 <sup>b</sup>	48,6 ± 1,9 <sup>b</sup>

\*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 10 larva kullanıldı

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

§ Kontrol besini (asiklovir içermeyen)

\* Asiklovirin denenen miktarları doğrudan besine ilave edildi



**Şekil 3.1** Asiklovirin 3,0 g'ını içeren besinde beslenen ve pup evresine normal gelişimini tamamlayamayan *G. mellonella* larvası

### **3.2 ASİKLOVİRİN HAYDAK'IN YAPAY BESİNİ İLE BESLENEN *G. MELLONELLA* LARVALARINA ETKİSİ**

Denenen asiklovir miktarları ve bunların larvalar üzerindeki etkileri ile ilgili veriler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Asiklovirin denenen düşük miktarlarını (0,001 ve 0,01 g) içeren besinler ile beslenen larvaların olgunlaşma oranı önemli derecede azalmış olup bu evredeki gelişme süresi de gecikmiştir. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında bu iki besin larvaların pup ve ergin olma oranını da istatistiki bakımdan önemli derecede düşürmüştür ancak bu evrelere ulaşma süresini etkilememiştir. Buna karşılık asiklovirin 0,1 g'ı böceğin larva ve larva sonrası evrelerdeki yaşama ve gelişim üzerinde önemli bir etki yapmamıştır. Denenen bu miktar yalnızca olgunlaşan larvaların ortalama yaş ağırlığını düşürmüştür olup bu olumsuz etki diğer evrelerde ortadan kalkmıştır. Besindeki asiklovir miktarının 1,0 g'a çıkarılması hem larval hem de pup ve ergin evredeki yaş ağırlığı önemli derecede düşürmüştür, gelişme süresini ise geciktirmiştir. Ancak, asiklovirin bu miktarını içeren besin, böceğin

**Çizelge 3.2** Asiklovirin kuru toz maya ve süt tozu içeren Haydak<sup>1</sup>'in yapay besin ile beslenen *G. mellonella* larvalarının yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesine etkisi

Asiklovir miktarı	Larval yaş ağırlık (mg)	Olgun larva oranı (%)	Larval olgun. Süresi (gün)	Pupal yaş ağırlık (mg)	Pup olma Oranı (%)	Pup olma süresi (gün)	Ergin yaş ağırlığı (mg)	Ergin olma oranı (%)	Ergin olma süresi (gün)
g/100g besin*	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>
0,000 <sup>§</sup>	134,5 ± 2,9 <sup>a</sup>	92,5 ± 8,3 <sup>a</sup>	23,0 ± 0,9 <sup>a</sup>	75,1 ± 8,8 <sup>a</sup>	77,5 ± 12,9 <sup>a</sup>	26,6 ± 1,1 <sup>a</sup>	40,6 ± 5,6 <sup>a</sup>	69,3 ± 15,8 <sup>a</sup>	31,4 ± 0,8 <sup>a</sup>
0,001	143,4 ± 2,0 <sup>a</sup>	65,0 ± 11,1 <sup>b</sup>	25,1 ± 1,6 <sup>b</sup>	73,1 ± 4,3 <sup>a</sup>	60,0 ± 7,1 <sup>b</sup>	29,9 ± 0,7 <sup>a</sup>	41,8 ± 6,1 <sup>a</sup>	50,0 ± 7,1 <sup>b</sup>	34,5 ± 1,2 <sup>a</sup>
0,01	148,4 ± 12,7 <sup>a</sup>	62,5 ± 10,2 <sup>b</sup>	25,2 ± 2,3 <sup>b</sup>	72,3 ± 4,9 <sup>a</sup>	60,0 ± 18,7 <sup>b</sup>	28,2 ± 2,9 <sup>a</sup>	41,6 ± 4,4 <sup>a</sup>	42,5 ± 12,7 <sup>b</sup>	30,5 ± 2,2 <sup>ac</sup>
0,1	117,1 ± 13,4 <sup>b</sup>	90,5 ± 8,3 <sup>a</sup>	24,7 ± 1,7 <sup>ab</sup>	75,5 ± 4,9 <sup>a</sup>	76,5 ± 12,9 <sup>ab</sup>	29,5 ± 1,6 <sup>a</sup>	40,8 ± 1,5 <sup>a</sup>	70,0 ± 11,1 <sup>a</sup>	33,8 ± 0,8 <sup>a</sup>
1,0	107,7 ± 2,1 <sup>b</sup>	83,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	27,9 ± 1,4 <sup>c</sup>	55,3 ± 8,1 <sup>b</sup>	80,3 ± 12,9 <sup>a</sup>	30,6 ± 1,9 <sup>ab</sup>	29,7 ± 2,0 <sup>b</sup>	72,3 ± 11,2 <sup>a</sup>	37,6 ± 0,9 <sup>b</sup>
3,0	100,3 ± 13,5 <sup>b</sup>	40,0 ± 12,3 <sup>b,c</sup>	24,4 ± 2,3 <sup>ab</sup>	62,5 ± 18,1 <sup>ab</sup>	25,0 ± 11,1 <sup>c</sup>	30,9 ± 5,4 <sup>ab</sup>	33,5 ± 13,5 <sup>ab</sup>	20,0 ± 7,1 <sup>c</sup>	36,7 ± 3,9 <sup>b</sup>

\*Dört tekrarı ortalaması, her bir tekrar için 10 larva kullanıldı.

<sup>†</sup>Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir,  $P > 0,05$

<sup>§</sup>Kontrol besini (asiklovir içermeyen)

<sup>‡</sup>Asiklovirin denecek miktarları doğrudan besine ilave edildi

yaşama oranını etkilememiş olup besindeki larvaların ortalama %  $80,3 \pm 12,9$ 'ü pup, %  $72,3 \pm 11,2$ 'ü ise ergin olmuştur. Bu antiviral maddenin denenen en yüksek miktarı, böceğin tüm gelişim evrelerindeki yaşama oranını önemli derecede düşürmüştür. Bu miktarın, larvaların olgunlaşması ve pup oluşumu için gerekli süre üzerinde etkisi olmasa da ergin olma süresini önemli derecede uzatmıştır. Bu larvalar %  $20,0 \pm 7,1$  gibi çok küçük bir oranda ergin oluşturmuş ve kontrol besinine göre yaklaşık beş gün daha geç bu evreye ulaşmışlardır.

### **3.3 ASİKLOVİRİN BOŞ ESKİ BAL PETEĞİ (KULUÇKA PETEĞİ) İLE BESLENEN *G. MELLONELLA* LARVALARINA ETKİSİ**

Asiklovirin denenen miktarlarının doğal besin olan koyu renkli eski petek ile beslenen larvalar üzerindeki etkileri Çizelge 3.3'de görülmektedir.

Denenen asiklovir miktarlarının hiç biri olgun larvaların yaş ağırlığını etkilemediği halde denenen düşük miktarlar (0,01 ve 0,1 g) pup evresindeki yaş ağırlığı istatistiksel olarak önemli derecede artırmıştır. Bu miktarların ergin evredeki yaş ağırlık üzerinde ise önemli bir etkisi olmamıştır. Asiklovirin denenen en düşük miktarı (0,01 g) böceğin yaşama oranına önemli bir etki yapmazken yalnızca larva sonrası evrelerdeki gelişmesini geciktirmiştir. Besine 0,1 g asiklovir ilave edilmesi hem larvaların olgunlaşması hem de pup ve ergin olmaları için gerekli süreyi önemli derecede uzatmıştır. Bu miktar pup ve ergin yüzdesini düşürmesine rağmen kontrol besini ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark ortaya çıkmamıştır. Asiklovirin 1,0 g'ı böceğin yaşama ve gelişimine önemli bir etkide bulunmamıştır. Bu miktarı içeren besin ile beslenen larvalar kontrol besininden elde edilene (%  $60,0 \pm 7,1$ ) çok yakın bir oranda (%  $58,5 \pm 5,1$ ) ergin oluşturmuştur. Denenen en yüksek asiklovir miktarı (3,0 g) ise böceğin bütün evrelerindeki yaşama oranı üzerinde önemli derecede azalmaya sebep olmuştur. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında bu besin ile beslenen larvaların ancak dörtte biri (%  $15,0 \pm 5,0$ ) yaklaşık dokuz gün gecikerek ergin evreye ulaşabilmiştir.

Çizelge 3.3 Asiklovirin doğal besin, koyu renkli bal peteği (kuluçka peteği), ile beslenen *G. mellonella* larvalarının yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesine etkisi

Asiklovir miktarı g/100 ml <sup>#</sup>	Larval yaş ağırlık (mg) (Ort <sup>†</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Olgun larva oranı (%) (Ort <sup>†</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Larval olgun. Süresi (gün) (Ort <sup>†</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Pupal yaş ağırlık (mg) (Ort <sup>†</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Pup olma Oranı (%) (Ort <sup>†</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Pup olma süresi (gün) (Ort <sup>†</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Ergin yaş ağırlığı (mg) (Ort <sup>†</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Ergin olma oranı (%) (Ort <sup>†</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Ergin olma süresi (gün) (Ort <sup>†</sup> ± S.H) <sup>†</sup>
0,00 <sup>§</sup>	166,5 ± 39,4 <sup>a</sup>	77,5 ± 7,5 <sup>a</sup>	18,9 ± 2,7 <sup>a</sup>	96,1 ± 20,4 <sup>a</sup>	62,5 ± 4,7 <sup>a</sup>	23,1 ± 3,5 <sup>a</sup>	49,2 ± 12,0 <sup>a,b</sup>	60,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	31,2 ± 3,7 <sup>a</sup>
0,01	165,5 ± 62,7 <sup>a</sup>	77,5 ± 8,5 <sup>a</sup>	22,0 ± 3,0 <sup>a</sup>	121,9 ± 22,3 <sup>b</sup>	52,5 ± 8,5 <sup>a</sup>	28,6 ± 3,9 <sup>b</sup>	58,6 ± 28,2 <sup>a</sup>	47,5 ± 8,7 <sup>a</sup>	35,1 ± 3,5 <sup>b</sup>
0,1	159,1 ± 57,8 <sup>a</sup>	67,5 ± 10,1 <sup>a</sup>	25,5 ± 2,0 <sup>b</sup>	120,6 ± 14,5 <sup>b</sup>	37,5 ± 6,3 <sup>a,b</sup>	32,2 ± 1,6 <sup>b</sup>	53,9 ± 24,2 <sup>a,b</sup>	35,0 ± 6,2 <sup>a,b</sup>	37,2 ± 2,6 <sup>b</sup>
1,0	159,7 ± 32,7 <sup>a</sup>	65,0 ± 5,3 <sup>a</sup>	18,0 ± 2,6 <sup>a</sup>	111,2 ± 20,0 <sup>a,b</sup>	60,5 ± 5,0 <sup>a</sup>	25,7 ± 4,3 <sup>a</sup>	49,3 ± 14,7 <sup>a,b</sup>	58,5 ± 5,1 <sup>a</sup>	31,4 ± 3,9 <sup>a</sup>
3,0	150,0 ± 35,7 <sup>a</sup>	30,0 ± 5,0 <sup>b</sup>	24,2 ± 3,9 <sup>a,b</sup>	98,5 ± 15,5 <sup>a</sup>	22,5 ± 3,0 <sup>b</sup>	33,4 ± 7,2 <sup>b</sup>	39,9 ± 15,9 <sup>b</sup>	15,0 ± 5,0 <sup>b</sup>	40,0 ± 9,9 <sup>c</sup>

<sup>#</sup>Dört tekrarı ortalaması, her bir tekrar için 10 larva kullanıldı

<sup>†</sup>Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P> 0,05

<sup>§</sup>Kontrol grubu peteklere yalnızca saf su uygulandı

<sup>#</sup>Asiklovirin denenen miktarlarının saf suda hazırlanan çözeltileri 20 cm<sup>2</sup> lik boş peteklere yüzeyssel olarak uygulandı

### 3.4 ASİKLOVİRİN BALLI PETEK İLE BESLENEN *G. MELLONELLA* LARVALARINA ETKİSİ

Doğal besin olarak bal ile dolu olan peteklere yüzeysel uygulanan farklı asiklovir miktarları *G. mellonella*'nın yaşama oranı üzerinde etkili olmamıştır (Çizelge 3.4). Verilerden de anlaşıldığı gibi asiklovir uygulanmayan kontrol peteği ile beslenen larvalar oldukça düşük oranda ergin oluşturmuştur. Gerek kontrol peteği gerekse asiklovir uygulanan peteklere bırakılan larvaların yüzeyde toplandığı, bal tabakasının içine doğru ilerleyemediği kenar bölgelerdeki petekler üzerinde toplandığı gözlenmiştir. Asiklovirin 0,01 g'ının uygulandığı besin, larvaların gelişme süresini önemli derecede uzatmış, pup ve ergin evreye ulaşan böceklerin ortalama yaş ağırlığını da düşürmüştür. Besine uygulanan 0,1 g asiklovir larvaların yaş ağırlığı ve yaşaması üzerine etkili olmamış ancak ergin evreye ulaşmak için gerekli süreyi kontrol besinine göre ortalama 5,5 gün kısaltmıştır. Asiklovir miktarının 1,0 g'a çıkarılması böceğin larva ve larva sonrası evrelerindeki gelişimini önemli derecede hızlandırmış olup kontrol besininde 49,5 ± 2,9 gün olan ergin olma süresi 38,7 ± 1,1 güne kadar kısaltılmıştır. Bu miktar, böceğin bütün evrelerindeki bireylerin yaş ağırlığını da önemli derecede artırmıştır. Bunun aksine, uygulanan en yüksek asiklovir miktarı (3,0 g) larvaların olgunlaşma süresini kontrol besinine göre önemli derecede uzatmış, ergin olma süresini etkilememiştir.

### 3.5 ASİKLOVİRİN *G. MELLONELLA* ERGİNLERİNİN YAŞAMA SÜRESİNE ETKİSİ

Çizelge 3.5 asiklovirin iki farklı yapay besin karışımı ve doğal besin olarak koyu renkli boş petek ile beslenen larvalardan elde edilen erginlerin yaşama süresine etkisini göstermektedir.

Öğütülmüş koyu renki eski bal peteği içeren Bronskill'in yapay besinine ilave edilen asiklovirin düşük miktarları elde edilen erginlerin yaşama süresini etkilememiştir. Buna karşılık denenen yüksek miktarları (1,0 ve 3,0 g/100 g besin) içeren besinler ile yetiştirilen erginler daha uzun süre yaşamışlardır. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında asiklovirin 1,0 g'ını içeren besinde yaşama süresi

Çizelge 3.4 Asiklovirin, an tarafından doğal olarak bal ile doldurulmuş peteklerde beslenen *G. mellonella* larvalarının yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesine etkisi

Asiklovir miktarı g/100ml <sup>a</sup>	Larval yaş	Olgun larva oranı (%)	Larval olgun. Süresi (gün)	Pupal yaş ağırlık (mg)	Pup olma Oranı (%)	Pup olma süresi (gün)	Ergin yaş ağırlığı (mg)	Ergin olma oranı (%)	Ergin olma süresi (gün)
	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort ± S.H) <sup>†</sup>
0,00 <sup>b</sup>	74,1 ± 3,8 <sup>a</sup>	30,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	36,5 ± 1,1 <sup>a</sup>	58,0 ± 1,6 <sup>a</sup>	22,5 ± 8,2 <sup>a</sup>	39,5 ± 2,9 <sup>a</sup>	23,2 ± 2,4 <sup>a</sup>	22,5 ± 4,3 <sup>a</sup>	49,5 ± 2,9 <sup>a</sup>
0,01	74,5 ± 5,6 <sup>a</sup>	25,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	41,1 ± 1,3 <sup>b</sup>	44,0 ± 3,0 <sup>b</sup>	25,0 ± 5,0 <sup>a</sup>	43,2 ± 2,8 <sup>b</sup>	13,4 ± 3,9 <sup>b</sup>	15,0 ± 5,0 <sup>a</sup>	53,7 ± 2,9 <sup>b</sup>
0,1	66,2 ± 3,3 <sup>a</sup>	25,0 ± 8,3 <sup>a</sup>	36,3 ± 0,7 <sup>a</sup>	61,6 ± 6,3 <sup>a</sup>	15,0 ± 5,0 <sup>a</sup>	38,2 ± 1,1 <sup>a</sup>	22,0 ± 4,3 <sup>a</sup>	12,5 ± 4,3 <sup>a</sup>	44,0 ± 1,6 <sup>cd</sup>
1,0	94,2 ± 3,2 <sup>b</sup>	30,0 ± 8,3 <sup>a</sup>	29,7 ± 1,1 <sup>b,c</sup>	72,2 ± 2,7 <sup>a,c</sup>	20,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	33,5 ± 1,8 <sup>c</sup>	32,5 ± 5,5 <sup>c</sup>	20,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	38,7 ± 1,1 <sup>d</sup>
3,0	73,7 ± 3,0 <sup>a</sup>	25,0 ± 11,1 <sup>a</sup>	39,3 ± 0,8 <sup>b</sup>	41,3 ± 2,4 <sup>b</sup>	15,0 ± 4,9 <sup>a</sup>	41,2 ± 2,6 <sup>a,b</sup>	17,7 ± 1,5 <sup>a,b</sup>	12,5 ± 4,3 <sup>a</sup>	53,0 ± 2,5 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup> Dört tekrarı ortalaması, her bir tekrar için 10 larva kullanıldı

<sup>†</sup> Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir,  $P > 0,05$

<sup>§</sup> Kontrol grubu peteklere yalnızca saf su uygulandı

<sup>#</sup> Asiklovirin denenen miktarlarının saf suda hazırlanan çözeltileri bal ile doldurulmuş 20 cm<sup>2</sup> lik peteklere yüzeyset olarak uygulandı

**Çizelge 3.5** Asiklovirin yapay ve doğal besin ortamlarında yetiştirilen *G. mellonella* erginlerinin yaşama süresine etkisi

Besindeki asiklovir miktarı g/100g / g/100ml	Bronskill <sup>‡</sup> 'in yapay besimi <sup>‡</sup> Ergin evredeki yaşama süresi (Ort <sup>±</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Haydak <sup>‡</sup> 'in yapay besimi <sup>‡</sup> Ergin evredeki yaşama süresi (Ort <sup>±</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Doğal besin; koyu renkli petek <sup>#</sup> Ergin evredeki yaşama süresi (Ort <sup>±</sup> ± S.H) <sup>†</sup>
0,00 <sup>§</sup>	6,8 ± 0,5 <sup>a</sup>	6,3 ± 0,7 <sup>a</sup>	7,3 ± 0,4 <sup>a</sup>
0,01	6,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	8,7 ± 0,6 <sup>b</sup>	7,1 ± 0,7 <sup>a</sup>
0,1	7,1 ± 1,1 <sup>a</sup>	7,6 ± 0,4 <sup>a,b</sup>	6,3 ± 0,9 <sup>a</sup>
1,0	8,9 ± 0,3 <sup>b</sup>	6,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	9,4 ± 0,4 <sup>b</sup>
3,0	8,2 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,6 ± 0,6 <sup>b</sup>	6,2 ± 0,3 <sup>a</sup>

<sup>\*</sup>Dört tekrarı ortalaması, her bir tekrar için 10 ergin kullanıldı

<sup>†</sup>Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir,  $P > 0,05$

<sup>§</sup>Yapay besin ile yapılan beslenme denemelerinde kontrol olarak asiklovir içermeyen besin kullanıldı;

Doğal besin ile yapılan beslenme denemelerinde kontrol grubu peteklere yalnızca saf su uygulandı

<sup>#</sup>Asiklovirin denenen miktarlarının çözeltileri (g/100 ml) 20 cm<sup>2</sup> lik boş peteklere yüzeysel olarak uygulandı

<sup>‡</sup>Asiklovirin denenen miktarları doğrudan besine (g/100g besin) ilave edildi

istatistiksel bakımdan önemli derecede uzamış olup  $6,8 \pm 0,5$  günden  $8,9 \pm 0,3$  güne ulaşmıştır.

Kuru toz maya ve süt tozu içeren Haydak'ın yapay besinine asiklovirin 1,0 g'ının ilave edilmesi, bu miktarı içeren önceki yapay besinin tersine, ergin bireylerin hayatta kalma süresini etkilememiştir. Bu besine ilave edilen asiklovirin en düşük ve en yüksek miktarları ise erginlerin yaşama süresini istatistiksel bakımdan önemli derecede uzatmıştır. Bu antiviral maddenin en düşük miktarını (0,01 g) içeren besin ile beslenen larvalardan erginleşen bireyler kontrol besinine göre yaklaşık 2,5 gün daha uzun yaşamıştır. Benzer bir sonuç denenen en yüksek asiklovir miktarı (3,0 g) ile de elde edilmiştir.

Doğal besin olan koyu renkli boş bal peteğine (kuluçka peteği) püskürtülerek uygulanan asiklovirin 1,0 g'ı (1,0 g/100 ml) *G. mellonella* erginlerinin yaşama süresini önemli derecede uzatmıştır. Kontrol peteklerinde yetiştirilen erginler  $7,3 \pm 0,4$  gün yaşarken asiklovirin 1,0 g'ının uygulandığı petekte bu süre  $9,4 \pm 0,4$  güne uzamıştır. Bu antiviral maddenin denenen diğer miktarları ise bu hususta etkili olmamıştır.

### 3.6 ASİKLOVİRİN BESİN ORTAMLARINDAKİ MİKROBİYAL ORGANİZMALARA ETKİSİ

Asiklovirin *G. mellonella* larvalarının yetiştirilmesinde kullanılan yapay ve doğal besin ortamlarındaki mikrobiyal organizmalara etkisi Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Beslenme deneylerinde kontrol besini olarak kullanılan Bronskill'in yapay besinin mikrobiyal florasında ortalama  $6000,0 \pm 565,6$  koloni (kob.) ile en fazla maya bulunmuştur. Bu besinin küf miktarı ise  $800,0 \pm 23,6$  koloni olarak tespit edilmiştir. Bakteriye kontaminasyon kaynaklarından koliform bakteriler tespit edilemediği halde, *Staphylococcus aureus* bakterisi besinin gramında  $3200,0 \pm 141,4$  adet koloni oluşturmuştur. Bu besine asiklovirin 1,0 g'nın ilave edilmesi bu

Çizelge 3.6. Asiklovirin *G. mellonella*'nın yapay ve doğal besin ortamlarındaki mikrobiyal organizmalara etkisi

Besindeki mikrobiyal kontaminasyon kaynağı	Bronskill'in yapay besin ortamı		Doğal besin; (koyu renkli petek)	
	Kontrol (0,0 g/100 g) <sup>§</sup> (Kob / g besin) <sup>¶</sup> (Ort <sup>*</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Asiklovir (1,0 g/100 g) <sup>#</sup> (Kob / g besin) <sup>¶</sup> (Ort <sup>*</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Kontrol (0,0 g/100 ml) <sup>§</sup> (Kob / g besin) <sup>¶</sup> (Ort <sup>*</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	Asiklovir (1,0 g/100 ml) <sup>#</sup> (Kob / g besin) <sup>¶</sup> (Ort <sup>*</sup> ± S.H) <sup>†</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	3200,0 ± 141,4	—	7500,0 ± 353,5 (x)	1500,0 ± 141,4 (y)
Koliform grubu bakteriler	—	—	1100,0 ± 84,8	—
Küf	800,0 ± 23,6 (x)	50,0 ± 2,3 (y)	∞	4000,0 ± 212,1
Maya	6000,0 ± 565,6 (x)	800,0 ± 35,3 (y)	∞	500,0 ± 106,1

\*İki tekrarı ortalaması

<sup>†</sup>Aynı saurda farklı harfi [(x) (y)] içeren değerler birbirinden farklıdır,  $P > 0,05$  (t-testi)

<sup>#</sup>Asiklovirin denenen miktarı (1,0g/100g) doğrudan besine ilave edildi

<sup>§</sup>Kontrol besini (asiklovir içermeyen)

<sup>¶</sup>Asiklovirin denenen miktarının çözeltisi (1,0g/100 ml) bal ile doldurulmuş 20 cm<sup>2</sup> lik boş peteklere yüzeyel olarak uygulandı

<sup>∞</sup>Besinin gramında bulunan mikroorganizmaların koloni oluşturma birimi (Kob) olarak miktarı

<sup>∞</sup>Sayılmayacak kadar çok sayıda

bakterinin üremesini tamamen ortadan kaldırdığı gibi küf ve maya miktarını da önemli derecede azaltmıştır (sırasıyla  $50,0 \pm 2,3$  ve  $800,0 \pm 35,3$  kob).

Doğal besin olarak kullanılan koyu renkli eski peteklerden yapılan mikrobiyolojik ekimlerin sonucunda sayılamayacak kadar küf ve maya ürettiği, bakteriyel kontaminasyonların ise oldukça yüksek olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu peteklerde  $7500 \pm 353,5$  gibi oldukça yüksek miktarda *Staphylococcus aureus* kolonisi sayılmıştır. Bu bakterinin miktarı asiklovirin 1.0 g'ı tarafından önemli derecede azaltılmıştır ( $1500 \pm 141,4$  kob). Peteklerde, yapay besin karışımında bulunmayan koliform grubu bakteriler de tespit edilmiştir ( $1100 \pm 84,8$  kob). Asiklovirin 1,0 g'nun uygulandığı bu peteklerde koliform grubu bakterilerin üremesi tamamen önlenmiş gibi küf ve maya miktarı da önemli derecede azalmıştır.

### 3.7 ASİKLOVİRİN *G. MELLONELLA*'NİN YUMURTALARINA ETKİSİ

Asiklovir ile muamele edilen yumurtalardan yeni açılan ve Bronskill'in yapay besini ile beslenen larvaların yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesi ile ilgili veriler Çizelge 3.7'de görülmektedir.

Asiklovirin denenen en düşük konsantrasyonlu çözeltisi (0,01 g/100 ml) ile yumurtaların muamele edilmesi, bu yumurtalardan açılan larvaların olgunlaşma yüzdesini ve bunların yaş ağırlığını önemli derecede artırmış ancak olgunlaşma süresini etkilememiştir. Bu larvaların oluşturduğu pup ve erginlerin yüzdesi kontrol besinine göre önemli derecede artmış olup gelişme süreleri de kısalmıştır. Saf su ile muamele edilen yumurtalardan açılan kontrol grubu larvaları %  $22,5 \pm 8,2$  gibi çok düşük bir oranda ergin oluşturabilmiştir. Yumurtalara 0,01 g asiklovirin uygulanması ile ergin olma oranı %  $46,0 \pm 4,1$ 'e yükselmiştir. Bu antiviral maddenin diğer denenen miktarları ise larvaların yaşama oranını önemli derecede etkilememiştir. Asiklovirin 1,0 ve 6,0 g'ı yumurtadan yeni açılan larvaların olgunlaşma süresini önemli derecede kısaltmıştır. Bu miktarlar ergin olma süresini de kısaltmasına rağmen bu hususta istatistiksel olarak önemli bir etki ortaya çıkmamıştır.

Çizelge 3. 7 *G. mellonella*'nın yumurtalarına yützeysel uygulanan asiklovirin yeni açılan larvaların yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesine etkisi

Asiklovir miktarı g/100 ml*	Larval yaş	Olgun larva oranı (%)	Larval olgun. Süresi (gün)	Pupal yaş ağırlık (mg)	Pup olma Oranı (%)	Pup olma süresi (gün)	Ergin yaş ağırlığı (mg)	Ergin olma oranı (%)	Ergin olma süresi (gün)
	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†	(Ort ± S.H)†
0,00§	149,0 ± 12,1 <sup>a</sup>	35,0 ± 8,6 <sup>a</sup>	32,4 ± 1,3 <sup>a</sup>	89,7 ± 11,6 <sup>a</sup>	22,5 ± 8,2 <sup>a</sup>	38,0 ± 3,0 <sup>a</sup>	52,8 ± 17,3 <sup>a</sup>	22,5 ± 8,2 <sup>a</sup>	43,9 ± 3,3 <sup>a</sup>
0,01	238,1 ± 24,2 <sup>b</sup>	67,5 ± 2,1 <sup>b</sup>	31,0 ± 1,6 <sup>a,b</sup>	125,5 ± 19,9 <sup>b</sup>	60,0 ± 3,5 <sup>b</sup>	33,8 ± 3,3 <sup>b</sup>	55,1 ± 8,9 <sup>a</sup>	46,0 ± 4,1 <sup>b</sup>	38,3 ± 4,4 <sup>b</sup>
0,1	153,3 ± 3,9 <sup>a</sup>	27,5 ± 10,8 <sup>a</sup>	32,2 ± 2,4 <sup>a</sup>	89,5 ± 29,1 <sup>a</sup>	25,0 ± 11,1 <sup>a</sup>	35,3 ± 2,7 <sup>a,b</sup>	65,7 ± 17,4 <sup>a</sup>	15,0 ± 5,0 <sup>a</sup>	40,5 ± 4,9 <sup>a</sup>
1,0	157,0 ± 7,5 <sup>a</sup>	40,0 ± 9,2 <sup>a</sup>	30,9 ± 2,3 <sup>b</sup>	73,0 ± 6,9 <sup>a</sup>	25,3 ± 6,3 <sup>a</sup>	34,1 ± 2,1 <sup>a,b</sup>	48,8 ± 14,9 <sup>a</sup>	22,5 ± 9,3 <sup>a</sup>	40,3 ± 2,7 <sup>a</sup>
3,0	146,4 ± 19,3 <sup>a</sup>	42,5 ± 15,8 <sup>a</sup>	33,1 ± 2,6 <sup>a</sup>	100,0 ± 11,4 <sup>a,b</sup>	27,5 ± 9,2 <sup>a</sup>	37,5 ± 3,3 <sup>a,b</sup>	41,0 ± 17,2 <sup>a</sup>	17,5 ± 8,2 <sup>a</sup>	43,3 ± 3,6 <sup>a</sup>
6,0	143,9 ± 13,8 <sup>a</sup>	30,0 ± 10,0 <sup>a</sup>	30,6 ± 2,2 <sup>b</sup>	124,5 ± 6,1 <sup>b</sup>	24,0 ± 11,1 <sup>a</sup>	35,1 ± 1,2 <sup>a,b</sup>	58,9 ± 11,4 <sup>a</sup>	20,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	39,5 ± 2,5 <sup>a,b</sup>

\* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 10 larva kullanıldı

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

§ Kontrol grubu yumurtaları saf suya batırıldı

\* Yeni bırakılmış yumurtalar asiklovirin denenen miktarlarının çözeltileri (g/100 ml)'ne materyal ve metod'ta belirtildiği gibi batırıldı

### **3.8 ASİKLOVİRİN *G. MELLONELLA*'NİN YUMURTADAN YENİ ÇIKMIŞ LARVALARINA ETKİSİ**

Asiklovirin denenen farklı miktarlarının yumurtadan yeni açılan birinci evre larvalarına etkisi Çizelge 3.8'de görülmektedir.

Asiklovirin % 0,01'lik çözeltisi ile muamele edildikten sonra yapay besin ortamında beslenerek olgunlaşan larvaların oranı saf suda bekletilen kontrol larvalarına göre önemli derecede artmış olup %  $75 \pm 7,0$ 'e ulaşmıştır. Bu larvaların ergin evreye ulaşmaları için gerekli süre de yaklaşık 5 gün kısalmıştır. Denenen diğer asiklovir miktarları ise olgunlaşan larvaların oranı üzerinde etkili olmamıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, asiklovirin denenen miktarlarının hiç biri bu larvaların pup ve ergin olma oranını önemli derecede etkilememiştir. Ancak, denenen asiklovir miktarları hem larva hem de larva sonrası gelişme süresini önemli derecede kısaltmıştır. Asiklovirin 1,0 g'ı hem olgunlaşan larvaların hem de pup ve erginlerin yaş ağırlığını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede artırmıştır. Denenen diğer asiklovir miktarları ise larval evredeki yaş ağırlık üzerinde etkili olmayıp yalnızca pup ve erginlerin yaş ağırlığını artırmıştır.

### **3.9 ASİKLOVİRİN *G. MELLONELLA*'NİN OLGUNLAŞMAMIŞ LARVALARINA ETKİSİ**

Asiklovirin farklı miktarları ile muamele edilerek yapay besin ortamında beslenen olgunlaşmamış larvaların (4. evre) yaşama ve gelişimi ile ilgili veriler Çizelge 3.9'da verilmiştir.

Asiklovirin en düşük konsantrasyonlu çözeltisi (0,01 g/100 ml) ile muamele edilen larvalar, saf suya batırılan kontrol grubu larvalarına göre daha geç olgunlaşmış ancak olgunlaşan larvaların oranı önemli derecede etkilenmemiştir. Bu miktar larva sonrası evrelerdeki yaşama ve gelişimi de etkilememiştir. Asiklovirin % 1,0'lik çözeltisine batırılan genç larvaların da gelişimi önemli derecede gecikmiş olup yaşama oranı etkilenmemiştir. Bu antiviral maddenin denenen yüksek miktarları (3,0 ve 6,0 g/100 ml) ise larva ve larva sonrası

Çizelge 3. 8 *G. mellonella*'nın yumurtadan yeni çıkmış larvalarına yüzeysel uygulanan asiklovirin yaş ağırlık, yaşama ve gelişmeye etkisi

Asiklovir miktarı g/100 ml <sup>#</sup>	Larval yaş ağırlık (mg) (Ort <sup>±</sup> S.H) <sup>†</sup>	Olgun larva oranı (%) (Ort <sup>±</sup> S.H) <sup>†</sup>	Larval olgun. Süresi (gün) (Ort <sup>±</sup> S.H) <sup>†</sup>	Pupal yaş ağırlık (mg) (Ort <sup>±</sup> S.H) <sup>†</sup>	Pup olma Oranı (%) (Ort <sup>±</sup> S.H) <sup>†</sup>	Pup olma süresi (gün) (Ort <sup>±</sup> S.H) <sup>†</sup>	Ergin yaş ağırlığı (mg) (Ort <sup>±</sup> S.H) <sup>†</sup>	Ergin olma oranı (%) (Ort <sup>±</sup> S.H) <sup>†</sup>	Ergin olma süresi (gün) (Ort <sup>±</sup> S.H) <sup>†</sup>
0,00 <sup>§</sup>	82,7 ± 1,2 <sup>a</sup>	40,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	37,2 ± 1,4 <sup>a</sup>	45,2 ± 2,6 <sup>a</sup>	27,5 ± 8,3 <sup>a</sup>	44,2 ± 0,6 <sup>a</sup>	23,0 ± 1,9 <sup>a</sup>	15,0 ± 5,0 <sup>a</sup>	44,2 ± 1,9 <sup>a</sup>
0,01	93,2 ± 1,2 <sup>a</sup>	75,0 ± 7,0 <sup>b</sup>	34,3 ± 1,5 <sup>b</sup>	51,4 ± 1,6 <sup>b</sup>	37,5 ± 8,3 <sup>a</sup>	37,1 ± 0,7 <sup>b</sup>	31,2 ± 2,2 <sup>b</sup>	30,5 ± 8,2 <sup>a</sup>	39,3 ± 2,1 <sup>b</sup>
0,1	94,9 ± 4,7 <sup>a</sup>	32,0 ± 6,8 <sup>a</sup>	36,2 ± 1,6 <sup>c</sup>	63,6 ± 3,0 <sup>c</sup>	27,5 ± 7,8 <sup>a</sup>	42,2 ± 0,6 <sup>c</sup>	28,8 ± 2,4 <sup>b</sup>	17,5 ± 8,3 <sup>a</sup>	39,6 ± 1,3 <sup>b</sup>
1,0	183,6 ± 2,8 <sup>b</sup>	30,0 ± 8,2 <sup>a</sup>	31,4 ± 1,5 <sup>d</sup>	90,2 ± 2,2 <sup>d</sup>	32,5 ± 4,3 <sup>a</sup>	38,2 ± 0,5 <sup>d</sup>	35,2 ± 1,5 <sup>b</sup>	18,5 ± 7,2 <sup>a</sup>	42,2 ± 1,9 <sup>c</sup>
3,0	116,5 ± 2,3 <sup>a</sup>	30,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	34,5 ± 1,1 <sup>b</sup>	66,5 ± 6,7 <sup>c</sup>	25,0 ± 5,1 <sup>a</sup>	39,2 ± 0,6 <sup>e</sup>	30,7 ± 2,2 <sup>b</sup>	15,3 ± 5,2 <sup>a</sup>	39,3 ± 1,9 <sup>b</sup>
6,0	112,6 ± 6,4 <sup>a</sup>	27,5 ± 4,3 <sup>a</sup>	31,8 ± 2,1 <sup>d</sup>	62,5 ± 1,8 <sup>c</sup>	25,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	34,9 ± 0,8 <sup>f</sup>	44,2 ± 3,3 <sup>c</sup>	15,0 ± 5,0 <sup>a</sup>	39,5 ± 2,7 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 10 larva kullanıldı

<sup>†</sup> Aynı sütünde aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P> 0,05

<sup>§</sup> Kontrol grubu larvaları saf suya batırıldı

<sup>#</sup> Yumurtadan yeni çıkan larvalar (1.evre) asiklovirin denenen miktarlarının çözeltileri (g/100 ml)'ne materyal ve metod'ta belirtildiği gibi batırıldı.

Çizelge 3. 9 *G. mellonella*'nın olgunlaşmamış larvalarına yüzeysel olarak uygulanan asiklovirin yaşama ve gelişmeye etkisi

Asiklovir miktarı g/100 ml <sup>#</sup>	Olgun larva oranı		Larval olgun.		Pup olma Oranı		Pup olma süresi		Ergin olma oranı		Ergin olma süresi	
	(Ort <sup>*</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	(%)	Süresi (gün)	(Ort <sup>*</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	(%)	(Ort <sup>*</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	(Ort <sup>*</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	(gün)	(%)	(Ort <sup>*</sup> ± S.H) <sup>†</sup>	(gün)	(Ort <sup>*</sup> ± S.H) <sup>†</sup>
0,00 <sup>§</sup>	96,3 ± 8,3 <sup>a</sup>		4,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	92,5 ± 8,3 <sup>a</sup>		8,4 ± 0,6 <sup>a</sup>	92,5 ± 8,3 <sup>a</sup>		14,7 ± 0,6 <sup>a</sup>			
0,01	85,5 ± 8,2 <sup>a</sup>		5,5 ± 0,3 <sup>b</sup>	75,0 ± 11,1 <sup>a</sup>		7,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	72,5 ± 7,5 <sup>a</sup>		13,7 ± 0,4 <sup>a</sup>			
0,1	82,3 ± 10,8 <sup>a</sup>		4,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	76,0 ± 11,2 <sup>a</sup>		7,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	52,5 ± 8,2 <sup>a</sup>		14,0 ± 0,5 <sup>a</sup>			
1,0	85,0 ± 11,2 <sup>a</sup>		5,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	72,5 ± 7,8 <sup>a</sup>		8,8 ± 0,5 <sup>a,b</sup>	50,0 ± 7,1 <sup>a</sup>		15,4 ± 0,6 <sup>a,b</sup>			
3,0	65,5 ± 10,8 <sup>a,b</sup>		4,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	60,5 ± 8,3 <sup>a,b</sup>		8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	32,5 ± 9,0 <sup>a,b</sup>		15,7 ± 0,4 <sup>a,b</sup>			
6,0	45,5 ± 4,3 <sup>a,b</sup>		4,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	38,0 ± 4,3 <sup>b,c</sup>		7,7 ± 0,5 <sup>a</sup>	30,0 ± 7,0 <sup>a,b</sup>		16,3 ± 0,5 <sup>b</sup>			

<sup>\*</sup>Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 10 larva kullanıldı

<sup>†</sup>Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P> 0,05

<sup>§</sup>Kontrol grubu larvaları saf suya batırıldı

<sup>#</sup>Olgunlaşmamış larvalar (4. Evre) asiklovirin denenen miktarlarının çözeltileri (g/100 ml)'ne materyal ve metod'ta belirtildiği gibi batırıldı

evrelerdeki yaşama oranını önemli derecede düşürmüş, ergin olma süresini de uzatmıştır. Kontrol grubu larvalarının %  $92,5 \pm 8,3$ 'i ergin olurken asiklovirin % 6,0'lık çözeltisi ile muamele edilen larvaların ancak %  $30,0 \pm 7,0$ 'u ergin olabilmıştır. Bu larvaların gelişimi, kontrol grubuna göre ortalama 1,6 gün gecikmiş olup ergin olma süreleri  $16,3 \pm 0,5$  güne uzamıştır.

### **3.10 ASİKLOVİRİN *G. MELLONELLA*'NİN GENÇ PUPLARINA ETKİSİ**

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında asiklovirin denenen konsantrasyonlarının hepsi genç pupların (bir günlük) ergin olma oranını artırdıkları halde yalnızca 1,0 ve 6,0 g'lık konsantrasyonlar istatistiksel olarak önemli bir artışa sebep olmuştur (Çizelge 3.10). Asiklovirin 0,01 g/100 ml'lik çözeltisi ile muamele edilen puplar ortalama bir gün daha erken ergin olmuştur. Diğer miktarlar bu pupların ergin olma süresi üzerinde etkili olmamıştır. Kontrol grubunda %  $50,5 \pm 0,9$  oranında ergin oluşurken denenen 6,0 g'lık asiklovir miktarı bu oranı önemli derecede artırarak %  $88,5 \pm 4,3$ 'e ulaştırmıştır.

### **3.11 ASİKLOVİRİN *G. MELLONELLA*'NİN OLGUN LARVALARINA ETKİSİ**

Olgun larvalara (7. evre) enjekte edilen farklı konsantrasyonlardaki asiklovir çözeltilerinin yaşama ve gelişime etkisi Çizelge 3.11'de görülmektedir.

Asiklovirin % 0,1'lik çözeltisinin enjekte edildiği larvaların pup olma oranı önemli derecede azalmıştır. Ancak bu pupların ergin olma oranı bakımından kontrol besini ile arasında önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Asiklovirin bu denenen miktarı larvaların gelişme süresi üzerinde etkili olmamıştır. Buna karşın asiklovirin 3,0 g'nın enjekte edildiği larvaların ergin olma süreleri önemli derecede uzamıştır. Kontrol grubu larvaları ortalama  $10,2 \pm 0,3$  günde ergin evreye ulaşırken asiklovirin bu miktarının uygulanması ile süre  $12,3 \pm 0,6$  güne uzamıştır. En yüksek asiklovir çözeltisi (% 6,0) enjekte edilen olgun larvaların ergin olma oranı önemli derecede azalmış olup bu evreye ulaşma süresi de gecikmiştir. Bu larvaların ancak %  $20 \pm 5,0$  gibi çok az bir oranı ergin olabilmıştır.

**Çizelge 3.10** *G. mellonella*'nın puplarına yüzeysel uygulanan asiklovirin yaşama ve gelişmeye etkisi

Asiklovir miktarı g/100 ml <sup>#</sup>	Ergin olma oranı (%) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>	Ergin olma süresi (gün) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>
0,00 <sup>§</sup>	50,5 ± 0,9 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,1 <sup>a</sup>
0,01	79,5 ± 0,8 <sup>a</sup>	4,1 ± 0,2 <sup>b</sup>
0,1	79,3 ± 2,6 <sup>a</sup>	5,4 ± 0,3 <sup>a</sup>
1,0	87,5 ± 2,2 <sup>a,b</sup>	5,3 ± 0,2 <sup>a</sup>
3,0	79,5 ± 3,5 <sup>a</sup>	5,7 ± 0,5 <sup>a</sup>
6,0	88,5 ± 4,3 <sup>a,b</sup>	5,2 ± 0,3 <sup>a</sup>

\*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 10 pup kullanıldı

<sup>†</sup>Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir,  $P > 0,05$

<sup>§</sup>Kontrol grubu pupları saf suya batırıldı

<sup>#</sup>Bir günlük puplar asiklovir çözeltileri (g/100 ml)'ne materyal ve metod'ta belirtildiği gibi batırıldı

**Çizelge 3.11** *G. mellonella*'nın olgun larvalarına enjeksiyon ile uygulanan asiklovirin yaşama ve gelişmeye etkisi

Asiklovir miktarı g/100 ml <sup>#</sup>	Pup olma oranı (%) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>	Pup olma süresi (gün) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>	Ergin olma oranı (%) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>	Ergin olma süresi (gün) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>
0,00 <sup>§</sup>	85,0 ± 8,6 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	65,0 ± 8,6 <sup>a</sup>	10,2 ± 0,3 <sup>a</sup>
0,01	72,5 ± 8,3 <sup>a</sup>	4,6 ± 0,6 <sup>a</sup>	65,0 ± 8,7 <sup>a</sup>	10,5 ± 1,0 <sup>a</sup>
0,1	45,0 ± 20,6 <sup>a,b</sup>	4,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	45,3 ± 15,0 <sup>a</sup>	11,3 ± 1,1 <sup>a</sup>
1,0	55,0 ± 15,0 <sup>a</sup>	5,7 ± 0,8 <sup>a</sup>	40,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	11,4 ± 0,6 <sup>a</sup>
3,0	62,5 ± 10,9 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	45,3 ± 11,1 <sup>a</sup>	12,3 ± 0,6 <sup>a,b</sup>
6,0	60,0 ± 7,1 <sup>a</sup>	7,2 ± 0,8 <sup>b</sup>	20,0 ± 5,0 <sup>a,b</sup>	11,8 ± 0,2 <sup>a,b</sup>

\*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 10 larva kullanıldı

<sup>†</sup>Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir,  $P > 0,05$

<sup>§</sup>Kontrol grubu larvalarına saf su enjekte edildi

<sup>#</sup>Asiklovirin denenen miktarlarının çözeltileri (g/100 ml) olgun larvalara (7. Evre) materyal ve metod'ta belirtildiği gibi enjekte edildi

Pup olan bazı bireylerin kanatlarının tam olarak gelişmediği ve ergin olmak üzere pup kozasını atmakta zorlandıkları gözlenmiştir (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2** Asiklovirin % 6,0'lık çözeltisinin enjekte edildiği bazı *G. mellonella* olgun larvalarının oluşturduğu anormal vücut yapısına sahip ergin

### **3.12 ASİKLOVİRİN *G. MELLONELLA* DIŞİLERİNİN YUMURTA VERİMİNE ETKİSİ**

Asiklovirin farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerinin *G. mellonella* dişilerinin yumurta verimine etkisi Çizelge 3.12'de verilmiştir.

Kontrol grubu olarak asiklovir çözeltisi yerine saf su enjekte edilen dişiler ile enjeksiyon yapılmayan diğer kontrol dişileri arasında yumurta verimi açısından istatistiksel olarak önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, asiklovirin % 0,1'lik çözeltisi bir günde dişi başına bırakılan yumurta sayısını, yaş ağırlığını ve açılan yumurtaların sayısını önemli derecede düşürmüştür. Ancak, bu çözelti saf su enjekte edilen kontrol dişilerine göre yumurtaların açılma oranında önemli bir artışa sebep olmuştur. Asiklovirin % 1,0'lik çözeltisi bırakılan yumurtaların sayısını her iki kontrol grubuna göre

**Çizelge 3.12 *G. mellonella* dişilerine enjeksiyon ile uygulanan asiklovirin bırakılan yumurta sayısı ve açılma oranına etkisi**

Asiklovir miktarı	Bırakılan yumurta sayısı (dişi/gün) (Ort* ± S.H)†	Toplam yaş ağırlık (mg/dişi) (Ort* ± S.H)†	Açılan yumurta sayısı / dişi (Ort* ± S.H)†	Açılma oranı (%) (Ort* ± S.H)†
Kontrol**	307,0 ± 9,4 <sup>a</sup>	16,1 ± 1,9 <sup>a</sup>	140,1 ± 8,6 <sup>a</sup>	45,6 ± 7,2 <sup>a</sup>
0,0 <sup>§</sup>	284,0 ± 8,6 <sup>a</sup>	14,5 ± 1,6 <sup>a</sup>	105,5 ± 6,8 <sup>a</sup>	37,1 ± 8,3 <sup>a</sup>
0,1	161,8 ± 5,6 <sup>b</sup>	8,5 ± 0,4 <sup>b</sup>	108,1 ± 7,7 <sup>a,b</sup>	66,8 ± 9,3 <sup>a,b</sup>
1,0	220,2 ± 11,9 <sup>c</sup>	11,9 ± 1,1 <sup>a,b</sup>	176,3 ± 5,8 <sup>b</sup>	77,7 ± 4,6 <sup>b</sup>
3,0	173,5 ± 6,2 <sup>b</sup>	8,1 ± 0,8 <sup>b</sup>	116,5 ± 7,2 <sup>a</sup>	67,1 ± 9,1 <sup>a,b</sup>

\* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 10 dişi kullanıldı

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

§ Saf su enjekte edilen kontrol grubu

\*\* Enjeksiyon yapılmayan kontrol grubu

# Asiklovirin denenen miktarlarının çözeltileri (g/100 ml) dişilere materyal ve metod'ta belirtildiği gibi enjekte edildi

önemli derecede düşürmüş, açılan yumurtaların sayısını ise artırmıştır. Bu yumurtaların açılma oranı da önemli derecede artmış olup %  $77,7 \pm 4,6$ 'ye ulaşmıştır. Enjekte edilen asiklovirin % 3,0'lük çözeltisi yumurta sayısını ve bu yumurtaların toplam yaş ağırlığını kontrol gruplarına göre önemli derecede düşürmüştür. Bu miktar açılan yumurtaların sayısını ve açılma oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilememiştir.



## BÖLÜM 4

### TARTIŞMA

Lepidopter bir tür olan büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* larvalarını laboratuvarında ergin evreye kadar yetiştirmek için kullanılan çeşitli yapay ve doğal besinlere farklı miktarlarda katılan ve değişik gelişim evrelerine uygulanan antiviral madde, asiklovirin, böceğin yaşama, gelişimi, ergin evredeki yaşama süresi, erginlerin yumurta verimi ve bu yumurtaların açılma oranına etkisi incelendi. Bu çalışmanın sonuçları asiklovirin besine ilave edilecek miktarlarının ve besin ortamının iyi seçilmesi durumunda *G. mellonella* larvalarının laboratuvar şartlarında yetiştirilmesinde güvenilir olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Diğer taraftan böyle bir maddenin böcek beslenmesinde kullanılması besin ortamlarında görülebilecek çok geniş bir mikroorganizma grubunu tek bir antimikrobiyal madde ile kontrol edilmesine olanak sağlayabilecektir. Böyle bir uygulama fazla sayıda antimikrobiyal maddenin besinde bir arada bulunmasından doğacak böcek üzerindeki zararlı etkilerinin en aza indirilmesi açısından da oldukça önemlidir. Bu çalışmada asiklovirin denenen düşük miktarları (0,1 ve 1,0 g) böceğin ne larval ne de larva evresi sonrasındaki evrelerdeki yaşama ve gelişime önemli bir etkide bulunmamıştır. Buna karşılık *G. mellonella*'nın besinine ilave edilen asiklovirin yüksek miktarları yaşama ve gelişme üzerindeki etkilerini hem larva hemde larva sonrası evrelerde göstermiştir. Bu sonuç aynı zamanda antimikrobiyal maddelerin *G. mellonella* üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde larval olgunluğa ulaşma süresinin önemli bir kriter olabileceğini işaret etmektedir. Diğer taraftan denenen asiklovir miktarlarının tümü dişilerin yumurta verimini düşürürken, ergin evredeki yaşama süresine etkileri ise denenen miktara ve ilave edildiği besin ortamına göre değişmiştir. Ancak bazı miktarların olumlu etkisinin yanında farklı beslenme ortamlarına ilave edilen asiklovir miktarlarının hiç biri erginlerin yaşama süresi üzerinde olumsuz etki yapmamıştır. Ayrıca dişilerin yumurta verimi, yumurtaların açılma oranı ve erginlerin hayatta kalma süreleri de asiklovirin *G. mellonella* üzerindeki etkisinin belirlenmesinde

önemli bir kriter olmuştur. Aynı türün farklı gelişim evrelerinde bile değişik fizyolojik koşullara gereksinim duyulduğu bilinmektedir (Grenier et al., 1986). Bu yüzden denen asiklovirin etkisinin bu böceğin farklı gelişim evresine göre değişmesi de beklenen bir sonuçtur.

Yapılan mikrobiyolojik analizler doğal besinde (koyu renkli eski bal peteği) yapay besine göre daha fazla sayıda mikrobiyal organizmanın bulunduğunu ve doğal besinin normal flora dışında koliform bakteriler gibi önemli kontaminasyon kaynağı organizmaları da içerdiğini göstermiştir. Bu durum *Galleria mellonella* kültürünün devamı için kullanılan öğütülmüş koyu renkli eski bal peteği içeren Bronskill'in besininde çok sık karşılaşılan bakteriyel ve özellikle önemli bir sorun olan küf kontaminasyonunun sebebini açıkça göstermektedir. Bu iki besine asiklovirin 1,0 g'ının ilave edilmesi yapay besindeki bakteriyel organizmaları tamamen ortadan kaldırdığı halde küf ve maya miktarını önemli derecede azaltmıştır. Ancak asiklovirin bu miktarı doğal ortamda da benzer etki göstermesine rağmen yine de besinde belirli miktarda mikrobiyal organizma kalmıştır. Bu yüzden asiklovirin doğal besin ortamındaki etkisinin mikrobiyal kontaminasyonun yoğunluğuna bağlı olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar en azından *G. mellonella* için kullanılan yapay besin ortamlarında ortaya çıkabilecek çeşitli kontaminasyonların asiklovirin tek başına kullanılması ile büyük oranda kontrol edilebileceğini göstermiştir. Bu böceği laboratuvar şartlarında beslemek için geliştirilen besinlere daha önceleri ilave edilen streptomisin, penisillin ve kloromisetin antibiyotikleri tek başlarına ve birlikte ne besindeki ne de böceğin sindirim kanalındaki mikrobiyal kontaminasyonlara etkili olamamıştır (Waterhouse, 1959). Singh and Bucher (1971)'in belirttiği gibi besin katkı maddesi olarak kullanılan ideal bir antimikrobiyal madde böcek üzerinde önemli bir etkiye sahip olmayıp aynı zamanda geniş bir mikrobiyal organizma grubu üzerinde etkili olmalıdır. Diğer taraftan *G. mellonella* için kullanılan besi ortamlarında bulunan bakteri, maya, küf ve funguslar bazen larvaların sindirim kanalında da tespit edilmektedir. Böcek kültürünün devamı için kullanılan besine öğütülerek ilave edilen koyu renkli eski bal peteği önemli bir kontaminasyon kaynağı olabileceğinden çoğu zaman böceğin bağırsağında normal olmayan

mikroorganizma florasının bulunmasına sebep olmaktadır (Jarosz, 1979). *G. mellonella*'nın besinine oksitetrasiklinin tek başına ilave edilmesi bakteriyel kontaminasyonu önlerken bazı maya türlerinde hızlı bir artışa sebep olmuştur. Bu sorun besine ancak oksitetrasiklin ve nistatinin birlikte katılması ile önlenmiştir (Jarosz, 1981). Bir çok çalışma yapay besin ortamlarındaki mikrobiyal kontaminasyonların böcek üzerinde olumsuz etkide bulunduğunu ortaya koymuştur. Örneğin besindeki küf ve bakteri kontaminasyonu bazı zararlı lepidopter böceklerin larvalarının erken evrelerinde ölümüne ve gelişmesinin gecikmesine sebep olmaktadır (Clark et al., 1961; Ouye, 1962; Hensely and Hammond, 1968; Kishaba et al., 1968; Afrikian, 1960; Clark et al., 1961). Bu yüzden zararlı lepidopter böceklerin ve diğer takımlara ait zararlı türlerin laboratuvar şartlarında yetiştirilmesinde önemli sorun olan bu kontaminasyonları önlemek için çeşitli antimikrobiyal maddeler tek başlarına ve birlikte kullanılmıştır. Bazı durumlarda bu maddelerin, türe göre değişmekle beraber, böcekler üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğu görülmüştür (Clark et al., 1961; Ouye, 1962; Vail et al., 1968; Bass and Barnes, 1969; Toba et al., 1969; Greenberg, 1970; Singh and House 1970a, 1970b, 1970c; Hedin et al., 1974; Deecher et al., 1989; Liaw et al., 1991b; Costa et al., 1997; Pearson and Raybould, 1998; Alverson and Cohen, 2002). Bu çalışmalarda geniş bir antibakteriyel ve antifungal madde grubu yanında yalnızca formalin ve sodyum hipoklorür gibi bazı geleneksel antiviral maddeler kullanılmıştır (Vail et al., 1968). İnsan sağlığına zararlı olduğu bilinen formalin (formaldehit) ve sodyum hipoklorür böcek beslenmesinde önemli bir sorun olan nükleopolihedro virüs (baculoviridae) kontaminasyonuna karşı antiviral katkı maddesi olarak yaygın bir kullanıma sahiptir. Ancak, bu maddeler düşük miktarlarda bile lahana kurdu *T. ni*'nin yaşamasını ve erginlerin bıraktığı yumurtaların açılma oranını önemli derecede düşürmüştür (Vail et al., 1968). Formaldehit ise beyaz kıvrımlı kelebek *Graphognathus* spp. larvalarının gelişimini olumsuz yönde etkilemiştir (Bass and Barnes, 1969).

Asiklovirin besindeki miktarının artışı ile böcek üzerindeki etkisi arasında orantılı bir ilişki ortaya çıkmamıştır. Örneğin her iki yapay besinde 0,01 g asiklovir

böceğin bütün evrelerindeki yaşama oranını önemli derecede düşürdüğü halde 1,0 g asiklovir içeren besinin bu olumsuz etkiyi ortadan kaldırması, besindeki miktarın 3,0 g'a çıkarıldığında ise olumsuz etkinin yeniden ortaya çıkması ilginçtir. İstatistiksel olarak önemli olmasa da yaşama üzerindeki benzer düzensizlikler doğal besinlerde de ortaya çıkmıştır. Benzer bir sonuç holometabol böceklerden dipter bir tür *A. affinis* ve hymenopter bir tür *P. turionellae* larvalarını laboratuvarında beslemek için kullanılan kimyasal yapısı bilinen yapay besine ilave edilen bazı antibiyotikler ile de elde edilmiştir (Singh and House, 1970a; Büyükgüzel ve Yazgan, 1996). Holometabol böceklerde besin maddelerinin sindirimi genellikle alkali bir ortama sahip olan ortabağırsakta gerçekleştirilmektedir (Terra, 1990). Böylece besinle alınan asiklovir miktarlarının *G. mellonella*'nın ortabağırsağında ozmotik dengeyi ve ortamın reaksiyonunu (pH) etkilemesi sonucu farklı oranlarda emilimi gerçekleştirebilir. Böylece denenen miktarların böcek üzerindeki etkisi de farklı olabilir. Yüksek oranlı hayvanlarda antimikrobiyal maddelerin incebarsakta emilme oranlarının bunların bağırsaktaki miktarına, ortamın ozmotik basıncına ve pH'ına bağlı olduğu bilinmektedir (Rabbaa et al., 1997). Diğer taraftan *G. mellonella* larvalarının bağırsağından emilerek dokulara yayılan asiklovirin olumsuz etkisi herhangi bir şekilde devamlı olarak ortadan kaldırılabilir. Benzer bir düşünce Graf and Benz (1970)'in bazı antibiyotiklerin *Drosophila melanogaster* L.'in yaşama ve gelişimi üzerine etkisini incelediği çalışmada da ileri sürülmüştür. Alman hamam böceği *Blattella germanica* (L.)'da insektisitlere karşı detoksifikasyon enzimi sitokrom P450 monooksijenaz miktarında artış olduğunun tespit edilmesi ile bu yaklaşım daha da ağırlık kazanmıştır (Scharf et al., 1999). Liu and Chen (2000) bir kitin sentezi inhibitörü olan buprofezinin nöropter bir tür olan *Chrysoperla rufilabris*'in larval evresindeki olumsuz etkisinin çok az olmasını böceğin bu özelliğine bağlamıştır.

Bronskill'in besinine ilave edilen asiklovirin 0,1 g'ı olgunlaşan larvaların yaş ağırlığında önemli bir artışa sebep olurken bu olumlu etki pupal yaş ağırlıkta önemli olmayan bir artışla ortaya çıkmış ergin evrede ise önemli bir etki görülmemiştir. Bu miktar böceğin bütün evrelerindeki yaşama oranında ise önemli

olmayan bir azalmaya sebep olmuştur. Bronskill'in besinindeki asiklovirin bu düşük miktarı (0,1 g) *G. mellonella* larvalarının besin almasını uyarıcı ve büyümesini hızlandırıcı bir rol oynamış olabilir. Streptomisin besine katılan 50 mg'ı benzer etkiyi biyolojik kontrol ajanı, parazitik hymenopter bir tür olan *P. turionellae* larvaları üzerinde göstermiştir (Büyükgüzel ve Yazgan, 1996). Benzer bir sonuç ile *Xyleborus ferrugineus* (F)'un beslenmesinde de karşılaşılmıştır. Besine antimikrobiyal madde olarak katılan etanolün düşük miktarları böceğin daha fazla besin almasını uyarmıştır (Norris and Baker 1969). Çeşitli antibakteriyel maddeler bir karınca türü *Myrmica rubra* (L.), pamuk kurdu *Anthonomus grandis* ve bir anofel sivrisinek türünün genç larvalarının büyüme ve yaşaması üzerinde olumlu etki yapmıştır (Pearson and Raybould, 1998; Reisen, 1975). Asiklovirin *Galleria mellonella* genç larvaları üzerindeki bu etkisi beslenme ortamına göre değişmiştir. Haydak'ın besinine ilave edilen 0,1 g asiklovir ise olgun larvaların yaş ağırlığını düşürmüş larva sonrası evrelerde etkili olmamıştır. Bu besin böceğin yaşamasını etkilememiş gelişme süresinde ise önemli olmayan bir gecikmeye sebep olmuştur. Ancak bu besindeki asiklovir miktarının 1,0 g'a çıkarılması larva sonrası evrelerde de yaş ağırlığı düşürmüş gelişimi ise önemli derecede geciktirmiştir. Ancak larvaların ergin evreye kadar olan yaşamasını etkilememiştir. Bunun aksine asiklovirin 1,0 g'ı doğal besin olarak kullanılan bol miktarda bal içeren petekte yaş ağırlık ve gelişme üzerinde olumlu etki yapmıştır. Antibakteriyel maddeler ekonomik öneme sahip çiftlik hayvanlarının besinlerine muhtemel bir enfeksiyonun tedavisine yönelik ya da büyümeyi uyarıcı ve beslenme verimliliğini artırıcı olarak düşük miktarlarda ilave edilmektedir (Levy, 1987). İnsan beslenmesi amacıyla yetiştirilen piliçlerin yemlerine katılan (11-550 mg/kg) bazı antibiyotiklerin yem tüketimini, yemi değerlendirme etkisini, ve canlı ağırlığı artırdığı büyümeyi ise hızlandırdığı ortaya çıkarılmıştır (Franti et al., 1973). Doğal besin olarak bol miktarda bal içeren petek hariç diğer doğal ve yapay besinlerde asiklovirin denenen en yüksek miktarı (3,0 g) böceğin yaş ağırlık, yaşama ve gelişimi üzerinde önemli derecede etkili olmuştur. Bu miktarı içeren yapay besinlerde larvaların büyük bir kısmı larval deriyi atmakta zorlanmış ve pup evresine ulaşamamıştır (Şekil 3.1). Bu durum çoğunlukla böceklerin değişik evrelerinde deri değiştirme sırasında

meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal olayların işleyişini bozmak suretiyle ortaya çıkabilir (Reynolds and Samuels, 1998). Başkalaşımın uyarılması için son larval evreye doğru jüvenil hormon miktarının önemli derecede azalması gerekir (Kort and Granger, 1996). Bu enzim jüvenil hormon esteraz enzimi tarafından inaktif olan metillenmiş ara yapılara parçalanarak ortamdaki kaldırılır. Sentetik nükleozit analoglarının S-adenozil-L-metiyonin aracılığıyla gerçekleşen metilleme olayının düzenlenmesinden sorumlu önemli bir enzim olan S-adenozil-L-homosistein hidrolaz'ın etkisini önlediği bilinmektedir (Votruba and Holy, 1980). Asiklovirin yüksek miktarlarının böceğin gelişmesi üzerindeki olumsuz etkisi bu antiviral maddenin bu enzimin aktifliğini önlemesinden ileri gelebilir. Zararlı lepidopter türlerin mücadelesinde kullanılan bazı pestisitlerin bu mekanizma ile böceklerin üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Örneğin, aynı zamanda antimikrobiyal özelliğe sahip önemli bir pestisit olan abamektinin yüksek miktarları lepidopter böceklerden bir güve türü *Cydia pomonella* L. larvalarının ağırlığını yarı yarıya azaltmış ve gelişimini önemli derecede geciktirmiştir (Reed et al., 1985). Diğer taraftan Deecher et al. (1990) bu maddenin diğer bir lepidopter tür olan meşe güvesi *Lymantria dispar*'da Corpora allata üzerindeki etkisinden dolayı hormonal dengenin bozulduğunu, böylece böceğin pup ve ergin evreye başkalaşımı sırasında anormal vücut yapılarının meydana geldiğini belirtmiştir. Bir nükleozit analogu olan geniş spektrumlu antiviral madde (R,S)-9-(2,3-dihidroksipropil) adeninin denenen en yüksek konsantrasyonlu çözeltisi (% 1,0) ile beslenen lepidopter tür *Spodoptera littoralis* (Boisd)'in ikinci evre larvalarının % 78'i ölmüş diğerleri ise pup olamamıştır (Gelbič and Holý, 1985). Mitokondrideki DNA sentezini önleyen akriflavin ve etidyum bromidin diğer iki lepidopter tür *Heliothis virescens* (F.) ve *Heliothis zea* (Boddie) erginlerinde şekil bozukluğuna ve uçuş yeteneğinin azalmasına sebep olduğu ortaya çıkarılmıştır (Holmes and Keeley, 1975; Keeley and Olson, 1977). Abamektin ve Milbemis D gibi makrolakton yapısındaki antimikrobiyal pestisitler ile beslenen *L. dispar* L.'nin 3. evre larvalarının yaklaşık % 50 sinin öldüğü gözlenmiştir (Deecher et al., 1989). Denenen en yüksek miktar olan 3,0 g asiklovir (100 g yapay besinde ya da doğal besinlere uygulanan 100 ml saf suda) *G. mellonella* larvalarının yaşama oranını düşürmüştüğü olmasına rağmen bu larvaların çok düşük bir oranı ergin

olmuştur. Bu sonuçlar asiklovirin diğer antimikrobiyal maddelere göre böcekler üzerinde daha az olumsuz etkiye sahip olduğunu işaret etmektedir. Diğer taraftan, bu antiviral maddenin hedef olmayan insan ve diğer memeliler için toksik özelliğinin çok düşük olduğu bilinmektedir (Parfitt, 1999).

Asiklovirin *G. mellonella* üzerindeki etkisinin, besin ortamına göre değiştiği açıkça görülmüştür. Antimikrobiyal ajanların böcek üzerindeki etkilerinin çoğunlukla besinin kalitatif ve kantitatif kalitesine bağlı olduğu bilinmektedir. Örneğin, Amerikan hamam böceği *Periplaneta americana* L. nin besinine ilave edilen kloramfenikol ve penisillin G nin böcekteki mikrobiyal flora ve dolayısıyla böcek üzerindeki etkisinin, besin içeriğine bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir (Bandyopadhyay and Raychaudhuri, 1970). Singh and House (1970b) penisillin ve potasyum sorbatın *Agria affinis* üzerindeki olumsuz etkisinin besin bileşenlerinin miktarının artırılmasına bağlı olarak azaldığını açıklamıştır. Şeker çözeltisine belirli oranlarda karıştırılmış gentamisin sülfat, penisillin ve streptomisin antibiyotikleri ile beslenen bazı anofel sivrisinek türlerinin orta bağırsağındaki patojen bakterilerin önemli derecede azaldığı gösterilmiştir (Touré et al., 2000). Beslenme çalışmalarında kullanılan besinin fizyokimyasal yapısı da oldukça önemlidir. Bu husustaki önemli faktörlerden bir tanesi besin pH'ının larvaların besin aldığı süre boyunca sabit kalmasıdır. Besine ilave edilen asiklovirin farklı miktarlarının beslenme ortamının başlangıçtaki pH'ını etkilemesi beklenen bir durumdur. Çeşitli böcekler ile yapılan bazı çalışmalar besin pH'ındaki değişmelerin yaşama oranını ve gelişme süresini olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir (Chan and Jang, 1995; Nakahara and Iwabuchi, 2000).

Denenen asiklovir miktarları böceğin farklı evrelerindeki yaş ağırlığı üzerinde de etkili olmuştur. Bu etkiler besin ortamına ve böceğin gelişme evresine göre değişmektedir. Asiklovirin farklı miktarlarının yaş ağırlık üzerindeki etkileri böceğin su içeriğinin değişimine bağlı olarak ortaya çıkabilir. Besin ile asiklovirin farklı miktarlarını alan larvalar bu maddeye fizyolojik bir cevap olarak besinden aldığı suyu artırarak ya da kaybettiği suyu azaltarak vucutlarındaki su miktarını ayarlayabilirler. Bunun sonucunda böceğin larva sonrası evrelere gelişimi için

gerekli besin maddelerinin alınma oranı da değişebilir. Böceklerin çoğunun genç evrelerinde (larva ve pup evresi) toplam vücut bileşiminin yaklaşık % 65-70'ini oluşturan su miktarındaki bir değişiklik böceğin yaş ağırlığı ve dolayısıyla metabolik olaylarında etkili olur (Rivers and Yoder, 1996). Lepidopterlerde toplam su miktarının değişimi gün boyunca gösterdikleri aktiviteleri üzerinde bile oldukça önemlidir (Mazer and Appel, 2001).

Larval evrede alınan doğal ve yapay besin maddelerinin kalitesi ve besinsel dengesi çoğu böceğin erginlerinin üreme ve diğer bazı özellikleri ile hayatta kalma süresi (yaşama süresi) üzerinde etkilidir (Slansky and Scriber, 1985; Eischen and Dietz, 1987; Ridgway and Mahr, 1990). Zararlı bir dipter tür olan akdeniz meyve sineği *Ceratitis capitata* (Weidemann)'nın larval evrede aldığı besinin ergin oluşumunu, vücut büyüklüğünü, eşeysel olgunluğu, yumurta bırakma davranışını ve yaşama süresini etkilediği bilinmektedir (Chang et al., 2001). Asiklovirin 1,0 g'ını içeren Bronskill'in yapay besini ve doğal besinde (koyu renkli eski petek) yetiştirilen erginlerin yaşama süresi asiklovir içermeyen kontrol besinlerindeki göre daha uzun olmuştur. Asiklovirin en düşük ve en yüksek miktarını içeren Haydak'ın besini de benzer etki göstermiştir. Bu hususta en olumlu etkiyi 1,0 g asiklovirin yüzeysel olarak uygulandığı doğal besin (koyu renkli eski petek) yapmış olup bu besinden elde edilen erginler ortalama  $9,4 \pm 0,4$  gün yaşamışlardır (Çizelge 3.5). Asiklovirin denenen miktarlarını içeren besinlerin hiçbiri erginlerin yaşama süresini olumsuz yönde etkilememiştir. Bu sonuçlar denenen asiklovir miktarlarının besin ortamları ile olan fiziksel ve kimyasal etkileşimlerinden ileri gelebilir. Bu etkileşimlerin, besinin böcek tarafından en iyi şekilde yararlanmasını sağlayacak düzeyde olduğu açıkça anlaşılmaktadır. Diğer taraftan asiklovir yaşama süresi üzerindeki olumlu etkisini besindeki bakteri, maya ve küflerin üremesini engelleyerek ve böylece bu mikroorganizmaların salgıladığı zararlı maddelerin miktarını azaltarak dolaylı olarak göstermiş olabilir. Ekonomik öneme sahip yüksek organizasyonlu hayvanların beslenmesinde kullanılan antibiyotiklerin iştah uyarıcı etkilerinden dolayı besin tüketimini artırdığı ve beslenme kanalındaki zararlı bakterilerin sayısını azalttığı bilinmektedir (Ensminger et al., 1990). Besi ortamından

özütlenen bazı mantar ve küf toksinlerinin *G. mellonella* larvaları üzerinde öldürücü etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Vey et al., 1993). Zararlı bir lepidopter türü olan *Spodoptera littoralis* (Boisduval) larvalarına enjekte edilerek ve besin ile verilen mikotoksinler böceğin ergin evredeki ağırlığını, gelişme süresini, döllenmesini ve dayanıklılığını olumsuz yönde etkilemiştir (Azab et al., 2001). Diğer taraftan besin kalitesi ile birlikte ortamın sıcaklığı da böceklerin farklı evrelerindeki yaşama süresi üzerinde oldukça önemlidir (Browne, 1995). Bu çalışmada gerek kontrol gerekse asiklovirin farklı miktarlarını içeren besinler ile yetiştirilen *G. mellonella* erginlerinin yaşama süresi doğal ortamdaki kadar çok uzun olmamıştır. Asiklovirin *G. mellonella* erginlerinin yaşam uzunluğu üzerindeki etkisi stok kültürün devam ettirildiği ortam sıcaklığında (30 °C) tespit edildi. Ancak yapılan bazı ön denemeler *G. mellonella* erginlerinin yaklaşık 22 °C olan labortuvar ortamında oldukça uzun süre (15 gün) yaşadıklarını göstermiştir. Bu durum yüksek sıcaklığın *Galleria mellonella* erginlerinin yaşama uzunluğu üzerinde olumsuz yönde etkili olabileceğini göstermektedir. Böcekler için önemli bir stres faktörü olan yüksek sıcaklığın bazı holometabol böceklerde ergin bireylerin yaşam uzunluğunu önemli derecede kısalttığı ve hemolenfteki bazı metabolitlerin miktarında da azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir (Cohen and Patana, 1986; Hailemichael and Smith, 1994; Graf et al., 2001).

Bir çok böcek türü bazı besinsel gereksinimleri ve üreme faaliyeti için simbiyotik mikroorganizmaların katkısına gerek duymaktadır (Bourtzis and O'Neill, 1998; Douglas, 1998;). Besinlere ilave edilen antimikrobiyal maddeler bu yararlı mikroorganizmaları yok ederek dolaylı olarak böcek üzerinde etkili olabilir. *Galleria mellonella*'nın larva ve erginlerinin sindirim kanalında fazla sayıda simbiyotik bakteri bulunmakta olup, bunların yumurta aracılığıyla yeni nesillere aktarıldığı bilinmektedir (Bucher and Williams, 1967). Bu simbiyotik mikroorganizmalarının diğer türlerde olduğu gibi *G. mellonella*'da besinsel gereksinimine katkı yaptığı ya da üremesinde etkili olduğu hakkında detaylı bilgi mevcut değildir. Bu böceğin besinine kontaminasyonu önlemek için ilave edilen antimikrobiyal maddelerin böcek üzerindeki etkisini daha çok besinsel müdahale ile ortaya koymuş olabileceğini söylemek daha mantıklı olacaktır. Asiklovir

deoksiriboza benzeyen açık zincirli yapıya bir guanin bazının bağlanması ile oluşturulmuş yapay bir nükleozid analogudur. Deoksiriboza taklit eden bu benzer yapı virüslere özgü timidin kinaz enzimi tarafından aktifleştirilerek yalnızca viral DNA polimerazı inhibe eder. Ökaryot hücrelerdeki normal timidin kinaz asikloviri substrat olarak tanımaz (Zubay, 1993). Böylece besine ilave edilen yüksek miktarlardaki asiklovirin böceğin yaşama ve gelişimi üzerindeki olumsuz etkileri beslenme ortamının besinsel ve fiziksel kalitesinin değişmesinden ileri gelebilir. Yalnızca bakterilerdeki DNA sentezini önleyen novobiyosinin yüksek miktarları ile beslenen endoparasitoid bir hymenopter tür *Pimpla turionellae* larvalarının yaşama ve gelişimi de olumsuz yönde etkilenirken bu maddenin denenen en düşük miktarı böceğin yaşama oranını önemli derecede artırmıştır (Büyükgüzel, 2001b). Singh and House (1970c) besindeki antimikrobiyal maddelerin meydana getirdiği koku ve tat değişikliğinin larvaların besin alma işleminde etkili olduğunu belirtmiştir. Delgarde and Rouland-Lefevre (2002) nikotin benzeri bir insektisit olan tiyometoksam'ın bazı termit türleri, *Trinervitermes trinervius* Rambur ve *Odontotermes smeathmani* Fuller, *Amitermes evuncifer* Silvestri'e karşı besin almayı önleyici etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir.

*G. mellonella*'nın farklı gelişim evrelerine yüzeysel olarak uygulanan asiklovirin böceğin yumurta, larva, pup ve erginleri üzerindeki etkileri bu maddenin denenen miktarlarına göre değişmiştir. Birinci evre, dördüncü evre ve genç pupların asiklovirin düşük miktarları ile muamele edilmesi böceğin yaş ağırlığı, yaşama ve gelişmesi üzerinde olumsuz etki ortaya çıkarmamıştır. Yumurtalar ve yumurtadan yeni çıkmış birinci evre larvaları asiklovirin en düşük konsantrasyonlu çözeltisi (0,01 g/100 ml) ile muamele edildiğinde bazı olumlu etkiler ortaya çıkmıştır. Asiklovirin bu miktarı ile muamele edilmiş yumurtalardan açılan larvaların olgunlaşma oranı ile bu larvaların pup ve ergin olma yüzdesi distile su ile muamele edilen yumurtalardan (kontrol grubu) açılan larvalara göre önemli derecede artmıştır. Diğer asiklovir miktarlarının ise bu hususta önemli bir etkisi olmamıştır. Asiklovirin % 0,01'lik çözeltisi ile muamele edilen yumurtalardan açılan larvaların, olgun larva evresindeki ağırlığı ve bu larvalardan oluşan

pupların ağırlığı önemli derecede artmıştır. Bu çözeltinin (0,01 g/100 ml) yeni açılan birinci evre larvalarına doğrudan uygulanması yalnızca olgunlaşan larva sayısını önemli derecede artırırken ancak pup ve ergin olma oranında önemli olmayan bir artışa sebep olmuştur. Bu miktar diğer olumlu etkisini böceğin gelişimini hızlandırarak göstermiştir. Denenen diğer miktarlar yaşama üzerinde etkili olmazken, pup ve ergin evredeki yaş ağırlığı önemli derecede artırmış böceğin ergin evreye gelişimini ise hızlandırmıştır. Bu sonuçlar bazı kontaminasyon kaynağı mikroorganizmaların dışıdan bir sonraki nesile yumurta ile taşındığı ihtimalini artırmaktadır. Böylece yumurtaya uygulanan asiklovirin bu miktarı yumurta yüzeyindeki mikroorganizmaları ya da koryon zarı ile birlikte bu maddeyi yemeleri sonucu, sindirim kanalındaki mikroorganizmaları yok ederek bu larvaların ergin evreye normal gelişimini sağlamış olabilir. Buna karşılık bu madde ile doğrudan muamele edilen birinci evre larvalarının ancak yüzeyindeki mikrobiyal organizmalar öldürülürken sindirim kanalındaki mikrobiyal flora etkilenmeyebilir. Diptera takımına ait parazit bir böcek olan *Hypoderma lineatum* (Villers)'un ikinci ve üçüncü evre larvalarının yüzey dezenfeksiyonu için kullanılan izotonik tuz çözeltisine ilave edilen kloramfenikolün düşük miktarı (0,1 mg/ml) pup olma oranında artışa sebep olmuştur (Chamberlain and Scholl, 1991). Ancak bu çözeltideki kloramfenikol miktarının 2 mg'a artırılması ergin oluşumunu engellemiştir (Chamberlain, 1989).

*G. mellonella*'nın dördüncü evre larvalarının asiklovirin yüksek konsantrasyonları (3,0 ve 6,0 g/100 ml) ile muamele edilmesi olgunlaşan larva oranını, pup ve ergin eldesini önemli derecede düşürmüştür. Denenen en yüksek asiklovir konsantrasyonu, kontrol grubuna göre dördüncü evre larvalarının ergin evreye gelişme süresini yaklaşık 1,5 gün geciktirmiştir. Buna karşılık bu çözelti (6,0 g/100ml) ile muamele edilen pupların erginleşme oranı  $50,0 \pm 0,92$ 'dan  $88,5 \pm 4,3$ 'e önemli derecede artmış olup gelişme süresi etkilenmemiştir. Denenen düşük asiklovir miktarları ise bu pupların ergin olma oranında önemli olmayan bir artışa sebep olmuştur. Böcekler larva ve pup evrelerinde dış yüzeylerindeki mikroorganizmalara karşı ilk tepki olarak fenoloksidaz enzimi ile oluşturdukları oksitlenmiş fenoller kütikula tabakalarında biriktirirler. Özellikle bazı

entomopatojenik mantarlar bu kütikula tabakasını parçalayan endoproteaz enzimi salgıladığı gibi bunların sporları uzun süre böceğin dış yüzeyinde canlı kalabilme yeteneğindedir (Dillon and Charnley, 1989). Larval evrelerde henüz sertlik kazanmamış bir kütikula tabakası bulunduğundan bu kontaminasyon kaynaklarının iç kısımlara nüfuz etmesi de oldukça kolaydır. Uygulanan asiklovir miktarı normalde suya karşı bir engel oluşturan kütikula tabakasının geçirgenliğini artırarak (ıslatıcı etki) böceğin iç dokularına girebilir. *G. mellonella* puplarına yüzeysel olarak uygulanan asiklovir miktarları böceğin ergin olma oranı üzerinde istatistiksel olarak önemli olmayan bir artışa sebep olmuştur. Ergin olma oranındaki bu artış asiklovir miktarlarının pupların yüzeyindeki zararlı mikroorganizmaların çoğalmasını önlemesinin bir sonucu olabilir.

Asiklovirin % 0,1'lik çözeltisinin son evre larvasına (olgun larva) enjekte edilmesi pup olma oranını önemli derecede düşürmüş olmasına rağmen böceğin ergin olma oranını ve gelişmesini etkilememiştir. Enjekte edilen en yüksek konsantrasyondaki çözelti (% 6,0) ise olgun larvaların pup olma oranını etkilemezken bu pupların ergin olma oranını önemli derecede azaltmış gelişmesini de geciktirmiştir. Bu çözeltinin enjekte edildiği bazı larvaların gelişmeleri sırasında pup kozasını normal olarak atamadığı ve kanatları tam olarak açılmayan erginler oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 3.2). Ökaryotik bir protein sentezi inhibitörü olan sikloheksimidin enjeksiyon ile uygulanması *Acyrtosiphon pisum*'da uçuş ile dolaylı ilgisi olan kasların yapısının bozulmasına (Kobayashi and Ishikawa, 1994), *Manduca sexta* da ise başkalaşım sırasında ön bacadaki sinir hücrelerinin ölmesine (Weeks et al., 1993) sebep olmuştur. *G. mellonella*'nın besinine ilave edilerek larvalara yedirilen ve farklı yöntemler ile değişik evrelerine uygulanan asiklovirin bu böcek üzerindeki etkisi uygulama yöntemine ve böceğin gelişme evresine göre değişmiştir.

*G. mellonella*'nın dişilerine enjekte edilen asiklovir miktarlarının hepsi bırakılan yumurta sayısını ve bu yumurtaların toplam ağırlığını düşürmüştür. Buna karşılık asiklovirin yalnızca % 1,0'lik çözeltisi bu yumurtaların açılmasına olumlu etki yapmıştır. Bu miktarın uygulandığı dişilerin yumurta veriminde önemli bir azalma

olmasına rağmen bırakılan yumurtaların büyük bir çoğunluğunun embriyonik gelişimi tamamlayarak normal olarak açılabilirdiği görülmektedir. Ekonomik olarak zarara sebep olan böceklerin yumurta üretimini azaltmak bu böcekler ile mücadelede önemli bir yöntemdir. Ancak bu açıdan ele alındığında, bırakılan yumurtaların açılma oranının yüksek olması ise istenmeyen bir durumdur. Diğer taraftan böyle bir sonuç bu böceklerin laboratuvar şartlarında yapay besin ortamlarında daha yüksek verimle yetiştirilmeleri açısından oldukça önemlidir. Antiviral özelliğe sahip bazı kimyasal maddeler ve nükleozit yapısına benzeyen çeşitli yapay maddelerin oldukça düşük miktarları da lepidoptera ve diğer takımlara ait zararlı türlerin yumurta üretimini çoğunlukla olumsuz yönde etkilemiştir. Nükleopolihedro virüs kontaminasyonunu kontrol etmek amacıyla lahanada kurdu *Trichoplusia ni* (Hübner)'nin besinine ilave edilen sodyum hipoklorür ve formalinin yüksek miktarları yumurtaların açılma oranını ve bu yumurtalardan çıkan larvaların pup evresine ulaşma oranını düşürmüştür (Vail et al., 1968). Antiviral madde (R,S)-9-(2,3-dihidroksipropil) adeninin içme suyuna ilave edilen 0,01 ve 0,5 mg gibi düşük miktarları heteropter böceklerden *Pyrrhocoris apterus* L.' da ve *Dysdercus cingulatus* (Fabr.)'da ovaryum yapısının bozulmasına ve embriyonik gelişimin gerilemesine sebep olmuştur (Sláma et al., 1983). Bu yapay antiviral maddenin % 0,5'lik çözeltisi *Pyrrhocoris apterus*'da folikül hücrelerinin yapısının bozulmasına sebep olduğu, ovaryum gelişimini engellediği gibi embriyo gelişimi için önemli olan vitellin proteinin sentezini de önlemiştir (Šula et al., 1987; Socha et al.,1988). Aynı maddenin % 0,1'lik çözeltisi *Dysdercus cingulatus* (Fabr.)' da yumurta oluşumunu tamamen önlemiş, % 0,01 ve 0,05 gibi düşük konsantrasyonlarda ise bırakılan yumurtaların sayısı ve açılma oranını azaltmıştır. (Gelbič and Švec, 1988; Gelbič et al., 1991). Buna karşılık bu antiviral madde lepidopter bir zararlı güve türü olan *Spodoptera littoralis* (Boisd.)'in erkek ve dişilerinin üremesi üzerinde etkili olmamıştır (Gelbič and Holy, 1985). (R,S)-9-(2,3-dihidroksipropil) adenin ve hempa' nın % 0,02 ve 0,5'lik çözeltileri *Pyrrhocoris apterus*'da hemolenf, yağ doku ve ovaryumdaki protein içeriğinde önemli değişikliğe sebep olmuş, yumurta oluşumunu tamamen önlemiştir (Gelbič and Šula, 1990). Bu böceğin üremesi üzerine diğer bir antiviral madde olan 6-azauridin de benzer etkilerde bulunmuştur

(Masner and Landa, 1971). Antiviral özelliğe sahip ve nükleozid benzeri maddeler olan (R,S)-9-(2,3-dihidroksipropil) adenin, 9-(2-fosfonilmetoksietil) adenin ve D-eritadeninin % 0.01 ve 0,1'lik konsantrasyonlarının hemipter bir böcek *Rhodnius prolixus* Stal'a enjekte edilmesi yumurta üretimini, dişi başına düşen yumurta sayısını, yumurtaların ortalama ağırlığını ve açılma oranını düşürmüştür. Bu böcekte ilk iki maddenin % 1,0'lik çözeltisi üretilen yumurta sayısını yarı yarıya düşürmüştür (Gelbič ve Soldán, 1997). Bazı antiviral maddelerin (Hempa ve Metepa) 0,2 mikrogramı bile avrupa mısır kurdu *Ostrinia nubilalis* yumurtalarının açılmasını % 100 oranında önlemiştir (Jackson and Brindley, 1971).

Antiviral maddelerin dışında diğer bazı biyolojik inhibitörlerin de böceklerin verimliliği üzerinde genelde olumsuz etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır. Örneğin kitin sentezi inhibitörü olan klorfluazuronun öldürücü olmayan dozlarda noktuid bir lepidopter tür olan yaprak kesici kurt *Spodoptera litura* (F.) nın beşinci evre larvalarına enjekte edilmesi ovaryum gelişimini yavaşlatmış ve olgunlaşan yumurtaların sayısını azaltmıştır (Perveen and Miyata, 2000). Diğer kitin sentezi inhibitörü buprofezin ise nöropter bir tür *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister)'in yumurta verimini azaltmış ancak yumurtaların açılmasını ve açılan larvaların ergin olma oranını etkilememiştir (Liu and Chen, 2000). Nistatin, sikloheksimid ve sodyum benzoat yumurta paraziti *Trichogramma dendrolimi* Matsumura'da yumurtaların açılma oranını düşürmüştür (Grenier and Liu, 1990; 1991). Metil p-hidroksibenzoat ise diğer hymenopter (zar kanatlı) parazitoid *T. pretiosum* Riley' da yumurta açılımını tamamen önlemiştir (Xie et al., 1986). Buna karşılık, bir kınkanatlı tür olan *Anthonomus grandis*'te ise besine ilave edilen bazı antibiyotikler yumurta üretimini etkilemezken yumurtaların açılma oranını artırmış ve bu açılan larvaların gelişimini ise hızlandırmıştır (Villavaso, 1978). Doğal besine uygulanan kloromisetin ipek böceği *Bombyx mori*'nin yumurta ağırlığını, sayısını ve açılma oranını artırmıştır (Murthy et al., 1954).

Bir çok böcekte yumurta bırakma davranışının başlaması için ovaryumun gelişimi, yumurta üretimi ve olgunlaşmasına ihtiyaç duyulur. Ovaryumların gelişmesi ve yumurta hücrelerinin büyümesi vitellin proteininin sentezi sayesinde

olup bunların hepsi hormonal kontrol altındadır (Zeng et al., 2000; Engelman, 1979). Diğer taraftan yumurta bırakma davranışı çevresel sinir sisteminden daha çok merkezi sinir sistemi tarafından yönetilen ve hormonal seviyede gerçekleştirilen karmaşık bir aktivitedir (Loher, 1984). Bu yüzden *G. mellonella*'nın genital organlarının bulunduğu bölgeye (genital oda) enjeksiyon ile verilen asiklovirin doğrudan hemolenfe karışarak kısa bir süre içinde yumurta üretimi, olgunlaşması ve bırakımı ile ilgili fizyolojik davranışları etkilemesi beklenir.

*Galleria mellonella* larvalarını laboratuvar şartlarında ergin evreye kadar yetiştirmek için en uygun besinler Haydak'ın yapay besini ile doğal besin olarak koyu renkli eski bal peteğidir. Bu besinlerden sırasıyla %  $69,3 \pm 15,8$  ve  $60,0 \pm 7,1$  gibi yüksek oranda ergin yetiştirilmiş olup bu besinlere ilave edilen asiklovirin 1,0 g'ının bu yaşama oranı üzerinde etkili olmaması önemli bir sonuçtur. Laboratuvarda yetiştirilen ipek böceğinden (Govindan et al., 1990) yüksek organizasyonlu çiftlik hayvanlarına (Patrick and Schaible, 1980) kadar ekonomik öneme sahip hayvanların beslenmesinde bazı antibiyotikler katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Böylece antiviral bir antibiyotik olan asiklovirin düşük miktarlarının *G. mellonella*'nın laboratuvar kültüründe kullanılan yapay ve doğal besinlerdeki mikrobiyal kontaminasyonları önleyerek beslenme ortamının kalitesini ve verimliliğini iyileştirmede etkili olabileceği görülmektedir. Diğer taraftan bu antiviral madde yüksek miktarlarda yaşama ve gelişimi olumsuz yönde etkilemesi, yumurta verimini azaltması sebebiyle besin almayı önleyici ve üreme hızını yavaşlatıcı olarak bu böceğin kimyasal mücadelesinde kullanılabilir. Bu antiviral madde düşük toksisitesi nedeni ile *Galleria mellonella*'nın mücadelesinde alışlagelmiş bir şekilde kullanılan paradiklorobenzol (PCDB) ve metil bromid gibi sinir ve solunum sistemini etkileyen kuvvetli kimyasallere bir seçenek olarak gerek besine ilave edilerek gerekse doğal beslenme ortamlarına püskürtme (spreyleme yöntemi) ile uygulanabilir. Ayrıca bu antiviral madde yumurta ve amaca göre diğer evrelerdeki böceklerin yüzey dezenfeksiyonunda formalin ve sodyum hipoklorüre karşı daha güvenilir olarak kullanılabilir. Asiklovirin maddenin böceğin farklı evrelerindeki metabolik olaylarını etkilemesi

ve çeşitli dokularında biyokimyasal tepki meydana getirmesi beklenen durumdur. Bu sebeple asiklovirin yaşama ve gelişme üzerindeki etki mekanizmasını tam olarak anlayabilmek için böceğin biyokimyasal bileşimindeki ve çeşitli enzim sistemlerindeki değişimlerin bilinmesi gerekmektedir.



## KAYNAKLAR

- Adour, K.K., Ruboyianes, J.M., Von Doersten, P.G., Byl, F.M. Trent, C.S., Quesenberry, C.P. Jr., Hitchcock, T.** (1996) Bell's palsy treatment with acyclovir and prednisone compared with prednisone alone: a double-blind, randomized, controlled trial. *Ann. Otol. Rhinol. Laryn.*, Vol.105, No 5, pp. 371-378.
- Afrikan, E. G.** (1960) Causal agents of bacterial disease of the silkworm and the use of antibiotics in their control. *J. Insect Pathol.*, Vol. 2, pp. 299-304.
- AL-Izzi, M.A.J., Al-Maliki, S.K. and Jabbo, N.F.** (1987) Culturing the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), on an artificial diet. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 80, pp. 277-280.
- Al-Masoudi, N.A., Al-Soud, Y.A., Ehrmann, M. and Clerq, E.** (2000) Synthesis of acyclic 6,7-dihaloquinolone nucleoside analogues as potential antibacterial and antiviral agents. *Bioorg. Med. Chem.*, Vol. 8, pp. 1407-1413.
- Alverson, J. and Cohen, A.C.** 2002. Effect of antifungal agents on biological fitness of *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 95, No 2, pp. 256-260.
- Azab, S.G., Sadek, M.M. and Crailsheim, K.** (2001) Protein metabolism in larvae of the cotton leaf-worm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and its response to three mycotoxins. *Environ. Entomol.*, Vol. 30, No 5, pp. 817-823.
- Baker, J.M. and Norris, D.M.** (1968) A complex of fungi mutualistically involved in the nutrition of Ambrosia Beetle *Xyleborus ferrugineus*. *J. Invertebrate Pathol.*, Vol. 11, pp. 246-250.
- Bandyopadhyay, M. and Raychandhuri D.N.** (1970) Inhibitory effect of food on anti-microbial properties of chloramphenicol and penicillin G in cockroach (*Periplaneta americana*, Dict. Blattidae). *Science and Culture*. Vol. 36, pp. 219-220.
- Barnum, R.S.** (1998) Biotechnology: An introduction. 1st edn. Wadsworth Publishing Company, Belmont, Canada,
- Bass, M.H. and Barnes, E.E.** (1969) Toxicities of antimicrobial agents to white-fringed beetle larvae and the effectiveness of certain of these agents against microbial growth. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 62, pp. 718-719.
- Bernardi, E.B., Haddad, M.L. and Parra, J.R.P.** (2000) Comparison of artificial diet for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lep., Pyralidae) for *Trichogramma* mass production. *Rev. Brasil. Biol.*, Vol. 60, No 19, pp. 45-52.

- Bhaumik, S.K.** (1977) Histological & Histochemical localization of nucleic acids & general protein in hemocytes of Cockroach *Periplaneta americana* (L.) before & after antibiotic therapy. *Indian J. Exp. Biol.*, Vol. 15, pp. 888-890.
- Bourtzis, K. and O'Neill, S.** (1998) Wolbachia infections and arthropod reproduction. *Bioscience*. Vol. 48, pp. 287-294.
- Bready, J.K. and Friedman, S.** (1963). The nutritional requirements of termites in axenic cultures. 2. Studies on the effectiveness of antibiotics in the sterilization of workers of *Reticulitermes flavipes*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 56, pp. 706-708.
- Bronskill, J.** (1961). A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pralidae). *J. Lep. Soc.*, Vol. 15, No 2, pp. 102-104.
- Browne, L.B.** (1995) Ontogenetic changes in feeding behavior. In: Regulatory mechanisms in insect feeding. (eds.R.F. Chapman and G. de Boer), Chapman & Hall, New York, USA, pp. 307-319.
- Bucher, G.E. and Williams, R.** (1967). The microbial flora of laboratory cultures of the greater wax moth and its effects on rearing parasites. *J. Invertebr. Patho.*, Vol. 9, pp. 467-473.
- Buzby, J.C., Roberts, T., Lin, C.T.J. and Macdonald, J.M.** (1996) Bacterial foodborne disease: medical costs and productivity losses. *Agr. Econ. Rep.*, Vol. 741, 100pp.
- Büyükgüzel, K.** (2001a) Positive effects of some gyrase inhibitors on survival and development of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera:Ichneumonidae) larvae reared on an artificial diet, *J. Econ. Entomol.*, Vol. 94, No 1, pp. 21-26.
- Büyükgüzel, K.** (2001b) DNA gyrase inhibitors: Novobiocin enhances the survival of *Pimpla turionellae* larvae reared on an artificial diet but other antibiotics do not. *J. Appl. Entomol.*, Vol. 125, pp. 583-587.
- Büyükgüzel, K. ve Yazgan, Ş.** (1996). Bazı antibiyotiklerin endoparazitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın yaşama ve gelişimine etkileri. *Türk Zooloji Dergisi*, Cilt 20, s. 1-7.
- Büyükgüzel, K. and Yazgan, Ş.** (1999). Combinational effects of some antimicrobial agents on the survival and development of the endoparasitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Communications (series C)*. Vol. 48, pp. 1-14.
- Büyükgüzel, K. and Yazgan, Ş.** (2002) Effects of antimicrobial agents on survival and development of larvae of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) reared on an artificial diet. *Tr.J. Zool.*, Vol. 26, pp. 111-119.

- Büyükgüzel, K., Tunaz, H., Putnam, S.M. and Stanley, D.W. (2002)** Prostaglandin biosynthesis by midgut tissue isolated from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Insect Biochem. Molec.*, Vol. 32, No 4, pp. 435-443
- Campos, F., Donskov, N., Arnason, J.T., Philogene B.J.R., Atkinson, P.M. and Werstjuk, N.H. (1990)** Biological effects and toxicokinetics of DIMBOA in *Diadegma terebrans* (Hymenoptera: Ichneumonidae), an endoparasitoid of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralide). *J. Econ. Entomol.* Vol. 83, No 2, pp. 356-360.
- Chamberlain, W.F. (1989)** Survival of second and third instars of the cattle grubs, *Hypoderma lineatum* (Villers) and *Hypoderma bovis* (L.), in artificial media. *Southwest Entomol.*, Vol. 14, pp. 233-239.
- Chamberlain, W.F. and Schol, P.J. (1991)** New procedures to enhance survival of third-instar *Hypoderma lineatum* (Villers) (Diptera:Oestridae) in artificial media. *J. Med. Entomol.*, Vol. 82, No 2, pp. 266-269.
- Chan, H.T. and Jang, E.B. (1995)** Diet pH effects on mass rearing of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 88, No 3, pp. 569-573.
- Chang, C.L., Albrecht, C., El-Shall, S.S. A.and Kurashima, R. (2001)** Adult Reproductive capacity of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) on a chemically defined diet. *Ann Entomol. Soc. Ame.*, Vol. 94, No 5, pp. 702-706.
- Chapman, G.M., Lieb, C.W. and Cumco, L.G. (1937)** Isolation and differentiation of food-poisoning Staphylococci. *Food Res.*, Vol. 2, pp. 349-367.
- Charrière, J-D. and Imdorf, A. (1997)** Protection of honey combs from moth damage. Swiss Bee Research Center Federal Dairy Research Station. Communication, Vol. 24, 16 pp.
- Chen, Y.H. and Welter, S.C. (2002)** Abundance of a native moth *Homoeosoma electellum* (Lepidoptera: Pyralidae) and activity of indigenous parasitoids in native and agricultural sunflower habitats. *Environ. Entomol.*, Vol. 31, No 4, pp. 626-636.
- Childress, D. and Williams, P.P. (1973)** Control of a bacterial contamination of boll weevil diet. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 66, No 2, pp. 554-555.
- Clark, E.W., Richmond, C.A. and McGough, J.M. (1961).** Artificial media and rearing techniques for the pink bollworm. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 54, pp. 4-9.

- Cohen, A.C. and Patana, R. (1986).** Ontogenetic and stress related changes in hemolymph chemistry of beet armyworms. *Comp. Biochem. Phys.*, Vol. 71A, pp. 193- 198.
- Costa, H.S., Henneberry, T.J. and Toscano, N.C. (1997)** Effects of antibacterial materials on *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) oviposition, growth, survival, and sex ratio. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 90, No 2, pp. 333-339.
- Deecher, D.C., Brezner, J. and Tanenbaum, S.W. (1989)** Effects of abamectin and Milbemycin D on gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 82, No 5, pp. 1395-1398
- Deecher, D.C., Brezner, J. and Tanebaum, S.W. (1990)** Sublethal effects of avermectin and milbemycin on the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 83, pp. 710-714.
- Delgarde, S. and Rouland-Lefevre, C. (2002)** Evaluation of the effects of thiamethoxam on three species of African termite (Isoptera: Termitidae) crop pests. *J. Econ Entomol.*, Vol. 95, No 3, pp. 531-536.
- Dillon, R.J. and Charnley, A.K. (1989)** Initiation on germination in conidia of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. (eds. A.K. Charnley), Mycoinsectisides: Present use and future prospects.. Progress and Prospects in Insect Control. Monograph No. 43. British Crop Protect. Council, pp. 165-181
- Douglas, A.E. (1998)** Nutritional interaction in insect- microbial symbiosis: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*. *Annu. Rev. Entomol.*, Vol.43, pp.17-37.
- Dudziak, B. (1975)** Studies on the role of microorganisms in the alimentary tract of *Galleria mellonella* larvae. *Ann. Univ. Maria Curie- Sklodowska* Vol. 30, No C, pp. 15-22.
- Duncan, D.B. (1955)** Multiple Range and Multiple F tests. *Biometrics*, Vol. 11, pp.1-14.
- Dutky, S.R., Thompson, J.V. and Cantwell, G.E. (1962)** A technique for mass rearing the greater wax moth (Lepidoptera: Galleridae). *Ent. Soc. Wash.*, Vol.64, No 1, pp. 54-59.
- Edson, K.M., Vinson, S.B. and Summers, M.D. (1981)** Virus in a parasitoid wasp:suppression of the cellular immune response in the parasitoid's host. *Scienc*, Vol. 211, pp. 582-583.
- Eischen, F. and Dietz, A. (1987)** Growth and survival of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larva fed diets containing honey bee-collected plant resins. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 80, pp.74-77.

- El-sayed, G.N. and Knowles C.O.** (1984) Synergism of insecticide activity to *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) by formamides and formamidines. *J. Econ. Entomol.*, Vol.77, pp.872-875.
- Engelman, F.** (1979) Insect vitellogenin: identification, biosynthesis, and role in vitellogenesis. *Adv. Insect Physiol.*, Vol. 27, pp. 49-108.
- Ensminger, M.E., Oldfield, J.E., and Heinmann, W.W.** (1990) Feed and Nutrition (Formerly: Feeds and Nutrition-complete). Clovis, CA: the Ensminger Publishing Company.
- Felton, G.W. and Dahlman, D.L.** (1984) Nontarget effect of a fungicide: Toxicity of Maneb to the parasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 77, pp. 847-850.
- Fleming, J.G.W.** (1992) Polydnaviruses: Mutualists and pathogens. *Annu. Rev. Entomol.*, Vol. 37, pp. 401-425.
- Franti, C.E., Julian, M.L., Adler, E.H.** (1973) Antibiotic growth promotion effect bacitracin and oxytetracycline on live weight and weights of selected muscles of new Hampshire Cockerel, *Poultry Sci.*, Vol.52, No 5, pp. 1757-1765.
- Galloway, L.D. and Burgess, R.** (1952) Applied mycology and bacteriology. 3th. Ed., Leonard Hill, London, pp.54-57.
- Gelbič, I. and Holy, A.** (1985) Effects of antiviral agent (RS)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenin on the larval development of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera). *Acta Entomol. Bohemoslov.*, Vol. 82, pp. 22-27.
- Gelbič, I. and Soldán, T.** (1997) Changes in fecundity of *Rhodnius prolixus* Stål (Het., Reduviidae) caused by three nucleoside derivatives. *J. Appl. Entomol.*, Vol. 121, pp. 465- 469.
- Gelbič, I. and Švec, P.** (1988) Changes in the fecundity and embryonic development of *Dysdercus cingulatus* caused by the effects of the antiviral agent (R,S)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenin. *Acta Entomol. Bohemoslov.*, Vol. 35, pp. 327-334.
- Gelbič, I. and Šula, J.** (1990) Ovicidal and biochemical effects of hempa and a nucleoside analogue on *Pyrrhocoris apterus* (L.) (Het., Pyrrhocoridae). *J. Appl. Entomol.*, Vol. 109, pp. 401-409.
- Gelbič, I., Šula, J. and Socha R.** (1991) (R,S)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenin induced sterility in females of the red cotton bug, *Dysdercus cingulatus* F. (Het., Pyrrhocoridae). *J. Appl. Entomol.*, Vol. 111, pp. 254-262.
- Getzin, L.** (1962) Mass rearing of virus free cabbage looper on an artificial diet. *J. Insect Pathol.*, Vol. 4, pp. 486-488.

- Gorbach, S.L.** (2001) Antimicrobial use in animal feed - time to stop. *N. Engl. J. Med.*, Vol. 345, No 16, pp. 1202-1203
- Govindan, R., Magadum, S.B., Krishna, B.G., Magadism, V.B., Devaiah, M.C., Narayanaswamy, T.K.** (1990) Effect of fortification of streptomycin and procaine penicillin on economic traits of erisilkworm. *Curr. Res.* Vol. 19, No 11, pp. 196-197.
- Graf, B., Höpli, H.U. and Höhn, H.** (2001) The apple sawfly, *Hoplocampa testudinea*: Temperature effects on adult life-span and reproduction. *Entomol. Exp. Appl.*, Vol. 98, pp. 377-380.
- Graf, E. and Benz, G.** (1970) Toxicity of streptomycin and terramycin, and influence on growth and developmental time of *Drosophila melanogaster*. *Experientia*. Vol. 26, No 12, pp. 1339-1341.
- Greenberg, B.** (1970) Sterilizing procedures and agents, antibiotics, and inhibitors in mass rearing of insects. *Bull. Ent. Soc. Amer.*, Vol.16, No 1, pp. 31-36
- Grenier, S. and Liu, W.H.** (1990) Antifungals: Mold control and safe levels in artificial media for *Trichogramma* [Hymenoptera: Trichogrammatidae]. *Entomophaga*, Vol. 35, No 2, pp. 283-291.
- Grenier, S. and Liu, W.H.** (1991) Mold control and safe levels of antifungals in artificial media for egg parasitoids (Hymenoptera). *Les Colloques de l'INRA.*, Vol. 56, pp. 141-144.
- Grenier, S., Delobel, B. and Bonnot, G.** (1986) Physiological considerations of importance to the success of *In vitro* culture: An overview. *J. Insect Physiol.*, Vol.32, pp. 403-408.
- Gupta, P., Sloan, A., Dillard, C.R., and Ferkovich, S.M.** (1996a) Parasitism of factitious host, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) by an endoparasitoid: ovoposition and emergence of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Fla. Entomol.*, Vol. 79, No 2, pp. 221-229.
- Gupta, P., Dillard, C.R. and Ferkovich, S.M.** (1996b) Potential of an unnatural host, *G. mellonella* for rearing the corn earworm endoparasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 89, pp. 103-108.
- Hailemichael, Y. and Smith Jr, J.W.** (1994) Development and longevity of *Xanthopimpla stemmator* (Hymenoptera: Ichneumonidae) at constant temperatures. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 87, No 6, pp. 874-878.
- Haydak, M.H.** (1936) A food for rearing laboratory insects. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 29, No 5, pp. 1026.

- Haydak, M.H.** (1941) Nutrition of wax moth larvae: vitamin requirement. I, Requirement for vitamin B. *Proc. Minnesota Acad. Sci.*, Vol. 9, pp. 27-29
- Hedin, P.A., Thompson, A.C., Gueldner, R.C. and Henson, R.D.** (1974) Analysis of the antimicrobial agents, potassium sorbate and methyl-p-hydroxybenzoate, in boll weevil diets. *J. Econ entomol.*, Vol. 67, pp. 147-147.
- Hensely, S.D. and Hammond, Jr., A.M.** (1968) Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 61, pp. 1742-1743.
- Holmes, E.A. and Keeley, L.L.** (1975) Metabolic inhibitors: Effects on metamorphosis and flight muscle mitochondrial development in the moth, *Heliothis virescens*. *Insect Biochem.*, Vol. 5, pp. 349-355.
- Ignoffo, C.M.** (1963) A successful method for mass rearing cabbage loopers on a semisynthetic diet. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 56, pp. 178-182.
- Ishikawa, Y., Mochizuki, A., Ikeshoji, T. and Matsumoto, Y.** (1983) Mass-rearing of onion and seed-corn flies, *Hylemya antiqua* and *H. platura* (Diptera: Anthomyiidae), on an artificial diet with antibiotics. *Appl. Entomol., Zool.* Vol. 18, pp. 62-69.
- Jackson, R.D. and Brindley, T.A.** (1971) Hempa and metepa as chemosterilants of imagos of european corn borer. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 64, pp. 1065-1068.
- Jarosz, J.** (1981) Use of oxytetracycline -nystatin combination in obtaining germ-free larvae of *Galleria mellonella* for gnotobiotic studies. *Cytobios.* Vol. 32, pp. 107- 120.
- Jarosz, J.** (1979) Yeastlike fungi from greater wax moth larvae (*Galleria mellonella*) fed antibiotics. *J. Invertebr. Pathol.*, Vol. 34, pp. 257-262.
- Jarosz, J.** (1989) Simplified technique for preparing germ-free specimens of greater wax moth (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 82, No 5, pp. 1478-1481.
- Katzung, B.G.** (1987) Basic and clinical Pharmacology, third edition. Appleton and Lange. Norwalk, CT.
- Keeley, L.L. and Olson, J.K.** (1977) Toxic effects of mitochondrial DNA inhibitors on insect growth and development. *J. Insect Physiol.*, Vol. 23, pp. 303-307.
- Keena, M.A., Odell, T.M. and Tanner, J.A.** (1995) Effects of diet ingredient source and preparation method on larval development of laboratory-reared gypsy moth (Lepidoptera: Lymantridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 88, 59, pp. 672-679.

- Kishaba, A.N., Henneberry, T.J., Pangaldan, R. and Tsao, P.H.** (1968) Effects of mold inhibitors in larval diet on the biology of the Cabbage looper. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 61, pp. 1189-1194.
- Kobayashi, M. and Ishikawa, H.** (1994) Mechanisms of histolysis in indirect flight muscles of alate aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *J. Insect Physiol.* Vol. 40, No 1, pp. 33-38.
- Kort, C.A.D. and Granger, N.A.** (1996) Regulation of JH titers: the relevance of degradative enzymes and binding proteins. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, Vol. 33, pp. 1-26.
- Laing, D.R. and Hagen, K.S.** (1970) A xenic, partially synthetic diet for the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Olethreutidae). *Can. Entomol.*, Vol. 102, pp. 250-252.
- Levy, S.B.** (1987) Antibiotics use for growth promotion in animals. Ecologic and public health consequences. *J. Food Protect.*, Vol. 50, pp. 616-620.
- Liaw, G.J., Hsieh, F.K. and Chu, Y.I.** (1991) Screening of antiseptics for artificial diet for the silkworm, *Bombyx mori* L. *Chinese J. Entomol.*, Vol. 11 G, pp. 180-186.
- Liu, T-X. and Chen, T-Y.** (2000) Effects of the chitin synthesis inhibitor buprofezin on survival and development of immatures of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 93, No 2, pp. 234-239.
- Loher, W.** (1984) Behavioral and physiological changes in cricket-females after mating. Adv. In Invertebrate Reproduction, (eds. W. Engles, W.H. Clark, Jr., A. Fischer, P.J.W. Olive, and D.F. Nent), Elsevier, Amsterdam. Vol, 3, pp. 189-201
- Lopez, J.D.Jr., Bull, D.L. and Lingren, P.D.** (1996) Feeding of adult *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) on dry sucrose. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 89, No 1, pp. 119-123.
- Mallmann, W. L. and Darby, C. W.** (1941) Use of a lauryl tryptose sulphate broth for the detection of Coliform organisms. *Am. J. Public. Health.*, Vol. 31, pp. 127-134.
- Mandato, C.A., Diehl-Jones, W.L., Moore, S.J., and Downer, R.G.H.** (1997) The effects of eicosanoids biosynthesis inhibitors on prophenoloxidase activation, phagocytosis and cell spreading in *Galleria mellonella*. *J. Insect. Physiol.*, Vol. 43, No 1, pp. 1-8.
- Masner, P. and Landa, V.** (1971) The formation of compound egg chamber in a bug (Hemiptera) sterilized with 6-azauridine. *Can. Entomol.*, Vol. 103, pp. 1063-1078.

- Mazer, C.L. and Appel, A.G.** (2001) Water loss and desiccation tolerances of longwing butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae). *Environmental Entomol.*, Vol. 30, No 4, pp. 631-636.
- Mittler, T.E.** (1971a) Dietary amino acid requirements of the aphid *Myzus persicae* affected by antibiotic uptake. *J. Nutr.*, Vol. 101, pp. 1023- 1028.
- Mittler, T.E.** (1971b) Some effects on the aphid *Myzus persicae* of ingesting antibiotics incorporated into artificial diets (Hom. Aphididae). *J. Insect Physiol.* Vol.17, pp 1333-1347.
- Murthy, M.R.V., Shankaranarayana, D. and Seenivasaya, M.** (1954) Role of chloromycetin in the nutrition of silk-worm *Bombyx mori* Linn. *J. Sci. Industry Res.*, Vol. 13B, pp. 331-335.
- Nakahara, Y. and Iwabuchi, K.** (2000) In vitro rearing of the larval endoparasitoid, *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae) IV. Effects of osmotic pressure and pH on larval development. *Appl. Entomol. Zool.*, Vol. 35, No 3, pp. 381-388.
- Norris, D.M. and Baker, J.M.** (1969) Nutrition of *Xyleborus ferrugineus* II. Ethanol in diets as a tunneling (feeding) stimulant. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 62, pp. 592-594.
- Ortel, J.** (1995) Accumulation of Cd and Pb in successive stages of *Galleria mellonella* and metal transfer to the pupal parasitoid *Pimpla turionellae*. *Entomol. Exp. Appl.*, Vol. 77, pp. 89-97.
- Ouye, M.T.** (1962) Effects of antimicrobial agents on microorganisms and pink bollworm development. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 55, pp. 854-857.
- Parfitt, K.** (1999). The complete Drug Reference, 32nd edn., The Pharmaceutical Press, Massachusetts, USA.
- Patrick, H. and Schaible, P.J.** (1980) Poultry: Feeds and Nutrition. Vol. I and II, Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, 2th edn, 668 pp.
- Pearson, B. and Raybould, A. F.** (1998) 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.* Vol. 31, No 1, pp. 77-90.
- Perween, F. and Miyata, T.** (2000) Effects of sublethal dose of chlorfluazuron on ovarian development and oogenesis in the common cutworm *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann. Entomol Soc. Am.*, Vol. 93, No 5, pp. 1131-1137.
- Pohlon, E. and Baldwin, I.T.** (2001) Artificial diets 'capture' the dynamics of jasmonate-induced defenses in plants. *Entomol. Exp. Appl.*, Vol. 100, pp. 127-130.

- Rabbaa, L., Dautrey, S., Colas-Linhart, N., Carbon, C. and Farinotti, R.** (1997). Absorption of Ofloxacin isomers in the rat small intestine. *Antimicrob. Agents Ch.*, Vol. 41, No 10, pp. 2274-2277.
- Reed, D.K., Tromley, N. and Ree, G.D.** (1985) Activity of avermectin B1 against codling moth (Lepidoptera: Olethreutidae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 78, pp. 1067-1071.
- Reisen, W.K.** (1975) Effects of selected antibiotics on the larval development of *Anopheles stephensi* Listan (Diptera: Culcidae). *Pakistan J. Zool.*, Vol. 7, pp. 113-115.
- Reynolds, S.E. and Samuels, R.I.** (1998) Physiology and Biochemistry of insect moulting fluid. *Adv. Insect Physiol.* Vol. 26, pp. 158-232.
- Ridgway, N.M. and Mahr, D.L.** (1990) Reproduction, development, and longevity of *Pholetesor ornigis* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of spotted tentiform leafminer (Lepidoptera: Gracillaridae), in the laboratory. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 83, pp. 790-794.
- Rivers, D.B. and Yoder, J.A.** (1996) Site-specific of parasitism on water balance and lipid content of the parasitic wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Eur. J. Entomol.*, Vol. 93, pp. 75-82.
- Roe, R.M., Hammond Jr, A.M. and Sparks, T.C.** (1982) Growth of larval *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) on an artificial diet and synchronization of the last larval stadium. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 75, pp. 421-429.
- Scharf, M.E., Lee, C-Y., Neal, J.J. and Bennett, G.W.** (1999) Cytochrome P450 MA expression in insecticide-resistant german cockcraches (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, Vol. 92, No 4, pp. 788-793.
- Schmidt, O., Anderson, K., Will, A. and Schuchmann-Feddersen, I.** (1990) Viruslike particle proteins from a hymenopteran endoparasitoid are related to a protein component of the immune system in the lepidopteran host. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* Vol. 13, pp. 107-115.
- Shelby, K.S. and Webb, B.A.** (1997) Polydnavirus infection inhibits translation of specific growth-associated host proteins. *Insect Biochem. Molec.* Vol. 27, No 3, pp. 263-270.
- Singh, P. and Bucher, G.E.** (1971) Efficacy of "safe" levels of antimicrobial food additives to control microbial contaminants in a synthetic diet for *Agria affinis* larvae. *Entomol. Exp. Appl.*, Vol. 14, pp. 297-309.
- Singh, P. and House, H.L.** (1970a) Antimicrobials. "Safe" levels in a synthetic diet of an insect, *Agria affinis*. *J. Insect Physiol.*, Vol. 16, pp. 1769-1782.

- Singh, P. and House, H.L.** (1970b) Effects of streptomycin and potassium sorbate in relation to nutrient levels on the larvae of *Agria affinis*. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 63, pp. 449-454.
- Singh, P. and House, H.L.** (1970c) Antimicrobial agents: their detrimental effects on size of an insect, *Agria affinis*. *Can. Entomol.*, Vol. 102, pp. 1340-1344.
- Sláma, K., Holý, A. and Votruba, I.** (1983) Insect sterility induced by a broad-spectrum antiviral agent (S)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenine. *Entomol. Exp. Appl.*, Vol. 33, pp. 9-14.
- Slansky, F.Jr. and Scriber, J.M.** (1985) Food consumption and utilization. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* (eds. G.A Kerkut and L.I Gilbert). Vol. 4, pp. 87-163, Pergamon Press, Oxford.
- Snedecor, G.W. and Cochran, W.G.** (1967) *Statistical methods* 6th edn. Ames. Iowa, USA, Iowa State Univ. Press.
- Socha, R., Gelbič, I. and Šula, J.** (1988) Histopatological effects of (R,S)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenine on the ovaries of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera, Pyrrhocoridae). *Acta Entomol. Bohemoslov.*, Vol. 85, pp. 408-417.
- Sokal, R.R. and Rohlf, J.F.** (1969) "Biometry", W. H. Freeman and Company. San Francisco, pp. 776.
- Srivasta, P.N. and Auclair, J.L.** (1976) Effects of antibiotics on feeding and development of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Homoptera: Aphididae). *Can. J. Zool.*, Vol. 54, pp. 1025-1029.
- Stoltz, D.B. and Vinson, S.B.** (1979) Viruses and parasitism in insects. *Adv. Virus Res.*, Vol. 24, pp. 125-169.
- Stoltz, D.B. and Whitefield, J.B.** (1992) Viruses and virus-like entities in parasitic hymenoptera. *J. Hym. Res.*, Vol. 1, pp. 125-139.
- Strand, M.R. and Pech, L.L.** (1995) Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. *Annu. Rev. Entomol.*, Vol. 40, pp. 31-56.
- Šula, J., Gelbič, I. and Socha, R.** (1987) The effects of (RS)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenine on the reproduction and protein spectrum in hemolymph and ovaries of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera, Pyrrhocoridae). *Acta Entomol. Bohemoslov.*, Vol. 84, pp. 1-9.
- Terra W.R.** (1990) Evolution of digestive systems of insects. *Ann. Rev. Entomol.*, Vol. 35, pp. 181-200.

- Toba, H.H., Kishaba, A.N., Pangaldan, R. and Riggs, S.** (1969) Laboratory rearing of pepper weevils on artificial diets. *J. Econ. Entomol.*, Vol. 62, pp. 257-258.
- Touré, A.M., Mackey, A.J., Wang, Z.X. and Beier, J.C.** (2000) Bactericidal effects of sugar-fed antibiotics on resident midgut bacteria of newly emerged anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, Vol. 37, No 2, pp. 246-249.
- Tunaz, H., Park, Y., Büyükgüzel, K., Bedick, J.C., Nor Aliza, A.R and Stanley, D.W.** (2003) Eicosanoids in insect immunity: Bacterial infection stimulates hemocytic phospholipase A2 activity in tobacco hornworms. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, Vol. 52, No 1, pp.1-6.
- Tzanakakis, M.E. and Lambrou, P.D.** (1975). A preliminary field experiment on the inhibition of larval growth of *Dacus oleae* by streptomycin. *Entomol. Exp. Appl.*, Vol. 18, pp. 258-260.
- Vail, P. V., Hennebery, T. J., Kishaba, A.N. and Arakawa, K.Y.** (1968) Sodium hypochlorite and formalin as antiviral agents against nuclear polyhedrosis virus in larvae of the Cabbage looper. *J. Invertebr. Pathol.*, Vol.10, pp. 84-93.
- Vey, A.V., Quiot, J.M., Mazet, I., and McCoy, C.W.** (1993) Toxicity and pathology of crude broth filtrate produced by *Hirsutella thompsonii* var. *Thompsonii* in shake culture. *J. Invertebr. Pathol.*, Vol. 61, pp. 131-137.
- Villavaso, E.J.** (1978) Boll weevils increasing egg hatch and progeny development by the addition of antibiotics to the artificial adult diet. *J. Georgian Entomol. Soc.*, Vol. 13, pp. 173-177.
- Votruba, I. and Holy, A.** (1980) Inhibition of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase by the aliphatic nucleoside analogue 9-(S)-(2,3-dihydroxypropyl) adenine. *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.*, Vol. 45, pp. 3039-3044.
- Waterhouse, D.F.** (1959). Axenic cultures of wax moths for digestion studies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, Vol. 77, pp. 283-289.
- Weeks, J.C., Davidson S.K. and Debu, B.H.G.** (1993) Effects of a protein synthesis inhibitor on the hormonally mediated regression and death of motoneurons in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *J. Neurobiol.* Vol. 24, No1, pp. 125-140.
- Wiedenmann, R.N., Smith, J.W. and Darnell, P.O.** (1992) Laboratory rearing and biology of the parasite *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) using *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) as a host. *Environ. Entomol.* Vol. 21, pp. 1160-1167.

- Wilson, R.L.** (1990) Rearing of sunflower moth (Lepidoptera: Pyralidae) for use in field evaluation of sunflower germplasm. *J. Kan. Entomol. Soc.*, Vol. 63, pp. 201-210.
- Xie, Z.N., Nettles, Jr., C.W., Morrison, R.K., Irie, K. and Vinson, S.B.** (1986) Three methods for the *In vitro* culture of *Trichogramma pretiosum* Riley. *J. Entomol. Sci.*, Vol. 21, No 2, pp. 133-138.
- Zalucki, M.P., Clarke, A.R. and Malcolm, S.B.** (2002) Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.*, Vol. 47, pp. 361-393.
- Zeng, F., Shu, S., Ramaswamy, S.B. and Srinivasan, A.** (2000) Vitellogenin in pupal hemolymph of *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, Vol. 93, No 2, pp. 291-294.
- Zubay, G.** (1993) *Biochemistry*. 3rd. edn. Wm. C. Brown Publishing Company, Kerper, Boulevard, Dubuque, IA, USA.

## ÖZGEÇMİŞ

Ender İçen 1978’de Zonguldak’ta doğdu; İlk ve orta öğrenimini aynı Őehirde tamamladı. Zonguldak Türk Eğitim Derneği (TED) koleji’nden mezun olduktan sonra 1997 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’ne girdi; 2001 yılında ‘‘iyi’’ derece ile mezun olduktan sonra aynı yıl girdiği ZK Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Programını sürdürmektedir.

