

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Kadir KOCALAR**

**FARKLI CİVA ORANLARININ ERGİN *Pimpla turionellae* L'nin  
SENTEZLEDİĞİ PROTEİN VE GLİKOJEN MİKTARINA ETKİLERİ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ADANA, 2005**

## ÖZ

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FARKLI CİVA ORANLARININ ERGİN *Pimpla turionellae* L.'NİN  
SENTEZLEDİĞİ PROTEİN VE GLİKOJEN MİKTARINA ETKİLERİ.**

**Kadir KOCALAR**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Danışman:** Yrd.Doç.Dr. Pınar ÖZALP

**Yıl:** 2005, **Sayfa:** 40

**Jüri** : Yrd.Doç.Dr. Pınar ÖZALP

Prof.Dr. İskender EMRE

Yrd.Doç.Dr. Fatma Çevik

Bu çalışmada, civanın ( $Hg^{+2}$ ) farklı oranlarının (%0.05, %0.10, %0.50 ve %1.00) bir endoparazitoid hymenopter türü olan ergin *P. turionellae* L.'nin sentezledikleri protein ve glikojen miktarı üzerine etkileri, kimyasal yapısı bilinen sentetik besinler kullanılarak aseptik koşullarda beslemek suretiyle incelenmiştir.

Deneylerde, besine ilave edilen %0.05, %0.10 ve %0.50'lik civa dozları, kontrol grubuna göre; dişi böceklerin protein ve glikojen seviyelerinin önemli derecede azalmasına neden olmuştur. Bununla beraber, *P. turionellae* ergin erkeklerinin yaşam süreleri boyunca sentezledikleri protein ve glikojen miktarlarında bütün konsantrasyonlarda azalmalar olmamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Pimpla turionellae*, Civa, Protein ve Glikojen Sentezi

## ABSTRACT

### MSc THESIS

# EFFECTS OF DIFFERENT MERCURY CONCENTRATION ON PROTEIN AND GLYCOGEN SYNTHESIS IN ADULT *Pimpla turionellae* L.

Kadir KOCALAR

DEPARTMENT OF BIOLOGY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

**Supervisor:** Yrd.Doç.Dr. Pınar ÖZALP

**Year:** 2005, **Pages:** 40

**Jury** :Asist.Prof.Dr. Pınar ÖZALP

Prof.Dr. İskender EMRE

Asist.Prof.Dr. Fatma Çevik

In the present study, the effects of different mercury ( $Hg^{+2}$ ) concentrations (%0.05, %0.10, %0.50 ve %1.00) on the rate of synthesised protein and glycogen amount of adult endoparasitoid hymenoptereus *Pimpla turionellae* L. were investigated by using chemically defined synthetic diets under aseptic conditions.

In the experiments, %0.05, %0.10 and %0.50 mg percent doses of mercury added of foods were caused a significant degree decrease of the protein and glycogen levels in the female insects with regard to the control group. However, the synthesised protein and glycogen ratios by adult males of *P.turionellae*'s lifeperiod have not become less in all concentrations.

**Key Words:** *Pimpla turionellae*, Mercury, Protein and Glycogen Synthesis

## **TEŞEKKÜR**

Bana bu araştırma konusunu veren, her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Ç.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Yard.Doç.Dr. Pınar ÖZALP'e teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Ayrıca çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Sayın Prof. Dr. İskender EMRE'ye, Sayın Yard.Doç.Dr. Mehmet SULANÇ'a, Sayın Araş. Gör. Mustafa Coşkun'a, Yüksek Lisans Öğrencisi Tamer KAYIŞ'a ve tüm laboratuvar çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bütün hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA

|                                                                                           |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ÖZ .....                                                                                  | I   |
| ABSTRACT .....                                                                            | II  |
| TEŞEKKÜR .....                                                                            | III |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                                   | IV  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                     | V   |
| 1. GİRİŞ .....                                                                            | 1   |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....                                                                | 4   |
| 3. MATERYAL VE METOT .....                                                                | 6   |
| 3. 1. Stok Kültürün Devamlılığı, Beslenmesi ve Deney Böceklerinin<br>Elde Edilmesi .....  | 6   |
| 3.2. Deney Besinlerinin Hazırlanması .....                                                | 6   |
| 3.2.1. Kontrol Besinin Hazırlanması .....                                                 | 6   |
| 3.2.2. Civa İçeren Besinlerin Hazırlanması .....                                          | 9   |
| 3.3 Deney Böceklerinin Beslenmesi .....                                                   | 9   |
| 3.4. Verilerin Elde Edilmesi Ve Değerlendirilmesi .....                                   | 9   |
| 3.4.1 Glikojen ve Protein Özütlerinin Hazırlanmasına Kadar<br>Böceklerin Saklanması ..... | 10  |
| 3.4.2 Glikojen Özütlerinin Hazırlanması .....                                             | 10  |
| 3.4.3 Protein Özütlerinin Hazırlanması .....                                              | 11  |
| 3.4.4 Total Glikojen Miktarının Saptanması .....                                          | 12  |
| 3.4.5 Total Protein Miktarının Saptanması .....                                           | 13  |
| 4. BULGULAR .....                                                                         | 15  |
| 5. TARTIŞMA .....                                                                         | 29  |
| 6 SONUÇ VE ÖNERİLER .....                                                                 | 33  |
| KAYNAKLAR .....                                                                           | 35  |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                            | 40  |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

## SAYFA

|                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 3.1 <i>P. turionella</i> bireylerini beslemede kullanılan temel besinin bileşimi .....                                                 | 7  |
| Çizelge 4.1 Ergin <i>P. turionellae</i> dişilerinin sentezledikleri protein miktarına farklı civa derişimlerinin günlere göre etkileri .....   | 16 |
| Çizelge 4.2 Ergin <i>P. turionellae</i> erkeklerinin protein miktarına farklı civa derişimlerinin günlere göre etkileri .....                  | 19 |
| Çizelge 4.3 Ergin <i>P. turionellae</i> dişilerinin sentezledikleri glikojen miktarına farklı civa derişimlerinin günlere göre etkileri .....  | 21 |
| Çizelge 4.4 Ergin <i>P. turionellae</i> erkeklerinin sentezledikleri glikojen miktarına farklı civa derişimlerinin günlere göre etkileri ..... | 25 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

## SAYFA

|                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.1 Besindeki Farklı Civa Derişimlerinin <i>P. turionellae</i> Ergin Dişilerinin Sentezlediği Protein Miktarına Günlere Göre Etkileri.....    | 17 |
| Şekil 4.2. Besindeki Farklı Civa Derişimlerinin <i>P. turionellae</i> Ergin Erkeklerinin Sentezlediği Protein Miktarına Günlere Göre Etkileri ..... | 20 |
| Şekil 4.3 Besindeki Farklı Civa Derişimlerinin <i>P. turionellae</i> Ergin Dişilerinin Sentezlediği Glikojen Miktarına Etkileri .....               | 23 |
| Şekil 4.4. Besindeki Farklı Civa Derişimlerinin <i>P. turionellae</i> Ergin Erkeklerinin Sentezlediği Glikojen Miktarına Etkileri.....              | 26 |

## 1. GİRİŞ

Birçok nedenle meydana gelen çevre kirliliği, son yıllarda gündemi oldukça meşgul eden bir problemdir. Çevre kirliliğine neden olan önemli etkenlerden birisi de ağır metallerdir. Ağır metaller hava, su, toprak aracılığı ile flora ve fauna kirliliğine neden olmaktadır (Ortel ve Vogel, 1989; Ortel, 1991; Ortel, 1995a). Civa yüksek derecede toksik etkili çevresel kontaminant olarak bilinir. Dünya sağlık örgütü (WHO)'nün verilerine göre bu metal insan sağlığına zararlı olduğu gibi aynı zamanda diğer birçok yaşam formlarını da tehdit etmektedir (WHO, 1990, 1991, 1992). Civanın omurgalı hücrelerindeki toksik etkileri hem *in vivo* hem *in vitro* deneylerle tespit edilip yaygın bir şekilde rapor edilmiş olmasına rağmen omurgasızlardan, özellikle böcek gruplarında yapılan model çalışmalarla, metal toksisitesinin mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle ağır metaller özellikle biyolojik mücadelede kullanılan böcek türlerinin popülasyonlarına önemli ölçüde zarar vermekte ve o türün zamanla ortadan kalkmasına neden olmaktadır. Ağır metallerin ekosistem içerisinde yok edilememesi de bu sorunun önemini daha da arttırmaktadır.

Ağır metallerin bir kısmı doğal kökenli olup yeraltı sularına ulaşırlar. Doğal dolanım mekanizmalarına giren ağır metallerin çoğu insan aracılığıyla doğaya bırakılmaktadır. Denizlerde yapılan araştırmalar Se, Fe, Mn, Ce, Co gibi elementlerin doğal olarak yer kabuğundan sulara karıştığını, Mg, K ve Cu elementlerinin ise deniz suyunun doğal bileşenleri olup, hava ortamına bu kaynaklardan geçtiğini göstermektedir.(IRWIN, R.J., 1997)

Doğal su ortamında ağır metallerin derişimleri genellikle toksik olmayan düzeylerde olmasına rağmen (Türkan, 1995), şehirleşme ve endüstriyel gelişme, maden işletmelerinin sayı ve kapasite olarak artmasına ve pestisit kullanımının yaygınlaşması gibi temelde antropojenik faktörler, su ortamındaki ağır metal düzeylerini büyük ölçüde etkilemektedir. Bu etki söz konusu metale duyarlı türlerin ortadan tamamen yok olmasına neden olabileceği gibi bu türlerdeki çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal olaylar ile davranışlarda belirgin değişmeler şeklinde görülebilir.



Suda bulunan civa ve organik bileşikleri (metil merkür, etil merkür, fenil merkür) bitkilerden aquatik organizmalara kadar absorbe edilir. Böylece ağır metal birikimi aquatik ekosistemde de önemli problemlerden birini oluşturmaktadır. Yapılan kronik birikim çalışmaları böcek embriyolarında Cu, Cd, ve Hg'nin gelişim ve açılım oranlarını anormal şekilde etkilediğini göstermiştir (Beaty ve Marquardt, 1996). Ayrıca embriyo gelişimi, pupa oluşumu ve ergin çıkma oranları gibi bir böceğin tüm fizyolojik evrelerinde ağır metal birikiminin metabolik ve genetik deformasyonlara neden olduğu geniş bir şekilde araştırılmıştır (VUORI and KUKKONEN, 1996). Bu tür çalışmalar, ağır metallerin böceklerdeki moleküler düzeyde yaymış olduğu etkilerin anlaşılması açısından ne kadar önemli olduğunu vurgulamaktadır.

Atık sulardaki ağır metaller inorganik ve organik metaller halinde çözünebilir ya da çözünmeyen halde bulunabilirler. Ağır metaller bulundukları ortamda biyodegradasyona (biyolojik parçalanma) uğramadıkları için zamanla birikirler. Ayrıca farklı maddelerle çok kompleks yapılar oluşturarak zehirlilik etkilerini arttırabilirler.

Endüstriyel atıklarla veya daha değişik yollarla besin, su, toprak ve hava ortamlarında ağır metallerin miktarı artar ve artan bu ağır metal miktarı çeşitli canlı türlerinde kalıcı hasarlar oluşturarak ölümlere sebep olur. Bu durum özellikle biyolojik mücadelede kullanılan böcek türleri için olumsuz bir etki olarak değerlendirilebilir.

Günümüzde biyolojik mücadele programları içerisinde parazitik hymenopter türleri, doğaya zarar veren böceklere karşı biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmaktadır. Entemofaj özelliğe sahip olan bu parazitlerin ergin hayat devresi çok uzundur. Bu türlerin hayatta kalabilme, üreyebilme ve diğer metabolik faaliyetlerini yerine getirebilmeleri için enerjiye ihtiyaçları vardır ve bu enerjiyi bitki özsuyu, polen ve konak hemolenfinde bulunan karbohidrat, lipid, protein, vitamin, madensel tuzlar ve diğer besin bileşenlerinden karşılamaları gerekmektedir (Emre, 1988). Diğer bütün canlılarda olduğu gibi ekosistemlerinde meydana gelen olumsuz faktörlerden etkilenmemeleri düşünülemez. Örneğin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) birden çok Lepidopter türünün pupal endoparazitidir

ve kolaylıkla kültüre alınabilen parazitik hymenopterlerin ilk temsilcisidir (Yazgan, 1981).

Hymenopter türlerinin bir çoğu biyolojik mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır. Bundan dolayı bu türlerin laboratuvar ortamında toplu halde üretilibilmelerini sağlayacak çalışmalar son yıllarda büyük bir hız kazanmıştır (Thompson ve Hagen, 1999).

Her hayvan grubunda olduğu gibi böcekler de büyüme ve gelişmelerini tamamlamak için karbohidratlar, proteinler, lipitler, vitaminler, madensel tuzlar ve diğer besin bileşenlerine ihtiyaç duymaktadırlar (House, 1962, 1972, 1974; Dadd, 1973; Jacob ve Morugan 1989; Tsiropoulos 1992; Thompson ve Hagen, 1999). Besin ihtiyaçları böcek türleri arasında farklılıklar göstermekle beraber, aynı böcek türünün gelişim safhaları arasında da önemli farklılıklar gösterebilmektedir. Birçok böcek türü larval evrede ergin yaşantılarında kullanılmak için besin depo ederler. Bu durumda larval evrelerde alınan besinin kalitesi, böceğin ergin evredeki besinsel gereksinimini de önemli ölçüde etkileyebilmektedir (Trager, 1953; House, 1962, 1974, 1977; Emre ve Yazgan, 1990; Özalp ve Emre, 1992).

Bu çalışmada, bir ağır metal olan Hg'nin %0.05, 0.1, 0.5 ve 1'lik derişimlerinin farklı zaman sürecinde (10, 15, 20, 25 ve 30gün) *P. turionellae* dişi ve erkeklerinin sentezlediği protein ve glikojen miktarına kantitatif etkilerinin saptanması amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Ortel ve Vogel (1989), kadmiyumun bir pupa parasitoidi olan *P. turionellae*'nin ortalama ömrü üzerine sadece besine bulaşması yoluyla etkili olduğunu ve Cd+Pb'un birlikte oksijen tüketimi üzerine etkisinin besin yolundan daha çok su yoluyla olduğunu tespit etmiştir.

Ortel (1995b), ağır metalle kontamine olmuş sentetik besinle beslenen Lymnatriidae familyasına ait *Gypsy-moth* larvalarının, hem total hemolenf içeriğinde hem de serbest amino asit bileşiminde bir düşüş olduğu sonucunu yorumlamıştır.

Ortel (1996), *Gypsy-moth* larvaları, Cd, Pb, Cu ve Zn gibi ağır metallere kontamine olmuş besinlerle beslenmiş ve her bir metalin artan konsantrasyonuna bağlı olarak hemolenf ve dokularda karbohidrat seviyelerinin değiştiği gözlenmiştir. Özellikle Cd ve Zn ile beslenen böceklerde hemolenf şekeri olan trehaloz oranı ve buna bağlı olarak larvanın glikoz ve glikojen oranlarının metal konsantrasyonunun artışı ile düştüğü deneysel olarak gösterilmiştir.

Crawford ve ark. (1996), herbivor bir böcek türü olan Acrididae familyasına ait *Locusta migratoria*'nın farklı oranlarda Cu ve Cd ile kontamine olmuş mısırla beslenmesi sırasında metallerin besin zinciri yoluyla bağırsağa oradan da vücut sıvısına alındığını, Cd'un Cu'dan daha fazla biriktiğini ve besinsel düzenlemede Cd'un etkili olmayarak dişi ve erkekte benzer etkilere maruz kaldığını göstermiştir.

Vuori ve Kukkonen'nin (1996), sucul bir böcek türü olan Hydropsychidae familyasına ait *Hydropsyche pellucidula* larvalarında Al, Cd, Cu, Pb ve Zn gibi çeşitli metal konsantrasyonlarının vücut yüzeyindeki dokulardan absorpsiyon yolu ile alındığı ve ekzokütikül oluşumunu etkileyerek morfolojik anormalliklere neden olduğunu göstermiştir.

Rabitsch (1997), metal kirliliği olan bölgelerden toplanan *Formica pratensis* (Retzius), *Formica polyctena* (Forster) ve *Camponotus ligniperda* (Latreille) karınca türlerinin işçilerinin farklı hücrelerindeki metal düzeylerini karşılaştırılmış, tüm türlerde en yüksek metal (Pb, Cd, Zn, Cu, Fe ve Mn) düzeyleri orta mide de bulunmuştur.

Braeckman ve ark. (1998), *Aedes albopictus* C6/36 hücrelerinde civa klorid ve metilciva klorid alımı mekanizması ile birlikte civa birikimi üzerine sıcaklığın ve metabolik inhibitörün (2,4-dinitrophenol) etkisini çalışmış ve sonuç olarak metil civanın, civaya oranla alımının daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Rayms-Keller ve ark., (1998), ağır metallere Cu, Cd, ve Hg'nin Culicidae familyasından (Diptera) *Aedes aegypti*'nin gelişimi ve biyolojik etkilerini araştırdıkları çalışmada, birinci evredeki larvaların artan Cu, Cd ve Hg oranlarına bağlı olarak mortaliteye uğramış aquatik böceklerde lethal konsantrasyonları (L<sub>c</sub>) göstermişlerdir.

Kazimirova ve Ortel (2000), Pb, Cd ve Cu gibi metallerin Tephritidae familyasına ait (Diptera) *Ceratitis capitata*'ye besin yoluyla birikimini ve bu türün pupal parazitoidi olan Proctotrupoidae familyasına ait (Hymenoptera) *Coptera occidentalis*'e bu metallere Cd ve Zn'nun, Pb ve Cu'dan daha fazla biriktiğini ve strese neden olduğunu ve bu stres sonucunda da dişilerin yüzde oranının Cu ve Cd'li besinlerden etkilendiğini göstermişlerdir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Stok Kùltürün Devamlılığı, Beslenmesi ve Deney Böceklerinin Elde Edilmesi

Bu çalışmada farklı civa ( $Hg^{+2}$ ) derişimlerinin *P. turionellae* erginlerinin protein ve glikojen miktarlarına etkileri araştırıldı. Deneyde kullanılan böceklerin genel kùltürünün devamlılığı, böceklerin  $24\pm 2$  °C sıcaklıkta,  $75\pm 5$  bağıl neme sahip ve 12 saat aydınlık fotoperiyodu uygulanan laboratuvar koşullarında büyük kafesler içindeki *P. turionellae* bireylerinin %50 bal çözeltisi ve büyük balmumu güvesi *Galleria mellonella* (L) pupu hemolenfi ile beslenmeleriyle sağlandı. Deneylerde kullanılan *P. turionellae*'yı üretmek için üç günde bir kafesteki *P. turionellae* dişilerine parazitlemeleri için *G. mellonella* pupu verildi ve yaklaşık bir saat kafeslerde tutuldu. Bekleme süresinin sonunda parazitlenmiş olan *G. mellonella* pupları alınıp, ağzı tülbentle kapatılmış plastik bardaklara konuldu ve yine aynı laboratuvar şartlarında karanlık bir ortamda *P. turionellae* böceklerinin gelişmeleri sağlandı.

#### 3.2. Deney Besinlerinin Hazırlanması

Çalışmada kontrol besini olarak kimyasal yapısı bilinen sentetik besin (Emre, 1988) kullanıldı ve bu besine %0.05, %0.10, %0.50, %1.00 mg/ml oranlarında  $HgCl_2$  eklendi ve bu şekilde hazırlanan besinlerle *P. turionellae* erginleri beslendi.

##### 3.2.1. Kontrol Besinin Hazırlanması

Deneylerde kontrol besini olarak kullanılan ve kimyasal yapısı bilinen sentetik besinin bileşimi izelge 3.1 de verilmiştir.

Çizelge3.1 *P. turionella* bireylerini beslemede kullanılan temel besinin bileşimi

| Besin Bileşeni         | g/100ml                            |
|------------------------|------------------------------------|
| L-Amino asit karışımı  | 3.000                              |
| Lipit karışımı *       | 6.000                              |
| Vitamin karışımı **    | 9.000                              |
| İnorganik tuz karışımı | 0.075                              |
| RNA                    | 0.075                              |
| Sükroz                 | 14.000                             |
| 2N KOH ***             | 2.500                              |
| Saf su                 | Toplam hacim 100 ml oluncaya kadar |

\* : Besine 6ml çözelti halinde katıldı

\*\* : Besine 9ml çözelti halinde katıldı

\*\*\* : Besine 9ml çözelti halinde katıldı

Çizelge3.1’de verilen kimyasal yapısı belirli besini hazırlamak için önce besin bileşenlerinden L-amino asit karışımı, vitamin karışımı çözeltisi, lipit karışımı ve inorganik tuz karışımı çözeltileri stok çözelti ve karışımlar halinde hazırlandı. Bu stok karışım ve çözeltilerin hazırlanmasında şu yöntemler kullanıldı.

**L-Amino asit karışımı:** Nicel ve nitel bileşimi *G. mellonella* hemolenfi amino asit bileşimine (Wyatt ve ark., 1956) göre hazırlanan bu karışım 100 gramlık stok halinde hazırlandı. Bu karışımda bulunan amino asitler ve gram olarak değerleri şu şekildedir. Alanin 7.0; Arjinin-HCl 5; Aspartik asit 6.5; Fenilalanin 5.5; Glisin 6.4; Glutamik asit 10.5; Hidroksiprolin 1.9; Histidin 4.0; İzolösin 5.2; Lizin 5.3; Lösin 7.7; Metionin 3.0 Prolin 8.2; Serin 6.5; Sistein 1.3; Tirozin 4.0; Treonin 5.5; Triptofan 2.0; Valin 4.5. Belirtilen miktarlardaki amino asitler bir porselen havan içinde ezilerek toz haline getirildi ve bu şekilde karışımın homojen bir yapı haline gelmesi sağlandı. Karışım ışık almaması için ışık geçirmeyen renkli bir şişeye konuldu ve ağzı sıkı bir şekilde kapatılarak saklandı. 100 mililitrelik besin içerisine bu karışımdan 3.0 g katıldı.

**Vitamin karışımı çözeltisi:** Stok vitamin çözeltisi gram olarak şu vitaminleri içermektedir: Askorbik asit 0.1120; Biotin 0.00040; Ca–Pantotenat 0.0296; Folik asit

0.0012; İnozitol 0.1800; Kolin klorür 2.6000; Nikotinik asit 0.0600; Pridoksin-HCl 0.0030; Riboflavin 0.0140; Tiamin-HCl 0.0016; Belirtilen miktarlarda tartılan vitaminler bir erlenmayer içine konuldu ve üzerine 90.0 ml saf su eklendi ve daha sonra manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözümleri sağlandı. Yukarıda belirtilen ve suda çözünen vitaminleri içeren bu çözeltiye daha sonra 0.850 ml 2N  $K_2HPO_4$  ilave edilerek çözeltinin pH sınır 6.5 olması sağlandı. Hazırlanmış olan bu stok çözelti kullanılıncaya kadar  $-10^{\circ}C$  de saklandı. Çözelti kontrol besine eklenmeden önce oda sıcaklığına gelmesi sağlandı ve manyetik karıştırıcıda tekrar karıştırıldı ve daha sonra 100 ml besine 9 ml ilave edildi.

**Lipit karışımı:** Karışımda bulunan yağ asitleri ve kolesterol miktarı gram olarak şu şekilde ifade edilir: Kolesterol 0.840; Linolenik asit 0.1546; Linoleik asit 0.0486; Oleik asit 0.0641; Palmitik asit 0.0041; Stearik asit 0.0014. Yağ asitleri ve kolesterol bir homojenizatör tüpüne kondu ve üzerine 2.16 g Tween 80 ve 32.0 ml sıcak saf su konulduktan sonra UltraTurrax T25 marka homojenizatörde 22.000 devirde 5 dakika süreyle karıştırıldı. Elde edilen karışım bir erlenmayere konuldu ve ağzı sıkıca kapatılıp  $-10^{\circ}C$  de kullanılıncaya kadar saklandı. Lipid karışımı da yine kontrol besine eklenmeden önce oda sıcaklığında sıvı hale gelmesi sağlandı. Karışım daha sonra manyetik karıştırıcıda iki dakika süreyle karıştırılarak homojenliği sağlandı. 100 ml besine bu emülsiyondan 6 ml. ilave edildi.

**İnorganik tuz karışımı:** Bu karışımı hazırlamak için 0.8580 g  $CaCl_2$ ; 0.1572 g  $CuSO_4.5H_2O$ ; 0.1356 g  $CoCl_3.6H_2O$ ; 0.5048 g  $FeCl_3.6H_2O$ ; 10.5280 g  $K_2HPO_4$ ; 1.4548 g  $Na_2HPO_4.12H_2O$ ; 3.6920 g  $MgSO_4.7H_2O$ ; 0.0112 g  $MnSO_4.H_2O$ ; 0.2000 g  $ZnCl_2$ , bir beher içine kondu ve üzerine 100 ml sıcak su ilave edilerek tuzların çözümleri sağlandı. Daha sonra bu çözelti  $150^{\circ}C$  deki etüvde karışımın ağırlığı sabit oluncaya kadar bekletildi. Bu süre sonunda suyundan tamamen arınan tuz karışımı daha sonra bir porselen potaya konularak dövüldü ve karışımın homejenliği sağlandı. Elde edilen stok karışım, ağzı sıkı bir şekilde kapanan renkli bir şişeye kondu ve kullanılıncaya kadar nem içermeyen bir ortamda saklandı. 100 ml'lik besine bu tuz karışımından 0.075 g katıldı.

Kontrol besinin hazırlanması: Çizelge 3.1 de belirtilen miktarlarda RNA, L-amino asit karışımı, inorganik tuz karışımı ve sükroz bir behere konuldu ve bu

maddeler üzerine toplam su miktarının yarısı kadar 80°C de saf su eklenerek çözünmesi sağlandı. Çözelti soğutuldu ve daha sonra üzerine lipit karışımı, vitamin karışımı ve pH'yı 6.5'e ayarlamak için 2N KOH eklendi. Bu aşamalardan sonra oluşan çözeltinin hacminin 100 mililitreye tamamlanması için saf su eklendi. Bu şekilde deneyde kullanılacak olan kontrol besini hazırlandı. Erlenmayer içerisine alınan bu stok besin ağzı sıkıca kapatılarak buzdolabında muhafaza edildi.

### 3.2.2. Civa İçeren Besinlerin Hazırlanması

Her konsantrasyon için gerekli HgCl<sub>2</sub> gram cinsinden alındı ve besine ilave edilip manyetik karıştırıcıda karışım homojen hale gelinceye kadar karıştırıldı. Değişik oranlarda civa içeren (%0.05, %0.10, %0.50 ve %1.00) sentetik besinler de aynı kontrol besininde olduğu gibi 100 ml olarak hazırlandı.

### 3.3. Deney Böceklerinin Beslenmesi

Deneylerde *G. mellonella* pupalarından yeni çıkmış ve henüz beslenmemiş *P. turionellae* bireyleri kullanıldı. Her serinin her tekrarında da 4 dişi ve 4 erkek birey alınarak 1000 cc'lik beherlere konuldu.

Böcekler 4x4 cm boyutlarındaki alüminyum kağıt üzerine eşit miktarlarda damlatılan besinlerin verilmesi suretiyle beslenmeleri sağlandı. Deneyde kullanılan böceklerin bulunduğu 1000 cc'lik beherlere konulan besinler 1 saat süre ile tutuldu bu süre sonunda alındı. Bu olay deney periyodu sonuna kadar her gün aynı saatte tekrarlandı. Mikroorganizmaların üremesini önlemek amacıyla böceklerin dışkıları ile kirlenen beherler saf su emdirilmiş pamukla sık sık temizlendi.

### 3.4. Verilerin Elde Edilmesi Ve Değerlendirilmesi

Farklı civa derişimlerinin *P. turionellae*'nın glikojen ve protein miktarı üzerine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada parazitleme işlemi, deneyde kullanılacak *G. mellonella* pupalarından yeni çıkmış böceklerin 1000 cc'lik beherlere alınmasını



takip eden 10. günden itibaren yapılmaya başlandı ve her beş günde bir bu işlem tekrarlanarak deneyin sonuna kadar devam edildi.

Parazitlenme işlemi yapılacağı zaman *G. mellonella* pupaları, deney böcekleri tarafından besin olarak kullanılmalarını önlemek amacıyla, iki kat kafes teli ile sarıldı ve bu şekilde deney böceklerinin pupalara sadece yumurtalarını bırakmaları sağlandı. Parazitlenecek pupaların bulunduğu tel kafesler 20 cm<sup>2</sup> alana sahip iki kafes teli parçası üst üste konularak pupanın bu tel kafeslere kolayca yerleştirilebilmesi için ortasına bir bombe yapılarak elde edildi. Tel kafeslerin boşta kalan alt kısımları alüminyum folyo ile kapatıldı. Parazitlenme sırasında tel kafeste bulunan bombeye bir pupa yerleştirildi ve bu şekilde dişi deney böceklerinin ovipozitörlerini kullanmak vasıtasıyla yumurtalarını pupanın içine bırakması sağlandı.

#### **3.4.1. Glikojen ve Protein Özütlerinin Hazırlanmasına Kadar Böceklerin Saklanması**

Deney süresi içerisinde ölen erkek ve dişi bireyler hemen  $1 \times 10^{-4}$  g hassaslığa sahip olan hassas terazide tartılarak yaş ağırlıkları alındı ve ağzı kapaklı tüplere aktarıldı. Tüplerin içerisine 5 ml % 10 trikloroasetik asit (TCA) konuldu. Ölmeyen böcekler deney süresi sonunda bir tüp içerisine alınarak  $1 \times 10^{-4}$  g hassaslığa sahip terazide tartıldı ve 5 ml %10 TCA içerisine aktarıldı. Her tekrarın her bir konsantrasyonunun erkek ve dişileri ayrı ayrı tüplere konularak +4°C lik buzdolabında özütler hazırlanıncaya kadar bekletildi.

#### **3.4.2. Glikojen Özütlerinin Hazırlanması**

Deneyde kullanılan *P. turionellae* dişi ve erkeklerinden glikojen özütlenebilmesi için, Roe ve ark. (1961) tarafından geliştirilmiş olan yöntem kullanıldı. Bunun için +4°C de 5 ml TCA içinde bekletilen böcekler 24000 devir/dakikalık hıza ayarlanmış olan Ultra Turrax T25 marka homojenizatör kullanılarak 5 dakika süre ile homojenize edildi. Bu işlem sonunda elde edilen homojenat santrifüj edilmek üzere santrifüj tüpüne konuldu ve 3500 devir/dakikaya

ayarlanarak tüp içerisindeki homojenat 15 dakika süre ile santrifüj edildi. Daha sonra santrifüjden çıkarılan tüp içerisindeki süpernatant kısım başka iki tüpe alındı ve glikojenin çöktürülmesi için üzerlerine tüpte bulunan çözeltinin iki katı kadar % 96'lık etil alkol ilave edildi. (Santrifüj tüpünde süpernatant kısım alındıktan sonra kalan perisipitant kısım ise üzerine 5 ml TCA ilave edildikten sonra ağzı parafilm ile kapatıldı ve protein özütlemesi yapılacağı zamana kadar +4°C'lik buzdolabında saklandı). % 96'lık etil alkol ilavesinden sonra çözeltiler 37°C'lik sıcak su banyosunda 24 saat bekletildi. Bu işlem glikojen çökmesini kolaylaştırmak için yapıldı. Tüpler 24 saat sıcak su banyosunda kaldıktan sonra 3500 Devir/dakikada 30 dakika yeniden santrifüj edildi ve süpernatant kısmı atıldı. Daha sonra tüpler içindeki alkolün tamamen uçurulması için tüpler, 37°C'lik etüve konuldu. Bu şekilde elde edilen glikojen özütleri, glikojen tayini yapılınca kadar +4°C de saklandı.

#### 3.4.3. Protein Özütlerinin Hazırlanması

Glikojen özütlerinin hazırlanması sırasında elde edilen ve +4°C'de % 10'luk TCA içerisinde saklanan içerisinde protein bulunan tüpler, 3500 devir/dakikaya ayarlanmış olan santrifüj aletinde 15 dakika süre ile santrifüj edildi ve santrifüj işlemi sonunda santrifüj tüpünde oluşan süpernatant kısmı tüpten uzaklaştırıldı, daha sonra tüpte kalan perisipitant kısmı üzerine 5 ml % 96'lık etil alkol eklendi ve tekrar 3500 devir/dakikada 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Protein özütünün içerisinde bulunan lipidlerin tamamen uzaklaştırılması için aynı işlem bir kez daha gerçekleştirildi. Bu işlem sonunda elde edilen protein çökeltisinden alkolün tamamen uzaklaştırılması için çökeltinin bulunduğu tüp 37°C'lik etüvde 24 saat bekletildi. Bu şekilde elde edilen protein içerikli çökelti ince bir spatül yardımı ile tüp içerisinde iyice ezilerek toz haline getirildi ve spektrofotometrede okununcaya kadar +4°C de muhafaza edildi.

#### 3.4.4. Total Glikojen Miktarının Saptanması

Deney böceklerindeki glikojen miktarı tayin edilirken “Antron Testi” yönteminden yararlanıldı (Plummer, 1971). Glikojen tayini yapılmadan önce glikojen standartları hazırlandı. Bu nedenle mililitresinde 0.1 g saf glikojen bulunan stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltilerden seyreltmeler yapılarak sırasıyla 0.025, 0.050, 0.075, 0.100 ve 0.125 mg/ml standart glikojen çözeltileri hazırlandı. Bu standart glikojen serisine antron testi uygulandı. Örnekler ışık absorpsiyon değerleri 620 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Bousch and Lomb; Spectronic 20) okundu ve verilerden  $y = 7.1665x + 0.0118$  regresyon doğrusu elde edildi.

Deney böceklerinden hazırlanan örneklerdeki glikojen miktarı belirlenirken önce glikojen özütü 5 ml saf suda çözüldü. Elde edilen çözeltilerden 1 ml tüpe alındı ve bunun üzerine 4 ml taze antron çözeltisi ilave edildi. Çözelti 10 dakika süre ile 37°C’lik su banyosunda bekletildi ve bu süre sonunda, tüp içerisinde partikül kalmaması için örnekler 3500 devir/dakikalık santrifüjde 5 dakika süre ile santrifüj edildi ve sonra spektrofotometrede 620 nm dalga boyunda, örneklerin ışık absorpsiyon değerleri okundu. Spektrofotometreden elde edilen absorpsiyon değeri regresyon eğrisinde yerine konularak, örneği 1 ml içindeki glikojen miktarı mg cinsinden hesaplanmış oldu. Bu işlem dişi ve erkek deney böceklerine ayrı ayrı uygulandı. Erkeklerden elde edilen değer seyreltme oranı olan 5 ile çarpılarak bir serinin bir tekrarındaki erkeklere ait toplam glikojen miktarı bulundu. Daha sonra elde edilen bu toplam glikojen miktarını gösteren değer o serideki erkek sayısına bölünerek erkek böcek başına düşen glikojen miktarı hesaplanmış oldu. Yaş ağırlığa göre erkek böcek başına düşen glikojen oranı ise erkek başına düşen glikojen miktarının 100 ile çarpımının erkek başına düşen yaş ağırlığa bölünmesiyle hesaplandı. Aynı işlemler dişi böcekler içinde yapıldı ve dişi başına düşen glikojen miktarı hesaplanmış oldu.

### 3.4.5. Total Protein Miktarının Saptanması

Protein miktarını tayin etmek için “Kantitatif Biüret Testi” (Plummer, 1971) yönteminden yararlanıldı. Deney böceklerindeki total protein miktarının tayininden önce glikojen tayininde olduğu gibi standart çözeltiler hazırlandı. Standart çözeltiler hazırlanırken önce 100 ml’inde 1 g saf yumurta albümini bulunan bir stok çözelti hazırlandı. Elde edilen bu çözeltiden seyreltme yöntemi kullanılarak içerisinde 0.01, 0.05, 0.10, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00 ve 10.00 mg/ml yumurta albümini bulunan standart çözeltiler elde edildi. Elde edilen bu standart çözeltilerin her birine Kantitatif Biüret Testi uygulanarak ışık absorpsiyon değerleri spektrofotometrenin 540 nm dalga boyunda okundu ve elde edilen değerlerden  $y = 0.0896x + 0.0803$  regresyon doğrusu elde edildi.

Deney böceklerinin protein miktarının tayininde ise total glikojen miktarı hesaplanırken elde edilen protein içerikli özütten faydalanıldı. Protein içerikli özütün çözünmesi için üzerine 2 ml saf su eklendi, daha sonra çözünen protein özütünün üzerine 3 ml Kantitatif Biüret çözeltisi ilave edildi ve karışım 37°C’de 15 dakika bekletildi. Süre sonunda etüvden çıkarılan örnekler 3500 devir/dakikada 5 dakika santrifüj edildi. Bu sayede çözelti partiküllerinden arındırıldı. Bu işlemde sonra, çözeltinin spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda ışık absorpsiyon değerleri okundu. Okunan değerler regresyon doğrusu denkleminde yerine konularak bir deney serisindeki bir tekrarın tüm erkeklerinin toplam protein miktarı bulundu. Bu değer erkek sayısına bölündü ve erkek başına düşen protein miktarı hesaplanmış oldu. Yaş ağırlığına göre erkek başına düşen protein oranı ise, erkek başına düşen protein miktarının 100 ile çarpımının erkek başına düşen yaş ağırlığına bölünmesi ile elde edildi.

Deneyler farklı zamanlarda üç kez tekrarlandı, deney sırasında kaçan böcekler değerlendirilmedi. Deneyin bir tekrarının bir serisinde elde edilen değerler hem kontrol besini ile hem de kendi aralarında karşılaştırılarak değerlendirildi. Değerlerin karşılaştırılmasında yüzdeli değerler arksin dönüşümü yapıldıktan sonra varyans analiz yöntemi (Snedecor ve Cochran, 1967), ortalamalar arası farkın önem kontrolünde ise Student Newman Keul’s (SNK) testi (Rohlf ve Sokal, 1969; Sokal ve

Rohlf 1969) uygulandı. Ortalamalar arası fark 0.05 olasılık seviyesinde F değerin de büyük olduğu zaman önemli kabul edildi.

Yapılan deneyin her tekrarında ve her tekrarın her bir konsantrasyonunda civa'nın ergin bireylerin protein ve glikojen miktarları üzerine etkileri incelendi. Bütün deneyler değışik zamanlarda üçer defa tekrarlandı ve elde edilen veriler tablolar halinde sunuldu. Bir deney serisinde farklı civa derişimleri ile beslenen böceklerden elde edilen veriler o serideki kontrol besininden elde edilen veriler ile karşılaştırılmak suretiyle değıerlendirildi.

Deney sonunda elde edilen verilerin istatistik analizleri, yüzdeli değıerlerin arksin dönüşümleri ve daha sonra "Student-Newman Keul's Test (SNK)" testi Spss 12.0 bilgisayar programında yapıldı. Ortalamalar arası fark 0.05 olasılık seviyesinde F değıerinden büyük olduğu zaman önemli kabul edildi.

**4.BULGULAR**

Farklı civa konsantrasyonlarının ergin dişi *P.turionellae* bireylerinin sentezlediği protein miktarlarına etkisi Çizelge 4.1 ve Şekil 4. 1 de verilmiştir.

Besinin %0.05, 0.10 ve 0.50 civa içermesi *P.turionellae* bireylerinin sentezlediği protein miktarını 10 günde kontrole göre önemli derecede düşürmüştür. Söz konusu günde en yüksek protein miktarı %14.80 ile besinin %1.00 civa içermesi durumunda elde edilmiştir.

Ergin dişi bireylerden 15. günde elde edilen veriler incelendiğinde % 0.10'luk civa konsantrasyonu sentezlenen protein miktarına istatistiki olarak herhangi bir etkide bulunmamış iken diğer konsantrasyonlarda (%0.05, 0.50 ve 1.00) kontrole göre önemli bir düşme olmuştur. Civa konsantrasyonları arasında en yüksek protein miktarı %15.28 ile %0.1 de elde edilmiştir. En düşük protein miktarı, besinin en yüksek civa oranına sahip olması durumunda %8.15 olarak gerçekleşmiştir.

Sentezlenen protein miktarına 20 günde denenen derişimlerden sadece %0.1 civa olumsuz yönde etki ederek kontrolde elde edilen %12.81 değerinin %10.56 olmasına neden olmuştur (Çizelge 4.1). Diğer derişimler de ise gerek kendi aralarında gerekse kontrole göre istatistikî bakımdan önemli bir fark bulunamamıştır. Deney periyodunun 25. gününde ise *P.turionellae* ergin dişi bireylerinin protein miktarına %0.05 ve 0.10 civa içeren besinler kontrole göre bir etkide bulunmamıştır. Bu iki civa oranından elde edilen veriler arasında da fark yoktur. Söz konusu günde minimum protein miktarı %8.68 ile besinin %0.50 civa içermesi ile elde edilmiştir. En yüksek protein miktarı %16.19 ile %1.00'luk konsantrasyondan elde edilmiştir.

Çizelge 4.1. Ergin *P.turionellae* dişilerinin sentezledikleri protein miktarına farklı civa derişimlerinin günlere göre etkileri

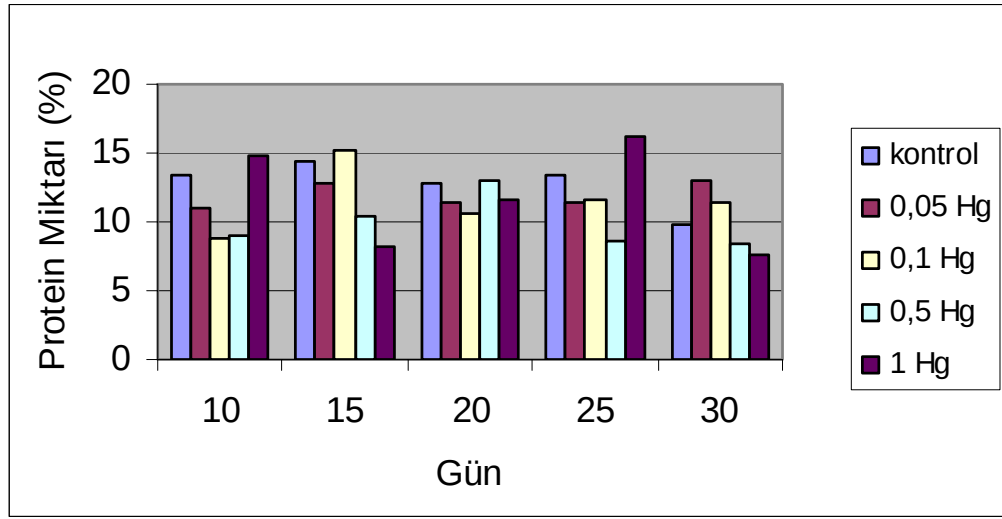
| Civa (%) | Böcek Sayısı | Protein Miktarı (%)                 |                                     |                                     |                                     |                                     |
|----------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
|          |              | 10. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 15. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 20. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 25. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 30. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * |
| 0.00 **  | 4            | 13.39±0.30 c yz                     | 14.47±0.21 d z                      | 12.81±0.20 b y                      | 13.31±0.62 b yz                     | 9.73±0.18 b x                       |
| 0.05     | 4            | 10.94±0.12 b x                      | 12.71±0.24 c y                      | 11.32±0.46 ab x                     | 11.45±0.43 b x                      | 13.05±0.11 d y                      |
| 0.10     | 4            | 8.85±0.53 a x                       | 15.28±0.36 d z                      | 10.56±0.30 a y                      | 11.57±0.67 b y                      | 11.39±0.43 c y                      |
| 0.50     | 4            | 8.95±0.24 a x                       | 10.49±0.71 b x                      | 13.05±0.84 b y                      | 8.68±0.25 a x                       | 8.34±0.79 a x                       |
| 1.00     | 4            | 14.80±0.32 d z                      | 8.15±0.28 a x                       | 11.55±0.30 ab y                     | 16.19±1.34 c t                      | 7.65±0.10 a x                       |

\* :SNK: a, b, c, d harfleri derişimleri, x, y, z, t harfleri günler arasındaki ayrımı belirtmek için kullanılmıştır. Aynı harfleri içeren veriler arasında  $P<0,05$  düzeyinde istatistiki olarak ayrım yoktur

$\bar{X} \pm S\bar{x}$  : Aritmetik ortalama  $\pm$  Standart hata

\*\* : Kontrol Besini

Otuzuncu günde besindeki civa oranlarındaki artışa bağlı olarak protein miktarında %0.05 ve 0.10 oranlarında kontrole göre bir artış söz konusu iken diğer iki konsantrasyonda (%0.50 ve 1.00) tam tersi bir şekilde protein miktarı düşmüştür. 30. günde elde edilen bu verilere ek olarak %0.05, 0.1, 0.5 ve 1 civa oranlarında, bir dişi böcek başına düşen protein miktarı sırasıyla %13.05, 11.39, 8.34 ve 7.65 olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 4.1).



Şekil 4. 1 Besindeki farklı Hg oranlarının (%0.05, %0.10, %0.50, %1) *P. turionellae* ergin dişilerinin sentezlediği protein miktarına günlere göre etkileri.

Dişi *P. turionellae* protein oranlarına denenen her bir civa derişiminin kendi arasında günlere göre etkileri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1 de verilmiştir.

Besindeki civa oranı % 0.05 olması protein miktarını 15 ve 30. günlerde diğer ölçüm yapılan günlere göre belirgin bir şekilde arttırmıştır. 10, 20 ve 25. günlerdeki dişi *P. turionellae* protein miktarları arasında önemli bir farka rastlanmamıştır. Derişimin %0.10 olması durumunda en düşük protein yüzdesi 10. günde en yüksek ise 15. günde sırasıyla %8.85 ve 15.36 olarak gerçekleşmiştir. Daha sonraki günlerde protein miktarına bu konsantrasyon herhangi bir etkide bulunmamıştır. Protein miktarı, besinin %0.50 civa içermesi ile sadece 20 günde diğer günlere göre bir artış gösterirken, bu gün dışındaki ölçüm yapılan günlerdeki veriler arasında fark bulunamamıştır. Besindeki civa oranının %1 olması protein miktarlarının dalgalı bir seyir izlenmesine neden olmuştur. 15 ve 30. günler arasında bir fark olmaz iken bu



günlerdeki veriler en düşük protein oranlarını göstermiştir. En yüksek oran ise %16.19 ile 25. günde, daha sonra sırasıyla 10 ve 20. günlerde, %14.80 ve 11.55 olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 4. 1).

Besindeki civa konsantrasyonlarına bağlı olarak ergin erkek *P. turionellae* bireylerinin sentezlediği protein miktarları Çizelge 4.2 ve Şekil 4. 2 de verilmiştir.

Besinin %0.10' civa içermesi erkek bireylerin sentezlediği protein miktarlarında kontrole göre önemli bir düşüşe neden olmuştur. Denen diğer konsantrasyonlarda kontrole göre herhangi bir fark gözlenmemiştir. Söz konusu oranda protein miktarı 10. günde kaydedilen minimum değerdir (%9.53).

On beşinci günde elde edilen verilerde de 10. günde olduğu gibi % 0.10'luk besinde protein miktarında kontrole göre önemli bir düşme söz konusudur. Denenen konsantrasyonlardan sadece %0.05 protein miktarını kontrole göre artırmıştır. Civa oranı en yüksek iki besinde ise gerek kendi aralarında gerekse kontrole göre bir fark yoktur. 20. günde en yüksek protein miktarı 10. ve 15. günün aksine, %14.41 ile %0.10 civa oranında elde edilmiştir. Besinin civa içerdiği her durumda protein miktarı kontrole göre önemli ölçüde artmıştır. Besindeki civa oranlarının %0.05, %0.50 ve %1.00 olması durumunda elde edilen veriler arasında önemli bir fark bulunamamıştır.

Yirmibeşinci günde en yüksek protein miktarı kontrol grubunda elde edilmiştir. Civalı besinlerin kendi aralarındaki verileri arasında bir fark göstermez iken, bütün konsantrasyonlar ergin erkek *P. turionellae* bireylerinin sentezlediği protein miktarlarını olumsuz yönde etkileyerek düşmesine neden olmuştur. 30. günde ise elde edilen veriler arasında herhangi bir fark bulunamamıştır.

*P. turionellae* ergin erkeklerdeki protein oranlarına denenen her bir civa derişiminin kendi arasında günlere göre etkileri Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2 de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Ergin *P. turionellae* erkeklerinin sentezledikleri protein miktarına farklı civa derişimlerinin günlere göre etkileri

| Civa (%) | Böcek Sayısı | Protein Miktarı (%)                 |                                     |                                     |                                     |                                     |
|----------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
|          |              | 10. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 15. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 20. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 25. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 30. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * |
| 0.00 **  | 4            | 11.84±0.49 b z                      | 10.16±0.43 b y                      | 7.74±0.22 a x                       | 13.64±0.05 b t                      | 12.67±0.44 a tz                     |
| 0.05     | 4            | 11.51±0.60 ab x                     | 12.86±0.51 c x                      | 11.71±0.48 b x                      | 12.68±0.65 ab x                     | 12.49±0.12 a x                      |
| 0.10     | 4            | 9.53±0.12 a y                       | 6.80±0.17 a x                       | 14.41±0.05 c t                      | 10.51±0.45 a y                      | 13.17±0.71 a z                      |
| 0.50     | 4            | 10.58±0.55 ab x                     | 11.12±0.51 b x                      | 11.42±0.25 b x                      | 12.53±0.72 ab x                     | 11.82±0.65 a x                      |
| 1.00     | 4            | 12.05±0.62 b y                      | 10.28±0.27 b x                      | 11.80±0.44 b y                      | 12.28±0.54 ab y                     | 13.30±0.17 a y                      |

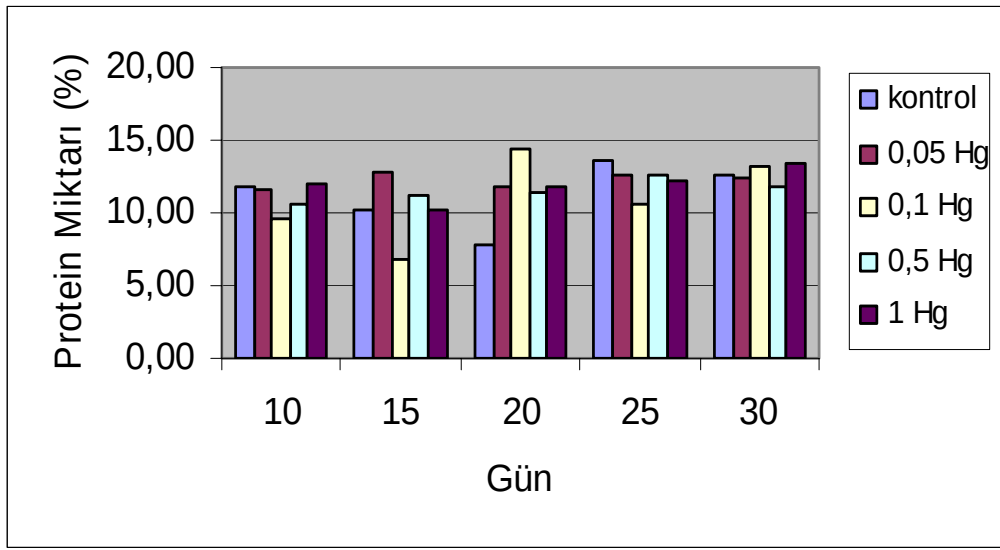
\* :SNK: a, b,c harfleri derişimleri, x, y, z, t harfleri günler arasındaki ayrımı belirtmek için kullanılmıştır. Aynı harfleri içeren veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistiki olarak ayrım yoktur

$\bar{X} \pm S\bar{x}$  : Aritmetik ortalama ± Standart hata

\*\* : Kontrol Besini

Besindeki civa oranının % 0.05 olması günlere göre erkek bireylerdeki protein miktarlarını değiştirmemiştir. Civa oranının %0.1 olduğu durumda 10 ve 25. günlerdeki veriler arasında fark olmaz iken söz konusu günlerdeki protein miktarı sadece 15. güne göre arttırmış diğer günlere göre ise azaltmıştır. 20. gündeki maksimum değerini 30. gündeki değer takip etmiştir.

En yüksek civa oranında 15. gündeki protein miktarı %10.28 ile diğer günlere göre bir düşüş gösterirken, diğer günler arasındaki değerler arasında fark yoktur.



şekil. 4.2 Besindeki farklı Hg oranlarının (%0.05, %0.10, %0.50, %1) *P. turionellae* ergin erkeklerinin sentezlediği protein miktarına günlere göre etkileri.

Besindeki farklı civa konsantrasyonlarının ergin dişi *P. turionellae* bireylerinin sentezlediği glikojen miktarına etkisi Çizelge 4.3 ve şekil 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Ergin *P. turionellae* dişilerinin sentezledikleri glikojen miktarına farklı civa derişimlerinin günlere göre etkileri

| Civa (%) | Böcek Sayısı | Protein Miktarı (%)                 |                                     |                                     |                                     |                                     |
|----------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
|          |              | 10. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 15. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 20. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 25. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 30. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * |
| 0.00 **  | 4            | 0.0146±0.0014 c yz                  | 0.0121±0.0006 c y                   | 0.0170±0.0007 b z                   | 0.0356±0.0007 d t                   | 0.0069±0.0007 a x                   |
| 0.05     | 4            | 0.0168±0.0002 d t                   | 0.0036±0.0005 a x                   | 0.0195±0.0003 c u                   | 0.0148±0.0002 b z                   | 0.0116±0.0004 b y                   |
| 0.10     | 4            | 0.0079±0.0002 b y                   | 0.0120±0.0010 c z                   | 0.0026±0.0002 a x                   | 0.0081±0.0001 a y                   | 0.0175±0.0007 c t                   |
| 0.50     | 4            | 0.0070±0.0002 b z                   | 0.0026±0.0002 a x                   | 0.0036±0.0001 e t                   | 0.0069±0.0001 a z                   | 0.0053±0.0003 a y                   |
| 1.00     | 4            | 0.0029±0.0001 a x                   | 0.0058±0.0002 b y                   | 0.0281±0.0004 d t                   | 0.0302±0.0007 c u                   | 0.0255±0.0007 d z                   |

\* :SNK: a, b, c, d, e harfleri derişimleri, x, y, z, t, u harfleri günler arasındaki ayrımı belirtmek için kullanılmıştır. Aynı harfleri içeren veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistiki olarak ayrım yoktur

$\bar{X} \pm S\bar{x}$  : Aritmetik ortalama ± Standart hata

\*\* : Kontrol Besini

Onuncu günde ergin dişilerden elde edilen veriler incelendiğinde kontrole göre sadece %0.05 civa içeren besin ile beslenen dişilerin glikojen miktarında bir yükselme meydana gelmiştir. Söz konusu besinden elde edilen glikojen miktarı %0.0168'dir. %0.05'lik besin dışında kalan besinlerde ise civa konsantrasyonu arttıkça glikojen miktarı azalmıştır. Glikojen miktarı; %0.10, %0.50 ve %1.00'lik besinlerde sırasıyla %0.0079, %0.0070 ve %0.0029 olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.3).

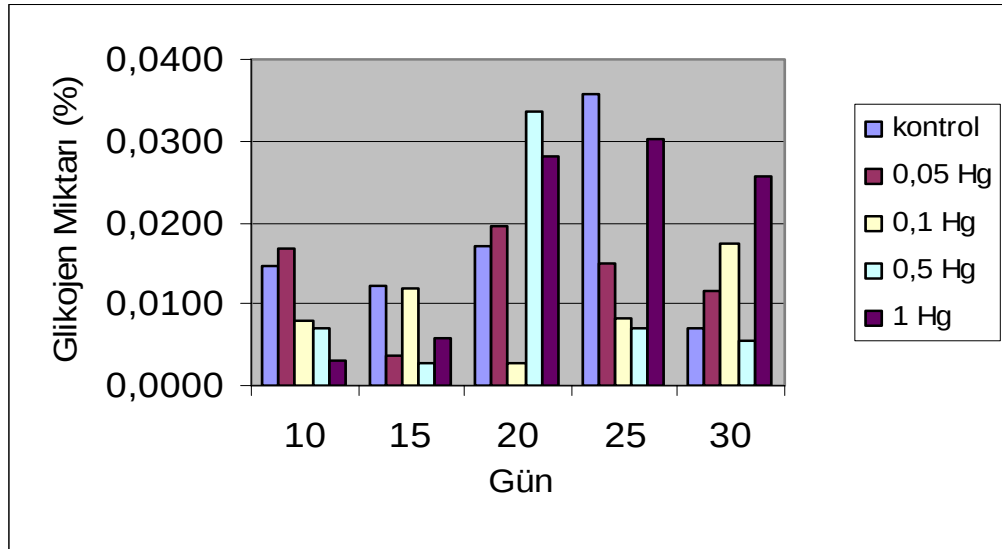
Ergin *P. turionellae* 15. gününde elde edilen veriler incelendiğinde kontrol ve %0.10 civa içeren besinlerde glikojen miktarları sırasıyla %0.0121 ve 0.0120 olup aralarında önemli bir fark yoktur. Söz konusu günde en az glikojen miktarı %0.0026'lık oranla %0.50 civa içeren besinde gözlenmiştir. Glikojen miktarları, %0.05 ve %1.00'lik besinlerde sırasıyla %0.0036 ve %0.0058 olarak kaydedilmiştir.

Glikojen miktarı 20 günlük ergin dişi *P. turionellae* bireylerinde dalgalanma göstermiştir. En yüksek glikojen miktarı %0.0281 ile %1.00 oranında civa içeren besinlerle beslenen dişilerde gözlenmiştir (çizelge 4.3). Söz konusu günde %0.05 konsantrasyonlu besin %0.0195'lik glikojen miktarı ile kontrole göre azda olsa bir yükselme göstermiştir. %0.10 ve %0.50'lik konsantrasyonlarda glikojen miktarı sırasıyla %0.0026 ve %0.0036'dır ve bu iki konsantrasyon arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Bu besinlerde glikojen miktarı kontrol ve diğer besinlere oranla önemli bir azalma göstermiştir.

Ergin dişi bireylerden 25. günde elde edilen veriler incelendiğinde en yüksek glikojen miktarı %0.0356 ile kontrol besininden elde edilmiştir. Denenen tüm civa derişimleri glikojen miktarlarını kontrole göre önemli düzeyde düşürmüştür. %1.00'lik besin hariç besindeki civa derişimleri arttıkça bu artışa zıt olarak glikojen miktarında azalma gözlenmiştir. %1.00 civa içeren besinle beslenen bireylerdeki glikojen miktarı %0.0302 olup bu oran kontrole göre düşüş, diğer konsantrasyonlara göre bir artış göstermektedir.

Otuzuncu günden elde edilen veriler incelendiğinde en yüksek glikojen miktarına %0.0255 ile %1.00'lik civa içeren besinle beslenen böceklerde rastlanmıştır. En az glikojen miktarları kontrol ve %0.50 civalı besinlerden elde edilmiştir. Denenen tüm konsantrasyonlardan elde edilen veriler arasında büyük farklar meydana gelmiştir. %0.005, %0.10 ve %0.50'lik besinlerde glikojen

miktarları sırasıyla %0.0116, %0.0175 ve %0.0053 olarak gözlenmiştir. Denenen civa oranlarından %0.50'den elde edilen glikojen miktarı kontrole göre herhangi bir etkide bulunmamıştır. Bununla birlikte diğer civa oranlarından elde edilen glikojen miktarlarında kontrole göre belirgin bir artış vardır.



Şekil 4.3 Besindeki farklı Hg oranlarının (%0.05, %0.10, %0.50, %1.00) *P. turionellae* ergin dişilerinin sentezlediği glikojen miktarına günlere göre etkileri.

*P. turionellae* ergin dişilerindeki oranlarına denenen her bir civa derişiminin kendi arasında günlere göre etkileri Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3 de verilmiştir.

Besinin %0.05 civa içermesi durumunda ergin *P. turionellae* dişilerinden elde edilen veriler incelendiğinde söz konusu bütün günlerden elde edilen veriler arasında istatistiki açıdan fark gözlenmiştir. Bu besin ile beslenen ergin dişilerden elde edilen en yüksek glikojen miktarına %0.0195 ile 20.günde, en düşük glikojen miktarına ise %0.0036 ile 15. günde rastlanmaktadır. Diğer günler olan 10, 25 ve 30. günlerde 15. güne göre glikojen miktarında önemli bir artış gözlenmiştir.

Besinin %0.10'luk derişimiyle beslenen ergin dişilerden elde edilen verilere göre 10. ve 25. günlerdeki glikojen miktarları sırasıyla %0.0079 ve %0.0081 olup söz konusu günler arasında önemli istatistiki bir farka rastlanmamıştır. Söz konusu besinde en yüksek glikojen miktarı %0.0175 ile 30. günden elde edilirken, en düşük

glikojen miktarı %0.0026 ile 20. günden elde edilmiştir. 15. günden elde edilen veriler incelendiğinde 20. güne göre önemli bir artış göstermiştir.

Besindeki civa oranının %0.50 olması glikojen miktarının dalgalı bir seyir izlemesine neden olmuştur. 10. ve 25. günlerden elde edilen glikojen miktarları arasında önemli bir fark olmaz iken bu günlerdeki veriler en yüksek glikojen oranlarını göstermektedir. En düşük glikojen miktarı %0.0026 ile 15. günden elde edilirken 20. günde %0.0036, 30. günde ise %0.0053 oranı elde edilmiştir.

Besinin %1.00 civa içermesi durumunda glikojen miktarı günlere göre önemli farklar göstermiştir. Söz konusu besinde en yüksek glikojen miktarına 25. günde, %0.0302 ile rastlanmıştır. En düşük glikojen miktarı %0.0029 ile 10. günde gözlenmiştir. 15, 20 ve 30. günlerden elde edilen veriler incelendiğinde glikojen miktarları sırasıyla %0.0058, %0.0281 ve %0.0255 olup 20 ve 30. günlerden elde edilen veriler 15. günden elde edilen verilere göre önemli bir yükselme göstermiştir.

Besindeki civa konsantrasyonlarına bağlı olarak ergin erkek *P.turionellae* bireylerinin sentezlediği protein miktarları Çizelge 4.4 ve şekil 4.4 de verilmiştir.

On günlük ergin *P. turionellae* erkeklerinin verileri incelendiğinde glikojen miktarlarında belirgin bir dalgalanma gözlenmektedir. Söz konusu günde en düşük glikojen miktarı %0.0049 ile %0.10'luk civa konsantrasyonda en yüksek glikojen miktarı ise %0.0123 ile besinin %0.50 oranında civa içermesi durumunda gözlenmiştir. %0.50'lik civa konsantrasyonu kontrole göre önemli bir artış göstermiştir. Kontrol ve %0.05'lik konsantrasyonda glikojen miktarı sırasıyla %0.0062 ve %0.0071 olup aralarında istatistik açıdan önemli bir fark gözlenmemiştir. %1.00'lik civa içeren besinle beslenen böceklerdeki glikojen miktarı ise %0.0097 olup bu miktar kontrol, %0.05 ve %0.10 civalı besinlerle beslenen böceklerdeki glikojen miktarından daha yüksektir.

Çizelge 4.4. Ergin *P. turionellae* erkeklerinin sentezledikleri glikojen miktarına farklı civa derişimlerinin günlere göre etkileri

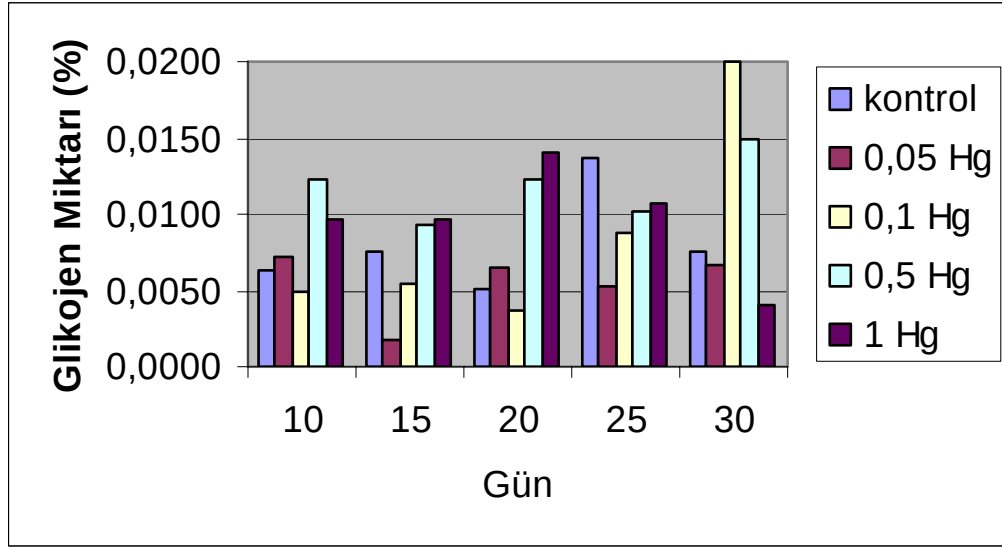
| Civa (%) | Böcek Sayısı | Protein Miktarı (%)                 |                                     |                                     |                                     |                                     |
|----------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
|          |              | 10. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 15. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 20. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 25. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * | 30. Gün<br>$\bar{X} \pm S\bar{x}$ * |
| 0.00 **  | 4            | 0.0062±0.0001 b y                   | 0.0075±0.0002 c z                   | 0.0051±0.0004 ab x                  | 0.0136±0.0002 d t                   | 0.0076±0.0002 a z                   |
| 0.05     | 4            | 0.0071±0.0003 b y                   | 0.0017±0.0001 a x                   | 0.0065±0.0008 b y                   | 0.0052±0.0003 a y                   | 0.0066±0.0003 a y                   |
| 0.10     | 4            | 0.0049±0.0003 a x                   | 0.0054±0.0004 b x                   | 0.0036±0.0001 a x                   | 0.0087±0.0003 b y                   | 0.0207±0.0011 b z                   |
| 0.50     | 4            | 0.0123±0.0003 d x                   | 0.0093±0.0002 d x                   | 0.0122±0.0008 c x                   | 0.0101±0.0005 c x                   | 0.0149±0.0037 c x                   |
| 1.00     | 4            | 0.0097±0.0003 c y                   | 0.0097±0.0002 d y                   | 0.0140±0.0004 c z                   | 0.0107±0.0003 c y                   | 0.0040±0.0003 a x                   |

\* :SNK: a, b, c, d, harfleri derişimleri, x, y, z, t harfleri günler arasındaki ayrımı belirtmek için kullanılmıştır. Aynı harfleri içeren veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistiki olarak ayırım yoktur

$\bar{X} \pm S\bar{x}$  : Aritmetik ortalama ± Standart hata

\*\* : Kontrol Besini





Şekil 4.4 Besindeki farklı Hg oranlarının (%0.05, %0.10, %0.50, %1) *P. turionellae* ergin erkeklerinin sentezlediği glikojen miktarına günlere göre etkileri.

Onbeşinci günde ergin *P. turionellae* erkeklerinden elde edilen veriler incelendiğinde %1.00 ve %0.50'lik konsantrasyonlarda glikojen miktarı en yüksektir. Bunlar sırasıyla %0.0097 ve %0.0093 olup aralarında istatistiki açıdan önemli bir fark yoktur. Kontrolle beslenen böceklerden elde edilen veriler incelendiğinde glikojen miktarı %0.0075 olarak saptanmıştır. Söz konusu günde en düşük glikojen miktarı %0.0017 ile %0.05'lik besinde gözlenmiştir. %0.10'luk besinden elde edilen glikojen miktarı ise %0.0054'tür. %0.05 ve %0.10'luk konsantrasyonlardaki glikojen miktarı kontrole göre belirgin bir düşüş göstermiştir(Çizelge 4.4).

Yirmi günlük *P. turionellae* erkekleri incelendiğinde kontrolden elde edilen glikojen miktarı %0.0051 olarak gözlenmiştir. 15 günlük böceklerde olduğu gibi 20 günlük böceklerde de en yüksek glikojen miktarlarına besinin %1 ve %0.50'lik konsantrasyonlarında rastlanmaktadır. Söz konusu konsantrasyonlardan elde edilen glikojen miktarları sırasıyla %0.0140 ve %0.0122 olup bu iki oran arasında önemli bir fark gözlenmemektedir. Söz konusu bu iki konsantrasyon kontrole göre belirgin bir artış göstermiştir. %0.005'lik konsantrasyonla beslenen ergin erkeklerden elde edilen glikojen miktarı %0.0065 olup kontrole göre azda olsa bir artış gözlenmiştir, fakat bu artış istatistiki açıdan önemli değildir. Denenen konsantrasyonlardan, glikojen miktarının azalmasına neden olan tek konsantrasyon %0.10'luk

konsantrasyon olup bu konsantrasyondan elde edilen glikojen miktarı %0.0036'dır(Çizelge 4.4).

15 ve 20 günlük böceklerden elde edilen verilerin aksine 25 günlük böceklerde, en yüksek glikojen miktarına %0.0136 ile kontrol besininde rastlanmaktadır. En düşük glikojen miktarı ise %0.0052 ile %0.05'lik besinde gözlemlenmiştir. %0.05'lik konsantrasyondan sonra besinin içerdiği civa konsantrasyonu arttıkça glikojen miktarı da artmaktadır. Söz konusu konsantrasyonlar %0.10, %0.50 ve %1.00 olup bu konsantrasyonlardan elde edilen glikojen miktarları sırasıyla %0.0087, 0.0101 ve 0.0107'dir. Bunlardan %0.50 ve 1.00'lik konsantrasyonlar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark olmamasına rağmen kontrol besinine göre önemli bir fark elde edilmiştir.

Otuz günlük ergin *P. turionellae* erkek bireylerinden elde edilen veriler incelendiğinde en düşük glikojen miktarı %0.0040 olup, bu değer %1.00'lik civa konsantrasyonunda elde edilmiştir. Kontrol ve %0.05'lik konsantrasyondan elde edilen glikojen miktarları, sırasıyla %0.0076 ve 0.0066 olup bu iki konsantrasyon arasında önemli istatistiki bir farka rastlanmamıştır. Otuzuncu günde en yüksek glikojen miktarı %0.10'luk civa konsantrasyonunda %0.0207 olarak saptanmıştır. Diğer konsantrasyon olan %0.50'lik civa içeren besinden elde edilen glikojen miktarı %0.0149 olup, kontrole göre önemli bir artış göstermiştir.

*P.turionellae* ergin erkeklerindeki glikojen oranlarına denenen her bir civa derişiminin kendi arasında günlere göre etkileri Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4 de verilmiştir.

Civanın %0.05'lik derişimiyle beslenen ergin erkeklerden elde edilen verilere göre en düşük glikojen miktarı %0.0017 ile 15. günden elde edilmiştir. Söz konusu besinde glikojen miktarı sadece 15. günde bir düşüşe neden olmuştur diğer günler arasında önemli bir fark gözlenmemiştir.

Ergin *P.turionellae* erkeklerinin %0.10 civa içeren besinle beslenmesinden elde edilen veriler incelendiğinde 10, 15 ve 20. günden elde edilen veriler sırasıyla %0.0049, 0.0054 ve 0.0036 olup, aralarında istatistiki olarak önemli bir fark gözlenmemektedir. %0.50'lik civalı besinden elde edilen veriler incelendiğinde

günlere göre elde edilen glikojen miktarları arasında önemli bir farka rastlanılmamıştır.

Civanın %1.00'lik derişimi ile beslenen ergin erkeklerden elde edilen veriler incelendiğinde 10, 15 ve 20. günden elde edilen glikojen miktarları sırasıyla %0.0097, %0.0097 ve %0.0107 olup aralarında önemli bir fark bulunamamıştır. Söz konusu besinde en düşük glikojen miktarı %0.0040 ile 30. günden, en yüksek glikojen miktarı ise %0.0140 ile 20. günden elde edilmiştir.

## 5. TARTIŞMA

Sunulan bu çalışmada %0.05, %0.10, %0.50 ve %1.00 derişimlerdeki civanın ergin *P.turionellae*'nin sentezlediği protein ve glikojen miktarlarına etkileri araştırılmıştır.

Biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan *P .turionellae*'nin doğadaki sürekliliği diğer endoparazitik hymenopter türlerinin çoğunda olduğu gibi embriyo gelişimi, yumurta açılımı, larva gelişimi, pupa oluşumu ve ergin çıkma oranları gibi fizyolojik gelişme periyoduna bağlıdır. Bu nedenle biyolojik mücadelede kullanılmak üzere kitle halinde üretimi amaçlanan bu grupların istenilen seviyede avantajlı olabilmesi için her gelişme düzeyinde bireylerin çevre şartlarına karşı duyarlılık sınırlarının iyi bilinmesi gerekmektedir. Bundan dolayı gerek omurgalı gerek omurgasız türlerdeki ağır metal birikimleri ekosistemdeki önemli problemlerden biridir.

Ekosistemde bulunan toksik etkili metallerin dinamik yapıları ve metabolik işlevleri aslında fazla bilinmeyen gerçeklerden biridir. Özellikle bir metalin dış sistem ile alınması, canlı vücudunda biyotransformasyonu ve vücut tarafından eliminasyonu gibi metabolik her bir metal türüne göre tam olarak anlaşılması oldukça önem taşımaktadır. Çünkü toksik etkili maddelerin canlılar tarafından alınması, metabolik süreçler ve sentez olaylarında önemli bazı değişmelere neden olur. Ayrıca toksik etkili metallerin metal bağlayıcı proteinler olarak bilinen glikoproteinler ve metallothionein ile canlı vücudunda bağlanarak bu etkilerini gösterdiği (Hopkin 1989) bilinen gerçeklerdendir.

Kadmiyum ve civa, yüksek derecede toksik etkili çevresel kontaminantlar olarak bilinmekle beraber, özellikle civa, toksisitesi en fazla olan grubu oluşturmaktadır (Braeckman ve ark., 1997 ; Braeckman ve ark., 1998). Biyokimyasal düzeyde bu metallerin neden olduğu olumsuz etkiler arasında ATP ve ADP'nin fosfat gruplarıyla olan reaksiyonlarıyla, hücre membranlarının zarar görmesi, sülfhidril gruplarıyla olan reaksiyonları, esas iyonların yerine geçmeleri ve esas metabolitlerle rekabet etmeleri sayılabilir (Gregory, J.L., 1997).

Böceklerin doğal ekosistemlerinden metal asimilasyonunu besin yoluyla gerçekleştirdikleri, alınımı, fizyolojik mekanizması ve vücuttan atılma şeklinin türe özgü olmasının yanı sıra bazı yaşamsal parametrelere de bağlı olduğu bilinmektedir (Rabitsch, 1995). Buna ek olarak her türün, hayat döngüsü içinde temel ve temel olmayan iz metallere ihtiyacı da farklı olabilir. Bu metallerin hücreye pasif difüzyon, aktif transport, endositoz ve iyon pompalama sistemi gibi besinsel kontaminasyon yoluyla taşınmasının yanı sıra hangi konsantrasyonlarda hangi etkilere neden olduğu da açıkça belirlenmelidir. Bu amaçla sunulan bu çalışmada civa ( $Hg^{+2}$ )’ün farklı derişimleri her bir deney grubuna ayrı ayrı olarak uygulanmıştır.

Farklı derişimlerde civa içeren besinlerle beslenen ergin *P. turionellae* dişi ve erkeklerinde sentezlenen protein ve glikojen miktarlarından elde edilen veriler incelendiğinde, civa’nın dişi bireylerin sentezlediği protein miktarını artan derişimlere göre, erkek bireylerin sentezlediği protein miktarına göre daha fazla etkilediği sonucu ortaya çıkmaktadır.

Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre sentetik besine ilave edilen civa klorürün %0.05, %0.10 ve %0.50 derişimlerinin uygulandığı gruplarda ergin dişinin sentezlemiş olduğu protein miktarının azalması, aynı derişimde günlere göre (15. ve 25. günler) yaklaşık benzer etkilerin olması bununla birlikte %1.00’lik derişimde 10. ve 25. günlerde kontrole göre önemli bir artışın olması civanın düşük derişimlerinin dişi böceklerin protein sentezi üzerinde negatif yönde etkili olduğu, en yüksek doz olan %1.00’lik civa ise pozitif yönde etkili olduğu kanısını doğurmaktadır. Buna karşılık 20. ve 30. günlerde bütün konsantrasyonlarda inişli çıkışlı değerler göstermesi de böceğin günlere göre göstermiş olduğu gelişim periyoduna bağlanabilir. Bununla beraber bahsedilen gün ve metal derişimleri dikkate alındığında erkek *P. turionellae*’nin sentezlemiş olduğu protein miktarlarına civa klorürün benzer etkiler yapmaması da, böceğin eşey tipine, hücre ve dokularda yaptığı farklı etkilere bağlanabilir.

Böceklerde yapılan tüm çalışmalar, değişik yapıdaki metallerin aynı türün farklı cinslerinde bile değişik etkiler yapmasının yanı sıra, metalin hücre içine alınım mekanizması ve birikimi de hücre tipi ve türüne bağlı olarak benzer özellikler göstermektedir. Metallerin alınım kinetiği ile yapılan çalışmalarda; civanın bütün

bileşiklerinin ( $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{MeHgCl}_2$ ) en düşük subletal dozlarının bile canlılarda toksik etkili olduğu (Van Straalen ve Verkleij, 1993), Hg ve MeHg (metil civa) gibi aynı metalin farklı komplekslerinin bile sıcaklığa bağlı olarak hücre içine pasif ve aktif iletim yolu ile farklı şekillerde alındığı (Braeckman ve ark.,1998) toksik kinetik çalışmaları ile ortaya çıkarılmıştır. Metalin pasif alınımında, difüzyonla hücredeki kanalların kullanılarak iyon pompalanması, reseptörler aracılığı ile veya endositoz yolu ile gerçekleştiği halde aktif alım için ATP'nin gerekli olması ve buna bağlı olarak oksidatif fosforilasyonun engellenerek ATP sentezinin bloke edilmesi (Kerper, 1996; Ballatori ve Truong, 1995) sunulan çalışmada aynı türün dişi ve erkeklerinde ağır metalin farklı dozlarına karşı sentezlenen protein miktarlarının neden farklı düzeylerde olduğunu destekleyen bir bulgudur.

Diğer taraftan civa toksisitesi üzerine hem omurgalı hem de omurgasız türler üzerinde yapılan tüm çalışmalarda (Walton, 1989; Hare, 1992), metalin hücreye alınımında pasif difüzyon ile aktif transport gibi farklı yollarının olmasının yanı sıra pasif difüzyonda sıcaklığın gerekli olmaması buna karşılık aktif transportta sıcaklığın gerekli olması ve ATP sentezinin buna bağlı olarak bloke edilmesi (Shaikh ve ark., 1995) farklı transport (taşınma) yolları denenerek özellikle böceklerde bulunmuş verilerden biridir.

Artan civa derişimlerinin ergin *P. turionellae* dişi ve erkekğinde sentezlenen protein miktarlarına etkileri böyle iken, aynı metalin benzer derişimlerinin dişi ve erkeklerdeki glikojen miktarlarında ekstrem sonuçlar göstermektedir. Glikojen miktarının artan metal konsantrasyonlarına göre düşüş göstermesi böceklerin enerji rezervi olarak kullandıkları glikojen sentezi için gerekli olan ATP'nin sentezlenememesinin bir sonucu olarak ortaya çıkabilir. Erkek böcek de 15. ve 20. günlerde artan derişim oranlarında (%0.50 ve %1.00) sentezlenen glikojen miktarlarının kontrole göre yüksek olması, böceğin belli gelişim periyodunda artan metal derişimlerinin sentez olayını stimüle ettiğini göstermektedir. Metaller üzerine yapılan çalışmalarda, düşük dozların canlı üzerinde inhibe edici etkiler oluşturmalarının yanı sıra, artan dozların ve özellikle subletal dozların üzerindeki değerlerin canlının sentez mekanizmasını stimüle edici etkiler yapması (Gregory, 1997), ömür uzunluğunu kısaltması ve anormal gelişmelere neden olması metallerin

hücre ve dokulardaki yüksek permeabiliteyi önleyerek biyolojik bariyer olarak iş görmelerinden (Boudou ve Ribeyre, 1997) ileri gelmektedir. Aynı zamanda civanın da kadmiyum gibi protein sentez oranını azaltma etkisi bilinmektedir (Viarengo ve ark., 1980; Clarkson, 1994). Bu durum gerek kadmiyumda gerekse civada, metalin absorpsiyondan sonra vücut içine alınması ve sülfhidril gruplarına bağlanarak kompleks oluşturması ile yakından ilişkilidir. Bundan dolayı metallerin bir enzim inhibitörü gibi çalıştıkları düşünülebilir. Tüm toksik etkili metallerin (Pb, Cu, Cd, Zn, Hg) hücrenin sindirim sistemindeki lizozomlarda depolanabilmesi ve bu metallerin canlıda enzimler ve granüller ile birikim yapabilmesi (Maroni ve Watson, 1985) ağır metalleri etkili bir enzim inhibitörü olarak düşünmemize neden olmaktadır.

Benzer şekillerde ağır metallerden, böcek türlerinde larval mortalite üzerindeki özellikle Cu, Cd, Hg'nın geniş spektrumlu etkilerinin oluşu, bazen de bu metallerin kompleks halinde böcek ve canlı türler üzerinde antagonistik etkiler yapması (Hare, 1992; Shaikh ve ark., 1995) bir metalin canlı üzerindeki fizyolojik, sitogenetik, ve biyokimyasal etkilerini göstermesi açısından oldukça önemlidir.

Çalışma sonucunda ergin *P.turionellae* dişi ve erkeklerinde sentezlenen protein miktarlarında, özellikle dişi bireylerde düşük derişimlerde negatif, yüksek derişimlerde ise belirli günlerde pozitif etkili olmakla beraber erkek de belirgin bir fark bulunmamıştır. Sentezlenen glikojen miktarlarında ise hem dişi hem de erkek de dalgalanan ekstrem sonuçlar elde edilmiştir. Civa klorürün bu tip etkileri büyük bir olasılıkla böcek eşey yapısı, sitogenetik ve fizyolojik yapısı ile ilgili olarak açıklanabilir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sunulan çalışmada civa gibi toksisitesi yüksek bir ağır metalin ergin *P. turionellae* L. dişi ve erkeklerinde protein ve glikojen sentezi üzerine etkileri araştırılmış ve sonuç olarak kullanılan metal derişimlerinin artan oranlarının dişi böceklerin sentezledikleri protein oranlarını artışa bağılı olarak besinsel regülasyonunda önemli derecede farklı etkiler gösterdiği, buna karşılık erkek böceklerde ise gerek protein sentezinde gerekse glikojen sentezinde benzer etkiler göstermediği belirlenmiştir.

Sonuç olarak; civa klorürün değışen konsantrasyonları *P. turionellae* L.'nin dişi ve erkeğinde sentez mekanizmasında farklı etkilere neden olmaktadır. Genel olarak toksik etkili civa ve buna benzer ağır metallerin aktif veya pasif yollarla membrandan hücre içine alınarak, başta protein ve glikojen sentezi olmak üzere, enerji üretimi ve enzim sentez mekanizmalarını engelleyerek metabolik bozukluklara neden oldukları bilinmektedir. Aynı zamanda bu tür metallerin DNA, ATP ve ADP'nin fosfat gruplarıyla olan reaksiyonları, hücre membranlarına verdikleri zarar, sülfhidril gruplarıyla olan reaksiyonları, esas iyonların yerine geçerek temel metabolitlerle rekabet etmeleri nedeniyle toksik etkilerinin artması da bilinen gerçeklerdendir. Bununla birlikte yüksek toksisiteye sahip olan civanın yüksek derişimlerinde ergin *P. turionellae* L.'nin gerek dişi gerekse erkekde protein ve glikojen sentezini arttırması, bu oranın sentez mekanizmasını stimüle edici bir etki yarattığı sonucunu doğurmaktadır.

Sunulan çalışmadan elde edilen sonuçların daha sağlıklı değıerlendirilebilmesi, Cd, Hg ve MeHg gibi ağır metallerin tüm böcek türleri üzerindeki birikim, taşınma ve etki mekanizmalarının çok iyi anlaşılması ile mümkün olabilir. Bu nedenle metal alınıminin toksikolojik sonuçlarının da araştırılmasını gerektiren çalışmalara ihtiyaç vardır.

Mevcut çalışmalar, farklı besinsel yollarla civa alınıminin besin zincirinde ve sentez mekanizmalarında etkili olabileceğini göstermekle birlikte civa ve benzer toksik etkili ağır metallerin tüm parazitoid böceklerde dikkatle çalışılması gereken problemler olduğunu ortaya koymaktadır.



Bu konularda daha sağlıklı değerlendirmelerin yapılabilmesi için şu ana kadar yapılan benzer çalışmaların yanı sıra ağır metallerin böcek türleri üzerindeki biyokimyasal ve fizyolojik etkilerinin daha ayrıntılı olarak çalışılması; anatomi, fizyoloji, moleküler biyoloji ve biyokimya gibi bilimlerin kombineli olarak belli bir manipülasyonla bu tür çalışmaların tüm ayrıntılarını ortaya koyarak açıklayacağından önemli olduğunu da vurgulamak isteriz.

## KAYNAKLAR

- BALLATORI, N., and TRUONG, A.T. 1995. Multiple Canalicular Transport Mechanisms for Glutathione S-conjugates. *J. Biol. Chem* 270, 3594-3601.
- BEATY, B.J., and MARQUARDT, W.C. 1996. *The Biology of Disease Vectors*. Univ. Pres of Colorado, Niwot.
- BRAECKMAN, B., RAES H., and VAN HOYE, D. 1997a. Heavy-Metal Toxicity in an Insect Cell Line. Effects of Cadmium Chloride on Cell Viability and Proliferation in *Aedes albopictus* Cells. *Cell Biol. Toxicol.* 13, 389-397.
- BRAECKMAN, B., SIMOENS, C., RZEZNIK, U., and RAES, H. 1997b. Effect of Sublethal Doses of Cadmium, Inorganic Mercury and Methylmercury on the Cell Morphology of an Insect Cell Line (*Aedes albopictus*, C6/36)..*Cell Biology International*, Vol. 21, No. 12, 823-832
- BRAECKMAN, B., CORNELIS, R., RZEZNIK, U., and RAES, H. 1998. Uptake of Mercuric Chloride and Methylmercuric Chloride in an Insect Cell Line (*Aedes albopictus*, C6/36). *Environmental Research, Section a* 79, 33-40
- BOUDOU, A., and RIBEYRE, F. 1997. Mercury in the Food Webs: Accumulation and Transfer Mechanisms. In "Mercury and Its Effect on Environment and Biology," Series "Metal Ions in Biological Systems," (H. Sigel and A. Sigel, Eds.), Vol. 34, pp. 289-319. Dekker, New York.
- CLARKSON, T. W. 1994. The Toxicology of Mercury and Its Compounds. In "Mercury Pollution: Integration and Synthesis" (C.J. Watias and J.W. Huckabbe, Eds.), pp. 631-642. Lewis, Boca Raton, FL:
- CRAWFORD, L.A., LEPP, N.W. and HODKINSON, I.D., 1996. Accumulation and Egestion of Dietary Copper and Cadmium by the Grasshopper *Locusta migratoria* R&F (Orthoptera:Acrididae). *Environ. Pollut.* 92: 3, 241-246.
- DADD, R.H., 1973. Insect Nutrition: Current Developments and Metabolic Implications. *Ann. Rev. Ent.* 18, 381-420.
- EMRE, İ., 1988. Meridik Bir Besinin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) Ergin Dişilerinin Yumurta Verimine Etkisi. *Doğa Tu. Biyol.* 12(2) 101-105.

- EMRE, İ. ve YAZGAN, Ş., 1990. Besin Bileşenlerinin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera:Ichneumonidae)'nin Üremesi Üzerine Etkileri. *Doğa-Tr. J. of Biology*, 14, 96-104.
- GREGORY, J.L.,1997. The Effect of Cadmium on Cytosolic Free Calcium, Protein Kinase and Collogen Synthesis in Rat Osteosarcoma (Ros 17/2.8) Cells. *Toxicol. And App. Pharmacol* 143, 189–195.
- HARE, L., 1992. Aquatic Insects and Trace Metals: Bioavailability, Bioaccumulation and toxicity, *Crit. Rev. Toxicol.* 22, 327-369.
- HOPKIN, S.P., 1989. *Ecophysiology of Metals in Terrestrial Invertebrates*. Elsevier, London, UK.
- HOUSE, H.L., 1962. Insect Nutrition *Ann. Rev. Biochem.* 31, 653–672.
- HOUSE, H.L., 1972. Insect Nutrition: *In Biology of Nutrition*, I.E.F.N. Vol. 18. edited by R.N.Fiennes. *Pergamon Press. Oxford and New York*. Chapter 17 Pages 517–573.
- HOUSE, H.L., 1974. Nutrition in the Pysiology of Insecta Vol. V. Edited by M. Rockstein *Academic Pres. New York*. PAgess. 1–62.
- HOUSE, H.L., 1977. Nutrition of Natural Enemies. In *Biological Control by Augmentation of Natural Enemies*, ed by R.L. Ridgway and S.B. Vinson, pp 151-182, Plenum Publishing Corporation.
- IRWIN, R.J., 1997. *Environmental Contaminants Encyclopedia*. National Park Service. Page:250. Colorado.
- JACOB, P.J. and MORUGAN, K., 1989. Impact of Natural and Artificial Diet on the Feeding and Reproduction in Two Species of Acridids (Orthoptera: Insecta) *entomon.* 15, (3)., 221-226.
- KAZIMIROVA, M. and ORTEL, J., 2000. Metal Accumulation by *Ceratitis capitata* (Diptera) and Transfer to the Parasitic Wasp *Coptera occidentalis* (Hymenoptera). *Environ. Toxicol. And Chem.* 19: (7) 1822–1829.
- KERPER, L.E., MOKRZAN, E.M., CLARKSON, T:w:, and BALLATORI, N., 1996. Methylmercury Efflux From Brain Capillary Endothelial Cells is Modulated by Intracellular Gluthione But Not ATP. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 141, 526-531

- MARONI, G. and WATSON, D., 1985. Uptake and Binding Of Cadmium, Copper and Zinc by *Drosophila melanogaster* Larvae. *Insect Biochemi.* 15, 55-63.
- ORTEL, J., 1991. Effects of Lead and Cadmium on Chemical Composition and Total Water Content of Pupal Parasitoid *Pimpla turionellae*. *Entomologia experimentalis et applicata.* 59:1, 93–100.
- ORTEL, J., 1995a. Accumulation of Cd and Pb in Successive Stages of *Galleria mellonella* and Metal Transfer to the Pupal Parasitoid *Pimpla turionellae*. *Entomologia experimentalis et applicata.* 77:1, 89–97.
- ORTEL, J., 1995b. Changes in Protein – Content and Free Amino Acid Composition in Metal Contaminated Gypsy-Moth Larvae (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepidoptera). *Comparative Biochemistry and Physiology C- Pharmacology Toxicolgy Endocrinology.* 112;3, 291–298.
- ORTEL, J., 1996. Metal Supplemented Diets After Carbohydrate-Levels in Tissue and Hemolymph of Gypsy-Moth (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepidoptera). *Environ. Toxicol. And Chem.* 15:7, 1171–1176.
- ORTEL, J. and VOGEL, W.R., 1989. Effects of Lead and Cadmium on Oxygen Consumption and Life Expectancy of The Pupal Parasitoid *Pimpla turionellae*. *Entomologia experimentalis et applicata.* 52:1, 83–88.
- ÖZALP, P. ve EMRE, İ., 1992. Suda Çözünen Vitaminlerin Ergin *Pimpla turionellae* L.'nin Yumurta Üretimi ve Açılımı Üzerine Etkileri. *Doğa Tr. J. Zoology*, 40, 371-374.
- PLUMMER, D.T., 1971. “An Introduction of Practical Biochemistry”. McGraww-Hill Book Comp., U.K.
- RABITSCH, W.B., 1995. Metal Accumulation in Arthropods Near a Lead / Zinc Smelter in Arnoldstein, Austria. I. *Environ. Pollut.* 90:2, 221–237.
- RABITSCH, W.B., 1997. Tissue-Specific Accumulation Patterns of Pb, Cd, Cu, Zn, Fe and Mn in Workers of Three Ant Species (Formicidae, Hymenoptera) from a Metal-Polluted Site. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 32, 172-177.
- RAYMS-KELLER, A., OLSON, K.E., MCGAW, M., ORAY, C., CARLSON, J.O. and BEATY, B.J., 1998. Effect of Heavy Metals on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Larvae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 39, 41-47

- ROE, H.J., BATLEY, J.M., GRAY, R.R. and ROBINSON, J.N., 1961. Complete Removal of Glycogen from Tissues by Extraction with Cold Trichloroacetic Acid Solution. *J. Biol. Chem.*, 236, 1224-1246.
- ROHLF, J.F. and SOKAL, R.R., 1969. "Statistical Tables". W.H. Freeman and Company, San Francisco
- SHAIKH, Z.A., BLASKA, M.E., and ENDO, T. 1995. Metaltransport in Cells: Cadmium Uptake by Rat Hepatocytes and Renal Cortical Epithelial Cells. *Environ. Perspect. 103(Suppl)*, 73-75.
- SNEDECOR, G.W. and COCHRAN, W.G., 1967. "Statistical Methods". 6<sup>th</sup> ed. Ames, Iowa, USA, Iowa State University Pres.
- SOKAL, R.R. and Rohlf, F.J., 1969. "Biometry". W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- THOMPSON, S.N. and HAGEN, K.S., 1999. Nutrition of Entomophagous Insect and Other Arthropods, In the hand book of Biological Control, Ed. By Thomas et al., *Academic Press*. Chapter 22, 594–652.
- TRAGER, W., 1953. Nutrition in Insect Physiology, ed by Roeder, K.D., 350-386, Academic Pres, New York.
- TSIROPOULOS, G.J., 1992. Feeding and Dietary Requirements of the Tephritid Fruit Flies, *Advances in Insect Rearing for Research and Pest Managment*. Edited by Thomas E.A. and Norman C.L., *In Westview Press*. Chapter 7, 93–118.
- TÜRKAN, İ., 1995. Comparision of Moss and Bark Samples as Biomonitors of Heavy Metals in a Highly Industrialised Area in İzmir, Turkey. *The Science of the Total Environment*. 166, 61–67.
- VAN STRAALLEN, N.M., and VERKLEIJ, J.A.C. 1993. "Leerboek Oecotoxicologie," 2nd ed., VU Uitgeverij, Amsterdam.
- VIARENGO, A., PERTICA, M., MANCINELLI, G., CAPELLI, R. and ORUNESU, M., 1980. Effects of Copper on the Uptake of Amino Acids on Protein Synthesis and on ATP Content in Different Tissues of *Mytilus galloprovincialis* Lam. *Mar. Environ. Res.* 4, 745–752.

- VUORI, K-M., and KUKKONEN, J., 1996. Metal Concentrations in *Hydropsyche pellucidula* Larvae (Trichoptera, Hydropstchidae) in Relation to the Anal Papillae Abnormalities and Age of Exocuticle. *Wat. Res.* 30:10, 2265–2272.
- WALTON, B.T., 1989. Insects as Indicators of Toxicity, Bioaccumulation and Bioavailability of Environmental Contaminants. *Environ. Toxicol. Chem.* 8, 649-658.
- WHO, 1990. Environmental Health Criteria 101: Methylmercury. World Health Organization, Geneva.
- WHO, 1991. Environmental Health Criteria 118. Inorganic mercury. World Health Organization, Geneva.
- WHO, 1992. Environmental Health Criteria 134. Cadmium. World Health Organization, Geneva.
- WYATT, G.R., LOUGHHEED, T.C. and WYATT, S.S., 1956. The Chemistry of Insect Hemolymph of the Silkworm, *Bombyx mori*, and Two Other Species, *J. Gen. Physiol.*, 39, 853-868.
- YAZGAN, Ş., 1981. A Meridic Diet and Quantitative Effect of Tween 80, Fatty Acid Mixtures and Inorganic Salts on Development and Survival of the Endoparasitoid *Pimpla turionellae* L. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* H.5,S.433–441

## **ÖZGEÇMİŞ**

1980 yılında Adana’da doğdum ilk, orta ve lise eğitimimi Adana’da tamamladım. 2002 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitimimi tamamladım ve aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans çalışmalarına başladım.