

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DELTAMETRİNİN *Galleria mellonella*'NİN BAZI BİYOKİMYASAL VE
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MEHMET BAKİ ALAGÖZ

DANIŞMAN

DOÇ. DR. TAMER KAYIŞ

ADİYAMAN, 2022

ÖZET

DELTAMETRİNİN *Galleria mellonella*'NİN BAZI BİYOKİMYASAL VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİLERİ

Mehmet Baki ALAGÖZ

Biyoloji Anabilim Dalı

Adıyaman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ağustos 2022

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Tamer KAYIŞ

Sunulan çalışmada deltametrinin *Galleria mellonella* larvalarında oksidatif stres belirteçleri (Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve malondialdehid (MDA) ve biyokimyasal parametrelere (protein lipid ve karbohidrat) etkileri araştırılmıştır. Deltametrinin farklı konsantrasyonları larvaların besinine eklenerek kontrol, DMSO, 50, 100 ve 150 µg/100 g olmak üzere 5 farklı deltametrin konsantrasyonu larvalara uygulanmıştır. Larvaların protein miktarlarında deltametrine bağlı olarak herhangi bir değişiklik gözlenmezken, lipid ve karbohidrat düzeyleri denenen tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna nazaran önemli ölçüde azalmıştır. SOD enzim aktivitesi DMSO grubu da dahil tüm konsantrasyonlarda kontrole göre önemli ölçüde artmıştır. CAT enzim aktivitesi DMSO grubu dışındaki diğer deltametrin içeren gruplarda önemli ölçüde artışlar göstermiştir. MDA miktarlarında denenen tüm konsantrasyonlarda önemli artışlar göstermiştir.

Sonuç olarak deltametrin model organizma *G. mellonella*'da oksidatif stres parametreleri ve biyokimyasal biyomarkırlar üzerine etki ederek önemli değişikliklere neden olmuştur. Bu değişiklikler deltametrinin toksik etkilerinin gösterilmesi bakımından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: *Galleria mellonella*; Deltametrin; Antioksidan enzimler; Biyomoleküller

ABSTRACT

EFFECTS OF DELTAMETHRINE ON OXIDATIVE STRESS and BIOCHEMICAL PARAMETERS of *Galleria mellonella*

Mehmet Baki ALAGÖZ

Department of Biyology

Adiyaman University Graduate School of Education, August, 2022

Supervisor : Assoc.Prof.Dr. Tamer KAYIŞ

In the present study, the impacts of deltamethrin on oxidative stress parameters (Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) and biochemical parameters (protein lipid and carbohydrate) in *Galleria mellonella* larvae were investigated. Different concentrations of deltamethrin were added to the larvae's food, and 5 different concentrations of deltamethrin were applied to the larvae as control, DMSO, 50, 100 and 150 µg/100 g. There was no change observed in the protein amounts of the larvae due to deltamethrin, the lipid and carbohydrate amounts were significantly decreased compared to the control group at all concentrations tested. SOD enzyme activity was significantly increased at all concentrations compared to the control, including the negative control group. CAT enzyme activity showed significant increases in deltamethrin-containing. It showed significant increases in MDA amounts at all concentrations tested.

As a result, deltamethrin caused significant changes in oxidative stress parameters and biochemical biomarkers in the model organism *G. mellonella*. These changes are important in demonstrating the toxic effects of deltamethrin.

Keywords: *Galleria mellonella*; Deltamethrin; Antioxidant enzymes; Biomolecules

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisansım süresi boyunca; akademik eğitimime uzun yıllar ara verdikten sonra tekrar başladığım için, araya tüm yılların yarattığı eksiklikleri öncelikle tamamlayan, her zaman devamı için beni cesaretlendiren, sadece hoca değil arkadaş, hatta aile bireyi olarak da Eğitim ve Öğretim yapılabileceğini gösteren, sabrı ve hoşgörüsü ile beni cesaretlendiren kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Tamer KAYIŞ’a,

Üzerimde kıymetli hocam Tamer Kayış kadar emeği olan, gerek tüm yüksek lisans süremde gerekse de tez süremde değerli bilgilerinden ve deneyimlerinden faydalandığım Üniversitemiz Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Mustafa COŞKUN’a,

Laboratuvar çalışmasının benim tezimdaki deneylerle aynı döneme denk gelerek özellikle laboratuvar kuralları bilincinin tekrar yerini almasını sağlayan ve çalışmalarımda bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen Üniversitemiz Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Yusuf SEVGİLER’e,

Yaşam boyu öğrenme doktorinini gelişmesini ve dünya vatandaşı olmasını istediğim, bu doğrultuda elimden gelen en büyük gayretin; örnek olmak gerektiği çabasıyla başladığım ama bana daha fazla örnek sevgili oğlum A. Efe ALAGÖZ’e

23/08/2022

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Adıyaman Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlâki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Mehmet Baki ALAGÖZ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
GÖRSELLER DİZİNİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....	2
1.2. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	4
1.3. <i>Galleria mellonella</i> 'nın Genel Özellikleri.....	5
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1. <i>G.mellonella</i> laboratuvar kültürü.....	11
3.1.2. Deney besinlerinin hazırlanması.....	12
3.2. Yöntem.....	13
3.2.1. Böceklerden süpernatant elde edilmesi.....	13
3.2.2. Protein miktarı, antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA düzeylerinin belirlenmesi.....	13
3.2.3. Karbohidrat ve lipid miktarlarının belirlenmesi.....	13
3.3. Verilerin istatistiksel analizi.....	14
4. BULGULAR.....	15
4.1. Deltametrinin Protein Miktarlarına Etkileri.....	15
4.2. Deltametrinin Lipit Miktarlarına Etkileri.....	16

4.3.Deltametrinin Karbohidrat Miktarlarına Etkileri.....	17
4.4. Deltametrinin SOD Enziminin Aktivitesine Etkisi.....	18
4.5. Deltametrinin CAT Enziminin Aktivitesine Etkisi.....	20
4.6. Deltametrinin MDA Düzeylerine Etkisi.....	21
5. TARTIŞMA.....	22
6.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	27
KAYNAKÇA.....	28
ÖZGEÇMİŞ.....	41

.



TABLÖLER DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1. Deney gruplarının besin içerikleri.....	12
Tablo 4.1. Deltametrinin proteinler üzerine etkileri.....	15
Tablo 4.2. Deltametrinin lipidler üzerine etkileri.....	16
Tablo 4.3. Deltametrinin karbohidratlar üzerine etkileri.....	18
Tablo 4.4. Deltametrinin SOD enzim aktivitesine etkileri.....	19
Tablo 4.5. Deltametrinin CAT enzim aktivitesine etkileri.....	20
Tablo 4.6. Deltametrinin MDA düzeyleri üzerine etkileri.....	21

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Deltametrinin kimyasal yapısı.....	2
Şekil 4.1. <i>G. mellonella</i> 'da farklı deltametrin konsantrasyonlarının total protein miktarına etkisi.....	16
Şekil 4.2. <i>G. mellonella</i> 'da farklı deltametrin konsantrasyonlarının total lipid miktarına etkisi.....	17
Şekil 4.3. <i>G. mellonella</i> 'da farklı deltametrin konsantrasyonlarının total karbohidrat miktarına etkisi.....	18
Şekil 4.4. <i>G. mellonella</i> 'da farklı deltametrin konsantrasyonlarının SOD enzim aktivitesine etkisi.....	19
Şekil 4.5. <i>G. mellonella</i> 'da farklı deltametrin konsantrasyonlarının CAT enzim aktivitesine etkisi	20
Şekil 4.6. <i>G. mellonella</i> 'da farklı deltametrin konsantrasyonlarının MDA miktarına etkisi.....	21

GÖRSELLER DİZİNİ

	Sayfa
Görsel 1.1. <i>G.mellonella</i> 'nın yaşam döngüsü.....	6
Görsel 3.1. <i>G. mellonella</i> stok kültürü.....	11



SİMGELER VE KISALTMALAR

APOX	: Askorbat peroksidaz
CAT	: Katalaz
DHAR	: Dehidroksi askorbat redüktaz
DMSO	: Dimetil sülfoksit
ETS	: Elektron taşıma sistemi
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSR	: Glutasyon redüktaz
GST	: Glutasyon S- transferaz
GSH	: Glutasyon peroksidaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
LOO [·]	: Lipid peroksil
MDA	: Malondialdehid
NBT	: Nitrotetrazolium
RNT	: Reaktif nitrojen türleri
NO [·]	: Nitrik oksit
NO ₂ [·]	: Nitrojen dioksit
RO [·]	: Alkoksil
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
OS	: Oksidatif stres
1O ₂	: Singlet oksijen
O ₂ ⁻	: Süperoksit anyonu

OH $\cdot$	: Hidroksil radikal
ROO $\cdot$	: Peroksil
TCA	: Trikloroasetik asit
TBA	:Tiyobarbiturik asit



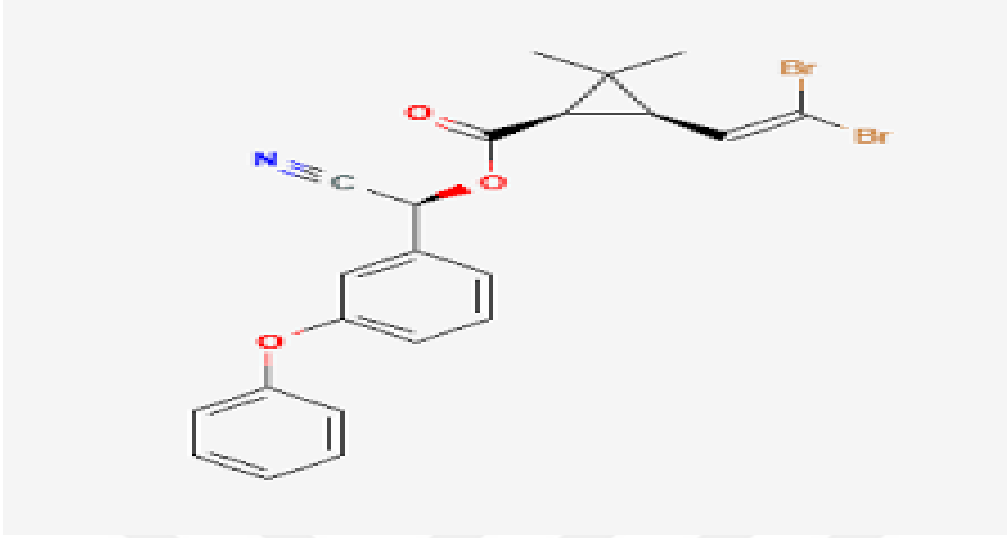
1. GİRİŞ

Son yıllarda sürdürülebilir tarım ve hayvancılığın devam ettirilmesinde ürünlerin yetiştirilmesi ve depolanması aşamalarında verimin artırılması ve korunması için pestisit kullanımı son derece yaygınlaşmıştır. Genel olarak zararlıları öldüren veya uzaklaştıran kimyasal veya doğal formülasyonlar pestisit olarak adlandırılır. Pestisitler içerisinde ise kullanımı en yaygın olan ve tür sayısı bakımından en geniş grup olan böceklerle karşı kullanılanlar yani insektisitlerdir. Zararlı böcek popülasyonlarını kontrol altına almakta kullanılan insektisitler organofosfat grubu insektisitler, organoklorlu insektisitler, karbamat grubu insektisitler, neonikotinoidler ve piretroidler gibi gruplara ayrılmaktadır. Genel olarak bu kimyasalların hepsi böceklerin sinir sistemleri üzerine etki ederek onların kontrol edilmesini sağlarlar. Organoklorlular ve piretroidler, sinir sisteminde impuls iletiminde rol oynayan Na^{+2} , K^{+} ve Cl^{-} iyonlarının transportuna etki ederek, organofosforlular ve karbamat grubu insektisitler ise yine impuls iletiminde rol oynayan nörotransmitter ve enzimler üzerine etki ederek, neonikotinoidler ise nikotinil asetilkolin reseptörlerini etkileyerek böceklerin ölümüne neden olurlar [1].

İlk kez 1949 yılında sentetik olarak üretilen alletrin ve sikletrinden sonra 1970' li yıllarda bunlara oranla daha etkili ve daha dayanıklı olan piretroidler sentezlenmiş ve bu yıllardan sonra zararlılarla mücadelede yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır [1,2]. Piretrum, krizantem (*Chrysanthemum cinerariifolium*) çiçeğinden elde edilen toz olup piretroidler ise kimyasal yapısı ve etkisi piretruma benzer olan kimyasallar için kullanılan bir terimdir [2].

Piretroidlerin bu derece yaygınlaşmasındaki en önemli etken zararlılara karşı diğer insektisit gruplarına göre daha etkin olması, buna karşın memeli ve kuşlar gibi hedef dışı canlılara daha az toksik etki göstermesinden kaynaklanmaktadır [3,4].

Tip 2 sentetik bir piretroidlerden olan deltametrin, [(S)-alpha-cyano-3-phenoxybenzyl-(1R)-cis-3-(2,2-dibromovinyl)- 2,2-dimethylcyclopropane carboxylate] böceklerle ve akarlarla karşı dünya çapında geniş ölçüde kullanılmaktadır [5]. Şimdiye kadar sentezlenen en güçlü insektisitlerden biri olup ektoparazitlere karşı ve tarımsal ürünlerin zararlılara karşı korunmasında [6-8], ayrıca gelişmekte olan ülkelerde Zika virüsü ve Dang virüsü taşıyıcısı olan sivrisinekler gibi insan hastalık vektörlerinin kontrolünde kullanıldığı da bilinmektedir [9,10].



Şekil 1 1. Deltametrinin kimyasal yapısı

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Deltamethrin#section=2D-Structure>)

Deltametrin sodyum kanallarında iyon transportunu etkileyerek, kanal kinetiğinin bozulmasını sağlar ve sinir sisteminde aşırı deşarjlara neden olmaktadır [11].

1.1. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Tüm canlılar, iç ortamlarının maksimum ve minimum tolerans aralığı içerisinde sabit tutulması sayesinde yaşamlarını sürdürebilirler. Fizyolojide homeostasis adı verilen bu kavram sayesinde çeşitli düzenlemeler ile canlılar, maksimum ve minimum değerleri optimum koşullara yaklaştırmak suretiyle sürekli olarak iç ortamı dengede tutma gayretindedirler. Pestisitler, ağır metaller, radyasyon ve hastalıklar gibi stres faktörleri, hemostazisi bozarak canlının tolere edebileceği sınırlar dışarısına çıkarabilmektedir. Bu ekstrem değerlerin önemli bir sonucu olarak ortaya çıkan reaktif oksijen türleri (ROT) detoksifikasyon mekanizmasının yeterli ölçüde etki göstermediği durumlarda oksidatif stres adı verilen duruma yol açarlar. Yani normalde canlıda oluşan ve detoksifikasyon mekanizmaları (antioksidan savunma sistemi) tarafından ortadan kaldırılan bu reaktif oksijen türleri ile antioksidan savunma sistemi arasındaki mevcut dengenin, reaktif oksijen türleri lehine bozulması oksidatif stres olarak adlandırılır [12].

Serbest radikaller canlılarda olağan süreçte oksijenin metabolik olarak kullanılması ile meydana gelmekle beraber, bu süreç içerisinde oluşan radikaller hücrelerin kendileri tarafından elemine edilerek zararlı etkilerinin ortaya çıkması engellenir. Bu süreçte önemli olan oluşan serbest radikaller ile bunların elemine edilmesinde rol oynayan mekanizmaların (enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri bileşenleri) optimum düzeyde işlev görebilmeleridir. Bu sayede oksidatif denge sağlandığı sürece hücreler, serbest radikallerin zararlı etkilerini tölere edebilirler. Ancak, dengenin hücre içi veya hücre dışı etmenler tarafından bozulması oksidatif strese neden olur. Bu dengenin bozulmasında çeşitli patojenlerin neden olduğu fagositoz tepkimeleri gibi hücresel kaynaklı faktörlerin yanı sıra, bağımlılık yapıcı ilaç, alkol, nikotin ve uyuşturucu madde kullanımı ve pestisit ve ağır metal gibi toksik kimyasallar önemli yer tutmaktadır [13,14]. Bu tür kimyasallar ya hücrelerde serbest radikal oluşumunu artırarak ya da serbest radikallere karşı detoksifikasyon proseslerinde rol oynayan antioksidan enzimlerin yapılarını bozarak oksidatif stresin meydana gelmesine yol açarlar [15].

Serbest radikaller, kaynağının oksijen veya nitrojen olmasına bağlı olarak iki grupta incelenirler. Oksijen kaynaklı radikaller ki bunlar reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılır, arasında süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($OH^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$), lipid peroksil ($LOO^{\cdot}$), ve alkoksil ($RO^{\cdot}$) radikalleri sayılabilir. Reaktif nitrojen türlerini (RNT) ise nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ve nitrojen dioksit ($NO_2^{\cdot}$) oluşturur. [16,17]. Canlılarda süperoksit radikali, hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil ve peroksil gibi serbest radikaller oksijen metabolizması sonucu oluşan en önemli serbest radikallerdir [18].

Serbest radikallerin bu zararlı etkilerinden en çok etkilenen yapılar hücrelerde başlıca membran lipidleri olup, bunun yanı sıra protein molekülleri, karbohidratlar ve DNA başlıca hedef moleküllerdir [19]. Serbest radikaller yapılarında bulundurdıkları paylaşılmamış elektrondan dolayı oldukça aktif olan moleküller olup, bu paylaşılmamış elektronlar kolaylıkla hücre zarındaki lipidlerle etki ederek kolesterol ve çoklu doymamış yağ asitlerinde peroksidasyona yol açarlar. Bu reaksiyon sonucu hücrelerin membran bütünlüğü bozulur ve hücrenin ölümü gerçekleşir [16,17,20]. Lipitlere olan bu etkilerinin yanı sıra hücrede proteinlerin agregasyonuna, çapraz bağ oluşumuna ve proteinlerin yapıtaşları olan aminoasitlerde yapısal değişikliklere neden olurlar [21]. Hücre proteinleri üzerine olan bu etkileri protein yapıdaki birçok enzimin, hücre membranında iletimde rol oynayan taşıyıcı proteinlerin ve kaslarda kasılmada rol oynayan proteinlerin işlevlerinde

bozulmalara/hasarlara neden olur [20,22]. Karbohidratlar üzerine ise monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu oluşan H_2O_2 , peroksit ve okzoaldehidler yolu ile zarar verirler. Okzoaldehit oluşumu, DNA, RNA ve proteinlerin yapılarında bozulmalara neden olur ve mitoz bölünmeyi engelleyerek etki gösterirler [23,24]. Bir diğer önemli radikal olan hidroksil radikalleri ise serbest radikal karkasının son radikali olup oldukça önemli bir radikaldir. En önemli etkisini DNA üzerinde göstererek DNA’ da mutasyonlara, çapraz bağ oluşumuna ve nükleotidlerde oksidasyona yol açarlar [20,25].

1.2. Antioksidan Savunma Sistemleri

Tüm canlılar, serbest radikallerin olumsuz etkilerini elemine edebilmek için çeşitli antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler [26,27]. Genel olarak bu antioksidan savunma sistemleri ya serbest radikal oluşumunu engelleyerek ya da oluşan serbest radikallerin detoksifiye edilerek ortadan kaldırılması prensibine göre işlev görürler [28].

Böceklerde de bu savunma sistemleri enzim kaynaklı ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenir. Böceklerde bu mekanizmanın en önemli enzimleri arasında süperoksit dismutaz enzimi (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S transferaz (GST) ve askorbat peroksidaz (APOX) ve dehidroksiaskorbat peroksidaz (DHAR) gibi enzimler gelmektedir [29,30]. SOD, süperoksit radikallerini hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene indirgeyerek hücreleri koruyan ilk basamak savunma sistemini oluşturur [31,32]. Bu reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2 ise CAT, GPx, APOX ve DHAR gibi enzimler tarafından elemine edilerek su ve moleküler oksijene indirgenirler. Burada oluşan H_2O_2 ’nin konsantrasyonu hangi enzimin reaksiyona gireceği ile doğrudan ilişkilidir. Böceklerde yüksek substrat (H_2O_2) konsantrasyonlarda CAT enzimi daha aktif olmakla birlikte substrat konsantrasyonunun az olması durumunda APOX ve DHAR gibi enzimler H_2O_2 ’nin ortadan kaldırılmasında aktif rol oynarlar [30,32-34]. Glutatyon peroksiadazlar (GPx), ise katalaza benzer şekilde H_2O_2 ve lipid peroksidasyonuna yol açan diğer radikallerin zararlı etkilerinden hücreleri korurlar [16,31,35].

Canlılar bu enzimatik antioksidanlara ek olarak serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için enzimatik olmayan birçok antioksidan maddeyi de kullanırlar [36-39]. Örneğin bir tripeptid olan glutatyon hücre sitozolünde, mitokondri ve hücre

çekirdeğinde bol miktarda bulunur ve hidroksil radikali başta olmak üzere son derece tehlikeli ROS'ları ve peroksitleri ortadan yok ederek hücreleri korurlar [16,40,41].

Vitaminler de önemli antioksidanlardır. Örneğin α - tokoferol olarak da bilinen ve yağda çözünebilen bir vitamin olan Evitamini hücre membranında hidroksil radikallerini ortadan kaldırarak lipid peroksidasyonunu önler ve membranın lipid yapısının korunmasında rol oynar [16,42]. Benzer şekilde Askorbik asitte (Vitamin C) ise suda çözünebilen bir vitamin olup toksik maddelerin detoksifikasyonu sırasında oluşan serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında rol oynarlar [43,44].

Bunların yanında bazı hormonlarda önemli birer antioksidan olarak görev yaparlar. Örneğin pineal bez hormonlarından melatonin direkt olarak singlet oksijen, hidroksil ve H_2O_2 gibi radikallerin ortadan kaldırılmasında rol oynamasının yanında SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzimleri indükleyerek hücrelerin serbest radikallere karşı savunulmasında önemli rol oynar [45-47]. Diğer enzimatik olmayan antioksidanlar arasında ise albümin, bilirubin, ürik asit ve beta karoten maddeler sayılabilir [36,39,48-51].

1.3. *Galleria mellonella*'nın Genel Özellikleri

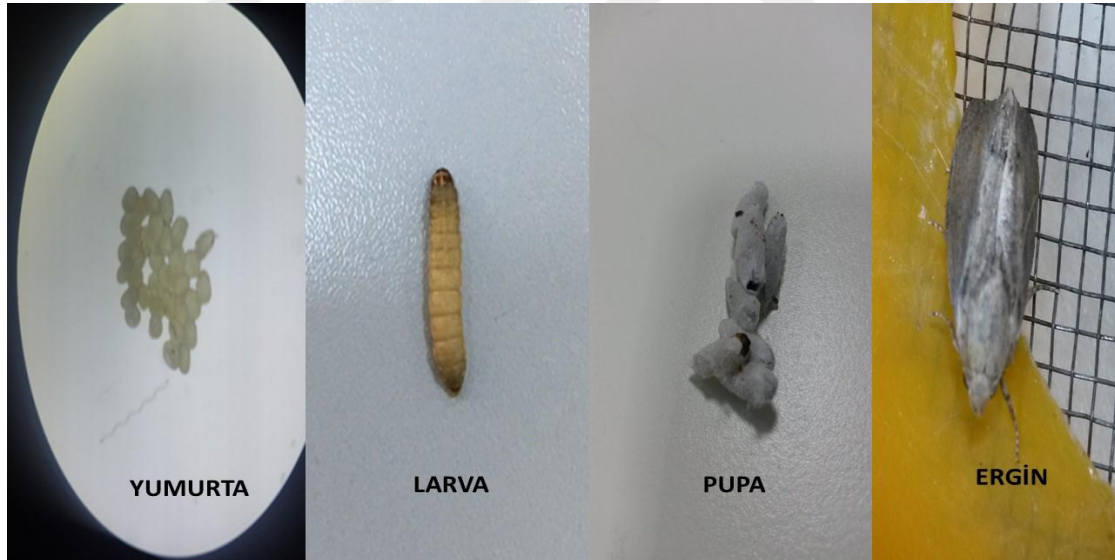
Galleria mellonella Lepidoptera ordosuna ait bir tür olup larval evrede peteklere önemli zararlar verdiği için arıcılık endüstrisi için önemli bir türdür [52]. Yedi evreden oluşan larval süreç sonrasında yaklaşık 8-10 gün süren pupal evreden sonra ergin birey oluşumu gerçekleşir [52,53].

G. mellonella parazitoit böceklerin kitle olarak üretilmesi için önemli bir konak tür olmasının yanında [54], ekonomik yönden zararları nedeniyle biyolojik ve kimyasal mücadelesi, fizyolojisi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır [55]. Son yıllarda ise model organizma olarak kullanımı oldukça yaygın bir hal almıştır [52, 56-59]. Memelilerde enfeksiyon ve patojen çalışmalarında yaygın olarak kullanılan birçok memeli model organizmanın kullanımı için gerekli olan etik izinler, altyapı ve araç gereç gereksinimi araştırmacıların yeni model organizmalara yönelmelerine neden olmuştur [60,61].

G. mellonella larvaları son yıllarda mikrobiyal enfeksiyon ve patojenite çalışmalarında, ayrıca çeşitli kimyasalların toksik, genotoksik ve biyokimyasal etkilerinin ortaya çıkarılmasında model organizma olarak kullanımı önemli ölçüde artmıştır [58,62,63].

G. mellonella'nın diğer memeli model organizmalara göre üretiminin ve bakımının daha kolay ve ekonomik olması, larva büyüklüğü, yavrulama hızı ve sayısının çok tekrarlı çalışmalara olanak sağlaması, özellikle insan patojenleri ile ilgili çalışmalarda vücut ısısına uygun yaşam koşulları (37°C), memeli immün sistemi ile olan benzer tepkimeleri ve en önemlisi etik yönden sorun teşkil etmemesi nedeniyle araştırmacılar için büyük ölçüde avantajlı bir canlıdır [53,57,64-69].

Yapılan literatür çalışmalarında deltametrinin toksik etkileri ile ilgili çalışmalar daha çok memeli model organizmalar üzerinde yoğunluk kazanmıştır. Memeli dışındaki model organizmalarla yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu bilgiler doğrultusunda sunulan tez çalışmasının amacı tarım ve hayvancılıkta yaygın olarak kullanılan deltametrinin, son yılların yükselen model organizması olarak nitelendirilen *G. mellonella*'da oksidatif stres belirteci olarak kullanılan SOD, CAT ve MDA gibi biyobelirteçler ile protein, lipit ve karbohidrat gibi biyokimyasal parametrelere etkilerini ortaya çıkarmaktır.



Görsel 1.1. *G.mellonella*'nın yaşam döngüsü

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kayis vd. [57]; *G. mellonella* larvalarını DDVP içeren besinle beslemişler ve oksidatif stres parametreleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak DDVP'nin oksidatif strese neden olduğunu, MDA düzeylerini artırdığını, antioksidan enzim aktivitelerini ve iyon düzeylerini değiştirdiğini belirtmişler, ayrıca *G. mellonella* larvalarının insektisitler gibi toksik maddelerin zararlı etkilerini göstermek açısından kullanışlı bir model organizma olabileceğini belirtmişlerdir.

Kurt ve Kayış [70]; Deltametrinin *G. mellonella*'da hücrel immün yanıt ve genotoksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında 72 saatte deltametrin uygulanan larvaların hemosit sayılarında kontrole oranla önemli azalmalar meydana geldiğini, 96 saatlik periyotta ise en yüksek deltametrin konsantrasyonlarında hemosit sayılarının önemli ölçüde artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca genotoksik hasarın göstergesi olarak mikronükleus sayılarının yüksek deltametrin konsantrasyonlarında önemli artışlar gösterdiğini belirtmişlerdir.

Nath [71], organofosfat grubu insektisitlerin karbohidrat metabolizması üzerine etkilerini araştırmış, *Bombyx mori*'nin yağ doku ve hemolenf örneklerinde insektisit toksik etkisine bağlı olarak karbohidrat metabolizmasında önemli değişikliklerin meydana geldiğini belirtmiştir.

Buyukguzel [72], *G. mellonella* ve onun parazitoidi olan *Pimpla turionellae*'da organofosfat grubu üyesi olan malathionun gelişimsel etkilerini incelemiş, konukçuda pupa oluşumunun parazitoidte ise ergin birey oluşumunun önemli ölçüde azaldığını göstermiştir. Ayrıca her iki böcekte de oksidatif stres parametrelerine etkilerinin olduğunu, malathionun böceklerde lipid peroksidasyonuna yol açtığını ve MDA düzeylerini artırdığını göstermiştir.

Sak vd. [73], hymenopter türü olan *P. turionellae*'de sipermetrin maruziyeti sonucu toplam protein, lipid ve glikojen miktarlarında önemli azalmalar meydana geldiğini ve bu azalmaların cinsiyete bağlı olarak dişilerde daha fazla meydana geldiğini göstermiştir.

Kapoor vd. [74], Neonikotinoid grubu üyesi İmidaklopridin ratlarda antioksidatif savunma sistemi enzimleri ve lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Günlük doz olarak 5 ve 10 mg imidaklopride maruz bırakılan ratlarda antioksidan enzimler ve lipid peroksidasyonunun önemli ölçüde etkilenmediğini, ancak günlük dozun 20 mg

olması durumunda ratların böbrek ve karaciğerlerinde antioksidan enzimler ve MDA düzeylerinde önemli değişiklikler meydana geldiğini göstermişlerdir.

Kapoor vd. [75], dişi ratlarda imidaklopridin ovaryumlarda morfolojik değişikliklere, patolojik bozukluklara, ayrıca hormonal ve antioksidan enzim aktivitelerinde bozulmalara neden olduğunu belirtmişlerdir.

Choi vd. [76] *Chironomus riparius* Mg. larvalarında fenitrothionun elektron taşıma sisteminde (ETS) değişikliklere neden olarak lipid ile glikojen düzeylerinde azalmalar olduğunu ifade etmişlerdir.

Champion vd. [77], *G. mellonella*'nın mikrobiyal ve toksik madde çalışmaları için iyi bir model olduğunu belirtmiştir.

Tsai vd. [62], çeşitli türden bakterilerin neden olduğu hastalıklarda ve antibiyotiklerin geliştirilme aşamalarında *G. mellonella*'nın model olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Amin ve Hasham [78], kedi balıklarının dokularında ve kanında deltametrine bağlı oksidatif stres ve biyokimyasal değişiklikleri araştırdıkları çalışmalarında 48 saatlik 0.75 µg/L deltametrin konsantrasyonunun lipid peroksidasyonu solungaç, böbrek ve karaciğerde önemli ölçüde artırdığını, aynı dokularda CAT enzim aktivitesini ise azalttığını belirtmişlerdir. Ayrıca serum ALT, AST aktiviteleri, üre ve kreatin miktarlarında önemli artışlar meydana geldiğini ve serum albümin ve total protein miktarlarının ise azaldığını göstermişlerdir.

Elia vd. [79], gökkuşağı alabalıklarında subakut deltametrinin oksidatif stres markırları üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında deltametrinin genotoksik etkisine rastlamadıklarını, mikronükleus sayılarında ise önemli sayılabilecek bir değişiklik meydana gelmediğini belirtmişlerdir. Bunun yanında SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde ise geçici bir azalmanın meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Hamed [80], Afrika kedi balıklarında deltametrinin indüklediği oksidatif stres ve biyokimyasal değişiklikler üzerine spirulinanın hafifletici etkilerini araştırdığı çalışmasında serum total protein ve albümin miktarlarında azalma meydana geldiğini, MDA miktarının önemli ölçüde arttığını ve GSH, SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinin önemli ölçüde azaldığını göstermiştir.

Kaya [81], *G. mellonella*'da piretrum ekstraktlarının hemolenf fenol oksidaz enzim aktivitesi üzerine etkilerini araştırdığı çalışmasında 0.6 mg/ml piretrum ekstraktının fenol

oksidaz aktivitesini artırdığını, bu dozun altında ise önemli bir değişikliğe neden olmadığını belirtmiştir. Ayrıca enzim aktivitesinin ilk 15 dk da önemli ölçüde artarken 20. dk dan sonra azaldığını belirtmiştir.

Yousef vd [82], ratlarda deltametrinin oksidatif hasarlar ve biyokimyasal değişimler üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında SOD ve GST enzim aktivitelerinin önemli ölçüde azaldığını, bunun yanında total protein, albümin ve globülin miktarlarında da önemli azalmaların meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Rehman vd. [83], farelerde deltametrinin böbrek ve karaciğerde lipid peroksidasyonunu önemli derecede indüklediğini, GPx, GST ve CAT gibi enzim aktivitelerinin her iki dokuda da önemli ölçüde baskılandığını göstermişlerdir.

Yucel Isıldar vd. [84], deltametrinin tatlı su istakozunda endokrin bozucu etkilerini araştırdıkları çalışmalarında 48 saat ve 7 günlük periyotlarda istakozları deltametrine maruz bırakmışlardır. Sonuç olarak toplam hemosit sayılarının önemli ölçüde azaldığını ve toplam antioksidan düzeylerinin önemli ölçüde arttığını söylemişlerdir. Solungaç SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinde ise önemli artışlar meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Sharma ve Ansan [85], deltametrinin *Danio rario* (zebrafish) dokularında CAT, GSH gibi enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyon düzeylerine etkilerini araştırmışlardır. Beyin ve kas dokularında CAT enzim aktivitesinin önemli ölçüde inhibe olduğunu ve lipid peroksidasyonun arttığını göstermişlerdir. GSH aktivitesinin ise tüm periyotlarda ve dokularda önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir.

Ensibi vd. [86], Deltametrinin *Cyprinus caprio*'da bazı karaciğer biyomarkırları üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında GST, MDA, GR ve CAT aktivitelerinde önemli artışlar meydana geldiğini göstermişlerdir.

Franeta vd. [87], Farklı insektisitlerin *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Cerambidae) larvalarında antioksidan savunma sistemi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında indoxocarb, chlorotraniliprole ve lambdasiyalotrin insektisitlerinin larvalarda SOD, CAT, Gpx, GR ve GST gibi enzimlerin aktivitelerini önemli ölçüde değiştirdiğini belirtmişlerdir.

Kuder ve Philip [88], zebra balığının karaciğer ve ovaryumlarında deltametrinin etkisi ile değişen antioksidan enzim aktiviteleri üzerine yaptıkları çalışmalarında deltametrinin CAT, SOD, GPX ve GST aktiviteleri ile lipid peroksidasyon düzeylerini hem ovaryum

hemde karaciğerde önemli ölçüde arttırdığını belirtmişlerdir. Bu artışların reaktif oksijen türlerinin elemine edilmesi için bir mekanizma olduğunu ve bu biyomarkırların oksidatif stres belirteçleri olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Olivera vd. [89], deltametrinin oksidatif stres parametreleri ve enerji rezervleri üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, büyük meyve yarasalarında deltametrinin lipid peroksidasyonu indüklediğini ve antioksidan enzimler olan CAT ve SDO aktivitelerinde önemli artışlara neden olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca deltametrinin enerji rezervleri olarak lipid miktarlarında artışlar meydana geldiğini, protein miktarlarının önemli ölçüde değişmediğini ve karbohidrat metabolizmasında önemli değişikliklere neden olarak glikojen miktarını azalttığını belirtmişlerdir.

Abdallah vd. [90], ratlarda deltametrinin üreme sistemi üzerine olan toksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında fare spermatozoalarında deltametrinin etkisiyle MDA, SOD ve CAT enzim aktivitelerinde artışlar meydana geldiğini belirtmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM**3.1. Materyal****3.1.1. *G. mellonella* laboratuvar kültürü**

Model organizma olarak çalışmada kullanılan *G. mellonella* larvaları, $30\pm2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, $\%65\pm5$ nem ve 24 saat karanlık periyodu uygulanan laboratuvar koşullarında, Adıyaman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümündeki Böcek Fizyolojisi laboratuvarında ergin *G. mellonella* bireylerinin bıraktıkları yumurtalardan elde edilmiştir. Aynı zamanda kontrol grubunu da oluşturan stok kültürün beslendiği besinin içeriği Bronskill [91] tarafından gösterilmiştir.



Görsel 3.1. *G. mellonella* stok kültürü

3.1.2. Deney besinlerinin hazırlanması

Kontrol grubunun da beslendiği Bronskill [91] tarafından gösterilen besin içerisine Tablo 3.1 de görüldüğü gibi Kurt [92] tarafından belirlenen dozlarda ve şekilde deltametrin eklenmiştir.

Tablo 3.1. *Deney gruplarının besin içerikleri [92]*

Besin bileşeni	Bal	Petek	Gliserin	Kepek	Safsu +DMSO	Deltametrin
Kontrol	9.70 g	3.50 g	22.0 g	58.0 g	6.80 g	-
DMSO	9.70 g	3.50 g	22.0 g	58.0 g	6.80 g	-
50 µg	9.70 g	3.50 g	22.0 g	58.0 g	6.80 g	+
100 µg	9.70 g	3.50 g	22.0 g	58.0 g	6.80 g	+
150 µg	9.70 g	3.50 g	22.0 g	58.0 g	6.80 g	+

Deltametrin suda çok iyi çözünmediği için Dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözündükten sonra suyla birlikte besine karıştırıldı ve kontrol, DMSO ve her 100 mg besin içerisinde 50, 100 ve 150 µg olacak şekilde 5 farklı besin ortamı hazırlandı. Her konsantrasyonun her tekrarı için 100 g besin içeren kavanozlara 10'ar adet 2. evre *G. mellonella* larvası konuldu ve larvalar yukarıda bahsedilen laboratuvar koşullarında son evreye gelinceye kadar büyümeleri takip edildi. Son evre larvaları (7. Evre, yaklaşık 180-220 mg) ağırlıkları tartılarak -80 °C' de biyokimyasal analizler için bekletildi.

3.2. Yöntem**3.2.1. Böceklerden süpernatant elde edilmesi**

Antioksidan enzim aktiviteleri, MDA düzeyleri ve protein miktarlarının belirlenmesi için her bir konsantrasyonun her bir tekrarında 4 adet larva alınarak deney tüplerine konuldu, üzerlerine melanizasyonu önlemek için birkaç fenil tiüre kristali eklendikten sonra 1'e 5 oranında hazırlanmış fosfat tamponunda (pH 7.4) homojenize edildikten sonra, homojenat süpernatantın eldesi için dakikada 10000 devirde 30 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonunda oluşan süpernatant antioksidan enzim aktiviteleri, protein miktarı ve MDA düzeylerinin belirlenmesinde kullanıldı.

3.2.2. Antioksidan enzim aktiviteleri, MDA ve protein miktarlarının belirlenmesi

Homojen hale getirilip santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatanttan protein miktarlarının belirlenmesi için proteinlerin alkali ortamda fosfotungstik asit ile reaksiyonu sonucu mavi-mor kompleks oluşturması ilkesine dayanan Lowry vd [93] nin göstermiş olduğu yöntem, SOD enzim aktivitesinin belirlenmesinde, reaktif içerisinde bulunan ksantin ve ksantin oksidaz reaksiyonu sonucu oluşan süperoksit radikallerinin ortamda bulunan nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgemesinin örnekteki SOD enzimi tarafından engellenmesi esasına dayanan Sun vd. [94] göstermiş olduğu yöntem, CAT aktivitesinin belirlenmesinde CAT'ın ortamda bulunan H₂O₂'yi indirgemesinin kinetik olarak ölçümüne dayanan Aebi [95] yöntemi ve MDA düzeylerinin belirlenmesinde ise Barr-or vd. [96] tarafından gösterilen tiobarbitürik asit (TBA) yöntemi kullanılmıştır. Analizler için belirlenen yöntemlerde kullanılan reaktifler, kimyasallar ve yöntemlerin uygulanması Yücel ve Kayis [58]' de gösterildiği şekilde yapılmıştır.

3.2.3. Karbohidrat ve lipid miktarının belirlenmesi

Karbohidrat ve lipid miktarı tayini için, *G. mellonella* larvalarının yağ ağırlığı alınıp -80 °C de stoklanan bireyleri kullanıldı. Bu bireylerin buzunun çözünmesi sağlandıktan sonra melaninleşmeyi engellemek için birkaç fenilthioure kristali eklendi ve üzerlerine 2 ml sodyumsülfat eklenerek dakikada 24000 devir olacak şekilde 10 dk süre ile homojenizasyon

gerçekleştirildi. Homojenizasyon işlemi sonrası 1'e 2 oranında hazırlanmış kloroform-metanol karışımından 8 ml eklendi ve tüpler dakikada 9000 devirde 10 dk. süre santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantın 200 µL'si karbohidrat miktarının tayininde, bir diğer 200 µL'si ise lipid miktarı analizinde kullanıldı.

Karbohidrat ve lipid miktarlarının tayininde Van- Handel [97, 98] yöntemi kullanılmıştır. Yöntemde kullanılan kimyasallar ve deney prosedürleri Yücel [58]' de ayrıntılı olarak verilmiştir.

3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi

Deney gruplarından elde edilen verilerin kendi aralarında karşılaştırılmasında varyans analiz yöntemi, ortalamalar arası farkın önem kontrolünde ise Student Newman Keul's (SNK) testi, verilerin arasındaki ilişkinin önem düzeyinin ortaya konmasında SPSS 20.00 istatistik paket programı kullanıldı. Harfler arasındaki farklar $P < 0.05$ düzeyinde istatistiksel ayırımının gösterilmesinde kullanıldı. Veriler dört tekrarın ortalaması olarak ifade edildi.

4. BULGULAR

4.1. Deltametrinin Protein Miktarına Etkileri

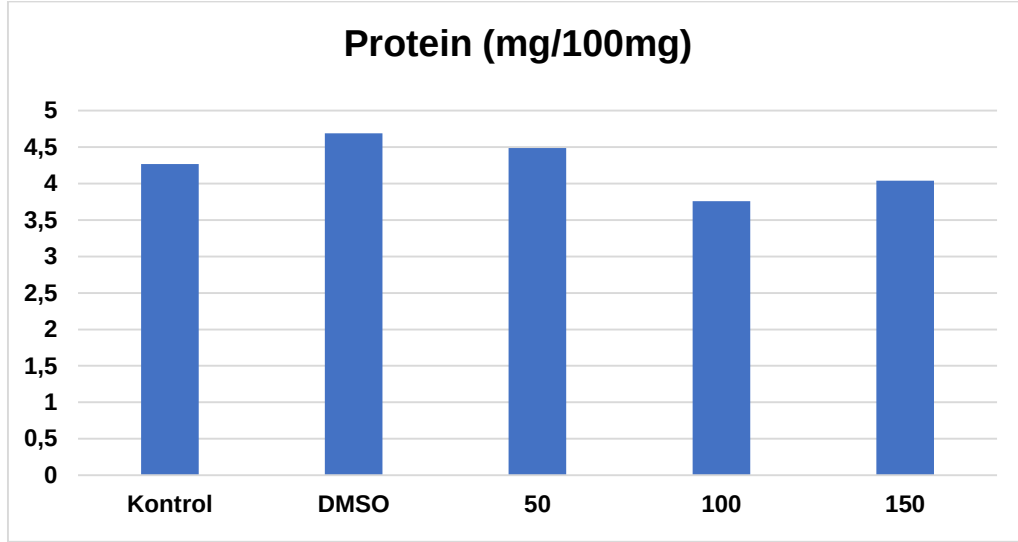
Deltametrinin farklı dozlarının *G. mellonella* larvalarının protein miktarına etkileri Tablo 4.1 ve Şekil 4.1’de verilmiştir. *G. mellonella* larvalarının total protein miktarlarında denenen deltametrin konsantrasyonlarda gerek kontrol grubuna ve DMSO gruplarına göre karşılaştırıldığında gerekse de konsantrasyonların birbiri ile karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik meydana gelmemiştir.

Tablo 4.1. *Deltametrinin proteinler üzerine etkileri*

Konsantrasyon	PROTEİN (mg/100mg) (Ort±Std) *
Kontrol	4.271±0.404 a
DMSO	4.693±0.351 a
50 µg	4.487±0.164 a
100 µg	3.758±0.153 a
150 µg	4.041±0.123 a

Farklı harfler istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05)

*: Aritmetik ortalama±standart hata



Şekil 4.1. *G. mellonella*’da farklı deltametrinin konsantrasyonlarının total protein miktarına etkisi

4.2. Deltametrinin Lipid Miktarına Etkileri

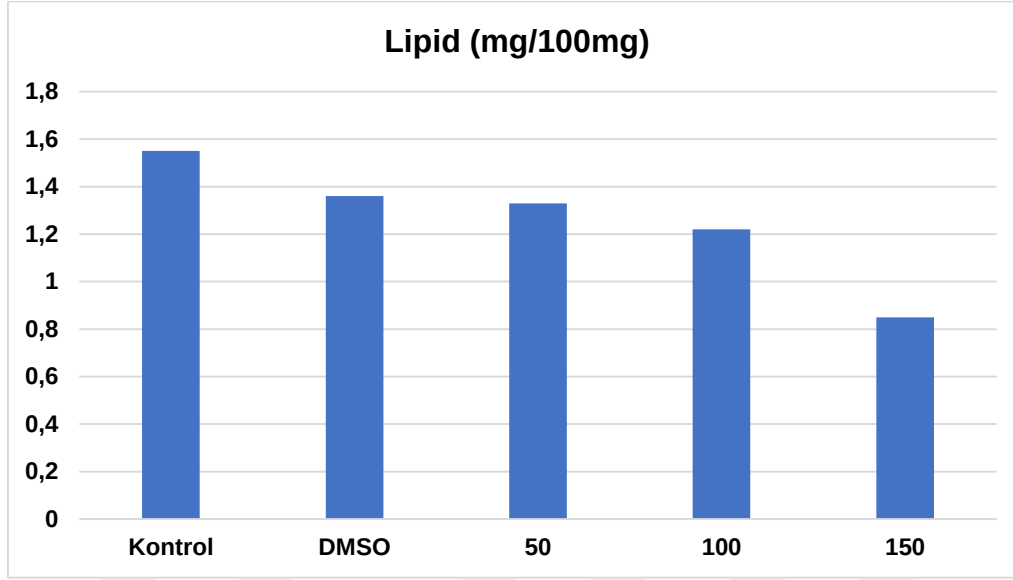
Deltametrin farklı dozlarının *G. mellonella* larvalarının lipid düzeylerine etkileri Tablo 4.2 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Denenen tüm konsantrasyonlarda lipid miktarı kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalmakla beraber DMSO grubunda da lipid miktarı kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır. En düşük lipid miktarı 0.849 mg/100 mg ile en yüksek doz olan 150 µg deltametrin konsantrasyonunda gözlenmiştir.

Tablo 4.2. Deltametrinin lipidler üzerine etkileri

Konsantrasyon	LİPİD (mg/100mg) (Ort±Std) *
Kontrol	1.545±0.021 a
DMSO	1.356±0.072 b
50 µg	1.333±0.038 b
100 µg	1.216±0.022 b
150 µg	0.849±0.046 c

Farklı harfler istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05)

*: Aritmetik ortalama±standart hata



Şekil 4.2. *G. mellonella*'da farklı deltametrinin konsantrasyonlarının total lipid miktarına etkisi

4.3. Deltametrinin Karbohidrat Miktarına Etkileri

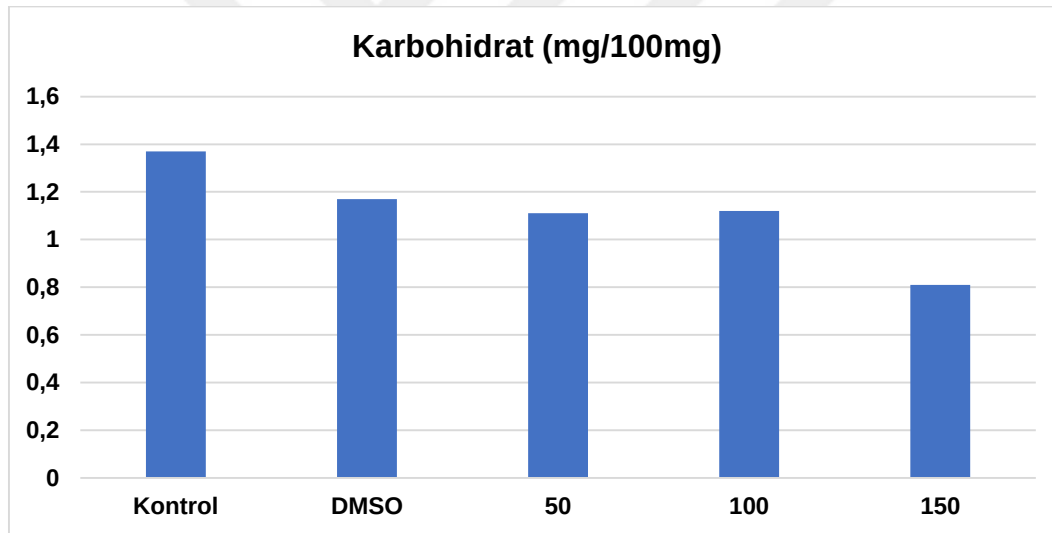
Deltametrinin farklı dozlarının *G. mellonella* larvalarının karbohidrat düzeylerine etkileri Tablo 4.3 ve Şekil 4.3' de verilmiştir. Karbohidrat miktarları denenen tüm deltametrin konsantrasyonunda ve DMSO grubunda kontrol grubuna oranla önemli ölçüde azalmıştır. DMSO, 50 µg ve 100 µg deltametrin konsantrasyonları arasında istatistiksel bir fark olmamakla beraber (sırasıyla 1.168, 1.108 ve 1.120 mg/100mg) bahsi geçen konsantrasyonlarda karbohidrat miktarı en yüksek doz olan 150 µg deltametrin grubuna (0.808 mg/100mg) kıyasla önemli ölçüde fazladır.

Tablo 4.3. Deltametrinin karbohidratlar üzerine etkileri

Konsantrasyon	KARBOHİDRAT (mg/100mg) (Ort±Std) *
Kontrol	1.365±0.009 a
DMSO	1.168±0.010 b
50 µg	1.108±0.036 b
100 µg	1.120±0.033 b
150 µg	0.808±0.029 c

Farklı harfler istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05)

*: Aritmetik ortalama±standart hata



Şekil 4.3. *G. mellonella*'da farklı deltametrinin konsantrasyonlarının total karbohidrat miktarına etkisi

4.4. Deltametrinin SOD Enziminin Aktivitesine Etkileri

Deltametrinin farklı dozlarının *G. mellonella* larvalarının SOD enziminin aktivitesinde neden olduğu değişiklikler Tablo 4.4 ve Şekil 4.4' de verilmiştir. Kontrol grubunda 1.827 U/mg protein olan SOD enzim aktivitesi DMSO grubunda anlamlı bir şekilde artarak 2.340 U/mg protein olarak ölçülmüştür. Diğer gruplarda ise SOD enzim aktivitesi deltametrin

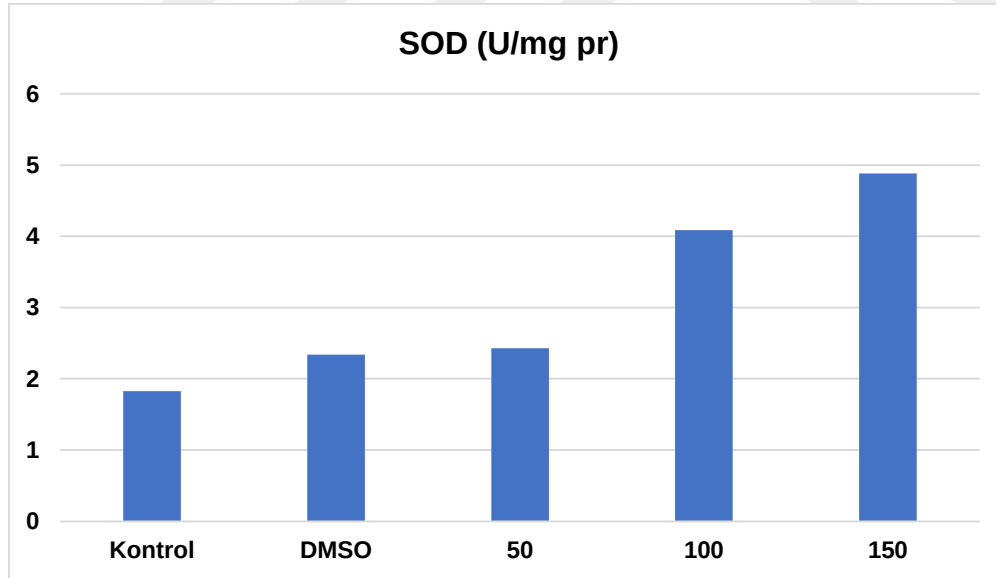
konsantrasyonuna bağlı olarak hem kontrol hem de DMSO gruplarına göre önemli ölçüde artmış ve sırasıyla 2.429, 4.089 ve 4.883 U/mg protein olarak ölçülmüştür.

Tablo 4.4. Deltametrinin SOD enzim aktivitesine etkileri

Konsantrasyon	SOD (U/mg pr.) (Ort±Std) *
Kontrol	1.827±0.070 a
DMSO	2.340±0.170 b
50 µg	2.429±0.197 b
100 µg	4.089±0.014 c
150 µg	4.883±0.098 d

Farklı harfler istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05)

*: Aritmetik ortalama±standart hata



Şekil 4.4. *G. mellonella*'da farklı deltametrinin konsantrasyonlarının SOD enzim aktivitesine etkisi

4.5. Deltametrinin CAT Enziminin Aktivitesine Etkileri

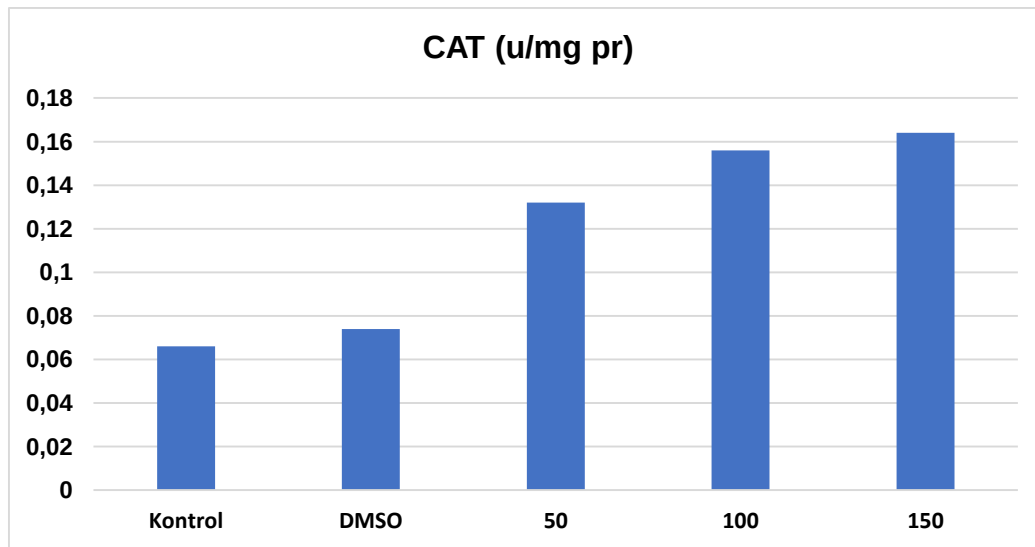
Deltametrinin farklı dozlarının *G. mellonella* larvalarında CAT enziminin aktivitesinde meydana getirdiği değişiklikler Tablo 4.5 ve Şekil 4.5’ de gösterilmiştir. Katalaz enzim aktivitesinde kontrol ve DMSO gruplarında kendi aralarında incelendiğinde istatistiksel olarak bir ayrım görülmemekle beraber (0.066 ve 0.074 u/mg pr), deltametrin içeren gruplarda ise hem kontrol hem de DMSO gruplarına göre CAT enzim aktiviteleri önemli ölçüde artış göstermiştir. Deltametrin içeren gruplarda ise doza bağlı olarak CAT aktivitelerinde bir artış söz konusudur.

Tablo 4.5. Deltametrinin CAT enzim aktivitesi üzerine etkileri

Konsantrasyon	CAT (U/mg pr.) (Ort±Std) *
Kontrol	0.066±0.0018 a
DMSO	0.074±0.0018 a
50 µg	0.132±0.0041 b
100 µg	0.156±0.0037 c
150 µg	0.164±0.0023 c

Farklı harfler istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05)

*: Aritmetik ortalama±standart hata



Şekil 4.5. *G. mellonella*’da farklı deltametrinin konsantrasyonlarının CAT aktivitesine etkisi

4.6. Deltametrinin MDA Düzeylerine Etkileri

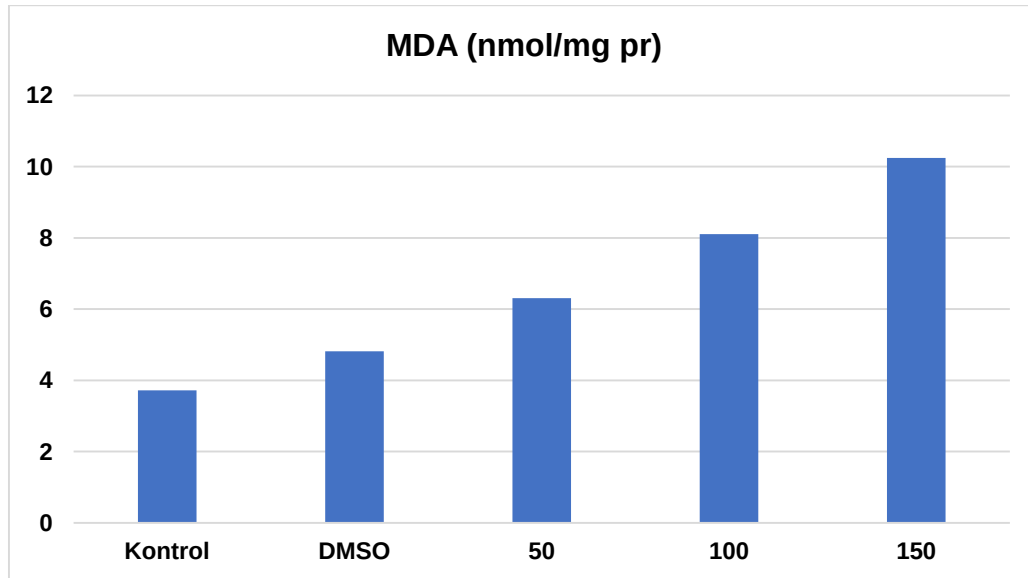
Deltametrinin farklı dozlarının *G. mellonella* larvalarında MDA düzeylerinde neden olduğu değişiklikler Tablo 4.6 ve Şekil 4.6’ da verilmiştir. Kontrol grubunda 3.721 nmol/mg protein olan MDA miktarı, negatif kontrol grubu olan DMSO grubunda 4.812 nmol/mg protein olarak ölçülmüştür. Deltametrin 50 µg, 100 µg ve 150 µg dozlarını içeren gruplarda ise MDA miktarı deltametrin konsantrasyonuna paralel olarak önemli ölçüde artmış ve sırasıyla 6.304, 8.104 ve 10.247 nmol/mg protein olarak ölçülmüştür.

Tablo 4.6. Deltametrinin MDA düzeyleri üzerine etkileri

Konsantrasyon	MDA (nmol/mg pr.) (Ort±Std) *
Kontrol	3.721±0.116 a
DMSO	4.812±0.357 b
50 µg	6.304±0.256 c
100 µg	8.104±0.244 d
150 µg	10.247±0.367 e

Farklı harfler istatistiksel ayrımı göstermektedir (P<0.05)

*: Aritmetik ortalama±standart hata



Şekil 4.6. *G. mellonella*’da farklı deltametrinin konsantrasyonlarının MDA miktarına etkisi

5. TARTIŞMA

Pestisitler gibi toksik kimyasalların yaygın olarak kullanılması insanların da dahil olduğu canlılar üzerine olan etkilerinin ortaya çıkarılması gerekliliğini doğurmuştur. Toksik maddelerin akut maruziyet sonucu doğrudan insanlar üzerine olan etkileri bilinmekle birlikte kronik olarak maruziyet sonucu ne gibi etkilerinin ortaya çıkabileceği ne yazıkki kolay tahmin edilememektedir. Bunun için model organizmalar ile yapılan çalışmalar ile insanlar ve diğer memeliler üzerine olan potansiyel etkileri belirlenebilmektedir.

Sunulan çalışmada piretroid grubu insektisit deltametrinin çeşitli biyokimyasal parametreler ve oksidatif stres parametreleri üzerine olan etkileri model organizma *G. mellonella*' da araştırılmıştır.

Biyolojik sistemler oksidatif metabolizma sırasında sürekli olarak reaktif oksijen türlerini oluşturmakta ve bunlar yine canlının sahip olduğu antioksidan savunma sistemleri tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Sahip olunan bu antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması ki bu başlıca iki şekilde gerçekleşir. Birincisi oluşan reaktif oksijen türlerinin miktarının artması ve ikincisi sahip olunan antioksidan enzim aktivitelerinin yetersiz kalması şeklindedir. Her iki durumda da artan reaktif oksijen türleri canlıda homeostazisi bozarak çeşitli hücrel hasarlara neden olurlar [15].

Canlılarda oksidatif hasarın belkide en önemli göstergesi membran lipidlerinin peroksidasyonudur. Bu nedenle lipidlerde meydana gelen peroksidasyonun son ürünü olarak ortaya çıkan malondialdehid (MDA) miktarının belirlenmesi ve antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi bize alınan toksik maddelerin hücrel hasarının gösterilmesinde önemli bilgiler verebilir [58,59].

Antioksidan enzimlerden olan SOD ve CAT savunma sisteminin başlıca iki enzimidir. SOD, ilk oluşan radikal olan süperoksit radikalının moleküler oksijen ve hidrojen peroksit parçalanmasını sağlarken, bu reaksiyon sonucu oluşan hidrojen peroksitin su ve oksijene parçalanmasından ise katalaz sorumludur [31,32]. Bu iki enzimin sağlıklı bir şekilde çalışması oksidatif hasarın önüne geçilmesi için çok önemlidir.

Canlılarda SOD aktivitesindeki artışın oksidatif stres altında enzimatik antioksidan sistemin ilk reaksiyonu olduğu bilinmektedir [72,99]. Bunun yanında aralarında böceklerin de olduğu birçok canlıda çeşitli ksenobiyotik (ağır metal, insektisit vb.) maruziyeti

sonucunda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin Kayış vd. [100] *G. mellonella*' da tiametoksam maruziyeti sonucu SOD aktivitesinde önemli artışlar meydana geldiğini göstermiştir. Benzer şekilde imidakloprid, diazinon gibi insektisitler yanında kadmiyum, bakır ve çinko gibi metallere maruziyet sonucu SOD aktivitesinin arttığı bildirilmiştir [58,59,101]. Böceklerde deltametrinin SOD aktivitesi üzerine olan etkileri ile ilgili fazla sayıda çalışma olmamakla birlikte balıklarda, tatlı su istakozlarında, ratlarda ve yarasalarda benzer şekilde SOD aktivitesini artırdığı [84,88-90] gösterilmiştir. Bunun yanında bazı araştırmacılar deltametrinin enzim aktivitelerinde oluşturduğu serbest radikallerden kaynaklı olarak enzim aktivitelerini direk inhibe edebildiğini ve buna bağlı olarak SOD aktivitesinin azaldığını da göstermişlerdir [80,82]. Sunulan çalışmada elde edilen veriler DMSO da dahil tüm dozlarda SOD aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığını göstermektedir. SOD enzim aktivitesindeki bu artış deltametrinin etkisi ile fazla miktarda oluşan süperoksit radikallerinin ortadan kaldırılmasına yönelik bir atış şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmamızda SOD aktivitesindeki artışa paralel olarak CAT aktivitesinin de artmış olması deltametrinin serbest radikal oluşumunu arttırdığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir. DMSO grubu dışındaki tüm deltametrin konsantrasyonlarında katalaz aktivitesi önemli ölçüde artmıştır. Bilindiği gibi CAT enzim aktivitesi doğrudan hidrojen peroksit konsantrasyonu ile düzenlenir. Enzimin aktivitesindeki artış muhtemelen SOD enziminin ortadan kaldırılan süperoksit radikallerinin parçalanması ile meydana gelen hidrojen peroksit konsantrasyonu ile alakalıdır. Katalaz enzimi yüksek hidrojen peroksit konsantrasyonlarında oldukça etkili iken enzimin yüksek Km değerinden dolayı düşük konsantrasyondaki hidrojen peroksitin ortadan kaldırılmasında işlevsizdir. Düşük konsantrasyonlardaki hidrojen peroksitin ortadan kaldırılması böceklerinde sahip olduğu APOX ve DHAR gibi diğer enzimlerce gerçekleştirilir [29,30,32,102]. Hidrojen peroksit konsantrasyonu ölçülmemekle birlikte, artan katalaz aktivitesi oluşan hidrojen peroksit konsantrasyonunun oldukça fazla olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Yine birçok çalışma insektisit ve ağır metaller gibi ksenobiyotiklerin CAT enzim aktivitesinde değişikliklere neden olduğunu, bu değişikliklerin artma veya azalma şeklinde olabileceğini göstermiştir [58,59,100,101]. Çalışmamıza elde edilen sonuçlar Zebra balıklarında [88,] *Cyprinus carpio*'da [86], tatlı su istakozlarında [84], ratlarda [90] ve yarasalarda [89] deltametrinin neden olduğu oksidatif strese bağlı olarak CAT enzim aktivitesinde artışlarla

paralellik göstermektedir. Bazı çalışmalarda bizim sonuçlarımızdan farklı olarak deltametrinin CAT enzim aktivitesinde azalmalara da neden olduğu gösterilmiştir [79,80,83]. Araştırmacılar CAT enzim aktivitesindeki artışın direkt olarak artan hidrojen peroksit konsantrasyonundan kaynaklandığını belirtirken [58,59], CAT aktivitesindeki azalmaların APOX ve DHAR gibi daha düşük hidrojen peroksit konsantrasyonlarında etkili olan enzim aktivitelerindeki artıştan veya CAT enziminin direkt olarak ortadan tamamen kaldırılamayan süperoksit radikalleri tarafından inhibisyonundan kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir [15,100,103-105].

Malondialdehit konsantrasyonu lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak toksik maddelerin potansiyel etkilerinin gösterilmesinde araştırmacılar tarafından sıklıkla kullanılmaktadır. Artan serbest radikal oluşumunun bir sonucu olarak antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması sonucu hücre membran lipidleri peroksitde olurlar ve bu reaksiyon sonucu malondialdehit son ürün olarak ortaya çıkar. Çeşitli çalışmalar böceklerde genel olarak insektisitlerin membran lipidlerinde peroksidasyona yol açtığını ve MDA seviyesinin buna bağlı olarak arttığını belirtmişlerdir [58,59,100,101].

Sunulan çalışmada da MDA düzeyleri DMSO grubu da dahil olmak üzere tüm deltametrin konsantrasyonlarında önemli ölçüde artmıştır. Deltametrinin çeşitli organizmalarda; örneğin ratlarda ve farelerde [106,107], balıklarda [78,79] ve yarasalarda [89] oksidatif strese neden olarak membran lipidlerinde peroksidasyona neden olduğu ve buna bağlı olarak MDA miktarlarının arttığı gösterilmiştir. Elde edilen veriler artan antioksidan enzim aktivitesine (SOD ve CAT) rağmen bunun hücre hasarını önüne geçemediği, deltametrin maruziyeti sonucu oksidatif stresin meydana geldiği ve hücrelerde lipid peroksidasyonuna neden olduğu şeklinde yorumlanabilir.

DMSO grubunda gözlenen SOD enzim aktivitesinde ve MDA miktarındaki artış ise DMSO'nun proksidan özelliğinden kaynaklanan bir artış şeklinde yorumlanabilir. Bazı araştırmacılar DMSO'nun kendisinde bir prooksidan olduğunu ve buna bağlı olarak sitotoksik etkiler gösterebildiğini belirtmişlerdir [70,108].

Diğer bütün canlı organizmalarda olduğu gibi böcekler için de proteinlerin büyüme, gelişme ve üreme ve en son olarak da enerji sentezinde kullanıldığı, lipidlerin ise enerji sentezinin yanında hormonların sentezlenmesinde, eşeysel gelişme ve yumurta üretimi gibi süreçlerde kullanıldığı ve karbohidratların başlıca enerji deposu olduğu bilinmektedir

[109-111]. Canlılarda bu makromoleküllerin sentez, depolama ve metabolik olaylarda kullanımı çevresel stres faktörlerinin etkisi ile değişebilir [112].

Çalışmalar başta lipid ve karbohidratlar olmak üzere bu enerji depolarının toksik ksenobiyotiklerin vücuda alınımından sonra onların zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasında yani detoksifikasyonunda, HSP proteinlerinin sentezlenmesi süreçlerinde ve direkt olarak canlı vücudundan atılması süreçlerinde gereksinim duyulan enerjinin karşılanması için kullanıldığını göstermiştir [73,76,113].

Çalışmamızda elde edilen veriler deltametrinin protein miktarı dışında diğer lipid ve karbohidrat miktarlarının deltametrin maruziyetine bağlı olarak önemli ölçüde azaldığını göstermektedir. Bazı çalışmalar protein miktarlarında da önemi değişiklikler olduğunu göstermekle birlikte [114-116], sunulan çalışmada böyle bir durum söz konusu değildir. Bununla birlikte, Yucel ve Kayis [58] yaptıkları çalışmalarında imidakloprid enjeksiyonu yapılan *G. mellonella* larvalarında yüksek insektisit dozlarında protein miktarlarında azalmalar gözlemlendiğini, Dağdevran [117] yine enjeksiyon yoluyla emamektin benzoat uygulanan *G. mellonella*'da protein düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya çıkmadığını göstermiştir.

Sunulan çalışmada da protein miktarında önemli bir değişiklik gözlenmemesi, bunun yanında diğer enerji rezervleri olan lipid ve karbohidrat miktarlarındaki azalma detoksifikasyon sürecinde gerekli olan enerjinin diğer makromoleküllerden karşılandığını düşündürmektedir. Böceklerde gereksinim duyulan enerji büyük ölçüde ve öncelikli olarak karbohidratlardan karşılanmaktadır [109,118]. Sunulan çalışmamızda karbohidrat miktarlarının tüm deltametrin konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Araştırmacılar karbohidrat miktarlarında insektisit maruziyeti sonucu benzer azalmalar meydana geldiğini farklı canlı gruplarında daha önceki çalışmalarda da ortaya koymuşlardı [58,117,119,120]. Çalışmamız bu bakımdan daha önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir. Sonuçlar deltametrinin etkisiyle oluşan oksidatif stres altında detoksifikasyon sürecinde karbohidratların büyük ölçüde enerji gereksiniminin karşılanmasında kullanılmış olabileceğini düşündürmektedir.

Böceklerde gereksinim duyulan lipidlerin sağlanması besin yoluyla alınarak gerçekleşir. Besin yoluyla alınan bu lipidler ihtiyaç durumunda kullanılmak için depolanabileceği gibi daha önce alınan protein ve karbohidrat moleküllerinden de sentez

yoluyla sağlanabilir [121]. Çalışmamızda karbohidrat miktarlarında olduğu gibi lipid miktarlarında da deltametrin maruziyeti sonucu önemli azalmalar meydana gelmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda *P. turionella*, *B. mori* ve *G. mellonella* gibi böcek türlerinde insektisitlerin lipid miktarlarında önemli ölçüde azalmalara neden olduğu gösterilmiştir [73,58,117,122]. Sak vd. [73], oksidatif stres durumunda lipid miktarlarındaki bu azalmayı adaptif bir süreç olarak yorumlamıştır. Sunulan çalışmada gözlenen lipid miktarındaki bu azalmanın karbohidrat miktarındaki azalma gibi detoksifikasyon mekanizması içerisinde enerji gereksinimi için kullanıldığını düşünmekteyiz.

Detoksifikasyon işlemlerinde veya biyotransformasyon süreçlerinde temel olan zararlı maddelerin ya ortadan kaldırılması veya daha az zararlı maddelere dönüştürülerek canlının korunmasıdır. Bütün bu işlemler için ise toksik maddelerin detoksifikasyonunda rol oynayan enzimlerinin ve ısı şok proteinlerinin (HSP) sentezlenmesi ve zararlı maddelerin uzaklaştırılması büyük miktarda enerji gerektiren sentez süreçleridir [73,76,113]. Çalışmamızın sonuçlarında ortaya çıkan lipid ve karbohidrat miktarlarındaki bu azalmalar oksidatif stres oluşumuna neden olan deltametrinin toksik etkilerinin detoksifikasyon mekanizmaları ile ortadan kaldırılmasında enerji gereksinimi olarak böceğin vücudunda depolanmış olan lipid ve karbohidratların kullanıldığını düşündürmektedir.

Sonuç olarak deltametrin, *G. mellonella* larvalarında oksidatif strese neden olarak enzimatik antioksidanlar olan SOD ve CAT gibi enzimlerin aktivitelerini, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerini ve enerji rezervleri olarak kullanılan protein, lipid ve karbohidratlar gibi biyomolekülleri önemli düzeyde etkilemiştir. Bu değişiklikler deltametrinin toksik etkilerinin gösterilmesinde önemli biyobelirteçler olarak kullanılabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

G. mellonella' da deltametrin, larvaların antioksidan savunma sistemi enzimlerini, lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA içeriğini ve özellikle lipid ve karbohidratlar gibi biyokimyasal markırlarını olumsuz yönde etkilemiştir. Deltametrinin bu etkiyi oksidatif strese neden olarak gösterdiği düşünülmektedir. Deltametrin oksidatif strese neden olarak larvaların normal hemostatik mekanizmasını bozmuş ve serbest radikal üretimini artırarak antioksidan enzim aktiviteleri ve enerji kaynaklarının kullanımında değişikliklere yol açmıştır. *G. mellonella*'nın son yıllarda model organizma olarak kullanımının önemli ölçüde artması ve memeliler için son derece kullanışlı bir model organizma olması nedeniyle, çalışmadan elde edilen sonuçlar deltametrinin memeliler üzerindeki potansiyel etkilerini göstermesi bakımından önemlidir.

KAYNAKÇA

- [1] Vural N. (2005). Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:73 Ankara.
- [2] Soderlund, D.M., Clark, J.M., Sheets, L.P., Mullin, S.L., Piccirillo, V.J., Sargent, D., Stevens, J.T., ve Weiner, M.L. (2002). ‘‘Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment’’. Toxicology, 171 (1), 3-59.
- [3] Chargui, I., Grissa, I., Bensassi, F., Hrira, M.Y., Haouem, S., Haouas, Z., ve Bencheikh, H. (2012). ‘‘Oxidative stress, biochemical and histopathological alterations in the liver and kidney of female rats exposed to low doses of deltamethrin (DM): a molecular assessment’’. Biomedical and Environmental Sciences, 25, 672–683.
- [4] Wang, X., Martinez, M.A., Dai, M., Chen, D., Ares, I., Romero, A., Castellano, V., Martinez, M., Rodriguez, J.L., Martinez-Larrañaga, M.R., Anadón, A., ve Yuan, Z. (2016). ‘‘Permethrin-induced oxidative stress and toxicity and metabolism. A review’’. Environmental Research. 149, 86–104.
- [5] Anadón, A., Ares, I., Martínez, M.A., ve Martínez-Larrañaga, M.R. (2013). Pyrethrins and synthetic pyrethroids: use in veterinary medicine. In: Ramawat, G., Merillon, J.M. (Eds.), Handbook of Natural Products. Springer Verlag, (pp. 4061–4086), Berlin Heidelberg, Germany,
- [6] Abdelkhalek, N.K.M., Ghazy, E.W., ve Abdel-Daim, M.M. (2015). ‘‘Pharmacodynamic interaction of Spirulina platensis and deltamethrin in freshwater fish *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus*: impact on lipid peroxidation and oxidative stress’’. Environmental Science and Pollution Research International, 22, 3023–3031.
- [7] Chandra, N., Jain, N.K., Sondhia, S., ve Srivastava, A.B. (2013). ‘‘Deltamethrin induced toxicity and ameliorative effect of alpha-tocopherol in broilers’’. Bulletin of Environmental and Contamination Toxicology. 90, 673–678.
- [8] Guardiola, F.A., Gonzalez-Parraga, P., Meseguer, J., Cuesta, A., ve Esteban, M.A. (2014). ‘‘Modulatory effects of deltamethrin-exposure on the immune status, metabolism

- and oxidative stress in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.)". Fish and Shellfish Immunology, 36, 120–129.
- [9] WHO (World Health Organization), 2010. Specifications and Evaluations for Public Health Pesticides- Deltamethrin. World Health Organization, Geneva.
- [10] Yadav, R.S., Sampath, R.R., ve Sharma, V.P. (2001). "Deltamethrin treated bednets for control of malaria transmitted by *Anopheles culicifacies* (Diptera: Culicidae) in India". Journal of Medical Entomology, 38, 613–622.
- [11] Decourtye, A., Devillers, J., Cluzeau, S., Charreton, M. ve Pham-Deleguea Minh-Ha. (2004). "Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions". Ecotoxicology and Environmental Safety, 57, 410–419.
- [12] Serafini, M., ve Del Rio, D. (2004). "Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: Is the total antioxidant capacity the right tool?". Redox Report, 9 (3), 145-152.
- [13] Mohammad, A., Akram, R., Shahin, S., Shekoufeh, N. ve Ali, R. (2004). "Pesticides and oxidative stress". Annual Review of Medical Science Monitoring, 10 (6), 141-147.
- [14] Oruc Ozcan, E., Sevgiler, Y., ve Uner, N. (2004). "Tissue-specific oxidative stress responses in fish Exposed to 2,4-D and Azinphosmethyl". Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 137, 43-51.
- [15] Lushchak, V.I. (2016). "Contaminant-induced oxidative stress in fish: a mechanistic approach". Fish Physiology and Biochemistry, 42 (2), 711–747.
- [16] Halliwell, B., ve Gutteridge, J.M.C. (1999). Free radicals in biology and medicine. Third Edition, Oxford University Press. Inc., New York.
- [17] Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.T.D., Mazura, M., ve Telser J. (2007). "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease". International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39, 44-84.
- [18] Mates, J.M. (2000). "Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology". Toxicology, 153, 83-104.

- [19] Nordberg, J., ve Arnér, E.S.J. (2001). ‘‘Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system’’. *Free Radical Biology and Medicine*, 31, 1287–1312.
- [20] Sarma, A.D., Mallick, A.R., and Ghosh, A.K. (2010). ‘‘Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview’’. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 1 (3), 185-192.
- [21] Erenel, G., Erbaş, D., ve Aricioğlu, A. (1992). ‘‘Serbest radikaller ve antioksidan sistemler’’. *Gazi Tıp Dergisi*, 3, 243-250.
- [22] Shacter, E. (2000). ‘‘Protein Oxidative Damage’’. *Methods in Enzymology*, 319, 428-436.
- [23] Thornaley, P.J. ve Vasak, M. (1985). ‘‘Possible role of metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress: Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals’’. *Biochimica et Biophysica Acta*, 827, 35–44.
- [24] Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Bloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S., ve Lele, R.D. (2004). ‘‘Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects’’, *Journal of the Association of Physicians of India*, 52, 794-804.
- [25] Halliwell, B. (1994). ‘‘Free Radicals and Antioxidants’’: A Personal View. *Nutrition Reviews*, 52, 253-265.
- [26] Enayati, A., Ranson, H., ve Hemingway, J. (2005). ‘‘Insect glutathione transferases and insecticide resistance’’, *Insect Molecular Biology*, 14, 3–8.
- [27] Barbehenn, R.V., Maben, R.E., ve Knoester, J.J. (2008). ‘‘Linking phenolic oxidation in the midgut lumen with oxidative stress in the midgut tissues of a tree-feeding caterpillar *Malacosoma disstria* (Lepidoptera: Lasiocampidae)’’. *Environmental Entomology*, 37, 1113-1118.
- [28] Hermes-Lima, M., Storey, J.M., ve Storey, K.B. (2001). ‘‘Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress’’. In: K.B. Storey & J.M. Storey (Eds.), *Cell and Molecular Responses to Stress* (pp. 263-287), Amsterdam, Elsevier Press.

- [29] Summers, C.B., ve Felton, G.W. (1993). ‘‘Antioxidant role of dehydroascorbic acid reductase in insects’’. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1156, 235–238.
- [30] Barbehenn, R.V., Bumgarner, S.L., Roosen, E.F., ve Martin, M.M. (2001). ‘‘Antioxidant defenses in caterpillars: role of the ascorbate-recycling system in the midgut lumen’’. *Journal of Insect Physiology*, 47, 349–357.
- [31] Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R., ve De, B. (2010). ‘‘Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect’’. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3 (1), 91-100.
- [32] Sen, S., ve Chakraborty, R. (2011). ‘‘The role of antioxidants in human health. American Chemical Society’’. *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy*, 1, 1-37.
- [33] Fridovich I. (1995). ‘‘Superoxide radical and superoxide Dismutase’’. *Annual Review of Biochemistry*, 64, 97-112.
- [34] Young, I.S., ve Woodside, J.V. (2001). ‘‘Antioxidants in health and disease’’. *Journal of Clinical Pathology*, 54 (3), 176-186.
- [35] Manduzio, H., Rocher, B., Durand, F., Galap, C., ve Leboulenger, F. (2005). ‘‘The point about oxidative stress in molluscs’’. *Invertebrate Survival Journal*, 2, 91-104.
- [36] Waring, W.S. (2002). ‘‘Uric acid: an important antioxidant in acute ischemic stroke’’. *Quarterly Journal of Medicine*, 95 (10), 691-693.
- [37] Reiter, R.J., Acuna-Castroviejo, D., Dun- Xian, T., ve Burkhardt, S. (2006). ‘‘Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system, New York Academy of Sciences, 939, 200-215.
- [38] Krishnan, N., Kodrik, D., Kludkiewicz, B. ve Sehnal, F. (2009). ‘‘Glutathione-ascorbic acid redox cycle and thioredoxin reductase activity in the digestive tract of *Leptinotarsa decemlineata*’’. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39, 180–188.

- [39] Kumar, A.N., Aruna, P., Naidu, J.N., Kumar, R., ve Srivastava, A.K. (2015). ‘‘Review of concepts and controversies of uric acid as antioxidant and pro-oxidant’’. Archives Medical Review Journal, 24 (1), 19-40.
- [40] Dickinson, D.A. ve Forman, H.J. (2002). ‘‘Cellular glutathione and thiols metabolism’’. Biochemistry and Pharmacology, 64, 1019-1026.
- [41] Mytilineou, C., Kramer, B.C. ve Yabut, J.A. (2002). ‘‘Glutathione depletion and oxidative stress’’. Parkinsonism Related Disaeses, 8, 385-387.
- [42] Rigotti, A. (2007). ‘‘Absorption, transport, and tissue delivery of vitamin E’’. Molecular Aspects of Medicine, 28, 423-36.
- [43] Baskin, S.I., and Salem, H., (1997). Oxidants, antioxidants, and free radicals. Washington DC: Taylor and Francis.
- [44] Aydın, A., Sayal, A., ve Işimer, A. (2001). Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayın Kitabı.
- [45] Tan, D. X., Reiter, R. J., Manchester, L. C., Yan, M. T., El-Sawi, M., Sainz, R. M., Mayo, J. C., Kohen, R., Allegra, M., ve Hardeland, R. (2002). ‘‘Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger’’. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2, 181-197.
- [46] Reiter, R.J., Tan, D.X., Terron, M.P., Flores, L.J., ve Czarnocki, Z. (2007). ‘‘Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions’’. Acta Biochimica Polonica, 54, 1-9.
- [47] Reiter, R.J., Paredes, S.D., Manchester, L.C., ve Tan, D.X. (2009). ‘‘Reducing oxidative/nitrosative stress: A newly-discovered genre for melatonin’’. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, 44 (4), 175–200.
- [48] Roche M., Rondeau P., Singh NR., Tarnus E., ve Bourdon E. (2008). ‘‘The antioxidant properties of serum albumin’’. FEBS Letters, 582 (13), 1783-1787.
- [49] Anraku, M., Chuang, V.T., Maruyama, T., ve Otagiri, M. (2013). ‘‘Redox properties of serum albumin’’. Biochimica et Biophysica Acta, 1830, 5465-5472.

- [50] Watanabe, S., Kang, D.H., ve Feng, L. (2002). ‘‘Uric acid, hominoid evolution and the pathogenesis of saltsensitivity’’. *Hypertension*, 40, 355–360.
- [51] Glantzounis, G., Tsimoyiannis, E., Kappas, A., ve Galaris, D. (2005).’’ Uric acid and oxidative stress’’. *Current Pharmaceutical Design*, 11, 4145–4151.
- [52] Ellis, J.D., Graham, J.R., ve Mortensen, A. (2013). ‘‘Standard methods for wax moth research’’. *Journal of Apicultural Research*, 52 (1), 1-17.
- [53] Ramarao, N., Nielsen-Leroux, C., ve Lereclus, D. (2012). ‘‘The insect *Galleria mellonella* as a powerful infection model to investigate bacterial pathogenesis’’, *Journal of Visualized Experiments*, 2 (70), e4392.
- [54] Buyukguzel, K. (2001). ‘‘DNA gyrase inhibitors: Novobiocin enhances the survival of *Pimpla turionellae* larvae reared on an artificial diet but other antibiotics do not’’. *Journal of Applied Entomology*, 125, 583-587.
- [55] Sharma, S.K., Dai, T., Kharkwal, G.B., Huang, Y., Huang, L., De Arce, V.J.B., Tegos, G.P., ve Hamblin, M.R. (2011). ‘‘Drug discovery of antimicrobial photosensitizers using animal models’’, *Current Pharmaceutical Design*, 17 (13), 1303–1319.
- [56] Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S.J., Anderson, D., Locke, B., Delaplane, K.S., Wauquiez, Q., Tannahill, C., Frey, E., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P., ve Ellis, J.D. (2013). ‘‘Standard methods for varroa research’’. In V. Dietemann, J D Ellis, & P Neumann (Eds), *The Coloss Beebook, Volume II: Standard methods for Apis mellifera pest and pathogen research*. *Journal of Apicultural Research* 52(1).
- [57] Kayis, T., Coskun, M., Dursun, O., ve Emre, I., (2015). ‘‘Alterations in antioxidant enzyme activity, lipid peroxidation and ion balance induced by Dichlorvos in *Galleria mellonella* L’’. *Annals of the Entomological Society of America*, 108 (4), 570-574.
- [58] Yucel, M.S., ve Kayis, T. (2019). ‘‘Imidacloprid induced alterations in oxidative stress, biochemical, genotoxic, and immunotoxic biomarkers in non-mammalian model organism *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)’’. *Journal of Environmental Science and Health B*, 54 (1), 27–34.

- [59] Coskun, M., Kayis, T., Yilmaz, M., Dursun, O., ve Emre, I. (2021). ‘‘Copper and zinc impact on stress biomarkers and growth parameters in a model organism’’, *Galleria mellonella* larvae’’. *Biometals*, 34(6), 1263-1273.
- [60] Mylonakis E., Casadevall A., ve Ausubel FM. (2007). ‘‘Exploiting amoeboid and non-vertebrate animal model systems to study the virulence of human pathogenic fungi’’, *PLoS Pathogens*, 3 (7), e101.
- [61] Vilcinskas, A. (2011). ‘‘Anti-infective therapeutics from the Lepidopteran model host *Galleria mellonella*’’. *Current Pharmaceutical Design*, 17 (13), 1240-1245.
- [62] Tsai, C.J., Loh, J.M., ve Proft, T. (2016). ‘‘*Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing’’, *Virulence*, 7 (3), 214-229.
- [63] Coskun, M., Kayis, T., Gulsu, E., ve Alp, E. (2020). ‘‘Effects of selenium and vitamin E on enzymatic, biochemical, and immunological biomarkers in *Galleria mellonella* L’’. *Scientific Reports*, 10, 9953.
- [64] Kavanagh, K., ve Fallon, J.P. (2010). ‘‘*Galleria mellonella* larvae as models for studying fungal virulence’’. *Fungal Biology Reviews*, 24, 79-83.
- [65] Fallon, J., Kelly, J., ve Kavanagh, K. (2012). ‘‘*Galleria mellonella* as a model for fungal pathogenicity testing’’. *Methods in Molecular Biology*, 845, 469-85.
- [66] Mylonakis E., Frederick MA., Michael G., and Arturo C., (2012).’’ Of model hosts and man: Using *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* and *Galleria mellonella* as Model Hosts for Infectious Disease Research’’. In G.B. Justo Maged M, Mylonakis E, (eds), *Recent Advances on Model Hosts*. (pp. 11-9). London, Springer:
- [67] Banville, N., Browne, N., ve Kavanagh, K. (2012). ‘‘Effect of nutrient deprivation on the susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to infection’’. *Virulence*, 3 (6), 497-503.
- [68] Fallon, J.P., Troy, N., ve Kavanagh, K. (2011). ‘‘Pre-exposure of *Galleria mellonella* larvae to different doses of *Aspergillus fumigatus* conidia causes differential activation of cellular and humoral immune responses’’. *Virulence*, 2, 413-421.

- [69] Krautz, R., Arefin, B., ve Theopold, U. (2014). ‘‘Damage signals in the insect immune response’’. *Frontiers in Plant Science*, 5 (342), 1-11.
- [70] Kurt, D., ve Kayis, T. (2015). ‘‘Effects of the pyrethroid insecticide deltamethrin on the hemocytes of *Galleria mellonella*’’. *Turkish Journal of Zoology*, 39, 452-457.
- [71] Nath, S.B. (2000). ‘‘Changes in carbohydrate metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm *Bombyx mori* L., exposed to organophosphorus insecticides’’. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 68, 127-137.
- [72] Buyukguzel, K. (2006). ‘‘Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp: Effect on adult emergence, longevity and oxidative and antioxidative response of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae)’’. *Journal of Economic Entomology*, 99, 1225– 1234.
- [73] Sak, O., Uckan, F. ve Ergin, E. (2006). ‘‘Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae)’’. *Belgian Journal of Zoology*, 136 (1), 53-58.
- [74] Kapoor, U., Srivastava M.K., Bhardwaj, S. ve Srivastava, L.P. (2010). ‘‘Effect on Imidacloprid on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in female rats to derive its No observed Effect Level (NOEL)’’. *The Journal of Toxicological Sciences*, 35 (4), 577-581.
- [75] Kapoor, U., Srivastava M.K. ve Srivastava, L.P. (2011). ‘‘Toxicological impact of technical imidacloprid on ovarian morphology, hormones and antioxidant enzymes in female rats’’. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 3086-3089.
- [76] Choi, J., Roche, H., ve Caquet, T. (2001). ‘‘Hypoxia, hyperoxia and exposure to potassium dichromate or fenitrothion alter the energy metabolism in *Chironomus riparius* Mg. (Diptera: Chironomidae) larvae’’. *Comparative Biochemistry and Physiology C Toxicology and Pharmacology*, 130 (1), 11-17.
- [77] Champion, O.L., Wagley, S., ve Titball, R.W. (2016). ‘‘*Galleria mellonella* as a model host for microbiological and toxin research’’. *Virulence*, 7 (7), 840-845.

- [78] Amin, K.A., ve Hashem, K.S. (2012). ‘‘Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol’’. BMC Veterinary Research, 8:45
- [79] Elia, A.C., Giorda, F., Pacini, N., Dörr, A.J.M., Scanzio, T., Prearo, M. (2017). ‘‘Subacute Toxicity Effects of Deltamethrin on Oxidative Stress Markers in Rainbow Trout’’. The Journal of Aquatic Animal Health, 29 (3), 165-172.
- [80] Hamed, H.S. (2016). ‘‘Ameliorative Effects of *Spirulina platensis* on Deltamethrin-Induced Biochemical Alterations and Oxidative Stress in the African Catfish; *Clarias gariepinus*’’. Open Journal of Marine Science, 6, 1-10.
- [81] Kaya, S. (2020). ‘‘The Effects of Pyrethrum Extract on *Galleria mellonella* Hemolymph Phenoloxidase Enzyme’’. Journal of Scientific Perspectives, 4 (4), 269-280.
- [82] Yousef, M.I., Awad, T.I., ve Mohamed, E.H. (2006). ‘‘Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E’’. Toxicology, 227 (3), 240–247
- [83] Rehman, H., Ali, M., Atif, F., Kaur, M., Bhatia, K., Raisuddin, S. (2006).’’ The modulatory effect of deltamethrin on antioxidants in mice. Clinica Chimica Acta 369 (1), 61 – 65.
- [84] Yücel Işıldar, G., Günel, A.C., Şahin, D., Kocak Memmi, B., ve Sepici Dinçel, A. (2020). ‘‘How potential endocrine disruptor deltamethrin effects antioxidant enzyme levels and total antioxidant status on model organisms’’. Turkish Journal of Biochemistry, 45(4), 415–421.
- [85] Sharma, D.K., ve Ansari, B.A. (2013). ‘‘Effects of Deltamethrin on CAT, LPO and GSH in Tissues of Zebrafish *Danio rerio*’’. Research Journal of Environmental Toxicology, 7(1), 38-46.
- [86] Ensibia, C., Pérez-López, M., Soler Rodríguez, F., Míguez-Santiyán, M.P., Daly Yahya, M.P., ve Hernández-Moreno, D. (2013). ‘‘Effects of deltamethrin on biometric parameters and liver biomarkers in common carp (*Cyprinus carpio* L.)’’. Environmental Toxicology and Pharmacology, 36, 384-391.

- [87] Franeta, F., Mirčić, D., Todorović, D., Željko Milovac, Z., Granica, N., Obradović, S., ve Perić-Mataruga, V. (2018). "Effects of different insecticides on the antioxidative defense system of the European Corn Borer (*Ostrinia nubilalis* Hübner) (Lepidoptera: Crambidae) larvae". Archives of Biological Sciences, 70 (4), 765-773.
- [88] Kuder, R.S. ve Philip, G.H. (2017). "Antioxidant enzymatic activities and lipid peroxidation in liver and ovary of zebrafish (*Danio rerio*) exposed to deltamethrin". Chemistry and Ecology, 33 (8), 739-749.
- [89] Oliveira, J.M., Losano, N.F., Condessa, S.S., de Freitas, R.M.P., Cardoso, S.A., Freitas, M.B., ve de Oliveira, L.L. (2018). "Exposure to deltamethrin induces oxidative stress and decreases of energy reserve in tissues of the neotropical fruit-eating bat *Artibeus lituratus*". Ecotoxicology and Environmental Safety, 148, 684–692.
- [90] Abdallah, B.F., Hamden, K., Galeraud-Denis, I., El Feki, A., ve Keskes-Ammar, L. (2010). "An in vitro study on reproductive toxicology of deltamethrin on rat spermatozoa". Andrologia, 42, 254–259.
- [91] Bronskill, J.K. (1961). "A cage to simplify the rearing of greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae)". Journal of Lepidopterist Society, 15 (2), 102-104.
- [92] Kurt, D. (2013). Piretroit Grubu İnsektisit Deltametrinin *Galleria mellonella* L'nin Hemositleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Adıyaman: Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [93] Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. ve Randall, R.J. (1951). "Protein measurement with the folin phenol reagent". Journal of Biological Chemistry, 193 (1), 265–75.
- [94] Sun, Y., Oberley, L.W. ve Li, Y. (1988). "A simple method for clinical assay of superoxide dismutase". Clinical Chemistry, 34 (3), 497–500.
- [95] Aebi, H. (1984). "Catalase in vitro". Methods in Enzymology, 121-126.
- [96] Bar-Or, D., Rael, L.T., Lau, E.P., Rao, N.K.R., Thomas, G.W., Winkler, J.V., Yukl, R.L., Kingston, R.G., ve Curtis, C.G. (2001). "An analog of the human albumin N-terminus (Asp-Ala -His- Lys) prevents formation of copper induced reactive oxygen species". Biochemical and Biophysical Research Communications, 284, 856–862.

- [97] Van Handel, E. (1985a). ‘‘Rapid determination of glycogen and sugar in mosquitoes’’. Journal of the American Mosquito Control Association, 1, 299-304.
- [98] Van Handel, E. (1985b). ‘‘Rapid determination of total lipids in mosquitoes’’. Journal of the American Mosquito Control Association, 1, 302- 304.
- [99] Kayis, T., Emre, I. ve Coskun, M. (2012). ‘‘Effects of diazinon on antioxidant enzymes and adult emergence of the parasitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)’’. Turkish Journal of Entomology, 36, 463–471.
- [100] Kayis, T., Altun, M. ve Coskun, M. (2019). ‘‘Thiamethoxam-mediated alteration in multibiomarkers of a model organism, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)’’. Environmental Science and Pollution Research, 26, 36623– 36633.
- [101] Emre, I., Kayis, T., Coskun, M., Dursun, O. ve Cogun, H.Y. (2013). ‘‘Changes in antioxidative enzyme activity, glycogen, lipid, protein, and melondialdehyde content in cadmium-treated *Galleria mellonella* larvae’’. Entomological Society of America, 106 (3), 371-377.
- [102] Mathews, C.M., Summers, C.B., ve Felton, G.W. (1997). ‘‘Ascorbate peroxidase: a novel antioxidant enzyme in insects’’. Archives Insect Biochemistry and Physiology, 34, 57–68.
- [103] Ge, W.L., Yan, S.H., Wang, J.H., Zhu, L.S., Chen, A.M., ve Wang, J. (2015). ‘‘Oxidative stress and DNA damage induced by imidacloprid in zebrafish (*Danio rerio*)’’. Journal of Agricultural Food Chemistry, 63 (6), 1856–1862.
- [104] Noshay, M.M., Saad-Hussein, A., Shahy, E.M., El-Shorbagy, H.M., Taha, M.M., ve Abdel-Shafy, E.A. (2017). ‘‘Assessment of anticholinesterase toxicity, oxidative stress and antioxidant status in carbamate and organophosphorus pesticides-exposed agricultural workers’’. International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 9 (3), 205–209.
- [105] Velisek, J., ve Stara, A. (2018). ‘‘Effect of thiacloprid on early life stages of common carp (*Cyprinus carpio*)’’. Chemosphere, 194, 481–487.

- [106] Tuzmen, N., Candan, N., Kaya, E., ve Demiryas, N. (2008). ‘‘Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver’’. *Cell Biochemistry & Function*, 26, 119–124.
- [107] Sharma, P., Singh, R., ve Jan, M. (2014). ‘‘Dose-dependent effect of deltamethrin in testis, liver, and kidney of Wistar rats’’. *Toxicology International*, 21, 131–139.
- [108] Sanmartin-Suarez, C., Soto-Otero, R., Sanchez-Sellero, I., Mendez-Alvarez, E. (2011). ‘‘Antioxidant properties of dimethyl sulfoxide and its viability as a solvent in the evaluation of neuroprotective antioxidants’’. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 63, 209-215.
- [109] Chen, L., ve Fadamiro, H.Y. (2006).’’ Comparing the effects of five naturally occurring monosaccharide and oligosaccharide sugars on longevity and carbohydrate nutrient levels of a parasitic phorid fly, *Pseudacteon tricuspis*’’. *Physiological Entomology*, 31, 46-56.
- [110] Giron, D., ve Casas, J., (2003). Lipogenesis in an adult parasitic wasp, *Journal of Insect Physiology*, 49: 141–147.
- [111] Mentel, T., Duch, C., Stypa, H., Wegener, G., Muller, U., ve Pfluger, H.J. (2003). ‘‘Central modulatory neurons control fuel selection in flight muscle of migratory locust’’. *The Journal of Neuroscience*, 23, 1109-1113.
- [112] Saleem, M.A., Shakoory, A.R., ve Mantle, D. (1998). ‘‘Macromolecular and enzymatic abnormalities induced by a synthetic pyrethroid, Ripcord (cypermethrin) in adult beetles of stored grain pests, *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Col. Tenebrionidae)’’. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 39, 144-154.
- [113] Maryanski, M., Kramarz, P., Laskowski, R., ve Niklinska, M. (2002). ‘‘Decreased energetic reserves, Morphological changes and accumulation of metals in Carabid Beetles (*Poecilus cupreus* L.) exposed to Zinc or Cadmium contaminated food’’. *Ecotoxicology*, 11, 127–139.
- [114] Ribeiro, S., Sousa, J.P., Nogueira, A.J.A., ve Soares, A.M.V.M. (2001). ‘‘Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the

- terrestrial isopod *Porcellio dilatatus*”. Ecotoxicology and Environmental Safety, 49, 131- 138.
- [115] Rashwan, M. (2013). “Biochemical impacts of rynaxypyr (Coragen) and spinetoram (Radiant) on *Spodoptera littoralis* (Boisd.)”. Nature and Science, 11 (8), 40-47.
- [116] Shaurub, E.H., ve Abd El-Aziz, M.N. (2015). “Biochemical effects of lambda-cyhalothrin and lufenuron on *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae)”. International Journal of Mosquito Research, 2 (3), 122-126.
- [117] Dağdevran, B. (2017). Emamektin Benzoatın *Galleria mellonella* ’nın Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Adıyaman: Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [118] Lee, J.C., Heimpel, G.E., ve Leibe, G.L. (2004). “Comparing floral nectar and aphid honeydew diets on the longevity and nutrient levels of a parasitoid wasp”. Entomologia Experimentalis et Applicata, 111, 189-199.
- [119] Kissoum, N., ve Soltani, N. (2016). “Spiromesifen, an insecticide inhibitor of lipid synthesis, affects the amounts of carbohydrates, glycogen and the activity of lactate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*”. Journal of Entomology and Zoology Studies, 4 (1), 452-456.
- [120] Elbarky, N.M., Dahi, H.F., ve El-Sayed, Y.A. (2008). “Toxicological evaluation and biochemical impacts for radiant as a new generation of spinosyn on *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae”. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, 1 (2), 85 – 97.
- [121] Werren, J.H. (1987). “Labile sex ratios in wasps and bees”. Bioscience, 37, 498-506.
- [122] Fotouhi, K., Fazel, M.M., ve Kavaousi, A. (2015). “Effects of pyriproxyfen on bioenergetic resources of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)”. Türk Entomoloji Dergisi, 39 (1), 11-22.