



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ALSYSTİN'İN ALTINCI EVRE *Galleria mellonella* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)
LARVAL İNTEĞÜMENTİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Naci GÖRER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Temmuz– 2011
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Naci GÖRER tarafından hazırlanan “Alsystin'in altıncı evre *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) larval integumenti üzerine etkisi” adlı tez çalışması 18/07/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Prof. Dr. Emrah SUR

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Sadettin ÜNSAL

Üye

Yrd. Doç. Dr. Haluk ÖZPARLAK

İmza

.....

.....

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Bayram SADE
FBE Müdürü

Bu tez çalışması BAP tarafından 10201074 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Naci GÖRER

05.07.2011

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALSYSTİN'İN ALTINCI EVRE *Galleria mellonella* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) LARVAL İNTEGÜMENTİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Naci GÖRER

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Sadettin ÜNSAL

2011, 58 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Emrah SUR

Yrd. Doç. Dr. Sadettin ÜNSAL

Yrd. Doç. Dr. Haluk ÖZPARLAK

Alsystin'in altıncı evre *Galleria mellonella* L. larvalarının üzerine kitin sentez inhibitörü (CSI) etkisi araştırıldı. Probit analizi yöntemiyle *G. mellonella* larvaları için Alsystin oral yolla uygulanıp LC₅₀ değeri 400 ppm olarak tespit edildi. Çalışmada 400 ppm ve bunun azalan miktarları olan 200, 100, 50, 25 ve 12.5 ppm'lik dozlar kullanıldı.

Alsystin'in 12.5 ve 25 ppm'lik dozlarının altıncı evre larvaları için kütikula kalınlığı üzerine etkisi ($P > 0.05$) olduğu gözlenirken; 50, 100, 200 ve 400 ppm'lik dozlarının etkili olduğu ($P < 0.05$) gözlemlendi. Alsystin'in üç dozunda (100, 200 ve 400 ppm) tüm larvalarda aynı oranda olmamakla beraber gelişim inhibisyonu, hareketlerde yavaşlama, kararma, hemolenf kaybı gözlemlendi ve bu üç dozda larvaların deri değişimleri başarısız oldu. Diğer üç dozda (12.5, 25 ve 50 ppm) ise larvalar gelişimlerine devam edip bir üst evreye geçmelerine rağmen erginlerin kanat yapılarında anomaliler gözlemlendi. Uygulanan tüm dozlarda ise larval periyot süresi kontrol grubuna göre uzadı.

Histolojik olarak ise; Alsystin'in 50, 100, 200 ve 400 ppm'lik dozlarında amorf prokütikula yapısına ilaveten hücre içi granüler oluşumlar, 200 ve 400 ppm'lik dozlarda vakuoler oluşumlar gözlemlendi.

Deneme gruplarında doz/ zaman ilişkisine bağlı olarak yükselen dozlarda epidermal hücrelerin kütikula sekresyonu daha yüksek oranlarda bloke edildi. 50- 100 ppm'lik dozlarda Alsystin'li diyetle beslenen larvaların kütikula sekresyonu %20, 200- 400 ppm'lik dozda Alsystin'li diyetle beslenen larvaların kütikula kalınlıkları ise sırasıyla %37- 38 oranında azaldı.

Anahtar Kelimeler: Alsystin, büyük kovan güvesi, *Galleria mellonella*, integüment, kitin sentez inhibitörü (CSI), kütikula, Triflumuron,

ABSTRACT

MS. THESIS

THE EFFECTS OF ALSYSTIN ON THE INTEGUMENT OF SIXTH INSTAR *Galleria mellonella* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) LARVAE

Naci GÖRER

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY**

Advisor: Asst. Prof. Dr. Sadettin ÜNSAL

2011, 58 Pages

Jury

Prof. Dr. Emrah SUR

Asst. Prof. Dr. Sadettin ÜNSAL

Asst. Prof. Dr. Haluk ÖZPARLAK

Inhibitory effect of Alsystin on chitin synthesis (CSI) in sixth instar *Galleria mellonella* L. larvae was investigated. LC₅₀ was found as 400 ppm for sixth instar *G. mellonella* larvae by using probit analysis method. In this study, 400 ppm and its decreasing amount as 200, 100, 50, 25 and 12.5 ppm were used.

The used 12.5 and 25 ppm doses of Alsystin had no effect on sixth instar larvae ($P>0.05$), while four doses (50, 100, 200 and 400 ppm) affected the cuticle thickness ($P<0.05$). Although larvae showed symptoms of inhibition in growth, slower movement, darkening, loss of hemolymph at different ratios at 100, 200 and 400 ppm, all doses failed in molting. In other three doses (12.5, 25 and 50 ppm), though larvae continued to their growth and succeeded in molting, anomalies were observed on their wings. Besides, at all applied doses, larval period took longer than control ones.

In regard to histological findings, at 50, 100, 200 and 400 ppm doses of Alsystin, in addition to amorphous procuticle structure, granular formations in the cell were observed. Moreover, in the doses of 200 and 400 ppm, vacuole formations were investigated.

Depending on dose/time ratio, at higher doses, the inhibition of cuticle secretion in epidermal cells was higher than that of at low doses. The cuticle secretion decreased about 20% and 37-38% for the larvae having diet with 50- 100 ppm and 200- 400 ppm Alsystin, respectively.

Key words: Alsystin, *Galleria mellonella*, greater wax moth, integument, chitin synthesis inhibitor (CSI), cuticle, Triflumuron,

ÖNSÖZ

S. Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde yürütölmüş olan bu yüksek lisans tezi çalışmasıyla; halk arasında kovan güvesi olarak bilinen *Galleria mellonella* L. zararlısının altıncı evre larvaları üzerinde bir kitin sentez inhibitörü olan Alsystin'in (Triflumuron) etkileri ışık mikroskopik düzeyde araştırılmaya çalışılmıştır.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde teşvik ve yardımlarını esirgemeyen tez yöneticim Yrd. Doç. Dr. Sadettin ÜNSAL'a, laboratuvar çalışmalarımda görüşleriyle yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Haluk ÖZPARLAK'a, istatistiki hasaplamalarda yardımcı olan Funda TERCAN'a ve laboratuvar arkadaşlarım Canan AKGÜL ve Merve GÖKMEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Naci GÖRER

KONYA-2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Böcek İntegümentinin Yapısı	5
2.2. Benzofenil üre Grubuna Giren Kitin Sentez İnhibitörlerinin (CSIs) İntegüment Üzerine Etkileri	6
2.3. <i>Galleria mellonella</i> Larvaları üzerine Yapılan Çalışmalar.....	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Alsystin (Triflumuron).....	15
3.1.1. <i>Galleria mellonella</i> kültürü	15
3.2. Yöntem.....	16
3.2.1. <i>Galleria mellonella</i> larvalarına Alsystin’ in uygulanması.....	16
3.2.2. Larvalardan histolojik preparat hazırlanması	17
3.2.3. Kütikula kalınlık ölçümleri	17
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	18
4.1. Araştırma Sonuçları	18
4.1.1. Kontrol grubu altıncı evre <i>Galleria mellonella</i> larvalarına ait gözlemler	18
4.1.1.1. Larval integüment’e ait makroskobik ve histolojik gözlemler.....	19
4.1.1.2. Larval integüment’e ait siklus.....	24
4.1.2. Alsystin uygulanan altıncı evre <i>Galleria mellonella</i> larvalarına ait..... gözlemler	29
4.1.2.1. Alsystin’in integüment üzerindeki makroskobik ve histolojik etkileri.....	30
4.1.2.2. Alsystin’in kütikula kalınlığı üzerine etkileri.....	44
4.2. Tartışma	42
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	47
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

AO	: aritmetik ortalama
apz	: apoliz
CSI	: kitin sentez inhibitörü (Chitin Synthesis Inhibitor)
Ek	: eski kütikula
ekb	: ekuviyal boşluk
ekk	: ekzokütikula
eks	: ekuviyal sıvı
enk	: endokütikula
enl	: endokütikular lamel
epb	: epidermal hücre por kanalı bağlantısı
eph	: epidermal hücre
epk	: epikütikula
eps	: epidermal hücre salgısı
ept	: epikütikular tüberkül
esy	: epidermal hücre salgı yoğunlaşması
hep	: hidroliz edilen prokütikula
hms	: hemosit
IGR	: böcek gelişim düzenleyicisi (Insect Growth Regulator)
ik	: interzon kütikula
KO	: kareler ortalaması
KT	: kareler toplamı
LC₅₀	: test hayvanlarının %50'sini öldürmek için gerekli olan konsantrasyon
LC₉₀	: test hayvanlarının %90'sini öldürmek için gerekli olan konsantrasyon
LC₉₅	: test hayvanlarının %95'ini öldürmek için gerekli olan konsantrasyon
phz	: prokütikulanın hidrolizi
pk	: por kanalı
prk	: prokütikula
prl	: prokütikular lamel
SD	: serbestlik derecesi
SH	: standart hata

su	: sitoplazmik uzantı
vk	: vakuol
yd	: yağ dokusu
yet	: yeni epikütikular tüberkül
yk	: yeni kütikula
ysk	: yeni sentezlenen kütikula
ysl	: yeni sentezlenen lamel

1. GİRİŞ

İnsanoğlunun varoluşundan bugüne kadar, arıcılık dünyada bilinen en eski tarımsal faaliyetlerden birisi olup hemen hemen bütün dünya kültürlerinde geniş yer almaktadır. Arıcılık gerek gelişmiş gerekse gelişmekte olan ülkelerde çeşitli amaçlarla önem verilen tarımsal faaliyetlerden biridir. Toprağa bağımlı olmaması, az bir sermaye ile yapılabilmesi ve diğer tarım kollarına oranla daha az iş gücü kullanması, arıcılığı ön plana çıkartan önemli özelliklerdendir (Erkan ve Aşkın, 2001).

Ülkemiz, coğrafi yapısı, bitki çeşitliliği ve nektar kaynakları bakımından bal üretimi için çok uygun bir ülke olup, arıcılık açısından büyük bir potansiyele sahiptir. Türkiye dünyada bulunan 52 milyon arı kolonisinin 4 milyonunu coğrafyasında bulundurmakta, dünyada üretilen 1.126.000 ton balın yaklaşık 70.000 tonu ülkemizde üretilmektedir (Erkan ve Aşkın, 2001).

Türkiye’de 200.000 tarım işletmesinde arıcılık faaliyetleri yapılmakta ve bu tarım işletmelerinin %10’nun geçim kaynağını arıcılık oluşturmaktadır. Bu tarım işletmelerinin toplam arı kolonisi varlığının %80’ine sahip olduğu ve bal üretiminin %90’nın gerçekleştirdiği tahmin edilmektedir. Arıcılık ürünü olarak sadece bal bilinmektedir. Oysaki arılardan balın yanı sıra balmumu, arı sütü, polen, propolis ve arı zehiri gibi 6 çeşit ürün elde edilmektedir. Arılar, bu ürünlerden; bal (nektar olarak), polen ve propolisi doğadan toplamaktadırlar; arı sütü, balmumu ve arı zehirini ise bal ve polen kullanarak metabolizmalarında üretmektedirler. Arıcılık, çevrenin, tarım ve orman ürünlerinin korunmasına ve gelişmesine, polinasyon ile katkısı bulunan önemli bir faaliyettir. Arıcılığın polinasyon yolu ile bitkisel üretime katkısı, arı ürünleri üretiminden elde edilen gelirin en az 10 katı kadardır (Kurt, 2007).

Türkiye 4 milyonun üzerindeki arı kovanı koloni varlığı ile dünyada dördüncü sırada olmasına rağmen bal üretiminde yedinci sıradadır. Ülkemizde koloni başına ortalama bal verimi oldukça düşüktür. Bunun en önemli nedeni hastalık ve zararlıları hakkında yeterli bilgiye sahip olunmaması, gerekli mücadelenin zamanında ve doğru bir şekilde yapılmamasıdır. Bu durum ülke arıcılığındaki verim düşüklüğünün nedenlerinden birisi olmaktadır (Öztürk, 2001). Ülkemizde koloni başına verimliliğin dünya ortalamasından düşük olmasında bal arısı paraziti ve bal peteği zararlıları önemli bir yer tutmaktadır (Akyol ve Korkmaz, 2008).

Bal üretimini olumsuz etkileyen Varroa hastalığına sebep olan arı akarı *Varroa jacobsoni* (Oudemans) (Selçukoğlu, 1999) dışında, arıcılık sektöründe ekonomik açıdan en büyük zararı, kovanlarda ve depolarda peteklere zarar veren *Galleria mellonella* L. (büyük petek güvesi) ve *Achoria grisella* (küçük petek güvesi) yapmaktadır. Bunlardan *G. mellonella*, Lepidoptera ordosu, Pyralidae familyasına ait holometabol bir tür olup hayat devresini larva, pupa ve ergin, olarak geçiren, bu döngüyü altı haftada tamamlayan ve en zararlı olanıdır. Erginleri yumurtalarını kovanlarda arıların ulaşamayacağı bölgelere bırakırlar. Yumurtadan çıkan larvalar peteklerde tünel açmak, kovanlardaki bal ve peteklerle beslenmek suretiyle; yaşlı larvalar ise ördükleri ipeksi ağlarla petekleri birbirine yapıştırmak ve onları tamamiyle yemek suretiyle zarar verirler (Ali ve ark., 1973). Genellikle sağlıklı ve güçlü arı kolonilerinde *G. mellonella* larvalarının zararı kovandaki işçi arıların zararlıyı baskılamaları sonucu arıcılar tarafından fark edilmezken, çeşitli nedenlerle ergin işçi arı sayısı azalmış zayıf kolonilerde, önemli ekonomik kayıplar oluşmakta ve bu durum arıların kovanı terk etmesiyle sonuçlanmaktadır (Sanford, 2003). *G. mellonella*, kovanlarda arılara ve peteklere en büyük zararı larval dönemde vermektedir. Arı kolonilerinde 1 g balmumu üretimi için arıların 8.25 g bal tüketmeleri (Whitcomb, 1946) düşünüldüğünde *G. mellonella* larvalarının arıcılık sektörüne verdiği kaybın önemi daha iyi anlaşılabilir.

Zararlı böceklerin meydana getirdiği zararın büyüklüğünün popülasyon yoğunluğu ile doğru orantılı olduğu bilinmektedir (Olson ve ark., 2000).

Ülkemizde kabartılmış peteklerin depolanma sırasında *G. mellonella* larvalarına karşı korunması ekonomik açıdan önemli bir olgu olup, bu koruma sırasında insan sağlığına zararlı ve kalıntı bırakan kimyasalların da kullanılmamasına dikkat edilmesi gerekmektedir (Akyol ve Korkmaz, 2008).

Dünya nüfusunun hızla artması, özellikle tarımsal kaynaklı ürünlerin üretim, depolama ve pazarlama aşamalarında zararlılara karşı daha iyi korunması zorunluluğunu getirmiştir. Bu nedenle bu tür zararlılara karşı kimyasal mücadele önemli ölçüde artmıştır. Bu kaynakların zarar görmesinde böcekler önemli bir yer tutmaktadır. Böcekler, arazi ortamında direkt olarak zararlı olabilecekleri gibi, bu ürünlerin depolanması ve pazarlanması sırasında da önemli kayıplara yol açmaktadır. Bu zararlılarla mücadelede biyolojik mücadele yönteminin yanında, uygulamanın kolay ve ucuz olması, kısa zamanda etki gösterebilmesi nedeniyle kimyasal mücadele daha fazla kullanılan bir yöntemdir. Kimyasal mücadelede kullanılan maddelerin başında genelde toksik ve biyosidal maddeler olan pestisitler gelmektedir. Pestisitler zararlı hayvanların,

böceklerin, mikroorganizmaların, otların ve sorun teşkil eden diğer canlıların ölmesini veya üremelerini durduran kimyasallardır. Pestisitlerin sınırsız ve kontrolsüz şekilde bilinçsiz olarak kullanılması; toprağın, havanın, suyun kirlenmesine, yararlı türler ile insanlar üzerinde olumsuz etkilere yol açmaktadır. Doğada kimyasal kirliliğe yol açan, toprakta, suda, meyvelerde, sebzelerde ve diğer besin maddelerinde uzun süre bozulmadan kalan ve besin zinciri yoluyla insanlara kadar ulaşabilen pestisitlerin alerjik, karsinogenik, mutajenik ve teratojenik etkilerinin olduğu, çeşitli canlılarla yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Vural, 1984). Güçlü ve sürdürülebilir bir kovan idaresinin en büyük hedefi, kullanılan ilaçların zararlı organizmaları öldürebilecek dozda, ancak bal ve bal ürünlerinde gıda kalitesi ve güvenilirliğini etkilemeyecek düzeyde kullanılmasıdır. Arı hastalık ve zararlılarına karşı arı kolonilerinde kullanılan çeşitli kimyasallar ve ilaçlar ile doğrudan, tarımsal mücadele ilaçlarının bitkilerde bilinçsiz kullanımı nedeniyle de dolaylı olarak balda kalıntı oluşturmakta ve kalitesini düşürmektedir (Slabezki, 2010). Tüm bu olumsuzluklar göz önüne alınarak hedef canlı üzerine daha duyarlı, hedef canlı dışında kalan diğer canlılara ve yararlı organizmalara karşı zararsız olan bileşikler geliştirilmiştir. Bu geliştirilen insektisitler, böcek büyüme düzenleyicileri (IGRs)'dir (Mommaerts ve ark., 2006). Böcek gelişim düzenleyicileri (IGRs) üçüncü nesil insektisitler olarak isimlendirilip etki şekillerine göre üç grupta sınıflandırılmaktadır. Bunlar; (i) juvenil hormon ve analogları, (ii) ektizon antogonistleri (iii) kitin sentez engelleyicileridir (CSIs) (Mondal ve Perween, 2000). Bunlardan kitin sentez engelleyicileri (CSIs) larvaların bulunduğu ortama dışarıdan verilerek onların gömlek değiştirmesini engelleyerek bulundukları devrede ölmesine sebep olurlar.

Lepidoptera takımına ait türlerin çoğu tarım zararlısı olduklarından ekonomik açıdan önemli böceklerdir (Büyükgüzel ve ark., 2002, Tunaz ve ark., 2004). Klasik bir kitin sentez inhibitörü olan Alsystin (Triflumuron) Lepidopteralar (Konanz, 2009) dışında Diptera, Orthoptera, Siphonoptera ve Coleoptera ordoları üzerine (Vezirianzadeh ve ark., 2007) oral ve temas yolu ile etki yapan bir insektisittir. Diğer CSI'lerle etki yönünden karşılaştırıldığında onlara göre daha yavaş etki yapmakla beraber; bitkiler, omurgalılar ve diğer sıcakkanlılar üzerine çok az, ya da hemen hemen hiç toksik değildirler (Mrusec ve ark., 2001).

Kimyasal insektisitlerin böcek üzerindeki etki yerlerinden biri de larval integümenttir. Bu çalışmada *G. mellonella*'nın altıncı evre larval integüment histolojisinin incelenmesinin yanı sıra, benzoilfenil üre grubuna dahil ve bir kitin sentez inhibitörü (CSI) olan Alsystin'in *G. mellonella* altıncı evre larvaları üzerine LC₅₀ ve

bunun subletal dozlarının tespiti ve bu dozların larval integüment üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Böcek İntegümentinin Yapısı

İntegüment terimi omurgasızlar için genel olarak bazal membran üzerine oturmuş tek sıralı hücrelerden oluşan epidermis tabakası ile bu hücrelerin salgısıyla oluşan kütiküla tabakası için kullanılır (Lower, 1956).

Epidermis kütiküla tabakasının altında tek sıralı epidermal hücrelerden meydana gelir ve kütikülayı salgılar. Bu epidermal tabaka böceklerde hipodermis olarak da adlandırılır (Lower, 1956). Larvaların gelişimine göre epidermis ince, geniş ve yassı şekilden, prizmatik şekile değişebilir (Ünsal ve Ayvalı, 1989). Epidermis, tüm gelişim aşamaları boyunca en iyi yeni kütiküla oluşurken gözlenir ve diğer zamanlarda oldukça incedir (Wiglesworth, 1974). Epidermis tabakasının ilk salgıladığı tabaka en dıştaki epikütiküladır. Daha sonra iç tabaka olan prokütiküla salgılanır (Reynolds, 1987).

Böceklerde kütiküla üç tabakadan oluşmaktadır. Bunlar dıştan içe doğru epikütiküla, ekzokütiküla ve endokütiküladır. Ekzokütiküla ve endokütikülanın ikisine birden prokütiküla adı verilmektedir. Prokütikülanın üzerinde bulunan ve kitinsiz bir tabaka olan epikütiküla 0.003- 4 μm arasında değişiklik gösterebilen kalınlıktadır. Epikütiküla bazen koyu pigmentli olabilirken; çoğunlukla renksiz olan ve birkaç tabakadan oluşmuş kompleks bir tabakadır. Bu tabaka dıştan içe doğru sement, mum, polifenol ve kütikülin tabakalarından oluşur (Lower, 1956). Epikütikülanın altındaki tabaka ekzokütiküladır. Bu tabaka sert ve tanenleşmiş proteinden meydana gelmiştir. Tanenleşen bu protein ekzoiskelete sertlik kazandırır (Nesbitt, 1970). Sert ve yoğun olan bu tabaka genellikle renkli, bazen siyah olabilir. Bu tabakaya primer kütiküla da denilir ve endokütiküladan daha çok pigmente sahiptir. Ekzokütikülanın altındaki tabaka endokütiküladır. Kalın, renksiz, yumuşak ve elastik olan bu tabakaya sekonder kütiküla da denilmektedir. Aynı zamanda kütikülanın en büyük kısmını oluşturur ve esas bileşeni kitindir. Bazı böceklerde ekzokütiküla ve endokütiküla katmanları arasında kendine has boyanma özellikleriyle belirlenen ince bir tabaka daha bulunmaktadır. Bu tabaka mezokütiküla olarak ifade edilmiştir (Locke, 1961). Ekzokütikülanın olmadığı yerde mezokütiküla olabilir (Ronald ve Richards, 1965). Aslında ekzokütiküla bu yapıda var olmasına rağmen ince olduğu için epikütiküladan ayrılması çok zordur (Lower, 1956). Kütiküla ve epidermis arasında mukoid karakterde, kütiküla ile epidermis hücrelerini birarada tutan ve kitin taşıyan oluşum ise subkütiküla olarak ifade

edilmiştir (Demirsoy, 1997). Endokütikula ve ekzokütiküladan düşey doğrultuda çok sayıda çizgi geçmektedir. Dış yüzeyden bakıldığı zaman bunlar belli sınırlar ile ayrılmış çokgenler içinde sıkı bir şekilde yerleşmiş küçük noktalar halinde görülür. Bu düşey çizgilere por kanalları denilmektedir (Wiglesworth, 1974).

Epidermisle epikütikula arasında bulunan prokütikula büyük ölçüde şekilsiz matriks ve bu matriks içinde gömülü çok sayıda sert, ince, uzun fibrillerden meydana gelmiştir (Lower, 1956). Kütikula matriksi proteinlerinden, fibrilleri ise kitinden yapılmış bileşik bir yapıdadır. Kitin mikrofibrillerinin muhtemelen birbirleriyle H- bağı ile bağlanmış 18 tane sıkı biçimde paketlenmiş poli N- asetilglukozamin zincirinden oluştuğu ifade edilmiştir. Her bir polimerin zincirlerinin yönü bellidir. Kütikula mikrofibrilleri bir polisakkarit olan kitinden $(C_8H_{13}O_5N)_x$ yapılmıştır. Kitin β (1- 4) bağıyla birbirine bağlanmıştır ve N- asetilglukozamin'in basit bir polimeridir. Kitin fibriller çift sayıda anti paralel poli- GlcNAC zinciri içerir. Bu durum kütikulanın horizontal yapısının oluşmasında önemlidir (Reynolds 1987).

2.2. Benzoilfenil üre Grubuna Giren Kitin Sentez İnhibitörlerinin (CSIs) İntegüment Üzerine Etkileri

Pestisitlerden olan insektisitler, içerdikleri etken maddeye, işlevlerine, kimyasal tiplerine, kullanımlarına, kalıcılık etkilerine ve etki ettikleri gelişim evrelerine göre sınıflandırılmaktadırlar. Alsystin pestisitlerin kimyasal tiplerine göre piretroit grubundadır. Aktif olduğu etken maddeye göre benzoilfenil üre grubu, böcek gelişim düzenleyicilerinin (IGRs) kitin sentez inhibitörleri (CSIs) grubunda ve etki ettikleri gelişim evrelerine göre ise larvisit- ovisit grubuna dahil olan bir insektisittir (Oğuz, 2006).

Benzoilfenil üre grubuna dahil olan Alsystin ile larval ve pupal integüment üzerine yapılan çalışmalarda, bu insektisit deri değişim süresini geciktirdiği, deri değişimini ve endokütikular lamellerin birikimini engellediği, malpigi tüplerinin oluşumunu etkilediği (Parween, 1997), integümentin protein yapısında ise hiçbir değişikliğe sebep olmadığı tespit edilmiştir (Rehimi ve Soltani, 1999, Mello ve ark., 2008).

CSI'ler deri değiştirme sürecini bozmasından dolayı metamorfik hasarlara yol açmaktadır. CSI'ler temelde kitin biyosentezi süresince kitin sentez enzimini engellemektedir (Deul ve ark., 1978) ve böylece test böceklerinde bazı dış morfolojik

anormalliklere sebep olmakta, bunun sonucunda da deri değiştirme sürecinde ya da farklı türdeki deformasyonlardan dolayı larval ölüm gerçekleşmektedir. Histolojik deliller bu bileşiklerin deri değiştirme sonrası prokütikülada lamel birikimini engellediğini ortaya çıkarmıştır (Degheele, 1990). Lamel birikiminin engellenmesinin yanında, anormal endoktiklar kitin birikim sonucunda da (Hammock ve Quistad, 1981) deri değişimi başarısızlıkla sonuçlanabilmektedir (Ishaaya, 1990). Böceğin deri değişiminin bozulması, doza ve kullanılan bileşiğe bağlı olmakla birlikte uygulama yapılan böceğin türüne göre de değişebilmektedir (Retnakaran ve ark., 1985).

Ishaaya ve Casida (1974), *Musca domestica* larvalarını Triflumuron’la beslediklerinde, *M. domestica* larvalarının kitin seviyelerinde ciddi bir şekilde azalma olduğunu, larval kütikülanın protein içeriğinde ise değişiklik olmadığını, fenoksidaz ve kitinaz aktivitesinde önemli ölçüde artış olduğunu bunun sonucunda da kitinin birikiminin bozulduğunu ve ekzoktiklada kararmalar olduğunu tespit etmişlerdir.

Ishaaya ve Ascher (1977), *Tribolium castaneum* larvalarına Triflumuron’u besin yoluyla vererek kitin sentezini engelleyip engellemediğini araştırmışlar bunun sonucunda Triflumuron verilen larvaların sindirim enzim aktivitelerinin azaldığını gözlemişler, benzer etkileri invertaz ve amilaz enzimlerinde de görmüşlerdir. Ayrıca glikoz üretiminden sorumlu olan trehaloz aktivitesinde azalma olduğunu, bu durumun da glikoz eksikliğine sebep olduğunu ve bundan dolayı kitin sentezinin engellenmiş olabileceğini ifade etmişlerdir.

Ishaaya ve ark. (1981), benzoilfenil üre’lerin çok düşük seviyelerinin bile farklı oranlarda larval ölümlerin gerçekleşmesine sebep olduğunu ifade etmişlerdir. Yumurtadan yeni çıkmış *T. castaneum*’a uygulanan 0.4 ve 0.2 ppm’lik Diflubenzuron dozunun gelişmiş larvaların kolonideki sayılarını azalttığını, 0.08- 1.28 ppm’e değişen aralıkdaki Triflumuron’un ise *T. castaneum*’un larvalarında %50 oranında ölümlere sebep olduğunu ifade etmişlerdir.

Weaver ve Begley (1982), oral yolla uygulanan Cyromazin ve Triflumuron’un *Lucilia cuprina* larvalarında önemli ölçüde ölümlere sebep olduğunu açıklamışlardır.

Ahmed ve Naqvi (1985), *Aedes aegypti*’nin ikinci ve üçüncü evre larvalarına karşı Triflumuron’un LC₅₀ değerini 20 ppm olarak tespit etmişler ve larvalarının çoğunun bu değerde öldüğünü göstermişlerdir. Bu durumun protein metabolizmasının akış hızının bozulmasından kaynaklandığını ifade etmişlerdir.

Binnington (1985), iki farklı kitin sentez inhibitörü olan Triflumuron ve Cyromazine’in *L. cuprina* larval kütikülası üzerine etkisini araştırmıştır. Triflumuron’un

prokütikülada lamelli yapıların oluşumunu engellediğini ve endokütikular lamel bikimini bozduğunu gözlemiştir. Cyromazine'nin ise kütikülada nekrotik lezyonlar oluşturduğunu ve yoğun şekilde epidermal hücre granüllerinde birikintiyeye sebep olduğunu tespit etmiştir.

El- Gazzar ve ark. (1986), kitin sentez engelleyicilerinin *Ctenocephalides felis* larvalarının birinci ve ikinci evre larvalarında, üçüncü evre larvalarına göre daha etkili olduğunu söylemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda zararlılarla mücadelede eğer kitin sentez engelleyicileri kullanılıyorsa, erken evrelerde müdahale edilmesinin daha da uygun olduğunu ifade etmişlerdir.

Diflubenzuron, Triflumuron gibi benzoilfenil üreler veya diğer asilüreler'in besiyerine katılarak yapılan deneysel çalışmalarda, deneme gruplarına ait böceklerin gelişimlerinin belirgin bir biçimde yavaşladığı gözlenmiştir. Bu deneyler sonucu elde edilen veriler şunlardır: Yeni kütikula sentezi tamamen engellense de mevcut kütikula hala dış iskelet görevini yerine getirmektedir. Böylece eski kütikula parçalanıncaya kadar böceğin tüm fonksiyonları normal olarak devam etmekle beraber, yeni sentezlenen kütikulanın ise hem sertliği hem de esnekliği ciddi şekilde bozulmakta ve bunun sonucunda böcekler fizyolojik olarak atacağı deriden kurtulamadığından ölümler meydana gelmektedir (Reynolds, 1987).

Gujar ve Metrotra (1989), Diflubenzuron, Penfluron, Teflubenzuron ve Triflumuron gibi kitin sentez inhibitörlerinin *Dysdercus koenigii*'nin son evre nimfleri üzerine etkilerini çalışmışlar, LC₅₀ değerlerini sırasıyla 0.269, 0.025, 0.112 ve 0.359 µg/nimf olarak bulmuşlar, bu dört kimyasaldan Penfluron'un diğer kitin sentez inhibitörlerinden daha fazla etkili olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Bu dört kitin sentez inhibitörünün yüksek dozlarını nimflere uyguladıklarında, insektisitlerin önce deri değişiminin geciktiğini ve hemen ardından nimflerde ölüme sebep olduklarını tespit etmişlerdir. Düşük dozlarda ise anomali bireyler oluştuğunu ancak ölüm olayının gerçekleşmediğini gözlemişlerdir.

El Gazzar ve ark. (1988), Alsystin, Diflubenzuron, Cyromazin'in *C. felis* larvaları üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. İlaçların probit analizi ile LC₅₀ değerlerini sırasıyla 0.36, 0.09 ve 0.94 ppm olarak tespit etmişlerdir. Larvaların yaşları arttıkça bu kimyasal insektisitlerin etkilerinin azaldığını gözlemişler ve Diflubenzuron ve Cyromazin'in sadece ikinci evredeki larvalarda toksik etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Alsystin'in etkisinin ise genç larvalarda daha belirgin olduğunu ifade etmişlerdir.

Vir (1988), *Trogoderma granarium* birinci ve üçüncü evre larvalarına 5 ppm Diflubenzuron uyguladığında, uygulamadan 10- 20 gün sonra %50 oranında ölüm, 10 ppm uygulamasında ise %100 ölüm gözlemiştir.

Smith ve Grigarik (1989), Triflumuron'un larvalar üzerine hem larvisidal hem de ovisidal etki yaptığını ifade etmişlerdir.

Demark ve Bennet (1989), ikinci ve beşinci evre *Blattella germanica* larvaları Triflumuron, Chlorfluazuron ve Hexaflumuron besinlerle beslendiğinde böceklerin her iki evresinde de ölüm ve anormal gelişmeler gözlemiştir.

Olviatsu ve ark. (1991), Triflumuron'un (0.3 µg/L) letal dozunu *Spodoptera litura* larvalarına uyguladıklarında larvaların önce yarı şeffaf renk aldığını ve daha sonra kararmaya başladığını, larvaların kütikülasında çatlamalar görüldüğünü, devamında ise larvaların deri değiştirmesinin başarısızlıkla sonuçlandığını ifade etmişlerdir. Triflumuron düşük (0.02- 0.05 µg/L) dozlarda uygulandığında ise larvanın integümentinde koyu renkte çizgiler ve lekeler gözlenmiştir. Yeni kütiküla oluşurken deri değiştirmedeki olumsuzluklar nedeniyle kütikülada çeşitli anormallikler ve incelmeler tespit edilmiştir. İlaç uygulandığında son dorsal segmentin duyarlılık derecesinin diğer bölgelere göre daha fazla olduğu görülmüştür. İlaç uygulamasını takiben larvalarda deri değişiminden sonra ne beslenme ne de büyüme söz konusu olmuştur.

Babu ve ark. (1991), *Rhyzopertha dominica* larvarına 20 ppm Triflumuron verdiklerinde popülasyonda azalma görememişler, Kramer ve ark. (1980), aynı böceğin larvalarına 10 ppm Triflumuron verdiklerinde popülasyonun sayısının %24 azaldığını tespit etmişlerdir.

Saxena ve Kumar (1991), yeni yumurtadan çıkmış *T. granarium*'a Parween'in (1996) uyguladığı 1×10^{-6} ppm'lik Triflumuron dozlarına maruz bıraktıklarında, larval periyodun Triflumuron'a maruz bırakılmamış larvalara göre daha uzun olduğunu, Triflumuron'un 0.5 ppm'lik dozunda ise *Tribolium confusum*'un larval periyodun süresini uzattığını gözlemiştir.

Malinowski ve Pawinska (1992), kitin sentez inhibitörleri olan Chlorfluazuron, Hexaflumuron, Teflubenzuron, Triflumuron ve Novaluron'u *Leptinotarsa decemlineata* larvalarına karşı kullandıklarında bu bileşiklerin özellikle genç larval evredeki zararlı böceklerin kontrolünde çok etkili olduğunu görmüşler, ayrıca bu insektisitlerin mide zehiri ve temas yoluyla larvisit olduğunu ifade etmişlerdir.

Hanrieder ve ark. (1993), Sudan, Kızıl deniz yarı çöl alanında uygulamaya tabi tutulan *Locusta migratoria migratorioides* ikinci ve dördüncü evre larvaları üzerine denenen Alsystin'in artan dozuna bağlı (10 ve 80 ga. i./ha) olarak %60- 90 arasında ölüme artışa sebep olduğunu görmüşler, ayrıca larvalarda intersegmental membranda kopmalar ve sertleşmesi tamamlanmamış yumuşak kütikula izlemişler, Alsystin'in *L. migratoria*'nın beslenme aktivitesinde azalmaya sebep olduğunu tespit etmişlerdir.

Jimenez- Pyedro (1995), Cyromazine ve Triflumuron'u *L. cuprina* larvalarına oral yolla uygulamışlar, bu iki bileşiğin kitin sentez inhibitörü olarak etkili olup olmadığını araştırmışlardır. Cyromazine'nin, böceğin endokrin sistemi üzerine etkili olduğunu tespit etmişler, Triflumuron'un ise mide zehiri olarak etki gösterdiğini ifade etmişlerdir. Triflumuron'un etkilerinin tipik benzoilfenil üre etkileri ile benzerlik gösterdiğini, larvaların kütikulası içinde kitin birikimini engellediğini vurgulamışlardır.

Parween (1996), Triflumuron 1×10^{-6} ppm'lik dozunu *T. castaneum*'un larvaları üzerine uyguladığında, gelişmiş larvalarda ilaç uygulanmış larvaların boylarının azaldığını tespit etmiş ve önemli oranda larval ölüme sebep olduğunu bulmuştur.

Farashiani ve Ladonni (1999), 0.00001 mg/L Triflumuron dozunu *Anopheles stephensi*'nin ilk evre larvalarına karşı kullanmışlardır. Denemede 1000 larva kullanılmış ve bu larvaların 570'i pupa evresine geçmiş, bu evrede %43 oranında larval ölüm gerçekleşmiştir. Larvalardaki ölümler farklı morfolojik anormalliklere bağlı olarak gerçekleşmiştir. Ölen larvaların kütikülaları kararmış ve torakslarında şişmeler görülmüştür. Pupaya giren böceklerden ise 138 ergin oluşmuş geri kalanlar ise pupa evresini tamamlayamamıştır. Ergin bireylerin tarsusunda ve kanatlarında belirgin anormallikler görülmüş, bunlara ek olarak bu erişkinlerde beslenme ve çiftleşme problemleri tespit edilmiştir.

Rehimi ve Soltani (1999), *Culex pipiens pipiens* L. üçüncü ve dördüncü evredeki larvalarına 24 saat süreyle Alsystin' in 16 ve 79 ng/L dozlarını larvaların besinlerine karıştırarak uyguladıklarında ölümlerin ilaç uygulamasını takiben değişik gelişim aşamalarında gerçekleştiğini görmüşler, artan doza bağlı olarak erginlerin ortaya çıkmasında azalmalar olduğunu, bunun yanında morfolojik anormallikler oluştuğunu tespit etmişlerdir. Alsystin'in üçüncü ve dördüncü larval evre sürecinde önemli oranda larval periyodun uzamasına sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Hem pupal kütikula hemde dördüncü evre larval integümenti kontrol grubuyla karşılaştırılarak yapılan histolojik çalışmada ortaya çıkan sonucun ise, Alsystin'in hem larval deri

değişimini geciktirmekte, hem de kütikula kalınlığında önemli ölçüde azaltmaya sebep olduğunu bulmuşlardır.

Vacante ve Gilioli (2003), Triflumuron ve Methiocarb, Chlorpyrifos- Methyl'in *Frankliniella occidentalis*'in larvaları üzerine etkisini araştırmışlardır. Methiocarb, Chlorpyrifos- Methyl'in tüm etkileri Triflumuron ile kıyaslanarak değerlendirilmiş ve deneysel testlerle analiz edilmiştir. Gözlemleri sonucunda Triflumuron'un Methiocarb, Chlorpyrifos- Methyl göre daha az zarar etkisi gösterdiği, ancak iyi bir temporal ve larvisidal etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Tong ve Hui (2004), *Musca domestica* larvalarını, Triflumuron'un farklı dozlarıyla muamele edilmiş besinlerle besledikten sonra, son evre larvalarının kütikülalarındaki kitin sentezinin %22.6- 46.3 oranında engellendiğini göstermişlerdir.

Batra ve ark. (2005), *A. aegypti* ve *A. stephensi* larvalarını kullanarak yaptıkları deneylerde Triflumuron'un önemli bir larvisit özellikte bileşik olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Nauen ve Smagghe (2006), altıncı evre *Spodoptera frugiperda* larvalarını, Triflumuron ve Etoxazole ile muamele edilmiş olan lahana yapraklarıyla beslemişler, üç gün sonunda Etoxazole ile muamele edilen yapraklarla beslenen larvalarla, ilaç verilmemiş larvalar arasında kitin sentezi açısından fark görememişlerdir. Bu durumu Etoxazole'nin kitin sentezinin engellenmesi üzerine potansiyelinin olmadığı şeklinde ifade etmişlerdir. Triflumuron uygulanan yapraklarla beslenen larvaların ise kitin sentezinin engellendiğini tespit etmişlerdir.

Sterk ve Smagghe (2006), farklı IGR'lerin (Buprofezin, Cyromazine, Diflubenzuron, Triflumuron, Flufenoxuron, Lufenuron, Novaluron ve Teflubenzuron) *Bombus terrestris*'in larvaları üzerine etkilerini gözlemek için uygulamışlardır. Denemelerde üç farklı metot kullanılmış olup bu metotlar deri teması, oral yolla ve şeker/ su - via polen (canlı polen) yoluyla denemişlerdir.. Doz/ yanıt ilişkisine bağlı olarak LC₅₀ değeri tespit edilmiştir. Genel olarak hiçbir bileşik akut toksik etki göstermemiştir. Ancak üremede, özellikle şeker/ su polen ile oral yolla yapılan uygulamalarda önemli bir miktarda azalma olmuştur. Deneylerden elde edilen sonuç, CSI'lerin açık bir şekilde larvanın büyümesi üzerine etkili olduğudur. Flucycloxuron şeker/ su içirme ve temas yoluyla etkili olurken; Triflumuron, Novaluron, Cyromazine, Lufenuron ve Buprofezin'in ise canlı polenle beraber uygulamalarında etkili olduğu tespit edilmiştir. Larval ölümler anormal kütikula oluşması sonucu veya mekaniksel bir

zayıflık sonucu meydana gelmiştir. Çoğu durumda ise CSI'ler larvanın bağırsaklarında bulunan kütikülanın farklı yerlerinde kopmalara neden olmuştur.

Vazirianzadeh ve ark. (2007), Cyromazine ve Triflumuron'un sivrisinek larvalarına karşı olan etkilerini araştırmışlar, her iki IGR'nin oral olarak uygulandığında sivrisinek popülasyonunda azalmalara sebep olduğunu gözlemişlerdir. Bu iki insektisit LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri tespit edilip karşılaştırıldığında Cyromazine'nin Triflumuron'dan daha etkili ve çok daha zehirli olduğunu tespit etmişlerdir.

Karimzadeh ve ark. (2007), beş farklı kitin sentez inhibitörü *L. decemlineata* (Say.) (Coleoptera, Crysomelidae)'nin ikinci evre larvaları üzerine uygulamışlar; denemelerinde Diflubenzuron, Cyromazine, Lufenuron, Hexaflumuron ve Triflumuron içeren patates yapraklarını larvalara vererek bu ilaçları almaları sağlanmıştır. 72 saat sonra larvalarda ya ölüm ya da anormallikler kaydedilmiştir. LC₅₀ değerlerini ise sırasıyla Diflubenzuron için 58.6, Cyromazine için 69.6, Lufenuron için 27.3, Hexaflumuron için 0.79 ve Triflumuron için 81.4 mg/ L olarak tespit etmişlerdir.

Mello ve ark. (2008), *Rhodnius prolixus* nimfleri üzerine büyüme ve gelişme düzenleyici olan Triflumuron'un etkilerini araştırmışlar, bu amaç için *Rhodnius prolixus* beşinci evre nimflerini kullanmışlardır. Nimflere insektisitler oral, topikal yollarla düşük dozlarda vermişlerdir. Tüm uygulamalarda deri değiştirmenin ve gelişmenin geciktiğini, hızlı bir şekilde ölümün gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Besiyerine 0.25, 0.5 ve 5 mg/ml ağız yoluyla yapılan uygulamalarda böceklerde deri değiştirme siklusu gecikmeye başlamıştır. Yüksek seviyelerde 24 saat topikal uygulamalarda hem ölüm, hem de deri değiştirmesinde engellenme gözlenmiştir. Düşük dozlarla yapılan uygulamada ise 30 gün süreyle sürekli uygulama yapılmış ve ölüm en alt düzeyde görülmüş, deri değiştirme süresi ise uzamıştır. Triflumuron'un etkisinin doz/ cevap şeklinde olduğunu ifade etmişlerdir.

2.3. *Galleria mellonella* L. Larvaları üzerine Yapılan Çalışmalar

Hegazy ve ark. (1980), *G. mellonella* larvalarının altıncı ve yedinci evre kütikula ve epidermis hücreleri üzerine Diflubenzuron'nun etkilerini elektron mikroskobu düzeyinde incelemişler, yedinci evre larvalarına Diflubenzuron enjeksiyonu sonucunda anormal pupa oluşumuna sebep olduğunu görmüşlerdir. Larvalara enjeksiyon yoluyla verilen Diflubenzuron'nun yeni oluşan kütikülanın dopalanmasında etkili olmayıp, prokütiküladaki homojen madde birikimi ve kürecikler oluşmasına sebep olduğunu,

ayrıca prokütikülayı amorflaştırıp, kitin lamellerinin oluşumunun engellediğini tespit etmişlerdir. Araştırmada oral yolla uygulanan Diflubenzuron'un genç larvalarda, yaşlı olan larvalara göre daha fazla etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. LC₉₅ değerinin *G. mellonella* larvalarının birinci, ikinci ve üçüncü evreleri için 50 ppm iken; dördüncü evre larvalarda 100 ppm, beşinci ve altıncı evre larvalar için 1000 ppm, son evre larvaları içinse 10.000 ppm ve üzeri olduğunu bildirmişlerdir.

Van De Veire ve ark. (1982), *G. mellonella*, *Pieris brassicae*, *S. littoralis* larvalarına Diflubenzuron vermişler; *G. mellonella*'nın Diflubenzuron'u vücuttan uzaklaştırmasının diğer iki türe göre daha hızlı olduğunu tespit etmişler ayrıca bu üç larvanın Diflubenzuron'a olan duyarlılıklarının farklı olduğunu ve ilaçtan en çok etkilenen larvaların *P. brassicae* larvaları olduğunu ifade etmişlerdir.

Sato ve Fukami (1985), *S. litura* larvaları ile *G. mellonella* larvalarına karşı carbary, fenitrothion ve diazon'un topikal uygulamalarındaki toksik etkilerini karşılaştırmışlar, bu ilaçların *S. litura* larvalarına karşı toksik olduğunu ancak *G. mellonella* larvalarına karşı hemen hemen etkisiz olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmalarında uyguladıkları yüksek dozların, larvaların vücutlarına penetrasyonda küçük bir etkiye sahip olduğunu, bu nedenle böceklerle yapılan kimyasal mücadelede yüksek doz uygulamalarının gereksiz olduğunu, önemli olanın böceğin vücuduna penetre olacak ve hedef organa ulaşacak dozun tespit edilmesi olduğunu vurgulamışlardır.

Özparlak ve ark. (2003a), bir kitin sentez inhibitörü olan Teflubenzuron'un beşinci evre *G. mellonella* larvaları üzerindeki etkisini araştırmışlar, bunun için larvaları 250, 500 ve 1000 ppm Teflubenzuron içeren yarı sentetik besinle beslemişlerdir. Teflubenzuron'la beslenen larvaların kütikula birikiminin bozulduğunu ve larvaların kütikula kalınlığının kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir.

Özparlak ve ark. (2003b), yine bir başka çalışmalarında bir kitin sentez inhibitörü olan Flufenoxuron'un altıncı evre *G. mellonella* larvaları üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Larvalar 250, 500 ve 1000 ppm Flufenoxuron içeren yarı sentetik besinle beslendiğinde Flufenoxuron'un kütikula birikimini bozduğunu, Flufenoxuron ile muamele edilen larvalarda kütikula kalınlığının kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

Ünsal ve ark. (2004), Diflubenzuron'un üç farklı dozunun beşinci evre *G. mellonella* larvalarına etkilerini araştırmışlardır. Bunun için larvalara Diflubenzuron'un 250, 500 ve 1000 ppm'lik dozlarını larvaların yarı sentetik besiyerine karıştırarak

vermişlerdir. Diflubenzuron'un integümentte kütiküler birikimi bozduğunu ve kontrol grubuyla kıyaslamalarda ilaç verilen larvaların kütiküler kalınlıklarının azaldığını tespit etmişlerdir. 500 ve 1000 ppm'lik dozlarda Diflubenzuron ile beslenen larvaların ise epidermal hücrelerinde vakuol oluşumunun dikkat çektiğini ifade etmişlerdir.

Sak ve Uçkan (2009), ağırlıklarına göre iki gruba ayırdıkları *G. mellonella* son evre larvalarına farklı dozlardaki Cypermethrin'i besiyerine karıştırarak, Cypermethrinin *G. mellonella*'daki pupalaşma ve ölüm oranları üzerine etkisini incelemişlerdir. Bunun için Cypermethrin'in birinci grup larvalara (0.12 ± 0.02 gram) için 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 100, 500, 1000, 1500, 2000, 3000 ve 4000 ppm ve ikinci grup larvalara (0.17 ± 0.02 gram) için 5, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500 ve 1000 ppm'lik değerlerini uygulamışlardır. Birinci ve ikinci grup *G. mellonella* larvalarına insektisit uygulanması sonucu iki grup arasında pupalaşma ve ölüm yüzdelerinde günlere göre büyük oranda benzerlik olduğunu tespit etmişlerdir. Cypermethrin'in dozu arttıkça larval gelişim ve pupalaşma süresinin geciktiğini, pupalaşma yüzdesinin azaldığını ve ölüm oranının arttığını ifade etmişlerdir.

Ünsal ve Güner (2010), Azadirachtin'in beşinci evre *G. mellonella* larvalarının integümenti üzerine kitin sentez inhibitörü (CSI) rolünün etkisini araştırmışlardır. Azadirachtin'in *G. melonella* larvaları için LC_{95} değerini 3991 ppm olarak bulmuşlardır. Çalışmalarında 3991 ppm ve bunun azalan miktarları olan 1995, 997 ve 498 ppm'lik dozlarını kullanmışlardır. Larvalar 498, 997, 1995 ve 3991 ppm Azadirachtin içeren yarı sentetik besinle beslendiği zaman, Azadirachtin uygulanan larvalarda başarısız deri değiştirmeler, kütiküla yapısının bozulması, hemolenf kaybı ve kararmaları tespit etmişlerdir. Deneme grubunda doz/ zaman ilişkisine bağlı olarak yüksek dozlarda epidermal hücrelerin kütiküla sekresyonunun daha yüksek oranlarda bloke edildiğini, Azadirachtin'li diyetle beslenen larvalarda ise kontrol grubuna göre kütiküla sekresyonun %21- 24 oranında azaldığını ifade etmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Alsystin (Triflumuron)

Triflumuron genel kimyasal adıyla 1-(2-chlorobenzoyl)- 3-(4 trifluoromethoxyphenyl) urea (IUPAC) veya 2- chloro- N - [[4- (trifluoromethoxy) phenyl] amino] carbonyl] benzamide (C. A.) olarak da bilinir. İlk olarak 1979 yılında Bayer AG firması tarafından üretilmiştir (Senior, 1998). Günümüzde ise ticari adı “Alsystin” veya “Starycide” olarak bilinmektedir. Beyaz- bej renkte olup; kristal yapıda ve katı formdadır. Kendine has karakteristik bir kokusu vardır. Isı toleransı -10/ +40 °C’ dir. Parlama derecesi > 100 °C, tutuşma sıcaklığı 485 °C’dir. Patlayıcı değildir. Yoğunluğu 20 °C için 1.22g/ cm³’dür.

Bir kitin sentezi inhibitörü (CSI) olan Alsystin Lepidoptera, Diptera, Orthoptera, Siphonaptera, Coleoptera takımları üzerine (Vezirianzadeh, 2007) hem ovisidal (Broadbent ve Pree 1984; Smith ve Grigarik, 1989) hem de larvisidal (Asher ve Nemny, 1984; Hejazi ve Granett, 1986; Smith ve Grigarik, 1989) olarak etkilidir. Etki yolu oral ve temas yolu ile olmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan Alsystin, Sigma- Aldrich (Almanya) firmasından temin edildi. Denemelerde Triflumuron Pestanal (%99.9) kullanıldı. Uygulama için Alsystin asetonda çözüldü ve yaklaşık birkaç dakika şiddetli bir şekilde çalkalandı.

3.1.2. *Galleria mellonella* L. kültürü

Denemelerde kullanılan *G. mellonella* larvaları Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü araştırma laboratuvarında bulunan stok kültürden çoğaltılarak elde edildi. Larvalar %78 bağıl nem ve tamamen karanlık ortamda 28 ± 2 °C’deki bir inkübatör içerisinde cam kavanozlarda (150×250mm) yetiştirilip yarı sentetik besinlerle (600 g bal + 492 g gliserol + 20 g bal peteği +1200 g kepek) beslendi (Bronskill, (1961).

3.2. Yöntem

3.2.1. *Galleria mellonella* L. larvalarına Alsystin' in uygulanması

Probit analizi (Finney, 1971) yöntemi ile altıncı evre *G. mellonella* larvaları için LC₅₀ değeri hesaplandı. Bu değerin belirlenebilmesi için Alsystin saf asetonda çözündürülerek 1000 ppm'lik stok solüsyonu hazırlandı. Bu solusyondan seyreltilerek hazırlanan 25, 50, 100, 300, 600 ve 800 ppm Alsystin larvaların yarı sentetik besinlerine karıştırılarak verildi ve 96 saatin sonunda canlı kalan ve ölen larvaların sayıları tesbit edildi. Bu deney dört tekerrürlü olarak tekrar edilip, canlı kalan ve ölen larvaların sayısı polo plus programına (LeOra software company polo plus 2.00) uygulanarak LC₅₀ değeri hesaplandı.

Denemelerde henüz yeni deri değiştirmiş altıncı evre *G. mellonella* larvaları kullanıldı. Alsystin uygulanmasından önce, larvaların besini aynı derecede yemelerinin sağlanması için larvalar dört saat boyunca aç bırakıldı (Clarke ve ark., 1990).

Saf Alsystin saf asetonda çözündürüldü. Asetonda çözündürülen Alsystin'nin 400, 200, 100, 50, 25 ve 12.5 ppm'lik konsantrasyonları yarı sentetik besine karıştırıldı. Kontrol grubunun besinine ise sadece aseton karıştırıldı. Besinlerdeki aseton uzaklaştırıldıktan sonra, besiyerleri 50'şer g olarak cam kavanozlara yerleştirildi (Vezirianzedeh, 2007). Kontrol grubu ve deneme grubuna ait larvalardan her bir kavanoza 50'şer adet larva yerleştirildi.

Bu kavanozlar %78 bağıl nem ve tamamen karanlık ortamda 28 ± 2 °C' de inkübe edildi. Besiyerleri larvalara verilmeden önce aseton'un ortamdaki uzaklaşması, Alsystin' in uzaklaştırıcı etkisinin ortadan kalkması için besinler larvalara bir saat sonra verildi (Erinç ve Ayvalı, 1989).

Uygulamadan sonra 12, 24, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120,132, 144, 156, 168 ve 180. saatlerde özellikle Alsystin'den etkilenmiş (renk koyulaşması meydana gelen) larvalardan ve kontrol grubundan ikişer adet larva numune olarak alındı. Ölümden dolayı meydana gelebilecek histopatolojik değişikliklerden dolayı ölen larvalar dikkate alınmadı.

Uygulamalardan sonra canlı kalan larvaların gelişimlerinin izlenmesine devam edildi.

3.2.2. Larvalardan histolojik preparat hazırlanması

Deneme ve kontrol grubuna ait larvalardan alınan örnekler eterle bayıldıktan sonra baş ve abdomen kısmından kesilerek %10'luk nötral formaldehit solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Örnekler sırasıyla yıkama, dehidrasyon, şeffaflandırma, yumuşak parafin ve sert parafine geçirilerek blokları hazırlandı. Hazırlanan bloklardan 6 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Azokarmin G ve Anilin mavisi, Azan boya modifikasyonu, Azokarmin G ve Solvent blue kombinasyonu, Weigert'in Hematoksilen Eozini, Crossman'ın üçlü modifikasyonu ile boyandı. Preparatlar Olympus (BX51/BX2- FBL3- 000) ışık mikroskobu ile görüntülenip, ölçümleri yapıldı. Leica (DM 1000) ışık mikroskop ile $\times 400$, $\times 1000$ büyütmede ise fotoğraf çekimleri yapıldı.

3.2.3. Kütikula kalınlık ölçümleri

Belirlenen saatlere ait örneklerden hazırlanan bloklardan mikrotom vasıtasıyla histolojik kesitler alınıp preparatlar hazırlandı. Hazırlanan her preparattan kütikulanın abdomen bölgesinin dorsal kısımlarından 10'ar adet kütikula kalınlık ölçümleri alındı ve bu işlem dört tekerrürlü olarak yapıldı. Elde edilen değerlerin aritmetik ortalamaları ve standart hataları tespit edildi. Kontrol grubuyla Alsystin uygulanmış olan böceklerin altıncı ve yedinci larval kütikula kalınlıklarının karşılaştırılması için varyans analizi (SPSS Inc., 233 South Wacker Drive, Chicago, IL 60606- 6412. version 17.0) uygulandı, farklı olan grupların belirlenebilmesi için ise Duncan testi testi yapıldı.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Araştırma Sonuçları

4.1.1. Kontrol grubu altıncı evre *Galleria mellonella* L. larvalarına ait gözlemler

4.1.1.1. Larval integüment'e ait makroskopik ve histolojik gözlemler

Beşinci evre derisini yeni değiştirmiş altıncı evre başlangıcındaki larvalara çıplak gözle bakıldığı zaman kütikula beyazımsı açık sarı renkte, oldukça ince yumrulu, parlak ve şeffaf bir zar olarak görüldü (Şekil 4.1 ve 4.2).

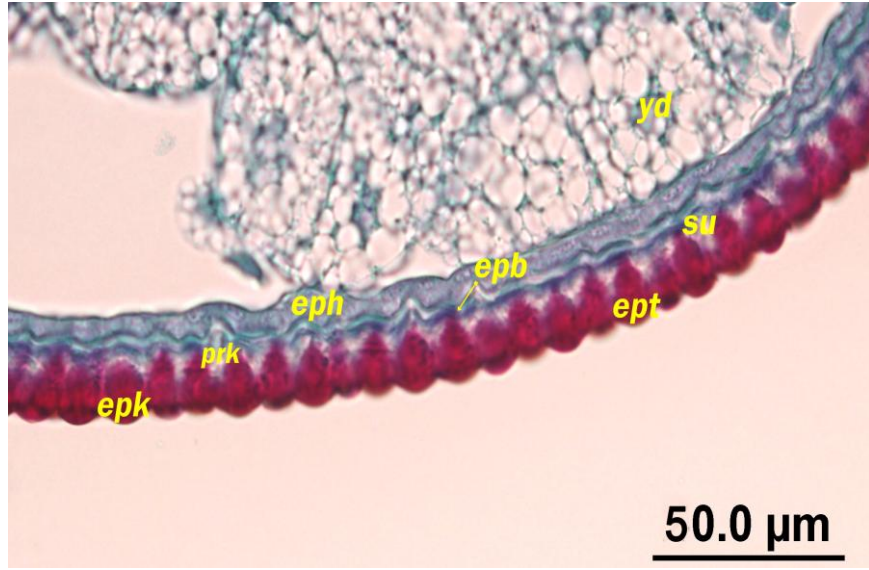
İntegümentin enine kesitleri incelendiğinde dorsalde ince, ventralde kalın, segmentler arasında ise kıvrımlar yaptığı görüldü. *G. mellonella*'da integümentin, tek sıralı hücrelerden oluşan epidermis ile bu hücrelerin salgısından meydana gelen kütiküladan oluştuğu görüldü. Histolojik kesitlerde özellikle yeni oluşmuş kütikülada bir dereceye kadar sivri, genelde kubbe şeklinde tüberküllere rastlandı (Şekil 4.3). Bu tüberküllerin larvaların büyümesine paralel olarak yayıldığı dikkati çekti. Yeni oluşan kütikula, epikütikula ve prokütiküladan meydana gelirken; larval gelişim başlangıcında integümente ait prokütikülada, ekzo ve endokütikula tabakaları ayırt edilemedi (Şekil 4.4). Bu farklılık larval evrenin 60. saatinde ortaya çıktı (Şekil 4.5 ve 4.6). Kütiküladaki epikütikula tabakası ışık mikroskopunda ince tabaka şeklinde görüldü, diğer zamanlarda sınırlarını ayırt etmek mümkün olmadı. Enine kesitlerde epidermis hücrelerinin yüzeylerinden başlayarak, prokütikülayı boydan katedip her bir epikütikülalar tüberkülün altında dallanmalar yapan por kanalları görüldü (bkz. Şekil 4.3 ve 4.7). Kütikulanın epidermisten ayrılmasından hemen önce, eski kütikula ve epidermis hücreleri arasında interzon kütikula denilen bir tabaka gözlemlendi (Şekil 4.8). Epidermis tabakası larvaların gelişim durumuna göre geniş ve yassı şekilden, kübik ve prizmatik şekile değişebilen hücrelerden oluştuğu gözlemlendi.



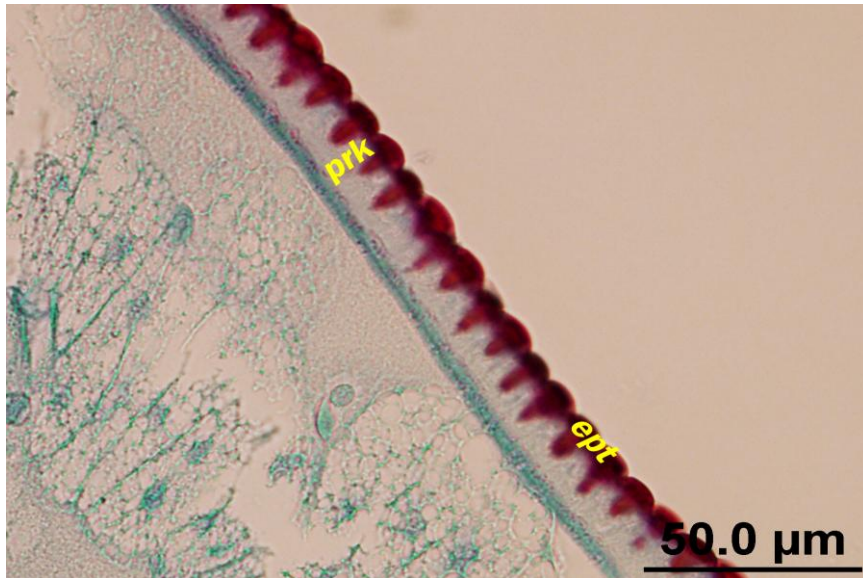
Şekil 4.1. Beşinci evre derisini yeni değiştirmiş altıncı evrenin ilk saatleri içerisindeki sağlıklı *G. mellonella* larvasının dorsalden görünümü.



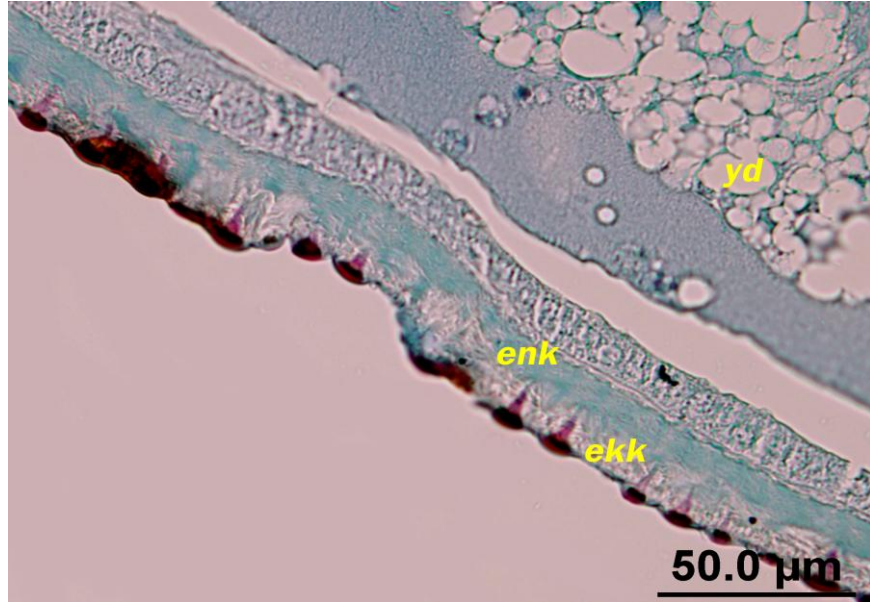
Şekil 4.2. Beşinci evre derisini yeni değiştirmiş altıncı evrenin ilk saatleri içerisindeki sağlıklı *G. mellonella* larvasının ventralden görünümü.



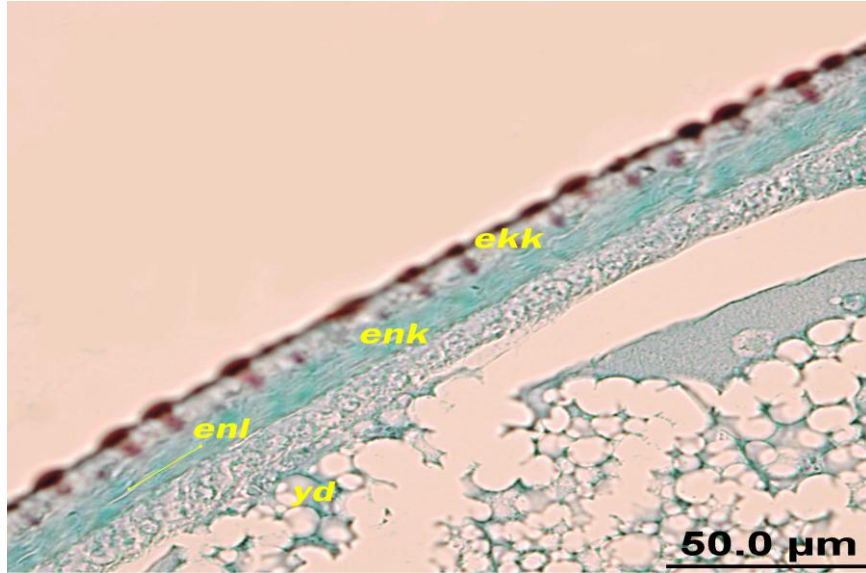
Şekil 4.3. Kontrol grubu larvalarında epikütiküler tüberküllerin oluşumu ve sitoplazmik uzantılar (Azan boya, 50 µm).



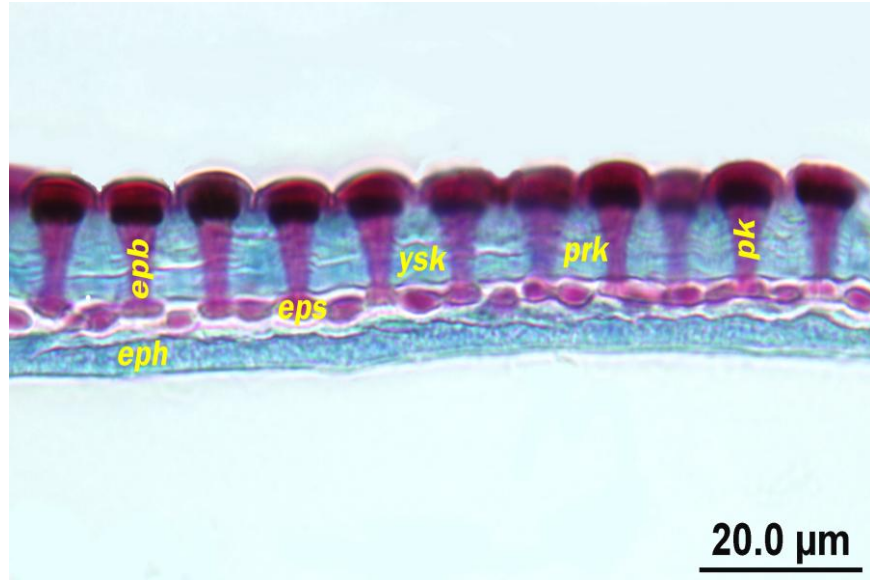
Şekil 4.4. Kontrol grubu larvalarında yeni sentezlenmiş kütikula, epikütiküler tüberküller ve prokütikula (ekzo- endokütikula farklılaşması belirgin değil) (Azokarmin G- Anilin mavisi, 50 µm).



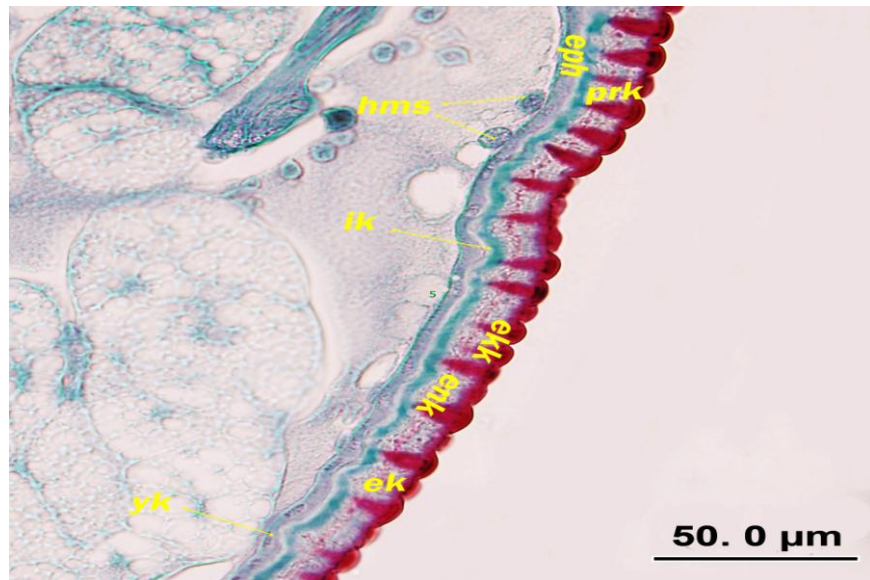
Şekil 4.5. Kontrol grubu larvalarında olgun kütikula ve ekzo- endokütikula farklılaşması (Azokarmin G- Solvent Blue kombinasyonu, 50 μm).



Şekil 4.6. Kontrol grubu larvalarında ekzo- endokütikula farklılaşması, endokütikular lameller (Azokarmin G- Solvent Blue kombinasyonu, 50 μm).



Şekil 4.7. Kontrol grubu larvalarının kütikülalarında epidermal hücre- por kanalları ilişkisi, epidermal hücrelerin yeni kütikülayı kalınlaştırmak için salgılarını dışarıya vermeleri (Azokarmin G- Anilin mavisi, 20 μm).



Şekil 4.8. Kontrol grubu larvalarında altıncı evre derisini değiştirmeye hazırlanan larvada eski- yeni kütiküla, interzon kütiküla (Azokarmin G- Anilin mavisi, 50 μm).

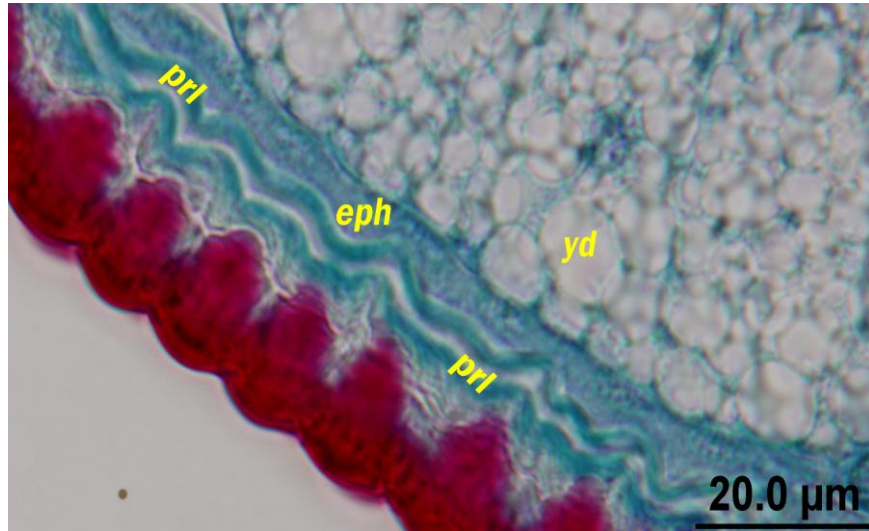
4.1.1.2. Larval integüment'e ait siklus

Kontrol grubunda beşinci evreye ait deriyi henüz atmış, altıncı evredeki kütikülası yeni oluşmuş larvaların kütikülalarında bariz olarak, bir dereceye kadar sivri, yeni oluşmuş epikütikülaya ait kubbe şeklindeki epikütiküler tüberküller ve bunun altında epidermal hücreler tarafından sentezlenen prokütiküla mevcuttur. Bu aşamada epidermal hücreleri yassı olup, epidermal hücre por kanallarının bağlantısı oldukça belirgindi (bkz. Şekil 4.3). Epidermal hücrelerin yapmış olduğu kütiküler salgının, hücrelerin apikal yüzeyinden dışarı verdiği dikkati çekti (bkz. Şekil 4.7 ve 4.9). Hücre yüzeyine verilen bu salgı polimerize olarak kütiküler lamellere dönüştüğü ve kütikülaya yeni lamel ilavesiyle prokütiküladaki kalınlığının artmaya başladığı görüldü (Şekil 4.10). Siklusun devamında epidermal hücreler tarafından sentezlenen lamellerin sürekli olarak prokütikülaya ilave edildiği tespit edildi (Şekil 4.11). Bu aşamadan sonra epidermal hücrelerin kübikleştiği ve prokütiküladaki ekzo- endokütiküla farklılaşmasının belirmeye başladığı dikkati çekti (Şekil 4.12 ve 4.13). Bir sonraki aşamada endokütiküler lamellerin ilavesiyle kütiküladaki kalınlık artışının en üst düzeye ulaştığı ve endokütiküler lamellerin de belirgin hale geldiği görüldü (bkz. Şekil 4.5, 4.6).

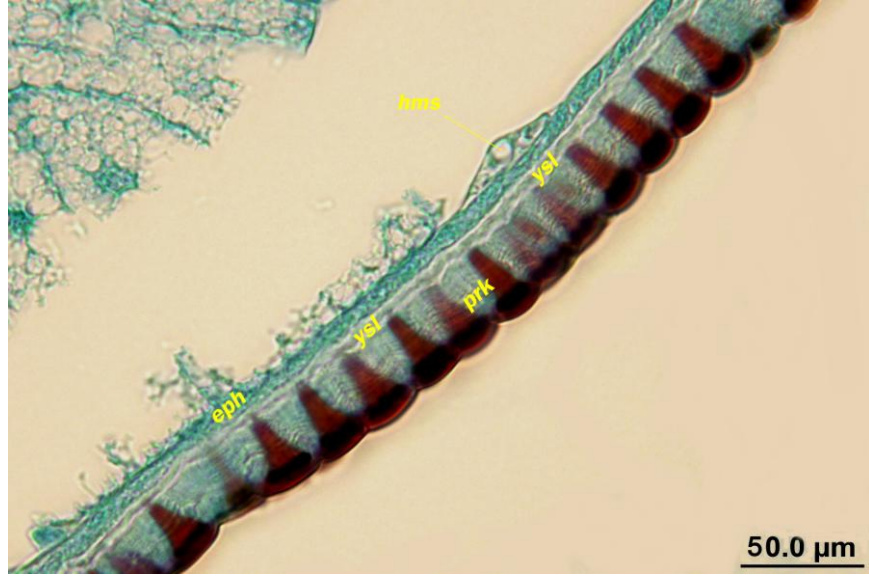
Larva bu dönemde kütiküler kalınlık olarak erişebileceği maksimum büyüklüğe eriştiği görüldü. Hacim olarak larvanın büyümesine paralel olarak eski derinin atılıp, yeni kütikülanın oluşturulmaya başlanması için eski derinin atılması gerekmektedir. Bu uyarıyla beraber; epidermal hücrelerle, prokütiküla arasında önce interzon kütikülanın belirmeye başlaması (Şekil 4.14) ve belirgin bir şekilde interzon kütikülanın; prokütikülayla epidermal hücreler arasında bir hat oluşturduğu gözlemlendi. Bu evrede epidermal hücrelerin tekrar yassılaştığı ve yedinci evrenin yeni kütikülasını sentezlemeye başladığı görüldü (bkz. Şekil 4.8). Apoliz'in oluşmasıyla eski ve yeni kütiküla birbirinden ayrılmaya başladığı ve bu evrede eski ve yeni kütiküla iç içe olduğu görüldü. (Kontrol grubunda apoliz'in gözlenmesi 84. saatte meydana geldiği gözlemlendi). Oluşan boşluğa ekuviyal sıvısı dolmaya başladığı gözlemlendi (Şekil 4.15). Ekuviyal boşluktaki bu sıvı endokütiküler lamelleri, sonra ekzokütiküladaki kitin unsurları hidroliz ettiği tespit edildi (Şekil 4.16). Hidroliz edilen kitin unsurlar epidermal hücreler tarafından absorbe edilerek yeni kütiküla yapımında kullanıldığı ve eski integümente ait kitin içermeyen yapı iyice inceli kabuk şeklini aldığı ve atılmaya hazır hale geldiği görüldü (Şekil 4.17). Bu evrede böcek yuttuğu hava ve kaslarının yardımı ile iç basıncını artırarak lateral kenarlardan eski kütikülasını yırtarak soyulmaya



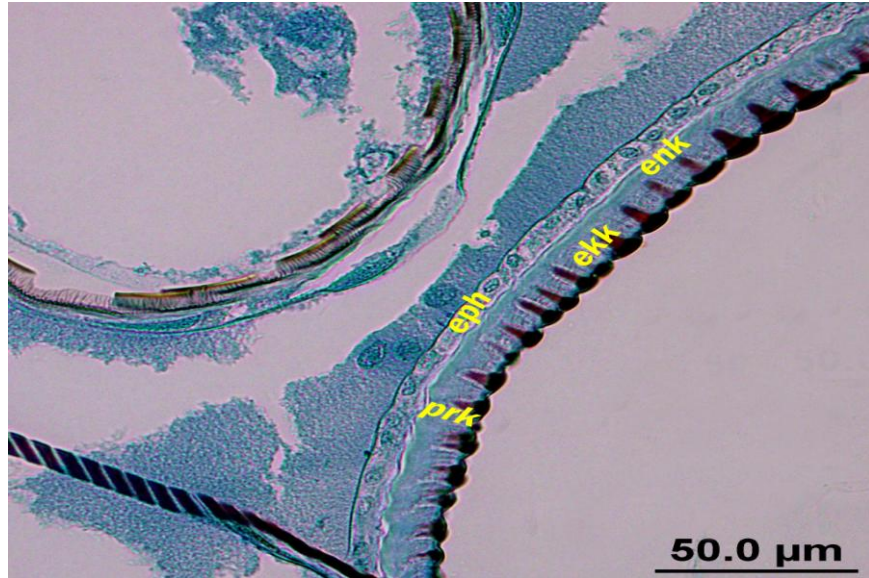
Şekil 4.9. Kontrol grubu larvalarında epidermal hücrelerin kütiküler salgıyı dışarı vermeleri (Azokarmin G- Anilin mavisi, 20 μm).



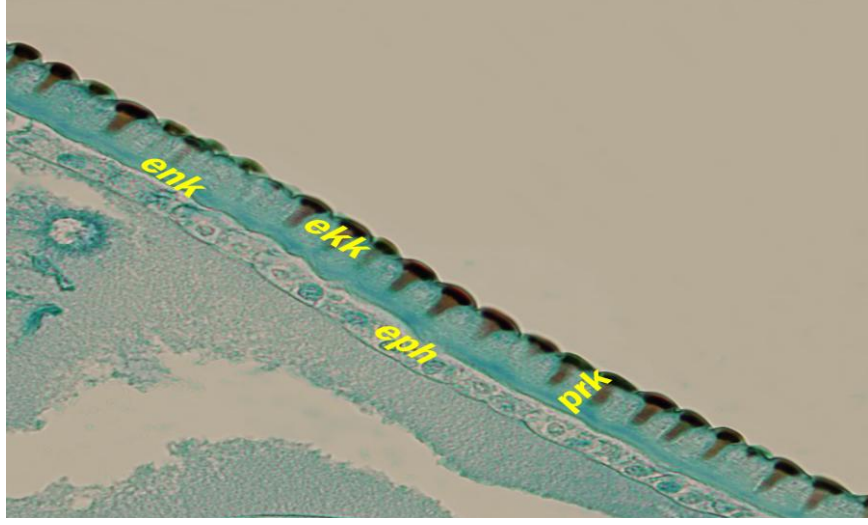
Şekil 4.10. Kontrol grubu larvalarının yeni kütikülasındaki prokütiküler kalınlığının lamel ilavesiyle artmaya başlaması (Azan boya, 20 μm).



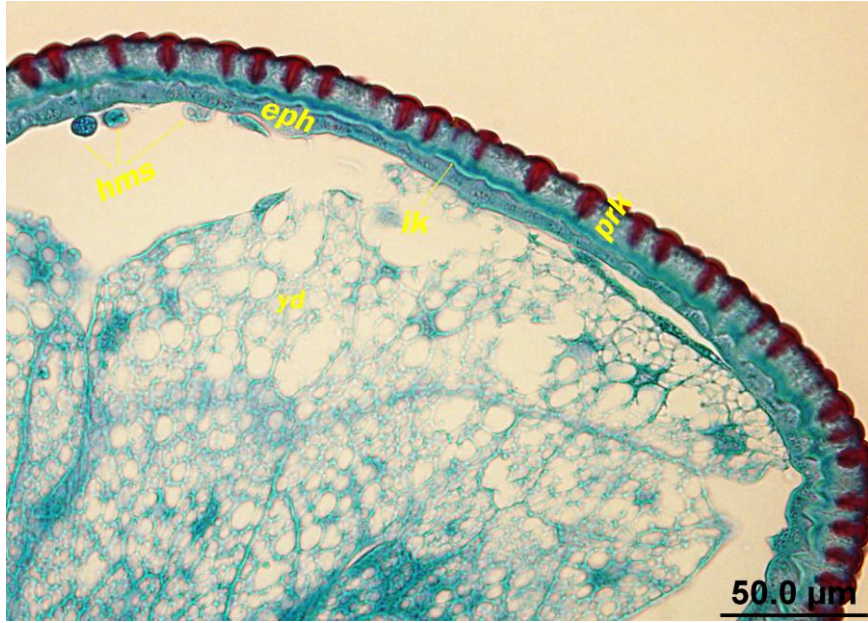
Şekil 4.11. Kontrol grubu larvalarında kütiküler kalınlığın artmaya devam etmesi (Azan boya, 50 µm).



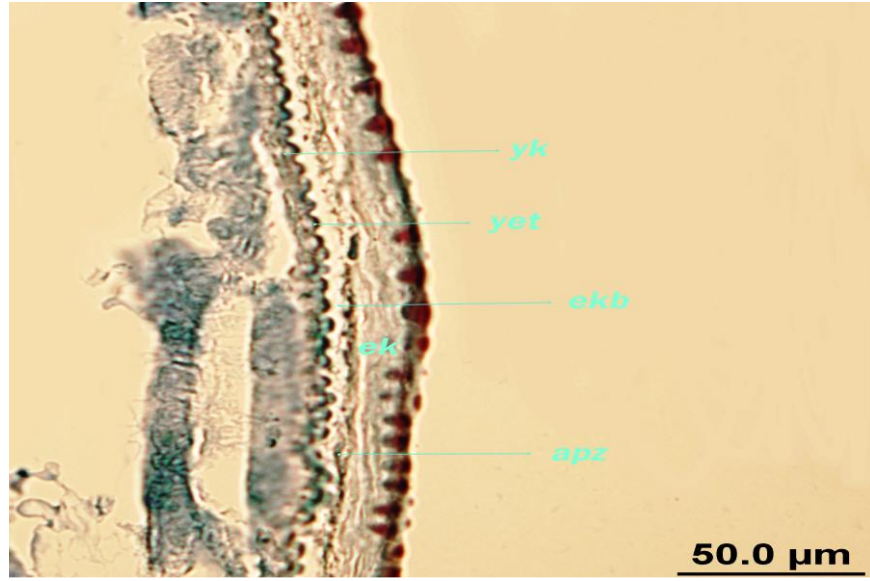
Şekil 4.12. Kontrol grubu larvalarında ekzo- endokütikulanın belirginleşmeye başlaması (Azan boya, 50 µm).



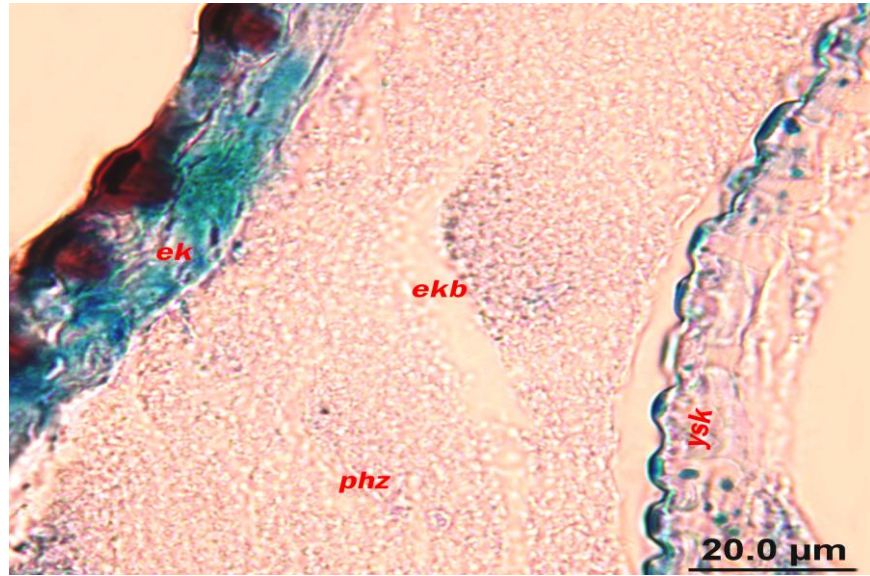
Şekil 4.13. Kontrol grubu larvalarında ekzo- endokütikula belirginliğinin artmaya devam etmesi (Azan boya, 50 μ m).



Şekil 4.14. Kontrol grubu larvalarında interzon kütikulanın belirginleşmeye başlaması (Azan boya, 50 μ m).



Şekil 4.15. Kontrol grubu larvalarında apoliz'in oluşmasıyla eski kütikülanın ayrılması ve yedinci evreye ait kütikülanın sentezlenmeye başlanması (Azokarmin G- Anilin, 50 µm).



Şekil 4.16. Kontrol grubu larvalarında prokütiküladaki kitin unsurlarının kitinaz enzimi tarafından hidroliz edilmesi (Azokarmin G- Anilin, 20 µm).

başladığı, devamında ise baş kapsülü ile eski kütiküladan tamamen kurtulduğu görüldü. 108. saat sonunda *G. mellonella* larvalarının tamamıyla eski kütiküladan kurtulduğu (108. saat) ve yedinci evreye ait yeni kütikula ile sarılmış oldukları gözlemlendi (Şekil 4.18).



Şekil 4.17. Kontrol grubu larvalarında yeni sentezlenen kütikulanın belirginleşmesi ve atılmaya hazırlanan eski kütikula (Weigert'in Hematoksilen- Eozini, 50 µm).



Şekil 4.18. Kontrol grubu larvalarında *G. mellonella* larvasının altıncı evreye ait kütikulası atılmış, yedinci evre kütikulasına sahip yeni hali, (Azan boyası, 50 µm).

4.1.1.3. Larval kütikula kalınlık ölçümleri

Altıncı evre kontrol grubu larvalarının dört tekerrürlü denemelerine ait histolojik kesitlerinden alınan kalınlık ölçümleri Çizelge 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4'de; bu değerlere ait ortalama kütikula kalınlık ölçümleri Çizelge 4.5 ve 4.6'da ve Şekil 4.19'da görülmektedir. Buna göre kontrol grubunda ortalama kütikula kalınlığının, zamana bağlı olarak 12. saatte 7.05 μm 'den, 84. saatte 17.05 μm 'ye ulaştığı görüldü. 96. saatte eski kütikula sindirilmeye başladığı, 108. saatte ise larvaların deri değiştirerek bir üst evreye geçtiği gözlemlendi. Üst evreye geçen kontrol grubu larvalarına ait yedinci evre kütikulasındaki kalınlık artışı Çizelge 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4'de görüldüğü gibi devam ettiği tespit edildi.

4.1.2. Alsystin uygulanan altıncı evre *Galleria mellonella* larvalarına ait gözlemler

4.1.2.1. Alsystin'in integüment üzerindeki makroskobik ve histolojik etkileri

Deneme grubunda; 50, 100, 200 ve 400 ppm dozlarda Alsystin uygulanan gruplara ait larvaların 12. saatten sonra etkilendiği ve koyulaşmaya başladığı (Şekil, 20 ve 21), 12.5 ve 25 ppm'lik dozlarda ise etkilenme olduğu ancak koyulaşmanın olmadığı gözlemlendi. 100, 200 ve 400 ppm'lik dozlarda ilerleyen saatlerde vücut sıvısı kaybı, integümentte kanamalar gözlenip; 200 ve 400 ppm'lik dozlardaki larvalarda bunlara ilaveten abdomen kısımlarında şişkinlikler tespit edildi. Larvaların gelişim sürecinde 100, 200 ve 400 ppm'lik dozlarla beslenen larvaların pupa evresine ulaşamadığı; 12.5 ve 25 ppm'lik dozlarla beslenen larvaların pupa oluşturmalarına rağmen, oluşan erginlerin kanatlarında anomaliler olduğu görüldü. 50 ppm'lik dozdaki larvalar ise deri değiştirip bir üst evreye geçmelerine rağmen bu evrede gelişimlerine devam edemiyerek öldükleri tespit edildi.

Uygulanan altı dozda, tüm larvalarda aynı oranda olmamakla beraber; gelişim inhibisyonu ve hareketlerde yavaşlama olduğu gözlemlendi. Histolojik kesitler için alınan numuneler seçilirken hareketleri yavaşlamış ve integümentlerinde kararma olan larvalar tercih edildi.

Çizelge 4.1. Kontrol grubu ve farklı Alsystin dozları uygulanan altıncı evre *G. mellonella* larvalarının kütikula kalınlıklarına ait birinci tekerrür değerleri

Zaman/ Saat/	Doz ppm	Kontrol Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	12.5 ppm Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	25 ppm Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	50 ppm Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	100 ppm Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	200 ppm Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	400 ppm Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.
12		8.17±0.12*	7.88±0.15*	7.86±0.22*	7.04±0.21*	6.60±0.21*	6.35±0.32*	6.56±0.34*
24		9.07±0.14*	8.88±0.19*	8.84±0.19*	7.38±0.18*	8.10±0.29*	7.29±0.23*	7.33±0.41*
36		11.20±0.41*	10.90±0.38*	8.90±0.17*	8.17±0.23*	8.63±0.11*	7.67±0.35*	7.94±0.40*
48		12.40±0.38*	12.20±0.38*	11.20±0.14*	10.40±0.48*	10.00±0.21*	8.10±0.15*	7.95±0.16*
60		14.60±0.39*	13.60±0.40*	13.00±0.43*	11.80±0.84*	10.70±0.44*	9.15±0.19*	8.70±0.14*
72		14.60±0.49*	14.00±0.22*	13.10±0.48*	12.00±0.16*	10.80±0.19*	9.60±0.14*	9.14±0.23*
84		17.90±0.31*	17.30±0.23*	16.20±0.32*	13.40±1.06*	13.70±0.33*	11.00±0.21*	10.40±0.25*
96		8.44±0.11*#	7.32±0.24*#	7.20±0.37*#	6.50±0.37*#	5.75±0.11*#	4.26±0.19*#	4.70±0.20*#
108		10.40±0.26**	7.45±0.11*#	7.01±0.18*#	6.68±0.40*#	6.19±0.17*#	5.23±0.09*#	5.21±0.18*#
120		12.20±0.35**	8.87±0.32*#	8.42±0.47*#	6.49±0.17*#	6.37±0.15*#	5.37±0.17*#	5.41±0.23*#
132		14.70±0.28**	11.00±0.25**	10.30±0.27**	6.82±0.23*#	6.75±0.17*#	5.90±0.25*#	-
144		17.00±0.27**	14.80±0.22**	14.00±0.37**	8.91±0.28**	7.08±0.17*#	-	-
156		18.50±0.48**	17.10±0.10**	15.90±0.61**	12.1±0.38**	-	-	-
168		18.80±0.53**	17.90±0.22**	19.10±0.20**	12.1±0.32**	-	-	-
180		24.60±0.53**	22.40±0.95**	20.20±0.43**	14.1±0.48**	-	-	-

(*) Altıncı evre kütikula kalınlığı

(*#) Altıncı evre ve yedinci evre kütikulası bir arada (eski kütikula sindirilmeye çalışılmakta)

(**) Yedinci evre kütikula kalınlığı

(-) Larval ölüm (% 100 ölüm görüldü)

Çizelge 4.2. Kontrol gurubu ve farklı alsystin dozları uygulanan altıncı evre *G.mellonella* larvalarının kütikula kalınlıklarına ait ikinci tekerrür değerleri

Zaman/ Doz Saat/ ppm	Kontrol	12.5 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm	400 ppm
	Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütikula kalınlığı(μm) A.O.±S.H.
12	8.21±0.15*	7.93±0.17*	7.77±0.18*	7.24±0.15*	6.54±0.16*	6.31±0.33*	6.38±0.48*
24	8.83±0.14*	9.12±0.14*	8.44±0.29*	7.31±0.16*	8.09±0.29*	7.23±0.24*	6.96±0.40*
36	11.1±0.34*	10.5±0.37*	9.20±0.28*	8.35±0.19*	8.62±0.09*	7.57±0.34*	7.74±0.42*
48	12.0±0.37*	12.4±0.36*	11.2±0.15*	10.2±0.44*	10.1±0.25*	8.15±0.13*	7.94±0.28*
60	14.3±0.41*	13.7±0.36*	12.8±0.41*	11.1±0.50*	10.5±0.45*	9.36±0.17*	8.70±0.17*
72	14.4±0.35*	14.0±0.27*	13.4±0.34*	12.1±0.12*	11.0±0.25*	9.59±0.14*	8.92±0.30*
84	17.9±0.32*	17.2±0.18*	16.6±0.41*	12.6±0.80*	13.6±0.30*	11.1±0.18*	10.4±0.26*
96	8.27±0.12*#	7.22±0.16*#	7.40±0.29*#	6.54±0.34*#	5.70±0.17*#	4.37±0.14*#	4.44±0.32*#
108	10.4±0.29**	7.40±0.13*#	7.19±0.17*#	6.99±0.37*#	6.33±0.19*#	5.32±0.13*#	4.90±0.22*#
120	12.0±0.38**	8.65±0.28*#	8.83±0.41*#	6.96±0.24*#	6.57±0.13*#	5.36±0.15*#	5.39±0.18*#
132	14.6±0.35**	11.1±0.25**	10.2±0.37**	6.52±0.16*#	6.63±0.18*#	5.80±0.17*#	-
144	17.1±0.29**	14.8±0.24**	13.5±0.34**	9.08±0.36**	6.72±0.20*#	-	-
156	18.4±0.41**	17.1±0.27**	15.8±0.60**	11.5±0.52**	-	-	-
168	19.0±0.32**	17.8±0.28**	19.2±0.27**	11.7±0.23**	-	-	-
180	24.8±0.51**	22.2±1.01**	20.3±0.31**	14.6±0.49**	-	-	-

(*) Altıncı evre kütikula kalınlığı

(*#) Altıncı evre, yedinci evre kütikulası bir arada (eski kütikula sindirilmeye çalışılmakta)

(**) Yedinci evre kütikula kalınlığı

(-) Larval ölüm

Çizelge 4.3. Kontrol grubu ve farklı Alsystin dozları uygulanan altıncı evre *G. mellonella* larvalarının kütiküla kalınlıklarına ait üçüncü tekerrür değerleri

Zaman/ Doz Saat/ ppm	Kontrol	12.5 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm	400 ppm
	Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.
12	7.62±0.07*	7.90±0.11*	7.72±0.26*	7.06±0.10*	6.25±0.18*	6.20±0.23*	6.10±0.17*
24	9.61±0.09*	8.40±0.18*	8.46±0.17*	7.25±0.39*	8.10±0.15*	7.02±0.18*	6.94±0.18*
36	12.1±0.16*	11.20±0.57*	9.56±0.22*	9.41±0.14*	9.57±0.26*	7.58±0.16*	7.78±0.14*
48	12.90±0.44*	12.00±0.47*	10.00±0.22*	10.3±0.31*	10.6 ±0.21*	8.05±0.14*	7.97±0.10*
60	13.50±0.46*	13.20±0.41*	14.30±0.27*	11.0±0.44*	12.20±0.25*	8.80±0.29*	9.20±0.24*
72	13.70±0.44*	13.50±0.23*	14.40±0.33*	10.8±0.27*	12.20±0.14*	8.84±0.22*	9.05±0.22*
84	15.70±0.31*	16.40±0.33*	16.80±0.34*	13.8±0.44*	13.40±0.21*	10.50±0.26*	10.90±0.12*
96	6.81±0.13*#	7.03±0.20*#	7.12±0.30*#	5.03±0.15*#	5.37±0.13*#	4.85±0.05*#	5.30±0.11*#
108	9.66±0.14**	8.20±0.27*#	6.73±0.16*#	6.21±0.14*#	6.27±0.05*#	5.46±0.22*#	5.15±0.05*#
120	12.70±0.43**	8.30±0.21*#	8.00±0.17*#	6.35±0.26*#	6.41±0.16*#	5.09±0.20*#	-
132	14.40±0.53**	12.30±0.13**	10.10±0.12**	6.90±0.13*#	6.73±0.25*#	5.95±0.10*#	-
144	17.60±0.13**	13.70±0.81**	13.30±0.80**	9.81±0.34**	7.17±0.17*#	-	-
156	20.30±0.34**	16.10±0.32**	16.20±0.31**	10.90±0.46**	6.93±0.18*#	-	-
168	21.30±0.39**	18.90±0.88**	16.90±0.18**	12.00±0.34**	-	-	-
180	25.40±0.82**	23.30±0.45**	21.50±0.83**	15.50±0.27**	-	-	-

(*) Altıncı evre kütiküla kalınlığı

(*#) Altıncı evre, yedinci evre kütikülası bir arada (eski kütiküla sindirilmeye çalışılmakta)

(**) Yedinci evre kütiküla kalınlığı

(-) Larval ölüm (% 100 ölüm görüldü)

Çizelge 4.4. Kontrol grubu ve alsystin uygulanan altıncı evre *G.mellonella* larvalarının kütiküla kalınlıklarına ait dördüncü tekerrür değerleri

Zaman/ Saat/	Doz ppm	Kontrol Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	12.5 ppm Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	25 ppm Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	50 ppm Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	100 ppm Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	200 ppm Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.	400 ppm Kütiküla kalınlığı(μm) A.O.±S.H.
12		7.60±0.09*	7.87±0.12*	7.73±0.19*	7.23±0.13*	6.36±0.15*	6.33±0.23*	6.10±0.38*
24		9.65±0.09*	8.69±0.11*	8.34±0.13*	7.61±0.21*	7.96±0.17*	6.84±0.18*	7.01±0.09*
36		12.20±0.21*	11.60±0.05*	9.46±0.16*	9.50±0.16*	9.31±0.22*	7.61±0.28*	7.78±0.15*
48		13.00±0.44*	12.20±1.06*	9.80±0.18*	10.10±0.18*	10.00±0.27*	7.65±0.15*	8.14±0.11*
60		13.60±0.40*	13.00±0.22*	14.30±0.22*	11.10±0.18*	12.30±0.24*	8.85±0.34*	9.18±0.21*
72		13.70±0.41*	12.90±0.58*	14.70±0.22*	11.40±0.37*	12.40±0.16*	8.58±0.24*	9.25±0.29*
84		16.30±0.46*	16.40±0.39*	17.10±0.33*	13.30±0.48*	12.90±0.21*	10.20±0.22*	10.70±0.10*
96		6.670±0.20*#	7.18±0.15*#	7.07±0.36*#	4.95±0.18*#	5.28±0.16*#	4.89±0.09*#	5.32±0.15*#
108		9.68±0.16**	8.09±0.23*#	6.87±0.16*#	6.14±0.09*#	6.43±0.11*#	5.73±0.21*#	5.14±0.55*#
120		13.10±0.33**	8.59±0.20*#	8.07±0.12*#	6.31±0.17*#	6.12±0.05*#	5.04±0.17*#	-
132		13.80±0.32**	12.40±0.23**	10.20±0.12**	6.90±0.12*#	6.76±0.26*#	5.84±0.12*#	-
144		17.20±0.21**	13.50±0.50**	12.60±0.38**	9.61±0.32**	7.22±0.27*#	-	-
156		19.70±0.35**	16.20±0.26**	16.30±0.26**	10.90±0.22**	7.28±0.21*#	-	-
168		21.50±0.47**	18.50±1.06**	16.50±0.16**	11.60±0.21**	-	-	-
180		26.30±0.49**	23.10±0.57**	20.80±0.64**	15.80±0.12**	-	-	-

Altıncı evre kütiküla kalınlığı

(*#) Altıncı evre, yedinci evre kütikülası bir arada (eski kütiküla sindirilmeye çalışılmakta)

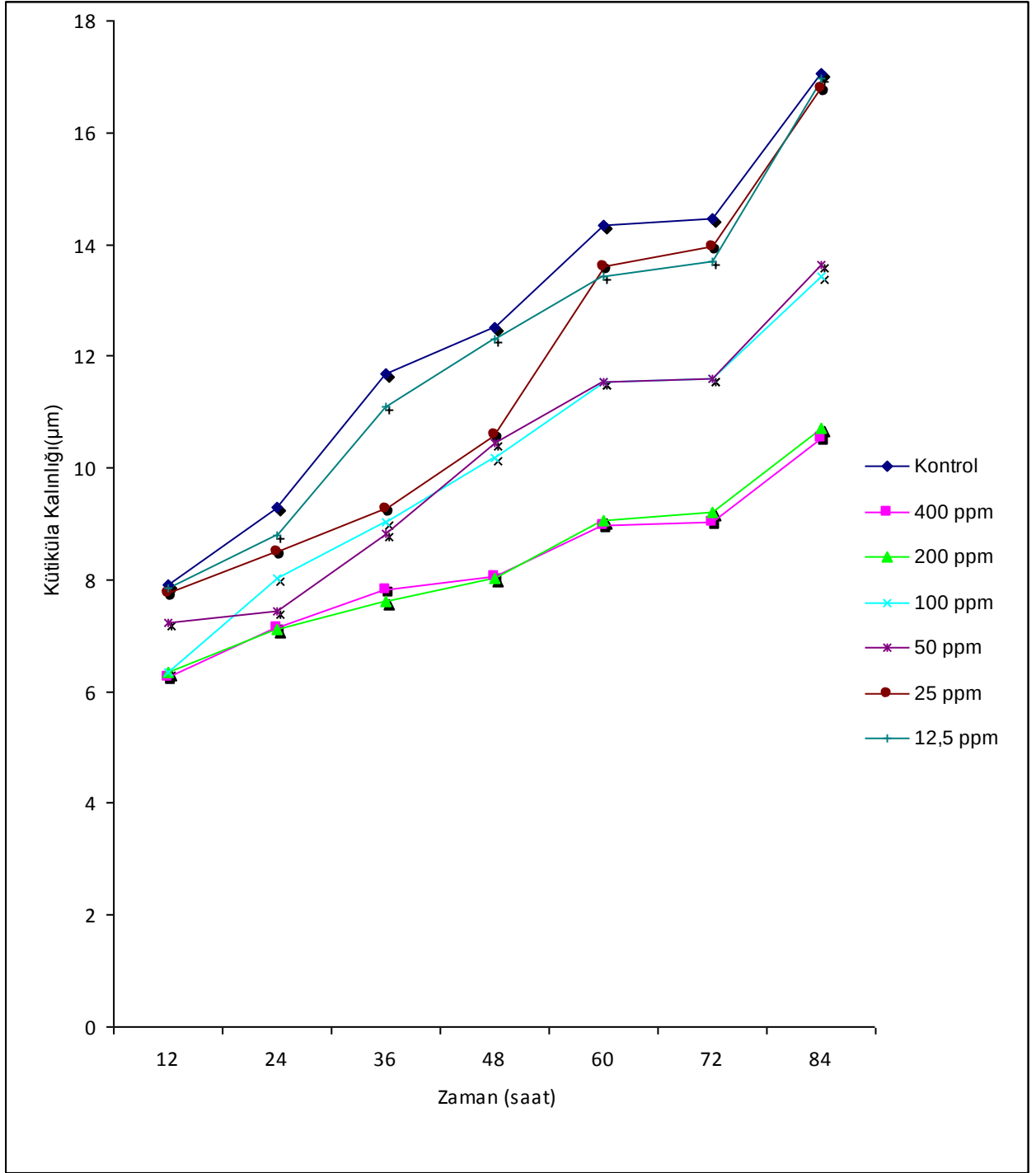
(**) Yedinci evre kütiküla kalınlığı

(-) Larval ölüm (% 100 ölüm görüldü)

Çizelge 4.5. Kontrol grubu ve farklı Alsystin dozları uygulanmış altıncı evre *G. mellonella* larvalarının ortalama kütikula kalınlıkları (µm)
(Ortalama ± SH, on ölçümün dört tekrarı).

Zaman/Doz (saat/ppm)	Kontrol	12.5 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm	400 ppm
12	7.90 ± 0.05 ^a	7.86 ± 0.08 ^a	7.76 ± 0.16 ^a	7.23 ± 0.99 ^b	6.34 ± 0.85 ^c	6.33 ± 0.23 ^c	6.27 ± 0.29 ^c
24	9.29 ± 0.05 ^a	8.80 ± 0.06 ^b	8.50 ± 0.11 ^b	8.01 ± 0.20 ^c	7.44 ± 0.11 ^d	7.42 ± 0.15 ^d	7.14 ± 0.21 ^d
36	11.69 ± 0.21 ^a	11.08 ± 0.35 ^a	9.26 ± 0.13 ^b	9.02 ± 0.13 ^b	8.82 ± 0.08 ^b	7.61 ± 0.21 ^c	7.82 ± 0.21 ^c
48	12.50 ± 0.27 ^a	12.31 ± 0.21 ^a	10.61 ± 0.11 ^b	10.46 ± 0.24 ^b	10.18 ± 0.17 ^b	8.01 ± 0.07 ^c	8.06 ± 0.13 ^c
60	14.35 ± 0.26 ^a	13.42 ± 0.20 ^b	13.59 ± 0.15 ^b	11.54 ± 0.29 ^c	11.54 ± 0.25 ^c	9.05 ± 0.19 ^d	8.96 ± 0.14 ^d
72	14.46 ± 0.26 ^a	13.69 ± 0.14 ^b	13.95 ± 0.21 ^b	11.59 ± 0.09 ^c	11.58 ± 0.06 ^c	9.20 ± 0.14 ^d	9.04 ± 0.12 ^d
84	17.05 ± 0.15 ^a	16.97 ± 0.13 ^a	16.79 ± 0.17 ^a	13.63 ± 0.35 ^b	13.42 ± 0.08 ^b	10.72 ± 0.15 ^c	10.52 ± 0.11 ^c

(a, b, c, d) Aynı satırda, aynı zaman diliminde, farklı dozlardaki değişimler kontrol grubuna göre önemlidir (P< 0.05).



Şekil 4.19. Kontrol grubu ve Alsystin uygulanan altıncı evre *G. mellonella* larvalarının kutikula kalınlıklarında doz/ cevap ilişkisi.



Şekil 4.20. Alstynin uygulanmış altıncı evre *G. mellonella* larvasının dorsal integümentinde meydana gelen kararmalar.



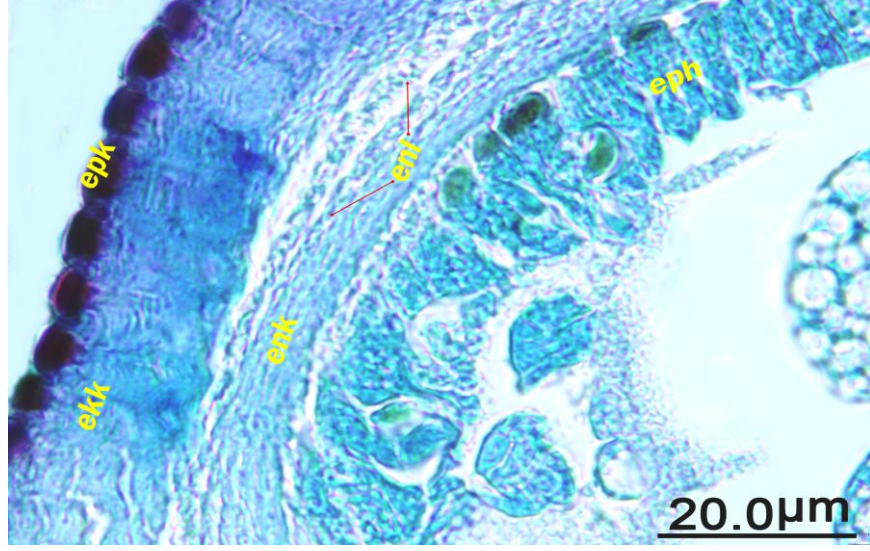
Şekil 4.21. Alstynin uygulanmış altıncı evre *G. mellonella* larvasının ventral integümentinde meydana gelen kararmalar.

Alsystin'in larvalar üzerine bir diğer etkisi de larvaların deri değiştirme süresini uzatması olduğu görüldü. Kontrol grubu larvalarının deri değiştirme süreleri, Alsystin uygulanan larvaların deri değişim süresiyle karşılaştırıldığında; Alsystin'in deri değişimi üzerine etkili olduğu ve deri değişim süresini uzattığı gözlemlendi. Çizelge 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4'de altıncı ve yedinci evre kütikülalarının bir arada bulunduğu saatler ve larvanın deri değiştirme anı gösterilmektedir. Kontrol grubunda eski ve yeni kütikülanın birlikte olduğu zaman 96. saat olup larvalar 108. saatte bir üst evreye geçtiği, bu zaman dilimi 12.5 ve 25 ppm'lik dozlarda 96- 120. saatler arasına uzadığı, 132. saatte ise deri değişimleri gerçekleştiği. 50 ppm'de ise 96- 132. saatler arasına uzadığı ve 144. saatte deri değişimi gerçekleştiği gözlemlendi. Diğer dozlarda ise sırasıyla eski ve yeni deriyi iç içe bulunduran saatler 100 ppm'de 96- 156. saat, 200 ppm'de 96- 132. saat, 400 ppm'de ise 96- 120. saatler olarak gözlemlendi; 100, 200 ve 400 ppm'lik dozlarda ifade edilen saatlerden sonra larvaların deri değişimlerini başaramayıp ölümleri gerçekleştiği tespit edildi.

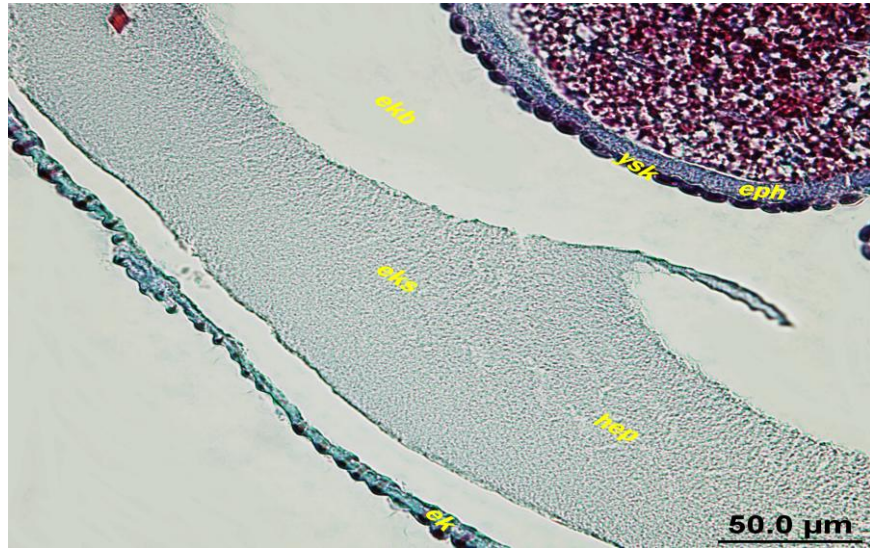
Normalde böceklerde meydana gelen deri değiştirme siklusu kısa zaman içerisinde gerçekleşip histolojik preparatlarda çoğunlukla gözlenemezken, Alsystin'in etkisiyle uzayan deri değiştirme sürecinin aşamaları altı farklı doza ait kesitlerde izlenebilir hale geldi (Şekil 4.22, 4.23, 4.24 ve 4.25).

Deneme grubunda 50, 100, 200 ve 400 ppm dozlarda Alsystin uygulanan larvalarda, kütikülanın gelişim aşamasında, endokütiküler lameller amorf yapıya sahip olmalarından dolayı belirgin şekilde gözlenemezken; 12.5 ve 25 ppm dozlarda Alsystin uygulanan larvalarda endokütiküler lamellerin prokütikülaya ilavesi net olarak görüldü.

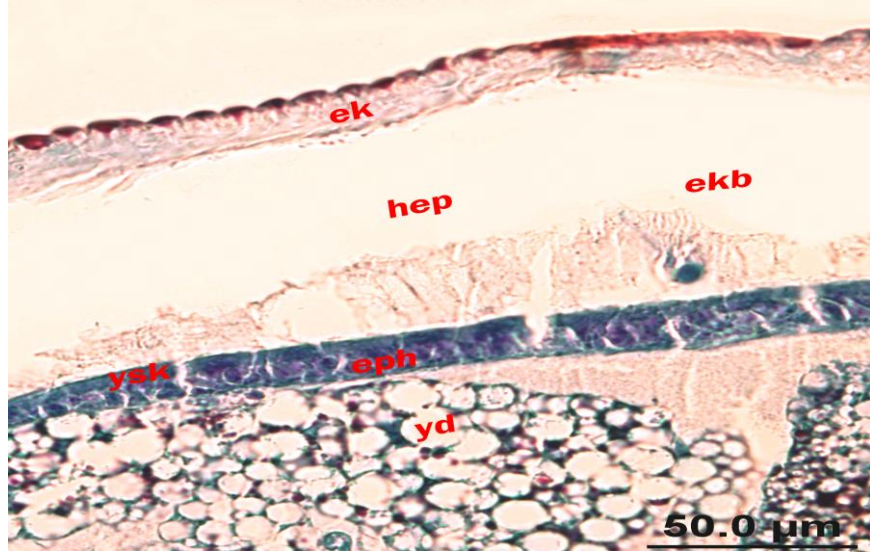
Epidermal hücrelerde ise; 200 ppm'lik dozda 120. saatten sonra (Şekil 4.26), 400 ppm'lik dozda ise 108. saatten sonra hücresel vakuoller görüldü (Şekil 4.27). 12.5, 25, 50 ve 100 ppm'lik Alsystin dozlarında ise bu oluşumlara rastlanmadı.



Şekil 4.22. Alsystin uygulanan larvalarda endokütiküler lamellerin kitinaz etkisiyle ayrılmaya başlaması (Azokarmin G- Alinin mavisi, 50μm).



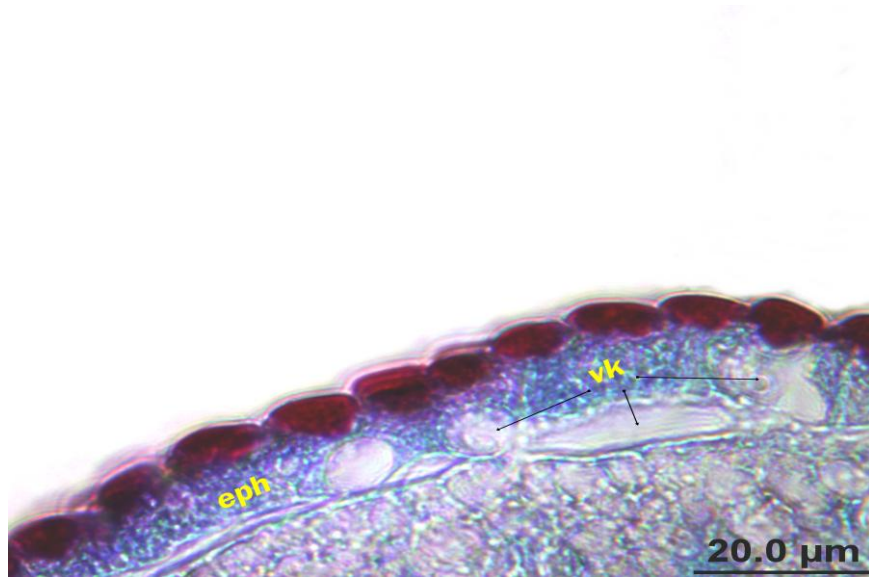
Şekil 4.23. Alsystin uygulanan larvalarda endokütiküler lamellerin hidroliz edilmesi (Azan boya, 50μm).



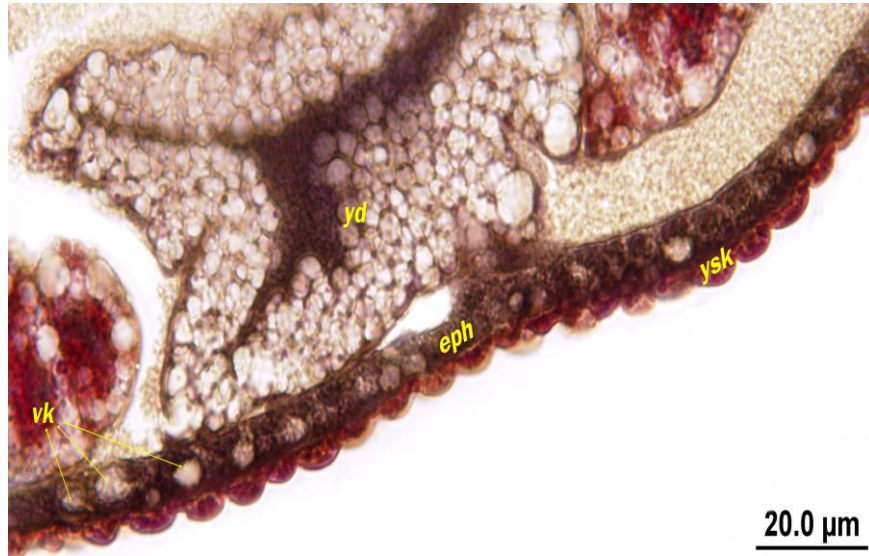
Şekil 4.24. Alsystin uygulanan larvalarda endokütiküladaki kitin unsurların yeni integüment tarafından emilimi (Azokarmin G- Anilin mavisi, 50µm).



Şekil 4.25. Alsystin uygulanan larvalarda atılmaya hazırlanan eski kütiküla ve yeni kütiküla (Azokarmin G- Anilin mavisi, 50µm).



Şekil 4.26. Alsystin uygulanan larvalarda 200 ppm alsystin uygulanmasında 120. saatten sonra oluşan epidermis hücrelerindeki vakuoller (Azan boya, 20μm).



Şekil 4.27. Alsystin uygulanan larvalarda 400 ppm alsystin uygulamasında 108. saatten sonra oluşan epidermis hücrelerindeki vakuoller (Crossman'ın üçlü modifikasyonu, 20μm).

4.1.2.2. Alsystin'in kütikula kalınlığı üzerine etkileri

Kontrol grubu larvaları ve Alsystin'in larvalara uygulanan (12.5, 25, 50, 100, 200 ve 400 ppm) dozlarından elde edilen histolojik kesitlere ait kalınlık ölçüleri Çizelge 4.1, 4.2, 4.3, 4.4'de; bu dozlara ait kütikula kalınlık ölçüleri ise Çizelge 4.5 ve şekil 4.19'da görülmektedir. Kontrol grubu larvalarının 84. saatten sonra eski kütikuladaki gelişimlerini tamamladıkları dikkate alınarak, altıncı evre kütikula kalınlığı için yapılacak ölçümler ilk 84 saat olarak kabul edildi. Çizelge 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 ve şekil 4.19'da görüleceği gibi Alsystin'in 12.5 ve 25 ppm'lik dozları kütikular kalınlık artışı üzerine etkili olmazken ($P > 0.05$); 50, 100, 200 ve 400 ppm'lik dozları değişik oranlarda kalınlık azalmasına sebep oldu ($P < 0.05$). Buna göre;

12.5 ppm'lik Alsystin dozunda 24, 60 ve 72. saatteki kütikular kalınlık kontrol grubuna göre azalması istatistiki olarak önemli düzeyde olmasına rağmen ($P < 0.05$), 84. saat sonunda bu dozda oluşan 16.97 μm 'lik kütikular kalınlık kontrol grubunun değerine göre (17.05 μm) istatistiki olarak önemsiz düzeydedir ($P > 0.05$) (Çizelge 4.5).

25 ppm'lik dozdaki kütikular kalınlık artışı; 24, 36, 48, 60 ve 72. saatlerde Alsystin'den etkilenip istatistiki olarak kontrol grubuna göre önemli bulunmasına rağmen ($P < 0.05$), 84. saat sonundaki kütikular artış (16.80 μm) kontrol grubuna göre (17.05 μm) önemsiz bulundu ($P > 0.05$).

50 ppm'lik dozda yedi farklı zaman diliminde (12, 24, 36, 48, 60, 72 ve 84) bulunan değerler Alsystin'in kütikula kalınlığını etkilediğini, 84. saat sonunda oluşan farklılığın (13.63 μm) ise kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli olduğunu gösterildi ($P < 0.05$).

100, 200 ve 400 ppm'lik dozlarda ise 12. saatten başlayarak yedi farklı zaman diliminden oluşan kütikular kalınlık ölçüleri, hem her bir zaman diliminde hem de 84. saat sonunda (13.42, 10.72 ve 10.52 μm) kontrol grubuna göre farklı bulundu ($P < 0.05$).

Alsystin'le oluşturulan altı farklı doz uygulamasında 12.5, 25 ve 50 ppm'lik dozlarda larvaların 24. saatten sonra; 100, 200 ve 400 ppm'lik dozlarda ise ilk 12. saatten sonra kütikular kalınlıklarının etkilenmeye başladığı görüldü.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ortaya çıkan bir başka sonuç ise, 12.5 ve 25 ppm'lik dozlarda Alsystin'in etkisiz olması, bunun dışındaki dört farklı dozda ise (50, 100, 200 ve 400 ppm) kütikular sekresyonun engellenmesinden dolayı kütikula kalınlığında azalmaya sebep olmasıdır. Ayrıca 84. saat sonunda 50 ppm'de kütikuladaki

kalınlık miktarı (13.63 μm) ile 100 ppm'deki kalınlık miktarı (13.42 μm); yine aynı şekilde 84. saat sonunda 200 ppm'de oluşan kütiküler kalınlıkla (10.72 μm), 400 ppm'de oluşan kütiküler kalınlığın (10.52 μm) birbirine çok yakın olması ve kendi aralarında birbirlerine karşı istatistiki olarak farklı olmamaları ($P > 0.05$) dikkat çekicidir.

Buna göre Alsystin'in 12.5 ve 25 ppm'lik dozlarının kütikula kalınlığı artışı üzerine etkisi istatistiki olarak önemsiz olduğu ($P > 0.05$) bulunurken; 50-100 ppm'de önemli bulunduğu ($P < 0.05$) ve %20 oranında kütiküler incelmeye sebep olduğu; 200-400 ppm'lik dozda ise yine önemli olduğu ($P < 0.05$) ve %37-38 oranında kütiküler azalmaya sebep olduğu tespit edildi (Çizelge 4.5).

4.2. Tartışma

Düşük dozlardaki Alsystin içeren (12.5 ve 25 ppm) diyetle beslenen larvalarda morfolojik olarak ilaçtan etkilenme 24. saatten sonra, orta (50 ve 100 ppm), yüksek ve letal (200 ve 400 ppm) dozlarda ise 12. saatten sonra başlamıştır. Morfolojik olarak, düşük dozlarda larval gelişim süresince herhangi bir anormallik görülmemesine rağmen larvaların ileriki gelişim sürecinde oluşan erginlerin, gelişimini tamamlamamış kanat yapısına sahip bireyler olarak ortaya çıktıkları görülmüştür. Bu durum Alsystin'in böceğin hayat siklusundaki uzun süreli etkisini göstermektedir. Orta, yüksek ve letal dozlarda Alsystin uygulamasını takiben larvaların hareketlerinde yavaşlama, gelişimin durması, kararma, vücut sıvısı ve hemolenf kaybı, larval periyodun uzaması, deri değiştirmeyi başaramama ve sonrasında da larval ölümler gerçekleşmiştir. Bu ilişki doz/cevap şeklinde meydana gelmiştir. Retnakaran ve ark. (1985), Alsystin'in özellikle Lepidopter ve Coleopter'ler üzerinde etkili olduğunu, Smith ve Grigarik (1989) ise bu insektisit larvisidal etki gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Alsystin'li diyetle beslenen *S. litura* (Olviatsu ve ark., 1991), *T. granarium* (Everts) (Parween, 1996), *C. pipiens pipiens* (Rehimi ve Soltani, 1999), *D. koenigii* (Fabricius) Gujar ve Metrotra (1989) larvaları, *Rhodnius prolixus* nimfleri (Mello ve ark., 2008) ile yapılan denemelerde de orta, yüksek ve letal dozlarda, dozların etkisine bağlı olarak larval dönemde meydana gelen benzer morfolojik deformasyonlar (larval periyodun uzaması, başarısız deri değişimleri ve larval ölümler) gözlemişler ve bu etkilerin doz/cevap şeklinde meydana geldiğini ifade etmişlerdir.

CSI'ler deri değiştirme sürecini bozmasından dolayı metamorfik hasarlara yol açmaktadır (Gujar ve Metrotra, 1989). İlaçtan etkilenen böcekler yeni kütikula sentezini gerçekleştiremeyip eski deriyi atmayı başaramamaktadırlar (Reynolds, 1987). Ölüm sebebi ya eski deriyi atamamaktan (Olviatsu ve ark., 1991), ya da eski deriyi atmaya çalışırken meydana gelen sıvı kaybı (Mulder ve Gijtswigt, 1973) olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ker (1978), bu olayı kütikulanın kitin yokluğundan dolayı ciddi bir şekilde zayıflamasına bağlamıştır.

Altıncı evre kontrol grubu *G. mellonella* larvalarının kütikülaları 84. saat sonunda ulaşabilecekleri maksimum değere ulaşarak 108. saatte bir üst evreye geçtiler. Alsystin uygulanan dozlarda ise kullanılan dozlara bağlı olarak larval periyot 12.5 ve 25 ppm'lik dozlarda 120 ve 50 ppm'de 144. saate uzadığı ve bu sürenin sonunda larvaların bir üst evreye geçtiği görüldü. Artan doza bağlı olarak 100 ppm'de bu zaman 156. saate

çıktığı, 200 ppm'de 132. saatte 400 ppm'de ise 120. saatte larval ölümler gerçekleşti.. 12.5, 25 ve 50 ppm'lik dozlarda larval periyodun uzaması ve larvaların bir üst evreye geçmeleri; 100, 200 ve 400 ppm'lik dozlarda larval periyodun uzamasıyla beraber artan doza bağlı olarak larval ölümlerin gerçekleşmesi Alsystin'in doz/ cevap ilişkisini göstermektedir.

Benzer durumu Olviatsu ve ark. (1991) *S. litura*, Rehimi ve Soltani (1999) *C. pipiens pipiens* larvalarında, Mello ve ark. (2008) *R. prolixus* nimf'lerinde gözlemişlerdir. Bunun nedenini ise Alsystin'in etkilerinin kitin biyosentezini engellemesinin doz/ cevap ilişkisi içerisinde cereyan ettiği şeklinde açıklamışlardır.

Hegazy ve ark. (1980)'nın tanımladığı şekliyle *G. mellonella* larvalarının kütikula yapısı epikütikula ve prokütiküladan oluşur. Prokütikula birbirine paralel yapıda, sayıları 10 ila 30 arasında değişebilen kitin fibrillerinden oluşmuş lamellerden ve por kanallarından oluşur (Lower, 1956). Kitin genellikle ekzo ve endokütikulanın esas bileşenidir. Epikütikulada kitin mevcut değildir (Dean, 1999). Prokütikulada kitin olmayan materyalin büyük çoğunluğu proteindir (Hegazy ve ark, 1980) ve Lee ve ark. (1990) ile Yin- Chang ve ark. (1990)'nın bildirdiklerine göre Lepidopter larvalarında endokütikular lamellerin intermolt periyodu süresince prokütikülaya ilavesi söz konusudur. Kontrol grubu *G. mellonella* larvalarında da bu lamellerin prokütikülaya ilavesi ile kalınlık artışı gerçekleştiği gözlemlendi.

Kitin doğadaki en yaygın polisakkaritlerden biri olup arthropodların kütikulasında, mantarların hücre duvarında ve nematotlarda bulunan temel bileşendir. Bu polimerin böcek kütikulasının sertliğini veren en önemli madde olduğu düşünülmektedir (Degheele, 1990). Bezoilfenil üre'ler birçok böcekte gelişim düzenleyici olarak etki göstermektedir. Alsystin bir benzoilfenil üre bileşiği olup post embriyonik gelişim aşamalarında deri değiştirme sürecini, kitin biyosentezini engelleyerek etki yapar (Mello ve ark., 2008).

Bu çalışmada histolojik bulgu olarak Alsystin'in düşük dozlarının gerek epidermal hücrelerde gerekse prokütikula üzerinde herhangi bir toksik etkisini ve bunun belirtisini gözleyemezken, orta düzeydeki dozlarda; sitoplazma miktarında azalma ve sitoplazmik granüllerin çoğalması, yüksek ve letal dozlarda ise amorf prokütikula yapısıyla beraber 200 ppm'lik dozda 120. saatten sonra, 400 ppm'lik dozda ise 108. saatten sonra vakuoller oluştuğunu gözledik. Bu bulgular bize ilacın normal kütikula oluşumuna müdahale edip, prokütikulanın oluşumunun engellendiğini gösterdi.

Çalışmada elde edilen histolojik bulgular gerek Alsystin’le ve gerekse diğer benzer benzoilfenil üre grubuna giren insektisitlerle yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla benzerdir. Dean ve ark. (1998) *C. felis* (Buciche) larvalarında ve El- Shazly (2002) *Culex pipiens pipiens* dördüncü evre larvalarındaki Triflumuron uygulamasıyla epidermal hücre dejenerasyonlarını ve hücrel vakuoller, Cunningham ve ark. (1987) *Choristoneura fumiferana* (Clemens) altıncı evre larvalarına Chlorfluazuron uygulandığında amorf materyalli vakuoller, Ünsal ve ark. (2004) beşinci evre *G. mellonella* larvalarına Diflubenzuron uygulamalarında vakuoler oluşumları, Dean ve ark. (1999) *Cat flea* larvalarına Lefunuron uyguladıklarında sitoplazmik miktarın azaldığını ve sitoplazmik organellerde litik değişiklikler olduğunu gözlemişlerdir.

Bu konuyla ilgili olarak biyokimyasal, fizyolojik, ultrastruktürel çalışmalarda ise; benzoilfenil üre grubuna giren CSI’lerin integümentteki epidermal hücrelerin kitin sentez bölgelerine hareket ettikleri (Cohen, 1987), CSI’lerin kitin sentezinin gerçekleştiği epidermal hücrelere zarar verdiği, sitoplazmik organellerin azalmasına neden olduğu ifade edilmiştir (Retnakaran ve ark., 1985, Dean, 1998 ve 1999). Post ve ark. (1974) ise Triflumuron gibi benzoilfenil ürelerin kitin polimeraz’la rekabet ederek kitin polimerizasyonunu baskıladığını açıklamışlardır.

Alsystin’li düşük dozların prokütikula kalınlığı üzerine etkileri gözlenemezken ($P > 0.05$); orta, yüksek ve letal dozlarda prokütikula ve endokütikular lamellerin şekillenmesi üzerine etkili oldukları ($P < 0.05$) ve buna bağlı olarak kontrol grubuna göre orta dozlarda %20, yüksek ve letal dozlarda %37- 38 oranında kütikular kalınlıkta azalmaya sebep oldukları gözlemlendi. Bu durum Alsystin’den etkilenmiş epidermal hücrelerde kütikül sekresyonunun bloke edilmesi sonucunda kitin sentezinin engellenmesiyle açıklanabilir.

Bu sonuçlar Alsystin’le ilgili diğer böcek türleriyle yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla uyumludur. Bellinato ve ark. (2009) *Manduca sexta* larvalarına Triflumuron uygulamasında temel kütikula matriks birikiminin normal olarak devam ettiğini ancak kitin mikrofibril oluşumunun tamamen engellendiğini, El- Shazly (2002) *C. pipiens* dördüncü evre larvalarına Triflumuron uygulaması sonucunda ilaç uygulanmış larvaların kütikülalarının normal kütikuladan farklı olarak oluştuğunu ve bu kütikulanın endokütikular lamellerden yoksun olduğunu, Cohen ve Casida (1980) Triflumuron’un kitin polimerizasyonu sırasında kitin sentezini engellediğini, glikoprotein yapısını değiştirdiğini, Ishaaya ve Casida (1974), Soltani ve ark (1993),

Rehimi ve Soltani (1999) ve Mello ve ark. (2008) ise kitin seviyesi azalırken protein seviyesinde herhangi bir azalma olmadığını açıklamışlardır.

Elde ettiğimiz histolojik deliller bu bileşiğin deri değiştirme sonrasında prokütikülada endokütiküler lamel birikimini engellediğini gözledik. Bu sonuçları Binnington (1985) ile Degheele (1990)'nin çalışmaları doğrulamaktadır. Endokütiküler lamellerin sentezlenmesinin baskılanmasına bağlı olarak çalışmamızda gördüğümüz kütikula miktarındaki azalmayı Rehimi ve Soltani (1999) *C. pipiens pipiens* larvalarının prokütikülasında %37- 41, Soltani ve ark. (1996) *T. mollitor* pupalarında %10- 40, Tong ve Hui (2004), *Musca domestica* larvalarında %22.6- 46.3 oranında azalma olduğunu görmüşlerdir.

Ünsal ve ark. (2004), *G. mellonella* beşinci evre larvalarına yine bir benzoilfenil üre olan Diflubenzuron'u uyguladıklarında %50 oranında azalma olduğunu görmüşlerdir.

Böceklerde normal larval siklus sürecinde deri değiştirme olayı kısa süre içerisinde cereyan edip deri değiştirme gerçekleşirken, uyguladığımız Alsystin dozlarının etkisine bağlı olarak endokütiküler lamellerin yeterince şekillenememesinden veya tamamıyla durmasından dolayı larval periyot süresi kontrol grubu larvalarına göre 50 ppm'de 36, 100 ppm'de 48 saat, 200 ppm'de 24 saat, 400 ppm'de ise 12 saat uzadığı ve devamında larvalar öldüğü görüldü.

Pasqualini (2000), Triflumuron uygulamasında yeni kütikulanın sentezi azalsa veya tamamen engellense de eski kütikulanın hala dış iskelet görevini yerine getirmekte olduğunu, dozların etkisine bağlı olarak yeni kütikulanın hem sertliği hem de esnekliğinin ciddi şekilde bozulduğunu açıklamıştır. Reynold (1987), yeni kütikulanın hem sertliği hem de esnekliğinin ciddi şekilde bozulmasına bağlı olarak larvaların iç basınca karşı koyamayıp, kaslar için gerekli desteği sağlayamamasından dolayı larvaların deri değiştirmede başarısız olduklarını açıklamışlardır. Reynolds ve Blaken (1989) ise tüm bu fizyolojik olayların sonucunda larvaların beslenme ve büyümelerinin kısıtlanmasına bağlı olarak larval ölümünün gerçekleşeceğini ifade etmişlerdir.

Sonuç olarak altıncı evre *G.mellonella* larvalarında Alsystin kitin biyosentezini engelleyerek kütikula sekresyonunu dozlara bağlı olarak değiştirdiği görüldü. Buda benzoilfenil ürelerin ilk etki modunun kitin sentezini engellemesi olduğu tezini (Soltani ve ark., 1996) doğrulamaktadır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Klasik kimyasal pestisitlerin kullanım sürecinde çevreyi kirletmeleri, bu insektisitlere karşı böceklerin direnç oluşturmaları, kalıcılık sürelerinin uzun olması, hedef dışı canlılara zarar vermeleri, seçici olmamaları nedeniyle bu konuda araştırma yapan bilim adamlarını zararlılara karşı kullanılan pestisitler hakkında farklı arayışlar içerisine yöneltmiştir. Klasik insektisitlerin olumsuz etkileri göz önüne bulundurularak 1970’li yıllarda zararlılara karşı IGR’ler (Insect Growth Regulator) geliştirilmiştir.

IGR’lerin klasik kimyasal insektisitlere göre birçok üstünlüğünden bir kaçını özetlemek gerekirse bunları; hızlı şekilde bozulabilmeleri, faydalı parazitlere ve avcı böceklerle zararlı olmamaları, hedef olmayan organizmalar üzerinde etkisi olmayıp, hedef canlının yaşam döngüsüne kısa sürede etki yapmaları, zararlı böceklerin bu pestisitlere karşı direnç oluşturmamaları şeklinde ifade etmek mümkündür.

IGR gruplarından biri olan CSI’ler değişik böcek takımları üzerine etkili olmakla beraber özellikle Lepidopteralar, Coleopteralar üzerine etkili olan kimyasallardır. Larval dönemde etkili olan CSI’ler larvanın deri değiştirme siklusunu bozup ve akabinde metamorfik hasarlara ve larval ölümlere neden olurlar. CSI’lerden olan Alsystin, Lepidopteralar dışında Diptera, Orthoptera, Siphonoptera, Coleoptera ordoları üzerine oral ve temas yolu ile etki yapan bir insektisittir. Diğer CSI’lerle etki yönünden karşılaştırıldığında onlara göre daha yavaş etki yapmakla beraber çevreye, bitkilere, omurgalılara, diğer sıcakkanlı canlılara ve hedef olmayan organizmalar üzerine çok az ya da hemen hemen hiç toksik değildirler.

Türkiye arı kovanı koloni varlığı ile dünyada dördüncü sırada olmasına rağmen bal üretiminde yedinci sıradadır. Bunun en önemli nedeni hastalık ve zararlıları hakkında yeterli bilgiye sahip olunmaması, gerekli mücadelenin zamanında ve doğru bir şekilde yapılmamasıdır. Bu durum, ülke arıcılığındaki verim düşüklüğünün nedenini çok iyi bir şekilde açıklamaktadır. Ekonomik kayıplara neden olan, *G. mellonella* zararlısına karşı yapılacak mücadele için Alsystin’in güvenilir doz aralığını yapmış olduğumuz bu çalışmada göstermeye çalıştık. Elde ettiğimiz bulguların pestisitlerin konak türler ve kimyasal kontrol ajanları üzerindeki etkileri ile ilgili literatürlere katkı yapacağını, kimyasal kontrol uygulamalarında da önemli faydalar sağlayacağını düşünmekteyiz.

Zararlı böceklerle en iyi şekilde mücadele edilmesi IPM (Integrated Pest Management) programlarıyla mümkün olmaktadır. IPM programları seçicidir ve hedef olmayan organizmalara karşı zararsız insektisitleri seçer. Eğer tutarlı, uzun vadeli, ekonomik olarak zararlı olan bu canlılar kontrol altına alınmak isteniyorsa IPM'e uyumlu böcek ilaçlarının araştırılması ve geliştirilmesine katkıda bulunulması gereklidir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, S. O., Naqvi, S. N. H., 1985, Toxicity and effects of Dimilin on protein pattern of *Aedes aegypti*, *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 14 (15), 119-132.
- Akyol, E. ve Korkmaz, A., 2008, Peteklerin büyük mum güvesi (*Galleria mellonella* L.)' ne karşı korunmasında - 5°C soğuk uygulamasının etkisi, *Journal Uludag Bee*, 8 (1), 26- 29.
- Ali, A. D., Bakry, N. M., Abdellatif, M. A., El-sawaf, S.K., 1973, The control of greater wax moth, *Galleria mellonella* L., by chemicals I. susceptibility of the wax moth larvae and honey-bee workers to certain chemicals, *Z. Ang. Ent*, 74, 170- 177.
- Asher, K. R., Nemny, N. E., 1984, The effect of CME 134 on *Spodoptera littoralis* eggs and larvae, *Phytoparasitica*, 12 (1), 13- 27.
- Babu, R. T., Hussaini, S. H., Sriramulu, M., Siddiqui, M. K. H., 1991, Effect of insect growth regulators on the development of *Rhyzopertha dominica* and the germination of mungbean seed (*Vigna radiata* L. Wilczek, *Tropical Science*, 31, 217- 221.
- Batra, C. P., Mittal, P. K., Adak, T., Ansari, M. A., 2005, Efficacy of IGR compound Starycide 480 SC (Triflumuron) against mosquito larvae in clear and polluted water, *Journal of Vector Borne Diseases*, 42, 109– 116.
- Belinato, T. A., Martins, A. J., Lima, J. B. P., Lima-Camara, T.N., Peixoto, A. A., Valle, D. 2009, Effect of the chitin synthesis inhibitor Triflumuron on the development, viability and reproduction of *Aedes aegypti*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 104 (1), 43- 47.
- Binnington, K. C., 1985, Ultrastructural change in the cuticle of the *Sheep blowfly*, *Lucia*, induced by certain insecticides and biological inhibitors, *Tissue and Cell Research*, 17 (1), 131- 140.
- Broadbent, A.B., Pree, D. J., 1984, Effects of Diflubenzuron and BAY SIR 8514 on beneficial insects associated with peach, *Environ entomol*, 13, 133- 136.
- Bronskill, J., 1961, A Cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae), *Journal or the Lepidopterists' Society*, 15 (2), 102- 104.

- Büyükgüzel, K., Tunaz, H., Putnam, S. M., Stanley, D. W., 2002, Prostaglandin biosynthesis by midgut tissue isolated from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32 (4), 435- 443.
- Clarke, B. S., Jewess, P. J. 1990, The inhibition of chitin synthesis in *Spodoptera littoralis* *Spodoptera littoralis* larvae by flufenoxuron, teflubenzuron and diflubenzuron, *Pesticide Science*, 28, 377- 388.
- Cohen, E., Casida, J. E., 1980, Inhibition of *Tribolium* gut chitin synthetase, *Pesticide Biochemistry Physiology*, 13, 129- 136.
- Cohen, E., 1987, Chitin biochemistry: synthesis and inhibition, *Annual Review Entomology*, 32, 71- 93.
- Cunningham, J. P., Nicholson, D., Retnakaran, A., 1987, The effect of ingested benzoylphenylurea on the ultrastructure of the cuticle deposited during the last larval instar of *Choristoneura fumiferana* Clem. (Lepidoptera: Tortricidae), *Canadian Journal of Zoology*, 65 (11), 2715- 2723.
- Dean. S. R., Meola, R. W., Meola, S. M., Sitterz- Bhatkar, H., Schender, R., 1998, Mode of action lefunuron on larval *Cat fleas* (Siphonoptera, Pulicidae), *Journal of Medical Entomology*, 35, 720- 724.
- Dean, S. R., Meola, R. W., Meola, S. M., Sittertz- Bhatkar, H., Schenker, R., 1999, Mode of action of Triflumuron in *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera, Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, 36 (4), 486- 492.
- Degheele, D., 1990, Chitin synthesis inhibitors: effect on cuticle structure and components, *In J.E. Casida (ed) Pesticides and Alternatives*, 377–388. Amsterdam: Elsevier.
- Demark, J. J., Bennet, G. W., 1989, Efficacy of chitin synthesis inhibitors on nymphal german cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae), *Journal Economic Entomology*, 82, 1633- 1637.
- Demirsoy, A., 1997, Entomoloji. Cilt II, Beşinci baskı *Meteksan A. Ş. Ankara*, , 102- 105.
- Deul, D. J., De Jong, B. J., Kortenback, J.A.M. 1978, Inhibition of chitin synthesis by two 1-(2,6-disubstituted benzoyl)-3-phenylurea insecticides, *Pesticide Biochemistry Physiology*, 8, 98- 105.
- El-Gazzar, L. M., P. G. Koehler, R. S. Patterson, J. M., 1986. Insect growth regulators: mode of action on the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, 23, 651- 654.

- El- Gazzar, L. M., Patterson, R. S., Koehler, G., 1988, Activity of chitin synthesis inhibitor on the Cat fleas, *Ctenocephalides felis* (Bouche), *Journal of Agricultural Entomology*, 5 (2), 117- 120.
- El-Shazly, M. M., Refaie, B., 2002, Larvicidal effect of chitin sythesis inhibitor Triflumuron on *Culex pipiens*, *Journal of the American Mosquito Control Association*, 18 (4), 321- 328.
- Erinç, M., Ayvalı, C., 1989, *Agrotis segetum* (Denis et. Sciff) (Lepidoptera, Noctuidae) orta bağırsağına bazı insektisitlerin histopatolojik etkisi. *Şeker Dergisi*, 124, 22-27.
- Erkan, C., Aşkın, Y., 2001, Van il Bahçesaray ilçesin’de arıcılığın yapısı ve arıcılık faaliyetleri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi , Zırrat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 11 (1), 19- 28.
- Farashiani, E., Ladonni, H., 1999, Biological and morphological effects of chitinsynthesis inhibitor (Triflumuron) on anopheline larvae, *Iranian Journal public Health*, 28 (1-4), 169- 174.
- Finney, D.J., 1971, *Probit Analysis (3rd edition)*, Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Gujar, G. T., Metrotra, K. N., 1989, Effect of four chitin synthesis inhibitor on the red cotton bug, *Dysdercus koenigii* fabricius, *Journal of Entomology* 14 (1-2), 71- 73.
- Hammock, C. D., Quistad, G. B., 1981, Metabolism and mode of action of juvenile hormone, juvenoids and other insect growth regulators, In D.H. Hutson and T.R. Roberts (eds), *Progress in Pesticide Biochemistry*, John Wiley & Sons Ltd 1, 1–85.
- Hanrieder, G., Wilps, H., Krall, S., 1993, The effect of Alsystin (Triflumuron) on larvae of the migratory locust *Locusta migratoria migratorioides* investigations carried out in the semi-desert area of Sudan's Red Sea Province, *Biomedical and Life Sciences*, 66 (1), 10- 15.
- Hegazy G., Van De Veire, M., Degheele, D., 1980, Effect of chitin synthesis inhibitor Diflubenzuron on the sixth and seventh instars of *Galleria mellonella* L., Important of application time, *Medical Factor Landbouww Rijksuniv Gent*, 45 (3), 453- 464.
- Hejazi, M. J., Granett, J., 1986, Delayed effects of two benzoylphenylureas on *Platynota stulatna* (Lepidoptera: Tortidae) in the laboratory, *Journal Economic Entomology*, 79, 753- 758.

- Ishaaya, I., Casida, J. E., 1974, Dietary TH 6040 alters composition and enzyme activity of housefly larvae cuticle, *Pesticide Biochemistry Physiology*, 4, 484- 490.
- Ishaaya, I., Ascher, K.R.S., 1977, Effects of Diflubenzuron on growth and carbohydrate hydrolases of *Tribolium castaneum*, *Phytoparasitica*, 5, 149- 158.
- Ishaaya, I., Ascher, K. R. S., Yablonski, S. 1981, The effect of BAY SIR 8514, Diflubenzuron and Hercules 24018 on growth and development of *Tribolium confusum*, *Phytoparasitica*, 9 (3), 207- 209.
- Ishaaya, I., 1990, Benzoylphenyl ureas and other selective control agents – mechanism and application, in *Pesticides and Alternatives*, ed. by Casida JE. Elsevier, Amsterdam, 365- 376.
- Jimenez-Peydro, R., Gimeno-Martos, C., Lopez- Ferrer, C., Serrano-Delgado, C., Moreno–Mari, J., 1995, Effects of the insect growth regulator cyromazine on the fecundity, fertility and offspring development of Mediterranean fruitfly, *Ceratitis capitata* Wied (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology*, 119, 435- 438.
- Karimzadeh, R., Hejazi, J. M., Rahimzadeh Khoei, M., Moghaddam, M., 2007, Laboratory evaluation of five chitin synthesis inhibitors against the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, *Journal of Insect Science*, 7, 1536- 2442.
- Ker, R. F., 1978, The effects of Diflubenzuron on the growth of insect cuticle. *Pesticide Science*, 9, 259- 265.
- Konanz, S., 2009, Characterization of mechanisms of resistance to common insecticides in noctuid pest species and resistance risk assessment for the new lepidopteran specific compound flubendiamide, Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors, *der Fakultät Agrarwissenschaften*, aus Pforzheim, 37- 56.
- Kramer, K. J., McGregor, H. E., 1980, Susceptibility of stored product insects to chitin inhibitors LY-131215 and LY-127063. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 53 (3), 627- 630.
- Kurt, M., 2007, Organik arıcılık kuralları ve hastalık mücadeleleri, *Veteriner Kontrol ve Araştırma Müdürlüğü*, Samsun.
- Lee, S. A., Clarke, B. S., Jenner, D. W., Williamson, F. A., 1990, Cytochemical demonstration of the effects of the acylureas flufenoxuron and Diflubenzuron on the incorporation of chitin into insect cuticle. *Pesticide Science*, 28 (4), 367- 375.

- Locke, M., 1961, The cuticular pattern in an insect the intersegmental membranes, *J. Experimental Biology*, 37, 398.
- Lower, H. F., 1956, Terminology of insect integument, *Nature*, 198, 1355- 1356.
- Malinowski, H., Pawinska, M., 1992, Comparative evaluation of some chitin synthesis inhibitors as insecticides against Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say), *Pesticide Science*, 35, 349- 353.
- Mello, C. B., Mendonça-Lopes, D., Feder, D., Uzeda, C. D., Carneiro, R. M., Rocha, M. A., Gonzalez M. S., 2008, Laboratory evaluation of the effects of Triflumuron on the development of *Rhodnius prolixus* nymph, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 103 (7), 839- 842.
- Malinowski, H. and Pawinska, M., 1992, Comparative evaluation of some chitin synthesis inhibitors as insecticides against Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say), *Pesticide Science*, 35, 349- 353.
- Mommaerts, V., Sterk, G., Smagghe, G., 2006, Hazards and uptake of chitin synthesis inhibitor in bumblebee *Bombus terrestris*, *Pest Management Science*, 62, 752- 785.
- Mondal, K. A.M. S. H., Parween, S., 2000, Insect growth regulators and their potential in the management of stored-product insect pests, *Insect Pest Management Review*, 5, 255- 295.
- Mrusec, K., Gladbach, B., Schütte, M. H., 2001, Active substance combinations comprising pyrethroids and insect development inhibitors, (K. Mrusec in Proc. 1st Int. Conf Insect Pests in the Urban Environment, Ed. K. B. Wildey and W. H. Robinson, 385).
- Mulder, R., Gijstwiigt, M. J., 1973, The laboratory evaluation of two promising new insecticides which interfere with cuticle deposition, *Pesticide Science*, 4, 737- 745.
- Nauen, R., Smagghe, G., 2006, Mode of action of etoxazole, *Pest Management Science*, 62 (5), 379- 382.
- Nesbitt, J. N., 1970, Structural aspects of penetration through insect cuticles, *Pesticide Science*, 1, 204- 208.
- Oğuz, R., 2006, Toplum tarafından sık olarak tüketilen gıdaların üretiminde kullanılan bazı pestisitlerin nitrozo bileşikleri ile oluşturulan meme kanserinin gelişimine etkisi, *Gülhane Askeri Tıp Akademisi*, doktora tezi, 6- 8.

- Olson, D. M., Fadamiro, H., Lundgren, J. G., Heimpel, G. E., 2000, Effects of Sugar Feeding on Carbohydrate and Lipid Metabolism in a Parasitoid Wasp. *Physiology and Entomology*, 25, 17- 25.
- Olviatsu, M., Yoshida, K., Toki, T., 1991, Development of malformed larvae induced by a benzoylphenyl urea insecticide, Triflumuron in the common cutworm *Spodoptera litura* (Fabricius), *Journal of Pesticide Science*, 16, 189- 194.
- Özparlak, H., Bakar, B., Ünsal, S., Aktümsek, A., 2003a, Kitin sentez inhibitörü teflubenzuron'un beşinci evre *galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının kütikülası üzerindeki etkileri *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. 3 (1- 2), 29- 43.
- Özparlak, H., Aydılek, K., Ünsal, S., Aktümsek, A., 2003b, Kitin sentez inhibitörü flufenoxuron'un altıncı evre *Galleria mellonella* l. (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının kütikülası üzerindeki etkileri *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. 5. (1-2), 1- 16.
- Öztürk, A. İ., 2001, Bal arısı hastalıkları, *Muğla'da Tarım*, 1 (5), 57- 59.
- Parween, S., 1996, The effect of Triflumuron on malathionsusceptible (FSS II) and malathion-resistant (CTC 12) strains of *Tribolium castaneum* Herbst, 229, Ph.D. thesis, *University of Newcastle upon Tyne*, U. K., 229.
- Parween, S., 1997, Effect of Triflumuron on the adult mid gut of *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Univ. J. Zool. Rajshahi Univ.*, 16, 11- 18.
- Pasqualini, E., 2000, IPM: Theory and practice in the pest control of pome fruit tress, *Pflanzenchutz- Nachrichten Bayer*, 53, 154- 176.
- Post, L.C., deJong, B.J., Vincent, W.R., 1974, 1-(2,6- disubstituted benzoyl)-3-phenylurea insecticides: inhibitors of chitin synthesis. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 4, 473-83.
- Rehimi, N., Soltani, N., 1999, Laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens* (Dip., Culicidae): effects on development and cuticle secretion, *Journal Applied Entomology*, 123, 437- 441.
- Retnakaran, A., Granett, J., Ennis, T., 1985, Insect growth regulators. In: *Comprehensive insect biochemistry, physiology and pharmacology*, (ed) by Kerkut, G.A., Gilbert, L.I. Oxford, Pergamon Press, 12, 530- 601.
- Reynolds, S. E., 1987, The cuticle, growth and moulting in insects, the essential background to the action of acylurea insecticides, *Pesticide Science*, 20, 131- 146.

- Reynolds. S. E., Blakey, J. K., 1989, Cyromazine causes decreased cuticle extensibility in larvae of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 35 (3), 251- 258.
- Ronald, L. T., Richards, G., 1965, Integumentary changes during molting of arthropods with special reference to the subcuticle and ecdysial membrane, *Journal of Morphology*, 116, 1- 22.
- Sak, O., Uçkan, F., 2009, Cypermethrin'in *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: pyralidae)'nın puplaşma ve ölüm oranlarına etkisi, *Journal Uludağ Bee* 9 (3), 88-96.
- Sanford, M. T., 2003, Controlling wax moth, one of a series of the entomology and nematology department, florida cooperative extension service, *Institute of Food and Agricultural Sciences*, University of Florida, EDIS Web Site at <http://edis.ifas.ufl.edu>.
- Sato, K., Fukami, J. I., 1985, Penetration of carbaryl, fenitrothion and diazinon developing larvae of *Spodoptera litura* (Fab), (Lepidoptera, Noctuidae) and *Galleria mellonella* L., (Lepidoptera, Pyralidae), *Entomology and Zoology* 19, 268- 270.
- Saxena, S.C., Kumar, D., 1991, Effects of two new chitin synthesis inhibitor compounds on different developmental stages of *Trogoderma granarium* (Evert), *Journal of Animal Morphology and Physiology*, 38 (1-2), 99- 108.
- Selçukoğlu, E., 1999, Çukurova bölgesinden toplanan bal örneklerinde amitraz ve fluvalimat kalıntılarının belirlenmesi, Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 1- 5.
- Senior, L. J., 1998, Control the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Ph.D dissertation). Cardiff University, UK.
- Slabezki, Y., 2010, *Türkiye, İsrail birinci arıcılık konferansı*, Antalya, 12- 13.
- Smith, K. A., Grigarik, A. A., 1989, Triflumuron: residual activity and ovicidal longevity in the rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae), *Journal Economic Entomology*, 82, 645- 648.
- Soltani, N., Chebira, S., Delbecque, J. P., Delachambre, J. 1993, Biological activity of flucyloxuron, a novel benzoylphenylurea derivative, on *Tenebrio molitor*: comparison with Diflubenzuron and Triflumuron. *Birkhäuser Verlag Basel*. 14, 1088- 1091.

- Soltani, N., Soltani- Mazouni, N., Delachambre, J., 1996, Evaluation of Triflumuron, a benzoylphenyl urea derivative on *Tenebrio molitor* pupae (Coleoptera: Tenebrionidae): effects on cuticle. *Journal Applied Entomology*, 120 (10), 627-629.
- Sterk,, G., Smagghe, H., 2006, Hazards and uptake of chitin synthesis inhibitors in bumblebees *Bombus terrestris*, *Pest Management Science*, 62, 752- 758.
- Tong, Z., Hui, Y., 2004, Effects of Triflumuron on the ingredients in the cuticle and hormone titers of housefly larvae, *Acta Parasit Medical Entomologica Sinica*, 11 (3), 174- 178.
- Tunaz, H., Park, Y., Büyükgüzel, K., Bedick, J.C., Nor aliza, A.R., Stanley, d.W., 2004. Eicosanoids in insect immunity: bacterial infection stimulates hemocytic phospholipase A₂ activity in tobacco hornworms, arch. *Insect ,Biochemistry*, 52 (1), 1- 6.
- Ünsal, S., Ayvalı, C., 1989, *Agrotis segetum* larvasında integümentin histolojik yapısı üzerine araştırmalar, *S. Ü. Fen Dergisi* 9, 51- 76.
- Ünsal, S., Özparlak, H., Aktümsek, A., 2004, Effects of Diflubenzuron on the integument of fifth instar *Galleria mellonella* larvae, *Phytoparasitica*, 32 (1), 43-51.
- Ünsal , S., Güner, E., 2010, Neem'in beşinci evre *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera, Pyralidae) larvaları üzerindeki etkileri, 20. *Ulusal Biyoloji Kongresi, Pamukkale Üniversitesi Sunum Kitaplığı*, Denizli, 55- 58.
- Vacante, V., Gilioli, G., 2003, The effects of Triflumuron against the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) on pepper: an evaluation based on the analysis of population Dynamics, *Journal Applied Entomology*, 127, 413– 420.
- Van De Veire, M., Vanhaecke, M., Fontier, H., Degheele, D., 1982, Mobility and distribution of the chitin synthesis inhibitor DFB in *Galleria mellonella* L. and *Spodoptera littoralis* (Boisd) last instar larvae, *Arasitica*, 38 (2), 65- 74.
- Vazirianzadeh, B., Jervis, M. A., Kidd, N. A. C., 2007, The Effects of oral application of cyromazine and Triflumuron on house-fly larvae, *Iranian Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 1 (2), 7-13.
- Vir, S., 1988, Effect of Diflubenzuron-a chitin synthesis inhibitor on Khapra beetle, *Trogoderma granarium* (Everts) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Bulletin of Grain Technology*, 26 (2), 126– 129.

- Vural, N., 1984, Toksikoloji: Ankara Üniversitesi, *Eczacılık Fakültesi Yayınları*, Ankara, 56, 415- 416.
- Weaver, J. E., Begley, J.W., 1982, Laboratory evaluation of BAY SIR 8514 against the housefly (Diptera: Muscidae): effects on immature stages and adult sterility, *Journal of Economic Entomology*, 75, 657- 661.
- Whitcomb, W. J., 1946, Feding bees for comb production. *Glean Bee Culture*, 74, 198–202.
- Wiglesworth, V. B., 1974, The principles of insect physiology. Chapman and Hall, Seventh edition London., 27- 49, 61- 83, 485- 494.
- Yin- Chang, W., Rong- Sheng, C., Chang- Kun, C. Z.,- Ping, Y., 1990, Studies on cuticular structures in two species of cutworms, *Acta Entomologica Sinica*, 33 (3), 309- 313.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Naci GÖRER
Uyruğu : T. C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Eskişehir 31. 01. 1985
Telefon : 0555 637 26 94/ 0543 945 43 50
Faks : -
e-mail : nacigrr@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Hoca Ahmet Yesevi lisesi, Eskişehir,	2002
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2008
Yüksek Lisans	: Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, .Konya	-
Doktora	:-	-

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
-----	-------	--------

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER: İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR