

**BORİK ASİTİN *GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA:PYRALIDAE)'NİN
YAŞAMA ORANI, YUMURTA VERİMİ VE YUMURTALARINDAKİ OKSİDATİF
STRES ÜZERİNE ETKİSİ**

Sevda ASLAN

**Zonguldak Karaelmas Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalında
Yüksek Lisans Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

ZONGULDAK

Eylül 2011

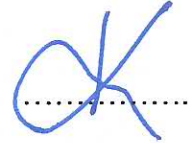
KABUL:

Sevda ASLAN tarafından hazırlanan "BORİK ASİTİN *GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA:PYRALIDAE)'NİN YAŞAMA ORANI, YUMURTA VERİMİ VE YUMURTALARINDAKİ OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ" başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 08/09/2011.

Başkan: Yrd. Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL (ZKÜ)



Üye : Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL (ZKÜ)



Üye : Doç. Dr. Hale SÜTÇÜ (ZKÜ)



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım./...../2011



Prof. Dr. Özden ÖZEL GÜVEN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”



Sevda ASLAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BORİK ASİTİN *GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA:PYRALIDAE)'NİN YAŞAMA ORANI, YUMURTA VERİMİ VE YUMURTALARINDAKİ OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİSİ

Sevda ASLAN

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

Eylül 2011, 71 sayfa

Büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* (Linnaeus 1758) yapay besin ortamında beslenerek borik asitin böceğin ergin yaşama oranı, eşey oranı, ergin dişi ve erkek ömür uzunluğu, yumurta verimi, açılma oranı ile yumurtalarında oksidatif stresin önemli indikatörleri lipid peroksidasyonu ürünü malondialdehid (MDA) ve protein oksidasyonu ürünü protein karbonil miktarları ile detoksifikasyon enzimi glutatyon-S-transferaz (GST), aktivitesi üzerine etkisi laboratuvar şartlarında incelendi. Böceğin birinci evre larvaları 156, 620, 940, 1250 ve 2500 ppm borik asit içeren yapay besinler ile ergin evreye kadar beslendi. Kontrol besine göre borik asitin denenen konsantrasyonlarını içeren besinler böceğin ergin olma oranı ile erkek ve dişi oranını önemli derecede düşürmüştür. Borik asitin en yüksek konsantrasyonu (2500 ppm) ergin evreye ulaşan birey sayısını % 81,9 ± 4,55'den % 12,4 ± 1,20'e azaltmıştır.

ÖZET (devam ediyor)

Bu konsantrasyon erkek oranını % 38,9 $\pm$ 12,88'den % 6,9 $\pm$ 1,20'ye dişi oranını ise % 43,00 $\pm$ 10,64'den % 5,5'e indirmiştir. Borik asiti içeren besinler erkek erginlerin ömür uzunluğu üzerinde önemli derecede etkili olmamıştır. Buna karşılık borik asitin 940 ppm'i dişi ömür uzunluğunu 7,8 $\pm$ 1,52 günden 12,1 $\pm$ 1,92 güne yaklaşık ortalama 4 gün süre ile önemli derecede uzatmıştır. Borik asitin denenen en yüksek konsantrasyonu 2500 ppm ise ergin dişi ömür uzunluğunu 4,7 $\pm$ 0,21 güne önemli derecede kısaltmıştır. Borik asitin 940 ppm'i ile yetiştirilen dişilerin yumurta verimi önemli derecede azalmış olup yumurta sayısı bir günde dişi başına 85,7 $\pm$ 12,62 den 28,4 $\pm$ 9,11'e azalmıştır. Borik asitin 620 ve 940 ppm'ini içeren besinler yumurtaların açılma oranını % 90,0 $\pm$ 2,13'den sırasıyla % 60,3 $\pm$ 2,48 ve 59,1 $\pm$ 6,18'e kadar düşürmüştür. Borik asitin denenen yüksek konsantrasyonlarında (1250 ve 2500 ppm) dişiler yumurta bırakmamıştır.

Borik asitin en düşük miktarı (156 ppm) MDA miktarını ve GST aktivitesini önemli derecede etkilemezken, protein karbonil miktarını yaklaşık iki katı oranında önemli derecede artırmıştır. Borik asitin 620 ppm'ini içeren besin MDA miktarını 0,01 $\pm$ 0,002'den 0,03 $\pm$ 0,010 nmol/mg proteine üç katı oranında önemli derecede yükseltmiştir. Borik asitin 620 ve 940 ppm konsantrasyonları GST aktivitesini önemli derecede düşürmüşlerdir. Besine 940 ppm borik asit ilave edilmesi GST aktivitesini 0,25 $\pm$ 0,047'den 0,09 $\pm$ 0,015 μ mol/mg protein/dk'ya düşürmüştür.

Bu çalışma böceğin ergin biyolojik özellikleri ile yumurtaların oksidatif durum ve detoksifikasyon kapasitesinde borik asitin konsantrasyonlarına bağımlı değişimler olduğunu göstermiştir. Elde edilen sonuçlar aynı zamanda bu biyolojik ve oksidatif etkilerin borik asitin denenen konsantrasyonları tarafından meydana getirilen oksidatif stresin düzeyine göre değişebileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Galleria mellonella*, Borik asit, yaşama oranı, Malondialdehid, protein karbonil, Glutasyon-S-transferaz

Bilim Kodu: 401.02.01

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

**THE EFFECTS OF BORIC ACID ON SURVIVORSHIP, FECUNDITY AND
OXIDATIVE STRESS IN EGGS OF *GALLERIA MELLONELLA* L.
(LEPIDOPTERA:PYRALIDAE)**

Sevda ASLAN

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

**Thesisi Advisor: Assist. Prof. Ender BÜYÜKGÜZEL
September 2011, 71 pages**

The effects of boric acid (BA) on adult survivorship, sex ratio, male and female adult longevity, fecundity, hatchability, and important oxidative stress indicators, lipid peroxidation product, malondialdehyde (MDA) and protein oxidation products, protein karbonyl (PCO) contents and a detoxification enzyme glutathione-S-transferase (GST) activity in the eggs of greater wax moth *Galleria mellonella* (L.) were investigated by rearing the first instar larvae on artificial diets in the laboratory condition. The insect was reared from first-instar larvae on an artificial diets as a bait, containing BA at 156, 620, 940, 1250 or 2500 ppm to adult stage. Relative to the control, the diets containing BA concentrations significantly resulted in decreased adult survivorship, male and female sex ratio. The highest BA concentration (2500 ppm) significantly decreased adult yields from $81.9 \pm 4.55\%$ to $12,4 \pm 1.20\%$.

ABSTRACT (continued)

This concentration decreased the male ratio from $38.9 \pm 12.88\%$ to $6.9 \pm 1.20\%$, female ratio from $43.00 \pm 10.64\%$ to 5.5% . Dietary BA concentrations had no significant effect on male adult longevity. However, 940 ppm BA significantly prolonged the female adult longevity by about 4 days from 7.8 ± 1.52 to 12.1 ± 1.92 days. Female adult longevity was significantly shortened to 4.7 ± 0.21 days by 2500 ppm BA. Females from 620 ppm boric acid treatment did not show reduced fecundity (mean cumulative number of eggs laid per female per day), but fertility as measured by the percentage of eggs hatched was significantly reduced compared with untreated control insects. The egg number of females reared on 940 ppm BA was significantly lowered from 85.7 ± 12.62 to 28.4 ± 9.11 . The diets with 620 or 940 ppm significantly decreased percentage of eggs from $90.0 \pm 2.13\%$ to 60.3 ± 2.48 and $59.1 \pm 6.18\%$ respectively. The females reared on BA at 1250 or 2500 laid no eggs.

The lowest BA concentration (156 ppm), had no significant effect MDA content and GST activity while this BA concentration significantly resulted in increased PCO by about 2-fold in comparison to control. BA at 620 ppm significantly increased MDA content by about 3-fold. Dietary 620 or 940 ppm BA significantly resulted in decreased GST activity. Addition of 940 ppm BA into diet decreased GST activity from 0.25 ± 0.047 to 0.09 ± 0.015 $\mu\text{mol/mg}$ protein/min.

This study showed a concentration-dependent variation in adult biological traits, and oxidative status and detoxification capacity of eggs. The results also showed these biological and oxidative effects might be altered in response to the perceived levels of boric acid-induced oxidative stress. We concluded that the lethal and sublethal effects of BA are likely to have a significant impact on fecundity and fertility as well as other adult biological traits of pest insects.

Keywords: *Galleria mellonella*, Boric acid, survivorship, Malondialdehyde, protein carbonyl, Glutathione -S-transferase

Science Code: 401.02.01

TEŞEKKÜR

Bu konuda bana çalışma fırsatı veren, araştırma sırasında ilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL'e (ZKÜ), çalışmamın her aşamasında değerli öneri ve bilgilerinden yararlandığım Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e (ZKÜ), teşekkürlerimi bir borç bilirim. Borik asiti bu çalışma için hediye eden Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü'ne, çalışmamın deneysel ve yazma aşamasında moral desteği ve yardımlarını esirgemeyen aileme ve yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xv
 BÖLÜM 1 GİRİŞ	 1
 BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER	 15
 BÖLÜM 3 MATERYAL VE METOT	 21
3.1 <i>GALLERIA MELLONELLA</i> L. KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI	21
3.2 BORİK ASİTİN DENEYLERDE KULLANILMASI.....	22
3.3 LARVALARIN ELDE EDİLMESİ.....	22
3.4 YAŞAMA, GELİŞME, EŞEY ORANI VE ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ BESLENME DENEYLERİ	23
3.5 DİŞİLERİN YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANI İLE İLGİLİ DENEYLER..	24
3.6 MDA, PROTEİN KARBONİL MİKTARI VE GST AKTİVİTESİ ÖLÇÜMÜ	25
3.6.1 Yumurta Toplanması	25
3.6.2 Malondialdehid (MDA)	25
3.6.3 Protein Karbonil	26
3.6.4 Glutatyon-S-transferaz (GST)	27
3.7 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	28

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

Sayfa

BÖLÜM 4 ARAŞTIRMA BULGULARI	29
4.1 BORİK ASİTİN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARININ YAŞAMA, EŞEY ORANI VE ÖMÜR UZUNLUĞUNA ETKİSİ.....	29
4.2 BORİK ASİTİN <i>G. MELLONELLA</i> 'NİN YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANINA ETKİSİ.....	32
4.3 BORİK ASİTİN <i>G. MELLONELLA</i> YUMURTALARININ MDA, PROTEİN KARBONİL MİKTARI VE GST AKTİVİTESİNE ETKİSİ	33
BÖLÜM 5 TARTIŞMA	37
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	73

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 Borik asitin <i>G. mellonella</i> yumurtalarının MDA miktarına etkisi	34
4.2 Borik asitin <i>G. mellonella</i> yumurtalarının protein karbonil miktarına etkisi.....	34
4.3 Borik asitin <i>G. mellonella</i> yumurtalarının GST aktivitesine etkisi	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 Borik asitin <i>G. mellonella</i> larvalarının ergin yaşama oranı, eşey oranı ve ömür uzunluğuna etkisi.....	31
4.2 Borik asitin <i>G. mellonella</i> 'nın yumurta verimi ve açılma oranına etkisi.....	32

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$^{\circ}\text{C}$	:	santigrad derece
cm	:	santimetre
dk	:	dakika
g	:	gram
M	:	molar
mg	:	miligram
ml	:	mililitre
mm	:	milimetre
mM	:	milimolar
nm	:	nanometre
nmol	:	nanomol
sn	:	saniye
μl	:	mikrolitre
$\mu\text{mol/mg protein/dk}$	:	mikromol/miligram protein/dakika

KISALTMALAR

AChE	:	asetil kolinesteraz
ATR1	:	anjiotensin 2 tip 1
B	:	bor
BA	:	borik asit
BHT	:	butillenmiş hidroksi toluen
BSA	:	bovin serum albumin
CAT	:	katalaz
CCl_4	:	karbon tetraklorür
CDNB	:	1-chloro-2,4-dinitrobenzen
DDVP	:	2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate
DNPH	:	2,4- dinitrofenilhidrazin
DTT	:	ditiyotritol

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

EDTA	:	etilendiamintetraasetik asit
EPA	:	Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Örgütü (Environmental Protection Agency)
GPx	:	glutasyon peroksidaz
GR	:	glutasyon redüktaz
GSH	:	indirgenmiş glutasyon
GST	:	glutasyon-S-transferaz
H ₂ O ₂	:	hidrojen peroksit
H ₃ BO ₃	:	borik asit
IPM	:	entegre zararlı mücadelesi (integrated pest management)
JH	:	jüvenil hormon
L [•]	:	lipit radikali
LOO [•]	:	lipid peroksil radikali
LOOH	:	lipid hidroperoksidi
LSD	:	ortalamaların karşılaştırılmasında en küçük önemli fark (least significant difference)
MDA	:	malondialdehit
NAD	:	nikotinamid adenin dinükleotid
NPV	:	nükleopolihedrovirüs
¹ O ₂	:	singlet (tekli) oksijen radikali
OH [•]	:	hidroksil radikali
OP	:	organofosfor
PCO	:	protein karbonil
PMSF	:	fenilmetilsülfonil florür
Ppm	:	parts per million
ROT	:	reaktif oksijen türevi
SOD	:	süperoksit dismutaz
SPSS	:	Statistical Package for the Social Sciences
TBA	:	tiyobarbitürik asit
TCA	:	triklorasetik asit
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü (world health organization)
χ^2	:	kikare (Chisquare)

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Tüm canlılarda doğrudan sinir sistemine etkili olan organofosfatlı bileşikler gibi çeşitli kimyasal insektisitlerin zararlı böceklerin kimyasal mücadelesinde kullanımının artışı, çevre ve hedef olmayan diğer canlılar açısından önemli bir tehdit unsuru oluşturmaktadır (Bhavan-Saravana and Geraldine 2001, Fenske et al. 2002). Ayrıca zararlı böceklerle mücadelede sentetik analoglar, örneğin juvenil hormon analogu, priproksifen (Sumilaru 0,5 G), sentetik pretroidler, D-fenotrin (Neosumi NS), sipermetrin (*Cypermethrin*, Cyper) ve karbamat grubu kimyasallar gibi çevreye zararlı etkisi olan insektisitler hala kullanımdadır (He et al. 2002). Bu insektisitlere karşı böceklerin direnç geliştirdiği bilinmektedir (Barata et al. 2001, Anderson and Zhu 2004). Ayrıca malatyon gibi organofosfatlı insektisitlerin geniş bir alanda kullanımı önemli çevresel ve toplumsal sorunlara yol açmaktadır. Bu amaçla son çalışmalar hedef olmayan yararlı böcekler, insan ve diğer canlılara karşı toksisitesi düşük ve doğrudan etkisi bulunmayan bor bileşiklerinin alternatif kimyasal mücadele yöntemlerinde kullanılması üzerine yoğunlaşmıştır.

Bor (B) bitkiler (Warrington 1923) ve hayvanlar (Ford et al. 1998, Rowe et al. 1998, Park et al. 2004) için temel bir mikrobesein kaynağıdır. Bitkilerde borat hücre içi bağlanma ve hücre yapısının devamı için gerekli olan hücre duvarında bulunan pektik polisakkarit ramnogalakturnan II ile çapraz bağ yapar (Ishii and Matsunaga 1996, Kobayashi et al. 1996, O'Neill et al. 1996). Borun hayvanlardaki kesin rolü açık olmamasına rağmen bor eksikliğinin Afrika pençeli kurbağası *Xenopus laevis* (Daudin 1802)'in embriyodan larva gelişimine doğru sindirim kanalı ve gözlerinde anormal gelişime sebep olduğu gösterilmiştir (Ford et al. 1998). Bor aynı zamanda mayanın (*Saccharomyces cerevisiae*) (Meyen ex E.C. Hansen, 1883) normal çoğalabilmesi için gereklidir (Bennett et al. 1999). Bu amaçla gerekli borun hücrelere sağlanabilmesi için besin ile alınan borun taşınmasının düzenlenmesi gereklidir.

Borun zarın bir tarafından diğer tarafına taşınmasında (transmembran taşınma) üç yol belirlenmiştir. Birkaç yıl öncesine kadar plazma zarı boyunca borun pasif diffüzyon ile taşındığı düşünülmekteydi (Hu and Brown 1997). Son zamanlarda başlıca intrinsik protein (MIP) ile kolaylaştırılmış borun geçirgenliği ve bir taşıyıcı aracılığıyla aktif bor taşınması belirlenmiştir. Dordas et al. (2000) *X. laevis* (Daudin) yumurtalarının borik asit alımı, mısır bitkisinden izole edilen bir MIP olan PIP1'in cRNA'sının enjeksiyonu ile kolaylaştırılmıştır. Bu yumurta hücrelerini kullanarak *Arabidopsis thaliana* (Linnaeus Heynhold 1842) kökenli diğer MIP proteinleri, PIP1b, PIP2a ve PIP2b proteinlerinin borik asit alımını artırdığı gösterilmiştir (Nuttall 2000). *A. thaliana* (L. Heynh.)'da plazma zarında bor elementini hücre dışına atmak için bir taşıyıcı protein olan BOR1 son zamanlarda tespit edilmiştir (Takano et al. 2002). *S. cerevisiae*'deki homolog protein ScBOR1'in bor elementini hücre dışına taşıyan bir taşıyıcı protein olduğu bilinmektedir. Ayrıca memelilerde bulunan bir AtBOR1 homolog proteini olan NaBC1, Na⁺ ile eşleşen bir bor taşıyıcı protein olarak iş gördüğü tespit edilmiştir. BOR1 geninin homoloğu maya, bitki ve memelileri içeren birçok organizmada bulunmuştur (Park et al. 2004). Yüksek miktarlardaki borun kendi taşıyıcı proteini BOR1'i parçaladığı tespit edilmiştir. 10 mM borik asit *Arabidopsis*'de öldürücü olduğu halde, *S. cerevisiae* 80 mM bor bulunan ortamda yaşayabilmektedir ve bu özelliğinden dolayı bora toleranslı bir organizma olarak kabul edilir. Mayada bor taşıyıcı protein BOR1 hücre zarında bulunur. BOR1'e ilaveten DUR3 ve FPS1 proteinleri de mayada bor toleransı ile ilgilidir. DUR3 plazma zarında bulunan bir protein olup üre ve poliamin taşınmasında görevlidir. FPS1 ise ana intrinsik protein olup gliserol, asetik asit, arsenit ve antimonit taşınmasında rol oynar. Bu iki protein mayada bor üzerine zıt etki yapar. FPS1'in sentezlenmesi protoplazmadaki boru düşürürken, DUR3 proteini ise bor miktarında hafif artışa sebep olur. ATR1 geni mayada bor tolerans geni olarak belirlenmiştir. Bu genin ürünü ilaç-H⁺ antiportu olan DHA2 ailesinin bir üyesi olup zarı boydan boya 14 defa geçen bir transmembran proteindir. Mayada yapılan bir çalışmada ATR1 genin ürünü arttığında bora karşı aşırı derecede direnç geliştiği hücre içi bor seviyesinin düştüğü gözlenirken, ATR1 geninden yoksun hücrelerde bora önemli derecede hassasiyet gelişmiş ve hücre içi bor seviyesi artmıştır (Kaya et al. 2009).

Borik asit bor elementinin bir türevidir. Bor minerali ilk defa 1808 yılında izole edilmiştir. Doğada oksijenle birlikte boraks halinde bulunur. Önemli bileşikleri borik asit ve boraktır. Suda kolay eriyen borik asit kokusuz, uçucu olmayan, beyaz kristal granüller veya toz halindedir ve uzun süreden beri hamam böceği başta olmak üzere kapalı alanlardaki insan ve hayvan sağlığını doğrudan ya da dolaylı tehdit eden böceklerin mücadelesinde

kullanılmaktadır (Lang and Treece 1972, Ebeling 1995). Böceğin metabolizması üzerinde bir mide zehiri gibi etkisini gösteren borik asit son zamanlarda inorganik insektisit olarak kullanımdaki yerini almaya başlamıştır. Bu madde ön (foregut) ve orta bağırsağa (midgut) zarar verdiğinden besin alınmasını ve alınan besinin sindirilmesini önleyerek böceğin ölmesine sebep olmaktadır (Cochran 1995). Borik asitin böceklerdeki etki mekanizması tam olarak ortaya çıkarılmamış ancak bor mineralinin sindirim işlemini bozarak böcekleri öldürdüğü bilinmektedir. Bu durum böceğin yaşama ve gelişimi için gerekli olan besinsel ihtiyacını karşılayamamasına sebep olmaktadır. Borat iyonları aynı zamanda birçok işlevsel organik grup ve şeker alkoller ile güçlü kompleksler oluştururlar (Williams and Atalla 1981, Hu et al. 1997). Diğer taraftan borun hücreler arasındaki bağlantı bölgelerini tahrip ettiği bilinmektedir (Klotz et al. 2000). Ayrıca borik asitin zararlılarla mücadelede kullanılmasının diğer nedeni kısırlaştırıcı etkisinden dolayı böceğin çoğalmasını önlemesidir (Borkovec et al. 1969, Settepani et al. 1969, Zhou and Le Patourel 1990). Borik asit aynı zamanda besinle karıştırıldığında böceğin besin almasını uyarır. Bunun sonucunda tüketilen besin miktarının artması ile alınan borik asit miktarı da artar. Borik asit özellikle bal arıları, kuş, balık, sucul omurgasızlar ve biyolojik kontrol ajanı yararlı böceklerle ve memelilere karşı toksik etkisi çok düşüktür (Weir and Fisher 1972). Fosfor ve kalsiyum böceklerin larval evresi için oldukça önemli besinsel elementlerdir. Borik asit ve sodyum tetraboraks kalsiyum, magnezyum, bakır ve fosfor gibi besinsel elementlerin metabolizmasını etkiler. Besindeki bor türleri hızlı ve tam olarak absorbe edilir. Besinle alınan bor minerali ya alınır alınmaz ya da absorpsiyondan hemen sonra borik asite (H_3BO_3) dönüştürülür. Borik asit yüksek konsantrasyonlarda karbohidratlar (monosakkarit ve polisakkaritler), nükleotidler (adenozin monofosfat, NAD) ve vitaminler (askorbik asit, pridoksin ve riboflavin) ile kompleks oluşturarak bu besinsel moleküllerin yeterli derecede alınmasını önler (Xue and Barnard 2003).

Borik asitin zararlı böceklerle mücadelede insektisit ve böcek uzaklaştırıcı, tropikal meyvelerde fungusit olarak kullanılmasına Amerika'da uzun süreden bu yana izin verilmiş ve tescil edilmiştir. Borik asit ve farklı türlerini içeren insektisitlerin çoğu Amerika ve Avrupa ülkelerinde Perma-Dust PT240 (Borik asit), Dragon (% 99 ortofosforik asit ve % 1 etkisiz bileşen), Bora-care ve Timbor veya Bora care (Sodyum borat, disodyum oktaborat tetrahidrat) gibi birçok ticari isimlerle satışa sunulmuş olup emulsifiye edilebilir, sulandırılabilir ve çözünebilir toz şeklinde ya da mikrokapsüllenmiş halde kullanıma hazır olarak temin edilebilir. Zararlılarla mücadele ile ilgilenen uzmanlar bu insektisitleri ağaçları enfekte eden bazı kın kanatlı böceklerin kontrolü ve bu ağaçların belli bir bölgesinde termitler tarafından

verilebilecek zararı önlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Diğer taraftan, sodyum tetraborat püskürtme (spray) şeklinde meyve sineği *Anastrepha suspensa* (Loew, 1862) gibi ekonomik kayıba yol açan tarımsal zararlıların kontrolünde çevre ve hedef olmayan canlılara oldukça toksik olan organofosfatlı insektisitlere karşı güçlü bir alternatif olmuştur. Son zamanlarda çalışmalar, besi hayvanı yetiştirme çiftliklerinde bu hayvanlara doğrudan zarar veren ya da yemleri aracılığıyla çeşitli hastalıkların bulaşmasına sebep olan vektör böceklerle mücadele yöntemlerine yoğunlaşmıştır (Zurek et al. 2003).

Bazı zararlı böceklerin mücadelesinde hedef olmayan diğer canlılara karşı düşük toksisiteye sahip, uçucu olmayan inorganik insektisitler borik asit ve türevleri sodyum tetraborat (boraks), disodyum oktaborat tetrahidratın şeker çözeltileri ile oluşturulduğu karışımlar kullanılmıştır. Sodyum tetraboratın % 0,1'lik konsantrasyonu tropik meyvelere zarar veren *A. suspensa* (Loew)'nın ölüm oranını artırmış, üremesini yavaşlatmıştır (Yang et al. 2000 b). Aynı maddenin % 0,5'lik çözeltisi yumurta üretimi ve açılımını azaltmıştır. Laboratuvar şartlarında yapılan çalışmalar borik asitin % 1'lik çözeltisinin % 10'luk sükröz çözeltisi ile karışımının bir sivrisinek türü, *Aedes albopictus* (Skuse 1894) popülasyonunu % 98 oranında azalttığını ortaya çıkarmıştır (Xue and Barnard 2003). Türkiye'de zararlılarla yapılan mücadele çalışmalarında halk arasında geleneksel olarak kullanılan borik asitin inorganik insektisit olarak ticari formülasyonları tarım zararlıları ve haşere ilaçları üreten firmalarda bulunmamakta olup profesyonel anlamda kullanılmaktadır.

Amerika'da borik asitin etkinliğinin değerlendirilmesine yönelik bir pilot program kapsamında askeri tesislerde borik asitin aylık sprey yöntemi ile uygulanan klorpirifos (Dursban®)'dan daha etkili olduğu bulunmuştur. Amerika'da okul kafeteryasında hamam böcekleri ile mücadelede entegre zararlı mücadelesi (Integrated Pest Mangement, IPM) ile birlikte çatlak, yarık ve kovuklara borik asit uygulanması sonucunda bir kovukta bir borik asit tuzağındaki böcek miktarı üç ay içerisinde 40'dan 3'e kadar inmiştir. Tek borik asit uygulaması ile iki yıl boyunca bu oran muhafaza edilmiştir. Aynı miktarda Dursban® ile kontrol çalışmalarında iki defa uygulama gerekmektedir. Bu insektisit ile mücadelede insektisit bir çok defa uygulanması dikkate alındığında borik asitin ücret olarak daha ekonomik olduğu anlaşılmaktadır (Daar 1988).

Apis mellifera (Linnaeus 1758)'nın besinine 2,5 ve 7,5 mg/g (mg/g besin) oranında ilave edilen borik asit, kontrol grubuna göre işçi larvaların ölüm oranını ilerleyen günlere göre

artırmış olup borik asitin 2,5 mg'ı 5. ve 6. günde larvaları % 100 oranında öldürürken, 7,5 mg'da 4. günde % 100 ölüm oranına ulaşılmıştır (Cruz et al. 2009). Bu çalışmada ışık mikroskopi analizleri besine 1,0 ve 2,5 mg borik asit ilave edildiğinde orta bağırsak hücrelerinde sitoplazmik vakuolleşmenin başladığını, 7,5 mg borik asitte ise yoğun bir vakuolleşme olduğunu göstermiştir. Ayrıca yağ doku hücrelerinde piknotik çekirdekler ile birlikte hücre fragmentasyonları görülmüştür. Ultrayapı analizi ile ilgili olarak yapılan taramalı elektron mikroskop çalışmaları ise 7,5 mg borik asitin mitokondrilerin bazı bölgelerinde elektron yoğun granüllerin oluşumuna, mitokondrilerin hacimlerinde artıştan dolayı tipik morfolojik yapılarında bozulmaya sebep olduğunu göstermiştir (Cruz et al. 2009).

Borik asitin tek başına ya da borik asitin çeşitli biyolojik kontrol ajanları entomopatojenik bakteri ve virüsler ile karışım halinde çeşitli zararlı böceklerin mücadelesinde kullanımı çalışmaları çok eskilere dayanmaktadır. Borik asitin besinler ile karışım halinde, kara sineklerin ve Alman hamam böceğinin mücadelesinde oldukça etkili olduğu 1940'larda tespit edilmiştir (Midgley and Dunklee 1943, Bare 1945). Doane ve Wallis (1964) *Bacillus thuringiensis* (Berliner 1715)'in patojenitesi üzerine etkisini araştırdıkları birçok kimyasal arasından borik asit ve *B. thuringiensis* (Berl.)'in bir kombinasyonunun kır tırtılı türü *Prothetria dispar* (Linnaeus) larvalarının ölüm oranını artırdığını tespit etmişlerdir. Bazı termit türleri, *Microcerotermes championi* (Snyder), *Odontotermes obesus* (Rambur 1842) ve *Bifiditermes beesonii* (Gardner 1944)'ye karşı % 1'lik borik asit tarafından *B. thuringiensis* (Berl.)'in patojenitesini artırmaya yönelik çalışma yapılmıştır (Khan 2006). Bu çalışmada % 1'lik borik asitin tek başına bu termit türlerine toksik etki yaptığı belirlenirken, % 1'lik borik asit ve belirli dozlarda *B. thuringiensis* (Berl.) karışımı ile beslenen böceklerde ölüm oranının önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. Bu inorganik insektisit *B. thuringiensis* (Berl.) ve bazı bakulovirüslerin böcekler üzerindeki aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir (Shapiro and Bell 1982, Morris et al. 1995). Örneğin, soya fasülyesi zararlısı, *Anticarsia gemmatilis* (Hübner 1818)'in nükleopolihedrovirüsünün öldürücü konsantrasyonu (LC), bu virüs borik asitin % 0,045'lik konsantrasyonu ile birlikte denendiğinde önemli derecede düşmüştür (Morales et al. 1997). Benzer sonuçlar % 0,5 ve % 1 oranında borik asitin *Lymantria dispar* (Linnaeus 1758) ve *Spodoptera litura* (Fabricius 1775)'nin nükleopolihedrovirüsleri (NPV) ile hazırlanan karışımlarından da elde edilmiştir (Shapiro and Bell 1982, Chaudhari 1992). Cisneros et al. (2002) *Spodoptera frugiperda* (Smith 1797) nükleopolihedrovirüs (sfMNPV)'ü ile birlikte bir fagostimülant ya da virüs etkisini artırıcı bir madde olarak borik asiti kullanarak bu virüsün *S. frugiperda* (Smith) üzerinde öldürücü etkisini artırmaya çalışmıştır. Bu

çalışmada borik asitin % 0,5 ve % 1'lik konsantrasyonları tek başına *S. frugiperda* (Smith) nın ölüm oranı üzerine etkili olmamıştır. Borik asit % 1'lik konsantrasyonun üzerindeki konsantrasyonlarda virüsün belirli konsantrasyonu (80 OBs/mm²) ile karıştırıldığında, virüsün böceğin ikinci evre larvaları üzerindeki öldürücü etkisi virüsün tek başına sebep olduğu ölüm oranına göre önemli derecede artmıştır. Aynı çalışmada yapılan arazi denemelerinde virüs ve % 1 borik asit içeren mısır unu granüllerinin mısır bitkisine uygulanmasının da virüsün tek başına uygulanmasına göre böceğin ölüm oranının önemli derecede arttığı görülmüştür. Cisneros et al. (2002) aynı çalışmada laboratuvar ortamında % 1 ve % 4 borik asit içeren mısır unu granüllerinin Dermaptera takımına ait tür olan kulağa kaçan *Doru taeniatum* (Dohrn 1862)'a karşı toksik olmadığını belirlemiştir. Diğer taraftan, aynı araştırmacılar mısır bitkilerine arazide püskürtme yöntemi ile uygulanan aynı konsantrasyonlardaki borik asitin (% 1 ve % 4) sentetik insektisitlere (klorpirifos) göre doğal düşmanların [kulağa kaçan böcekleri, predatör böcekler, predatör nöropterler ve kın kanatlılar, örümcekler, avcı sinek larvaları (syrphid)] ya da diğer hedef olmayan böceklerin [(Lepidopter larvaları, fitofaj kınkanatlılar, tripler ve yaprak biti kolonileri (afitler)] bulunma oranını önemli derecede azaltmadığını göstermişlerdir.

Ülkemiz ekonomisine önemli katkı sağlayan kovan ürünlerinin önemli zararlıları üzerinde yapılacak bu çalışma hem ekonomik öneme sahip bitkilerin yetiştirilmesi hem de hasat sonrası ürünlerin saklanması sırasında zararlı böceklerin etkilerini ortadan kaldırmaya yönelik girişimler için yönlendirici olacaktır. Bu çalışmada yapay besin ile alınan borik asitin yüksek miktarlarının larvaların sindirim sistemini dejenere ederek yeterli besin alınmasını engelleyeceği düşünüldüğünden ergin evreye ulaşma oranı azalacaktır. Diğer bir çalışma Alman hamam böceği *Blattella germanica* (Linnaeus 1767) üzerinde yüksek konsantrasyonlarda (0,1-0,5 M) sükröz çözeltisi ile hazırlanmış % 1 ve 2'lik borik asit çözeltisi kullanılarak yapılmıştır. Ancak yüksek şeker (0,5 M) ve borik asit (% 2) konsantrasyonlarının karışımları böceği besinden uzaklaştırıcı ve dolayısıyla besin almayı önleyici etki yaparak böcek üzerinde etkili olmamıştır. Borik asitin % 1'lik çözeltisi 0,5 M sükröz ile karıştırıldığında ise *B. germanica* (L.) populasyonunu önemli derecede düşürmüştür (Gore and Schal 2004, Gore et al. 2004).

Borik asitin (inorganik bir madde) Alman hamam böceği *B. germanica* (L.)'nın (Insecta, Dictyoptera) ilk gonadotrofik döngüsü (0, 2, 4 ve 6. günler) boyunca üreme üzerindeki etkisi araştırılmış olup bu inorganik insektisit her iki ovaryumda da oosit sayısını ve oositlerin

boyutunu azalttığı tespit edilmiştir (Kilani-Morakchi et al. 2005). Ayrıca bu çalışma borik asitin yumurtalıkların protein, lipid ve karbohidrat bileşenlerini önemli derecede azalttığını göstermiştir. Borik asit formülasyonları sivrisinek gibi halk sağlığını tehdit eden ve bazı virüs, bakteri ve diğer hastalık ajanlarının taşıyıcısı birçok böcek ile hamam böceği ve karınca gibi kapalı alan zararlılarının kontrolünde de eskiden beri alışılagelmiş bir şekilde kullanılmaktadır (Hayes and Laws 1991, Klotz and Moss 1996, Klotz et al. 1996, 1997 a,b, Xue and Barnard 2003). Bu böceklerin mücadelesinde borik asitin tek başına ya da bazı şekerler ile karışımları jel, püskürtme veya toz şeklinde kapalı alanlara uygulanabildiği gibi tarımsal alanlarda bitkilerin yaprak, kök ve gövdelerine de benzer yollar ile uygulanabilmektedir. Fipronil, hidrametilon, diflubenzuron gibi insektisitlerin besinsel karışımları ile bazı pretroid ve organofosfat insektisitlerin öldürücü olmayan dozlarının çeşitli böceklerin mücadelesinde kullanıldığında borik asite göre hedef böceğe verdikleri zarar yanında çevreye ve hedef olmayan organizmalara da zararlı oldukları tespit edilmiştir (Zhang et al. 1990, Budia and Vinuela 1996, Nath and Kumar 1999, Ulloa-Chacón and Jaramillo 2003). Borik asitin % 10'luk şeker çözeltisi içinde % 0,5'lik besin karışımı hayalet karınca *Tapinoma melanocephalum* (Fabricius 1793)'nın işçi, kraliçe erginleri ile larva ve puplarını üç hafta sonunda % 100 oranında öldürmüştür. Fipronilin % 0,05 konsantrasyonu ilk hafta içinde bu karınca türünün tüm kolonilerini öldürmüş, hidrametilonun % 2 konsantrasyonu ise kolonilerin % 83'ünü dördüncü haftanın sonunda öldürmüştür (Ulloa-Chacón P and Jaramillo G I 2003).

Canlıların kimyasal maddeler veya çevre kirliliğine neden olan maddeler gibi çeşitli yabancı maddelerin etkileri altında kalmaları, serbest oksijen radikallerinin oluşumuna ve dolayısıyla metabolik olayların bozulmasına neden olur. Canlılarda oksijen bulunan bir ortamda çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlerle oksijen radikalleri yapılabilir. Özellikle oksijenin metabolize edildiği canlılarda önemli derişimlerde radikal üretimi gerçekleşir. Oksijen radikalleri dış kaynaklı (ekzojen) ve iç kaynaklı (endojen) olarak oluşmaktadır. Normal metabolik olaylar sırasında ara ürün olarak oluşabilmektedir. Bu radikaller belirli seviyenin üzerine çıktığı zaman canlı için ciddi tehlikeler oluşturmaktadır. Serbest oksijen radikalleri sahip oldukları paylaşılmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif atom ve moleküllerdir. Bu radikaller hücre zarının doymamış yağ asitleri, protein bileşimi üzerine zarar vermektedir (Halliwell 1994, Heinle and Betz 1994). Serbest radikallerin zar ile etkileştiği durumda enzimler, hormonlar ve nörotransmitter maddeler olumsuz yönde etkilenmektedir. Patofizyolojik durumlarda üretilen serbest oksijen radikalleri böceklerde de antioksidan sistemler ile

uzaklaştırılır (Felton and Duffey 1991, Felton and Summers 1995, Krishnan and Sehna 2006). Omurgalılarda olduğu gibi böceklerde serbest oksijen radikallerinin yapmış olduğu hasarı önleyen enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemleri vardır. Enzimatik sistemin başlıcaları süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon-S-transferaz (GST) enzimleridir (Ahmad et al. 1989, 1991, 2005, Ahmad 1992, Kono and Shishido 1992, Krishnan and Kodrik 2006). Bunların yanında, *Helicoverpa zea* (Boddie 1850) türünün larva evresinde antioksidan enzim askorbat peroksidazın (Mathews et al. 1997) ve *Drosophila*'da ise tiyoredoksin peroksidazın (Missirlis et al. 2003) varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca oluşan serbest radikaller sonucu hücre zarının ve diğer hücresel lipid yapısının bozulmasıyla lipid peroksidasyonu olarak tanımlanan bir dizi reaksiyon gerçekleşir ve sonuçta aldehit türevleri özellikle malondialdehit (MDA) oluşur. MDA miktarının yükselmesi lipid peroksidasyonu seviyesinin önemli bir göstergesidir (Ahmad et al. 1995, Mano et al. 1995, Krishnan et al. 2009).

Lipid peroksidasyonu hem reaktif oksijen türleri (ROT) aracılıklı tepkimelerle meydana gelen hem de kendisi ROT üretimine neden olan bir olaydır. Lipid peroksidasyonu hakkında çok iyi bilinen iki olgu vardır. Birincisi, hücre membranı ve hücresel organellerde fazlaca bulunan çoklu doymamış yağ asitleri ROT'a oldukça duyarlıdır; ikincisi, lipid peroksidasyonu zincir tepkimelerle yürümektedir. Lipid peroksidasyonunun başlamasına singlet oksijen (1O_2) gibi ROT veya karbon tetraklorür (CCl_4) gibi çeşitli kimyasallar neden olmaktadır. ROT çoklu doymamış yağ asitleri ile etkileştiğinde bu molekülden bir hidrojeni kopartarak bir lipid radikalinin ($L^{\cdot}$) oluşumuna neden olur, çoklu doymamış yağ asitleri çift bağ düzenlenmesi ile bir dien konjugatına dönüşür, buna bir oksijenin eklenmesiyle de lipid peroksil radikali ($LOO^{\cdot}$) meydana gelir (Sevgiler 2007). Oldukça reaktif olan peroksil radikali komşu yağ asidinden bir hidrojen alarak lipid hidroperoksidi ($LOOH$) ve yeni bir lipid radikali meydana getirir (Halliwell 1996). Böylece lipid peroksidasyonu ilerlemeye devam eder. Hücre membranlarında lipid peroksidasyonunun ilerleme tepkimeleri ile alkanlar, isoprostanlar ve karbonil bileşikler (MDA) gibi çok çeşitli yan ürünler açığa çıkmaktadır (Ansari et al. 1989, Djordjevic 2004).

Lipid peroksidasyonu membranın akışkanlığını değiştirerek, bir veya iki değerlikli iyonlara geçirgenliği artırır ve membrana bağlı enzimlerin ve reseptörlerin inaktivasyonuna neden olur. Peroksidasyon tüm membran lipidlerinin yıkımına yol açabilir. Proteolitik enzimler içeren lizozomlarda membran yıkımı ile bu enzimler hücre içine salınır ve aktivasyonları ile

hücrel hasar artar. Bu nedenlerle membranlarda meydana gelen lipid peroksidasyonunun kontrol edilememesi membranların yapı ve işlevlerinde önemli değişimlere ve giderek hücre ölümüne neden olmaktadır (Djordjevic 2004).

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, organoklorlu ve organofosforlu (OP) pestisidler, poliklorlu bifeniller ve diğer ksenobiyotikler bu tip oksidatif hasar ile önemli etkilere neden olmaktadır. Bu nedenle lipid peroksidasyonunun ölçülmesi böyle bileşiklerin oksidatif etkilerinin değerlendirilmesinde indikatör olarak kullanılmaktadır (Valavanidis et al. 2006). Lipid peroksidasyonunun belirlenmesinde kullanılan en basit ve en yaygın yöntem arakidonik asit ve diğer çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ve arakidonik peroksitlerin parçalanma ürünü olan MDA miktarının belirlenmesidir (Spiteller 2001).

Lipid peroksidlerinin parçalanma ürünleri zamanla hücre hasarı ile birlikte artarlar. Bu ürünlerin klasik örneği "lipofüsin" (lipofuscin) ve "ceroid" (doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan oksitlenmiş çoklu doymamış lipid pigmentleri)'dir. Bunlara "kromolipidler" veya "yaş pigmentleri" adı verilir. Lipid peroksidasyon ürünlerinin amino asit, protein, fosfolipid ve DNA'daki primer amino grupları ile reaksiyonları sonucu meydana gelirler. Yaşla birlikte lipofüsin sentezi artar ve memelilerde özellikle sinir sistemi, kalp ve kas hücreleri gibi postmitotik (bölünmeyen), hücrelerde birikir.

Diğer taraftan oksidatif strese bağlı olarak oluşan in vivo DNA ve protein hasarının, lipidlerdeki hasardan daha önemli olduğu öne sürülmektedir (Reznick and Packer 1994). Proteinlerde in vivo olarak meydana gelen oksidatif değişiklikler, proteinlerin rol oynadığı çeşitli hücrel fonksiyonları etkiler. Reseptörlerin, sinyal ileti mekanizmalarının, yapısal proteinlerin, transport sistemlerinin ve enzimlerin rol oynadığı hücrel olaylar oksidatif protein hasarından etkilenir (Hu 1994, Levine et al. 1994, Evans et al. 1999).

Oksidatif protein hasarı, protein karbonil (PCO) düzeylerindeki artış (Hu 1994, Levine et al. 1994, Evans et al. 1999) ve protein tiol düzeylerindeki azalma (Takenaka et al. 1991, Bourdon et al. 1999) ile karakterizedir. Reaktif oksijen türlerinin proteinlerle etkileşimi sonucunda histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi çok sayıda amino asit kalıntısında ve/veya peptid omurgasında meydana gelen oksidatif hasar sonucunda PCO ürünleri meydana gelir (Hu 1994, Levine et al. 1994, Evans et al. 1999). PCO düzeylerinin saptanmasının oksidatif protein hasarını belirlemede duyarlı bir yöntem olduğu bildirilmektedir (Hu 1994, Levine et

al. 1994, Evans et al. 1999). Diğer taraftan serbest radikaller proteinlerdeki tiol gruplarının oksidasyonuna yol açarak oksidatif protein hasarına neden olur (Takenaka et al. 1991, Bourdon et al. 1999).

Protein oksidasyonu, ROT ($\text{OH}^\cdot$, H_2O_2 gibi) ile doğrudan veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile reaksiyonu sonucu dolaylı olarak indüklenen, proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanmaktadır (Gülbahar 2007). Serbest radikallerin oksidan etkisi sonucu meydana gelen oksidatif protein modifikasyonu ve bunun sonucu oksitlenmiş proteinlerin fazla miktarda birikmesi hücre ve doku hasarına neden olur (Stadtman 1992, Dean et al. 1997).

Proteinler serbest radikal saldırılarına doymamış yağ asitlerinden daha az duyarlıdırlar. Çok yoğun bir saldırı olmadıkça fazla hasar görmezler (Chesemann and Slater 1993). Protein, geçiş metal iyonunu özel bir bölgeden bağlarsa, geçiş metal iyonu H_2O_2 ile reaksiyona girerek $\text{OH}^\cdot$ radikalini oluşturur. $\text{OH}^\cdot$ radikali de hasar verici etkisini metal bağlanma bölgesinde veya ona yakın bölgelerde meydana getirir. Proteinlere olan serbest radikal ataklar, peroksitlerin ve karbonillerin oluşumu ile sonuçlanır.

Bu kullanılan inorganik insektisit borik asitin böceğin metabolik faaliyetleri üzerine etkilerinin araştırılması, diğer böceklerle mücadelede kullanılan maddeler için de bir ışık olacaktır. Bir organofosfat insektisit olan fenitrotiyonun pamuk çizgili yaprak kurdu *Spodoptera exigua* (Hübner 1808) ve un zararlısı olan *Tenebrio molitor* (Linnaeus 1758) türlerinin yağ dokusu ağırlığında ve antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktiviteleri üzerinde değişikliğe sebep olduğu gösterilmiştir (Adamski et al. 2003). Kadmiyum bir heteropter tür *Oncopeltus fasciatus* (Dallas 1852)'un lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA seviyesini arttırmış ve bazı antioksidan enzimlerin aktivitelerini düşürmüştür (Cervera et al. 2003). GST enzimi *Nilaparvata lugens* (Stal 1854) türünde pretroid grubu insektisitlere karşı direnç kazanmasını sağlamıştır (Vontas et al. 2001). Endosülfanın *Helicoverpa armigera* (Hübner 1805)'nın farklı evrelerindeki çeşitli dokularında (tüm vücut, orta bağırsak, hemolenf, yağ doku, kutikula) GST aktivitesi incelenmiş ve aktivitenin yağ dokuda en yüksek olduğu, yumurta evresinde ise en düşük olduğu ortaya çıkarılmıştır (Rajurkar et al. 2003). *A. mellifera* (L.) ile yapılan bir çalışmada işçi arı, erkek arı ve kraliçe arının farklı dokularında (kas, mide, hemolenf, spermetaka ve semen) CAT, SOD, GST aktiviteleri incelenmiştir (Weirich et al. 2002). Yakınlarda yapılan bir çalışma borik asitin böceklerde sindirim işlemini ve enzimatik antioksidan savunma sistemini olumsuz etkilediğini açıkça göstermiştir (Habes

et al. 2006). Bu çalışmada Alman hamam böceği *B. germanica* (L.)'nın besinine ilave edilen borik asitin orta bağırsağın yapısında histolojik değişime sebep olduğu ve GST aktivitesini artırdığı ortaya çıkarılmıştır.

Önceki çalışmalarımızda denenen borik asit ve sodyum tetraboratın *Galleria mellonella* (Linnaeus 1758) (Lepidoptera:Pyralidae)'nın yaşama, gelişme, erkek ve dişi ömür uzunluğu üzerinde etkileri denenmiş olup (Hyršl et al. 2007, 2008, Durmuş and Büyükgüzel 2008) bu maddelerin bu böceğin eşey oranı, yumurta verimi ve yumurtaların açılma oranına etkileri denenmemiştir. Son çalışmalar borik asit içeren sıvı besin karışımlarının çeşitli karınca (Klotz et al. 1998, 2000) ve hamam böceği (Gore and Schal 2004) türlerinin üremesi üzerinde olumsuz etkisi olduğunu göstermesine rağmen bu formülasyonların ekonomik açıdan önemli tarımsal zararlı böceklerin yumurta verimi ve açılma oranı üzerine etkisi detaylı çalışılmamıştır. Ayrıca borik asitin bu böceklerin yumurta verimi üzerindeki olumsuz etkisinin mekanizması hakkında detaylı bilgi bulunmamaktadır.

Büyük balmumu güvesi *G.mellonella* (L.) bal arılarının (*A. mellifera*) ekonomik zararlılarından olup arıcılık yapılan, özellikle düşük rakımlı, ılıman iklim bölgelerinde yaygın olarak bulunmakta (Allan 2000), ve tüm dünyada arıcıların peteklerini korumada sıkıntıya düştükleri önemli bir zararlı olarak tanınmaktadır (Sanford 2003). Büyük balmumu güvesinin ergin, pupa ve yumurta evresindeki bireyleri kabartılmış peteklerde tahribata neden olmazken, larvaları, uygun çevre şartlarında (sıcaklık, nem, besin) kolonilerin işçi arı varlığına bağlı olarak farklı seviyelerde zarar vermektedirler. Büyük balmumu güvesi ortam sıcaklığının +4 °C'nin üzerinde ve oransal neminin % 70 civarında olduğu ortamda gelişmekte, genellikle depolanan kabartılmış peteklerin iç kısımlarında tüneller açarak peteğin tekrar kullanılma olasılığını ortadan kaldırmaktadır (Ritter et al. 1992, Haewoon et al. 1995). Sağlıklı ve güçlü kolonilerde büyük balmumu güvesi hasarı, işçi arıların zararlıyı baskılamaları sonucu arıcılar tarafından fark edilmezken, çeşitli nedenlerle ergin işçi arı sayısı azalmış zayıf kolonilerde önemli ekonomik kayıplar ile arıların kovani terk etmesi gözlenebilmektedir (Sanford 2003). Büyük balmumu güvesine karşı kabartılmış peteklerin korunmasında çeşitli ülkelerde kimyasal [(aluminum phosphide, methyl bromide, etilen dibromid, paradiklorobenzen (Naftalin), kükürt)], fiziksel (soğuk-sıcak) uygulamaları ve biyolojik insektisitler (*B. thuringiensis*), karbondioksit (Akyol vd. 2009) gibi mücadele yöntemleri farklı şekillerde kullanılmaktadır (Tutkun vd. 1987, Ritter et al. 1992, Ahmad 1994, Yacobson et al. 1997, Delaware 2000, Kumova ve Korkmaz 2002). Ülkemizde 5 milyona yakın bal arısı

kolonisinden yılda yaklaşık 3,500–4,000 ton bal mumu üretilmekte (Anon. 2006) olup, arıların değişik oranlarda büyük balmumu güvesi ile bulaşık olduğu bildirilmektedir (Çağlar vd. 2001). Arı kolonilerinde 1 kg balmumu üretimi için ortalama 8-10 kg bala eşdeğer nektar tüketmeleri gerekmektedir (Whitcomb 1946). Dolayısıyla koloninin gereksinimi olan peteklerin yapımı sırasında, arılar bal üretimi için kullanılacak nektarı balmumu üretiminde kullanılmakta ve birim kovan başına bal üretimi azalmaktadır.

Bu çalışmada ayrıca borik asitin *G. mellonella* (L.)'nın üzerindeki fizyolojik ve biyokimyasal etkisinin araştırılmasında, borik asit içeren besinler ile yetiştirilen erginler tarafından yeni bırakılmış yumurtaların lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu seviyesi ile önemli detoksifikasyon ve antioksidan enzim olan GST aktivitesindeki değişimlerin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu değişimler ile birlikte, böceğin yaşama oranı, eşey oranı, yumurta verimi, yumurtaların açılma oranı, erkek ve dişi ergin ömür uzunluğunu olumsuz yönde etkileyen borik asit konsantrasyonlarının tespit edilmesi borik asitin inorganik insektisit olarak kullanılabilirliğinin kararlaştırılmasında önemli kriter olacaktır. Böylece kendi öz kaynaklarımızın işlenmesi ile geliştirilen bir ürünün tarımsal zararlı böcekler ile mücadelede kullanılması ülkemiz bilimine, sanayisine, teknolojisine ve ekonomisine bir katma değer sağlayacağı gibi ulusal ve uluslar arası pazarlardaki payını da artıracaktır. Diğer taraftan, zararlılar ile mücadeledeki bu yeni yaklaşım tarımsal ürünlerin korunmasında çevreye duyarlı bir yöntem olacaktır. Bu çalışma sodyum tetraborat, sodyum oktaborat, susuz borat gibi diğer bor türevlerinin de tarımsal zararlı böceklerin mücadelesinde çevre dostu ve ucuz inorganik insektisitler olarak kullanılma denemelerini teşvik edebilecektir.

Türkiye, dünyanın önemli tarım ürünlerini üreten ve ihraç eden ülkelerinden biridir. Lepidoptera takımının Pyralidae familyasına ait türler tarım bitkilerine bulaşarak zarar yapmakta ve üretimi önemli derecede düşürmektedir. İnsektisitlerin de dahil olduğu pestisitler gerek çevre, gerek sağlık ve gerekse ekonomik açıdan getirebilecekleri olumsuzluklar gelişmiş ülkelerde gayet iyi bilinmektedir. Bunun için, başta Avrupa Birliği (AB) olmak üzere, tüm gelişmiş ülkelerde tüketilecek tarım ürünleri çevre ve sağlık açısından sürekli denetlenmektedir. Bu denetimlerde sivil toplum örgütlerinin de payının ve baskısının olması konuyu daha da ciddi hale sokmuştur. Bunun için de, örneğin AB Ülkeleri Perakendecileri Tarım Ürünleri Çalışma Grubu, İyi Tarım Uygulamaları Protokolü (EUREPGAP)'nü 1 Ocak 2004'te yürürlüğe koymuşlardır. Bu protokol ile AB perakendecileri, raflarına koydukları ürünlerin müşterilerine zararlı olmayacağına dair garanti ve güvence vermektedirler.

EUREPGAP Sertifikası, yabancı perakendecilerin üreticinin ürününü satın alması açısından bir garantidir (Anon. 2004). Yukarıda da vurgulandığı gibi, gelişmiş ülkeler pestisitlerin çevre ve sağlık açısından risklerini artık ciddi biçimde değerlendirmektedir. Bu nedenle, bir yandan pestisitleri çok bilinçli ve kontrollü kullanırlarken, diğer yandan da riskli pestisitlerin kullanımlarını sınırlamak ya da tamamen durdurmak yönüne gitmektedirler.

Ülkemizde zararlı böceklerin mücadelesinde geniş etki alanına sahip kimyasal insektisitlerin kullanımı çok yaygındır. Bu uygulamalar gerek çevrede gerekse hedef olmayan diğer canlılarda insektisit birikimine dayanan metabolik düzensizliklerin oluşmasına ve ekolojik dengenin bozulmasına neden olmaktadır. Böyle bir durum ekolojik sistemlerdeki besin zincirinin bazı basamakların da aksamaya yol açarak uzun dönemde önemli çevre sorunu oluşturmaktadır. Tarla ve bahçe bitkilerinin yetiştirilmesi sırasında, ayrıca hasat sonrası depolanmış ürünlere zarar vererek önemli kayıba yol açan zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılan kimyasal insektisitlerin olumsuz etkilerinden dolayı alternatif yeni yöntemler ve kimyasal maddeler üzerinde yoğun olarak durulmaya başlanmıştır. Bitkilerin yetiştirilmesi sırasında toprağa mikroelement olarak da ilave edilen bor mineralinin, çeşitli türevler halinde aynı zamanda zararlı böcekler ile mücadelede insektisit olarak kullanılması, ürünlere kalıntı ve koku bırakmaması sebebiyle son günlerde tüm pazarlarımızda bolca yer alan organik ürünlerin yetiştirilmesinde de hizmet edecektir.

Zararlılarla mücadelede oldukça toksik kimyasal maddeler (organofosfatlı insektisitler, paradiklorobenzen, metil bromid ve fosfin gazı gibi fumigantlar) yerine çevresel etkisi en az inorganik insektisit olan borik asit gibi bor türevi yeni maddeler kullanılması zararlı kimyasallardan kaynaklanan çevre kirlenmesini de önleyecektir. Böylece tarımsal alanlarda sağlıklı ürün alma, verim ve kalitesini artırma imkanlarına kavuşulurken insektisitlerin çevre üzerindeki etkisi giderek azalacak, tarım işçileri ve yerleşim bölgelerindeki halkın varlığı üzerindeki tehlikeler de ortadan kalkacaktır. Bu projeden elde edilecek sonuçlardan bitki koruma uzmanları, halk sağlığı uzmanları ve çevre uzmanları tarafından kendi alanlarında yapacakları çalışmalarda faydalanabilirler. Özellikle bitki koruma uzmanları bu çalışmanın çıktılarını arazi çalışmalarında deneyerek elde ettikleri sonuçları, bu alanda önemli yatırımlar yapmaya hazır olan tarımsal mücadele firmaları ile geliştirecekleri ortak sanayi ve teknoloji projeleri ile hayata geçirip endüstriyel uygulamaya dönüştürebilme potansiyeline sahiptirler. Borik asit, insan sağlığı ve yaşamı ile yakın ilişkili olan hamam böceği, karınca ve ev çıyanı gibi zararlı böceklerle mücadelede, besin saklama alanları, yemekhane, restoran, manav, un

ve yem fabrikaları, hayvan ve bitki yetiştirme alanları, yerleşim yerleri gibi kapalı ve açık alanlarda, çeşitli formülasyonlar şeklinde kullanılmaktadır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda borik asit ve türevlerinin insan sağlığı ve yaşamını ilgilendiren kapalı alanlardaki böceklerin mücadelesinde kullanılmış olması ve tarımsal açıdan önemli kayıplara neden olan böceklerde kullanımının yaygın olmaması bu konunun önemini daha da artırmaktadır. Ayrıca borik asit ve türevleri bu alanlarda ülkemizde bazı firmaların piyasaya sunduğu genel formülasyonlar şeklinde halen geleneksel yöntemler ile kullanılmaktadır. Türkiye ekonomisi için önemli kovan ürünlerine zarar vererek ekonomik kayıba yol açan büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* (L.) üzerinde bir model olarak borik asitin biyokimyasal ve fizyolojik etkisinin belirlenmesi, bu maddenin gerek tek başına kimyasal mücadelede gerekse biyolojik mücadele ile birlikte kullanılması için formülasyonların geliştirilmesinde önemli katkısı olacaktır.

Şimdiye kadar borik asitin besinsel karışımlarının *G. mellonella* (L.) ve diğer lepidopter böceklerin yumurta verimi üzerindeki kalitatif ve kantitatif etkileri belirtilmemiştir. Bu çalışmada yapay besine ilave edilen farklı konsantrasyonlardaki borik asitin *G. mellonella* (L.)'nın yumurtadan yeni çıkmış larvalarının ergin evreye kadar yaşama oranına, eşey oranına, erkek ve dişi ömür uzunluğuna, yumurta verimi ve açılma oranına etkisi incelenmiştir. Ayrıca böceğin yeni bırakılan yumurtalarında lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu seviyesini gösteren sırasıyla MDA ve protein karbonil miktarı ile detoksifikasyon enzimi GST aktivitesinde sebep olduğu değişimler de belirlenmiştir. Böylece farklı konsantrasyonlardaki borik asitin böceğin bazı biyolojik etkinlik özellikleri üzerindeki etki mekanizmasının oksidatif stres ile ilişkisinin biyokimyasal ve fizyolojik temelleri ortaya konmaya çalışılmıştır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

Dünyada ve ülkemizde tarım alanındaki zararlılar ile mücadele ederek daha kaliteli ürün elde etmek amacıyla geniş etkili kimyasal insektisitler yoğun olarak kullanılmaktadır. Tarımsal alanda kullanılan bu insektisitler hedef organizmaları yok ederek ürün artışına neden olduğu gibi hedef olmayan canlılara da zarar vermektedir. Tarım bitkileri zararlısı böcekler ile mücadelede Lepidoptera takımına ait türlerin laboratuvarında yapay ortamlarda yetiştirilme çalışmaları yeni pestisitlerin geliştirilmesi ve keşfedilmesi doğrultusunda büyük bir hızla artmakta olup bu amaçla farklı model böcek türleri ve beslenme teknikleri kullanılmaktadır. Bilindiği gibi, ülkemiz ekonomisinde tarımın yeri çok büyüktür. Kimi tarım ürünleri ise, endüstri hammaddesi olduğundan ayrı bir öneme sahiptir. Bu ürünlerin en büyük alıcıları ise, başta AB ülkeleri ile Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve sonra da diğer gelişmiş ya da gelişmekte olan ülkelerdir. Bunun için de, tarım ürünü dış satışımızı sürdürebilmek amacıyla pestisit kullanımının çok kontrollü ve bilinçli programlar içerisinde yapılması gerekmektedir. Ülkemizde ve dünyada çiftçiler, tarımsal bitkilerini ve hasat sonrası depolanmış ürünlerini zararlılara karşı koruyabilmek için insektisit kullanmaktadır. Gerek ülkemizde gerekse dünyada pestisit kullanımının çok fazla olması ve bilinçsiz kullanımı zaman içinde bazı sorunların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bilinçsiz ilaç kullanımı ile bazı pestisitlere karşı zararlılar tarafından dayanıklılık gelişmiştir. Çevreye ve insan sağlığına zararları nedeniyle bazı pestisitlerin kullanımına yasal engellemeler getirilmiştir. Ayrıca günümüzde tüketicinin ilaç kullanımına göstermiş olduğu hassasiyet ve organik ürünlere olan talep ilaç kullanımını sınırlayıcı faktörlerden olmuştur. Durum parasal olarak düşünüldüğünde tüketimde değer olarak insektisitlerin % 31, herbisitlerin % 26 ve fungisitlerin de % 20'lik payı ortaya çıkmaktadır (Delen et al. 2004). Dünya pestisit üretiminin yıllık 3 milyon ton civarında olduğu, yıllık satış tutarının da ortalama 30 milyar Euro'ya ulaştığı görülür. Bu miktar içinde Türkiye'nin payı ancak % 0,6 kadardır (Öztürk 1997).

Zararlılarla mücadele yöntemleri çoğunlukla kimyasal savaşım ile özdeşleşmiştir. Ancak kimyasal savaşım ile ilaç kullanımı yaygınlaştıkça ortaya birçok sorun çıkmıştır. Zararlılarla mücadelede pestisitlerin yaygın olarak, aşırı dozda ve bilinçsiz kullanılışı, arzu edilmeyen yan etkilerinin oluşumunu kaçınılmaz hale getirmiştir. Bu nedenle son zamanlarda kimyasal ilaçların çok az kullanıldığı, hiç kullanılmadığı veya çevre dostu kimyasalların kullanıldığı alternatif yöntemler üzerinde araştırmalara hız verilmiştir (Seçkin ve Ünal 1994, Coşkuncu ve Kovancı 2005). Diğer taraftan, zararlıların bazılarının gerek toprak altında oluşu gerekse bitki dokuları içerisinde bulunuşu mücadelede başarı şansını son derece düşürdüğü gibi mücadeleleri de ekonomik olmamaktadır. Ayrıca pestisitlerin yüksek dozlarda ve tekrar tekrar kullanılışı çevre kirliliği, dayanıklılık ve insan sağlığına zararları gibi riskleri de beraberinde getirmektedir.

Tarımsal savaşım, bitkilerin hastalık, zararlı ve yabancı otların etkilerinden ekonomik ölçüler içinde korunması, ürünün ve kalitenin artırılmasıdır. Bu basit tanımdan da anlaşılacağı gibi, tarımsal savaşım ile, bir yandan ürünü ve kalitesini arttırmak, bir yandan da ekonomik olmak hedeflenmektedir. Bu amaca ulaşabilmek için, tarımsal savaşımın entegre savaş (entegre zararlı yönetimi) görüşüne uygun olarak yürütülmesi gerekmektedir. Entegre zararlı yönetiminden ise, tarımsal savaşım da bilinen tüm yöntemlerden yararlanan, insan ve çevre sağlığına olumsuz etkileri en az olanların uygulanmasına yönelik çalışmalar anlaşılmaktadır. Tarımsal savaşım değişik yöntemleri içermektedir. Bu yöntemlerden birisi de tarım ilaçlarının (pestisitlerin) kullanıldığı kimyasal savaşımdır. Her ne kadar kimyasal savaşım tarımsal savaşım da bir yöntem ise de, tüm savaşım yöntemleri arasında en fazla kullanılanıdır. Çünkü, kimyasal savaşım yüksek etkililiğe sahiptir, hızlı sonuç verir, bilinçli ve kontrollü kullanıldığında ekonomiktir ve ürünü toksin salgılayan organizmalardan da koruyabilir (De Waard et al. 1993). Kısaca özetlenen bu avantajlar, kimyasal savaşımın modern bitki korumada uygulanması gerekli bir yöntem olma özelliğini günümüzde de sürdürmesinin en önemli nedenidir. Ancak, pestisitlerin bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımı sonucu, zararlı organizmalarda dayanıklılık oluşturabilme, riskleri ve kalıntılar yoluyla insan sağlığına ve çevreye olumsuz etkileri kesinlikle göz ardı edilmemelidir. Söz konusu riskler nedeniyle, özellikle gelişmiş ülkelerde pestisitler daha bilinçli ve kontrollü kullanılmaktadır. Bunu sağlayabilmek için, örneğin AB ülkelerinde ve ABD’nde birçok yasa çıkarılmış, resmi örgütler kadar, sivil toplum örgütleri de bu yönde söz sahibi duruma gelmişlerdir (Gullino and Kuijpers 1994).

Böceklerle karşı kullanılan tarım ilaçlarına insektisit, yabancı otların kontrolünde kullanılanlara ise herbisit denmektedir (Baykal 1995, Agrios 2005). Bunların hepsine birden ise pestisit denilmektedir. Ancak, son yıllarda özellikle AB’nde pestisit yerine “Bitki Koruma Ürünleri” terimi resmi dilde tercih edilmektedir. Türkiye’de de Tarım ve Köyişleri Bakanlığı artık bu terimi tercih eder olmuştur (Aydınoğlu vd. 2002). Bununla birlikte halen Türkiye’de toplumun çoğunluğu bunlara tarım ilacı demektedir. Diğer ülkelerle karşılaştırıldığında; Türkiye’de tarım ilacı kullanımının birim alan başına daha az olduğu görülmektedir. Örneğin bu oranlar Hollanda’da 10,23 kg/ha, İtalya’da 5,25 kg/ha, Yunanistan’da 4,41 kg/ha iken Türkiye’de 0,47 kg/ha’dır (Özmen 2007). Bununla birlikte, Türkiye’nin Akdeniz, Ege ve Çukurova gibi bazı bölgeleri ve hatta bu bölgelerin bazı alanları dikkate alınarak yapılabilecek bir alan başına düşen pestisit kullanımının ise Avrupa ortalamasını geçebileceği düşünülmektedir (Delen vd. 2005, Yücer 2008). Modern tarımsal savaşında, pestisitlerin çevreye zarar vermeyecek düzeyde ve gerçekten gerekli olduğunda kullanılması benimsenmiştir. Bunun bir sonucu olarak, başta ABD olmak üzere, gelişmiş ülkelerde “düşük risk” ya da “doğa dostu” pestisitler adı altında toplanmışlardır. Örneğin ABD Çevre Koruma Örgütü (EPA), böyle pestisitlerin hem ruhsatlandırılmasını kolaylaştırmış ve hem de kullanılmalarını teşvik etmeye başlamıştır (EPA 1999 a,b). Diğer yandan, pestisit kullanılmadan modern anlamda bitkisel ürün yetiştirmenin olanaksızlığı gelişmiş ülkelere bilinmesi yanında, pestisit kullanımının sürekli arttırarak verimin de sürekli artmayacağı anlaşılmıştır. Bu nedenle, maliyetleri yükseltmemek açısından gereksiz ilaçlamalardan kaçınılmaya başlanmıştır. Yukarıda da değinildiği gibi, bu uygulamalarda sivil toplum örgütlerinin ve tüketicilerin de baskıları olmuştur. Örneğin, Avrupa ülkelerinde fungisit kullanımı patatesten % 30 ve elmada % 20 azaltılmasına karşın verimde bir düşüş gözlenmemiştir (Gullino and Kuijpers 1994).

Bir ülkede tüketilen pestisitlerin sağlık, çevre gibi kriterler açısından nitelikleri, toplam pestisit tüketimine oranla daha ciddi bir konudur. Ülkemiz pestisit tüketimi bu açıdan değerlendirildiğinde, oldukça çarpıcı sonuçlar ortaya çıkmaktadır. 1999-2002 yıllarında 7 etkili madde yıllara göre en çok tüketilen 5 insektisit arasına girmiştir. Bu insektisitlerden metamidofos (methamidophos), metil paratyon (parathion-methyl), diklorvos (dichlorvos), endosülfan ve metil azinfos (azinphos-methyl) çok zehirli, etil klorpirifos (chlorpyrifos-ethyl) ve karbaril (carbaryl) ise zehirli pestisitler grubuna girmektedirler (Ware 1994). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı verilerine göre, piyasada 1999 ve 2000 yıllarında 68, 2001 yılında 63 ve 2002 yılında da 62 insektisit etkili maddesi bulunmasına karşın, her yıl 5 etkili madde toplam

insektisit tüketimi içinde yarıdan fazla paya sahip olmuşlardır. Diğer yandan, 1999-2002 döneminde metamidofos Türkiye’de en yoğun tüketilen insektisitlerden biridir. Oysa metamidofos ülkemizde yalnızca pamukta ve tütünde kullanım iznine sahiptir (Aydınoğlu vd. 2002, Yücer 2003). Coats (1991), Sumasundaram ve Coats’e (1991) göre, metamidofos, etil klorpirifos, metil paratyon, zararlı böceklere karşı temas (kontakt) ve mide zehiri yoluyla etkili bir insektisit olan DDVP ve endosülfan yeraltı sularına bulaşma riski olan pestisitlerdendir. Metil paratyon, DDVP ve karbaril ise soluduğumuz havayı kirletme potansiyelindedir. Ayrıca, metil paratyon ve DDVP’nin insanlarda kanser yapıcılık riski vardır. Etil klorpirifos, metil paratyon ve endosülfan insanlarda endokrin (iç salgı bezleri) sistemini etkileyebilen bileşiklerdir (Bucker-Davis 1998, Colborn 1998). Metamidofos’un kromozomlar üzerinde etkisinin olabileceği de belirtilmektedir (Karabay 2000).

Pestisitlerin piyasa ömrünü, insan sağlığını ve çevreye etkililiğini en fazla etkileyen olayların başında pestisitlere organizmaların duyarlılık azalışı (direnc geliştirme) gelmektedir. Bir pestisite organizmaların duyarlılığı azaldıkça, o pestisit etkililiği de düşmektedir. Uygulayıcı ise, eski etkililiği elde edebilmek için devamlı doz yükseltmesine gitmektedir. Böylece artan dozlara paralel olarak çevrede pestisit kalıntıları daha fazla yoğunlaşmaya başlamaktadır. Pestisitlere duyarlılık azalışı adaptasyon ve dayanıklılık şeklinde iki yolla olur. Adaptasyonda, bir organizmanın genetik yapısında değişiklik olmaksızın, bir kimyasal maddeye uyum göstermesi sonucu duyarlılığın azalmasıdır. Ancak dayanıklılıkta, organizmanın duyarlılığı genetik yapısındaki bir değişiklik sonucu azalmaktadır. Buna göre, dayanıklılık bir mutasyondur ve genelde geri dönüşümü yoktur. Adaptasyonda ise, söz konusu pestisit kullanımının durdurulmasıyla organizma yavaş yavaş tekrar eski duyarlılığını kazanabilir. Türkiye gibi, pestisitlerin bir ölçüde bilinçsiz ve kontrolsüz kullanıldığı ülkelerde dayanıklılık kadar adaptasyon da ekonomik açıdan önem taşımaktadır. Dayanıklılığın ortaya çıkışına en fazla etki eden faktörlerin başında, pestisit dayanıklılık açısından riski ile pestisitlerin kullanım biçimi gelmektedir. Bilinçsiz ve kontrolsüz kullanım, duyarlılık azalışlarının daha hızlı ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Delen ve Tosun 1996).

Organofosfatlar, karbamatlar ve piretroidler gibi nörotoksik insektisitler, son 10 yıldır zararlı böcekleri kontrol etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmakta olup oldukça başarılı sonuçlar alınmaktadır. Buna karşın bu kimyasalların çoğu, insanlar ve yararlı organizmaların çoğu için zararlıdır ve ekolojik denge üzerinde olumsuz etkiye sahiptir (Ishaaya and Horowitz 1998). Birçok böcek türünde bu insektisitlere karşı hızlı bir şekilde direnc gelişimi gözlenmektedir

(Georghiou and Lagunes-Tejeda 1991). Bu türler arasında, özellikle yüksek üreme yeteneğine, ekonomik ve tıbbi öneme sahip Alman hamam böceği *B. germanica* (L.)’da direnç gelişimi açıkça tespit edilmiştir (Scott et al. 1990, Dong et al. 1998). Bu nedenlerden dolayı çoğu geleneksel pestisitlerin yerini, böcek büyüme düzenleyicileri ve biyopestisidler gibi yeni etki mekanizmalarına sahip olan biyorasyonel insektisitler veya daha az riskli insektisitler almıştır (Horowitz and Ishaaya 2002, Dhadialla et al. 2005). Bunların dışında, hamam böceği gibi kapalı alan zararlıları ve diğer tarımsal zararlı böceklerin kontrolündeki son teknolojik gelişmeler besin formülasyonlarının kullanımına dayanmaktadır. (Appel et al. 2004). Son zamanlarda borik asit gibi çok az kullanılan bileşikler üzerine tekrar yoğunlaşmıştır (Gore and Schal 2004, Gore et al. 2004). Borik asitin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlenen insan sağlığına zarar vermeyen konsantrasyonları 40-80 ppm dir (Bergmann 1992). Borik asitin böcekler üzerindeki etki mekanizması çok iyi belirlenmemiş olup bu hususta birkaç görüş ileri atılmıştır. Bu etki mekanizmaları arasında, borik asitin böceğin ön bağırsak hücrelerinin yapısını bozması sebebiyle açlığa bağlı ölüme neden olduğu (Cochran 1995), borik asitin kutikula üzerindeki aşındırıcı etkisi ile böceğin yavaş yavaş su kaybetmesi (Ebeling et al. 1975) bulunmaktadır. Önceki bir çalışmada, borik asitin *B. germanica* (L.)’nın kutikular profilini etkilediği gösterilmiştir (Kilani-Morakchi et al. 2005). Son zamanlarda da, besin ile alınan borik asitin sindirim sonrasında Alman hamam böceğinin orta bağırsağında yapısal değişikliklere neden olduğu, asetil kolinesteraz (AChE) aktivitesini düşürdüğü ve zehirlenme belirtileri ile açıklanan nörotoksik bir etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır (Habes et al. 2006). Bu çalışmada borik asitin öldürücü olmayan besinsel konsantrasyonlarının *G. mellonella* (L.)’nın ergin evrede yaşama, erkek ve dişi ergin ömür uzunluğu, eşey oranı, yumurta verimi, yumurtaların açılma oranı, yumurtaların MDA ve protein karbonil miktarı ile GST aktivitesi üzerine etkileri belirlenmiştir. Elde edilen bu bilgiler tarımsal zararlı böceklerin kontrolünde öldürücü olmayan dozlarda borik asitin etkilerinin anlaşılmasında önemli ipuçları vermiştir. Böylece, borik asit ve diğer bor türevlerinin insektisit olarak kullanılmasını amaçlayan böyle bir çalışma ile pazardaki ürün çeşitliliğini ve payını artırmak, ekonomik girdiye katkıda bulunmak ve katma değer sağlamak için bir adım atmış olacağız.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1 *GALLERIA MELLONELLA* L. KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI

Büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera:Pyralidae) pup ve erginleri Zonguldak ve çevresindeki arıcılardan temin edildi ve bölümümüz laboratuvarında yumurtadan yeni çıkmış larvalar yapay besinde yetiştirilerek stok kültür oluşturuldu. Böcek kültürünün devamı yumurtadan yeni çıkmış larvaların yarı sentetik besinde (Bronskill 1961) aseptik olmayan şartlarda beslenilmesi ile sağlandı. Deneylerde böcek tarafından bırakılan yumurtalardan yeni çıkmış larvalar (birinci evre) kullanıldı. Kültür 28 ± 2 °C ve % 65 ± 5 bağıl neme ayarlı bir inkübatörde (Nüve, EN 500) ve gün boyu devamlı karanlıkta yürütüldü.

G. mellonella (L.) larvalarını laboratuvar şartlarında yetiştirmek için Bronskill (1961) tarafından geliştirilen öğütülmüş koyu renkli eski bal peteği (kuluçka peteği) içeren yapay besin kullanıldı. *G. mellonella* (L.) kültürünün devamı için kullanılan bu besin aynı zamanda borik asit konsantrasyonlarının böcek üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yürütülen beslenme deneylerinde de kontrol besini olarak kullanıldı. Besin, 420 g buğday kepeği, 150 ml süzme bal, 150 ml gliserin (Merck, Darmstadt, Germany), 20 g öğütülmüş koyu renkli eski petek ve 30 ml saf sudan oluşmaktadır. Besinin bileşenleri gerekli miktarda tartılarak geniş bir kap içerisinde karıştırıldı ve karıştırıcı ile homojen bir karışım oluşturuldu. Bu karışım sıvı bileşenlerin katı bileşenler tarafından tam olarak emilebilmesi için 24 saat bekletildi. Hazırlanan besin bir litrelik cam kavanozların (80x180 mm) yaklaşık 1/3'ne kadar dolduruldu. Kavanozun içine konulacak dişilerin yumurta bırakması ve yeni açılan larvaların beslenmesi için besinin üzerine küçük bir parça bal peteği bırakıldı (Ortel 1995). Bu kavanozların içine 10-15 adet dişi bırakılarak ağızları tel kafes yerleştirilmiş kapak ile kapatıldı. Yaklaşık 25-30 gün sonra gelişimlerini tamamlayan olgunlaşan larvalar (7. evre) pup olmaları için diğer bir kavanoza aktarıldı. Bu kavanozun içine, larvaların pup olmaları için kuru ortam sağlamak üzere, katlanmış pelur kağıt parçaları bırakıldı (Campos et al.

1990). Oluşan puplardan yaklaşık 7-8 gün sonra ergin bireyler meydana geldi. Bu erginlerin büyük bir çoğunluğu böcek kültürünün devamı, bazı erginler ise borik asitin farklı konsantrasyonlar ile ilgili beslenme çalışmaları için gerekli yumurtaların elde edilmesinde kullanıldı.

3.2 BORİK ASİTİN DENEYLERDE KULLANILMASI

Bu çalışmada denenen borik asit (% 99, H_3BO_3) Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü, AR-GE Daire Başkanlığı (Ankara)'ndan temin edildi. Borik asitin besine ilave edilmesi ile yürütülen beslenme deneylerinde denenen miktarların konsantrasyonu ppm olarak ifade edildi. Borik asit suda çözülmesi için bu miktarlar, besinin hazırlanması sırasında doğrudan besine ilave edildi. Kontrol besini (borik asit içermeyen) hariç borik asitin *G. mellonella* (L.) için 156, 620, 940, 1250 ve 2500 ppm olmak üzere beş farklı konsantrasyonu denendi. Kontrol deneylerinde ise yalnızca borik asit içermeyen besin kullanıldı. Bu çalışmada denenecek borik asit konsantrasyonları tarımsal ve halk sağlığı yönünden zararlı bazı böcek türleri (Yang et al. 2000 a, Cisneros et al. 2002, Gore et al. 2004, Ali et al. 2006, Xue et al. 2006) ve *Galleria mellonella* (L.) (Hyršl et al. 2007) ile yapılan önceki çalışmalar temel alınarak belirlenmiştir. Bu çalışmaların ışığında, denenecek konsantrasyonların aralığını belirlemek amacıyla ön beslenme deneyleri yapıldı. Böceklerin ergin evreye kadar gelişimini tamamlayabileceği konsantrasyon aralıkları belirlendi. Borik asitin tek başına *G. mellonella* (L.) üzerindeki konsantrasyonları belirlenerek böceğin yaşama, gelişme, ömür uzunluğu, 7. evre larvalarının hemolenf MDA miktarı ve GST aktivitesine etkisi önceki bir çalışmamızda (Hyršl et al. 2007) incelenmiştir. Bu çalışmada böceğin ergin yaşama oranı, erkek ve dişi ergin ömür uzunluğu, eşey oranı, yumurta verimi, yumurtaların açılma oranı, yumurtaların MDA ve protein karbonil miktarı ile GST aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesinde daha önce çalışılan borik asit konsantrasyonları aynen kullanılmıştır.

3.3 LARVALARIN ELDE EDİLMESİ

Beslenme deneylerinde kullanılacak *G. mellonella* (L.) larvaları, kapaklı, 30 ml'lik geniş ağızlı, vida kapaklı bir plastik kabın (ORLAB, L190030, 35x55 mm) iç yüzeyine dişiler tarafından bırakılan yumurtaların açılması ile elde edildi. Bunun için 2-3 dişi birey, delikli kapakları olan bu plastik kaplara konuldu ve yumurta bırakmaları için stok kültürün devam ettirildiği ortam koşullarında bekletildi. Bırakılan yumurtalar yine aynı ortam şartlarında

bekletilerek açılması sağlandı. Yumurtadan yeni çıkan larvaların kaçmasını önlemek için caydırıcı olarak kabın kapağına yakın iç yüzeyine yaklaşık 1 cm kadar genişlikte gliserin sürüldü. Yumurtaların açılması ile serbest kalan larvalar, yumuşak uçlu ve ucu gliserine batırılarak nemlendirilmiş bir fırça (No: 0, Goya Toray) ile içlerinde 200 g besin bulunan tel kafesli metal kapaklı orta boy cam kavanozlara (60 x120mm) bırakıldı.

Bu şekilde larvalar tarafından doğrudan besin aracılığıyla alınan borik asit karışımlarının böceğin ergin yaşama oranı, erkek ve dişi ergin ömür uzunluğu, eşey oranı, yumurta verimi, yumurtaların açılma oranı, yumurtaların MDA ve protein karbonil miktarı ile GST aktivitesi üzerine etkileri incelendi.

3.4 YAŞAMA, GELİŞME, EŞEY ORANI VE ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ BESLENME DENEYLERİ

Farklı konsantrasyonlarda borik asitin ergin evreye kadar *G. mellonella* (L.)'nın yaşama oranına etkisini incelemek için öğütülmüş koyu renkli bal peteği içeren Bronskill'in (1961) yapay besini kullanıldı. Borik asitin denenen miktarları ppm olarak hesaplanıp gerekli miktarları besinlerin hazırlanması sırasında ilave edilerek homojen olarak karışması sağlandı. Daha sonra kontrol besinleri ve borik asiti içeren diğer besinler uygun besin kaplarına (Cam kavanozlar, 60x120 mm) taksim edildi. Her bir besin için 20 larva kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı. Larvalar farklı konsantrasyonlarda borik asit içeren besinlere bırakıldıktan sonra gelişimlerini tamamlayan olgun *G. mellonella* (L.) larvaları (7. evre larvalar) alınarak pup olmak üzere 30 ml'lik plastik örnek kaplarına (ORLAB, L190030, 35x55 mm) her kaptaki bir larva olacak şekilde bırakıldı. Bu kapların içerisine larvaların pup olması için ortam sağlamak üzere katlanmış, ince pelur kağıt bırakıldı. Bu larvalardan erginleşen bireylerin oranı ile erginleşen bireylerin erkek ve dişi oranı ve ömür uzunlukları belirlendi. Denemede kullanılan erginlerin eşey ayrımı, erginlerinin vücut büyüklüğüne ve abdomenlerinin son segmentindeki genital yapıya göre yapıldı.

Farklı konsantrasyonlarda borik asitin ergin bireylerin yaşama süresine (ömür uzunluğu) etkisini belirlemek için yumurtadan yeni çıkmış *G. mellonella* (L.) larvaları borik asitin denenen miktarlarını içeren yapay besinler ile ergin evreye kadar beslendi. Her bir deney için 10 adet ergin kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı. Erginleşen bireyler 30 ml'lik, geniş ağızlı, şeffaf, delikli kapaklı plastik kaplara (ORLAB, L190030, 35x55 mm) birer adet

bırakıldı. *G. mellonella* (L.) erginleri besin almadığı için deney süresince herhangi bir besin verilmedi. Bu erginler stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında bırakıldı. Erginler, her gün belirli saatte kontrol edilerek en son erginin ölümüne kadar her erginin yaşama süresi belirlendi.

3.5 DIŞİLERİN YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANI İLE İLGİLİ DENEYLER

Farklı konsantrasyonlarda borik asitin sentetik besinle yetiştirilen *G. mellonella* (L.) dışilerinin yumurta verimine etkisini incelemek için yumurtadan yeni çıkan larvalar bu inorganik insektisit farklı miktarlarını içeren yapay besinler ile ergin evreye kadar beslendi. Bu amaçla yeni erginleşmiş ve döllenmemiş bir günlük dışiler kullanıldı. *G. mellonella* (L.) dışileri geniş ağızlı, delikli kapaklı, plastik kaplara (15 ml, ORLAB) her kapta bir adet dişi olacak şekilde bırakıldı. *G. mellonella* (L.)'nın erginleri besin almadığı (Charriere and Imdorf 1997) için bu dışilere yumurta bırakma süresi içerisinde herhangi bir besin verilmedi. Dışiler tarafından bırakılan yumurtalar siyah bir zemin üzerine konulan petri kutusu içinde sayıldı. Yapılan ön denemeler erginleşen dışilerin ilk 48 saat içinde yumurtalarının çoğunluğunu bıraktığını göstermiştir. Bu yüzden ilk iki gün içinde bırakılan yumurtalar sayılarak açılması için stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında bekletildi. Yumurta üretimi, bir günde dişi başına bırakılan yumurta sayısı ele alınarak değerlendirildi ve dışinin verimliliği olarak ifade edildi. Her gün açılan larvalar yine siyah bir zemin üzerinde sayılarak ortalama sayısı kaydedildi ve yumurtaların açılma oranı (fertilite) tespit edildi. Kontrol ve borik asit karışımlarının her bir miktarı için 10 adet dişi kullanıldı ve deneyler dört defa tekrarlandı.

Kontrol ve borik asit konsantrasyonlarının *G. mellonella* (L.) üzerindeki etkisinin araştırıldığı deneylerin hepsinde larvaların aşılacağı besin kapları ve olgun larvaların pup olmaları için hazırlanan kaplar kısa bir günlük inceleme periyodu hariç sürekli olarak karanlıkta tutuldu. Besinin hazırlanması ve larvaların aşılama hariç beslenme deneylerinin tümü böceklerin stok kültürünün yetiştirildiği şartlarda yürütüldü. Besinin hazırlanması, yumurtaların elde edilmesi, bu yumurtalardan çıkan larvaların besine aşılama işlemleri tamamen aseptik olmayan şartlarda yapıldı (İçen et al. 2005, Büyükgüzel and Kalender 2007, Büyükgüzel et al. 2007). Bu işlemlerin uygulanmasında Laing ve Hagen'nin (1970) meyve güvesi *Grapholitha molesta* (Busck 1916) ile Campos et al.'in (1990) mısır kurdu *Ostrinia nubilalis* (Hübner 1796) için kullandığı yöntemler temel alındı ve bir ölçüde değiştirilerek uygulandı. Birçok lepidopter türünün birinci evre larvalarında olduğu gibi *G. mellonella* (L.) larvalarının da ilk

evrelerinde besin ortamında ölüm oranının yüksek olduğu, ölen larvaların içlerinin boş olarak kurduğu ve göz ile görülemediği için besine aşıl原因an her bir larvanın olgun evreye ulaşınca kadar günlük olarak takip edilmesi mümkün olamamıştır (Zalucki et al. 2002). Bu yüzden farklı evrelerdeki yaşama oranı tespit edilirken deney süresince yaşayan larva sayısı olarak, besine başlangıçta aşıl原因an larvaların sayısı dikkate alındı.

3.6 MDA, PROTEİN KARBONİL MİKTARI VE GST AKTİVİTESİ ÖLÇÜMÜ

Farklı konsantrasyonlarda borik asit içeren besinler ile yetiştirilen *G. mellonella* (L.) dişi bireyleri tarafından yeni bırakılan yumurtalarında lipid peroksidasyon ürünü MDA ve protein oksidasyonu ürünü protein karbonil miktarları ve GST aktivitesi ölçüldü. Deneyler her bir tekrarda 200 adet yeni bırakılmış yumurta kullanılarak dörder defa tekrarlandı.

3.6.1 Yumurta Toplanması

G. mellonella (L.) dişi bireyleri tarafından yeni bırakılan yumurtalar % 95'lik etil alkol içersine batırılarak yüzey sterilizasyonu yapıldı. Daha sonra distile sudan geçirilen yumurtalar homojenizasyon tamponu [% 1,15'lik potasyum klorür (KCL) w/v, 25 mM dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4), 5 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA), 2 mM fenilmetilsülfonil florür (PMSF), 2 mM ditiyotritol (DTT), pH: 7,4) bulunan bir ependorf tüpe alındı. Muhtemel fenol oksidaz aktifliğini önlemek için tüplere birkaç feniltiyoüre kristali konuldu. Yumurtalar analiz yapıncaya kadar derin dondurucuda (-80 °C) saklandı.

3.6.2 Malondialdehid (MDA)

Jain ve Levine'nin (1995) kullandığı metod temel alınarak 532 nm'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona giren lipid peroksidasyonun son ürünü MDA miktarı ölçüldü. Örnekler, % 1,15'lik KCl ile ultrasonik homojenizatör (10 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus HD2070, Berlin, Germany) ile parçalandı. Homojenize edilen örneklere pH 7,4 olan fosfat tamponu (18 mM NaCl, 18 mM Na_2HPO_4), 0,04 M butillenmiş hidroksi toluen (BHT), % 30'luk triklorasetik asit (TCA) eklenerek 2 saat buzun içersinde bekletildikten sonra +4 °C de, 2000 x g devirde 15 dakika santrifüj edildi. Tüplerden alınan üst sıvıya 0,1 M EDTA ve % 1'lik TBA ilave edilerek kaynar su banyosunda 45 dakika bekletildi, daha sonra

spektrofotometrede (Shimadzu 1700 UV/Vis, Kyoto, Japan) 532 nm'de absorbansı okundu. MDA miktarı $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ kat sayısı kullanılarak nmol/mg protein olarak verildi.

3.6.3 Protein Karbonil

Protein karbonil tayini Levine et al.'in (1994) metodu temel alınıp bir ölçüde değiştirilerek (Krishnan and Kodrik 2006) kuvvetli asit ortamında proteinlerdeki karbonil gruplarının 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile oluşturdukları kararlı bileşik 2,4-dinitrofenilhidrazonun 370 nm'de miktarı ölçüldü. Örnekler, homojenizasyon tamponunda [% 1,15'lik potasyum klorür (KCL) w/v, 25 mM dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4), 5 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA), 2 mM fenilmetilsülfonil florür (PMSF), 2 mM ditiyotritol (DTT), pH: 7,4)] ultrasonik homojenizatör (10 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus HD2070, Berlin, Germany) ile +4 °C'de parçalandı. Elde edilen özüt +4 °C'de 1000 x g'de 10 dk santrifüj (Hettich Zentrifugen, Mikro 200 R soğutmalı santrifüj) edildi. Üst sıvıdan süpernatant alınarak üzerine % 10'luk streptomisin sülfat ilave edilerek +37 °C'de 15 dk benmaride bekletildi. Daha sonra 8000 x g'de +4 °C'de santrifüj edilerek nükleik asitler çöktürüldü. Üst sıvıdan 200 µl alınarak üzerine 800 µl 10 mM 2,4 dinitrofenilhidrazin (DNPH) eklendi. Oda ısısında bir saat veya benmaride +37 °C'de 15 dk belirli aralıklar ile çalkalamak suretiyle beklendi. Daha sonra tüplere 700 µl % 20'lik trikloroasetik asit ilave edilerek buz üzerinde 10 dk bekletildikten sonra +4 °C'de 10000 x g'de 10 dk santrifüj edildi. Böylece oluşan 2,4-dinitrofenilhidrazon bileşikler çöktürüldü. Üst sıvı atılarak çöküntü üzerine 1:1 oranında 1 ml etanol:etil asetat karışımı ilave edildi ve vorteks ile yavaşça homojenize edildi. Bu işlem 3 defa tekrarlanıp her defasında 10000 x g'de +4 °C'de santrifüj edilerek üst sıvı atıldı. En son santrifüjleme işleminden sonra çöküntü üzerine 2 ml 6 M guanidin hidroklorür ilave edilerek iyice +37 °C'de 10 dk (oda ısısında 45 dk) karıştırılmak suretiyle çöküntü çözüldü. Bu homojen çözeltiden 150 µl alınarak toplam protein analizinde kullanıldı. Karışımın diğer bölümü çözünmeyen kaba partiküllerin çökmesi için 10000 x g'de 10 dk +4 °C'de santrifüj edildi. Üst sıvının absorbansı 370 nm de kör tüpe karşı spektrofotometrede (Shimadzu 1700 UV/Vis, Kyoto, Japan) okunarak protein karbonil miktarı $22,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ kat sayısı kullanılarak nmol/mg protein olarak verildi.

Protein karbonil analizi yapılan örneklerdeki toplam protein tayini için 6 M guanidin hidroklorür ile çözülen çöküntüden alınan 150 µl karışım 1350 µl guanidin hidroklorür ile

1:10 oranında sulandırıldı. Örneğin absorbanısı 280 nm’de ölçüldü. 6 M guanidin hidroklorür ile hazırlanan bovin serum albumin (BSA) standart çözeltileri (12,5-1600 mg/100ml) ile standart grafik oluşturularak toplam protein miktarı bu grafiğe göre hesaplandı.

3.6.4 Glutasyon-S-transferaz (GST)

Örnekler +4 °C’de ultrasonik homojenizatörde (Bandelin Sonoplus HD2070, Berlin, Germany) (10 sn, 30 W) homojenize edildi. Enzim inaktivasyonunun önlenmesi için homojenizasyon dahil tüm işlemler buz ile sağlanan soğuk ortamda yapıldı. Homojenize edilen örnekler, +4 °C’de 16000 x g devirde soğutmalı santrifüjde 20 dakika santrifüj edildi. Çöküntü atılarak üst sıvılar GST aktivitesinin ölçümünde kullanıldı. GST aktivitesinin ölçümünde Habig et al. (1974) tarafından geliştirilen metod uygulandı. GST’nin bütün izozimleri için 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) yaygın bir substrattır. CDNB 340 nm’de yükselen absorbanı gösteren glutasyon oksidasyonunu katalizleyen GST enzimi için substrat olarak kullanıldı. Bu enzimin aktivitesinin ölçülmesi için 3 ml’lik cam küvetlere 2,5 ml 50 mM fosfat tamponu, 200 µl 20 mM redükte glutasyon ve 150 µl süpernatant ilave edildi. Enzimatik reaksiyon bu karışıma 150 µl 25 mM CDNB eklenerek başlatıldı ve 2 dakika boyunca yükselen absorbanlar okundu. Yükselen absorbanı CDNB’nin redükte glutasyon ile reaksiyona girerek tiyoether yapısının oluşumunu göstermektedir. Enzim aktivitesi 340 nm’de (ϵ_{340} : 0,0096 $\mu\text{M}\cdot\text{cm}^{-1}$) süpernatantta bulunan 1 mg toplam protein başına 1 dakikada oluşturulan tiyoether miktarı olarak ölçüldü ve enzimin spesifik aktivitesi nmol/mg protein/dk olarak verildi.

(GST)

GSH + ksenobiyotik ----- ksenobiyotik – GSH konjugasyonu

Yumurta örneğinden elde edilen süpernatanttan enzimlerin spesifik aktifliğini hesaplamak ve MDA miktarını mg protein başına vermek için çözünür toplam protein tayini yapıldı. Bu amaçla örneklerin absorbanısı spektrofotometrede 600 nm’de Folin-Lowry (Lowry et al. 1951) metoduna göre ölçülerek total protein miktarı tespit edildi. Bu hesaplamayı yapmak için öncelikle farklı konsantrasyonlarda standart protein olarak, bovin serum albumini (BSA) çözeltileri hazırlandı ve bir standart grafik oluşturuldu. Total protein miktarları bu standart grafiğe göre hesaplandı.

3.7 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Farklı konsantrasyonlarda borik asitin *G. mellonella* (L.)'nın yaşama oranı üzerindeki etkileri ergin evresine ulaşan bireylerin yüzdesi dikkate alınarak değerlendirildi. Ergin eşey oranına etkisi erginleşen erkek ve dişi bireylerin yüzdesi dikkate alınarak değerlendirildi. Ergin bireylerin ömür uzunluğu süresine etkisi erginleşen bireylerin hayatta kaldıkları gün olarak ortalama süre (ömür uzunluğu) belirlenerek değerlendirildi. Dişilerin verimliliği üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde ise bırakılan yumurta sayısı ve açılma oranı dikkate alındı. Farklı konsantrasyonlarda borik asitin böceğin detoksifikasyon kapasitesine, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu düzeyi üzerine etkilerinin değerlendirilmesinde ise yumurtalardaki GST enzimi ile lipid peroksidasyonu ürünlerinden MDA ve protein oksidasyonu ürünlerinden protein karbonil miktarındaki değişimler dikkate alındı. Erginlerin ömür süresi ve dişilerin yumurta verimi ve yumurtaların açılma oranı, yumurtalardaki MDA ve protein karbonil miktarı ve GST aktivitesi ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü “Varyans Analizi” (ANOVA) (SPSS 1997), ortalamalar arasındaki farkın önemini saptamak için “LSD Testi” (SPSS 1997), yaşama ve eşey oranı ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde ise “ χ^2 (Chi square) Testi” (Snedecor and Cochran 1989) kullanıldı. Ortalamaların önemi 0,05 olasılık seviyesinde değerlendirildi.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 BORİK ASİTİN *G. MELLONELLA* LARVALARININ YAŞAMA, EŞEY ORANI VE ÖMÜR UZUNLUĞUNA ETKİSİ

Borik asit içermeyen kontrol besine göre borik asitin diğer denenen konsantrasyonlarını içeren besinler böceğin ergin olma oranını önemli derecede düşürmüştür. Kontrol besininde % $81,9 \pm 4,55$ oranında ergin elde edilmesine rağmen 156 ppm borik asit içeren besin bu oranı yarı yarıya düşürerek % $41,6 \pm 3,10$ 'a indirmiştir. Benzer şekilde borik asitin 620 ve 940 ppm'ini içeren besinler de ergin olma oranını sırasıyla % $30,5 \pm 3,10$ ve $40,2 \pm 3,02$ 'ye önemli derecede düşürmüştür. Borik asitin denenen yüksek konsantrasyonları (1250 ve 2500 ppm) ergin evreye ulaşan birey sayısını kontrole göre yaklaşık beşte bir oranına önemli derecede düşürmüştür. Bu besinlerden sırasıyla % $13,8 \pm 2,40$ ve $12,4 \pm 1,20$ oranında ergin elde edilebilmiştir (Çizelge 4.1).

Borik asit içermeyen kontrol besininden % $81,9 \pm 4,55$ oranında ergin elde edilmiş olup bu erginlerin % $38,9 \pm 12,88$ 'i erkek, % $43,0 \pm 10,64$ 'ü dişidir. Borik asitin denenen konsantrasyonlarını içeren besinler hem erkek hem de dişi birey oranını önemli derecede düşürmüşlerdir. Borik asitin 940 ppm'in içeren besin erkek oranını % $16,6 \pm 2,77$ 'ye dişi oranını ise % $23,6 \pm 2,30$ 'a düşürmüştür. Besine borik asitin 1250 ve 2500 ppm'inin ilave edilmesi ise her iki eşey oranını daha da düşürmüştür. Borik asitin en yüksek konsantrasyonu olan 2500 ppm'i erkek oranını % $6,9 \pm 1,20$ 'ye dişi oranını ise % $5,5$ 'e indirmiştir (Çizelge 4.1).

Borik asit içermeyen kontrol besini ile karşılaştırıldığında borik asitin denenen diğer konsantrasyonlarını içeren besinler erkek erginlerin ömür uzunluğu üzerinde önemli derecede etkili olmamıştır. Borik asit içermeyen kontrol besininde erkek erginler $5,8 \pm 0,13$, dişiler

7,8 $\pm$ 1,52 gün yaşamışlardır. Borik asitin 620 ppm'i ile denenen yüksek konsantrasyonları erkek bireylerin ömür uzunluğunda ortalama 1-2 gün arasında uzamaya sebep olmalarına rağmen bu süre istatistiksel olarak önemli olmamıştır. Borik asitin 940 ppm'i ve denenen en yüksek konsantrasyonu dışında diğer konsantrasyonların dişi ergin ömür uzunluğu üzerinde önemli etkisi olmamıştır. Borik asitin 620 ve 1250 ppm'i sırasıyla dişi ömür uzunluğunu 10,5 $\pm$ 1,34 ve 9,1 $\pm$ 1,78 güne uzattığı halde bu uzama istatistiksel olarak önemli olmamıştır. Buna karşılık borik asitin 940 ppm'i dişi ömür uzunluğunu 7,8 $\pm$ 1,52 günden 12,1 $\pm$ 1,92 güne yaklaşık ortalama 4 gün önemli derecede uzatmıştır. Borik asitin denenen en yüksek konsantrasyonu 2500 ppm ise ergin dişi ömür uzunluğunu 4,7 $\pm$ 0,21 güne önemli derecede azaltmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Borik asitin *G. mellonella* larvalarının ergin yaşama oranı, eşey oranı ve ömür uzunluğuna etkisi.

Borik asit (ppm)	Ergin olma	Eşey oranı (%)		Ergin ömür uzunluğu (gün)	
	oranı (%)	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
	(Ort [*] ± S.H) [†]	(Ort [*] ± S.H) [†]	(Ort [*] ± S.H) [†]	(Ort [*] ± S.H) [†]	(Ort [*] ± S.H) [†]
0,00 [§]	81,9 ± 4,55a	38,9 ± 12,88a	43,0 ± 10,64a	5,8 ± 0,13a	7,8 ± 1,52a
156	41,6 ± 3,10b	16,6 ± 2,77b	25,0 ± 1,39b	6,2 ± 0,51a	7,9 ± 0,92a
620	30,5 ± 3,10b	16,6 ± 3,40b	13,9 ± 3,10bc	8,1 ± 1,03a	10,5 ± 1,34ab
940	40,2 ± 3,02b	16,6 ± 2,77b	23,6 ± 2,30b	5,9 ± 0,35a	12,1 ± 1,92b
1250	13,8 ± 2,40c	6,9 ± 1,20c	6,9 ± 1,20c	7,0 ± 1,41a	9,1 ± 1,78a
2500	12,4 ± 1,20c	6,9 ± 1,20c	5,5 ± 0,00cd	7,5 ± 0,90a	4,7 ± 0,21c

* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 larva kullanıldı.

† Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P > 0,05 (χ^2 testi, LSD Testi).

§ Kontrol besini (Borik asit içermeyen).

4.2 BORİK ASİTİN *G. MELLONELLA*'NİN YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANINA ETKİSİ

Borik asit içermeyen kontrol besine göre, borik asitin 156 ve 620 ppm'ini içeren besinler bir günde dişi başına bırakılan yumurta sayısını düşürmelerine rağmen istatistiksel olarak önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Kontrol besininden elde edilen dişilerden $85,7 \pm 12,62$ yumurta elde edilmiş olup bu sayı 620 ppm borik asit tarafından $78,6 \pm 19,74$ 'e düşürülmüştür. Buna karşılık borik asitin 940 ppm ile yetiştirilen dişilerin yumurta verimi önemli derecede azalmış olup yumurta sayısı dişi başına bir günde $28,4 \pm 9,11$ 'e düşmüştür. Borik asitin bu konsantrasyonunda (940 ppm) yumurta verimi azalmasına rağmen, 156 ve 620 ppm ile karşılaştırıldığında bu azalma istatistiksel olarak önemli olmamıştır. Borik asit içermeyen kontrol besini ile yetiştirilen dişilerin bıraktığı yumurtaların % $90,0 \pm 2,13$ 'ü açılmıştır. Borik asitin 156 ppm'i kontrol besine göre karşılaştırıldığında yumurta açılımı üzerinde de etkili olmamıştır. Bu besin yumurtaların % $82,6 \pm 1,36$ 'ının açılmasına neden olmuştur. Borik asitin 620 ve 940 ppm'ini içeren besinlerde yumurtaların açılma oranı önemli derecede azalmıştır. Kontrolde % $90,0 \pm 2,13$ olan açılma oranı bu besinlerde sırasıyla % $60,3 \pm 2,48$ ve $59,1 \pm 6,18$ 'e kadar düşmüştür. Borik asitin denenen yüksek konsantrasyonlarında (1250 ve 2500 ppm) dişiler yumurta bırakmamıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Borik asitin *G. mellonella*'nın yumurta verimi ve açılma oranına etkisi.

Borik asit (ppm)	Yumurta verimi (gün/dişi) (Ort * $\pm$ S.H) [†]	Açılma oranı (%) (Ort * $\pm$ S.H) [†]
0,00 [§]	$85,7 \pm 12,62a$	$90,0 \pm 2,13a$
156	$60,8 \pm 10,65ab$	$82,6 \pm 1,36a$
620	$78,6 \pm 19,74ab$	$60,3 \pm 2,48b$
940	$28,4 \pm 9,11b$	$59,1 \pm 6,18b$

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 10 ergin kullanıldı.

[†]Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD Testi).

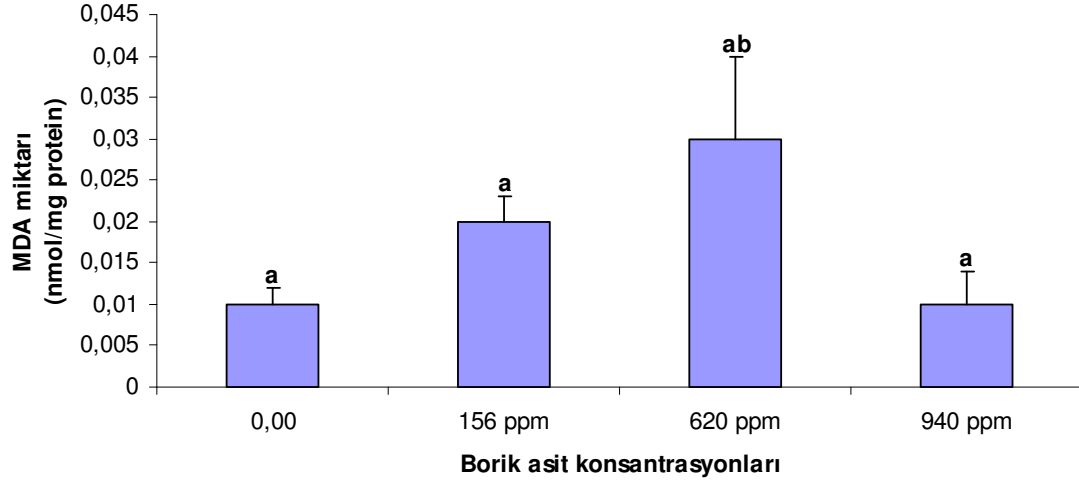
[§]Kontrol besini (Borik asit içermeyen).

4.3 BORİK ASİTİN *G. MELLONELLA* YUMURTALARININ MDA, PROTEİN KARBONİL MİKTARI VE GST AKTİVİTESİNE ETKİSİ

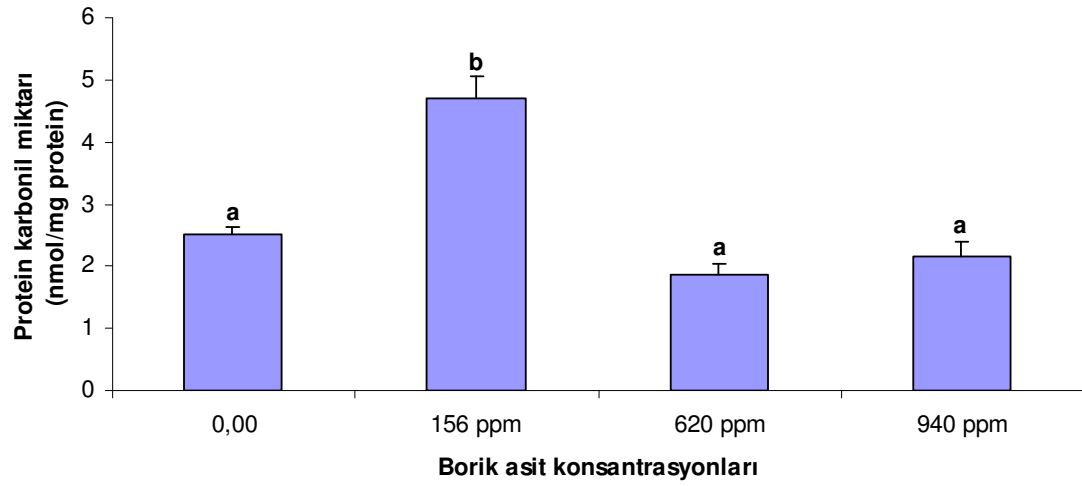
Borik asit içermeyen kontrol besine göre borik asitin 156 ve 940 ppm'i yumurtalardaki MDA miktarını önemli derecede etkilememiştir. Denenen en düşük miktar olan 156 ppm borik asit kontrole göre iki katı oranında MDA miktarını artırdığı halde istatistiksel olarak fark meydana gelmemiştir. Borik asitin 620 ppm'ini içeren besin MDA miktarını $0,01 \pm 0,002$ nmol/mg protein'den $0,03 \pm 0,010$ nmol/mg proteine üç katı oranında önemli derecede yükseltmiştir (Şekil 4.1).

Kontrol besini ile yetiştirilen dişilerin bıraktığı yumurtalarda protein karbonil miktarı $2,51 \pm 0,13$ nmol/mg protein olarak bulunmuştur. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında 156 ppm borik asit protein karbonil miktarını $4,69 \pm 0,36$ nmol/mg protein'e yaklaşık iki katı oranında önemli derecede artırmıştır. Borik asitin 620 ve 940 ppm'i ise protein karbonil miktarını kontrole göre düşürmelerine rağmen bu azalma istatistiki bakımdan önemli olmamıştır. Borik asitin bu konsantrasyonlarını içeren besinler protein karbonil miktarlarını sırasıyla $1,86 \pm 0,19$ ve $2,16 \pm 0,23$ nmol/mg protein'e düşürmüştür (Şekil 4.2).

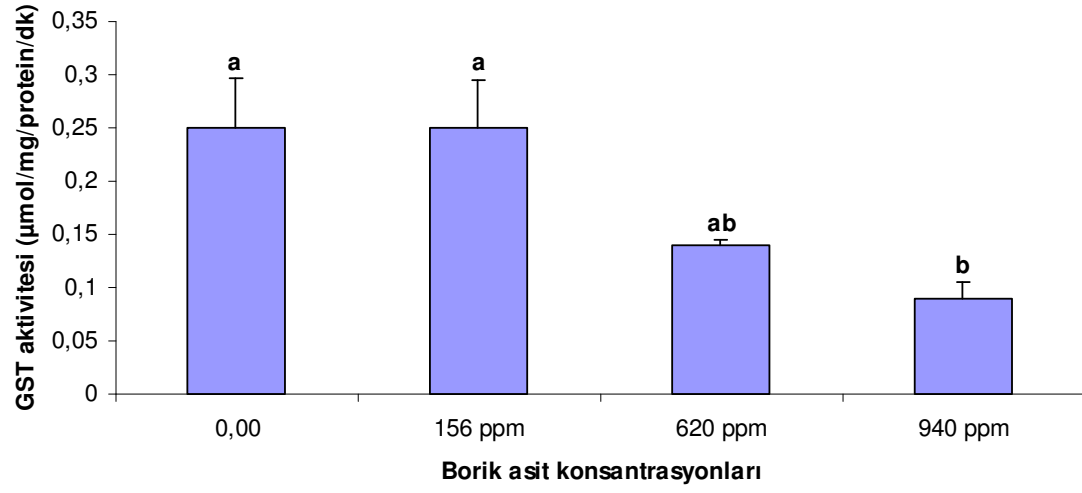
Borik asit içermeyen kontrol besininde yumurtaların GST aktivitesi $0,25 \pm 0,047$ μ mol/mg protein/dk olarak bulunmuştur. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında 156 ppm borik asit GST aktivitesi üzerinde etkili olmamıştır. Buna karşılık, 620 ve 940 ppm borik asit konsantrasyonları GST aktivitesini önemli derecede düşürmüşlerdir. Borik asitin 620 ppm'ini içeren besin GST aktivitesini kontrolün yarısına kadar düşürmüş olup $0,14 \pm 0,005$ μ mol/mg protein/dk olarak aktivite bulunmuştur. Besine 940 ppm borik asit ilave edilmesi ise GST aktivitesini kontrole göre üçte bir oranında önemli derecede azaltmıştır. Bu besin GST aktivitesini $0,09 \pm 0,015$ μ mol/mg protein/dk'ya kadar düşürmüştür (Şekil 4.3).



Şekil 4.1 Borik asitin *G. mellonella* yumurtalarının MDA miktarına etkisi.



Şekil 4.2 Borik asitin *G. mellonella* yumurtalarının protein karbonil miktarına etkisi.



Şekil 4.3 Borik asitin *G. mellonella* yumurtalarının GST aktivitesine etkisi.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Bu çalışmada Pyralidae ailesine ait olan büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* (L.) model alınarak ülkemizde tarımsal ürünlere zarar veren öncelikle Pyralidae familyasına ait türlerin ve genelde ise diğer zararlı türlerin kimyasal mücadelesinde ülkemiz doğal bor rezervlerimizden üretilen borik asitin besinsel karışımlarının kullanılabilirliğinin laboratuvar şartlarında araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada sırasıyla iki sonuç elde edilmiştir. Bunlardan ilki, böceğin ergin özelliklerine en etkili olan borik asit konsantrasyonunun 940 ppm olduğunun belirlenmesidir. İkincisi ise borik asitin böcek üzerindeki oksidatif etki mekanizmasını anlayabilmek amacıyla, borik asit ile beslenen böceğin yumurta evresinde oksidatif düzey ve detoksifikasyon kapasitelerindeki değişimlerin ortaya konmasıdır. Borik asitin ve sodyum tetraboratın tek başlarına besinsel karışımlarının etkileri *G. mellonella* (L.) üzerinde denenmiş olup (Hyršl et al. 2007, Durmuş and Büyükgüzel 2008) bu inorganik insektisitlerin dişilerin bıraktığı yumurtalardaki oksidatif etkisi ile detoksifikasyon kapasitesine etkisi çalışılmamıştır. Dünyada ve ülkemizde tarım alanındaki zararlılar ile mücadele ederek daha kaliteli ürün elde etmek amacıyla geniş etkili kimyasal insektisitler yoğun olarak kullanılmaktadır. Tarımsal alanda kullanılan bu insektisitler hedef organizmaları yok ederek ürün artışına neden olduğu gibi hedef olmayan canlılara da zarar vermektedir. Tarım bitkileri zararlısı böcekler ile mücadelede Lepidoptera takımına ait türlerin laboratuvarında yapay ortamlarda yetiştirilme çalışmaları yeni pestisitlerin geliştirilmesi ve keşfedilmesi doğrultusunda büyük bir hızla artmakta olup bu amaçla farklı model böcek türleri ve beslenme teknikleri kullanılmaktadır.

Lepidoptera takımına ait büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* (L.) larvalarını laboratuvarında ergin evreye kadar yetiştirmek için kullanılan yapay besine farklı miktarlarda katılan bir bor türevi borik asitin böceğin ergin yaşama oranı, eşey oranı, ergin dişi ve erkek ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranı ile yeni bırakılan yumurtalardaki lipid peroksidasyonunun önemli bir ürünü olan MDA ve protein oksidasyonu ürünü protein karbonil miktarlarına,

detoksifikasyon enzimi GST aktivitesine etkisi incelendi. Bu çalışmanın sonuçları borik asitin denenen karışımlarının çalışılan böceğin ergin özellikleri ile ilgili biyolojik etkinliğini ve yumurta sayısı ve açılımını olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir. Benzer biyolojik tepkiler borik asit ve diğer bor türevi maddeler (sodyum tetraborat) ile maruz kalan diğer zararlı böcekler için de kaydedilmiştir (Nigg and Simpson 1997, Yang et al. 2000 b).

Borik asitin, yumurtalarda oksidatif stresin göstergeleri olan lipid peroksidasyonu ürünü MDA ve protein oksidasyonu ürünü protein karbonil miktarlarının artışına karşı, önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST aktivitesinde değişimlere sebep olduğu açıkça görülmüştür. Bu sonuçlar *G. mellonella* (L.) erginlerinin biyolojik özellikleri üzerindeki olumsuz etkilerin borik asit ile uyarılan oksidatif stresten kaynaklanabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada ayrıca borik asitin *G. mellonella* (L.) üzerinde fizyolojik ve biyokimyasal etkisinin araştırılmasında, dişiler tarafından yeni bırakılan yumurtalarda lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu seviyesi ile önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST aktivitesindeki değişimlerin tespit edilmesi ve bu değişimler ile birlikte, böceğin ergin yaşama oranı, ergin dişi ve erkek ömür uzunluğu, eşey oranı ile yumurta verimi ve yumurtaların açılma oranını, olumsuz yönde etkileyen konsantrasyonların belirlenmesi borik asitin inorganik insektisit olarak kullanılabilirliğinin incelenmesinde önemli kriterler olmuştur. Böylece ülkemizin kendi öz kaynaklarının işlenmesi ile geliştirilen bir ürünün zararlı böceklerin mücadelesinde kullanımı ile ilgili bu yeni yaklaşım tarımsal ürünlerin korunmasında çevreye duyarlı bir yöntem olmaya adaydır.

Aynı türün farklı gelişim evrelerinde bile değişik fizyolojik koşullara gereksinim duyulduğu bilinmektedir (Grenier et al. 1986). Bu yüzden denenen borik asitin besinsel karışım halinde etkisinin böceğin farklı ergin özelliklerine göre değişmesi de beklenen bir sonuçtur. Bunun yanında herhangi bir insektisit uygulama yöntemi, formülasyonu ve insektisit etkinliği de önemlidir (Appel et al. 2004). Bu çalışmada böcek üzerindeki etki borik asitin uygulanan farklı konsantrasyonları ile değişmiştir. Borik asitin yalnızca yüksek konsantrasyonlarını içeren besinler dişi ömür uzunluğunu, yumurta verimi ve açılma oranını önemli derecede düşürürken, denenen tüm borik asit konsantrasyonları böceğin ergin yaşama oranı ile erkek ve dişi eşey oranını düşürmüştür. Borik asitin erkek ömür uzunluğuna önemli bir etkisi olmamıştır.

Burada yalnızca 620 ppm BA içeren besin kontrol besinine göre *G. mellonella* (L.) yumurtalarının MDA miktarını önemli derecede artırmıştır. Kontrol besine 156 ppm borik asit ilave edilmesi de oksidan etki göstermiş olup MDA seviyesinde kontrole göre önemli olmayan bir artışa sebep olmuş ancak protein karbonil miktarını önemli derecede artırmıştır. Besinde borik asit miktarının 620 ppm'e çıkarılması GST aktivitesinde önemli olmayan bir azalmaya sebep olurken 940 ppm borik asitin enzim aktivitesini önemli derecede düşürmüştür.

Daha önceki bir çalışma bir bor türevi olan borik asitin 620 ppm ve daha yüksek konsantrasyonlarının (1250 ve 2500 ppm) *G. mellonella* (L.)'nın yaşama oranını düşürdüğü, gelişme süresini kısalttığı, ergin ömür süresini ise uzattığını göstermiştir. Bu konsantrasyonlar böceğin son evre larvaları ile yeni pup olmuş bireylerin hemolenf ve yağ dokusundaki MDA miktarını artırmış, antioksidan enzimler SOD, CAT, GST ve GPx aktivitelerini ise önemli derecede değiştirmişlerdir (Hyršl et al. 2007).

Buna karşın, bu çalışmada ise borik asitin 1250 ve 2500 ppm'i ile yetiştirilen dişilerin hiçbir yumurta bırakmadığından MDA, protein karbonil ve GST analizi yapılamamıştır. Önceki çalışmalar ile karşılaştırıldığında borik asitin oksidatif etkisinin araştırıldığı *G. mellonella* (L.)'nın gelişim evresi ya da dokusu farklı olmasına rağmen böceğin tüm biyolojik özellikleri üzerindeki olumsuz etkisinde oksidatif hasarın, antioksidan savunma ve detoksifikasyon sistemindeki değişimin rol oynadığı görülmektedir.

Borik asitin böcek üzerinde önemli derecede olumsuz etki yapan konsantrasyonu besine ilave edilen borik asitin besin ile muhtemel etkileşimine göre değişmiştir. Genelde borik asitin 620 ppm'inden itibaren böceğin ergin biyolojik özellikleri olumsuz yönde etkilenirken yumurtalarındaki oksidatif ve detoksifikasyon düzeyinde de değişiklik olmuştur.

Borik asit uzun süreden beri hamam böceği başta olmak üzere kapalı alanlarda insan ve hayvan sağlığını doğrudan ya da dolaylı tehdit eden böceklerin mücadelesinde kullanılmaktadır (Ebeling 1995). Böceğin metabolizması üzerinde bir mide zehiri gibi etkisini gösteren borik asit son zamanlarda inorganik insektisit olarak kullanımdaki yerini almaya başlamıştır. Bu madde ön (foregut) ve orta bağırsağa (midgut) zarar verdiğinden besin alınmasını ve alınan besinin sindirilmesini önleyerek böceğin ölmesine sebep olmaktadır (Cochran 1995). Borik asitin böceklerdeki etki mekanizması tam olarak ortaya çıkarılmamış

ancak bor mineralinin sindirim işlemini bozarak böcekleri öldürdüğü bilinmektedir. Bu durum böceğin yaşama ve gelişimi için gerekli olan besinsel ihtiyacını karşılayamamasına sebep olmaktadır. Borat iyonları aynı zamanda bir çok işlevsel organik grup ve şeker alkollerini ile güçlü kompleksler oluştururlar (Williams and Atalla 1981, Hu et al. 1997). Diğer taraftan borun hücreler arasındaki bağlantı bölgelerini tahrip ettiği bilinmektedir (Klotz et al. 2000). Ayrıca borik asitin zararlılarla mücadelede kullanılmasının diğer nedeni kısırlaştırıcı etkisinden dolayı böceğin çoğalmasını önlemesidir (Zhou and Le Patourel 1990). Borik asitin düşük konsantrasyonlarda besinsel karışımları böceğin besin almasını uyarır. Bunun sonucunda tüketilen besin miktarının artması ile alınan borik asit miktarı da artar. Borik asit özellikle bal arıları, kuş, balık, sucul omurgasızlar ve biyolojik kontrol ajanı yararlı böceklerle ve memelilere karşı toksik etkisi çok düşüktür (Weir and Fisher 1972). Fosfor ve kalsiyum böceklerin larval evresi için oldukça önemli besinsel elementlerdir. Borik asit ve sodyum tetraboraks kalsiyum, magnezyum, bakır ve fosfor gibi besinsel elementlerin metabolizmasını etkiler. Borik asit karbohidratlar (monosakkarit ve polisakkaritler), nükleotidler (adenozin monofosfat, NAD) ve vitaminler (askorbik asit, pridoksin ve riboflavin) ile kompleks oluşturarak bu besinsel moleküllerin böcekler tarafından yeterli derecede alınmasını önler (Xue and Barnard 2003).

Zararlı böceklerin mücadelesi amacıyla çeşitli besinlere ilave edilen borik asit ve sodyum tetraborat gibi bor türevi çeşitli kimyasalların yüksek konsantrasyonlarda gelişmeyi geciktirdiği, yumurta üretimini ve açılımını azalttığı, larval ve pupal evrede ölüm oranını ve ergin ömür uzunluğunu artırdığı gözlenmiştir (Xue and Barnard 2003, Zurek et al. 2003, Gore and Schal 2004, Gore et al. 2004, Hyršl et al. 2007). Borik asitin % 1'lik konsantrasyonu *A. albopictus* (Skuse) (Diptera:Culicidae)'un % 98'ini öldürmüştür (Xue and Barnard 2003). Mullens ve Rodriguez'e (1992) göre disodyum oktaborat tetrahidratın % 1 ve 2'lik konsantrasyonu ev sineği *Musca domestica* (Linnaeus 1758) ve küçük ev sineği *Fannia canicularis* (Linnaeus 1761) (Diptera:Muscidae)'in yaşama oranını önemli derecede düşürmüştür. *A. mellifera* (L.)'nın besinine 2,5 ve 7,5 mg/g (mg/g besin) oranında ilave edilen borik asit, kontrol grubuna göre işçi larvaların ölüm oranını ilerleyen günlere göre artırmış olup borik asitin 2,5 mg'ı 5. ve 6. günde larvaları % 100 oranında öldürürken, 7,5 mg'da 4. günde % 100 ölüm oranına ulaşılmıştır (Cruz et al. 2009). Bu çalışmada ışık mikroskopi analizleri besine 1,0 ve 2,5 mg borik asit ilave edildiğinde orta bağırsak hücrelerinde sitoplazmik vakuolleşmenin başladığı, 7,5 mg borik asitte ise yoğun bir vakuolleşme olduğunu göstermiştir. Ayrıca yağ doku hücrelerinde piknotik çekirdekler ile birlikte hücre

fragmentasyonları görülmüştür. Ultrayapı analizi ile ilgili olarak yapılan taramalı elektron mikroskop çalışmaları ise 7,5 mg borik asitin mitokondrilerin bazı bölgelerinde elektron yoğun granüllerin oluşumuna, mitokondrilerin hacimlerinde artıştan dolayı tipik morfolojik yapılarında bozulmaya sebep olduğunu göstermiştir (Cruz et al. 2009).

Borik asitin böcek üzerindeki patofizyolojik etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber borik asit gibi bazı bor türevi kimyasalların moleküler oksijene elektron transfer ederek süperoksit radikallerinin oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir (Jolly 1991). Diğer taraftan borik asitin Alman hamam böceği *B. germanica* (L.) erginlerinin orta bağırsak epitel dokusunda oksidatif hasara sebep olduğu ve GST aktivitesini artırdığı ortaya çıkarılmıştır (Habes et al. 2006). Bu çalışmada borik asitin böceğin besin almasını uyarması sonucu fazla miktarda kimyasal tüketmesine bağlı olarak beslenme fizyolojisinde değişikliklere sebep olabileceği düşünülmektedir. Tropik meyve sineği *A. suspensa* (Loew) erginlerinin % 4'lük sodyum tetraborat içeren besin ile beslenilmesi erginlerin ölüm oranını artırdığı gibi yumurta verimini ve açılımını önemli derecede düşürmüştür (Yang et al. 2000 b). Bu sonuçlar ile uyumlu olarak borik asitin yüksek konsantrasyonları *G. mellonella* (L.) larvalarının ergin olma oranı ile dişilerin yumurta verimini ve açılma oranını önemli derecede düşürmüştür. Larval besinle alınan borik asitin ergin dişilerin yumurta verimi ve açılma oranı üzerindeki olumsuz etkisi yumurta üretimi ile ilgili organlarda ve üretilen yumurtalardaki embriyonal gelişim sırasında oksidatif hasarın artması sonucu olabilir. Bazı omurgalı türlerinde yumurta açılımının oksidatif stresin artışı ile ters orantılı olduğu bilinmektedir (Alonso-Álvarez et al. 2010).

Larval evrede alınan doğal ve yapay besin maddelerinin kalitesi ve besinsel dengesi çoğu böceğin erginlerinin üreme ve diğer bazı özellikleri ile ergin ömür uzunluğu (hayatta kalma süresi) üzerinde etkilidir (Slansky and Scriber 1985, Eischen and Dietz 1987, Ridgway and Mahr 1990). Zararlı bir dipter tür olan Akdeniz meyve sineği *Ceratitis capitata* (Wiedemann 1824)'nın larval evrede aldığı besinin ergin oluşumunu, vücut büyüklüğünü, eşeysel olgunluğunu, yumurta bırakma davranışını ve yaşama süresini etkilediği bilinmektedir (Chang et al. 2001). Borik asitin denenen besinsel karışımlarının hiç biri *G. mellonella* (L.) erkek erginlerinin ömür uzunluğu üzerinde istatistiksel olarak etkili olmamıştır. *G. mellonella* (L.)'nın ergin ömür uzunluğu mevsime (kış ve yaz ayları) göre değişmekte olup eşey oranları ise her mevsimde 1:1,1 (populasyon içi paylar % 50: % 55) oranındadır (Chang and Hsieh 1992). Bu çalışmada erkek ve dişi bireylerin ömür uzunluğu ayrı ayrı ele alınmıştır.

Kılınçer’de (1976) yapmış olduğu çalışmasında belirli bir doğal konak ile yetiştirilen *Bracon hebetor* (Say 1836) erginlerinden erkek bireylerin dişilere göre daha kısa yaşadığını, erkek bireylerin ömür uzunluğunun ortalama $7,4 \pm 2,6$ (4-14) gün, dişi bireylerin ömür uzunluğunun ise ortalama $19,7 \pm 2,6$ (10-30) gün olduğunu belirtmiştir. Bu sonuçlar, çalıştığımız böceğin Lepidoptera takımına ait bir tür olmasına rağmen elde ettiğimiz sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Borik asitin en yüksek konsantrasyonu (2500 ppm) hariç kontrol ve borik asitin denenen diğer düşük konsantrasyonlarının tümünde *G. mellonella* (L.) erkekleri dişilerden daha kısa süre yaşamışlardır. Borik asitin 2500 ppm’inde dişilerin erkeklere göre daha kısa yaşaması dişilerin larval besin ile alınan yüksek konsantrasyonlarda borik asite ergin sonrası hassas olduğunu göstermektedir. Bu görüş borik asitin 1250 ve 2500 ppm’i ile yetiştirilen dişilerin yumurta bırakmadığının tespit edilmesi ile destek bulunmaktadır.

Bazı çalışmalarda çeşitli çevresel stres faktörlerine maruz kalan birkaç böcek türünün ergin ömür uzunluğundaki artışın lipid peroksidasyonu düzeyinin düşmesi (Sestini et al. 1991) ve antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktivitelerinin yükselmesi (Bains et al. 1998, Sun et al. 2002) ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Daha önceki bir çalışmada borik asitin tek başına denenen yüksek konsantrasyonlarında (620-2500 ppm) *G. mellonella* (L.) larvalarının hemolenf ve yağ doku MDA miktarında artış gözlenirken, pupal hemolenf MDA miktarında düşme gözlenmiş, pupal yağ dokuda ise MDA miktarı artmıştır. Buna karşılık yüksek borik asit konsantrasyonlarında (1250 ve 2500 ppm) son evre larvalarının hemolenf GST aktivitesi önemli derecede değişiklik göstermiş olup ergin ömür uzunluğu ise önemli derecede kısalmıştır (Hyršl et al. 2007). Bu çalışmanın sonuçları borik asitin böceğin ergin ömür uzunluğu üzerindeki olumsuz etkisinin oksidatif stresten kaynaklanabileceğini işaret etse de diğer ergin özellikleri üzerindeki olumsuz etkilerin de borik asit tarafından uyarılan oksidatif stresten etkilenebileceği bir gerçektir. Bu çalışmada 940 ppm borik asit dişilerin daha uzun yaşamasına sebep olurken bu dişilerin yumurtalarındaki MDA ve protein karbonil miktarlarını önemli derecede etkilememiş, GST aktivitesinde ise önemli azalmaya sebep olmuştur. Antioksidan enzimler aşırı oksidatif stres durumunda oluşan reaktif moleküllere karşı hassas olduklarından (Pigeolet et al. 1990), borik asitin bu yüksek konsantrasyonu tarafından üretilen serbest radikaller GST enziminin aktivitesini düşürmüş olabilir. *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830)’de glutatyona bağımlı enzimlerin (GST ve GPx) aktivitelerindeki artışın ömür uzunluğunda artışa neden olduğu ve oksidatif strese direncin arttığı gözlenmiştir (Parkes et al. 1993, Sohal et al. 1995, Sun et al. 2002). Büyükgözel (2006) organofosforlu insektisitlerin öldürücü olmayan dozlarına karşı bir tepki olarak *Pimpla turionellae* (Linnaeus 1758)

erginlerinde SOD aktivitesinin ve ömür uzunluğunun arttığını göstermiştir. Uzun süre fenitrotiyona maruz bırakılan Lepidoptera takımına ait *S. exigua* (Hubn)'nın erginlerinde artan SOD aktivitesi ile birlikte yaşama oranının ve ömür uzunluğunun arttığı gözlenmiştir (Adamski et al. 2003). Bu çalışmada borik asit ile yetiştirilen *G. mellonella* (L.) erginlerin ömür uzunluğunun antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki değişimler ile ilişkisi incelenmemiştir. Daha önce yapılan bu çalışmaların sonuçları ve *G. mellonella* (L.) ile yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar birlikte ele alındığında oksidatif-antioksidatif tepki ile ilişkili olarak ömür uzunluğundaki değişme böceğin türü ile denenen oksidan maddenin türüne ve konsantrasyonuna bağlı olduğu görülmektedir.

Borik asiti içeren besin ile beslenen larvalardan elde edilen erginlerin erkek ve dişi oranları önemli derecede azalmıştır. Dişi birey sayısının az olması bırakılan yumurta sayısının azalması sebebiyle zararlı böceklerin tarımsal alanlarda çoğalmasının sınırlandırılması ve sonraki döllerde bitkilere verilecek zararın azalması anlamına gelmektedir. Gülel (1988) bazı böceklerde eşey oranının fazlasıyla değişebildiğini belirtmiştir. Eşey oranındaki bu değişimler yumurta bırakan dişiye, erkek ve dişi larvalar arasındaki ölüm farkına, dişilerdeki çiftleşme sayısı gibi genetik olmayan faktörler yanında genetik faktörlere de bağlı olarak açıklanmaktadır.

İnsan veya diğer memelilerdeki erkek gamet ya da sperm hücreleri heterogametik olup iki tip eşey kromozomundan birini içerir. Bunlar X ve Y kromozomlarıdır. Lepidoptera takımına ait böcekler (güve ve kelebekler) ile yakın akraba olan Trichoptera takımına ait türler XX-XY eşey mekanizmasının aksine erkek eşeyin homogametik, dişi eşeyin ise heterogametik olduğu bilinmektedir. X yerine Z, Y yerine W harfi kullanılır. Buna göre erkekler ZZ, dişiler ZW gonozomlarını taşırlar (Traut et al. 2007). W kromozomu birçok türde heterokromatiktir. Heterogametik eşey kromozomları içeren *Ephesia kuehniella* (Zeller 1879) ve *G. mellonella* (L.)'nın W kromozomunda da karşılaştırmalı genomik hibridizasyon yöntemi ile eşeyi tayin eden iki farklı bölge tespit edilmiştir (Sahara et al. 2003). Hamam böceği ve çekirgelerin dahil olduğu Ortoptera takımı ile Heteroptera takımının birçok türünde ise Y kromozomu tamamen ortadan kalkmıştır. Bu türlerde XX kromozomlarını taşıyan birey dişi, tek X kromozomu taşıyan birey ise erkek (X0) olmaktadır. Böylece XO bireyleri, *Drosophila*'dakinin aksine verimli erkeklerdir. X0 içeren *Drosophila* erkekleri ise kısırdır (De Falco et al. 2008).

Lepidoptera takımına ait türlerde kromozomal olarak genetik eşey belirlenmesinin dışında ekstrakromozomal şekilde dişi böcek tarafından yumurta aracılığıyla kalıtsal olarak nesilden nesile nakledilen *Wolbachia* cinsi bakteriler [*Wolbachia pipientis* (Hertig 1936)] tarafından böceğin üreme şekli değiştirilmektedir. Bu türlerde *Wolbachia*'nın sitoplazmik enfeksiyonu sonucunda büyük oranda dişi birey oluşturulmaktadır. Bu mikroorganizma tarafından uyarılan aşırı dişi üretimi üç mekanizma ile gerçekleşmektedir (Kageyama et al. 1998). Mekanizmalardan birincisi, bu mikroorganizmaların partenogenezi uyararak büyük oranda dişi birey oluşumunu sağlaması, ikincisi, erken evrelerde seçici olarak erkeklerin ölümü (male killing) ve üçüncüsü ise erkeklerin genetik olarak dişileştirilmesidir. Dişi böcek tarafından kalıtsal olarak dölden döl geçirilen *Wolbachia* ile enfekte olan tamamen dişi döl meydana getiren *Ostrinia scapularis* (Walker 1859) dişileri tetrasiklin ve diğer bazı antibiyotikler ile birkaç nesil beslendiğinde eşey oranı erkek birey lehine değişmiştir (Kageyama et al. 2003).

Lepidoptera takımına ait türlerin çoğunluğu dişi eşey yönelimli döl vermesine rağmen en az 11 türün yabancı tipleri yalnızca dişi döl vermektedir (Ishihara 1992). Apollo kelebeği *Parnassius apollo* (Linnaeus 1758)'nun yabancı tipi ise ağırlıklı bir şekilde erkek yönelimli döl vermekte olup eşey oranı 2:1 oranına oldukça yakındır (Pawel 2004). Eşey oranı genellikle populasyon yoğunluğuna göre de değişmektedir. Kelebek türü *Boloria aquilonaris* (Stichel 1908) (Lepidoptera:Nymphalidae) erkekleri uçuş döneminin başlangıcında oldukça fazla iken dişiler bu periyodun sonuna doğru artmaktadır. Populasyon içerisindeki erkeklerin oranı populasyonun yoğunluğu azaldığında yükselme eğilimindedir (Gorbach 1998). Yaklaşık 1000 türü içine alan keseli kurt (bagworm) ailesinden (Lepidoptera:Psychidae) laboratuvarda yetiştirilen türlerde erkek yönelimli eşey oranı elde edilmektedir (Rhainds et al. 2009). Bu türlerin tarla populasyonlarında erkek birey oranı dişi oranına göre daha fazla, daha düşük ya da eşit yoğunluktadır. Ancak dişi larvaların erkeklerden daha fazla beslenmeye ihtiyaç duyması ve besin bakımından tür içi rekabete daha hassas olması sebebiyle populasyonun yoğunluğu genellikle erkek yönelimli eşey oranı ile ilişkilidir. Kır tırtılı güvesinin birkaç yıl boyunca düşük ve yoğun olduğu üç bölgeden toplanan yumurtalardan açılan larvaların laboratuvarda beslenilmesi sonucunda eşey oranı yumurtaların toplandığı populasyonun yoğunluğuna göre değişmiştir. Düşük yoğunluklu bölgeden toplanan yumurtalar yüksek yoğunluklu bölgeden toplanan yumurtalara göre daha fazla sayıda dişi birey oluşturmuştur (Myers et al. 1998). *Heliothis armigera* (Hübner 1805)'da cinsiyet oranı (dişi:erkek) pupalarda ortalama 1,00:1,07, dişi ve erkeklerin populasyon içindeki payları ise sırasıyla % 48,3 ve % 51,7, erginler üzerindeki cinsiyet oranı ise ortalama 1,00-1,08, dişi ve erkeklerin

populasyon içindeki payları ise % 47,9 ve % 52,1 olarak bulunmuştur (Kaya ve Kovancı 2000). Bu çalışmada ayrıca cinsiyet oranının yıllara göre, tarla ve laboratuvar populasyonuna göre değiştiğini, sonuç olarak cinsiyet oranının erkekler lehine olduğu, erkeklerin populasyondaki paylarının dişilere oranla biraz daha fazla olduğu belirtilmiştir. Yaprak delici kurdu *Perthida glyphopa* (Common 1969) dişileri haziran ve eylül süresince yapraklar ile beslenme safhasında baskın olup eşey oranı 0,74:1,00 (erkek: dişi) dir. Eylül ayının sonlarına doğru toprakta diyapoza giren larvaların eşey oranı 1,47:1,00, martta pupaların cinsiyet oranı 1,30:1,00 ve nisan-mayıs aylarında ise erginlerin eşey oranı 1,56:1,00 olarak erkek lehine artmıştır (Mazanec 2007). Tüm bu çalışmalardan anlaşıldığı gibi Lepidoptera takımına ait böceklerin eşey oranı çok değişik faktörlerin etkisi altındadır. Borik asitin bazı konsantrasyonlarını içeren besinlerde *G. mellonella* (L.)'nın dişi eşey oranı aynı besindeki erkek eşey oranına göre artış göstermesine rağmen istatistiksel olarak önemli bir artış olmadığı görülmektedir. Genelde denenen borik asit konsantrasyonlarının tümü kontrol ile karşılaştırıldığında erkek ve dişi eşey oranını önemli derecede düşürmüştür. Ancak borik asitin eşey oranı üzerindeki muhtemel etkisini ortaya çıkarmaya yönelik daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Borik asitin en yüksek miktarını (940 ppm) içeren besin dişilerin yumurta verimini ve yumurtaların açılma oranını olumsuz yönde etkilemiştir. Bu miktarları içeren besinde yetiştirilen dişilerin yumurta veriminde önemli bir azalma olmuş, bırakılan yumurtaların büyük bir çoğunluğunun embriyonik gelişimi tamamlayamadığı ve normal olarak açılmadığı görülmüştür. Ekonomik olarak zarara sebep olan böceklerin yumurta sayısının azalması ve bu yumurtaların canlılık oranının düşük olması böceklerin kontrolünde önemlidir. Bazı çalışmalar çeşitli bor türlerinin Lepidoptera ve diğer takımlara ait zararlı türlerin yumurta üretimini çoğunlukla olumsuz yönde etkilediğini ortaya çıkarmıştır. Besine ilave edilen sodyum tetraborat *G. mellonella* (L.) dişilerinin yumurta verimini ve bırakılan yumurtaların açılma oranını düşürmüş olup denenen en yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonunda (% 0,3) dişilerin hiçbir yumurta bırakmamıştır. Sodyum tetraboratın % 0,2'lik besinsel konsantrasyonu yumurta sayısını $57,2 \pm 3,0$ 'den $33,2 \pm 2,7$ 'ye, açılma oranını ise $83,4 \pm 3,3$ 'den $38,8 \pm 2,9$ 'e düşürmüştür (Durmuş and Büyükgüzel 2008). Bu çalışmada borik asitin *G. mellonella* (L.) dişilerinin yumurta verimi ve açılımı üzerine etkisi ile ilgili elde edilen sonuçlar Yang et al. (2000b) tarafından *A. suspensa* (Loew)'da sodyum tetraborat için elde edilen sonuçlar ile uygunluk göstermektedir. Bu çalışmada % 0,1'lik sodyum tetraborat *A. suspensa* (Loew) yumurta verimini ve açılma oranını önemli derecede düşürmüş daha yüksek

konsantrasyonlardaki sodyum tetraborat ise yumurta üretimini tamamen önlemiştir. Mullens ve Rodriguez (1992) % 1 ve 2'lik disodyum oktaborat tetrahidratın *M. domestica* (L.) ve *F. canicularis* (L.) dişilerinin yumurta açılımını % 10'un altına düşürdüğünü belirtmişlerdir. Sodyum tetraborat 10 g bezelye tohumu ile karıştırıldığında depolanmış ürün zararlısı *Callosobruchus analis* (Fabricius 1781) (Coleoptera:Bruchidae) dişilerinin yumurta sayısını % 24 oranında düşürdüğü yaşama oranını ise % 7,5'e indirdiğini göstermişlerdir (Khan et al. 1996). Kimyasal mücadelede kullanılan bazı insektisitlerin heteropter böceklerden *Pyrrhocoris apterus* (Linnaeus 1758)'da ve *Dysdercus cingulatus* (Fabricius 1775)'da ovaryum ve folikül hücrelerinin yapısının bozulmasına, embriyo gelişimi için önemli olan vitellin proteininin sentezinin önlenmesine bağlı olarak embriyonik gelişimin gerilemesine sebep olmuştur (Slāma et al. 1983, Gelbič and Holy 1985, Šula et al. 1987, Socha et al. 1988). Bazı kimyasallar çeşitli böceklerde ovaryumlardaki yumurta verimini juvenil hormon (JH) titresini değiştirmek suretiyle etkilemektedir (Šula et al. 1987). JH ve ovaryum ekdisteroidleri yumurta hücresinin büyümesini, vitellus sentezi ve oluşumu, embriyo gelişimini düzenlemektedir (Gäde and Hoffmann 2005). Borik asit bazı böceklerde AChE enzimini inhibe etmiş olup zehirlenme ile kendini gösteren nörotoksik etkiler göstermiştir (Habes et al. 2006). Bu çalışmada denenen borik asitin besinsel karışımlarının *G. mellonella* (L.)'da merkezi sinir sistemini etkileyerek bu hormonların işlevinde önemli değişikliklere sebep olabilir. Borik asitin Alman hamam böceği *B. germanica* (L.) daki toksik özelliğinin yumurtaların olgunlaşmadan folikül ile birlikte atılması, normal bırakılan yumurtaların açılma oranının düşmesi gibi olumsuz etkilerden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Zhou and Le Patourel 1990). Borik asitin *B. germanica* (L.)'nın ilk gonadotrofik döngüsü (0, 2, 4 ve 6.günler) boyunca üreme üzerindeki etkisi araştırılmış olup bu inorganik insektisit her iki ovaryumda da oosit sayısını ve oositlerin boyutunu azalttığı tespit edilmiştir (Kilani-Morakchi et al. 2005). Ayrıca bu çalışma borik asitin yumurtalıkların protein, lipid ve karbohidrat bileşenlerini önemli derecede azalttığını göstermiştir. Diğer taraftan, bazı nükleozit türevi sentetik insektisitler *P. apterus* (L.)'da hemolenf, yağ doku ve ovaryumdaki protein içeriğinde önemli değişikliğe sebep olmuş, yumurta oluşumunu tamamen önlemiştir (Gelbič and Šula 1990).

Birçok böcekte yumurta bırakma davranışının başlaması için ovaryumun gelişimi, yumurta üretimi ve olgunlaşmasına ihtiyaç duyulur. Ovaryumların gelişmesi ve yumurta hücrelerinin büyümesi vitellin proteininin sentezi sayesinde olup bunların hepsi hormonal kontrol altındadır (Engelman 1979, Zeng et al. 2000). Diğer taraftan yumurta bırakma davranışı çevresel sinir sisteminden daha çok merkezi sinir sistemi tarafından yönetilen ve hormonal

seviyede gerçekleştirilen karmaşık bir aktivitedir (Loher et al.1984). Bu yüzden *G. mellonella* (L.)’ya besinle verilen borik asitin metabolizması sonucu oluşan ara ürünlerinin doğrudan hemolenfe karışarak kısa bir süre içinde yumurta üretimi, olgunlaşması, bırakımı ve bu yumurtaların açılması gibi fizyolojik davranışları olumsuz yönde etkilemesi beklenen durumdur.

Belirtilen bu çalışmalardan anlaşıldığı gibi çeşitli bor türevlerinin (Durmuş and Büyükgüzel 2008) veya diğer kimyasal insektisitlerin Lepidoptera takımına ait bazı böcekler ile diğer takımlara ait bazı böceklerin yumurta verimi ve bırakılan yumurtaların açılma oranı üzerine etkileri detaylı çalışılmıştır (Krishnamoorthy 1985, Adamski et al. 2003). Buna karşılık bu kimyasalların yumurtalardaki oksidatif etkileri ile antioksidatif veya detoksifikasyon kapasitesi üzerine etkileri çalışılmamıştır. Endosülfana maruz kalan Lepidoptera takımına ait bazı türlerde, yumurtaların açılmasından belirli süre önce yapılan analizlerinde oldukça düşük GST aktivitesi tespit edilmiş olup bu aktivitenin larval evrelere doğru artarak son larva evresinde en yüksek düzeye ulaştığı belirlenmiştir. Pupa ve ergin evresinde ise tekrar düşmüştür (Rajurkar et al. 2003). Ancak yumurtalardaki oksidatif hasarın göstergesi olan lipid peroksidasyonu veya protein oksidasyonu düzeyi çalışılmamıştır.

Besine çeşitli amaçlarla ilave edilen kimyasal maddelerin böcek üzerindeki etkilerinin tespit edilmesi için belirli evrelerdeki biyokimyasal analizlerinin yapılması ve fizyolojik değişimlerin ortaya konulması önemli kriterlerdir (Ferkovich et al. 1999, Wang et al. 2002, Zapata et al. 2005). Bu çalışmada kullanılan borik asitin besine ilave edilen miktarları genel olarak dişilerin yumurtalarının lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu düzeyi ile GST aktivitesini etkilemiştir. Aynı zamanda besin kalitesinin düşük olması böceklerde birçok fizyolojik ve davranışsal değişime sebep olur (Slansky and Scriber 1985). Çeşitli toksinlere maruz kalarak besinsel değeri azalmış doğal besin ile beslenen predatör bir örümcek türü *Pardosa prativaga* (Koch 1870)’da GST enziminin aktivitesi oldukça düşük bulunmuştur (Nielsen and Toft 2002). Böceklerin serbest radikallerden ve genel oksidatif stresten etkilendiği bilinmektedir (Timmermann et al. 1999). Böcekleri yetiştirmek için kullanılan yapay besinlerin besin bileşenleri kendi aralarında ve besine ilave edilen madde ile etkileşerek reaktif oksijen türevlerinin (ROT) oluşmasına sebep olurlar. Besinlerde oluşan serbest radikaller toksitenin artmasına bağlı olarak larvaların besin tüketim oranını değiştirmektedir (Cohen and Crittenden 2004).

Canlıların kimyasal maddeler veya çevre kirliliğine neden olan maddeler gibi çeşitli yabancı maddelerin etkileri altında kalmaları, serbest oksijen radikallerinin oluşumuna ve dolayısıyla da metabolik olayların bozulmasına neden olur. Serbest oksijen radikalleri sahip oldukları paylaşılmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif atom ve moleküllerdir. Bu radikaller hücre zarının doymamış yağ asitleri ve protein bileşimi üzerine zarar vermektedir. (Halliwell 1994, Heinle and Betz 1994). Serbest radikallerin zar ile etkileştiği durumda enzimler, hormonlar ve nörotransmitter maddeler olumsuz yönde etkilenmektedir. Patofizyolojik durumlarda üretilen serbest oksijen radikalleri ve organik hidroperoksitleri detoksifikasyon ve antioksidan sistemler tarafından uzaklaştırılır. Ayrıca oluşan serbest radikaller sonucu hücre zarının ve diğer hücresel lipid ve proteinlerin yapısının bozulmasıyla lipid peroksidasyonu olarak tanımlanan bir dizi reaksiyon gerçekleşir ve sonuçta aldehit türevleri özellikle MDA ile protein karbonil ürünleri oluşur. MDA miktarının yükselmesi lipid peroksidasyonu seviyesinin önemli bir göstergesidir (Mano et al. 1995). Çeşitli kimyasal ve biyolojik ajanların bazı böceklerin hücre kültürü hatlarında lipid hidroperoksit ve protein karbonil miktarlarını artırdığı ve oksidan strese sebep olduğuna yönelik çalışmalar mevcuttur (Wang et al. 2001). Bu kullanılan inorganik insektisit borik asitin böceğin metabolik faaliyetleri üzerine etkilerinin araştırılması, diğer böceklerle mücadelede kullanılan maddeler için de bir ışık olacaktır. Bir organofosfat insektisit olan fenitrotiyonun pamuk çizgili yaprak kurdu *S. exigua* (Hubn) ve un kurdu *T. molitor* (L.) türlerinin yağ dokusu ağırlığında ve antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktiviteleri üzerinde değişikliğe sebep olduğu gösterilmiştir (Adamski et al. 2003). Kadmiyum, bir heteropter tür *O. fasciatus* (Dall.)'un lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA seviyesini arttırmış ve bazı antioksidan enzimlerin aktivitelerini düşürmüştür (Cervera et al. 2003). Önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST *N. lugens* (Stal) türünde pretroid grubu insektisitlere karşı direnç kazanmasını sağlamıştır (Vontas et al. 2001). Endosülfanın, *H. armigera* (Hubn.)'nın farklı evrelerindeki çeşitli dokularında (tüm vücut, orta bağırsak, hemolenf, yağ doku, kutikula) GST aktivitesi incelenmiş ve aktivitenin yağ dokuda en yüksek olduğu, yumurta evresinde ise en düşük olduğu ortaya çıkarılmıştır (Rajurkar et al. 2003). *A. mellifera* (L.) ile yapılan bir çalışmada işçi arı, erkek arı ve kraliçe arının farklı dokularında (kas, mide, hemolenf, spermetaka ve semen) CAT, SOD, GST aktiviteleri incelenmiştir (Weirich et al. 2002). Yakınlarda yapılan bir çalışmada Alman hamam böceği *B. germanica* (L.)'nın besinine ilave edilen borik asitin orta bağırsağın yapısında histolojik değişime sebep olduğu ve GST aktivitesini artırdığı ortaya çıkarılmıştır (Habes et al. 2006).

Böceklerde insektisitlerin toksik etkisini azaltıcı ve hatta yok edici direnç mekanizmaları gelişmiştir. Oksidatif strese karşı dirençte etkili olduğu bilinen önemli enzim grubu GST'dir (Parkes et al. 1993, Yu 1993, 2004, Sivori et al. 1997, Wei et al. 2001). Böceklerde bu enzim ailesi (teta sınıfı) insektisitlerin toksik etkilerine karşı savunma ve direnç geliştirme amaçlı iş görmektedir (Clark et al. 1985, Singh et al. 2001). GST bir faz II detoksifikasyon enzimi olup ksenobiyotikleri glutatyon (GSH; γ -glutamil-sisteinil-glisin) bağlayarak toksitesini azaltır. Diğer taraftan GST hücre içi iyon kanallarının düzenlenmesi ve madde taşınması, prostaglandin biyosentezi gibi çeşitli biyosentez yollarında da rol oynamaktadır (Wilce and Parker 1994). *M. Domestica* (L.)'da organofosforlu insektisitlere dirençli mutantların yüksek seviyede GST aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Çakır ve Yamanel 2005). Ancak bu sonuçlara zıt olarak borik asiti yüksek miktarlarda içeren besinler ile beslenen *G. mellonella* (L.) dişilerinin yumurtalarındaki GST aktivitesi önemli derecede azalmıştır. Yumurtalarda GST aktivitesinin azalması borik asit tarafından oluşturulan ROT'ların sebep olduğu lipid peroksidasyonu ürünü MDA'nın GST tarafından ortadan kaldırılması sonucu enzimin aktifliğinin azalmasından kaynaklanabilir. Bu nedenle GST enziminin artan ROT ve diğer organik hidroperoksitler ile protein karbonillerin zararlı etkilerini yok etmesi sonucu aktivitesi düşmüş olabilir (Halliwell and Gutteridge 1999). Besinsel kalitesi düşük olan doğal besinlerle beslenen bir Lepidopter tür *L. dispar* (L.)'ın orta bağırsağında antioksidan enzimlerin aktivitelerinin arttığı ve bu enzim aktivitesindeki artışın farklı larval evrelere bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir (Peric-Mataruga et al. 1997). Benzer sonuçlar farklı prooksidanlara maruz kalan *M. domestica* (L.), *Trichoplusia ni* (Hübner 1802), *Spodoptera eridania* (Stoll 1782) gibi çeşitli böcek türlerinin farklı gelişme evrelerinde de gözlenmiştir (Ahmad and Pardini 1990, Zaman et al. 1994, Ahmad et al. 1995).

Lepidoptera takımına ait böceklerin larvaları çeşitli oksidan maddelerle beslendiği zaman orta bağırsaklarında peroksit radikalleri başta olmak üzere çeşitli ROT'lar oluşmaktadır. Bu peroksitler ya besinle alınan veya besin kanalında daha önceden bulunan demir gibi çeşitli aktif metal iyonları ile etkileşerek (Fenton reaksiyonu) hidroksil radikali (OH $\cdot$) ve diğer ROT'ları oluşturabilir (Barbehenn et al. 2005). Bu reaktif türevler orta bağırsak epitel dokusunda ve peritrofik zarda protein ve lipid oksidasyonuna bağlı oksidatif hasar meydana getirmektedir (Barbehenn and Stannard 2004). Durmuş ve Büyükgözel (2008) tarafından sodyum tetraboratın *G. mellonella* (L.) üzerindeki etkisi için ileri sürüldüğü gibi bu çalışmada borik asitin toksisitesi sonucunda serbest radikal oluşumunun artışı ile yumurta GST enziminin aktivitesinde değişim olabilir. Diğer taraftan borik asitin bir karınca türü *Atta*

sexdens rubropilosa (Forel 1908) (Hymenoptera:Formicidae)'nın yaşama oranını önemli derecede düşürdüğü özellikle orta bağırsakta doza ve zamana bağlı olarak artan bir histopatolojik değişime sebep olduğu belirlenmiştir (Sumida et al. 2010).

Antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerin aktivitelerinin genellikle türe, gelişme evresine ve dokuya özgü olarak değiştiği gözlenmiştir (Ahmad and Pardini 1990, Ahmad et al. 1995). Bu çalışmada yumurta evresi dışında diğer evrelerdeki enzim aktivitelerinin değişimleri incelenmemiştir. Ancak denenen borik asit konsantrasyonlarının ergin yaşama oranı, eşey oranı ve ömür uzunluğu üzerine etkilerinin farklı olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar böceğin detoksifikasyon kapasitesinin evrelere göre değişebileceğini işaret etmektedir. Çeşitli insektisitlere maruz kalmış pamuk kurdu *H. armigera* (Hubn.)'daki detoksifikasyon enzimlerinin aktivitelerinin larval ve ergin evreye göre değiştiği bilinmektedir (Leonova and Slyngo 1996). Bu yüzden böceğin ergin evresinde oksidatif stres düzeyi ve bu düzeydeki değişimlere bağlı olarak antioksidan savunma ve detoksifikasyon kapasitesindeki değişimlerin belirlenmesi amacıyla detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Borik asitin besindeki miktarlarının artışı ile böcek üzerindeki etkisi arasında genellikle orantılı bir ilişki ortaya çıkmamıştır. Örneğin borik asitin belirli konsantrasyonlarını içeren bazı besinlerin (620 ve 940 ppm) böceğin ergin dişi ömür uzunluğunu kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede artırması bu besine daha sonra borik asitin en yüksek miktarlarının ilave edilmesinin bu olumlu etkiyi ortadan kaldırması ilginçtir. Hormetik etki denilen bu mekanizma insektisitlerin düşük miktarlarına karşı tolerans geliştirme yönünde kısa süreli bir adaptasyon tepkisidir. Hyršl et al. (2007) borik asitin 156 ppm'inin *G. mellonella* (L.) 7. evre larvalarının ve pupların yaşama oranında artışa sebep olduğunu, ergin ömür süresini de yaklaşık 3 gün uzattığını göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca son evre larvalarının hemolenf SOD, GST ve GPx aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. Bu çeşit etkilerin böceklerde prooksidan ve antioksidan sistem ile ilişkili olduğu gösterilmektedir (Büyükgözel 2006). Benzer şekilde, Lepidoptera takımına ait bir tür olan *L. dispar* (L.)'nin besinine ilave edilen fenolik bir glikozitin böceğin gelişme süresi ve büyüme oranı gibi bazı biyolojik özellikleri ile detoksifikasyon enzimleri üzerine etkisi bu glikozitin besindeki artan konsantrasyonları ile uyumlu bir değişim göstermemiştir. Bu böcekteki GST ve esterase enzimi besine ilave edilen glikozitin düşük miktarları ile artarken yüksek miktarları bu enzimlerin aktivitelerini düşürmüştür (Hemming and Lindroth 2000). Benzer sonuçlar borik asitin (Hyrşl et al. 2007) ve sodyum tetraboratın (Durmuş and Büyükgözel 2008) *G.*

mellonella (L.) üzerindeki tek başlarına gösterdikleri etkilerde de görülmüştür. Bu sonuçlar borik asitin *G. mellonella* (L.) ile yaptığımız bu çalışmanın sonuçları ile uygunluk göstermektedir. Holometabol böceklerde besin maddelerinin sindirimi genellikle alkali bir ortama sahip olan orta bağırsakta gerçekleştirilmektedir (Terra 1990). Böylece bu çalışmada besinle alınan farklı konsantrasyonlardaki borik asitin *G. mellonella*'nın orta bağırsağında ozmotik dengeyi ve ortamın reaksiyonunu (pH) etkilemesi sonucu farklı oranlarda emilimleri gerçekleşebilir. Daha önceki bir çalışmada Cisneros et al. (2002) tarafından borik asit içeren besinler ile beslenen lepidopter zararlı bir böcek olan *S. frugiperda* (Smith) için ileri sürüldüğü gibi bu çalışmada denenen borik asit konsantrasyonlarını böceğin bağırsağının fiziksel ve kimyasal yapısını değiştirerek sindirim işlemini etkilemiş olabilir. Bu görüş ile uyumlu olarak Yang et al. (2000a) % 0,5 sodyum tetraboratın *A. suspensa* (Loew)'nin orta bağırsağında proteinaz aktivitesini önemli derecede düşürdüğünü göstermiştir. Diğer taraftan *G. mellonella* (L.) larvalarının bağırsağından emilerek dokulara ulaşan borik asitin ve metabolizma ürünlerinin olumsuz etkisi detoksifikasyon ile ortadan kaldırılabılır. Benzer bir düşünce Graf ve Benz'in (1970) bazı sentetik antimikrobiyal insektisitlerin *D. melanogaster* (Meigen)'in yaşama ve gelişimi üzerine etkisini incelediği çalışmada da ileri sürülmüştür. Alman hamam böceği *B. germanica* (L.)'da insektisitlerin detoksifikasyonunu sağlayan sitokrom P450 monooksijenaz miktarında artış olduğunun tespit edilmesi ile bu yaklaşım daha da ağırlık kazanmıştır (Scharf et al. 1999). Liu ve Chen (2000) bir kitin sentezi inhibitörü olan buprofezinin nöropter bir tür olan *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera:Chrysopidae) (Burmeister 1839)'in larval evresindeki olumsuz etkisinin çok az olmasını böceğin detoksifikasyon kapasitesinin yüksek olmasına bağlamıştır.

Bu çalışmada denenen borik asitin yüksek konsantrasyonlarını içeren besinler böceklerin larvalarının besin almalarını hızlandırmış olabilir. Bu savunulan görüş, besindeki disodyum oktaborat tetrahidratın *Coptotermes formosanus* (Shiraki 1909)'in üzerinde besinsel uzaklaştırıcı bir etkiye sahip olmadığı ancak besinle alındığında toksik etkiye sahip olmasının gösterilmesi (Maistrello et al. 2002) ile destek görmektedir. Benzer bir mekanizma diğer bir bor türevi olan borik asit ile farklı besinsel formülasyonlar ile beslenen çeşitli zararlı böcekler için de ileri sürülmüştür (Cochran 1995, Appel et al. 2004). Daha önceki çalışmalar herhangi bir besinsel değeri olmayan bir katkı maddesinin öldürücü olmayan (subletal) etkilerinin bu maddenin besinsel bileşenler ile etkileşimine dayanarak larvaların besin tüketim oranını değiştirmesine bağlı olduğunu belirtmiştir (Büyükgüzel and İçen 2004, Büyükgüzel and Kalender 2007). Bir antibiyotik insektisit olarak denenen novobiyosinin yüksek miktarları ile

beslenen endoparasitoid bir Hymenopter tür *P. turionellae* (L.) larvalarının yaşama ve gelişimi de olumsuz yönde etkilenirken bu maddenin denenen en düşük miktarı böceğin yaşama oranını önemli derecede artırmıştır (Büyükgüzel 2001). Singh ve House (1970a,b) besindeki antimikrobiyal maddelerin meydana getirdiği koku ve tat değişikliğinin larvaların besin alma işlevinde etkili olduğunu belirtmiştir. Delgarde ve Rouland-Lefevre (2002) nikotin benzeri bir insektisit olan tiyometoksam'ın bazı termit türleri, *Trinervitermes trinervius* (Rambur 1842) ve *Odontotermes smeathmani* (Fuller), *Amitermes evuncifer* (Silvestri)'e karşı besin almayı önleyici etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre borik asitin farklı konsantrasyonları yumurtalarda sebep olduğu oksidatif hasara bağlı olarak detoksifikasyon ve antioksidan savunma mekanizmasını bozması sonucu dişilerin yumurta verimi ve açılma oranı üzerinde olumsuz etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Bu çalışmada böceğin ergin evresinde borik asitin oksidatif etkisine bakılmamasına rağmen ergin yaşama oranı, eşey oranı ve ömür uzunluğunun da bu inorganik insektisit sebep olduğu oksidatif hasardan olumsuz yönde etkilenmiş olabilir. Borik asitin denenen en yüksek konsantrasyonlarında GST enziminin aktivitesindeki önemli düşme, MDA ve protein karbonil miktarlarındaki değişme ile birlikte yaşama oranının düşmesi, eşey oranının ve dişi ömür uzunluğunun azalması bu düşüncüyü destekleyen önemli sonuçlardır. Borik asitin düşük konsantrasyonlarında MDA ve protein karbonil miktarlarındaki değişim, larvaların oksidatif strese başlangıçta bir adaptasyon davranışı göstermesi sonucu olabilir. Diğer bazı zararlı böceklerin ele alındığı önceki çalışmalarda (Hyršl et al. 2007, Durmuş and Büyükgüzel 2008) ve bu çalışmada *G. mellonella* (L.) ile elde edilen sonuçlar borik asitin ve diğer bor türevlerinin böceklerin biyolojik etkinlik parametreleri üzerindeki olumsuz etkisinde oksidatif stresin önemli rol oynayabileceği gösterilmiştir. Borik asitin böceğin biyolojik yaşam özellikleri, fizyolojisi, biyokimyası üzerinde gösterdiği toksik etki mekanizmasının tüm yönleriyle anlaşılması zararlı böceklerle mücadelede, hedef olmayan canlılara ve çevreye daha az olumsuz etkisi olan yeni kimyasal yöntemlerin geliştirilmesine olanak sağlayabilir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar borik asitin böceğin larva, pup ve ergin evresindeki yaşama oranı, bu evrelere gelişme süreleri ile son evre larvaları ve yeni pupların hemolenf ve yağ dokusundaki lipid peroksidasyonu düzeyi ve enzimatik antioksidan savunma üzerine olumsuz etkileri (Hyršl et al. 2007) yanında böceğin eşey oranı, erkek ve dişi ömür uzunluğu, yumurta sayısı ve açılma oranı ile yumurtalardaki lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu düzeyini ve detoksifikasyon kapasitesini de etkilediğini göstermiştir. Bu sonuçlar düşük miktardaki kimyasal insektisit ile

Çevreye ve hedef olmayan canlılara zarar vermeden hedef böcek ile mücadele bakımından önemlidir. Bu çalışmadan elde edilen en önemli sonuç zararlı böcekler ile mücadelede evre ve hedef olmayan canlılara řu anda kullanımda olan insektisitler kadar zararlı olmayan inorganik insektisit olan borik asitin kullanımına yönelik bir stratejiye öncülük edilmiş olmasídır.

KAYNAKLAR

- Adamski Z, Ziemnicki K, Fila K, Žikić R and Štajn A** (2003) Effects of long-term exposure to fenitrothion on *Spodoptera exigua* and *Tenebrio molitor* larval development and antioxidant enzyme activity. *Biol. Lett.* 40: 43-52.
- Agrios G N** (2005) *Plant Pathology*. Elsevier Academic Pres.30 Corporate Drive, Suite 400, Burlington, MA 01803, USA, 922 pp.
- Ahmad M** (1994) Biological control of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. *J. Apic. Res.* (Pakistan), 32 (3): 319-323.
- Ahmad S** (1992) Biochemical defence of prooxidant plant allelochemicals by herbivorous insects. *Biochem. Syst. Ecol.*, 20: 269-296.
- Ahmad S and Pardini R S** (1990) Mechanisms for regulating oxygen toxicity in phytophagous insects. *Free Radic. Biol. Med.*, 8: 401-413.
- Ahmad S, Beilsen M A and Pardini R S** (1989) Glutathione peroxidase activity in insects: a reassessment. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 12: 31-49.
- Ahmad S, Duval D L, Weinhold L C and Pardini R S** (1991) Cabbage looper antioxidant enzymes: Tissue Specificity. *Insect Biochem.*, 21: 563-572.
- Ahmad S, Pritsos C A, Bowen S M, Heisler C R, Blomquist G J and Pardini R S** (2005) Subcellular distribution and activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in the southern armyworm, *Spodoptera eridania*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 7: 173-18.
- Ahmad S, Zaman K, MacGill R S, Batcabe J P and Pardini R** (1995) Dichlone-induced oxidative stress in a model insect species, *Spodoptera eridania*. *Arch. Environ. Cont. Toxicol.*, 29: 442-448.
- Akyol E, Yeninar H, Şahinler N ve Ceylan D A** (2009) Büyük balmumu güvesi *Galleria mellonella* L.'nin (Lepidoptera: Pyralidae) kontrolünde karbondioksitin (CO₂) kullanımı. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 9: 26-31.
- Ali A, Xue R D and Barnard D R** (2006) Effects of sublethal exposure to boric acid sugar bait on adult survival, host-seeking, bloodfeeding behavior, and reproduction of *Stegomyia albopicta*. *J. Am. Mosquito Contr.*, 22: 464-468.
- Allan N L** (2000) Wax Moth and Its Control, Department of Agriculture Western Australia, <http://www.agric.wa.gov.au/agency/pubns/farmnote/2000/f00697.htm>.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Alonso-Álvarez C, Pérez-Rodríguez L, García J T, Viñuela J and Mateo R** (2010) Age and Breeding Effort as Sources of Individual Variability in Oxidative Stress Markers in a Bird Species. *Physiol. Biochem. Zool.*, 83(1):110–118.
- Anderson T D and Zhu K Y** (2004) Synergistic and antagonistic effects of atrazine on the toxicity of organophosphorodithioate and organophosphorothioate insecticides to *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 80: 54-64.
- Anon.** (2004) Avrupa Perakendecileri Ürün Çalışma Grubu'nun İyi Tarım Teknikleri uygulamaları (EUREPGAP). Akdeniz Yaş Meyve Sebze İhracatçıları Birliği, ARGE Dış İlişkileri Şube Müdürlüğü, 36 s.
- Anon.** (2006) *Tarım İstatistikleri Özeti*. DİE, Başbakanlık, Ankara.
- Ansari K A, Kaplan E and Shoeman D** (1989) Age Related Changes in Lipid Peroxidation and Protective Enzymes in The Central Nervous System. *Growth Develop. Aging*, 53: 117.
- Appel A G, Gehret M J and Tanley M J** (2004) Effects of moisture on the toxicity of inorganic and organic insecticidal dust formulations to German cockroaches (Blattodea: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, 97: 1009-1016.
- Aydınoglu H, Dursun H Y ve Bayraktar L** (2002) Bitki Koruma Ürünleri. T.C. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, 292 s.
- Bains J S, Garg S K and Sharma S P** (1998) Effect of butylated hydroxyanisole on catalase activity and malondialdehyde content in aging *Zaprionus paravittiger* (Diptera). *Gerontology*, 44: 262-266.
- Barata C, Baird D J, Soares A M V M and Guilhermino L** (2001) Biochemical factors contributing to response variation among resistant and sensitive clones of *Daphnia magna* straus exposed to ethyl parathion. *Ecotox. Environ. Safe.*, 49: 155-163.
- Barbehenn R and Stannard J** (2004) Antioxidant defense of the midgut epithelium by the peritrophic envelope in caterpillars. *J. Insect Physiol.*, 50: 783-790.
- Barbehenn R, Dodick T, Poopat U and Spencer B** (2005) Fenton-type reactions and iron concentrations in the midgut fluids of tree-feeding caterpillars. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 60: 32-43.
- Bare O S** (1945) Boric acid as a stomach poison for the German cockroach. *J. Econ. Entomol.*, 38: 407.
- Baykal N** (1995) *Fitopatoloji*. Uludağ Üniversitesi Yayınları, No: 7-027-0229. ISBN 975-7657-59-X, 368 s.
- Bennett A, Rowe R I, Soch N and Eckhert C D** (1999) Boron stimulates yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) growth. *J. Nutr.*, 129: 2236–2238.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Bergmann W** (1992) *Nutritional Disorders of Plants*. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Bhavan-Saravana P and Geraldine P** (2001) Biochemical reponses in tissues of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* on exposure to endosulfan. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 2531: 1-15.
- Borkovec A B, Settepani J A, La Brecque G C and Fye R L** (1969) Boron compounds as chemosterilants for house flies. *J. Econ. Entomol.*, 62: 1472-1480.
- Bourdon E, Loreau N and Blache D** (1999) Glucose and free radicals impair the antioxidant properties of serum albumin. *FASEB*, 13: 233-244.
- Bronskill J** (1961) A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Lep. Soc.*, 15: 102-104.
- Bucker-Davis F** (1998) Effectes of environmentanal synthetic chemicals on thyroid function. *Thyroid*, 8: 827-856.
- Budia F and Vinuela E** (1996) Effect of cyromazine on adult *C. capitata* (Diptera: Tephritidae) on mortality and reproduction. *J. Econ. Entomol.*, 89: 826-831.
- Büyükgüzel E and Kalender Y** (2007) Penicillin-induced oxidative stress: Effects on antioxidative response of midgut tissues in larval instars of *G. mellonella*. *J. Econ. Entomol.*, 100: 1533-1541.
- Büyükgüzel E, Tunaz H, Stanley D W and Büyükgüzel K** (2007) Eicosanoids mediate *Galleria mellonella* cellular immune response to viral infection. *J. Insect Physiol.*, 53: 99-105.
- Büyükgüzel K** (2001) DNA gyrase inhibitors: Novobiocin enhances the survival of *Pimpla turionellae* larvae reared on an artificial diet but other antibiotics do not. *J. Appl. Entomol.*, 125: 583-587.
- Büyükgüzel K** (2006) Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp: Effect on adult emergence, longevity, fecundity, oxidative and antioxidative response of the *Pimpla turionellae*. *J. Econ. Entomol.*, 99: 1225-1234.
- Büyükgüzel K and İçen E** (2004) Effects of gyrase inhibitors on the total protein content of *Pimpla turionellae* L. reared on an artificial diet. *J. Entomol. Sci.*, 39 (1): 108-116.
- Campos F, Donskov N, Arnason J T, Philogene B J R, Atkinson P M and Werstiuk N H** (1990) Biological effects and toxicokinetics of DIMBOA in *Diadegma terebrans* (Hymenoptera: Ichneumonidae), an endoparasitoid of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralide). *J. Econ. Entomol.*, 83: 356-360.
- Cervera A, Maymó A C, Martínoz-Pardo R and Garcerá M D** (2003) Antioxidant enzymes in *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae) exposed to cadmium. *Environ. Entomol.*, 32: 705-710.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Chang C L, Albrecht C, El-Shall S S A and Kurashima R** (2001) Adult reproductive capacity of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) on a chemically defined diet. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 94: 702-706.
- Chang C P and Hsieh F K** (1992) Morphology and bionomics of *Galleria mellonella* L. *Chinese J. Entomol.*, 12: 121-129.
- Charriere J D and Imdorf A** (1997) Protection of honeycombs from moth damage, swiss bee research center federal dairy research station. *Communication*, 24: 16.
- Chaudhari S** (1992) Formulation of nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera litura* with boric acid. *Indian J. Entomol.*, 54: 202-206.
- Chesemann K H and Slater T F** (1993) An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.*, 49: 481-493.
- Cisneros J, Perez J A, Penagos D I, Goulson D, Caballero, Cave D R and Wiliams T** (2002) Formulation of a nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* in maize. *Biological Control*, 23: 87-95.
- Clark A G, Dick G L, Martindale S M and Smith J N** (1985) Glutathione-s-transferases from the New Zealand grass grub, *Costelytra zealandica*. *Insect Biochem.*, 15: 35-44
- Coats R J** (1991) Pesticide degradation mechanism and environmental activation. *In: Pesticide Transformation Pruducts Fate and Significance in the Environment*, eds. Somasundaram L, Coats R J, ACS Symposium Series, 459, American Chemical Society, Washington D.C.
- Cochran D G** (1995) Toxic effects of boric acid on the German cockroach. *Experientia*, 51: 561-563.
- Cohen A C and Crittenden P** (2004) Deliberately added and “cryptic” antioxidants in three artificial diets for insects. *J. Econ. Entomol.*, 97: 265- 272.
- Colborn T** (1998) Endocrine disruption from environmental toxicants. *In: Environmental And Occupational Medicine*, eds. Rom W N, 3. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, pp. 807-815.
- Coşkuncu K S ve Kovancı B** (2005) Bursa ili un fabrikalarında zarar yapan, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)’nın ergin populasyon dalgalanması. *Türk. Entomol. Derg.*, 29 (1): 35-48.
- Cruz S A, Silva-Zacarin E C M, Bueno O C and Malaspina O** (2009) Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honey bee (*Apis mellifera*) larvae. *Cell Biol. Toxicol.* 26, 165-176.
- Çağlar Y, Tutkun E, Tutar A ve Yılmaz B** (2001) Balmumu Güvesi Mücadelesinde Kullanılan Kükürtdioksitin (SO₂) Farklı Dozlarının Etkisi Üzerine Araştırmalar, Türkiye 3. Arıcılık Kongresi, Adana.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Çakır Ş ve Yamanel Ş** (2005) Böceklerde insektisitlere direnç. *Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi*, 1: 21-29.
- Daar S** (1988) *Borik Acid Outperforms Dursban® In School District IPM Program for Cockroaches*. The IPM Practitioner, Bio-Integral Research Center, Berkeley, CA, 5 pp.
- De Falco T, Camara N, Le Bras S and Van Doren M** (2008) Nonautonomous sex determination controls sexually dimorphic development of the *Drosophila* gonad. *Dev. Cell*, 14: 275-86.
- De Waard M A, Georgopoulos S G, Hollaman D W, Ishii H, Leroux P, Ragsdale N N and Schwinin F J** (1993) Chemical control of plant diseases: Problem and prospects. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 31: 403-421.
- Dean R T, Fu S, Stocker R and Davies M J** (1997) Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem. J.* 324: 1-18.
- Delaware M** (2000) *New Jersey, Pennsylvania, Westginia and the USDA Cooperating*. MAAREC Publication, 4.5.
- Delen N, Durmuşoğlu E, Güncan A, Güngör N, Turgut C ve Burçak A** (2005) Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi (3-7 Ocak, 2005 Milli Kütüphane, Ankara) Bildirisi, 21 s.
- Delen N, Koplay C, Yıldız M, Güngör N, Kınay P, Yıldız F and Çoşkuntuna A** (2004) Sensitivity in *Botrytis cinerea* isolates to some fungicides with spesific mode of action. XIII. Botrytis Symposium, Antalya, 131 pp.
- Delen N ve Tosun N** (1996) Fungisitlere Dayanıklılığı Önleyici Stratejiler. II. Ulusal Zirai Mücadele İlaçları Simp., 18-20 Ekim 1996 Bildirilen, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, s. 239-244.
- Delgarde S and Rouland-Lefevre C** (2002) Evaluation of the effects of thiamethoxam on three species of African termite (Isoptera: Termitidae) crop pests. *J. Econ. Entomol.*, 95 (3): 531-536.
- Dhadialla T S, Retnakaran A and Smagghe G** (2005) Insect growth and developmental disturbing insecticides. *Comprehensive Molecular Insect Science*, eds. Gilbert L I, Iatrou K, Gill S K, Elsevier, Oxford, pp. 55-116.
- Djordjevic V B** (2004) Free radicals in cell biology. *Internal Review of Cytology*, 237: 57-89.
- Doane C C and Wallis R C** (1964) Enhancement of the action of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner on *Porthetria dispar* (Linnaeus) in laboratory tests. *J. Insect Pathol.*, 6: 423-429.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Dong K, Valles S M, Scharf M E, Zeichner B and Bennett G W** (1998) The knockdown resistance (Kdr) mutation in pyrethroid-resistant German cockroaches. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 60: 195-204.
- Dordas C, Chrispeels M J and Brown P** (2000) Permeability and channel-mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots. *Plant Physiol*, 124: 1349–1361.
- Durmuş Y and Büyükgüzel K** (2008) Biological and immune response of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) to sodium tetraborate. *J. Econ. Entomol.*, 101: 777-783.
- Ebeling W** (1995) Inorganic insecticides and dusts. *Understanding and Controlling the German cockroach*, eds. Rust M K, Owens J M and Reiersen D A, Oxford University Press, New York, pp. 193-226.
- Ebeling W, Reiersen D A, Pence R J and Viray M S** (1975) Silica aerogel and boric acid against cockroaches: external and internal action. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 5: 81-89.
- Eischen F and Dietz A** (1987) Growth and survival of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larva fed diets containing honey bee-collected plant resins. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 80: 74-77.
- Engelman F** (1979) Insect vitellogenin: identification, biosynthesis, and role in vitellogenesis. *Adv. Insect Physiol.*, 27: 49-108.
- EPA** (1999a) *Summary Of OPP Reduced- Risk Pesticides Initavite*. US EPA, 2 pp.
- EPA** (1999b) *Fiscal Year 1999 Work Plan*. US EPA, 4 pp.
- Evans P, Lyras L and Halliwell B** (1999) Measurement of protein carbonyls in human brain tissue. *Meth. Enzymol.*, 300: 145-156.
- Felton G W and Duffey S S** (1991) Protective action of midgut catalase in lepidopteran larvae against oxidative plant defenses. *J. Chem. Ecol.*, 17: 1715-1732.
- Felton G W and Summers C B** (1995) Antioxidant systems in insects. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 29: 187-197.
- Fenske R A, Kedan G, Lu C S, Fisker-Andersen J A and Curl C L** (2002) Assessment of organophosphorous pesticide exposures in the diets of preschool children in Washington Stat. *J. Expo. Anal. Env. Epid.*, 12: 21-28.
- Ferkovich S M, Morales-Ramos J A, Rojas M G, Oberlander H, Carpenter J E and Greany P** (1999) Rearing of ectoparasitoid *Diapetimorpha introita* on an artificial diet: supplementation with insect cell line-derived factors. *Biocontrol*, 44: 29-45.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ford D J, Propst T L, Stover E L, Strong P L and Murray F J** (1998) Adverse reproductive and developmental effects in xenopus from insufficient boron. *Biol. Trace Element Res.*, 66: 237–259.
- Gäde G and Hoffmann K H** (2005) Neuropeptides regulating development and reproduction in insects. *Physiol. Entomol.*, 30: 103-121.
- Gelbič I and Holy A** (1985) Effects of antiviral agent (RS)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenin on the larval development of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera). *Acta Entomol. Bohemoslov.*, 82: 22-27.
- Gelbič I and Šula J** (1990) Ovicidal and biochemical effects of hempa and a nucleoside analogue on *Pyrrhocoris apterus* (L.) (Het., Pyrrhocoridae). *J. Appl. Entomol.*, 109: 401-409.
- Georgiou G P and Lagunes-Tejeda A** (1991) The Occurrence of resistance to pesticides in arthropods. *Food and Agriculture Organization of the United Nation*, Rome.
- Gorbach V V** (1998) Seasonal dynamics and sex ratio in a population of the butterfly *Boloria aquilonaris* (Lepidoptera, Nymphalidae). *Zoologičeskij žurnal*, 77: 576-581.
- Gore J C and Schal C** (2004) Laboratory evaluation of boric acid-sugar solutions as baits for management of German cockroach infestation. *J. Econ. Entomol.*, 97: 581-587.
- Gore J C, Zurek L, Santangelo R G, Stringham S M, Watson D W and Schal C** (2004) Water solutions of boric acid and sugar for management of German cocroach populations in livestock production system. *J. Econ. Entomol.*, 97: 715-720.
- Graf E and Benz G** (1970) Toxicity of streptomycin and terramycin on growth and developmental time of *Drosophila melanogaster*. *Experientia*, 26: 1339-1341.
- Grenier S, Delobel B and Bannot G** (1986) Physiological considerations of importance to the success of in vitro culture: an overview. *J. Insect Physiol.*, 32: 403-408.
- Gullino M L and Kuijpers L A M** (1994) Social and political implication of managing plant diseases with restricted fungicides in Europe. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 32: 559-579.
- Gülbahar Ö** (2007) Protein oksidasyonun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilgisi. *Türk. J. Geriatrics*, 10: 43-48
- Gülel A** (1988) Çiftleşmenin *Dibrachys boarmiae* (Hymenoptera: Pteromalidae) erkeklerinin hayat süresine ve eşey oranına etkileri. *Doğa Tu Zooloji Dergisi*, 12 (3): 225-2230.
- Habes D, Morakchi S, Aribi N, Farine J P and Soltani N** (2006) Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: Alterations in midgut structure, and acetylcholinestrase and glutathione-s-transferase activity. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 84: 17-24.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Habig W H, Pabst M J and Jakoby W B** (1974) Glutathione-s-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249: 7130-7139.
- Haewoon O, ManYoung L and Young D C** (1995) Developing periods and damage patterns of combs by the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *Korean Journal of Apiculture*, 10 (1): 5-10.
- Halliwell B** (1994) Free radicals, antioxidant, and human disease: curiosity. Cause or Consequence? *Lancet*, 344: 721-724.
- Halliwell B** (1996) Antioxidants in Human Health and Disease. *Annu. Rev. Nutr.*, 16: 33.
- Halliwell B and Gutteridge J M C** (1999) *Free Radic. Biol. Med.* Oxford University Press, Inc., New York, USA, Third edition, 936 pp.
- Hayes W J and Jr. Laws E R** (1991) *Handbook of Pesticide Toxicology*. Academic Press, San Diego.
- He F S, Chen S Y, Tang X Y, Gan W Q, Tao B G and Wen B Y** (2002) Biological monitoring of combined exposure to organophosphates and pyrethroids. *Toxicol. Lett.*, 134: 119-124.
- Heinle H and Betz E** (1994) Effects of dietary garlic supplementation in rat model of atherosclerosis. *Arznei-för*, 44: 614-617.
- Hemming J D C and Lindroth R** (2000) Effects of phenolic glycosides and protein on gypsy moth (Lepidoptera:Lymantriidae) and forest tent caterpillar (Lepidoptera: Lasiocampidae) performance and detoxication activities. *Environ. Entomol.*, 29 (6): 1108-1115.
- Horowitz A R and Ishaaya I** (2002) Biorational insecticides-mechanisms, selectivity and importance in pest management. *Insect Pest Management, Field And Protected Crops*, pp. 1-28.
- Hu H and Brown P H** (1997) Absorption of boron by plant roots. *Plant Soil*, 193: 49-58.
- Hu H, Penn S G, Lebrilla C B and Brown P H** (1997) Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants. *Plant Physiol.*, 113: 649-655.
- Hu M L** (1994) Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Meth. Enzymol.*, 233:381-385.
- Hyršl P, Büyükgüzel E and Büyükgüzel K** (2007) The effects of boric acid-induced oxidative stress on antioxidant enzymes and survivorship in *Galleria mellonella*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 66: 23-31.
- Hyršl P, Büyükgüzel E and Büyükgüzel K** (2008) Boric acid-induced effects on protein profiles of *G. mellonella* hemolymph and fat body. *Acta Biologica Hungarica*, 59: 281-288.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ishaaya I and Horowitz A R** (1998) Insecticides with novel mode of actions: Overview. *Insecticides With Novel Mode Of Action Mechanisms And Application*, eds. Ishaaya I, Degheel D, Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 1-24.
- Ishihara M** (1992) Persistence of females that produce only female progeny in Lepidoptera. *Res. Popul. Ecol.*, 34: 331-347.
- Ishii T and Matsunaga T** (1996) Isolation and characterization of a boron-rhamnogalacturonan-II complex from cell walls of sugar beet pulp. *Carbohydr Res.*, 284: 1-9.
- İçen E, Armutçu F, Büyükgüzel K and Gürel A** (2005) Biochemical stress indicators of greater wax moth *Galleria mellonella* L. exposure to organophosphorus insecticides. *J. Econ. Entomol.*, 98 (2): 358-366.
- Jain S K and Levine S N** (1995) Elevated lipid Peroxidation and vitamin E-Quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radic. Biol. Med.*, 18: 337-341.
- Jolly W L** (1991) *Modern Inorganic Chemistry*. 2nd Ed. McGraw-Hill, New York.
- Kageyama D, Hoshizaki S and Ishikawa Y** (1998) Female-biased sex ratio in the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*: Evidence for the occurrence of feminizing bacteria in an insect. *Heredity*, 81: 311-316.
- Kageyama D, Nishimura G, Hoshizaki S and Ishikawa Y** (2003) Two kinds of sex ratio distorters in a moth, *Ostrinia scapularis*. *Genome*, 46: 974-982.
- Karabay Ü** (2000) Bazı Sinerjistik Etkili İnsektisitlerin Memeli Sistemleri Üzerinde Toksik Etkilerinin Araştırılması. (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kaya A, Karakaya H C, Fomenko D E, Gladyshev V N and Koc A** (2009) Identification of a novel system for boron transport: *atr1* is a main boron exporter in yeast. *Mol. Cell. Biol.* 29: 3665-3674.
- Kaya M ve Kovancı B** (2000) Bursa İlinde Yeşil Kurt *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)'nın Biyolojisi Üzerinde Araştırmalar. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, 10: 37-43.
- Khan K I** (2006) Enhancement of virulence of *Bacillus Thuringiensis* and *Serratia Marcescens* by chemicals. *Journal of Research (Science)*, Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan, 17: 35-43.
- Khan M Z, Tabassum R, Naqvi S N H M, Azmi A and Khan M F** (1996) Effect of sodium tetraborate and boric acid on the mortality and fecundity of a stored grain pest, *Callosobruchus analis*. *Proc. Pak. Congr. Zool.*, 16: 27-31.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Kılınçer N** (1976) *Dibrachys cavus* (Walk.) (Hymenoptera – Pteromalidae), *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera–Braconidae) ve *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera- Galleridae) Arasındaki Bazı Biyolojik ve Fizyolojik İlişkiler Üzerinde Araştırmalar. (Doçentlik tezi), Ankara.
- Kilani-Morakchi S, Aribi N, Farine J P, Everaerts C and Soltani N** (2005) Effets de l'acide borique sur les profils d'hydrocarbures cuticulaires chez un insecte à intérêt médical, *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Soc. Alger. Chim.*, 15 (2): 225-231.
- Klotz J H and Moss J I** (1996) Oral toxicity of a boric acid-sucrose water bait to florida Carpenter ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Entomol. Sci.*, 31: 9-12.
- Klotz J, Greenburg L and Venn E C** (1998) Liquid boric acid for control of the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 91: 910-914.
- Klotz J H, Greenberg L, Amrhein C and Rust M K** (2000) Toxicity and repellency of borate sucrose water baits to Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 93: 1256-1258.
- Klotz J H, Oi D H, Vail K M and Williams D F** (1996) Laboratory evaluation of a boric acid liquid bait on colonies of *Tapinoma melanocephalum* Argentine ants and Pharaoh ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 89: 673-677.
- Klotz J H, Vail K M and Williams D F** (1997a) Liquid boric acid baits for control of structural infestations of Pharaoh ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 90: 523-526.
- Klotz J H, Vail K M and Williams D F** (1997b) Toxicity of a boric acid-sucrose water bait to *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 90: 488-491.
- Kobayashi M, Matoh T and Azuma J** (1996) Two chain of rhamnogalacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls. *Plant Physiol.*, 110: 1017–1020.
- Kono Y and Shishido T** (1992) Distribution of Glutathione-S-Transferase Activity in Insect Tissues, *Appl. Entomol. Zool.*, 27: 391–397.
- Krishnamoorthy A.** (1985) Effect of several pesticides on eggs, larvae and adults of the green lacewing *Chrysopa scelestes* Banks. *Entomol.*, 10: 1985. 21–28.
- Krishnan N and Kodrik D** (2006) Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress?. *J. Insect Physiol.*, 52: 11-20.
- Krishnan N and Sehna F** (2006) Compartmentalization of oxidative stress and antioxidant defense in the larval gut of *Spodoptera littoralis*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 63: 1-10.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Krishnan N, Kodr k D, K udkiewicz B and Sehnal F** (2009) Glutathione-ascorbic acid redox cycle and thioredoxin reductase activity in the digestive tract of *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 39: 180-188.
- Kumova U ve Korkmaz A** (2002) Peteklerin Büyük Bal Mumu Güvesi (*Galleria mellonella* L.)'ne Kar ı Korunması  zerine Bir Ara tırma. Türkiye 3. Arıcılık Kongresi, Adana.
- Laing D R and Hagen K S A** (1970) Xenic, partially synthetic diet for the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Olethreutidae). *Can. Entomol.*, 102: 250-252.
- Lang J T and Treece R E** (1972) Boric acid effects on face fly fecundity. *J. Econ. Entomol.*, 65: 740-741.
- Leonova I N and Slynko N M** (1996) Comparative study of insecticide susceptibility and activities of detoxification enzymes in larvae and adults of cotton bollworm, *Heliothis armigera*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 32: 157-172.
- Levine R L, Williams J A, Stadtman E R and Shacter E** (1994) Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Meth. Enzymol.*, 233: 347-357.
- Liu T X and Chen T Y** (2000) Effects of the chitin synthesis inhibitor buprofezin on survival and development of immatures of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Econ. Entomol.*, 93 (2): 234-239.
- Loher W, Clark W H, Jr. Fischer A, Olive P J W and Nent D F** (1984) Behavioral and physiological changes in cricket-females after mating. *Adv. In Invertebrate Reproduction*, eds. Engles, Elsevier, Amsterdam, pp.189-201.
- Lowry O H, Rosebrough N L, Farr A L and Randall R J** (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.
- Maistrello L, Henderson G and Laine R A** (2002) Comparative effects of vetiver oil, nootkatone and disodium octaborate tetrahydrate on *Coptotermes formosanus* and its symbiotic fauna. *Pest Manag. Sci.*, 59: 58-68.
- Mano T, Sinohora R, Sawai Y, Oda N, Nishida Y, Mokuno T, Kotake M, Hamada M, Masanuga R, Nakai A and Nagasaka A** (1995) Effects of thyroid hormone on coenzyme Q and other free radical scavengers in rat heart muscle. *Journal of Endocrinology*, 145: 131-136.
- Mathews M C, Summers C B and Felton G W** (1997) Ascorbate peroxidase: a novel antioxidant enzyme in insects. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 34: 57-68.
- Mazanec Z** (2007) Studies on the sex ratio in the jarrah leafminer *Perthida glyphopa* (Lepidoptera: Incurvariidae). *Aust. J. Entomol.*, 23: 69-74.
- Midgley A R and Dunklee D E** (1943) Using borax and boric acid to control house flies in manure. *Vermont. Agric. Expr. Sta. Pamphlet*, 5: 7.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Missirlis F, Rahlfs S, Dimopoulos N, Bauer H, Becker K, Hilliker A and Phillips J P** (2003) A putative glutathione peroxidase of *Drosophila* encodes thioredoxin peroxidase that provides resistance against oxidative stress but fails to complement a lack of catalase activity. *Biol. Chem.*, 384 (3): 463-472.
- Morales L, Moscardi F, Sosa-Gomez D R, Paro F E and Soldorio I L** (1997) Enhanced activity of *Anticarsia gemmalis* Hüb. (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus by boric acid in the laboratory. *Ann. Soc. Entomol. Brasil*, 26: 115-120.
- Morris O N, Converse V and Kanagaratnam P** (1995) Chemical additive effects on the efficacy of *Bacillus thuringiensis* Berliner Subsp. kurstaki against *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, 88: 815-824.
- Mullens B A and Rodriguez J L** (1992) Effects of disodium octaborate tetrahydrate on survival, behavior, and egg viability of adult muscoid flies (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.*, 85:137-143.
- Myers J H, Boettner G and Elkinton J** (1998) Maternal effects in gypsy moth: only sex ratio varies with population density. *Ecology*, 79: 305-314.
- Nath B S and Kumar R P S** (1999) Toxic impact of organophosphorus insecticides on acetylcholinesterase activity in the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Ecotox. Environ. Safe.*, 42: 157-167.
- Nielsen S A and Toft S** (2002) Responses of a detoxification enzyme to diet quality in the wolf spider. *Pardosa prativaga*. *European Arachnology*, eds. Toft S and Scharff N, Aarhus University Pres, Aarhus, pp. 65-70.
- Nigg H N and Simpson S E** (1997) Use of borax toxicants to control tephritidae fruit flies. U.S. Patent 5.698.208 December 16, 28 panels.
- Nuttall C Y** (2000) Boron Tolerance And Uptake in Higher Plants. PhD Thesis, University of Cambridge, Cambridge, UK.
- O'Neill M A, Warrenfeltz D W, Kates K, Pellerin P, Doco T, Darvill A G and Albersheim P** (1996) Rhamnogalacturonan-II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cell, forms a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester. *J. Biol. Chem.*, 271: 22923-22930.
- Ortel J** (1995) Accumulation of cd and pb in successive stages of *Galleria mellonella* and metal transfer to the pupal parasitoid *Pimpla turionellae*. *Entomol. Exp. Appl.*, 77: 89-97.
- Özmen Y** (2007) AB müktesebatına göre hazırlanan bitki koruma ürünlerinin piyasaya arzı ile ilgili yönetmeliğin genel bir değerlendirilmesi. *Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi*, Ankara, 392 s.
- Öztürk S** (1997) *Tarım İlaçları*. Genişletilmiş 2. Baskı, Ak Basımevi, İstanbul, 553 s.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Park M, Li Q, Shcheynikov N, Zeng W and Muallern S** (2004) NaBC1 is a ubiquitous electrogenic Na⁺-coupled borate transporter essential for cellular boron homeostasis and cell growth and proliferation. *Mol. Cell*, 16: 331–341.
- Parkes T L, Hilliker A J and Phillips J P** (1993) Genetic and biochemical analysis of Glutathione-S-transferase in the oxygen defense system of *Drosophila melanogaster*, *Genome*, 36: 1007-1014.
- Pawel A** (2004) Sex ratio of apollo butterfly *Parnassius apollo* (Lepidoptera: Papilionidae)-facts and artifacts. *Eur. J. Entomol.*, 101: 341-344.
- Peric-Mataruga V, Blagojevic D, Spasic M B, Ivanovic J and Jankovic-Hladni M** (1997) Effect of the host plant on the antioxidative defence in the midgut of *Lymantria dispar* L. caterpillars of different population origins. *J. Insect Physiol.*, 43: 101-106.
- Pigeolet E, Corbisier P, Houbion A, Lambert D, Michiels C, Raes M, Zachary M D and Remacle J** (1990) Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. *Mech. Ageing Dev.*, 51: 283-297.
- Rajurkar R B, Khan Z H and Gujar G T** (2003) Studies on levels of glutathione-s-transferase, its isolation and purification from *Helicoverpa armigera*. *Current Science*, 85: 1355-1360.
- Reznick A Z and Packer L** (1994) Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay. *Meth. Enzymol.*, 233: 357-363.
- Rhainds M, Davis D R and Price P W** (2009) Bionomics of bagworms (Lepidoptera: Psychidae). *Annu. Rev. Entomol.*, 54: 209-26.
- Ridgway N M and Mahr D L** (1990) Reproduction, development, and longevity of *Pholetesor ornigis* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of spotted tentiform leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae), in the laboratory. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 83: 790-794.
- Ritter W, Perschil F and Vogel R**, (1992) Comparison of the effect of various methods for the control of wax moths. *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 26 (1): 11-13.
- Rowe R I, Bouzan C, Nabili S and Eckart C D** (1998) The response of trout and zebrafish embryos to low and high boron concentrations is u-shaped. *Biol. Trace Element Res.*, 66: 261–270.
- Sahara K, Marec F, Eickhoff U and Traut W** (2003) Moth sex chromatin probed by comparative genomic hybridization (CGH). *Genome*, 46: 339-342.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- 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>.
- Scharf M E, Lee C Y, Neal J J and Bennett G W** (1999) Cytochrome P450 MA expression in insecticide-resistant German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, 92: 788-793.
- Scott J G, Cochran D G and Siegfried B D** (1990) Insecticide toxicity, synergism and resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, 83: 1698-1703.
- Seçkin E ve Ünal E** (1994) Marmara bölgesinde zeytin sineği (*Bactrocera oleae* Gmel.) mücadelesine esas olmak üzere biyoteknik yöntemlerin araştırılması, geliştirilmesi ve uygulanması. *Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Bilimsel Araştırma ve incelemeler Yayın No:50*, Yalova.
- Sestini E A, Carlson J C and Allsopp R** (1991) The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A₂ activity in *Drosophila melanogaster*. *Exp. Gerontol.*, 26: 385-395.
- Settepani J A, Crystal M M and Borkovec A B** (1969) Boron chemosterilants against screw-worm flies: structure-activity relationship. *J. Econ. Entomol.*, 62: 375-383.
- Sevgiler Y** (2007) *Oreochromis niloticus*'da karaciğer ve böbrek dokularında Fenthionun NAC ve BSO modölatörlüğünde glutasyon metabolizmasına oksidatif etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Türkiye.
- Shapiro M and Bell R A** (1982) Enhanced effectiveness of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) nucleopolyhedrosis virus formulated with boric acid. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 75: 346-349.
- Singh P and House H L** (1970a) Antimicrobial agents: their detrimental effects on size of an insect. *Agria affinis*. *Can. Entomol.*, 102: 1340-1344.
- Singh P and House H L** (1970b) Antimicrobials "safe" levels in a synthetic diet of an insect. *Agria affinis*. *J. Insect Physiol.*, 16: 1769-1782.
- Singh S P, Coronella J A, Benes H, Cochrane B J and Zimniak P** (2001) Catalytic function of *Drosophila melanogaster* glutathione-s-transferase DmGSTS1-1 (GST-2) in conjugation of lipid peroxidation end products. *Eur. J. Biochem.*, 268: 2912-2923.
- Sivori J L, Casabé N, Zerba E N and Wood E J** (1997) Induction of glutathione-s-transferase activity in *Triatoma infestans*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 92 (6): 797-802.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Slāma K, Holý A and Votruba I** (1983) Insect sterility induced by a broad-spectrum antiviral agent (S)-9-(2,3-Dihydroxypropyl) adenine. *Entomol. Exp. Appl.*, 33: 9-14.
- Slansky F J and Scriber J M** (1985) Food consumption and utilization. *Compr. Insect Phys., Biochemistry and Pharmacology IV.*, eds. Kerkut G A and Gilbert L I, Pergamon, Press, Oxford, pp. 87-163.
- Snedecor G S and Cochran W G** (1989) *Statistical Method*. Iowa State University Press, 8th ed., Ames, IA.
- Socha R, Gelbič I and Šula J** (1988) Histopatological effects of (R,S)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenine on the ovaries of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera, Pyrrhocoridae). *Acta Entomol. Bohemoslov.*, 85: 408- 417.
- Sohal R S, Agarwal S, Sohal B H** (1995) Oxidative stress and aging in the Mongolian Gerbil. *Mech. Ageing Dev.*, 81: 15-25.
- Spiteller G** (2001) Peroxidation of linoleic acid and its relation to aging and age dependent diseases. *Mech. Ageing Dev.*, 122: 617-657.
- SPSS Inc** (1997) User's manual, version 10. SPSS Inc., Chicago, IL.
- Stadtman E R** (1992) Protein oxidation and aging. *Science*, 257: 1220-1224.
- Šula J, Gelbič I and Socha R** (1987) The effects of (RS)-9-(2,3-dihydroxypropyl) adenine on the reproduction and protein spectrum in hemolymph and ovaries of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera, Pyrrhocoridae). *Acta Entomol. Bohemaslov.*, 84: 1-9.
- Sumasundaram L and Coats R J** (1991) *Pesticide Transformation Products in The Environment*, eds. Sumasundaram L, Coats R J, ACS Symposium Series, Washington D.C.
- Sumida S, Da Silva-Zacarin E C M, Decio P, Malaspina O, Bueno F C, Bueno O C** (2010) Toxicological and Histopathological Effects of Boric Acid on *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) Workers. *J. Econ. Entomol.* 103(3): 676-690.
- Sun J, Folk D, Bradley T J and Tower J** (2002) Induced overexpression of mitochondrial Mn-superoxide dismutase extends the life Span of adult *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 161: 661-672.
- Takano J, Noguchi K, Yasumori M, Kobayashi M, Gajdos Z, Miwa K, Hayashi H, Yoneyama T and Fujiwara T** (2002) Arabidopsis boron transporter for xylem loading. *Nature*, 420: 337-340.
- Takenaka Y, Miki M, Yasuda H and Mino M** (1991) The effect of a-tocopherol as an antioxidant on the oxidation of membrane protein thiols induced by free radicals generated in different sites. *Arch. Biochem. Biophys.*, 285:344-350.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Terra W R** (1990) Evolution of digestive systems of insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 35:181-200.
- Timmermann S E, Zangerl A R and Berenbaum M R** (1999) Ascorbic and uric acid responses to xanthotoxin ingestion in a generalist and a specialist caterpillar. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 42: 26-36.
- Traut W, Sahara K and Marec F** (2007) Sex chromosomes and sex determination in Lepidoptera. *Sexual Development*, 1: 332–346.
- Tutkun E, Çakmakçı L ve Bosgelmez A** (1987) Bal arısı kolonilerinde *Bacillus thurugiensis* preparatlarının büyük mum güvesi (*G. Mellonella*) larvalarına karşı kullanım olanakları üzerinde araştırmalar. *TÜBİTAK, Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu, Tarımsal Mikrobiyoloji Ünitesi* Proje no: Tarmik, s. 8-34.
- Ulloa-Chacón P and Jaramillo G I** (2003) Effects of boric acid, fipronil, hydramethylnon, and diflubenzuron baits on colonies of ghost ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 96: 856-862.
- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M and Scoullos M** (2006) Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 64: 178-189.
- Vontas J G, Small G J and Hemingway J** (2001) Glutathione-s-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *J. Biochem.*, 357: 65-72.
- Wang Q, Shi G, Song D, Rogers D J, Davis L K and Chen X** (2002) Development, survival, body weight, longevity, and reproductive potential of *Oemena hirta* (Coleoptera: Cerambycidae) under different rearing condition. *J. Econ. Entomol.*, 95: 563-569.
- Wang Y, Oberley L W and Murhammer D W** (2001). Evidence of oxidative stress following the viral infection of two lepidopteran insect cell lines. *Free Radic. Biol. Med.*, 31, 1448-1455.
- Ware G W** (1994) *The Pesticide Book*. 4th edition, Thomsan Publication, Colifornia, 386 pp.
- Warrington K** (1923) The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Ann. Bot.*, 37: 629–672.
- Wei S H, Clark A G and Syvanen M** (2001) Identification and cloning of a key insecticide-metabolizing glutathione-s-transferase (MdGST-6A) from a hyper insecticide-resistant strain of the housefly *Musca domestica*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31: 1145-1153.
- Weir R J J and Fisher R S** (1972) Toxicologic studies on borax and boric acid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 23: 351-364.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Weirich G F, Collins A M and Williams V P** (2002) Antioxidant enzymes in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 33: 3-14.
- Whitcomb W J** (1946) Feeding bees for comb production. *Glean. Bee cult.*, 74: 198-202.
- Wilce M C and Parker M W** (1994) Structure and function of glutathione-s-transferases. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1205: 1-18.
- Williams R M and Atalla R H** (1981) Interaction of group II cations and borate anions with nonionic saccharides. *Solution Properties of Polysaccharides*, eds. Brant D A, American Chemical Society Symposium Series, pp. 317-330.
- Xue R D and Barnard D R** (2003) Boric acid bait kills adult mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Econ. Entomol.*, 96: 1559-1562.
- Xue R D, Kline D L, Ali A and Branard D R** (2006) Application of boric acid baits to plant foliage for adult mosquito control. *J. Am. Mosquito Contr.*, 22: 497-500.
- Yacobson B, Navarro S, Donahaye E J, Azrielli A, Sloyevsky Y and Ephrati H** (1997) Control of beeswax moths using carbondioxide in flexible plastic and metal structure. In: *Proc. Int. Conf., Controlled Atmosphere and Fumigation in Grain Storages*, 21-26 April 1996, Nicosia Cyprus, pp. 169-174.
- Yang L K, Nigg H N, Fraser S, Burns E and Simpson S E** (2000a) Midgut proteinase types and sodium tetraborate effects on midgut proteinase activities of female *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 93: 602-609.
- Yang L K, Nigg H N, Simpson S E, Ramos L E, Cuyler N W, Barnes J I and Gren C G** (2000b). Sodium tetraborate effects on mortality and reproduction of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.*, 93: 1485-1492.
- Yu S J** (1993) Induction of detoxification enzymes in phytophagous insects: roles of insecticide synergists, larval age, and species. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 24: 21-32.
- Yu S J** (2004) Induction of detoxification enzymes by triazine herbicides in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 80: 113-122.
- Yücer M M** (2003) *Tarım İlaçları 2003*. Hasat Yayıncılık Ltd. Şti. ISBN 975-8377-16-7, 186 pp.
- Yücer M M** (2008) *Ruhsatlı Tarım İlaçları 2008*. Hasad Yayıncılık Ltd. Şti. P.K.22 Üsküdar 34673, İstanbul.
- Zalucki M P, Clarke A R and Malcolm S B** (2002) Ecology and behavior of first instar larval lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.*, 47: 361-393.
- Zaman K, MacGill R S, Johnson J E, Amad S and Pardini R S** (1994) An insect model for assessing mercury toxicity: effect of mercury on antioxidant enzyme activities of the housefly (*Musca domestica*) and the cabbage looper moth (*Trichoplusia ni*). *Arch. Environ. Cont. Toxicol.*, 26: 114-118.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Zapata R, Specty O, Grenier S, Febvay G, Pageaux J F, Delobel B and Castane C** (2005) Carcass analysis to improve a meat, based diet fort he artificial rearing of the predatory mirid bug *Dicyphus tamaninii*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 60: 84-92.
- Zeng F, Shu S, Ramaswamy S B and Srinivasan A** (2000) Vitellogenin in pupal hemolymph of *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 93: 291-294.
- Zhang B M, Xue R D, Zeng F, Xu R M and Lu B L** (1990) Effect of low dosage of alphacypermethrin on larval development and oviposition of culex pipiens pallens, *Chin. J. Parasit Dis. Control.*, 3: 286-289.
- Zhou J J and Le Patourel G N J** (1990) Hatching of oothecae from female *Blattella germanica* Exposed to hydramethylnon and boric acid baits. *Entomol. Exp. Appl.*, 54: 131-140.
- Zurek L, Gore J C, Stringham M S, Watson D W, Waldvogel M G and Schal C** (2003) Boric acid dust as a component of an integrated cockroach management program in confined swine production. *J. Econ. Entomol.*, 96: 1362-1366.

ÖZGEÇMİŞ

Sevda ASLAN 1986 yılında Gaziantep’te doğdu. İlk ve orta öğrenimini aynı ilde tamamladı. İnci Konukoğlu Lisesi’nden mezun olduktan sonra 2004 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi (ZKÜ) Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’ne girdi. 2009 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi’nden bölüm birincisi olarak mezun olduktan sonra aynı yıl girdiği ZKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Programını sürdürmektedir.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres: Güvenevler Mah. 1. Cad. No: 29 Levent Apartmanı Kat: 3 No: 3
Yenişehir / MERSİN

Tel : (324) 327 23 50

E-posta: sevda4395@hotmail.com

Sevda ASLAN