

**T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**EMAMEKTİN BENZOATIN *Galleria mellonella* 'NİN BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

BİLAL DAĞDEVİRAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2017

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EMAMEKTİN BENZOATIN *Galleria mellonella* 'NIN BAZI BİYOKİMYASAL
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Bilal DAĞDEVİRAN

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Bu tez 26/07/2017 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından
oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

**Doç. Dr. Tamer KAYIŞ
BAŞKAN (DANIŞMAN)**

**Yrd. Doç. Dr. Mehmet ARSLAN
ÜYE**

**Doç. Dr. Yusuf SEVGİLER
ÜYE**

**Prof. Dr. Ramazan GÜRBÜZ
Enstitü Müdür V.**

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FEFYL/2016-0007

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak
gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

EMAMEKTİN BENZOATIN *Galleria mellonella* 'NIN BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Bilal DAĞDEVİRAN

Adıyaman Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman

:Doç. Dr. Tamer KAYIŞ

Yıl: 2017, Sayfa sayısı: 51

Jüri

:Doç. Dr. Yusuf SEVGİLER

:Yard. Doç. Dr. Mehmet ARSLAN

Çalışmada denenen farklı emamektin benzoat konsantrasyonlarının (0.001µg, 0.002µg, 0.003µg, 0.004µg ve 0.005µg) *Galleria mellonella* 'nın antioksidan enzim aktiviteleri, lipid peroksidasyon ve toplam protein, lipid ve karbohidrat miktarlarına olan etkileri 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlarda araştırılmıştır.

Emamektin benzoat *G. mellonella* 'da antioksidan enzim aktivitelerinde önemli değişikliklere neden olmuştur. Özellikle en yüksek insektisit konsantrasyonu (0.005µg) süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin denenen tüm periyotlarda önemli ölçüde artmasına neden olmuştur. Katalaz aktivitesi 24 saatlik periyotta emamektin benzoattan önemli ölçüde etkilenmemiştir. Daha sonraki periyotlarda ise 0.001µg, 0.002µg, 0.003µg, 0.004µg dozlarında büyük ölçüde azalma eğilimi göstermiştir. Malondialdehid miktarı doza ve uygulama süresine bağlı olarak kontrol grubuna göre önemli ölçüde artmıştır. Protein miktarları emamektin benzoattan önemli ölçüde etkilenmezken karbohidrat ve lipid miktarları özellikle 48. saatten sonra konsantrasyon artışına paralel olarak önemli düşüşler göstermiştir.

Sonuç olarak emamektin benzoat *G. mellonella* 'nın antioksidan enzim aktivitelerinde ve enerji metabolizmasında önemli değişikliklere yok açmış, lipid peroksidasyonuna neden olarak oksidatif hasarlara neden olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Emamektin benzoat, *Galleria mellonella*, Antioksidan enzimler, Lipid peroksidasyon, protein, lipid, karbohidrat

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECTS OF THE EMAMECTINE BENZOATE ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *Galleria mellonella*

BİLAL DAĞDEVİRAN

Adıyaman University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Tamer KAYIŞ

Year: 2017, Number of Pages: 51

Jury : Assoc. Prof. Dr. Yusuf SEVGİLER

: Asst. Prof. Dr. Mehmet ARSLAN

In the present study, effects of different concentrations of emamectin benzoate (0.001µg, 0.002µg, 0.003µg, 0.004µg ve 0.005µg) on antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation and total protein, lipid and carbohydrate levels of *Galleria mellonella* were investigated at 24, 48, 72, and 96 hours periods.

Emamectin benzoate has led to significant changes on antioxidant enzyme activities. Especially highest concentration of insecticide concentration (0.005 µg) caused an increase of superoxide dismutase enzyme activity at all periods. Catalase activity was not affected by emamectin benzoate at 24h, but in the following period it was showed substantially reduced tendency at doses of 0.001µg, 0.002µg, 0.003µg, 0.004µg. Malondialdehyde levels were significantly increased depend on the dose and exposure time. Protein amount was not significantly affected by emamectin benzoate, but lipid and carbohydrate levels were significantly decreased with parallel to concentration of emamectin benzoate after the 48hrs.

In conclusion, emamectin benzoate caused oxidative damage in *G. mellonella* by led to lipid peroxidation and change on antioxidant enzyme activity and energy metabolism.

Key Words: Emamectin benzoate, *Galleria mellonella*, Antioxidant enzymes, Lipid peroxidation, protein, lipid, carbohydrate

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda yardımlarını ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Tamer KAYIŞ'a, tezimin deney aşamasında ve verilerin değerlendirilmesinde yardımcı olan Adıyaman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Mustafa COŞKUN'a, laboratuvar arkadaşlarım Turan TANKUT ve Mehmet Sait YÜCEL'e teşekkür ederim

Çalışmam süresince beni koşulsuz ve sabırla destekleyen aileme sonsuz teşekkürler.

Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Biriminin FEFYL-2016-0007 sayılı projesi olarak destekleyen Adıyaman Üniversitesi'ne teşekkürler.



İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜRLER	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
SİMGE VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Oksidatif Stres	2
1.1.1. Serbest radikaller	3
1.1.2. Serbest radikallerin yol açtığı hasarlar	3
1.1.2.1. Serbest radikallerin lipidler üzerine etkileri.....	3
1.1.2.2. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri.....	4
1.1.2.3. Serbest radikallerin karbohidratlar üzerine etkileri.....	4
1.1.2.4. Serbest radikallerin DNA üzerine etkileri.....	4
1.2. Antioksidan Savunma Sistemleri	5
1.2.2. Enzimatik antioksidanlar.....	6
1.2.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD) (EC.1.15.1.1).....	6
1.2.2.2. Katalaz (CAT) (EC: 1.11.1.6).....	6
1.2.2.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) (EC: 1.11.1.9)	7
1.2.2.4. Glutasyon redüktaz (GSH-Rd) (EC: 1.8.1.7)	7
1.2.2.5. Glutasyon-s-transferaz (GST) (EC: 2.5.1.18).....	7
1.2.3. Enzimatik olmayan antioksidanlar	7
1.2.3.1. Glutasyon (GSH)	7
1.2.3.2. Vitaminler	8
1.2.3.3. Melatonin	9
1.2.3.4. Bilirubin	9
1.2.3.5. Albumin	10
1.2.3.6. Ürik asit.....	10
1.3. <i>Galleria mellonella</i> (L.) 1758 (Büyük Balmumu Güvesi).....	10

1.4. Enamektin Benzoat	11
2. KAYNAK ÖZETLERİ	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	16
3.1. Materyal.....	16
3.1.1. <i>G. mellonella</i> stok kültürünün oluşturulması	16
3.1.2. Enamektin benzoat konsantrasyonlarının belirlenmesi	16
3.1.3. Böcekler'e insektisit uygulanması	16
3.2. Yöntem	17
3.2.1. Böceklerin homojenizasyonu	17
3.2.2. Toplam protein miktarının tayini.....	17
3.2.3. Toplam karbohidrat miktarının tayini.....	18
3.2.4. Toplam lipid miktarını tayini.....	18
3.2.5. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin belirlenmesi	19
3.2.6. Katalaz enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	19
3.2.7. Malondialdehit miktarının belirlenmesi	20
3.2.8. Verilerin değerlendirilmesi.....	21
4. BULGULAR.....	22
4.1. Enamektin Benzoatın <i>G. mellonella</i> 'nın Toplam Protein Miktarına Etkileri.....	22
4.2. Enamektin Benzoatın <i>G. mellonella</i> 'nın SOD Enzim Aktivitesine Etkileri	23
4.3. Enamektin Benzoatın <i>G. mellonella</i> 'nın CAT Enzim Aktivitesine Etkileri.....	25
4.4. Enamektin Benzoatın <i>G. mellonella</i> 'nın MDA Miktarına Etkileri.....	27
4.5. Enamektin Benzoatın <i>G. mellonella</i> 'nın Toplam Lipit Miktarına Etkileri	28
4.6. Enamektin Benzoatın <i>G. mellonella</i> 'nın Toplam Karbohidrat Miktarına Etkileri	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	33
KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	51

Çizelge 4.1. Farklı EMB konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın toplam protein miktarına etkileri.....	22
Çizelge 4.2. Farklı EMB konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın SOD enzim aktivitesine etkileri.....	24
Çizelge 4.3. Farklı EMB konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın CAT enzim aktivitesine etkileri.....	26
Çizelge 4.4. Farklı EMB konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın MDA miktarına etkileri	27
Çizelge 4.5. Farklı EMB konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın toplam lipit miktarına etkileri	29
Çizelge 4.6. Farklı EMB konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın toplam karbohidrat miktarına etkileri.....	31

Şekil 4.1. EMB'nin <i>G. mellonella</i> 'nın toplam protein miktarına zamana bağlı etkileri.....	23
Şekil 4.2. EMB'nin <i>G. mellonella</i> 'nın SOD enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri	25
Şekil 4.3. EMB'nin <i>G. mellonella</i> 'nın CAT enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri	26
Şekil 4.4. EMB'nin <i>G. mellonella</i> 'nın MDA miktarına zamana bağlı etkileri	28
Şekil 4.5. EMB'nin <i>G. mellonella</i> 'nın toplam lipit miktarına zamana bağlı etkileri	30
Şekil 4.6. EMB'nin <i>G. mellonella</i> 'nın toplam karbohidrat miktarına zamana bağlı etkileri.....	32

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALT	: Alanin aminotrasferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
BSA	: Bovin serum albumin
CAT	: Katalaz
dk	: dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EMB	: Enamektin Benzoat
GABA	: Gama aminobutirikasit
gr	: gram
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon proksidaz
GSH-Rd	: Glutasyon redüktaz
G6PD	: Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
L	: Litre
LC50	: Letal Konsatrasyon %50
LD50	: Letal Doz %50
MDA	: Malondialdehit
ml	: mililitre
mm	: milimetre
NOS	: Nitrik oksit sentaz
ppm	: milyonda bir birim
RNA	: Ribonükleik asit
ROS	:Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
µl	: mikrolitre
µg	: mikrogram

1. GİRİŞ

Tüm dünyada azalan tarım alanlarına paralel olarak hali hazırda kullanımda olan tarım alanlarından maksimum verim elde etmek, bu ürünleri depolama sırasında zararlılardan korumak için genel bir isimle pestisitlerin kullanılması son derece yaygındır.

Zararlılarla mücadelede istenmeyen organizmaları yok etmek için kullanılan pestisitlerin ekosistem ve canlılar için çok önemli olumsuz etkileri vardır. Pestisitler toprakta, akuatik ortamlarda ve atmosferde birikmeleri nedeniyle çevre kirliliğine neden olmakta, insanların dahil olduğu tüm canlılarda zehirlenmelere, sinir sistemi hasarlarına, hücresel faaliyetlerde ve hücre membran yapısında bozulmalara neden olmaktadır.

Pestisit kullanımıyla ilgili geçmişten bu yana bilinen en önemli sorun aşırı ve bilinçsiz kullanım sonucu zararlı olmayan türlerin yok olması ve zararlı popülasyonlarında bağışıklık gelişmesidir (Çakır ve Yamanel 2005). Bu sayede asıl amacı zararlı popülasyonunu azaltmak veya öldürmek olan pestisitlerin kullanımı zararlılarla mücadelede negatif bir etki yaparak sorunun daha da büyümesine neden olabilmektedir. O nedenle pestisit kullanımı ile ilgili bilinmesi gereken en önemli noktalardan biri de doğru zamanda, doğru miktarda ve doğru pestisit kullanılması olmalıdır.

Direnç gelişimi ve hedef olmayan organizmaların yok olmasının yanı sıra pestisitlerin subletal etkileri hedef dışı organizmalarda enzim aktivitelerinde değişiklikler, üreme anormallikleri, beslenme, algılama, metabolizmayı değiştirme, parazitlenme ve parazit çıkışında anormallikler gibi sonuçlarla da kendini gösterebilmektedir (Haynes 1988).

Pestisitler fiziksel görünüşlerine, yapısını oluşturan aktif bileşenine, toksisite derecesine, kullanıma biçimine ve zamanına göre sınıflandırılabilir. Fakat en çok kullanılan sınıflandırma etki ettiği canlı grubuna göre yapılan sınıflandırmadır (Güler ve Çobanoğlu 1997). Bu sınıflandırmaya göre böcekler üzerine etkili olan pestisitler insektisit, akarlar üzerine etkili olanlar akarisit, yumuşakçalar üzerine etkili olanlar mollusit, mantarlar üzerine etkili olanlar fungusit, zararlı otların ortadan kaldırılması için kullanılanlar ise herbisit gibi isimler alır.

Böcekler tür ve sayı bakımından dünyada en fazla dağılım gösteren canlı grubudur (Baillie vd. 2004). Bu nedenle insektisitler zararlı böceklerle mücadele kullanılan en yaygın pestisit grubunu oluşturur ve temelde organoklorlular, pyretroidler, karbamat grubu insektisitler ve organofosfor grubu insektisitler olarak sınıflandırılırlar (Ishaaya 2000).

Çalışmalar insektisitlerin neden olduğu toksisitenin gösterilmesinde oksidatif stres oluşumunun önemli bir belirteç olduğunu göstermektedir. İnsektisitler ya kendileri serbest radikal oluşturarak ya da antioksidanların veya reaktif oksijen türlerini temizleyen enzimlerin yapısında değişikliklere sebep olarak oksidatif strese neden olabilmektedir (Milatovic vd. 2006, Dettbarn vd. 2006, Kayis vd. 2015).

Biyolojik sistemler bütünüyle hemostatik denge üzerine kurulmuştur. Bu sistemde serbest radikallerin oluşması ve bunların ortadan kaldırılması düzenli bir şekilde gerçekleşir ki bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Bu denge korunduğu sürece canlı serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmuş olur. Serbest radikal oluşumunu artıran veya bunların ortadan kaldırılmasında rol oynayan antioksidan savunma sistemini bozan maddeler oksidatif strese neden olur (Hermes-Lima ve Zenteno-Savin 2002, Serafini ve Del Rio 2004).

1.1. Oksidatif Stres

Serbest radikaller organizmalarda metabolizma sırasında sürekli olarak oluşturulan, organizmanın ksenobiyotiklere maruziyeti sonucu detoksifikasyon reaksiyonlarında oluşumu artan ve düzenli olarak ortadan kaldırılan moleküllerdir. Bu radikallerin oluşumu ile ortadan kaldırılması arasındaki uyum oksidatif dengeyi sağlar. Oksidatif denge korunduğu müddetçe organizma serbest radikallerden etkilenmez. Fakat serbest radikal oluşumunun artması ve/veya antioksidan savunma mekanizmasının yetersiz kalması oksidatif dengeyi serbest radikaller lehine bozarak oksidatif stresin ortaya çıkmasına yol açar (Hermes-Lima ve Zenteno-Savin 2002, Serafini ve Del Rio 2004).

1.1.1. Serbest radikaller

Serbest radikaller ortaklanmamış bir veya daha fazla elektrondan dolayı kararsız moleküllerdir (Mercan 2004). Serbest radikallerin kaynaklarının başında fagositler, kanser ilaçları, radyasyon, alkol ve uyuşturucu kullanımı, pestisitler ve stres örnek olarak verilebilir (Mohammad vd. 2004, Oruc Ozcan vd. 2004).

Hücre içerisinde oksidasyon redüksiyon tepkimeleri, enzimatik reaksiyonlar, elektron transport zinciri, lipid peroksidasyonu, iskemi, travma ve zehirlenmeler serbest radikal oluşumunda önemli rol oynamaktadır (Cheeseman ve Slater 1993, Akkuş 1995, Ozkan ve Fışkın 2004).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikal kaynağı oksijendir. Oksijenden oluşan süperoksit($O^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil ($OH^{\cdot}$) ve peroksil gibi radikallerinin biyolojik sistemler üzerine önemli etkileri vardır (Mates 2000).

1.1.2. Serbest radikallerin yol açtığı hasarlar

Serbest radikallerin etkileri hedef hücre tipine, maruz kalma süresine ve şiddetine bağlı olarak değişmekle birlikte, serbest radikallerden öncelikle etkilenen yapı genelde membran lipidleridir, bunun yanında proteinler, karbonhidratlar ve DNA da serbest radikallerden önemli ölçüde zarar görürler (Nordberg ve Arner 2001).

1.1.2.1. Serbest radikallerin lipidler üzerine etkileri

Serbest radikallerin eşleşmemiş elektronları hücre membranındaki kolesterol ve doymamış yağ asiti bağları ile reaksiyonu sonucu peroksidasyona neden olurlar (Halliwell ve Gutteridge 1999). Sonuçta hücre membranının akışkanlığı bozulur ve permeabilite değişiklikleri meydana gelir (Kavas 1989).

Membran lipidlerinin peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) ise hücre membranlarında iyon geçişlerine etki ederek membranda çapraz bağların oluşumuna yol açarak iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitelerinin değişmesine neden olur (Moslen 1994).

1.1.2.2. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri

Serbest radikaller proteinlerin agregasyonuna, çapraz bağ oluşumuna ve aminoasitlerin modifikasyonuna yol açarak zarar verirler (Erenel vd. 1992). Proteinleri oluşturan aminoasitlerin dizilimi serbest radikallerin hasarının ortaya çıkmasında son derece önemlidir. Doymamış bağ ve sülfür içeren fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitleri içeren protein moleküllerinin serbest radikallerle ilgisi daha fazla olduğundan serbest radikallerden daha fazla etkilenirler (Nordberg ve Arner 2001, Netto vd. 2002).

Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri sonucu enzimlerin fonksiyonlarında bozulmalar, membran transport fonksiyonlarında aksamalar ve kasılmayla ilgili fonksiyonlarda bozulmalar meydana gelebilir (Shacter 2000).

1.1.2.3. Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri

Serbest radikaller monosakkaritlerin otooksidasyonuna neden olarak H_2O_2 , peroksit ve okzoaldehid türü son ürünlerin oluşumuna neden olurlar. Okzoaldehidler, deoksiribonükleik asit, ribonükleik asit ve proteinlere bağlanarak ve çapraz bağ oluşumunu indükleyerek antimitotik etki gösterirler (Thornaley ve Vasak 1985).

1.1.2.4. Serbest radikallerin DNA üzerine etkileri

İyonize edici radyasyon sonucu oluşan serbest radikaller DNA'da mutasyona neden olarak etki gösterirler (Halliwell 1994, Marnett 2000). DNA'da oluşan hasarlar, DNA-protein arasında çapraz bağ oluşumu, purinlerin otooksidasyonu gibi bazı durumların özellikle hidroksil radikalının etkisiyle gerçekleştiği bilinmektedir (Mates vd. 1999, Gümrükçüoğlu 2017). Organizmaya giren yabancı maddelerin nötrofilleri aktive etmesi sonucu oluşturulan H_2O_2 , hücre membranlarından geçebildiği için nükleusta hasarlara neden olabilmektedir (Lunec ve Blake 1990, Ames vd. 1993, Cheeseman ve Slater 1993, Halliwell 1994). Hidroksil radikalleri DNA üzerinde mutasyona neden olur. Güçlü bir oksitleyici ajan olan süperoksit radikali guanin gibi

yüksek elektron yoğunluklu moleküllerle kolaylıkla tepkimeye girerler (Halliwell ve Gutteridge 1984).

1.2. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidan savunma sistemleri enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak başlıca iki gruba ayrılır. Birincil antioksidan savunma enzimleri arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon proksidaz (GSH-Px) önemli yer tutarlar. Bunlardan başka antioksidan sistem içinde yer alan glutatyon redüktaz (GSH-Rd) ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) enzimleride ikincil antioksidan enzimler olarak enzimatik antioksidan savunma sistemi içerisinde yer alırlar. Enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizması ise başlıca glutatyon (GSH), vitamin A, Vitamin C, vitamin E, melatonin, albümin, bilirubin ve ürik asit gibi maddelerden oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge 1999, Aydın vd. 2001).

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler (Hermes-Lima vd. 2001).

1- Serbest radikal oluşumunun engellenmesi

- a- Oksidatif hasarın oluşmasına neden olacak reaktif maddeleri uzaklaştırarak
- b- Ortamdaki oksijeni uzaklaştırarak veya konsantrasyonunu azaltarak
- c- Metal iyonlarını uzaklaştırarak

2- Oluşan serbest radikallerin ortamdaki kaldırılması

a- Reaktif oksijen türevlerini reaktivitesi düşük başka moleküllere çevirerek etki gösterirler (enzimler).

b- Reaktif oksijen türevlerine pozitif yük ekleyerek aktivite kaybına neden olurlar (flavinoidler, vitaminler).

c- Oluşan hasarları onarırlar

d- Oksidatif hasarı başlatacak olan reaktif oksijen türlerini ve bunların ara ürünlerini bağlayarak reaksiyon zincirini bozarak etki gösterirler (hemogloblin, seroplazmin, mineraller, vitaminler).

1.2.1. Enzimatik antioksidanlar

1.2.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD) (EC.1.15.1.1)

Süperoksit radikallerinin H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen ve lipid peroksidasyonunu engelleyen, aktif merkezinde metal iyonu bulunduran bir enzimdir (McCord ve Fridovich 1969, Murray vd. 1993).

Süperoksit dismutaz enzimi ile süperoksit radikallerinin reaksiyonu sonucu oluşan H_2O_2 hücre membranlarından geçebildiği için son derece tehlikelidir. Hidrojen peroksit, geçiş metallerinin varlığında Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile son derece reaktif olan hidroksil radikallerine dönüşmektedir (Rigo vd. 1977, Deaton ve Marlin 2003).

Süperoksit dismutaz enzimi, taşıdığı geçiş metallerine göre, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD olmak üzere üç sınıfa ayrılır (Halliwell ve Gutteridge 1999, Fridovich 2001).

1.2.1.2. Katalaz (CAT) (EC: 1.11.1.6)

Katalaz enzimi aktif merkezinde dört tane ferrihem grubu bulunduran bir hemoproteindir (Halliwell ve Gutteridge 1999, Nordberg ve Arner 2001).

SOD ve süperoksit radikallerinin reaksiyonu sonucu oluşan H_2O_2 bir radikal olmamasına karşın, Cu ve Fe iyonlarının varlığında Fenton reaksiyonu ile H_2O_2 den hidroksil radikalının oluşumunu katalizlediği için önemlidir (Cheung vd. 2001). CAT etkisini katalitik reaksiyonla ve peroksidik reaksiyonla gösterir.

1- H_2O_2 in parçalanması (katalitik reaksiyon)

Katalaz enzimi H_2O_2 'nin su ve moleküler oksijene ayrışmasını katalizleyerek biyolojik sistemleri H_2O_2 'nin zararlarına karşı korurlar (Aebi 1984, Halliwell ve Gutteridge 1999, Nordberg ve Arner 2001)

2- Alifatik alkollerin peroksidasyonu (peroksidik reaksiyon)

Ayrıca H_2O_2 bulunan ortamda peroksidaz etkisi ile metanol ve etanol gibi alkoller, formaldehid ve asetaldehide dönüştürürler (Aydın vd. 2001).

1.2.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) (EC: 1.11.1.9)

Mitokondri, sitozol ve hücre membranlarında bol miktarda bulunan Glutasyon peroksidazlar, glutasyonu substrat olarak kullanır ve H_2O_2 ve organik hiperoksitlerin temizlenerek ortadan kaldırılmasında rol oynar (Deaton ve Marlin 2003).

Enzimin iki ana formu bulunur. Birincisi aktif bölgesinde selenyum bulunduran selenyuma bağımlı GSH-Px dir. Bunlar, organik hidroperoksitler ve H_2O_2 ' ye karşı aktiftir. Diğeri ise, selenyuma bağımlı olmayan ve H_2O_2 'ye karşı önemli bir etkisi olmayıp, daha çok organik hidroperoksitlere karşı etkili olan glutasyon peroksidazdır (Halliwell ve Gutteridge 1999, Cnubben vd. 2001).

1.2.1.4. Glutasyon redüktaz (GSH-Rd) (EC: 1.8.1.7)

Hidrojen peroksitin detoksifiye edilmesi sırasında okside formuna dönüşen glutasyonun tekrar kullanılabilmesi için NADPH bulunan ortamda glutasyon disülfiti tekrar redükte glutasyona (GSH) dönüştüren enzimdir (Hermes-Lima vd. 2001).

1.2.1.5. Glutasyon-s-transferaz (GST) (EC: 2.5.1.18)

Glutasyon S transferazlar özellikle lipid hidroperoksitlere karşı glutasyon peroksidaz aktivitesi göstererek ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynarlar (Storey 1996).

1.2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

1.2.2.1. Glutasyon (GSH)

Glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelen bir tripeptid olan glutasyon önemli bir antioksidandır (Halliwell ve Gutteridge 1999). Sitozol, mitokondri ve nükleusta bol miktarda bulunur. (Dickinson ve Forman 2002, Mytilineou vd. 2002).

Glutasyon hidroksil ve singlet oksijen gibi reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılmasında rol oynamasının yanında, diğer serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreyi oksidatif hasarlara karşı korurlar (Murray vd. 1993).

Bazı zehirli ksenobiyotiklerin GSH ile konjugasyonu sonucu oluşan merkaptürik asit ve N-asetil sistein türevleri idrarla dışarı atılarak hücrede proteinler, DNA ve RNA ksenobiyotiklerin zararlı etkilerinden korunmuş olur (Halliwell ve Gutteridge 1999, Mytilineou vd. 2002).

1.2.2.2. Vitaminler

Vitamin e (α tokoferol), yağda çözünebilme yeteneğinde olan önemli bir antioksidan olup, yan zincirlerinin doymuşluğu ve metillenmesi bakımından α , β , γ , δ -tokoferol ile α , β , γ , δ -tokotrienol olarak adlandırılan vitamin ailesinin genel adıdır. Bu bileşikler arasında doğal dağılım olarak ve biyolojik aktivitesi en yüksek olan α -tokoferoldür. (Halliwell ve Gutteridge 1999, Packer vd. 2001).

En önemli fonksyonu membran fosfolipidlerinin peroksidasyonunu engellemesi dolayısıyla hücre membranını korumasıdır. Lipofilik özelliğinden dolayı kolayca hücre membranından giren α -Tokoferolün OH grubundaki H atomu serbest radikallere reaksiyona girer ve radikalın membran proteinleri ile reaksiyonunu dolayısıyla lipid peroksidasyonunu engeller. Bu şekilde zincir kırıcı bir antioksidan olarak etki gösterirler.

α -Tokoferol, süperoksit, hidroksil, singlet oksijen, lipid peroksil radikalleri ve diğer bazı serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında rol oynar (Chow 1991, Blokhina vd. 2003).

GSH-Px ve α -tokoferol birbirleriyle komplementer bir antioksidan etki gösterirler. α -Tokoferol peroksitlerin oluşumunu engellerken, GSH-Px oluşmuş olan peroksitleri ortadan kaldırır (Aydın vd. 2001).

Vitamin C (askorbik asit), suda çözünebilen ve sebze ve meyvelerde bol miktarda bulunan bir antioksidandır (Baskin ve Salem 1997). Özellikle detoksifikasyon metabolizmasında oluşan serbest radikallerin ve reaktif oksijen türevlerinin ortadan kaldırılmasında önemli rol oynar. Askorbik asit moleküler oksijeni, nitratı, sitokrom a ve sitokrom c' yi indirger ve semihidroaskorbat ara ürünü aracılığıyla dehidroaskorbik

aside okside olur. Askorbat, süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolaylıkla reaksiyona girerek bu radikallerin temizlenmesinde görev yapar ve oluşan dehidroaskorbik asit vitamin c kaynağı olarak kullanılır (Murray vd. 1993).

Vitamin A'nın ön maddesi olan β -karotenin antioksidan etkisi singlet oksijeni tutması, serbest radikalleri temizlemesi ve membran lipidlerini oksidatif hasarlara karşı korumasından ileri gelir. Ayrıca hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleri ile de reaksiyona girer ve lipid peroksidasyonunda peroksidasyon zincirini engellemede görev alır. β -Karoten düşük oksijen seviyelerinde etkili olduğundan daha yüksek oksijen seviyelerinde etkili olan vitamin E nin antioksidan etkisi ile sinerjistik etki gösterir (Murray vd. 1993, Akkuş 1995).

1.2.2.3. Melatonin

Melatonin bir pineal bez hormonu olarak bilinmekle beraber, kuvvetli serbest radikal süpürücü özelliği ile antioksidan özellikleri bulunmaktadır. Kan beyin bariyerini geçebilen melatonin antioksidan özelliğini doğrudan; hidroksil ve peroksil radikallerini ortamdan süpürerek gösterirken, dolaylı olarak glutatyon peroksidazları aktive eder, SOD enziminin aktivitesini artırır ve oksidatif stres altında CAT enzim aktivitesindeki azalmayı önler (Tan vd. 2002, Reiter vd. 2007, 2009), prooksidan enzimlerin aktivasyonunu engelleyerek nitrik oksit sentaz (NOS) gibi enzimleri inhibe edebilir (Guerro vd. 1997). Bunun yanında kanser hücrelerinde apoptozu başlattığı/uyardığı bu sayede hasta veya hasarlı hücreleri programlı bir şekilde ortadan kaldırarak organizmayı koruduğu da bildirilmiştir (Toubi ve Shoenfeld 2007).

1.2.2.4. Bilirubin

Bilirubin eritrositlerin yıkımını esnasında hemoglobin moleküllerinin parçalanması ile ortaya çıkan son ürün olup önemli bir antioksidandır. Peroksil radikallerini etkileyerek lipid peroksidasyonu üzerine zincir kırıcı bir etki gösterir (Gutteridge 1995).

1.2.2.5. Albumin

Albumin taşıdığı sülfhidril grupları nedeniyle zincir kırıcı antioksidan etki gösterir. Bakır ve demiri bağlayarak Haber-Weiss reaksiyonu sonucu oluşan radikallerin etkisiz hale getirilmesinde rol oynar (Halliwell ve Gutteridge 1990, Roche vd. 2008).

1.2.2.6. Ürik asit

Vücut metabolizmasının artık ürünü olan ürik asit, hidrofilik özellikte olup oksijen radikallerini ve geçiş metallerini temizleyen önemli bir antioksidandır (Cereser vd. 2001). İçerisinde e vitamini, askorbik asit, beta karoten ve bazı antioksidan enzimleri bulundurduğu için vücut sıvılarının antioksidan kapasitesinin yarısından fazlasını barındırır (Watanabe vd. 2002, Glantzounis vd. 2005, Parmar 2009).

1.3. *Galleria mellonella* (L.) 1758 (Büyük Balmumu Güvesi)

Büyük balmumu güvesi olarak bilinen *Galleria mellonella* (L.) Lepidoptera ordosuna ait zararlı bir türdür. Larvaları petekler ile beslendiğinden arıcılık sektöründe ürün kayıplarına neden olurlar (Ritter vd. 1992).

Günümüzde birçok araştırmacı böceklerin de model organizma olarak kullanılabileceğini belirtmektedir (Kavanagh ve Fallon 2010, Junqueira 2012, Kayis vd. 2015). *G. mellonella* laboratuvarlarda kolayca üretilmesi, kısa hayat döngüsüne sahip olması, çeşitli yapay besinler üzerinde iyi gelişebilmesi, hücre yapısı, metabolik faaliyetler ve bağışıklık sistemlerinin memelilerinkine benzerlik göstermesi, sahip oldukları hemolenf sıvısında memelilerin fagositlerine benzer şekilde işlev gören hemositleri içermesi, insanlardaki patojenlere yatkın olması gibi özelliklerinden dolayı çeşitli çalışmalarda kullanılan önemli bir model organizmadır (Banville vd. 2012, Emre vd. 2013, Kurt ve Kayis 2015, Kayis vd. 2015).

1.4. Enamektin Benzoat

Günümüzde aşırı ve bilinçsiz insektisit kullanımındaki artış nedeniyle çevreye daha dost insektisitlerin geliştirilmesi zorunluluğu meydana gelmiştir. Avermektinler on altı üyeli makrosiklik lakton ailesine ait, toprak mikroorganizması *Streptomyces avermitilis* MA-4680 (NRRL 8165) tarafından üretilen, insan ve hayvan sağlığı için daha güvenli yeni nesil bir biyoinsektisit grubudur (Venkateswari vd. 2008).

Enamektin benzoat (EMB), yarı sentetik abamektin (Avermektin B1) türevidir olup özellikle zararlı lepidopter türleriyle mücadele amaçlı geliştirilmiş yeni nesil bir insektisittir (Loriatti vd. 2009). Uygulanmasını takiben zararlıların önce beslenmesini durdurmakta, sonra hareketsiz bırakmakta ve en son ölümlerine neden olmaktadır (Abdel-Hafez ve Osman 2013). Etkisini başlıca nörotransmitter, γ aminobutirik asit (GABA), salınımını uyararak gösterir. GABA reseptörlerinin aşırı uyarılması sinir hücrelerinde klor iyon geçirgenliğini artırır, sonuçta nörotransmitter akışı bozulur ve aşırı uyarılmalara, geri dönüşümsüz paralizlere yol açarak böcekleri öldürmektedir (Yen ve Lin 2004).

Uygulandıktan sonra bitkiler üzerinde hızlı bir şekilde yıkıma uğradığı (Lopez vd. 2011), bu nedenle yararlı organizmaların minimum düzeyde EMB' a maruz kaldığı belirtilmektedir (Ishaaya vd. 2002). Bunun yanında sucul ekosistemlerdeki düzeylerinin her geçen gün arttığı, balık ve istakoz dokularında kalıntılara rastlandığı bildirilmiştir (Tauber vd. 2006, Inoue vd. 2010, Xie vd. 2011).

Enamektin benzoatın *Spodoptera litura* (F) (Venkateswari vd. 2008, Firake ve Pande 2009), *Helicoverpa armigera* (Hüber) (Desmukh vd. 2010), *Plutella xylostella* (L.) (Barrere-Urdua vd. 2006), *Maruca vitrata* (F.) (Chouraddi vd. 2009) gibi çeşitli lepidopter türleri üzerine etkileri laboratuvar ve çevre koşullarında gösterilmiştir. Bunun yanında öncelikli olarak lepidopter larvalarıyla mücadele amaçlı olarak geliştirilmiş olmasına rağmen farklı böcek ordolarına, örneğin *Phenacoccus solenopsis* (Tinsley) (Hemiptera; Pseudococcidae) (Dhawan vd. 2008), *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae) (Badr El-Sabah Amani ve Hoda 2009) etkili olduğu bilinmektedir.

Yukarıda bahsedildiği gibi EMB ile yapılan çalışmalar çeşitli Lepidopter türleri ve bir kaç diğer böcek ordosu ile daha çok besin ve temas yoluyla uygulanması ile

etkinliğinin belirlenmesine yöneliktir. Buna karşın antioksidan enzim aktiviteleri ve enerji metabolizması gibi önemli biyobelirteçler üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Verilen bilgiler ışığında sunulan çalışmanın amacı yeni nesil bir insektisit olan EMB'nin model bir organizma olan *G. mellonella*'da antioksidan enzim aktiviteleri, MDA düzeyleri ve protein, karbohidrat ve lipid düzeyleri gibi biyobelirteçleri üzerine etkilerini ortaya çıkarmaktır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Nath (2000), organofosforlu insektisitlerin *Bombyx mori*'nin hemolenfinde ve yağ dokusunda toksik etki oluşturduğunu ve bu stresin karbohidrat metabolizmasını önemli ölçüde etkilediğini belirtmiştir.

Shafeek vd. (2004), subletal dozdaki azadiraktinin hamam böceklerinde sinir sisteminde asetilkolin esterase aktivitesini önemli ölçüde etkilemediğini belirtmiştir.

Buyukguzel (2006), malathion uygulanmış *G. mellonella*'da ve onun konukçusu olan *P. turionellae*'de bazı parametreleri araştırmış ve yüksek malathion konsantrasyonunun *G. mellonella*'da pupa oluşum oranını azalttığını ve MDA düzeyini önemli ölçüde artırdığını göstermiştir. Bunun yanında *G. mellonella*'nın parazitoidi olan *P. turionellae*'de ise ergin birey çıkışının önemli ölçüde azaldığını ve lipid peroksidasyonunun malathiona bağlı olarak indüklendiğini rapor etmiştir.

Sak vd. (2006), dişi *Pimpla turionellae*'nin erkeklerden daha fazla cypermetrinden etkilendiğini total protein, total lipid ve total glikojen seviyelerinin önemli ölçüde azaldığını göstermiştir.

Suhail vd. (2007). *Coccinella septempunctata* larvalarında bazı insektisitlerin hemosit profiline ve sayısına etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, abamektinin (Sure® 1.8 EC) toplam hemosit sayısını önemli ölçüde azalttığını, bunun yanında abamektin maruziyeti sonucu hemositlerden granülosit ve sferülositlerin miktarını artırdığını, prohemosit ve plazmatositlerin sayısında ise azalmalara neden olduğunu göstermişlerdir.

Dubovskiy vd. (2008), bakteriyel enfeksiyona maruz bırakılan *G. mellonella*'da, SOD, GST ve MDA düzeylerinin önemli ölçüde artarken, CAT aktivitesinin önemli ölçüde değişmediğini göstermişlerdir.

Sak ve Uçkan (2009), *G. mellonella*'da uygulanan cypermetin dozuna paralel olarak larva gelişimin, pupa oluşturma süresinin ve yüzdesinin azaldığını, larval ölümlerin arttığını göstermişlerdir.

Al-Barty (2014), Yarı sentetik bir biyoinsektisit olan metilamin avermektinin *Sitophilus oryzae*'de oksidatif stress biyomarkırı olarak seçtiği SOD enzim aktivitesine olan etkilerini araştırdığı çalışmada insektisit LC50 konsantrasyonunun 48 saatlik periyotta SOD aktivitesini kontrole göre önemli ölçüde artırdığını göstermiştir.

Abd El-Aziz (2015), dördüncü evredeki *Spodoptera littoralis* larvalarında abamectinin LC50 konsantrasyonunun asetilkolin esterase (AChE), glutatyon s-transferaz (GST), α - ve β - esterase ile karışık fonksiyonlu oksidazlar (MFO) üzerine etkilerini araştırmıştır. Sonuç olarak GST ve α - esterase enzimlerinin aktivitelerinin kontrol grubuna göre azaldığını, β - esterase enzim aktivitesinin dördüncü günde artarak maksimum düzeye ulaştığını, karışık fonksiyonlu oksidazların (MFO) aktivitesinde az miktarda bir düşüş olduğunu belirtmiş, bunun yanında abamectinin asetilkolin esterase aktivitesi üzerine önemli bir etkisinin olmadığını göstermiştir.

Abd El-aziz ve Fahmy (2015), toprak bakterisi *Streptomyces avermitilis*’ in doğal fermentasyon ürünü olan abamectinin LC50 konsantrasyonunun *Spodoptera littoralis* (Biosd.) hemolenfindeki sodyum, potasyum, klor ve fosfat iyon konsantrasyonlarına etkilerini araştırmışlardır. Uygulamadan 3 gün sonra sodyum iyon konsantrasyonu önemli ölçüde artarak maksimum seviyeye ulaşmış, fosfat iyon konsantrasyonu 7. gün dışında önemli ölçüde artmış, potasyum iyon konsantrasyonu uygulama sonrası birinci günde azalırken, klor iyon konsantrasyonu kontrol grubuna göre önemli bir değişiklik göstermemiştir. Na/K oranının ise kontrol grubuna göre arttığını belirtmişlerdir. Buna ilaveten genel olarak abamectinin 3gün sonra maksimum etkisini gösterdiğini belirlemişlerdir.

Hamza vd. (2015), *Stiphilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) de metilamin avermektinin MDA düzeylerine etkisini araştırdığı çalışmada 0.3 ppm ve üzeri insektisit konsantrasyonlarında MDA miktarının önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Metilamin avermektinin böcekte lipid peroksidasyonuna yol açtığını ve antioksidan kapasitesini önemli ölçüde etkilediğini söylemiştir.

El Sheikh ve Galal (2015), erkek albino ratlarda EMB’nin subkronik etkilerini inceledikleri çalışmalarında EMB’nin karaciğer üzerine önemli etkileri olduğunu, ALT, ALP ve MDA düzeylerinde önemli ölçüde artışa neden olduğunu ve SOD enzim aktivitesini önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir.

Yu vd. (2015), *Franklinella occidentalis*’ ikinci evre larvalarında EMB’nin enerji kaynakları üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında çözünebilen protein, şeker ve lipidlerin miktarlarını ve bunların kullanılabilirliğini önemli ölçüde etkilediğini, bu biyomarkırlardaki değişimlerin EMB’ye karşı geliştirilen toleransla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Kissoum ve Soltani, (2016), lipit sentez inhibitörü bir insektisit olan sfiromesifenin *Drosophila melanogaster*'de laktat dehidrojenaz aktivitesi, karbohidrat ve glikojen miktarları üzerine etkilerini araştırdığı çalışmasında insektisit oluşturduğu kimyasal strese bağlı olarak laktat dehidrojenaz aktivitesinin önemli ölçüde arttığını, karbohidrat ve glikojen miktarlarının ise önemli ölçüde azaldığını belirtmiştir.

Wu vd. (2016), EMB'nin *Spodoptera frugiperda*'nın Sf9 hücrelerinde apoptoz ve DNA hasarlarına etkilerini inceledikleri çalışmalarında EMB'nin potansiyel sitotoksik etkiye sahip olduğunu, apoptoz ve DNA hasarlarını indüklediğini ve aynı konsatrasyondaki H₂O₂'den daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *G. mellonella* stok kültürünün oluşturulması

Emamektin benzoat'ın *G. mellonella*'nın antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA düzeyleri ile total protein, total lipit ve total karbohidrat miktarına olan etkilerinin araştırıldığı çalışmada kullanılan böcekler 65 ± 5 nem, $30\pm2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve 24 saat karanlık periyoda sahip laboratuvarda Bronskill (1961) tarafından gösterilen besin ile yetiştirilmiştir.

3.1.2. Emamektin benzoat konsantrasyonlarının belirlenmesi

Deneylere başlamadan önce farklı EMB konsantrasyonları *G. mellonella* larvarına uygulanmış ve 96 saatlik süre sonunda hayatta kalan ve ölen böcek sayıları kayıt altına alınmıştır. Veriler üzerinde SPSS 20.00 istatistik programı kullanılarak probit analizi yapılmış ve LD₅₀ değerleri hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz sonucunda 0.001, 0.002, 0.003, 0.004 ve 0.005 µg/ml EMB olacak şekilde subletal EMB konsantrasyonları belirlenmiştir.

3.1.3. Böceklerle insektisit uygulanması

Her serinin her tekrarında son larval evredeki (250-300 mg) 4 larva alınarak 24, 48, 72 ve 96 saatlik gruplar oluşturuldu. Son evredeki *G. mellonella* larvalarının (250-350 mg) son sol arka bacadan Hamilton marka mikroadjektör yardımıyla 10 µL insektisit enjekte edildi. Kontrol grubu için aynı miktarda saf su enjekte edilen larvalar kullanıldı. Enjeksiyon yapılan larvalar aynı laboratuvar koşullarında 24, 48, 72 ve 96 saat bekletildi ve belirlenen süreler sonunda larvalar tartılarak biyokimyasal analizler yapılincaya kadar -80°C de saklandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Böceklerin homojenizasyonu

Protein, antioksidan enzim aktivitesi ve MDA düzeylerinin belirlenmesinde kullanılmak üzere daha önceden tartılarak -80 °C de saklanan *G. mellonella* larvaları plastik tüpler içerisine alındıktan sonra üzerlerine melanizasyonu engellemek için birkaç fenilthioure kristali konuldu ve 1/10 oranında 50mM fosfat tamponu (pH 7.4) içerisinde 24000 devir/dk da homojenize edildi. Homojenat 10000 devir/dk da 30 dakika +4 C° de santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatant protein miktarı, SOD, CAT aktivitesi ve MDA düzeylerinin belirlenmesinde kullanıldı.

Karbohidrat ve lipid miktarlarının belirlenmesi için yaş ağırlıkları alınıp -80 °C de saklanan *G. mellonella* larvaları melaninleşmeyi önlemek için içerisine birkaç fenilthioure kristali bulunan deney tüplerine alındı ve üzerlerine 2 ml sodyum sülfat ilave edilerek homojenizatör ile 24000 devir/dk da homojenize edildi. Homojenizasyon işleminden sonra tüplere 8 ml kloroform/metanol (1/2) çözeltisi eklendi ve +4 C° de, 10000 devir/dk da 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanttan her bir analiz için 200 µl alınarak karbohidrat ve lipid analizlerinde kullanıldı.

3.2.2. Toplam protein miktarının tayini

Protein miktarının belirlenmesinde Lowry vd. (1951) tarafından gösterilen metot kullanılmıştır. Metod ortama alkali bakır sülfat eklenmesi sonucu Fosfomolibdik/fosfotungstik asit (Folin-Ciocalteu reaktifi) ile mavi renkli kompleks oluşmasına dayalı olarak spektrofotometrik ölçüm ilkesine dayanmaktadır.

Yöntemde kullanılan çözeltiler Kayış (2010) da açıklandığı gibi hazırlanmıştır.

Protein standartının hazırlanmasında, Bovin serum albümin (BSA) ile hazırlanan %1 lik stok çözeltiden seri sulandırılmalarla 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 ve 0.8 mg/ml albümin içeren çözeltiler hazırlandı. Bu standart çözeltilerin absorbansları spektrofotometrede (Shimadzu UV 1800) 750 nm de okunarak bir regresyon denklemi elde edildi.

Örneklerin okunmasından elde edilen absorbanslar regresyon denkleminde yerine konularak böceklerin toplam protein miktarı elde edildi. Bu değer böcek ağırlıklarına bölünerek mg/100mg protein miktarı saptandı.

3.2.3. Toplam karbohidrat miktarının tayini

Karbohidrat miktarının tayininde Van Handel (1985a) in geliştirmiş olduğu yöntem kullanılmıştır.

Yöntemde kullanılan çözeltiler Kayış (2010) da gösterildiği gibi hazırlanmıştır.

Standart çözeltileri hazırlamak için önce saf glikojenden (Sigma G-8751) 0.1g/mL 'lik stok glikojen çözeltisi hazırlandı ve bundan seyreltme yöntemi ile 25, 50, 75 ve 100 µg/ml glikojen çözeltileri elde edildi. Bu glikojen standart çözeltileri serisine Van Handel (1985a) metodu uygulanarak spektrofotometrede (Shimadzu UV 1800) 625 nm dalga boyunda absorbansları okundu ve regresyon denklemi elde edildi.

Örneklerdeki karbohidrat miktarının belirlenmesi için ise ölçülen absorbanslar regresyon denkleminde yerine konuldu ve total karbohidrat miktarı mg/100mg olarak ifade edildi.

3.2.4. Toplam lipid miktarını tayini

Örneklerdeki total lipit miktarının belirlenmesinde Van Handel (1985b) in geliştirmiş olduğu yöntem esas alınmıştır.

Yöntemde kullanılan çözeltiler Kayış (2010) da açıklandığı gibi hazırlanmıştır.

Lipit değerlerinin hesaplanması için önce lipit standart okuması gerçekleştirilerek regresyon denklemi oluşturuldu. Bunun için %0.1'lik mısır yağı kullanılarak 1 mg/ml stok standart çözeltisi hazırlandı ve bundan kloroform/metanol (1/2) ile seri sulandırma yapılarak 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 µg/ml olan çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerin absorbansları Van Handel (1985b) yöntemine göre spektrofotometrede (Shimadzu UV 1800) 525 nm dalga boyunda köre karşı okundu ve regresyon denklemi elde edildi.

Örneklerin lipid miktarları belirlenmesinde ise aynı yöntem ile ölçülen absorbanslar regresyon denkleminde yerine konuldu ve total lipid miktarı mg/100mg olarak ifade edildi.

3.2.5. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde Sun ve ark. (1988) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır.

Yöntem reaksiyon ortamında enzimatik bir reaksiyonla üretilen süperoksit radikallerinin, ortamda bulunan nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgemesinin örnekteki SOD tarafından engellenmesi esasına dayanır. Ortama ilave edilen enzimin üretilen radikalleri dismutasyona uğratması sonucunda NBT redüksiyon reaksiyonu yavaşlar ve sonuçta spektrofotometrede okunan absorbans değeri düşer. Dolayısıyla formazon oluşumunun inhibisyonun tayiniyle SOD miktarı indirekt olarak saptanmaktadır.

Yöntemde kullanılan, Sun ve ark. (1988) tarafından geliştirilen reaktif çözelti bileşenleri ve diğer çözeltiler Kayış (2010)' da açıklandığı gibi hazırlanmıştır.

$$\text{Hesaplama: } \% \text{ inhibisyon} = \frac{(KA - NA) \times 100}{KA}$$

$$\text{Aktivite (U/mL)} = \frac{\% \text{ inhibisyon}}{50 \times 0.1}$$

$$\text{Spesifik Aktivite (U/mg pr)} = \frac{\text{Aktivite } \left(\frac{U}{mL} \right)}{\text{protein miktarı } \left(\frac{mg}{mL} \right)}$$

KA: Kör absorbans

NA: Örnek Absorbans

3.2.6. Katalaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Katalaz aktivitesinin belirlenmesinde Aebi (1984) tarafından geliştirilen ve CAT'ın oluşan H₂O₂'yi ortadan kaldırması esasına dayanan yöntem kullanılmıştır.

Bunun için öncelikle 50 mM fosfat tamponu ve 30 mM H₂O₂ hazırlanarak buz üzerinde hazır tutuldu. CAT aktivitesinin belirlenmesi için kör ve numune tüpü olarak iki tüp hazırlandı. Kör için ayrılan tüpe 2.8 ml 30 mM H₂O₂ ilave edildi ve üzerine 0.2

ml fosfat tamponu eklendikten sonra hızlıca çalkalanarak spektrofotometrede (Shimadzu UV 1800) 240 nm de 30 saniye aralıklarla iki kez okundu. Örnek için kullanılan tüpe yine aynı miktar 30 mM H₂O₂ konuldu ve üzerine 0.2 ml örnek elenerek hızlı bir şekilde çalkalanarak 240 nm de absorbansları okundu. İlk okuma A1, ikinci okuma A2 olarak adlandırıldı.

Hesaplama:
$$U = \frac{2,3}{\Delta x} \times \log \frac{A_1}{A_2}$$

Δx = Absorbans okuma aralıkları / 30 sn

A1: İlk okunan absorbans

A2: İkinci okunan absorbans

Formülü ile hesaplanarak CAT aktivitesi U/mg protein olarak ifade edildi.

3.2.7. Malondialdehit miktarının belirlenmesi

Lipid peroksidasyonunun belirlenmesinde, lipidlerin peroksidasyonunun bir son ürünü olan MDA düzeyleri ölçülmüştür.

Malondialdehit düzeylerinin belirlenmesi için Bar-Or ve ark. (2001) tarafından geliştirilen tiobarbiturik asit (TBA) metodu kullanılmıştır. Bunun için %25'lik 125 µL trikloroasetikasit (TCA) ile 250 µL örnek karıştırılarak 15000 x g de santrifüj edilmiştir. Daha sonra tüpteki süpernatant alınarak (yaklaşık 300 µL) üzerine 200 µL tiyobarbiturik asit (TBA) ilave edilmiş ve 100°C deki sıcak su banyosunda 60 dk bekletilmiştir. Sıcak su banyosundan alınan örnek soğutulduktan sonra spektrofotometrede (Shimadzu UV 1800) 525nm dalga boyunda köre (250 µL saf su, 125 µL TCA ve 200 µL TBA) karşı spektrofotometrede absorbansı okunmuştur. Okunan absorbans aşağıdaki formülde yerine konularak MDA düzeyleri nmol/mg protein cinsinden hesaplanmıştır.

Hesaplama:

$A = C \text{ (Konsantrasyon)} \times l \text{ (Işıık yolu)} \times \epsilon \text{ (Ekstinksiyon katsayısı)}$

$C = A \text{ (Okunan absorbands)} / l \times \epsilon \text{ (} 1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}\text{)} = \text{nmol / mg protein}$

3.2.8. Verilerin değeriendirilmesi

Deneyler farklı zamanlarda dđrt tekrar şeklinde geręekleřtirildi. Elde edilen veriler SPSS 20.00 istatistik analiz programı kullanılarak değeriendirildi. İstatistiksel analizler için Student-Newman Keul's (SNK) testi uygulandı. Ortalamalar arasındaki fark 0.05 olasılık seviyesinde P değeriinden bđyđk olduğu zaman đnemli kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Emamektin Benzoatın *G. mellonella*'nın Toplam Protein Miktarına Etkileri

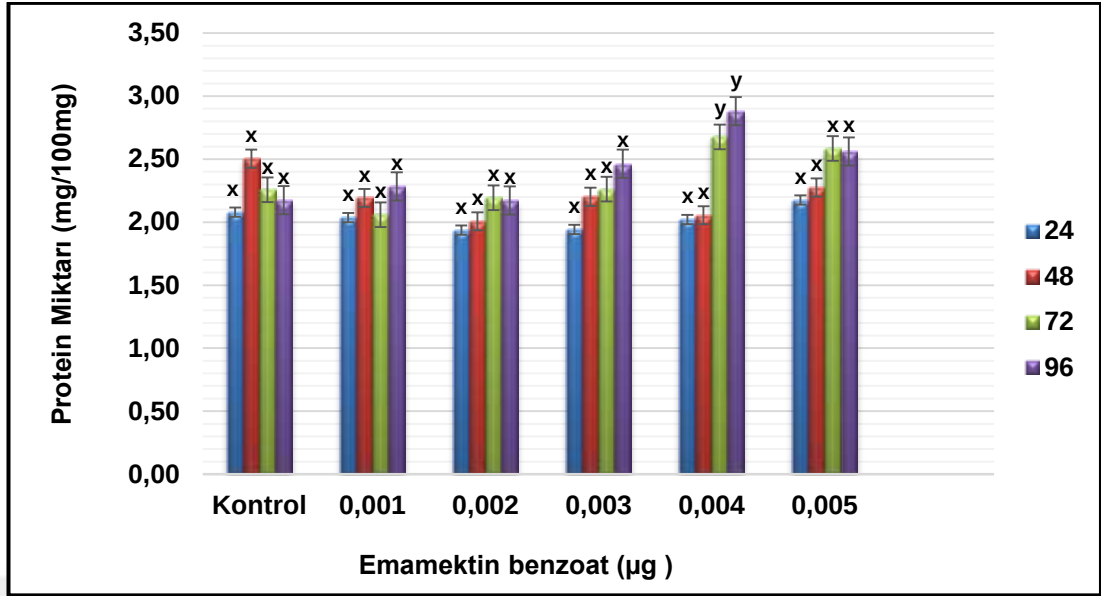
Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam protein miktarına etkileri Çizelge 4.1' de gösterilmiştir. *G. mellonella* larvalarına farklı konsantrasyonda EMB enjeksiyonu sonucu 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlarda protein miktarında insektisit konsantrasyonuna bağlı istatistiksel herhangi bir fark gözlenmemiştir.

Çizelge 4.1 Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam protein miktarına etkileri

Konsantrasyon	PROTEİN (mg/100mg)			
	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	2.080±0.301a	2.503±0.194a	2.256±0.172a	2.174±0.066a
0.001 µg	2.037±0.047a	2.192±0.177a	2.060±0.067a	2.284±0.274a
0.002 µg	1.936±0.072a	2.007±0.075a	2.194±0.244a	2.171±0.177a
0.003 µg	1.941±0.045a	2.202±0.182a	2.262±0.108a	2.463±0.152a
0.004 µg	2.020±0.069a	2.055±0.082a	2.677±0.065a	2.881±0.178a
0.005 µg	2.176±0.167a	2.275±0.107a	2.585±0.154a	2.560±0.107a

*: a, harfî ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı sütundaki aynı harfî içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ($P>0.05$)
(Ort±Std): Dört tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam protein miktarına zamana bağlı etkileri Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Kontrol grubu, 0.001 µg, 0.002 µg, 0.003 µg ve 0.005 µg EMB konsantrasyonlarında larvaların protein miktarlarında zamana bağlı olarak istatistiksel bir fark bulunamamakla birlikte, 0.004 µg EMB konsantrasyonunda 24 ve 48. saatlerde sırasıyla 2.020 mg/100mg ve 2.055 mg/100mg olan protein miktarları 72 ve 96. saatlerde önemli ölçüde artarak sırasıyla 2.677 mg/100mg ve 2.881 mg/100mg olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 4.1. EMB'nin *G. mellonella*'nın toplam protein miktarına zamana bağlı etkileri

4.2. Emeaktin Benzoatın *G. mellonella*'nın SOD Enzim Aktivitesine Etkileri

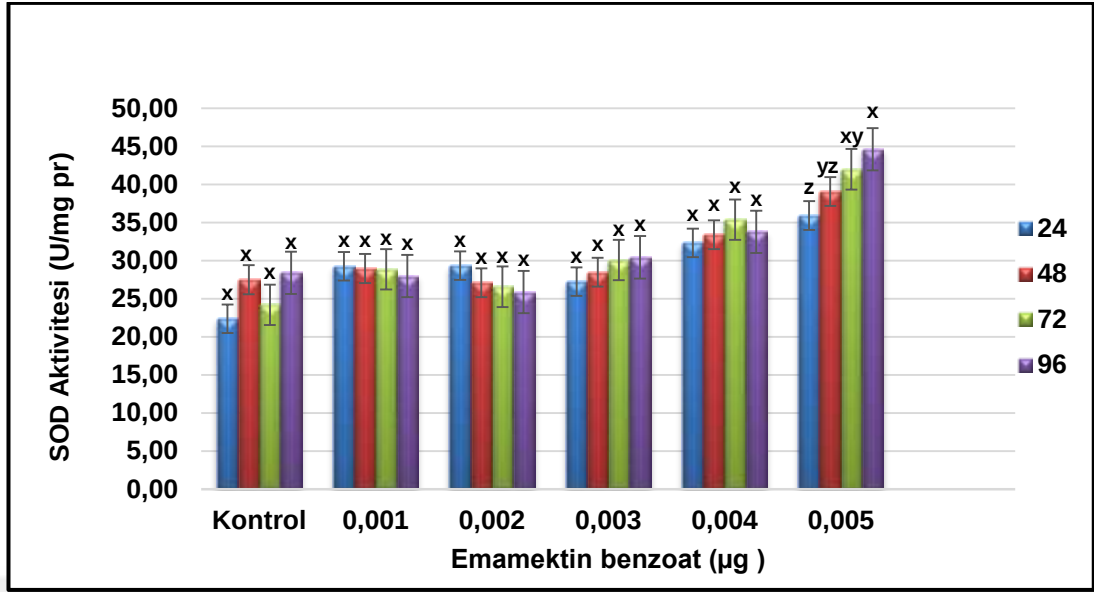
Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD aktivitesine etkileri Çizelge 4.2' de gösterilmiştir. Deney periyodunun 24. saatinde kontrol grubunda 26.36 U/mg pr. olan SOD aktivitesi yüksek konsantrasyonlar olan 0.004 µg ve 0.005 µg EMB konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre önemli ölçüde artarak 32.35 U/mg pr. ve 35.93 U/mg pr. değerlerine ulaşmıştır. EMB konsantrasyonlarının 0.001 µg, 0.002 µg ve 0.003 µg olması durumunda konsantrasyonlar arasında bir fark olmamakla birlikte bahsi 0.005 µg EMB konsantrasyonunda bahsi geçen konsantrasyonlara göre SOD aktivitesi artmıştır. 48 saatlik periyotta kontrol grubunda 27.50 U/mg pr. olan SOD aktivitesi yalnızca EMB konsantrasyonunun 0.005 µg olması durumunda kontrole ve 0.004 µg EMB dışındaki konsantrasyonlara göre önemli ölçüde artış göstermiştir. Deney periyodunun 72. saatinde 0.004 µg ve 0.005 EMB konsantrasyonlarında SOD aktivitesi sırayla 35.38 U/mg pr. ve 42.00 U/mg pr. olup kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlara göre önemli ölçüde artmıştır. 96. saatte kontrol grubuna göre (28.41 U/mg pr) istatistiksel olarak tek artış en yüksek EMB konsantrasyonunda (0,005 µg) ortaya çıkmış olup, bu değer (44.62 U/mg pr) diğer konsantrasyonlara göre de önemli ölçüde yüksektir.

Çizelge 4.2 Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD enzim aktivitesine etkileri

SOD Aktivitesi (U/mg protein)				
Konsantrasyon	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	26.36±2.13c	27.50±1.76b	24.20±1.38c	28.41±1.46bc
0.001 µg	29.27±0.70bc	28.97±1.92b	28.86±1.43c	27.99±2.52bc
0.002 µg	29.35±0.88bc	27.11±2.93b	26.58±0.99c	25.87±1.61c
0.003 µg	27.23±1.13bc	28.49±1.26b	30.07±1.67c	30.44±0.76bc
0.004 µg	32.35±1.22ab	33.41±2.03ab	35.38±2.18b	33.78±1.28b
0.005 µg	35.93±1.05a	39.07±0.530a	42.00±0.75a	44.62±1.90a

*: a,b ve c harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı satırdaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ($P>0.05$)
(Ort±Std): Dört tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri Şekil 4.2' de gösterilmiştir. Kontrol grubunda ve 0.001 µg, 0.002 µg, 0.003 ve 0.004 µg EMB konsantrasyonlarında SOD aktivitesinde zamana bağlı olarak önemli bir değişiklik gözlenmezken, en yüksek konsantrasyon olan 0.005 µg EMB' de 24. saatte 35.93 U/mg pr. olan SOD aktivitesi zaman bağlı olarak artış göstermiş ve sırasıyla 39.07 U/mg pr., 42.00 U/mg pr. ve 44.62 U/mg pr. değerlerine yükselmiştir. Fakat yalnız 72 ve 96. saatelerde gözlenen artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.



Şekil 4.2 EMB'nin *G. mellonella*'nın SOD enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri

4.3. Emamektin Benzoatın *G. mellonella*'nın CAT Enzim Aktivitesine Etkileri

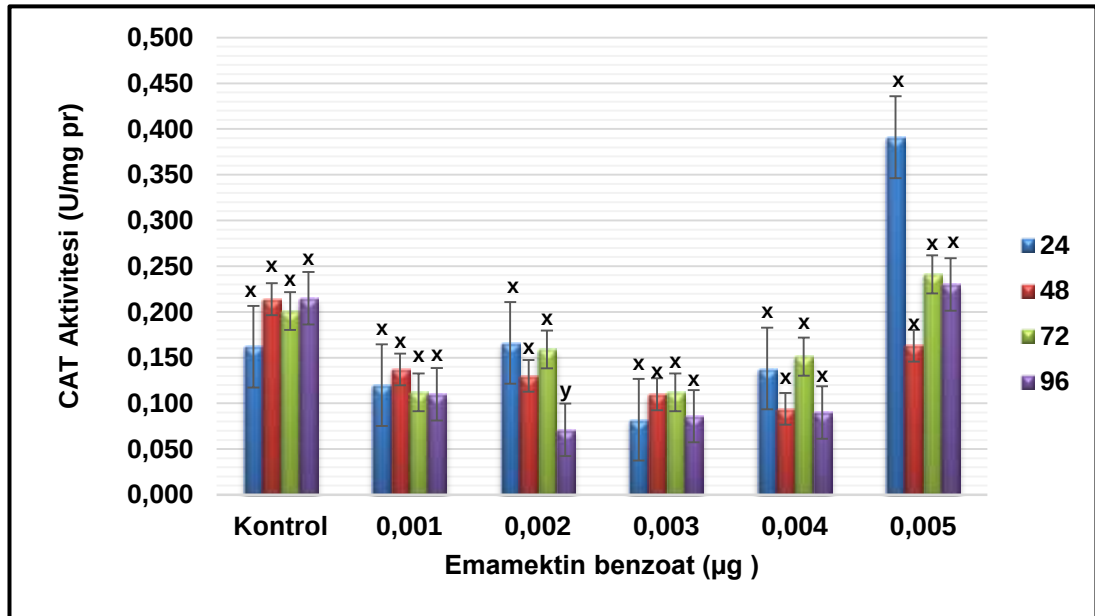
Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın CAT aktivitesine etkileri Çizelge 4.3' de gösterilmiştir. Yirmidördüncü saatte kontrol grubunda 0.162 U/mg pr. olan CAT aktivitesi EMB konsantrasyonlarına bağlı olarak önemli bir değişiklik göstermemiştir. Kırsekizinci saatte kontrol grubunda 0.214 U/mg pr. olan CAT aktivitesi tüm EMB konsantrasyonlarında önemli ölçüde azalmıştır. Yetmişiki ve 96. saatlerde ise kontrol grubunda sırasıyla 0.201 U/mg pr. ve 0.215 U/mg pr. olan CAT aktivitesi 0.005 µg EMB konsantrasyonu dışındaki dozlarda önemli ölçüde azalmış, en yüksek konsantrasyon olan 0.005 µg dozda ise tekrar kontrol seviyesine yükselerek sırasıyla 0.241 U/mg pr. ve 0.230 U/mg pr. olarak gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.3 Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın CAT enzim aktivitesine etkileri

CAT Aktivitesi (U/mg protein)				
Konsantrasyon	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	0.162±0.006a	0.214±0.008a	0.201±0.028ab	0.215±0.002a
0.001 µg	0.120±0.008a	0.137±0.003bc	0.112±0.005c	0.110±0.019b
0.002 µg	0.166±0.004a	0.130±0.025bc	0.159±0.019b	0.071±0.003b
0.003 µg	0.082±0.005a	0.110±0.007c	0.112±0.002c	0.086±0.009b
0.004 µg	0.138±0.008a	0.094±0.011c	0.151±0.003b	0.090±0.040b
0.005 µg	0.391±0.198a	0.163±0.002b	0.241±0.005a	0.230±0.008a

*: a,b ve c harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı satırdaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ($P>0.05$)
(Ort±Std): Dört tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın CAT enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri Şekil 4.3' de gösterilmiştir. 0.002 µg EMB konsantrasyonunda 96. saatte 24, 48 ve 72. saatlere göre CAT aktivitesinde önemli bir azalma gözlenmekle birlikte diğer EMB konsantrasyonları ve kontrol grubunda CAT aktivitesinde istatistiksel olarak zamana bağlı önemli bir değişiklik gözlenmemiştir.



Şekil 4.3 EMB'nin *G. mellonella*'nın CAT enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri

4.4. Emamektin Benzoatın *G. mellonella*'nın MDA Miktarına Etkileri

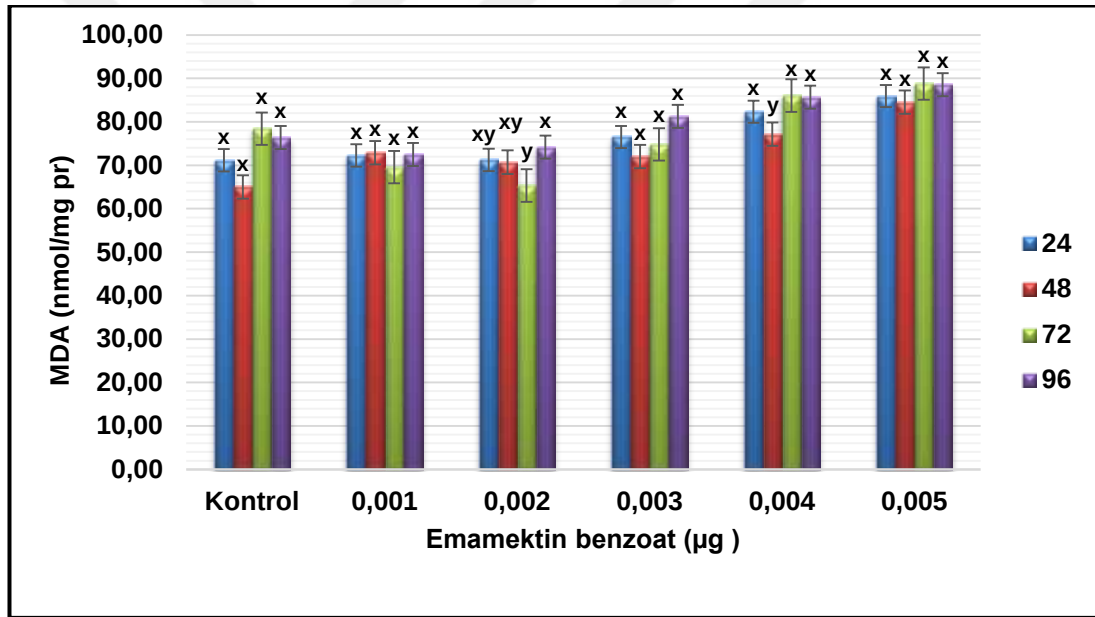
Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın MDA düzeyine etkileri Çizelge 4.4' de gösterilmiştir. Kontrol grubunda 24. saatte 71.18 nmol/mg pr. olan MDA miktarı 0.005 µg EMB konsantrasyonunda önemli ölçüde artarak 85.92 nmol/mg pr. olarak gerçekleşmiştir. Diğer EMB konsantrasyonlarında gözlenen MDA miktarındaki artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Deney periyodunun 48. saatinde ise MDA miktarı 0.004 µg ve 0.005 µg EMB konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre önemli ölçüde artmıştır. 72. saatte 0.001 µg ve 0.002 µg EMB konsantrasyonlarında MDA miktarı kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalırken 0.004 µg ve 0.005 µg EMB konsantrasyonlarında kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlara göre MDA miktarı önemli ölçüde artmıştır. 96. saatte kontrol grubunda 76.41 nmol/mg pr. olan MDA miktarı yine 0.001 µg ve 0.002 µg EMB konsantrasyonlarında azalmış, fakat bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. EMB konsantrasyonunun 0.003 µg, 0.004 µg ve 0.005 µg olması durumunda ise MDA miktarları kontrol ve diğer konsantrasyonlara göre önemli ölçüde artarak sırasıyla 81.231 nmol/mg pr., 85.70 nmol/mg pr. ve 88.56 nmol/mg pr. olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.4 Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın MDA miktarına etkileri

Konsantrasyon	MDA Miktarı (nmol/mg pr)			
	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	71.18±2.13b	65.03±5.51c	78.44±4.18b	76.41±2.49cd
0.001 µg	72.26±1.25b	72.90±1.13bc	69.59±0.80cd	72.46±1.26d
0.002 µg	71.23±1.81b	70.72±1.12bc	65.33±2.52d	74.15±0.94d
0.003 µg	76.51±5.81ab	72.00±0.18bc	74.82±2.24bc	81.23±0.96bc
0.004 µg	82.33±2.30ab	77.15±1.97ab	86.05±0.84a	85.69±2.54ab
0.005 µg	85.92±1.82a	84.56±1.90a	88.80±0.88a	88.56±0.77a

*: a, b, c ve d harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı satırdaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ($P>0.05$)
(Ort±Std): Dört tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*’nın MDA düzeyine zamana bağlı etkileri Şekil 4.4’ de gösterilmiştir. MDA düzeylerinde kontrol grubunda, 0.001 µg, 0.003 µg ve 0.005 µg EMB konsantrasyonlarında zamana bağlı olarak önemli bir değişiklik gözlenmezken, 0.002 µg EMB konsantrasyonunda 24. saatte 71.23 nmol/mg pr. olan MDA miktarı 48. saatte 70. 72 nmol/mg pr., 72. saatte 65.33 nmol/mg pr. ve 96. Saatte 74.15 nmol/mg pr. olarak ölçülmüştür. Baksi geçen konsantrasyonda zamana bağlı olarak MDA düzeylerindeki tek far 72 ve 96. saatler arasında gözlenmiştir. 0.004 µg EMB konsantrasyonunda istatistiksel olarak tek azalma 48. saatte ortaya çıkmıştır. Bu konsantrasyonda 24. saatte 82.33 nmol/mg pr olan MDA miktarı 48. saatte azalarak 84.56 nmol/mg pr. olmuş daha sonra artarak sırasıyla 72 ve 96. saattelerde ise 86.05 nmol/mg pr. ve 85.70 nmol/mg pr. olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 4.4 EMB’nin *G. mellonella*’nın MDA miktarına zamana bağlı etkileri

4.5. Emamektin Benzoatın *G. mellonella*’nın Toplam Lipit Miktarına Etkileri

Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*’nın lipid düzeyine etkileri Çizelge 4.5’ de gösterilmiştir. Lipit miktarlarında 24. saatte EMB konsantrasyonlarına bağlı olarak önemli bir değişiklik gözlenmezken, deney periyodunun diğer günlerinde kontrol grubuna göre önemli azalmalar gözlenmiştir. 48. ve 72. saatlerde kontrol grubunda sırasıyla 3.257 mg/100mg ve 3.743 mg/100mg olan lipit miktarı EMB konsantrasyonları

arasında istatistiksel olarak değişmemekle birlikte, kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalmıştır. 96. saatte ise kontrol grubunda 3.286 mg/100mg olan lipid miktarı tüm EMB konsantrasyonlarında önemli ölçüde azalmıştır. Bahsi geçen periyotta en yüksek konsantrasyon olan 0.005 µg EMB konsantrasyonunda ise Lipid miktarı diğer konsantrasyonlara göre de önemli ölçüde azalarak 1.220 mg/100mg pr olarak gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.5 Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam lipid miktarına etkileri

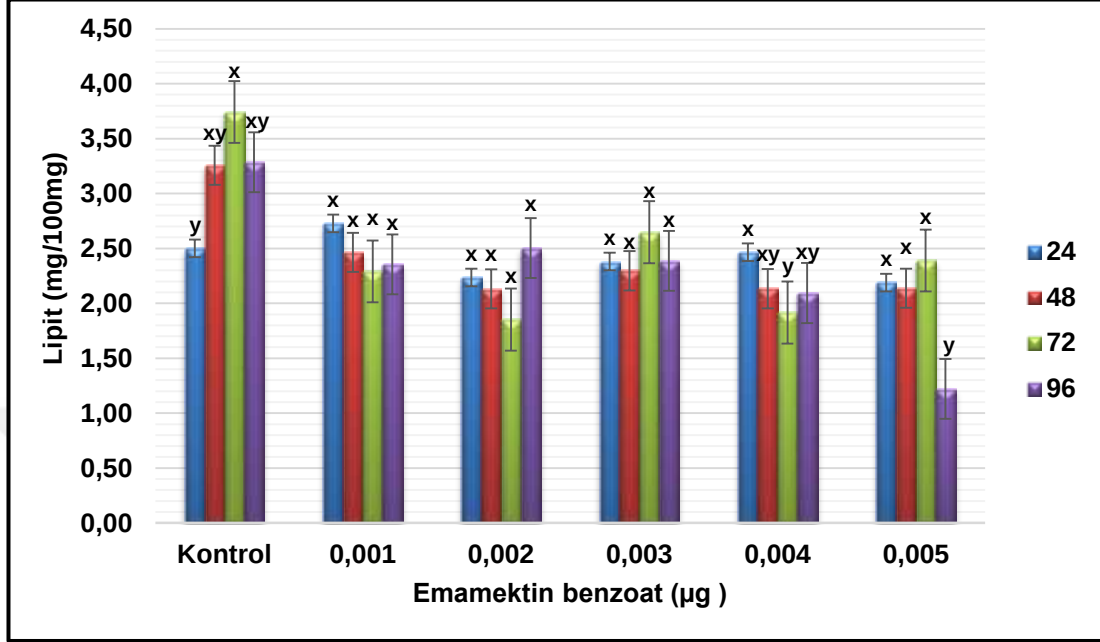
LİPİT (mg/100mg)				
Konsantrasyon	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	2.502±0.189a	3.257±0.068a	3.743±0.332a	3.286±0.132a
0.001 µg	2.729±0.155a	2.464±0.033b	2.291±0.040b	2.354±0.155b
0.002 µg	2.236±0.042a	2.132±0.022b	1.852±0.260b	2.504±0.153b
0.003 µg	2.380±0.121a	2.297±0.108b	2.648±0.259b	2.387±0.104b
0.004 µg	2.467±0.163a	2.133±0.072b	1.916±0.026b	2.094±0.094b
0.005 µg	2.189±0.299a	2.138±0.161b	2.390±0.250b	1.220±0.073c

*: a,b ve c, harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı satırdaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ($P>0.05$)

(Ort±Std): Dört tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın lipid miktarına zamana bağlı etkileri Şekil 4.5' de gösterilmiştir. Kontrol grubunda 24. saate göre 72. saatte lipid miktarında bir artış gözlenirken diğer günler arasında lipid miktarları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. EMB konsantrasyonlarının 0.001 µg, 0.002 µg ve 0.003 µg olması durumunda lipid miktarlarında zamana bağlı olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. 0.004 EMB konsantrasyonunda 24. saate göre 72. saatte lipid miktarında bir azalma gözlenirken diğer günler arasında lipid miktarları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. En yüksek konsantrasyon olan 0.005 µg EMB'de 24. saatte 2.189 mg/100mg olan lipid miktarı 48. ve 72. saatlerde önemli ölçüde değişmemiş ve sırasıyla 2.138 mg/100mg ve 2.390 mg/100mg olarak

gerçekleşmiştir. 96. saatte ise diğer günlere oranla önemli ölçüde azalarak 1.220 mg/100mg olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.5 EMB'nin *G. mellonella*'nın toplam lipit miktarına zamana bağlı etkileri

4.6. Emamektin Benzoatın *G. mellonella*'nın Toplam Karbohidrat Miktarına Etkileri

Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın karbohidrat düzeyine etkileri Çizelge 4.6' de gösterilmiştir. Yirmidördüncü saatte karbohidrat miktarlarında kontrol grubuna göre denenen EMB konsantrasyonlarında önemli bir değişiklik gözlenmezken, 0.004 µg EMB konsantrasyonunda 0.001 µg ve 0.003 µg EMB konsantrasyonlarına göre karbohidrat miktarı önemli ölçüde azalmıştır. Deney periyodunun 48. ve 72. saatlerinde kontrol grubunda sırasıyla 3.433 mg/100mg ve 2.897 mg/100mg olan karbohidrat miktarları denenen tüm EMB konsantrasyonlarında önemli ölçüde azalmıştır. Bahsi geçen günlerde EMB konsantrasyonları arasındaki karbohidrat miktarlarındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Deney periyodunun 96. saatinde kontrol grubunda 4.320 mg/100mg olan karbohidrat miktarı denenen tüm EMB konsantrasyonlarında önemli ölçüde azalmış ve sırasıyla 2.848 mg/100mg, 2.857 mg/100mg, 2.095 mg/100mg, 2.495 mg/100mg ve 2.328 mg/100mg olarak bulunmuştur. Bahsi geçen günde 0.003 µg ve 0.005 µg EMB konsantrasyonlarında

ölçülen karbohidrat miktarları 0.001 µg ve 0.002 µg EMB konsantrasyonlarından elde edilene verilere göre önemli ölçüde düşüktür.

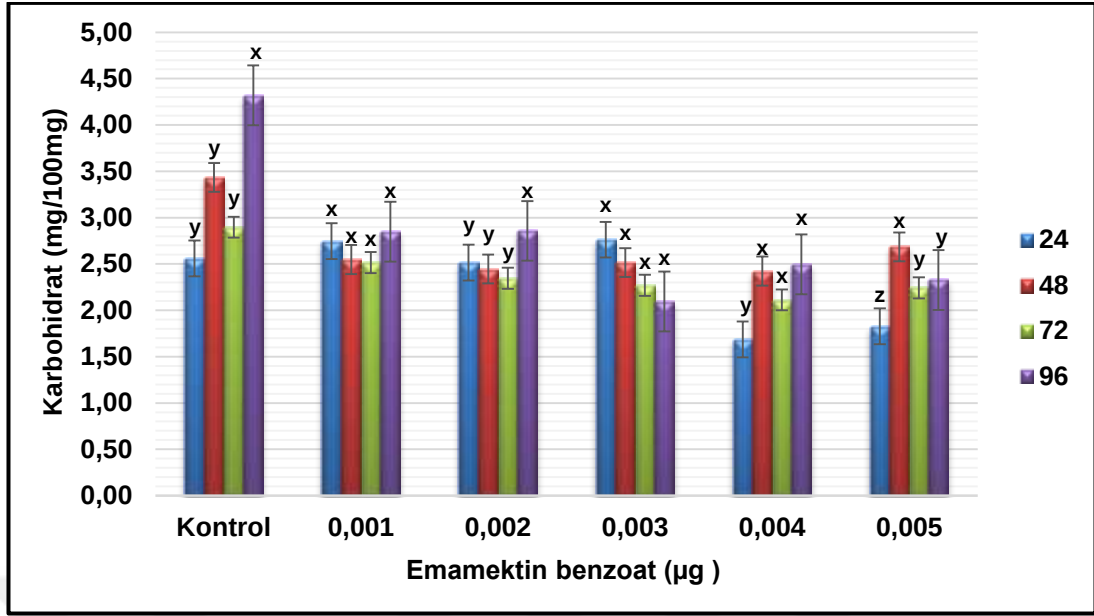
Çizelge 4.6 Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam karbohidrat miktarına etkileri

KARBOHİDRAT				
(mg/100mg)				
Konsantrasyon	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	2.560±0.342ab	3.433±0.213a	2.897±0.082a	4.320±0.158a
0.001 µg	2.747±0.082a	2.548±0.289b	2.514±0.025b	2.848±0.062b
0.002 µg	2.516±0.134ab	2.447±0.031b	2.347±0.070b	2.857±0.117b
0.003 µg	2.762±0.332a	2.516±0.195b	2.270±0.064b	2.095±0.047c
0.004 µg	1.686±0.106b	2.424±0.105b	2.313±0.077b	2.495±0.178bc
0.005 µg	1.827±0.071ab	2.685±0.079b	2.243±0.031b	2.328±0.063c

*: a,b ve c harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı satırdaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ($P>0.05$)

(Ort±Std): Dört tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı EMB konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın karbohidrat miktarına zamana bağlı etkileri Şekil 4.6' da gösterilmiştir. Kontrol grubunda ve 0.002 µg EMB konsantrasyonunda karbohidrat miktarı 24, 48 ve 72. saatler arasında istatistiksel olarak herhangi bir değişiklik göstermezken, 96. saatte diğer günlere oranla önemli ölçüde artarak sırasıyla 4.320 mg/100mg ve 2.857 mg/100mg olarak gerçekleşmiştir. 0.001 µg ve 0.003 µg EMB konsantrasyonlarında karbohidrat miktarlarında zamana bağlı olarak önemli bir değişiklik gözlenmezken, 0.004 µg EMB konsantrasyonunda 24. saatte 1.686 mg/100mg olan karbohidrat miktarı önemli ölçüde artarak sırasıyla 2.424 mg/100mg, 2.313 mg/100mg ve 2.495 mg/100mg olarak ölçülmüştür. Bahsi geçen konsantrasyonda 48., 72. ve 96. saatlerde elde edilen veriler arasında istatistiksel olarak fark bulunamamıştır. En yüksek konsantrasyon olan 0.005 µg EMB konsantrasyonunda ise kontrol grubunda 1.827 mg/100mg olan karbohidrat miktarı diğer günlerde önemli ölçüde artış göztermiştir. Bahsi geçen konsantrasyonda 48. saatte ölçülen karbohidrat miktarı 72. se 96. saatlerde ölçülen miktardan istatistiksel olarak fazladır.



Şekil 4.6 EMB'nin *G. mellonella*'nin toplam karbohidrat miktarına zamana bağlı etkileri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sunulan çalışmada EMB'nin subletal konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD ve CAT enzim aktiviteleri, MDA düzeyleri ile protein, lipid ve karbohidrat miktarları üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Canlılar yaşamları boyunca metabolizma ürünü olarak sürekli bir şekilde serbest radikal üretirler. Fakat bu oluşan serbest radikaller yine canlının kendisinin sahip olduğu savunma mekanizmaları tarafından ortadan kaldırıldığı için canlının yaşamı üzerine herhangi bir olumsuz etki göstermez. Canlının doğasına yabancı olan, besin amaçlı doğal bileşikler dışında çeşitli yollarla vücuda giren ve ksenobiyotik adı verilen maddeler, bu serbest radikallerin oluşumunda artışa, dolayısıyla serbest radikal ve antioksidan savunma sistemi dengesinin bozulmasına neden olarak oksidatif strese neden olmaktadır (Serafini ve Del Rio 2004).

Vücuda alınan ksenobiyotikler çeşitli enzimlerin (monooksijenaz (P450), glutatyon S-transferaz (GST) ve hidrolaz) etkisiyle biyotransformasyona uğrayarak yapıları değiştirilir (Tsagkarakou vd. 2009). Biyotransformasyonla ksenobiyotikler ya daha az etkin veya toksik bileşiklere dönüşür ki buna biyoinaktivasyon veya detoksikasyon denir, ya da daha toksik ve etkin hale gelir ki buna da biyoaktivasyon adı verilir (Vural, 2005).

Ksenobiyotikler ve bunların biyoaktivasyon ürünlerinin serbest radikal oluşumunu artırdığı ve hücrelerde oksidatif hasara neden olduğu bilinmektedir. Önemli bir ksenobiyotik grubu olan pestisitlerin toksik etkilerin belirteci olarak, serbest radikal oluşumunun önemli rol oynadığını gösterilmiştir (Mercan 2004).

Deneyssel olarak oluşturulan oksidatif stres sonucunda *Oxya chinensis* (Li vd. 2005), *Sitophilus granarius* (Bolter ve Chefurka 1990), *Musca domestica* (Zaman vd. 1994), *Spodoptera eridania* (Ahmad vd. 1995), *Oreochromis mossombicus* (Venkateswara Rao 2006) gibi canlılarda antioksidan enzim aktivitelerinin değiştiği gösterilmiştir.

Sunulan çalışmada *G. mellonella* larvalarında SOD aktivitesi, özellikle yüksek insektisit konsantrasyonlarına bağlı olarak önemli ölçüde artmıştır. Enzim aktivitesindeki bu artış, EMB'nin neden olduğu oksidatif stres koşullarında artan süperoksit radikallerinin temizlenebilmesi için SOD enzim aktivitesinde arttığı şeklinde

yorumlanabilir. Bu durum farklı insektisitlerin toksik etkileri sonucu *Spodoptera exigua* ve *Tenebrio molitor* (Adamski vd. 2003) ve *G. mellonella* (Buyukguzel 2009, Kayis vd. 2015) larvalarında da gösterilmiştir. Birçok çalışma pestisitlerin neden olduğu oksidatif stres durumunda SOD aktivitesindeki artışın temel reaksiyon olduğunu göstermiştir (Adamski vd. 2003, Buyukguzel 2009, Kayis vd. 2015)

Buna karşın düşük insektisit konsantrasyonlarında gözlenen SOD aktivitesindeki artış genel olarak kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Özellikle düşük konsantrasyonlar olan 0.001µg, 0.002µg ve 0.003 µg EMB konsantrasyonlarında önemli artışlar gerçekleşmemiştir. Böceklerde insektisitlere karşı direnç gelişimi önemli bir sorundur ve bu direncin gelişiminde özellikle asetilkolinesteraz ve karboksilesteraz gibi enzimler önemli rol oynamaktadır (Baffi vd. 2005). Elde edilen veriler pestisite karşı oluşan direncin bir sonucu düşük dozdaki EMB konsantrasyonlardan etkilenmediği şeklinde olarak yorumlanabileceği gibi, düşük konsantrasyonlardaki insektisitlerin zararlı etkileri enzimlerin bazal aktivitesi ile ortadan kaldırılabileceği şeklinde de yorumlanabilir (Mitchelmore vd. 1996).

Sunulan çalışmada elde edilen verilerin zamana bağlı olarak değerlendirilmesi sonucu SOD aktivitelerinin böceğin yüksek dozda EMB'ye maruz kalma süresine bağlı olarak bir artış gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Katalaz, SOD aktivitesi sonucu oluşan H_2O_2 'nin su ve moleküler oksijene indirgenmesini katalizleyerek hücreleri oksidatif hasarlara karşı koruyan bir enzimdir (Aebi 1984, Nordberg ve Arner 2001). CAT aktivitesini, H_2O_2 'nin hücresel konsantrasyonu belirler (Fornazier vd. 2002) ve enzimin K_m değerinin yüksek olması, düşük hücresel H_2O_2 konsantrasyonlarında etkinlik gösterememesine neden olur (Felton ve Duffey 1992, Ahmad 1992).

Çalışmamızda CAT aktivitesinin 24 saatlik periyotta kontrole göre değişmediği, 48 saatlik periyotta tüm konsantrasyonlarda azaldığı ve ilerleyen sürelerde ise en yüksek EMB dozu olan 0.005 µg dışındaki dozlarda azalma eğilimi gösterdiği görülmektedir. Bu durum EMB'ye maruz kalma süresiyle birlikte ele alındığında, düşük dozlarda EMB etkisiyle oluşan H_2O_2 'nin başka mekanizmalar tarafından ortadan kaldırılmış olabileceği fikrini uyandırmaktadır. Felton ve Summers (1995), özellikle Lepidopter türlerinde düşük düzeydeki H_2O_2 'nin ortadan kaldırılmasında CAT'dan önce dehidro askorbik asit redüktaz (DHAR) ve askorbat peroksidaz (APOX) gibi enzimlerin önemli

rol oynadığını belirtmişlerdir. Bunun yanında süperoksit radikalının de CAT aktivitesini inhibe edebileceği belirtilmiştir (Kono ve Fridovich 1982). Elde edilen verilerdeki CAT aktivitesindeki değişiklikler yukarıda bahsedilen nedenlerden biri tarafından kaynaklanmış olabilir. Fakat şüphesiz ki, bu konuda kesin bir yargıya varabilmemiz için CAT, DHAR ve APOX enzimlerinin birlikte çalışıldığı bir çalışmaya gereksinim vardır.

Sunulan çalışmada EMB maruziyet süresinin arttığı 72 ve 96. saatlerde en yüksek konsatrasyon olan 0.005 µg EMB konsatrasyonunda, CAT aktivitesinin diğer konsatrasyonlara göre artarak kontrol seviyesinde gözlenmesi aşırı miktarda artan H₂O₂'nin elemine edilmesine yönelik bir düzenleme ile CAT enzim aktivitesindeki bir artış şeklinde yorumlanabilir. Farklı insektisitlere maruz bırakılan böceklerde benzer sonuçlar bulunmuştur. Aslantürk vd. (2011) methidation uyguladıkları *L. dispar* larvalarında, Kayis vd. (2015) DDVP'ye maruz bırakılmış *G. mellonella* larvalarında ve Bamidele vd. (2013) ise *Rynchophorous phoenicis*'de CAT aktivitesinin benzer şekilde arttığını göstermişlerdir.

Malondialdehid (MDA) çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun bir ürünü olup, MDA seviyesindeki artış böceklerde lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak önemli bir parametredir (Büyükgüzel 2006, Emre vd. 2013, Kayis vd. 2015). Yapılan çalışmalarda *G. mellonella*'da DDVP maruziyeti sonucunda (Kayis vd. 2015) ve metil parathion ve malathion uygulanmasından sonra (Icen vd. 2005, Buyukguzel 2009) MDA seviyesinde önemli artışlar gözlemlendiği belirlenmiştir. Çalışmamızda özellikle yüksek EMB konsatrasyonlarında elde edilen MDA seviyelerindeki artış daha önce yapılan çalışmalarla önemli ölçüde paralellik göstermektedir.

Serbest radikallerin hücrede proteinler, lipitler, karbonhidratlar üzerine önemli etkileri olduğu bilinmektedir (Damien vd. 2004, Song 2004). Sipermetrin uygulanmış *Pimpla turionellae* (Sak vd. 2006) ve fenitrothion ve ethion uygulanmış *B. mori*'de (Nath vd 1997) protein miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Ribeiro vd. (2001), böceklerde protein miktarların pestisitlerin yol açtığı oksidatif stres altında, fizyolojik bir adaptasyon sonucu protein katabolizmasının uyarılması nedeni ile azaldığını belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada EMB *G. mellonella*'nın protein miktarında doza bağlı bazı değişikliklere neden olmuşsa da bu etkileri önemli bulunmamıştır.

Karbohidratlar böceklerde başlıca enerji kaynağı olması nedeniyle son derece önemlidir (Lee vd. 2004, Chen ve Fadamiro 2006). Sunulan çalışmada artan EMB

konsatrasyona ve uygulama süresine bağı olarak *G. mellonella*'da karbohidrat miktarının önemli ölçüde azaldığı görülmektedir. Bu durum spiromesifen uygulanmış *Drosophila melanogaster*' de azalan karbohidrat miktarıyla (Kissoum ve Soltani 2016), *Culex pipiens*'te lambda-cyhalothrin ve lufenuron maruziyeti sonucu önemli ölçüde azalan total karbohidrat miktarıyla (Shaurub ve El-Aziz 2015) paralellik göstermektedir. Nath (2003), *B. mori*'de organofosforlu insektisit uygulamasıyla glikojen miktarının önemli ölçüde azaldığını gösterilmiştir ve bu durumun insektisit toksisitesi nedeniyle artan enerji ihtiyacına bağı olarak artan fosforilaz ve trehalaz aktivitesi sonucu gerçekleştiğini öne sürmüştür. Çalışmamızda gözlenen karbohidrat miktarındaki azalma EMB' nin neden olduğu toksik stress sonucu artan enerji ihtiyacının karşılanması için böceğin karbohidratları önemli ölçüde kullandığını fikrini uyandırmaktadır.

Lipidler birçok böcek türünde eşeyssel olgunluğa ulaşma ve yumurta üretimi için elzemdir (Vanderzant ve Richardson 1964, Candy ve Kilby 1975). Böcekler gereksinim duydukları bu lipid bileşenlerini doğrudan besinden sağlayabildikleri gibi vücutta depo edilmiş protein ve karbohidratlardan da sentezleyebilirler (Werren 1987). Sunulan çalışmada gözlenen lipid miktarındaki azalma Cypermetrin uygulanmış *P. turionellae* bireylerinde de gözlemlenmiştir (Sak vd. 2006). Benzer şekilde piriproksifen uygulamasından sonra *B. mori* larvalarında (Etebari vd. 2007), *Eurygaster integriceps* nimflerinde (Zibae vd. 2011) ve *Schistocerca gregaria*'da lipid miktarlarının önemli ölçüde azaldığı sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Sak vd. (2006) lipid miktarındaki bu azalmanın insektisit uygulaması sonucu enerji metabolizmasında meydana gelen değişikliklerden kaynaklandığı belirtilmiştir.

İnsektisitlerin de dâhil olduğu birçok toksik maddenin organizmaya alınımını takiben derhal detoksifikasyon mekanizmaları devreye girerek, toksik maddenin biyotransformasyonu ile zararının engellenmesi gereklidir. Biyotransformasyonda rol oynayan detoksifikasyon enzimleri ve ısı şok proteinlerinin üretilmesi ve toksik maddelerin aktif olarak vücuttan atılması işlemleri ciddi şekilde enerjiye bağımlı olaylardır (Maryanski vd. 2002). Sunulan çalışmada böceğin toplam karbohidrat ve lipid miktarlarındaki azalmanın toksik stres etmeni olan EMB'nin detoksifiye edilmesi için artan enerji ihtiyacının karşılanmasında kullanıldığı sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak EMB *G. mellonella*'da toksik etki oluşturarak antioksidan enzim aktivitelerinde değişikliğe neden olmuştur. Lipid peroksidasyonunun önemli bir

göstergesi olan MDA düzeylerindeki artış göz önüne alındığında EMB'nin *G. mellonella* larvalarında oksidatif hasarlara neden olarak membran lipidlerine zarar verdiği belirlenmiştir. Ayrıca böceğin enerji metabolizması üzerine etki ederek özellikle karbohidrat ve lipidlerin sentezini ve kullanımını önemli ölçüde etkilemiştir.



KAYNAKLAR

- Abd El-Aziz, N.M., (2015). Detoxification system in *Spodoptera littoralis* against Abamectin. International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, 4(6): 4219-4228.
- Abd El-aziz, N.M and Fahmy, N.M., (2015). Influence of Abamectin on some inorganic ions in the hemolymph of the Cotton Leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.), Egyptian Journal of Biological Pest Control, 25(2): 421-426.
- Abdel-Hafez, H.F. and Osman, H.H., (2013). Effects of pyridalyl and emamectin benzoate on some biological and biochemical parameters of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and Albino rat, Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, 6(3): 59-68.
- Adamski, Z., Ziemnicki, K., Fila, K., Zikic, R., and Stajn, A., (2003). Effects of long-term exposure to Fenitrothion on *Spodoptera exigua* and *Tenebrio molitor* larval development and antioxidant enzyme activity, Biology Letters, 40: 43-52.
- Aebi, H., (1984). Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology, 121-126.
- Ahmad, S. (1992). Biochemical defenses of prooxidant plant allelochemicals by herbivorous insects, Biochemical Systematics and Ecology, 20: 269-296.
- Ahmad, S., Zaman, K., Macgill, R.S., Batcabe, J.P., and Pardini, R.S., (1995). Dichlone-induced oxidative stress in a model insect species, *Spodoptera eridania*, Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 29(4): 442-448.
- Akkuş, I., (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, 38, Kuzucular Ofset, Konya-Türkiye.
- Al-Barty, A.M.F., (2014). Laboratory evaluation of superoxide dismutase (SOD) of methylamine avermectin control of the rice red weevil (*Sitophilus oryzae* L.) in stored wheat grains, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 6(4): 979-983.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M., (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging, Proceedings of the National Academy of Sciences, 90(17): 7915-7922.

- Aslantürk, A., Kalender, S., Uzunhisarcikli, M., and Kalender, Y., (2011). Effects of methidathion on antioxidant enzyme activities and malondialdehyde level in midgut tissues of *Lymantria dispar* (Lepidoptera) larvae, Journal of Entomological Research Society, 13: 27–38.
- Aydın, A., Sayal, A. ve Işimer, A., (2001). Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayn Kitapı.
- Badr El-Sabah, A.F., Amani, S.K., and Hoda, A.F., (2009). Toxicological and biochemical effects of two biopesticides on the peach fruit fly *Bactrocera zonata* Saunders (Diptera: Tephritidae), Egyptian Journal of Biological Pest Control, 19: 73–79.
- Baillie, J.E.M., Hilton-Taylor, C. and Stuart, S.N., (2004). 2004 IUCN red list of threatened species. A Global Species Assessment. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Baffi, M.A., Pereira, C.D., Souza, G.R.L., Bonetti, A.M., Ceron, C.R., and Gournalart, L.R., (2005). Esterase profile in a pyrethroid-resistant Brazilian strain of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae), Genetics and Molecular Biology, 28: 749-753.
- Bamidele, O., Ajele, J., Kolawole, A., and Oluwafemi, A., (2013). Changes in the tissue antioxidant enzyme activities of palm weevil (*Rynchophorus phoenicis*) larva by the action of 2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphite, African Journal of Biochemistry Research, 7: 128–137.
- Banville, N., Browne, N., and Kavanagh, K. (2012). Effect of nutrient deprivation on the susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to infection, Virulence, 3(6): 497-503.
- Bar-Or, D., Rael, L.T., Lau, E.P., Rao, N.K.R., Thomas, G.W., Winkler, J.V., Yukl, R.L., Kingston, R.G., and Curtis, C.G., (2001). An analog of the human albumin N-terminus (Asp-Ala -His- Lys) prevents formation of copper induced reactive oxygen species, Biochemical and Biophysical Research Communications, 284: 856–862.
- Barrera-Urzúa, R., Bujanos-Muñiz, R., RodríguezMaciel, J.C., Mora-Aguilera, G. and MartínezTéllez, M.A., (2006). Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de

- Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) del estado de Guanajuato (México), *Agrociencia*, 40: 355–362.
- Baskin, S.I., and Salem, H., (1997). Oxidants, antioxidants, and free radicals. Washington DC: Taylor and Francis, 79-120.
- Blokhina, O., Virolainen, E., and Fagerstedt, K.V., (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A Review, *Annals of Botany*, 91: 179–194.
- Bolter, C.J. and Chefurka, W., (1990). The effect of phosphine treatment on superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in the Granary Weevil, *Sitophilus granaries*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 36 (1): 52-60.
- Bronskill, J.K., (1961). A cage to simplify the rearing of greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae), *Journal of the Lepidopterists' Society*, 15(2): 102-104.
- Buyukguzel, E., (2009). Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion, *Journal of Economic Entomology*, 102(1): 152–159.
- Buyukguzel, K., (2006). Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp: Effect on adult emergence, longevity and oxidative and antioxidative response of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Journal of Economic Entomology*, 99: 1225– 1234.
- Candy, D.J. and Kilby, B.A., (1975). *Insect biochemistry and function*, Chapman and Hall, London. 307 pp.
- Cereser, C., Guichard, J., Draï, J., Bannier, E., Garcia, I., Boget, S., Parvaz, P. And Revol, A., (2001). Quantitation of reduced and total glutathione at the femtomole level by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: Application to red blood cells and cultured fibroblasts, *Journal of Chromatograph, B*, 752: 123- 132.
- Cheeseman, K.H., and Slater, T.F., (1993). An introduction to free radical biochemistry, *British Medical Bulletin*, 49(3): 481-93.
- Chen, L., and Fadamiro, H.Y., (2006). Comparing the effects of five naturally occurring monosaccharide and oligosaccharide sugars on longevity and carbohydrate nutrient levels of a parasitic phorid fly, *Pseudacteon tricuspidis*, *Physiological Entomology*, 31: 46-56.

- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Li, A.M.Y., Richardson, B.J. and Lam, P.K.S., (2001). Relationship between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicology*, 52: 189-203.
- Chouraddi, M., Madhumathi, T., Rajashekar, P. and Srinivasa-Rao, V., (2009). Studies on the relative toxicity of certain insecticides to spotted pod borer, *Maruca vitrata* (Geyer) (Pyralidae: Lepidoptera), *Journal of Plant Protection and Environment*, 6: 13–20.
- Chow, C.K., (1991). Vitamin E and oxidative stress, *Free Radical Biology and Medicine*, 11(2): 215-232.
- Cnubben, N.H.P., Rietjens, I.M.C.M., Wortelboer, H., Van-Zanden, J. and Van Bladeren, P.J., (2001). The interplay of glutathione related processes in antioxidant defense, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10: 141-152.
- Çakir, Ş. ve Yamanel, Ş., (2005). Böceklerde insektisidlere direnç. *Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi. Cilt 6 Sayı. 1* 21-29.
- Damien, C., Chantal, V.H., Pirouz, S., Zerimech, F.H., Laurence, J. and Jean, M.H., (2004). Cellular impact of metal trace elements in Terricolous lichen *Diploschistes muscorum* (Scop.) R. Sant.–identification of oxidative stress biomarkers, *Water, Air, and Soil Pollution*, 152: 55–69.
- Deaton, C.M., and Marlin, D.J., (2003). Exercise-associated oxidative stress, *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2(3): 278-291.
- Deshmukh, S.G., Sureja, B.V., Jethva, D.M., and Chatar, V.P., (2010). Field efficacy of different insecticides against *Helicoverpa armigera* (Hübner) infesting chickpea, *Legume Research*, 33: 269–273
- Dettbarn, W.D., Milatovic, D. and Gupta, R.C., (2006). Oxidative stress in anticholinesterase-induced excitotoxicity. In: R.C. Gupta, Editor, *Toxicology of Organophosphate and Carbamate Compounds*, Academic Press/Elsevier, Amsterdam, 511–532.
- Dhawan, A.K., Saini, S., Sigh, K., and Mohindru, B., (2008). Toxicity of some new insecticides against *Phenacoccus solenopsis* (Tinsley) (Hemiptera: Pseudococcidae) on cotton, *Journal of Insect Science* 21: 103–105.

- Dickinson, D.A. and Forman, H.J., (2002). Cellular glutathione and thiols metabolism, *Biochemical Pharmacology*, 64: 1019-1026.
- Dubovskiy, I.M., Martemyanov, V.V., Vorontsova, Y.L., Rantala, M.J., Gryzanova, E.V., and Glupov, V.V., (2008). Effect of bacterial infection on antioxidant activity and lipid peroxidation in the midgut of *Galleria mellonella* L. Larvae (Lepidoptera, Pyralidae), *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 148: 1-5.
- El- Sheikh E.A., and Galal, A.A., (2015). Toxic effects of sub-chronic exposure of male albino rats to emamectin benzoate and possible ameliorative role of *Foeniculum vulgare* essential oil, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39(3): 1177–1188.
- Emre, I., Kayis, T., Coskun, M., Dursun, O., and Cogun, H.Y., (2013). Changes in antioxidative enzyme activity, glycogen, lipid, protein, and malondialdehyde content in cadmium-treated *Galleria mellonella* larvae, *Annals of the Entomological Society of America*, 106(3): 371-377
- Erenel, G., Erbaş, D. ve Arıcıoğlu, A., (1992). Serbest radikaller ve antioksidan sistemler, *Gazi üniversitesi Tıp fakültesi Dergisi*, 3: 243-250.
- Etebari, K., Bizhannia, A.R., Sorati, R., and Matindoost, L., (2007). Biochemical changes in haemolymph of Silkworm larva due to pyriproxyfen residue, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88: 14-19.
- Felton, G.W. and Duffey, S.S., (1992). Ascorbate oxidation reduction in *Helicoverpa zae* as a scavenging system against dietary oxidants. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 19: 27-37.
- Felton, G.W., and Summers, C.B., (1995). Antioxidant system in insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 29: 187-197.
- Firake, D.M., and Pande, R., (2009). Relative toxicity of Proclaim 5% SG (Emamectin benzoate) and Dipel 8L (*Bacillus thuringiensis* var. kurstaki) against *Spodoptera litura* (Fab.) by leaf roll method, *Current Biotica* 3: 445–449.
- Fornazier, R.F., Ferreira, R.R., Pereira, G.J.G., Molina, S.M.G., Smith, R.J., Lea, P.J., and Azevedo, R.A., (2002). Cadmium stress in sugar cane callus cultures: Effect on Antioxidant Enzymes, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 71: 125-131.

- Fridovich, I., (2001). Oxidative Stress. Encyclopedia of life sciences, Nature Publishing Group, www.els.com, 1-5.
- Glantzounis, G., Tsimoyiannis, E., Kappas, A., and Galaris, D., (2005), Uric acid and oxidative stress, Current Pharmaceutical Design, 11: 4145–4151.
- Guerrero, J.M., Reiter, R.J., Ortiz, G.G., Pablos, M.I., Sewerynek, E., and Chuang, J.I., (1997). Melatonin prevents increases in neural nitric oxide and cyclic GMP production after transient brain ischemia and reperfusion in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*), Journal of Pineal Research, 23: 24–31
- Gutteridge, J.M., (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, Clinical Chemistry, 41: 1819-1828.
- Güler, Ç., ve Çobanoğlu, Z., (1997). Pestisitler, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52, Ankara.
- Gümrükçüoğlu, A. Serbest radikaller, Erişim: [genetikbilimi.com/serbest radikaller](http://genetikbilimi.com/serbest-radikaller). 20.05.2017.
- Halliwell, B., (1994). Free radicals and antioxidants: A personal view, Nutrition Reviews, 52: 253-265.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease, Biochemical Journal, 219: 1-14.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. Methods in Enzymology, 280, 1-85.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C., (1999). Free radicals in biology and medicine. Third edition, Oxford University Press, Inc., New York, 936s.
- Hamza, R. Z., Al-Barty, A. M. F., and Rashwan, R. S., (2014). Evaluation of toxic effect of methylamine avermectin on malondialdehyde activity in the rice red weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) in stored rice grains. Biosciences Biotechnology Research ASIA, 11(1): 295-299.
- Haynes, K.F., (1988). Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior, Annual Review of Entomology, 33: 149-168.
- Hermes-Lima, M., and Zenteno-Savin, T., (2002). Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress, Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 133: 537–556.

- Hermes-Lima, M., Storey, J.M., and Storey, K.B., (2001). Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress. In: Storey K.B., Storey J.M. (Eds), Cell and Molecular Responses to Stress,. Elsevier Press, Amsterdam, pp. 263-287.
- Icen, E., Armutcu, F., Buyukguzel, K., and Gurel, A., (2005). Biochemical stress indicators of Greater Wax Moth exposure to organophosphorus insecticides, Journal of Economic Entomology, 98, 358–366.
- Inoue, K., Yoshimi, Y., Hino, T., and Oka, H., (2010). LC/ESI-MS/MS method for the simultaneous determination of macrocyclic lactone parasitocides in livestock products and fish, Journal of Food Hygiene Society Japan, 51: 1–9.
- Ishaaya, I., (2000). Biochemical stress of insecticide action and resistance, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 342p.
- Ishaaya, I., Barazani, A., and Horowitz, A.R., (2002). Emamectin, a novel insecticide for controlling field crop pests, Pest Management Science, 58: 1091–1095.
- Junqueira, J.C., (2012). *Galleria mellonella* as a model host for human pathogens: recent studies and new perspectives, Virulence, 3(6): 474-476.
- Kavanagh, K., and Fallon, J.P., (2010). *Galleria mellonella* larvae as models for studying fungal virulence, Fungal Biology Reviews, 24: 79-83.
- Kavas, G.Ö., (1989). Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. Türkiye Klinikleri, 9: 1-8.
- Kayış, T., (2010). Diazinonun subletal konsantrasyonlarının *Pimpla turionellae* L.'nin eşey oranı ve bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. sf. 101.
- Kayis, T., Coskun, M., Dursun, O., and Emre, I., (2015). Alterations in antioxidant enzyme activity, lipid peroxidation and ion balance induced by dichlorvos in *Galleria mellonella* L. Annals of the Entomological Society of America, 108(4): 570-574.
- Kissoum, N., and Soltani, N., (2016). Spiromesifen, an insecticide inhibitor of lipid synthesis, affects the amounts of carbohydrates, glycogen and the activity of lactate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*, Journal of Entomology and Zoology Studies, 4(1): 452-456.

- Kono, Y., and Fridovich, I., (1982). Superoxide radical inhibits catalase, *Journal of Biological Chemistry*, 257: 5751-5753.
- Kurt, D., and Kayis, T., (2015). Effects of the pyrethroid insecticide deltamethrin on the hemocytes of *Galleria mellonella*, *Turkish Journal of Zoology*, 39: 452-457.
- Lee, J.C., Heimpel, G.E., and Leibee, G.L., (2004). Comparing floral nectar and aphid honeydew diets on the longevity and nutrient levels of a parasitoid wasp, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 111: 189-199.
- Li, L., Lui, X., Guo, Y., and Ma, E., (2005). Activity of the enzymes of the antioxidative system in cadmium-treated *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acridoidae), *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20: 412-416.
- Lopez, J.A., Amor, F., Bengochea, P., Medina, P., Budia, F., and Viñuela, E., (2011). Short communication. Toxicity of emamectin benzoate to adults of *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Heteroptera: Miridae), *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) (Heteroptera: Miridae) and *Diglyphus isaea* Walker (Hymenoptera: Eulophidae) on tomato plants. semi-field studies, *Spanish Journal of Agricultural Research*, 9: 617–622.
- Loriatti, C., Anfora, G., Angeli, G., Civolani, S., Schmidt, S., and Pasqualini, E., (2009). Toxicity of emamectin benzoate to *Cydia pomonella* (L.) and *Cydia molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae): laboratory and field tests, *Pest Management Science*, 65: 306–312.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J., (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265–75.
- Lunec, J., and Blake, D., (1990). Oxygen free radicals: Their relevance to disease Processes. In: Cohen R.D., Lewis, B., Albert, K.G.M.M. *The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease*. Balliere Tindall, London, 189-212.
- Marnett, L.J., (2000). Oxyradicals and DNA Damage, *Carcinogenesis*, 21: 361-370.
- Maryanski, M., Kramarz, P., Laskowski, R., and Niklinska, M., (2002). Decreased energetic reserves, morphological changes and accumulation of metals in Carabid Beetles (*Poecilus cupreus* L .) exposed to zinc- or cadmium contaminated food, *Ecotoxicology*, 11: 127–139.

- Mates, J.M., (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology, *Toxicology*, 153: 83-104.
- Mates, J.M., Perez-Gomez, C., and Nunez De Castro, I., (1999). Antioxidant enzymes and human diseases, *Clinical Biochemistry*, 32: 595-603.
- Mccord, J.M., and Fridovich, I., (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erithrocuprein (Hemocuprein), *Journal of Biological Chemistry*, 244: 6049-6055.
- Mercan, U., (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15(1-2): 91-96.
- Milatovic, D., Gupta, R.C., and Aschner, M., (2006). Anticholinesterase toxicity and oxidative stress, *Scientific World Journal*, 6: 295-310.
- Mitchelmore, C.L., Chipman, J.K., Carcia-Martinez, P., Lemaire, P., Peters, L.D., and Livingstone, D.R., (1996). Normal status of hepatic 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity, antioxidant enzymes and DNA oxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) and other flatfish species following Exposure to nitroaromatic compounds, *Marine Environmental Research*, 42(1-4): 329-333.
- Mohammad, A., Akram, R., Shahin, S., Shekoufeh, N., and Ali, R., (2004). Pesticides and oxidative stress: A review, *Medical Science Monitor*, 10(6): 141-147.
- Moslen, M.T., (1994). Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis: In free radicals in diagnostic medicine. A systems approach to laboratory technology, *Clinical Correlations, and Antioxidant Therapy*, Amstrong, D. (ed.), pp. 17-27. Plenum Pres, New York.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., and Radwell, V.W., (1993). Harper'in Biyokimyası. Çevirenler: Prof. Dr. Gülriz Menten, Prof.Dr. Biltan Ersöz. Barış Kitabevi.
- Mytilineou, C., Kramer, B.C., and Yabut, J.A., (2002). Glutathione depletion and oxidative stress, *Parkinsonism and Related Disorders*, 8: 385-387.
- Nath, S.B., (2000). Changes in carbohydrate metabolism in hemolymph and fat body of the Silkworm *Bombyx mori* L., Exposed to organophosphorus insecticides, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 68: 127-137.
- Nath, S.B., (2003). Shifts in glycogen metabolism in hemolymph and fat body of the Silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) in response to

- organophosphorus insecticides toxicity, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 74: 73-84.
- Nath, S.B., Suresh, A., Mahendra Varma, B., and Kumar, R.P., (1997). Changes in protein metabolism in haemolymph and fat Body of the Silk Worm, *Bombyx mori* L., in response to organophosphorous insecticides toxicity, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 36: 169-173.
- Netto, L.E.S., Kowaltowski, A.J., Castilho, R.F. and Vercesi, A.E., (2002). Thiol enzymes protecting mitochondria against oxidative damage. *Methods in Enzymology*, 348: 260-270.
- Nordberg, J., and Arnér, E.S.J., (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31: 1287–1312.
- Oruc Ozcan, E., Sevgiler, Y., and Uner, N., (2004). Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 137: 43-51.
- Ozkan, A. and Fiskin, K., (2004). Free radicals, carcinogenesis and antioxidant enzymes. *Turkish Journal of Hematology and Oncology*, 14: 52-60.
- Packer, L., Weber, S.U., and Rimbach, G., (2001). Molecular aspects of Alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signalling, *Journal of Nutrition*, 31: 369-373.
- Parmar, M.S., (2009). Uric acid and cardiovascular risk, *New England Journal of Medicine*, 360: 539.
- Reiter, R.J., Paredes, S.D., Manchester, L.C., and Tan, D.X., (2009). Reducing oxidative/nitrosative stress: A newly-discovered genre for melatonin, *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 44 (4); 175–200.
- Reiter, R.J., Tan, D.X., Terron, M.P., Flores, L.J., and Czarnocki, Z., (2007). Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions, *Acta Biochimica Polonica*, 54: 1-9.
- Ribeiro, S., Sousa, J.P., Nogueira, A.J.A., and Soares, A.M.V.M., (2001). Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the terrestrial isopod *Porcellio dilatatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49: 131- 138.

- Rigo, A., Stevanato, R., Finazzi-Agro, A., and Rotilio, G., (1977). An attempt to evaluate the rate of the Haber-Weiss reaction by using OH radical scavengers, *FEBS Letters*, 80: 130-132.
- Ritter, W., Perschil, F., and Vogel, R., (1992). Comparision of the effect of various methods for the control of wax moths. *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 26 (1): 11-13.
- Roche, M., Rondeau, P., Singh, N.R., Tarnus, E., and Bourdon, E., (2008). The antioxidant properties of serum albümin, *FEBS Letters*, 582(13): 1783-1787.
- Sak, O., and Uçkan, F., (2009). Cypermethrinin *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)' nin puplaşma ve ölüm oranına etkisi, *Uuludağ Arıcılık Dergisi*, 9(3): 88-96.
- Sak, O., Uckan, F., and Ergin, E., (2006). Effects of cypermetrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera:Ichneumonidae), *Belgian Journal of Zoology*, 136(1): 53-58.
- Serafini, M., and Del Rio, D., (2004). Understanding the association between Dietray antioxidants, redox status and disease: Is the total antioxidant capacity the right tool?, *Redox Report*, 9 (3): 145-152.
- Shacter, E., (2000). Protein oxidative damage, *Methods in Enzymology*, 319: 428-436.
- Shafeek, A., Jaya Prasanthi, R.R., Hariphasad Reddy, G., Chetty, C.S., and Rajarami Reddy, G., (2004). Alterations in acetylcholinesterase and electrical activity in the nervous system of cocroach exposed to the nemm derivative, azadiractin, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59: 205-209.
- Shaurub, H.E., and Abd El-Aziz, N.M., (2015). Biochemical effects of lambda-cyhalothrin and lufenuron on *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae), *International Journal of Mosquito Research*, 2 (3):122-126.
- Song, O., (2004). Oxidative Stress: A theoretical model or biological reality?, *Comptes Rendus Biologies*, 327: 649-662.
- Storey, B.K., (1996). Oxidative Stres: Animal adaptations in nature, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29: 1715-1733.
- Suhail, A., Gogi, M.D., Arif, M.J., Rana A., and Sarfraz, M., (2007). Effect of various treatments of azadirachtin, spinosad and abamectin on the haemogram of

- Coccinella Septempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) Pakistan Entomology, 29(2): 151-164.
- Sun, Y., Oberley, L.W., and Li, Y., (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clinical Chemistry*, 34(3): 497–500.
- Tan, D. X., Reiter, R. J., Manchester, L. C., Yan, M. T., El-Sawi, M., Sainz, R. M., Mayo, J. C., Kohen, R., Allegra, M., and Hardeland, R., (2002). Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2: 181-197.
- Tauber, R., Gillan, N., Crouch, L. and Greenhalgh, R., (2006). Liquid chromatography/fluorescence method for emamectin B1a and desmethylnemamectin B1a residues in lobster tissue, *Journal of AOAC International*, 89: 1672–1676.
- Thornalley, P.J., and Vasak M., (1985). Possible role of metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress: Kinetics and mechanism of Its reaction with superoxide and hydroxyl radicals, *Biochimica et Biophysica Acta*, 827: 35–44.
- Toubi, E., and Shoenfeld, Y., (2007). Protective autoimmunity in cancer. *Oncology Report*, 17: 245-251.
- Tsagkarakou, A., Leeuwen, T.V., Khajehalil, A., Grispou, M., Williamsons, M.S., Tirry, L., and Vontas, J., (2009). Identification of pyrethroid resistance associated mutations in the para sodium channel of the two spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), *Insect Molecular Biology*, 18(5): 583- 593.
- Van Handel, E. (1985a). Rapid determination of glycogen and sugar in mosquitoes, *Journal of the American Mosquito Control Association* 1:299-304.
- Van Handel, E. (1985b) Rapid determination of total lipids in mosquitoes, *Journal of American Mosquito Control Association*, 1: 302- 304.
- Vanderzant, E.S. and Richardson, C.D., (1964). Nutrition of the adult boll weevil: Lipid requirements. *Journal of Insect Physiology*, 10: 267-272.

- Venkateswara Rao, J., (2006). Toxic effects of novel organophosphorous insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*, Pesticide Biochemistry and Physiology, 86: 78-84.
- Venkateswari, G., Krishnayya, P.V., Rao, P.A., and Murthy, K.V.M.K. (2008). Bioefficacy of abamectin and emamectin benzoate against *Spodoptera litura* (Fab.), Pesticide Research Journal, 20: 229–233.
- Vural N., (2005). Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:73 Ankara.
- Watanabe, S., Kang, D.H., and Feng, L. (2002). Uric acid, hominoid evolution and the pathogenesis of salt sensitivity, Hypertension, 40, 355–360.
- Werren, J.H., (1987). Labile sex ratios in wasps and bees, Bioscience, 37: 498-506.
- Wu, X., Zhang, L., Yang, C., Zong, M., Huang, Q., and Tao, L., (2016). Detection on emamectin benzoate-induced apoptosis and DNA damage in *Spodoptera frugiperda* Sf-9 cell line, Pesticide Biochemistry and Physiology, 126: 6-12.
- Xie, X.C., Gong, S., Wang, X.R., Wu, Y.X., and Zhao, L., (2011). Simplified RP-HPLC method for multi-residue analysis of abamectin, emamectin benzoate and ivermectin in rice, Food Additives and Contaminants, 28: 19–25.
- Yen, T.H., and Lin, J.L., (2004). Acute poisoning with emamectin benzoate, Journal of Clinical Toxicology, 42: 657-661.
- Yu, C., Yan, L., Wenjia, Y., Yonglu, M., Lijuan, W., Li, Z., and Can, L. (2015). The effect of emamectin benzoate exposure on the energy source of *Frankliniella occidentalis*, Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 54(6): 31-36.
- Zaman, K., MacGill, R.S., Johnson, J.E., Ahmad, 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*). Archives Environmental Contamination and Toxicology, 26(1): 114-118.
- Zibae, A., Zibae, I., and Sendi, J.J., (2011). A juvenile hormone analog, pyriproxyfen, affects some biochemical components in the hemolymph and fat bodies of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae), Pesticide Biochemistry and Physiology, 100: 289-298.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Bilal DAĞDEVİRAN

Doğum Yeri : Kahta

Doğum Tarihi : 24.03.1979

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurumu ve Yıl)

Lise : Kahta İHL -1996

Lisans : Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji -2001

Yüksek Lisans : Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü -2017

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Milli Eğitim Bakanlığı / 2004-devam ediyor

Yayınları (SCI ve diğer)