

**NİKLOZAMİDİN *GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA:
PYRALIDAE)'NİN BAZI BİYOLOJİK VE FİZYOLOJİK
ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ**

Selver KAYAOĞLU

**Bülent Ecevit Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalında
Yüksek Lisans Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

ZONGULDAK

Ocak 2013

KABUL:

Selver KAYAOĞLU tarafından hazırlanan “NİKLOZAMİDİN *GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)’NİN BAZI BİYOLOJİK VE FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir. 14/01/2013

Başkan : Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL (BEÜ)



Üye : Doç. Dr. Ayşe KAPLAN (BEÜ)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Tolga ACUN (BEÜ)



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. .../.../2013



Prof. Dr. Özden ÖZEL GÜVEN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

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


Selver KAYAOĞLU

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

NİKLOZAMİDİN *GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)'NİN BAZI BİYOLOJİK VE FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

Selver KAYAOĞLU

Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

Ocak 2013, 57 sayfa

Salisilanilidler (ör. Niklozamidler) barsak şeridi gibi parazitlerin mitokondrisinde oksidatif fosforilasyonu inhibe ederek etkisini gösterirler ve bu antiparazitik ilaçlar tıpta ve veterinerlikte kullanılmaktadır. Niklozamidin potansiyel antihelmintik aktivitesi memelilerde iyi bir şekilde ortaya konulmuş, bu çalışmada da *Galleria mellonella* larvaları kullanılarak niklozamidin in vivo insektisit etkisi araştırılmıştır. Niklozamid, 7. evre larvaları, pup, ergin evrelerinin yaşama oranını önemli derecede düşürürken, en yüksek konsantrasyonu (% 1,0) ergin gelişme süresini önemli derecede uzatmıştır. % 0,1'lik niklozamid ile beslenildiğinde, dişilerin yumurta verimi yükselmiştir; bunun yanı sıra en yüksek konsantrasyonda (% 1,0) hiç yumurta elde edilememiştir. Niklozamidin en yüksek konsantrasyonunda (% 1,0) erkek ergin ömür uzunluğu artmıştır. Ayrıca, niklozamid yumurta açılımını da denenen tüm konsantrasyonlarda önemli oranda düşürmüştür. % 0,1'lik niklozamid konsantrasyonunda malondialdehit (MDA) miktarı 4 kat, glutatyon-S-transferaz enzimi (GST) aktivitesi ise 2 kat artmıştır. Kontrol besinine göre ($133,24 \pm 23,6$ nmol/mg protein) niklozamidin denenen

Özet (devam ediyor)

konsantrasyonları protein karbonil (PCO) miktarını en az 5 kat (701,24 - 808,02 nmol/mg protein) önemli derecede arttırmıştır. Bu çalışmada *Galleria mellonella* model böcek olarak kullanılarak, böceklerle mücadelede belirli klinik öneme sahip antihelmintik ilaçların aktif şekilde kullanılabilirliği belirtilmiştir. Ayrıca, bu çalışmanın sonuçları niklozamidin prooksidan etkisine bağlı olarak biyolojik ve aynı zamanda böceğin antioksidan savunma cevabı üzerine negatif etkisi olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Galleria mellonella*, niklozamid, yaşama oranı, malondialdehid, protein karbonil, Glutasyon S-transferaz, beslenme

Bilim Kodu: 401.02.01

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

THE EFFECT OF NICLOSAMIDE ON SOME BIOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF *GALLERIA MELLONELLA* L. (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)

Selver KAYAOĞLU

Bülent Ecevit University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Ender BÜYÜKGÜZEL

January 2013, 57 pages

The salisilanilides (e.g. niclosamide) function by inhibiting mitochondrial oxidative phosphorylation in parasitic tapeworms and thus they are used as an antiparasitic drug in medicine and veterinary. While the potent antihelmintic activity of niclosamide has been well characterised in mammals, this study investigated the in vivo insecticide effect of niclosamide using larvae of the insect *Galleria mellonella*. Niclosamide was successful in decreasing the survival of 7th instar larvae, pupal and adult stages while only the highest concentration of this antihelmintic antibiotic (1.0 %) significantly prolonged developmental time to adult stage. Females also increased their fecundity when reared with 0.1% of niclosamide. On the other hand, we could not obtain any egg in (1.0 %) concentration. An increase in the male adult longevity was obtained when reared with the highest concentrations of niclosamide. Niclosamid rearing resulted in an decrease in hatchability of eggs. Niclosamide at 0.1 % of concentration increased MDA content (4-fold), GST activity (2-fold). Relative to control (133.24 ± 23.6 nmol/mg protein), niclosamide at tested concentrations significantly increased

ABSTRACT (continued)

PCO content at least 5-fold (701.24- 808.02 nmol/mg protein). This work indicates that *G. mellonella* larvae may be used as a good model to ascertain importance of clinically important antihelmintic drug active ingredients in chemical management of pest insects. The results of this work also indicate the negative effects of niclosamide on insect biology is due to its pro-oxidant properties and also to the ability of niclosamide in crippling the insect's antioxidant defence response.

Key Words: *Galleria mellonella*, niclosamide, survivorship, malondialdehyde, protein carbonyl, Glutathione S-transferase, nutrition

Science Code: 401.02.01

TEŞEKKÜR

Bu konuda bana çalışma fırsatı veren, araştırma sırasında ilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam, Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL'e (BEÜ), çalışmamın her aşamasında değerli öneri ve bilgilerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e (BEÜ), teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Çalışmamın deneysel ve yazma aşamasında moral desteği ve yardımlarını esirgemeyen aileme ve yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (PROJE NO: 2012-10-06-09).

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
 BÖLÜM 1 GİRİŞ	 1
 BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER VE YAPILAN ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	 7
 BÖLÜM 3 MATERYAL VE METOD.....	 19
 3.1 <i>GALLERIA MELLONELLA</i> L. KÜLTÜRÜ	 19
3.2 NİKLOZAMİDİN DENEYLERDE KULLANILMASI.....	21
3.3 YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANI İLE İLGİLİ BESLENME DENEYLERİ..	21
3.4 ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ BESLENME DENEYLERİ	21
3.5 YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANI İLE İLGİLİ DENEYLER.....	22
3.6 MDA, PROTEİN KARBONİL MİKTARI VE GST AKTİVİTESİ.....	22
3.6.1 Orta Bağırsak İzolasyonu.....	22
3.6.2 Malondialdehid (MDA) Miktarının Tayini.....	23
3.6.3 Protein Karbonil Miktarı Tayini	23
3.6.4 Glutasyon S-Transferaz (GST) Aktivitesinin Tayini	24
3.7 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	25

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
BÖLÜM 4 ARAŞTIRMA BULGULARI.....	27
4.1 NİKLOZAMİDİN <i>G. MELLONELLA</i> LARVALARININ YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANINA ETKİSİ.....	27
4.2 NİKLOZAMİDİN <i>G. MELLONELLA</i> 'NİN ÖMÜR UZUNLUĞU, YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANINA ETKİSİ.....	31
4.3 NİKLOZAMİDİN <i>G. MELLONELLA</i> ORTA BAĞIRSAĞINDA MDA, PROTEİN KARBONİL VE GST AKTİVİTESİNE ETKİSİ	34
BÖLÜM 5 TARTIŞMA	39
BÖLÜM 6 SONUÇ	43
KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 <i>Galleria mellonella</i> 'nın sindirim kanalı	4
3.1 <i>Galleria mellonella</i> 7. evre larvası	20
3.2 <i>Galleria mellonella</i> 'nın pup evresi	20
3.3 <i>Galleria mellonella</i> 'nın ergin evresi	20
4.1 Niklozamidin <i>G. mellonella</i> larvalarının gelişme süresine etkisi	28
4.2 Niklozamidin <i>G. mellonella</i> larvalarının yaşama oranına etkisi	29
4.3 Niklozamidin <i>G. mellonella</i> larvalarının eşey oranına etkisi	30
4.4 Niklozamidin <i>G. mellonella</i> ergin ömür uzunluğuna etkisi	31
4.5 Niklozamidin <i>G. mellonella</i> dişilerinin yumurta verimine etkisi	32
4.6 Niklozamidin <i>G. mellonella</i> dişilerinin yumurta açılımına etkisi	33
4.7 Niklozamidin <i>G. mellonella</i> orta bağırsağında MDA miktarına etkisi	35
4.8 Niklozamidin <i>G. mellonella</i> orta bağırsağında protein karbonil miktarına etkisi	36
4.9 Niklozamidin <i>G. mellonella</i> orta bağırsağında GST aktivitesine etkisi	37

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$^{\circ}\text{C}$	: Santigrad derece
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
g	: Gram
M	: Molar
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
nmol/mg protein	: Nanomol/miligram protein
sn	: Saniye
μl	: Mikrolitre
$\mu\text{mol/mg protein/dk}$	: Mikromol/miligram protein/dakika

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ALT	: Alanine aminotranferase
AST	: Aspartate aminotransferase
ANOVA	: Analysis of variance
BHT	: Butillenmiş hidroksi toluen
BSA	: Bovin serum albumini
CDNB	: 1-chloro-2,4-dinitrobenzen
DDT	: Dichlorodiphenyltrichloroethane
DIMBOA	: 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3
DNPH	: 2,4- dinitrofenilhidrazin
DTT	: Ditiyotritol
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

EPA	: Environmental Protection Agency
EPN	: Entomopatojen Nematod
GST	: Glutasyon-S-transferaz
IPM	: Integrated Pest Management
KCl	: Potasyum klorür
K ₂ HPO ₄	: Dipotasyum hidrojen fosfat
LSD	: Least Significant Difference
MDA	: Malondialdehid
NM	: Nöromedyatör
PCO	: Protein karbonil
PMSF	: Fenilmetilsülfonil florür
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TBA	: Tiyoobarbitürik asit
TCA	: Triklorasetik asit
UV	: Ultraviole
χ^2	: Ki kare (Chi square)

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Günümüzde, tarımsal alanlarda, ürünlerin gelişmesini engelleyen ve verimini düşüren her türlü zararlıdan korunmak için tarımsal ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Kimyasal maddeler tarımsal alanlarda böcek popülasyonlarının kontrol edilmesinde çok etkin bir yöntem olmasına karşın aşırı miktarda ve bilinçsizce kullanılması, ekosisteme ve zararlı birçok böcek türünün de bu tür ilaçlara karşı direnç kazanmasını sağlamaktadır (Özparlak 2003). Bu tür kimyasal ilaçların bir kısmı toprakta, bitki veya hayvan bünyesinde ya doğrudan doğruya ya da oluşan daha toksik metabolitlere dönüşerek vücutta uzun süre tutulmaktadır. Kimyasal maddelerin bu etkileri yüzünden çevreye ve hedef olmayan organizmalara olumsuz yönde etkilenmektedir. Kimyasal mücadelede kullanılan maddelerin özellikle insektisit gruplarının ekosistem üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı zararlılarla mücadelede farklı arayışlara gidilmiş ve bu maddelere karşı koruyucu önlemler alınmaya başlanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda kimyasal maddeler yerine doğada var olan, zararlıların doğal düşmanları kullanılmaya başlanmış ya da geleneksel olarak kullanımda olan kimyasallar dışında çevreye daha az toksik maddelerin bulunmasına yönelik araştırmalar yapılmaktadır.

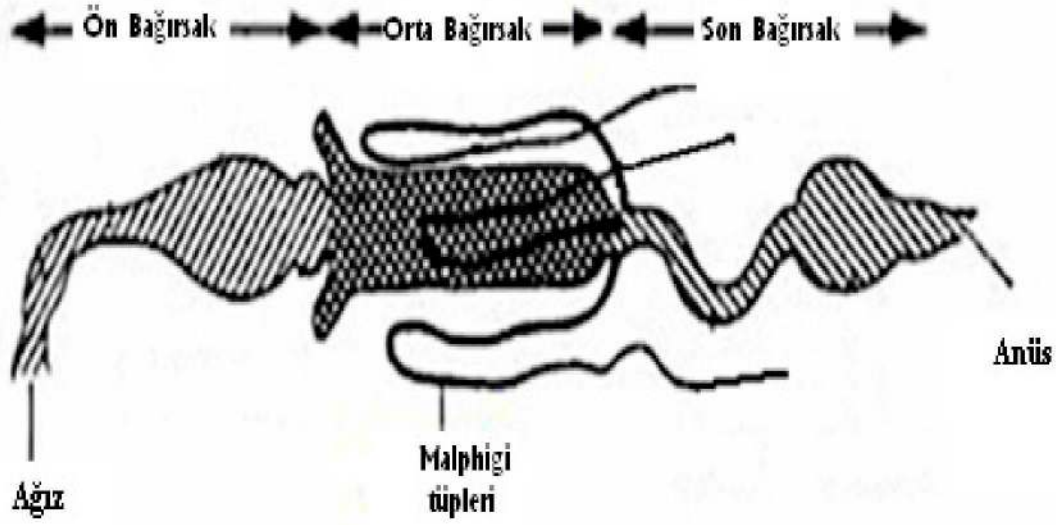
İnsektisitler, etki sürelerinin uzun ve tarımsal alanlarda başarılı sonuçlar alınmasından dolayı zirai mücadelede en çok tercih edilen sentetik kimyasallardır. Çünkü bu maddeler daha etkili, etki süreleri daha uzun olmasından dolayı tercih edilmektedir. Bu insektisitler ile böcekler üzerinde etkilerinin oldukça fazla olması başarılı sonuçlar alınmasını sağlamaktadır. Kimyasal insektisitler memelilere ve diğer canlı gruplarına toksik etki göstermesi bu maddelerin en önemli dezavantajlarından biridir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar da klinik olarak önemli antimikrobiyal antibiyotikler zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılmaya başlanmış ve önemli sonuçlar elde edilmiştir. Bu yüzden antibiyotik insektisitlere olan ilgi önem kazanmış ve bu konudaki çalışmalar gün geçtikçe yoğunlaşmaktadır. Antibakteriyel, antifungal ve antiviral antibiyotikler böceklerin biyolojisi üzerinde olumsuz etkiler göstermelerine karşın böceklerdeki etki mekanizmaları tam olarak bilinmemekle birlikte, antihelmintik ilaçların

böcekler üzerindeki etkisi de detaylı araştırılmamıştır. Bazı antiviral antibiyotiklerin böcek hücreleri üzerinde öldürücü etkiye sahip olduğunun gösterilmesi, dikkatleri antibiyotiklerin böceklerdeki etki mekanizmasını aydınlatmaya yönelik çalışmalara yöneltmiştir. Daha önceki çalışmalarda antibiyotikler böceklerin yetiştirilmesini sağlayan yapay besin ortamına ilave edilerek mikrobiyal kontaminasyonları önlemek ve larvaların besin alımını uyarmak amacıyla kullanılmıştır (Liles 1958, Ouye 1962, Singh and House 1970, Xie et al. 1986, Grenier and Liu 1990, Pearson and Raybould 1998, Büyükgüzel 2001a, Büyükgüzel and Yazgan 2002, Alverson and Cohen 2002, Inglis and Cohen 2004). Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu kullanılan antibiyotiklerin çeşitli biyokimyasal analizler ile böcek üzerindeki oksidatif etkisi araştırılmaktadır. Büyükgüzel and Kalender (2007, 2008) böceklerde transaminazlar ALT ve AST enzimlerinin aktivitelerindeki değişimlerin antibiyotik toksisitesinin şiddetini gösteren bir belirteçler olduğunu göstermişlerdir. Bir başka çalışmada ise çeşitli antibiyotikleri içeren ve doğal besinler ile beslenen *Philosamia ricini* larvalarında transaminaz enzimlerinin aktifliğindeki artışın, böcek metabolizmasının bozulduğunun bir belirtisi olduğu ortaya çıkarılmıştır (Eid et al. 1989).

Galleria mellonella, Lepidoptera takımı, Pyralidae familyasına ait holometabol bir böcektir. Büyük balmumu güvesi (*G.mellonella*) bal arılarının (*Apis mellifera*) ekonomik zararlılarından olup; arıcılık yapılan, özellikle düşük rakımlı, ılıman iklim bölgelerinde yaygın olarak bulunmakta (Allan 2000), ve tüm dünyada arıcıların peteklerini korumada sıkıntıya düştükleri önemli bir zararlı olarak tanınmaktadır (Sanford 2003). *G. mellonella*, sıcak bölgelerde arı kovanlarında ve zayıf kolonilerde yaşamak için iyi adapte olmuş bir böcektir. Ergin güveler yumurtalarını kovanlarda bal arılarının ulaşamayacağı ahşap kısımlardaki çatlaklara bırakırlar ve genç larvalar petekler içinde oyuklar açarak bal ve petekler ile beslenirler. Yaşlı larvalar, ördükleri ağlar ile petekleri birbirine yapıştırarak tamamen yerler (Ali et al. 1973). Bu sebepten dolayı önemli ekonomik kayba neden olmaktadır. Erkek ergin dişiden daha küçük, abdomeni ince uzun olup, ön kanatların dış kenarı (apical) ay şeklinde hafif içeriye doğru bükük dişide ise bu kenar düzdür, eşeysel dimorfizm görüldüğü bir böcek türüdür. Kültürü laboratuvar şartlarında kolaylıkla yapılabilir. *G. mellonella* larvaları, yumurtadan çıktıktan sonra larval olarak 7 evre geçirmektedirler. Olgunlaşan son evre larvaları çevrelerine koza örerek pupa evresine geçerler. Pupalardan da ergin kelebekler oluşur. *G. mellonella*'nın sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir.

Kingdom/ Alem: Animalia/ Hayvanlar Alemi
Phylum/ Şube: Arthropoda/ Eklem Bacaklılar
Class/ Sınıf: Insecta/Böcekler
Order/ Takım: Lepidoptera/ Kelebekgiller
Superfamily/ Üst Aile: Pyraloidea
Family/ Aile: Pyralidae
Subfamily/ Alt Aile: Galleriinae
Tribe/ Tribus: Galleriini
Genus/ Cins: *Galleria*
Species/ Tür: *Galleria mellonella* (Greater Wax Moth/ Büyük Bal Mumu Güvesi)

Böceklerde sindirim kanalı ön, orta ve son bağırsak olmak üzere üçe ayrılan tüp şeklinde bir yapıya sahiptir (Şekil 1.1). Orta bağırsak, mide olarak da adlandırılmakla birlikte temel sindirim işleminin gerçekleştiği bölümdür. Besinle birlikte böceğin ağız yoluyla aldığı doğada bulunan bitkisel kökenli fenolik bileşikler, toksinler, patojenler ve tarım ilaçları gibi pek çok farklı etmen de mideye ulaşmakta, ve alınan bu maddeler, böceğin orta bağırsağının önemli bir bileşeni olan peritrofik zar adı verilen kitin ve proteinden oluşan yapı içerisinde sindirilmektedir. Dolayısıyla peritrofik zar sindirim olayının gerçekleştiği yer olmasının yanı sıra, besin kaynaklı mekanik yararlanmalar, toksik madde geçişi ve patojen girişine karşı ortabağırsak epitel hücrelerini korumaktadır (Erlandson et al. 2010). Böcek orta bağırsağında antibiyotiklerin sebep olduğu oksidatif strese ve bu stres ile ilişkili biyomoleküler hasara karşı enzimatik antioksidatif savunma sisteminin önemi üzerinde sınırlı çalışma bulunmaktadır. Antihelmintik antibiyotiklerin böceklerin orta bağırsağında oksidatif düzeyi ve antioksidatif savunma düzeyine etkisi çalışılmamıştır. Antibiyotiklerin sindirimi sırasında orta bağırsak karşılaşılan ilk engel olduğundan *G. mellonella* ile yapılan bu çalışmada besinle alınan niklozamidin sebep olduğu biyomoleküler hasara karşı bir savunma mekanizması olarak orta bağırsak detoksifikasyon enzimi Glutasyon-S-transferaz (GST)' nin önemi belirlenecektir.



Şekil 1.1 *Galleria mellonella*'nın sindirim kanalı.

Yapılan çalışmalar ışığında, doğal insektisitlerin öldürücü olmayan ama bunun yanı sıra, verimliliği azaltan veya arttıran etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Takada et al. 2001). Ayrıca gelişim oranı (Willrich and Boethel 2001), cinsiyet oranında değişiklik, diyapoz ve parazitoidlerle birlikte morfolojide direkt ve konak fizyolojisine bu maddelerin dolaylı olarak etki ettiği de bilinmektedir (Croft 1990). Böceklerde yapılan bazı çalışmalarda, sinir ve endokrin sisteme etki ederek juvenil hormonun sentezini engellediği de ortaya çıkarılmıştır (Sayan et al. 1998). Malczewska et al. (1988) azadirachtinin, gelişmede juvenil hormon ve ektisteroid oranlarının *G. mellonella* larvalarına etkisi çalışılmış, bu bitkisel insektisit böceğin son evre larvalarında, düşük sıcaklıkta hızlı deri değiştirdiği gözlemlenmiştir. Bazı sentetik kimyasal insektistler, bitkisel insektisitler ve biyopestisitler böceklerde lipid, karbohidrat ve protein seviyelerini etkilemektedir (Badhiya and Hazarika 1996, Barwal and Karla 2001, Seyoum et al. 2002, Vijayaraghauon and Chitra 2002, Wang et al. 2005).

Antihelmintik ilaçlar insan ve hayvanlarda sindirim kanalı, solunum yolları, karaciğer ve benzeri organlardaki parazitler üzerinde etkilidir. Antihelmintikler iç parazitleri ya konakçının vücudunda öldürerek veya sadece vücut dışına atılmalarını sağlayarak hastayı parazitlerden arındırırlar (Bonomo and Salata 1996, Grover et al. 2001, Balcıoğlu 2003). Niklozamidler parazitlerin mitokondrisinde oksidatif fosforilasyonu inhibe ederek etkisini gösterirler. Ayrıca birçok helmintik paraziti ilgilendiren anaerobik metabolizmayı da inhibe edebilirler. Antihelmintik ilaçlar parazitlerde başlıca enerji metabolizmasını bozarak nöro-

musküler iletimi etkiler, glukoz Emilimi veya taşınmasını etkileyerek glikojen metabolizmasını bozar, glikolizi önler, nükleik asit sentezini ve sonuçta üremeyi engeller. Niklozamidin gastrointestinal kanaldan belirgin bir Emilimi olmayıp, dışkı ile vücuttan atılır. Emilen kısmı ise etkisiz bir metaboliti olan aminoniklozamide çevrilir (Şanlı ve Kaya 1994).

Niklozamid hemen hemen zehirsiz bir madde olup tedavi dozunun (50-100 mg / kg) 40 katı miktarda verilen evcil hayvanlarda toksisitesi görülmemiştir (Booth and Mc Donald 1982). Sindirim kanalından son derece sınırlı ölçüde Emilimesinin bu ölçüde güvenli olmasında katkısı vardır (Şanlı ve Kaya 1994). Parazitler ile bulaşan hayvanlar tarafından dışkı ile dış ortama bırakılan antiparaziter ilaçların dışkının parçalanması ve dağılımı sonucunda besin zinciri aracılığıyla hedef olmayan bazı canlıların gelişimi ve yaşama oranını olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (Halley et al.1989, Schmidt 1983). Örneğin Macri et al. (1988), bakteriyel ve protozoal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan furazolidonun sivrisinek türü *Culex pipiens molestus* larvalarına oldukça toksik etki yaptığını göstermiştir. Bu bilgilerin ışığında hayvanlarda antihelmintik olarak kullanılan kimyasalların zararlı böceklerin kimyasal mücadelesinde de seçici olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Diğer taraftan *G. mellonella*'nın da dahil olduğu bazı böceklerin klinik kullanıma sahip antiparaziter, antibakteriyel ve antifungal ilaçların etkisini denemede model olarak kullanıldığı ayrıca bilinen bir durumdur (Kelly and Kavanagh 2011). Lepidoptera takımına ait bir böcek türü *Spodoptera eridania* bazı antimikrobiyal ajanların antioksidan enzimlerin değişimlerini yansıtan prooksidan etkilerini araştırmak için in vivo bir model olarak kullanılmaktadır (Batcabe et al. 1994).

Antihelmintik ilaçların zararlı böceklerin mücadelesinde insektisit olarak kullanılabiliirliğinin araştırılmasında model böcek olarak *G. mellonella* kullanılmıştır. Büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* larvaları böcek-insektisit etkileşimi ile ilgili biyokimyasal ve fizyolojik çalışmalar için oldukça uygun bir böcektir.Yapılan bu çalışma niklozamidin böceğin yaşama, gelişme ve ergin biyolojik özellikleri ile detoksifikasyon kapasitesi üzerine etkilerinin araştırılması için bir ışık olacaktır. Şimdiye kadar klinik öneme sahip niklozamidin besinsel karışımlarının böceklerin biyolojik özellikleri üzerindeki etkileri belirtilmemiştir.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER VE YAPILAN ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Zararlı populasyonları kontrol etmek amacıyla ülkemizdeki arıcılar çeşitli uygulamalar (naftalin, alüminum phosphide, kükürt) ile kabartılmış petekleri korumaktadır. Çevre şartları (sıcaklık ve nem) uygun olmadığından dolayı karasal iklim bölgelerinde kışlatılan arı kolonilerinde ve depolanan fazla peteklerde ilkbahar dönemine kadar zararlı aktivasyonu tespit edilmemektedir. Son yıllarda paradichlorobenzene (naftalin) ve alüminum phosphide arıcılar tarafından yoğun olarak kullanılması sonucu özellikle bal arısı ürünlerinin kodeks değerleri üzerinde kalıntılara rastlanılmakta, gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından negatif yönde etki olmaktadır. Büyük balmumu güvesine karşı kullanılan çoğu yöntem, uygulamasının pratikte çok kolay olmaması, ekonomik olmaması, bal ve bal mumunda kalıntı sorununun olması gibi sebeplerden dolayı arıcılar tarafından tercih edilmemektedir. Bu nedenle zararlıya karşı etkin mücadele belirli sınırlar çerçevesinde kalmaktadır. Güveye karşı kullanılan karbon dioksit uygulaması ise, uygulama kolaylığı, kalıntı problemi olmaması, ucuz ve etkili bir yöntem olması gibi nedenlerle arıcılara tavsiye edilebilir bir yöntemdir. Büyük balmumu güvesine karşı kullanılan kimyasal maddeler, balmumu ve balda kalıntı bırakarak ürünün pazar şansını azaltmaktadır. Günümüzde, zararlıya karşı kullanılan ilaçların kalıntı durumu ve uygulanabilme kolaylığı göz önüne alınırsa yeni kimyasal maddelerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar kaçınılmazdır (Allan 2000).

G. mellonella dişileri ergin ömrü boyunca ortalama 280 adet yumurta bırakır ve yumurtaların açılımı 25 °C' de 5-9 gün arasındadır. Larvalar son evrede beslenmeden kesilir, önce prepupa daha sonra da pupa haline dönüşür ve daha sonra ergin evreye geçerek gelişimini tamamlar. *G. mellonella*, tüm dünyada arıcıların sıkıntı yaşadıkları önemli bir zararlı olarak bilinmektedir (Akyol vd. 2009). Büyük bal mumu güvesinin larvaları peteklerde önemli ölçüde zarara neden olurken; pupa ve yumurta evresindeki bireyleri ise zararsızdır. Larvalar peteklerin iç kısımlarında tüneller açarak peteğe zarar verir ve bu petekleri kullanılmaz hale getirirler (Akyol vd. 2009). Bal arısı parazit ve zararlıları ülkemizde koloni başına düşen

verimliliğin dünya ortalamasından düşük olmasında önemli bir yere sahiptir. Genelde üretimin bal ve balmumu üzerine yoğunlaştığı ülkemizde 4.700.000 adete yakın koloniden yaklaşık 75.000 ton bal ve 3.483 ton balmumu üretimi yapılmaktadır. Petek muhafazasında yeterli bilgi ve bilince sahip olmayan arıcıların mum işleme teknolojisindeki yetersiz bilgileri; kabartılmış peteklerinin yıllarca kullanımına, mum üretiminin düşmesine ve peteklerin korunma sorunlarının ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Genellikle sıcak ve ılıman bölgelerde ve ülkemizde kabartılmış petekler büyük balmumu güvesinden korunması önem teşkil etmektedir. *G. mellonella*, bal arılarının (*A. mellifera*) ekonomik zararlılarından olup, arıcılık yapılan ve özellikle de düşük rakımlı, ılıman iklim kuşağında bulunan tüm bölgelere yayılmıştır (Çağlar vd. 2001).

Sentetik insektisitlerin bilinçsizce ve aşırı kullanımı sonucu zararlılarda oluşan dayanıklılık, insan sağlığı ve çevreye toksisitesi üzerine olan olumsuz etkileri, bilimsel çalışmalarla kanıtlanmış ve zararlılarla savaşta eğilim biyolojik savaş ve doğal organik insektisitlerin kullanılmasına yönelik değişmiştir (Miller and Uetz 1998). Böceklerde yıllarca sentetik insektisitlere karşı gelişen dayanıklılığın dölden döle aktarılması da bu olumsuz etkiyi arttırmış ve insektisit direncinin evrimiyle birlikte zararlı böcek popülasyonlarının kontrolü açısından önemli bir sorun teşkil etmiştir. Yapılan çalışmalarda, insektisitlerin farklı konsantrasyonlarının böceklerin gerek davranışsal gerekse biyokimyasal aktiviteleri üzerine de olumsuz etkilere yol açtığı belirlenmiştir (Uçkan and Sak 2010, Çetin et al. 2010). Bütün bu olumsuz gelişmeler bilim adamlarını biyolojik kontrole yöneltmiştir. Yumurtlamayı önleyici feromonların kullanımı, kısır böceklerin salınımı ve hormonal kontrol ile gelişimin engellenmesi gibi yöntemler böceklerle mücadele tekniklerindendir (Haynes 1988). Ürün kayıplarına neden olan etmenlerin tanısının yapılması ve zarar meydana getirebilecekleri seviyenin saptanması önemlidir. Her zararlı ve hastalık için uygulanacak savaşım yöntemi seçilmeden önce zarar yapma seviyesi ve derecesi tespit edilmelidir (Toros vd. 2001). Ülkemizde yetiştirilen 60 kültür bitkisinde ve bunlardan elde edilen ürünlerde zarara yol açan böcek ve hayvan türleri yaklaşık 500 kadar olup, 80-100 türü ekonomik önem taşımaktadır. Bu olumsuz etmenlerle hiç mücadele edilmediği zaman ortaya koyduğu zarar, bazen üretilen bitkilerin tümüyle ortadan kalkması ya da ürünlerin tüketilemeyecek derecede niceliğinin bozulması gibi önemli sonuçlar doğurabilmektedir.

Doğal dengenin yapısına ters olan kimyasal kontrol yönteminin neden olduğu sorunlar karşısında, farklı kontrol yöntemlerine yönelme zorunluluğu doğmuş ve “Birleşik Zararlı

Yönetimi (Integrated Pest Management)” (IPM) adı verilen yöntem ortaya konulmuştur (Hillocks 1995, Öncüer 2000). Bu yöntemin amacı pestisit kullanımını en az seviyeye indirmek, bütün kontrol imkanlarını belirlemek ve zararlıların doğal düşmanlarından en üst düzeyde faydalanılmaktadır (Hillocks 1995, Hill and Foster 2000). Bu yöntem içinde “Biyolojik Kontrol” önemli bir yere sahiptir (Hillocks 1995, Öncüer 2000, Andow et al. 1997). Parazitoitler biyolojik kontrolde kullanılan ajanlar içinde belki de en uygunu, en az risk taşıyanı ve en çok spesifik etki yapanıdır (Andow et al. 1997, Xu et al. 2001, Chen and Welter 2002, Uçkan and Gülel 2002). Her ne kadar kimyasal madde kullanımı IPM programlarında en son çare ise de bazı durumlarda biyolojik ve kimyasal mücadele yöntemlerinin uygun olarak birlikte kullanılması zorunlu olabilir. Bundan dolayı, IPM programlarının önemli bir bölümünü pestisitlerin zararlı tür ve doğal düşmanlar üzerindeki potansiyel etkilerinin belirlenmesi kapsar (Takada et al. 2001). Son zamanlarda zararlı kontrolünde insektisitlerin kullanımı (Kudon et al. 1988) ve bu maddelerin zararlı tür üzerindeki etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Ahmad et al. 1997, Soderlund and Knipple 1999, Hill and Foster 2000).

Büyük Balmumu Güvesi, *G. mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) birçok parazitoit böceğin konağı olan ve arı kovanlarında gelişen bir zararlıdır. *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae)’nın biyolojik özellikleri (Sak et al. 2009), toplam metabolit içerikleri (Sak et al. 2006) ve hemositlerini (yayınlanmamış bilgi) nasıl etkilediğini incelenmiştir. Pestisitlerin zararlı tür üzerindeki etkileri böcek türüne (Ahmad et al. 1997, Soderlund and Knipple 1999, Ribeiro et al. 2003) ve kullanılan pestisite göre (Soderlund and Knipple 1999, Mcleod et al. 2002) büyük oranda farklılık oluşturmaktadır. Aynı zamanda parazitoit olan türler doğada kullanılan insektisitlere karşı oldukça duyarlı olup iken (Xu et al. 2001, Tillman and Mulrooney 2000, Sak et al. 2006, Ergin et al. 2007) zararlı türlerin zaman içinde bu maddelere karşı hızla direnç kazandıkları da (Ahmad et al. 1997, Soderlund and Knipple 1999, Ribeiro et al. 2003) kanıtlanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarla da insektisit uygulamasının öldürücü olmasa da ağırlık, gelişme, ölüm ve puplasma oranı gibi biyolojik özellikleri etkileyebileceği bilinmektedir (Takada et al. 2001, Sak et al. 2006, Ergin et al. 2007).

Hayvanlar çeşitli onarma mekanizmaları için çok fazla enerji harcayabildikleri gibi stres koşulları ile mücadele etmek için de yüksek oranda enerjiye ihtiyaç duyarlar (Choi et al. 2001, Lohar and Wright 1993). Bu düşüncemizi insektisit inhiye edici etkisi ortadan kalktıktan

sonra larvaların kontrolde olduğu gibi gelişimini tamamlaması, puplaşması ve hatta ergin evreye ulaşabilmesi doğrulamaktadır (Sak et al. 2009). Gelişimleri sırasında larva evrelerinde erginleşmelerine engel olmayacak bir dozda insektisite maruz kalan böcekler üzerinde ileride populasyon yoğunluklarına zarar verebilecek gizli bir etki gelişebilir (Davis et al. 1988). Parazitoit türlerin özellikle *G. mellonella* gibi konak böcekleri hayat devirlerinin bir bölümünde beslenme ve üreme amacıyla kullandıkları düşünüldüğünde, konak-parazitoit ilişkisi içinde pestisitlerin zararlı etkilerinin ne kadar büyük olduğu da anlaşılabacaktır. Kullanılan pestisitlerin olumsuz etkilerinin her geçen gün daha açık bir şekilde ortaya çıkması günümüzde alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılmasını zorunlu hale getirmektedir. Bugün, dünyanın birçok ülkesinde, biyolojik kontrol çalışmalarında (Entomopatojen Nematod) EPN' den yararlanılacaktır (Mracek 1980, Hominick and Briscoe 1990, Nguyen and Smart 1990, Ozer et al. 1995, Miduturi et al. 1996, Mracek et al. 2003). EPN' lerin kitle üretimlerinin hem in vivo ortamda hem de in vitro ortamda kolay ve seri olması diğer doğal düşmanların sahip olduğu bu problemleri ortadan kaldırması biyolojik mücadele ajanı olarak birçok avantaja sahiptir. Aynı zamanda etkili arama yeteneğine sahip olan EPN' ler ekstrem ekolojik koşullara rağmen bir alana uygulanır o bölgeye kolayca adaptasyon sağlayabilmektedir (Akhurst and Bedding 1986). EPN' ler içerisinde en fazla ekonomik öneme sahip olan 11 takıma bağlı 75 familyadan toplam 250 böcek türüne karşı etkilidir. Gerek hedef alınmayan organizmalara gerekse çevre, bitki ve insan sağlığına hiçbir toksik ve olumsuz etkisi yoktur ayrıca böceği hastalandırıp öldürdüğü için konukçusunda dayanıklılık oluşturması çok zordur. Konukçusunu araması için ince bir film tabakasına ihtiyaç duymaları ve ticari olarak üretilenlerin 2 ay içinde kullanılmaları gerektiği ise EPN' lerin olumsuz yönlerine örnektir. Aksi takdirde enfeksiyon kabiliyetlerinde %30–60 oranında düşüş gözlemlenmektedir (Ehlers 1996). Son elli yıldır ürünlerimize ortak olan ve büyük kayıplara neden olan zararlılarla mücadelede kimyasal pestisitler kesin çözüm olarak görülmüştür.

Kimyasal pestisit uygulamasının yoğun ve bilinçsiz olarak yürütülmesi, sadece insan sağlığını etkilemekle (karsinogen, mutagen ve teratojen) kalmamış, bitki ve hayvan türlerinin yok olmasına ve yer altı sularına karışarak hedef alınmayan diğer organizmaların etkilenmesine sebep olmuştur. Ayrıca ekolojik dengenin sağlanmasında çok önemli role sahip canlıların yok edilmesiyle daha önce sorun teşkil etmeyen zararlıların ön plana çıkarak ekonomik zararlı haline gelmesi gibi sonuçlara neden olmuştur. Aynı zamanda zararlıların belli bileşiklere karşı direnç geliştirmesi büyük sorun oluşturmaktadır. Yapılan araştırmalarda bu zamana kadar 450 böcek türünün insektisitlere karşı direnç geliştirdiği bildirilmiştir (M Kence 1992, A Kence

1992). Oluşan bu dayanıklılık kimyasalların etkinliğini kaybetmesine, yoğun ilaçlama sonucu ürünlerdeki pestisit kalıntılarının artmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla hem çevre kirlenmesi hızlanmakta hem de ekonomik kayıp artmaktadır. Özellikle uluslararası pazarlarda bu durum sorun olmakta ve ekonomik açıdan önemli kayıplara neden olmaktadır. AB'nin yiyecekler ve yemler konusunda kurduğu Hızlı Alarm Sistemi (Rapid Alert System) sonuçlarına göre, ürünlerimizin büyük bir kısmının kimyasal pestisit kalıntısı bakımından AB kriterlerine uygun bulunmadığı ortaya konmuştur (Delen vd. 2005). Bütün bu olumsuzluklar düşünüldüğünde kimyasal pestisitlerin yerine, çevreyle dost, doğanın kendi bünyesinde bulunan seçeneklerin ortaya çıkarılarak uygulamaya geçirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Yıllardır devam eden yoğun kimyasal pestisit mücadelesinin olumsuz etkileri göz önünde bulundurularak, zararlılara karşı alternatif mücadele yöntemlerinin tercih edilmesi insan ve çevre sağlığının güvence altına alınmasını, tarımsal ürünlerimizde kalite ve verimin artmasını sağlayacaktır. Ayrıca zararlılara karşı alternatif yöntemlerin geliştirilmesi ve yeni yöntemlerin bulunmasına da ihtiyaç vardır. Bizim doğanın bir parçası olduğumuzun ve doğanın bize ait olmadığının bilinciyle ve gelecek nesillerin de hakkı olan yaşanabilir bir çevre bırakmak için uluslararası düzeyde alternatif zararlı mücadele politikalarına gereksinim olduğu hayati bir gerçektir. Pestisit kullanımı Türkiye'de özellikle polikültür tarımın yapıldığı Akdeniz ve Ege Bölgelerinde yaygındır. Yıllık pestisit kullanımının % 40'ı Adana, Mersin ve Antalya olmak üzere 3 ilde yoğunlaşmaktadır. İzmir ile birlikte bu değer % 65' i aşmaktadır. Pestisit kullanımı Adana'da % 10,39, Mersin'de ise % 15,69 olup, toplamda bu iki ilde % 26,08 oranında pestisit kullanılmaktadır. Resmi belgelerde görülen bu rakamlar, ilaç bayilerinin ve konuda uzman olmayan kişilerin de teşviki ile % 35-40'lara ulaşmaktadır (Zeren ve Erem 2000).

(Amerika Birleşik Devletleri) ABD'de yaklaşık 1 milyar kg pestisit her yıl tarlalara, bahçelere, parklara ve ormanlara bırakıldığı ABD'deki Çevre Koruma Ajansının (Environmental Protection Agency, EPA) 2002 yılı raporuna göre kanıtlanmıştır. Dünya genelinde pestisitler için yapılan harcamaların üçte birini ABD oluşturmaktadır ve bu miktar 11 milyar dolara bulmaktadır. Yine ABD'de 18 000 lisanslı pestisit kullanılmaktadır. Dünyada kullanılan pestisitlerin % 80'i böcek ve haşere kovucu, % 15'i bitki öldürücü, % 1,46'sı fungusit ve % 3,54'u diğer zararlılar için kullanıldığı bilinmektedir (Gupta 2004).

Yapılan tüm araştırma ve geliştirmelerde amaçlanan en önemli konu, pestisitlerin yok edilmesi istenen zararlıya karşı selektif ve spesifik toksisite göstermesi, diğerk canlılara minimum toksisite göstermesidir. Sağlık açısından tamamen güvenli pestisit yoktur ve her pestisit belli bir dereceye kadar toksisitesi vardır. Ayrıca belirli koşullarda kullanıldıklarında riskleri minimum seviyeye indirilebilir. Pestisit uygulaması yapılmayan kutuplardaki penguenlerde, ayı balığı ve Eskimolarda (dichlorodiphenyltrichloroethane) DDT'nin varlığının saptanması, bazı tarım ilaçlarının dünyadaki sirkülasyonunun ne kadar güçlü olduğunu göstermesi bakımından önem arz etmektedir. Çeşitli ülkelerde Büyük balmumu güvesine karşı kabartılmış peteklerin korunmalarında kimyasal (aluminum phosphide, methyl bromide, ethylene dibromide, paradichlorobenzene (Naftalin), kükürt), fiziksel (soğuk-sıcak) uygulamaları ve biyolojik insektisitler (*Bacillus thuringiensis*) gibi savaşım yöntemleri farklı şekillerde denenmektedir (Tutkun vd. 1987, Ritter et al. 1992, Ahmad 1994, Kumova ve Korkmaz 2002).

Tarım ilacı yıllık satış miktarı 25-30 milyar \$ arasında değişmekte, üretimi ise dünyada ortalama 3 milyon ton civarındadır. Dünya pestisit pazarında tonaj olarak yılda % 1' lik bir büyüme tahmin edilmektedir. Tarım ilaçları arasında herbisitler % 47' lik bir payla birinci sırada yer alırken % 29 ile insektisitler, % 19'luk pay ile fungusitler bulunmaktadır. Pestisit kullanımının % 70'den fazla bir bölümünü herbisitler ve insektisitler kapsamaktadır. Diğer pestisit grupları ise % 5'lik bir paya sahiptir. Maddi olarak değerlendirildiğinde tüketimin % 31'ini insektisitler, % 26'sını herbisitler, % 20'sini de fungusitler kapsamaktadır. İnsanlar pestisitler tarafından farklı şekillerde etkilenebilmektedir. Pestisitler bitkilerde hastalık ve zararlılara karşı kullanılırken; yağmur, rüzgar gibi çeşitli abiyotik etkenlerle toprağa dolaylı yolla geçebilmektedir. Toprakta bulunan zararlı böceklerle ve tohum ilaçlamaları esnasında tohumla uygulanan pestisitler ise direkt olarak toprakla birleşmektedir. Böylece toprakta sürekli birikim halinde olan pestisitler, tüketilen ürünler aracılığı ile insan, evcil hayvanlar ve yaban hayatına ulaşarak çevre sağlığını olumsuz yönde etki edebilmektedir. Pestisitleri uygun koşullarda ve öneriler doğrultusunda kayıtlı bir şekilde kullanmak üreticiye yüksek kazanç ve ürünleri yetiştirme, muhafaza sürelerinde uzama gibi avantajlar sağlar. Yeterli ve kaliteli ürün elde edilirken, pestisit kullanılmaksızın üretim yapılması halinde üretim miktarında % 65'lik kaybın önüne geçilir (Arslan 2000).

Pestisit kullanımının dezavantajları ise; tüketilen tarımsal ürünlerde kalıntı riski oluşturur. Pestisitler kanser, doğum anormallikleri, sinir sistemi zararları ve uzun periyotta oluşan yan

etkilere sebep olur. Pestisitlerin ve parçalanma ürünlerinin toksik maddeler içermeleri ve bunların bazılarının ana pestisitten daha toksik ve kalıcı etki gösterebilmeleri risk oluştururken, uygulanan pestisite ve uygulama koşullarına bağlı olarak çevre kirliliğine de neden olur. Buharlaşıma yoluyla atmosfere karışan pestisitlerin hava kirliliğine sebebiyet vermesi, aşırı kullanımının organizmalarda ilaca karşı direnç oluşturmaları ve kalıntıları, tarım ürününün dış ve iç pazarını olumsuz etkilemesi gibi sorunlar ortaya çıkmıştır (Arslan 2000).

Pestisitlere duyarlılık azalışı adaptasyon ve dayanıklılıkla mümkün olabilir. Organizmanın genetik yapısında değişiklik olmadan bir kimyasal maddeye uyum göstermesi sonucu duyarlılığın azalmasıyla adaptasyon oluşur. Fakat organizmanın duyarlılığı genetik yapısındaki bir değişiklik sonucu azalıyorsa dayanıklılık oluşur. Buna göre, dayanıklılık bir mutasyondur ve genelde geri dönüşümü yoktur. Adaptasyonda ise, söz konusu pestisit kullanımının durdurulmasıyla organizma yavaş yavaş tekrar eski duyarlılığına sahip olabilir. Pestisitlerin Türkiye gibi ülkelerde bilinçsiz olarak kullanılmasında dayanıklılık kadar adaptasyon da ekonomik açıdan önem arz etmektedir. Organizmaların pestisitlere olan duyarlılıklarında meydana gelen azalış, pestisitlerin piyasa ömrünü, insan sağlığını ve çevreye etkililiğini en fazla etkileyen olayların başında gelmektedir. Bir pestisite organizmaların duyarlılığı azaldıkça, o pestisit etkililiği de düşmektedir. Kullanıcı ise, eski etkililiği elde edebilmek için devamlı doz yükseltmesini denemektedir. Bununla birlikte artan dozlara paralel olarak çevrede pestisit kalıntılarında daha fazla yoğunlaşma görülmektedir. 1970’de dayanıklı olarak saptanan tür sayısı 244 iken, 1980’de bu sayı 428’e çıkmıştır. Organizmalarda oluşan çeşitli tipteki dayanıklılıklar sonucunda pestisit etkinliğindeki azalmayı aşmak için daha yüksek dozlarda uygulama gerekmekte, bu da hem maliyetin artmasına ve bitkilerde fitotoksiteye neden olmakta, ürün veriminde azalmalara yol açmakta hem de üründe ve çevrede kalıntı miktarının ve kirliliğin artmasına neden olmaktadır (Yavuz ve Şanlı 1999).

Hedef enzim niteliğindeki kolinesteraz enzimi ile yapısal bütünleşme konumunda olmaları organofosfatlı insektisitlerin en dikkat çekici özelliğidir. Organik fosforlu insektisitler kolinesteraz enziminin doğal substratı konumundaki asetil kolini taklit ederler. Malathion, parathion, diklorvas, diazinon organofosfatlı insektisitlere örnek verilebilir. Organofosfatlar iki önemli özelliğe sahiptirler. Birincisi kalıcı olmamaları diğeri ise omurgalılar üzerinde organoklorlu pestisitlerden daha fazla akut toksisite göstermeleridir. Bu nedenden dolayı tarımda DDT’nin yerine tercih edilmektedir. İnsektisitlerden olan karbamat grupları

organofosfatlara benzerler ancak onlardan iki yönüyle farklılık gösterirler. Birinci farkı 7 kolin esterase enziminin anyonik yanı ile kompleks oluşturabilen kuaterner veya bazik nitelikli bir azot grubuna sahip olmalarıdır. İkincisi ise karbamat insektisitlerin kolinesteraz inhibisyonu esasına dayanan etkilerinin önemli derecede dönüşümlü olmasıdır. Organofosfatlı insektisitler hiçbir şekilde bazik pH' lı olamazlar bu durumda iyonize olabilecekleri için böceklerin kütikulasına ve sinirlerin kılıfına geçiş yetenekleri önemli derecede azalır. Karbaryl ve karbafuran, karbamat grubu insektisidlere örnek verilebilir (Yavuz ve Şanlı 1999).

Anthelmintik ilaç kullanımındaki asıl amaç konakçının parazit yükünü kabul edilebilir bir düzeye kadar indirmektedir. Kullanılacak ilacın seçiminde göz önünde bulundurulacak faktörlere göre farklılık gösterir. Maddeler kullanılırken dikkat edilmesi gereken önemli kriterlerden bazıları parazitlerin gelişme dönemi, ilacın spektrumu ve etkinliği, terapötik indeksi, verilme kolaylığı ve fiyatı ile kalıntı bırakıp bırakmama durumlarıdır.

Ergin ve çeşitli gelişme dönemlerindeki larvalara karşı istenilen düzeyde etkinlik gösterebilen ilaçların sayısı azdır ve bunlar başlıca dört grupta toplanabilirler:

1. İmidazotiyazoller
2. Benzimidazoller ve Probenzimidazoller
3. Tetrahidroprimidirler
4. Avermektinler

Günümüze kadar helmint infeksiyonları için güvenli ve etkili birçok antihelmintik ilaç geliştirilmiştir. Antihelmintik ilaçlar içerisinde yer alan benzimidazol türevi olan albendazol, gelişmekte olan ülkelerde hem ucuz hem de geniş antihelmintik spektrumuna sahip olması nedeniyle son yirmi yılda yaygın olarak helmint infeksiyonlarının tedavisinde kullanmak için tercih edilmiştir (Şanlı ve Kaya 1994).

Antihelmintikler solunum yolları, karaciğer, göz, kalp, sindirim kanalı gibi yerlerde bulunan iç parazitlere etkiyen ilaçlardır. Bu nedenle dış parazitlere etkiyen ilaçlardan farklıdırlar. Antihelmintiklerin hastayı sağıtımları iç parazitleri ya konakçının vücudunda öldürerek veya sadece vücut dışına atılmalarını sağlayacak şekilde olur. Helmintlerin hücrelerinin birçok yönden konakçınıninkilere benzemesi nedeniyle diğer ilaçlarda olduğu gibi, hayvanlardaki

parazitleri etkileyen ama konakçıya hiçbir istenmeyen etkisi olmayan ilaç olarak belirtmek güçtür. Maddenin antelmintik ilaç olarak kullanılabilirliğini göstermek için, diğer ilaçlarda olduğu gibi, sistemik deney aşamalarından geçirilmesi gereklidir. Önceden, antelmintik ilaçların etkisinin belirlenmesinde yararlanılan farmakodinamik çalışmalarda, parazitler arasındaki filogenetik ayrıma bakılmaksızın, yer solucanı ve sülük gibi canlılarda denemeler yapılmış, ilaç(lar) hakkında değerlendirme yapılmıştır. Fakat günümüzde paraziter helmintlerde, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri dikkate alınarak yapılan antelmintik etkinlik deneylerinde parazitlerin özellikle üreme ve yaşamaları için gerekli olan görevleri ve enzimatik tepkimeleri hedef alan ilaçların geliştirilmesi yönünde çalışmalar yapılmaktadır. (Şanlı ve Kaya 1994).

Dişi helmintlerin, mide-bağırsak içeriği, safra kanalları vb. yerlerde yumurta bıraktıkları ve bunların dışkı ile vücudu terk ettikleri bilinir. Antelmintik ilacın etkisiyle ölen bir parazitin artık yumurtlayamayacağı düşünülerek, ilaçların etkisinin değerlendirilmesinde bundan yararlanılmıştır. Fakat, bazı ilaçların parazitlerde yumurtlamayı da engelledikleri bilindiğinden, ilaçların verilmesini takiben dışkıda yumurtaların görülmemesi antelmintik etkinin değerlendirilmesinde yanlışlığa sebep olmaktadır. Kritik test antelmintik etkinliğin belirlenmesinde bugün en çok yararlanılan testtir. İlacın güvenli bir şekilde kullanılabilirliğini ortaya koyabilmek için, laboratuvar ve hedef hayvanlarda akut ve kronik zehirlenme denemeleri de yapılmalıdır. Ama geniş şekilde kullanılacak olan bir antihelmintiğin konakçıya istenmeyen etkisinin ya çok az ya da hiç bulunmaması tercih edilir. Aynı zamanda, sağaltıma girecek ilaçların konakçı hayvanın doku ve organları ile süt ve yumurtalarında kalıntı bırakıp bırakmadıkları durumu, teratojenik, mutajenik ve karsinojenik etkilerinin olup olmadığı da dikkate alınmalıdır. Parazitler için antihelmintik ilaçlardan bazıları önemli derece etkilidir, bazılarının etkisi azdır; Örneğin benzimidazoller ve önbenzimidazoller, levamizol, avermektinler, klosantel, triklabendazol gibi bazı ilaçlar parazitleri %100 oranında uzaklaştırırlar; ama, parazitleri tümüyle uzaklaştırıp bağışıklığın gelişmesini engellediği ve böylece konakçıyı bir sonraki infestasyona duyarlı kıldığı için, herhangi bir ilacın bu ölçüde etkili olması da tercih edilmez. Bu nedenle, parazitler üzerinde % 90 oranında etkili olanlar yüksek, % 70 oranında etkili olanlar zayıf, % 70-90 arasında etkili olanlar da orta derecede etkinliği belirtmektedir (Şanlı ve Kaya 1994).

Antelmintik ilaçlar parazitlerde başlıca enerji metabolizmasını bozar, sinirsel iletimi etkileyerek üremeyi engeller ve diğer bazı mekanizmalarla etkili olurlar. Diğer ilaçlarda

olduğu gibi, antelmintiklere de parazitler arasında dirençli suşlar ortaya çıkabilmektedir. Antelmintik ilaçlara dirençlilik normal dozlarda bu ilaçların etkisine parazitlerin duyarlılığının az veya çok azalması olarak tanımlanır. Parazitlerin enerji metabolizmasındaki bazı biyokimyasal tepkimeler antelmintik ilaçların en fazla müdahale ettiği yerlerdir. Örneğin: glikozun emilmesi veya taşınmasının bozulması; Fenbendazol, mebendazol, oksibendazol ve flubendazol ile dithiazanin ve pyrivinium gibi siyanin boyaları parazitlerde glikozun emilmesi veya taşınmasını bozarlar. Glikozun parazite alınması engellendiğinde, vücudunda bulunan enerji deposu tükenir ve bu maddenin eksikliğinden açlık dolayısıyla ölür. İlaçlar parazitlerde mikrotübüllerin düzenini bozarak bu etkiye yol açarlar. İlaçlar tubüline bağlanır ve bunların birbirine bağlanarak mikrotübülünleri oluşturmaya engel olurlar. Bu etki parazitteki emme hücrelerinin bütünlüğünü ve taşıma görevlerini etkiler. İlaçların tubüline bağlanması yarışmalı ve doyurulabilir özelliktedir. Bu şekilde etkiyen ilaçlara maruz kalan parazitlerde glikozun alınmasındaki azalma ATP ve glikojen miktarının düşmesine ve ölüme neden olur. Glikozun taşınmasını bozan ilaçlar oksijensiz ortamlarda uzun süre yaşayabilen *Trichuris vulpis*'de glikoz alımını dönüşümsüz olarak engellerler. Kalp kurdu ile bulaşık köpeklerde alınan bu ilaçlar mikrofiller üzerinde güçlü etki oluştururlar. Siyanin boyaları aerobik parazitlerde yükseltgeyici metabolizmayı da bozarlar; böylece, anılan maddeler parazitlerde birbiriyle ilişkisi olmayan iki mekanizmayla (glikoz alınması veya taşınmasının bozulması ve erobik parazitlerde hücre solunumunun engellenmesi) etkilerler. Arsenik (kaparasetat sodyum) ve antimon (stibofen, potasyum antimonil tartarat gibi) bileşikleri parazitlerde proteinlerin (enzimler) sülfidril gruplarına bağlanarak etkili olurlar; böylece, hem parazit, hem de konakçıda bulunan birçok enzim ve proteini değiştirir. Bu ilaçlar parazitlerde özellikle fosfofrukto kinazın etkinliğini engellerler; memelilerde bulunan aynı enzimin etkinliğinin önlenmesi için 80 katı daha fazla ilaç miktarı gereklidir. Bu etki sonucu parazitin vücudunda früktoz-6-fosfat birikirken, früktoz-6-difosfat miktarı eksilir (Şanlı ve Kaya 1994).

Düzenli biçimde parazit tarafından sağlanan glikoz, glikojene çevrilir ve glikoliz ile metabolize edilir. İleriki tepkimeler ve elektron taşınması yoluyla enerji oluşturulması amacıyla mitokondrionlara girer. Askaridler gibi birçok anerobik parazitlerde kasların kasılması için, yüksek enerjili fosfat bağlarının şekillenmesi (yani, ATP oluşumu) mitokondrionlarda fumaratın süksinata indirgenmesi ile oluşur. Bu tepkimeyle glikoliz sırasında şekillenen NADPH yükseltgenirken, bir molekül de ATP oluşur. Mebendazol dışında, benzimidazollar parazitlerde fumaratın süksinata indirgenmesine aracılık eden fumarat redüktazın etkinliğini engelleyerek enerji oluşumunu engeller. Parazitlerde kasların

felcine ve ölümüne neden olurlar. Kullanılan ilaçlar ergin ve çeşitli gelişme dönemlerindeki larvalarda böyle tek kademeli ama anahtar niteliğindeki bir tepkimeyi engelleyerek şeritler, kelebekler ve özellikle yuvarlak kurtları kucaklayan oldukça geniş etkiye sahiptirler. Yukarıda belirtilen enzimin etkinliğini levamizol da engeller; fakat bu etkinin ortaya çıkmasında oldukça yüksek düzeyde ilaç yoğunluğu veya dozuna gerek duyulduğundan, ilacın etkisi bakımından önemli değildir. Elektron taşınmasıyla ilgili fosfatlanmanın önlenmesi: Fenolik ilaçlar (bithionol, heksaklorofen, bromsalanlar gibi), halojenli hidrokarbonlar (karbontetraklorür, heksakloroetan gibi), nitrofenoller (disofenol, niklofolan, nitroksinil gibi) ve salisilanilid türevleri (kliksanid, oksiklozanid, klosantel, niklozamid, rafoksanid gibi) parazitlerde elektron aktarımıyla ilgili olayları kesintiye uğratarak fosfatlanmayı (yani, ATP şekillenmesi) bozarlar. Mitokondrionlarda fumarat süksinata çevrilebilir; ama ATP şeklinde enerji oluşmaz. Belirtilen şekilde etki kalıbı olan ilaçlar öncelikle kelebek ve şeritlere etki ederler. Yuvarlak kurtlardaki mitokondriyal fosfatlanma sistemi, şeritlerdekine benzemekle beraber, bu ilaçlar anılan parazitlerin dokusuna geçemediği için, çoğunlukla etkili olmamaktadırlar. Ama, vücut dışı şartlarda yuvarlak kurtların mitokondrionları bu ilaçlara da aynı derecede hassastır (Şanlı ve Kaya 1994).

Otonomik gangliyonlar ve nöromusküler iletimin düzenlenmesiyle ilgili bilgiler helmintlerde oldukça azdır. Daha önceleri helmintler ile memelilerin nöromusküler sistemleri arasında anatomik, fizyolojik ve kimyasal bakımlardan son derece yakın benzerlik bulunduğu kabul edilirdi; fakat, sonradan bu durumun böyle olmadığı öğrenilmiştir. Şerit ve kelebeklerdeki kas yapısı memelilerin düz kaslarına, yuvarlak kurtlardaki kas yapısı ise çizgili kaslarına benzerler. Memeliler ve helmintlerin kolinerjik reseptörleri arasında belirgin benzer ve farklı tarafları vardır. Memelilerde kolinerjik olarak kontrol edilen motor faaliyet Schistosomalar'da pilokarpin, muskarin, nikotin ve metakolin gibi ilaçlardan etkilenmemeleri örnek olabilir. Aynı zamanda bu parazitlerde motor etkinlik mekamilamin ve pempidin gibi otonomik gangliyonları (memelilerde) bloke eden ilaçlarla uyarılırken, tetraetilamonyum, heksametomyum, pentolinium, klorisondamin gibi kuvarterner amin türevi gangliyonik biokanlar ve D-tubokürarin, dekametonyum, süksinilkolin gibi nöromusküler blokan ilaçlara etki etmemektedir (Balcıoğlu 2003).

Parazitik helmintlerdeki nöromedyatör (NM) maddeler hakkında son yıllarda, yapılan çalışmalar bunların sinir sistemlerinin bilinmeyen birçok yönünün aydınlatılmasına ve yetersiz olmakla beraber, bilinmeyen birçok sorunun cevaplandırılmasını sağlamıştır.

Yuvarlak kurtlara edinilen bilgilere göre nöromusküler kavşağında etkili olabilecek birçok ilacın bulunduğu söylenebilir. Yeterli ölçüde enerji sağlamak için helmintler, sürekli hareketlidirler. Bu nedenle, parazitin nöromusküler kavşağını etkileyebilen herhangi bir madde onda her zaman antelmintik etki yapar. Parazitlerde nöromusküler iletimin bozulması uyarıcı NM maddenin parçalanmasının engellenmesi veya etkisinin taklit edilmesi (spazmlı felç gelişir) veya uyarıcı engelleyici NM'ün etkisinin taklit edilmesi (yumuşak felç gelişir) şeklinde oluşur. Bu şekilde yumuşak veya spazmlı felce uğrayan parazitler konakçının normal-ritmik hareketleriyle vücuttan uzaklaşırlar. Antelmintik olarak kullanılan kolinerjik agonistlerin otonomik gangliyonlarda birbirine çok yakın veya aynı yerleri etkiledikleri düşünülmektedir. Piperazin, dietilkarbamazin, avermektinler, milbemisiner gibi ilaçlar parazitin kas hücrelerinde zarın iç ve dış yüzü arasındaki gerilim farkının artmasına ve böylece de yumuşak felce sebep olurlar; bu yönden piperazinin etkisi ivermektinin 1/10-100'ü kadardır (Grover et al. 2001).

Niklozamid bir salisilanilid bileşiğidir ve moniezialara karşı güçlü bir etkiye sahiptir. Parazitlerde oksidatif fosforilasyonla birleşen elektron transportunu engeller ve geniş bir terapötik indeksi bulunmaktadır. Genellikle zehirsiz bir madde olarak kabul edilir; tedavi dozunun (50-100 mg / kg) 40 katı miktarda verilen hayvanlarda toksisitesi görülmemiştir. Niklozamidin kullanımını sınırlandıran herhangi bir kontraindikasyonu bilinmemektedir (Booth and Mc Donald 1982). Niklozamid evcil hayvanlardaki hemen hemen tüm şeritlere karşı etkilidirler. Kedilere *Taenia taeniaformis* ve köpektaki *Taenia psifonnis'e* çok etkilidir. *Mesocetoides corti*, *M.lineatus* ve *nplidium caninum'a* olan etkisi değişkenlik gösterir. İlaç gevişenlerdeki *Moniezia* türleri ve *Thysannosoma'ya* karşı da son derece etkilidir. İlaç laboratuvar hayvanlarının şeritlerini (*Hymenolepis nana* gibi) de etkilemektedir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1 *GALLERIA MELLONELLA* L. KÜLTÜRÜ

Lepidopter takımına ait bir böcek olan *G. mellonella* L. Böcek Biyokimyası, Fizyolojisi Araştırma laboratuvarında yapay besin ile yetiştirilen stok kültürden temin edilmiştir. Böcek kültürünün devamı için yumurtadan yeni çıkmış larvaların Bronskill'in (1961) geliştirdiği yarı sentetik besinde

- ✓ 420 g buğday kepeği,
- ✓ 150 ml süzme bal,
- ✓ 150 ml gliserin (Merck, Darmstadt, Germany),
- ✓ 20 g öğütülmüş koyu renkli eski petek
- ✓ 30 ml saf su

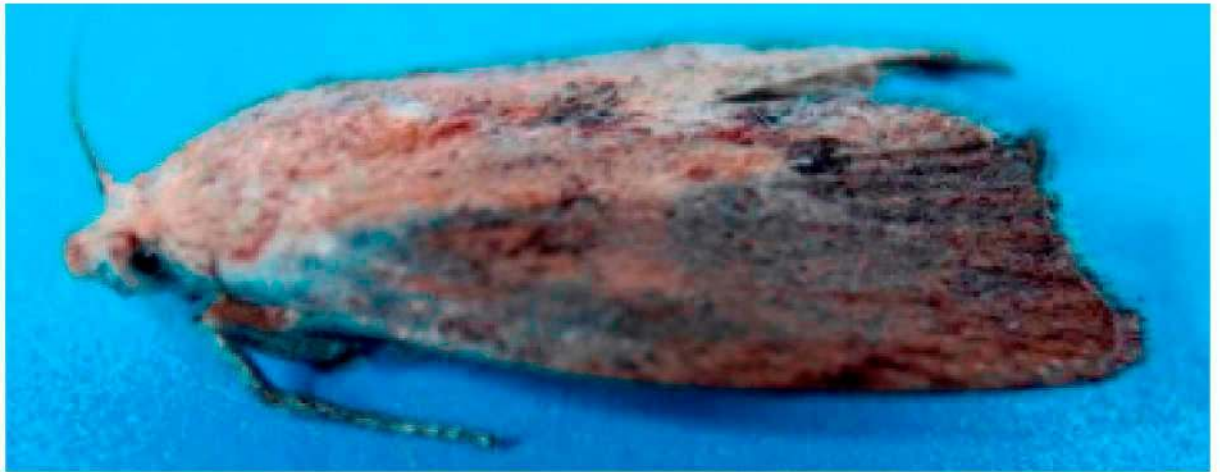
aseptik olmayan şartlarda yapıldı. Besinler bir litrelik cam kavanozların (80x180 mm) yaklaşık 1/3'ne kadar dolduruldu ve içine yumurta bırakması için 10-15 adet dişi bırakılarak ağızları tel kafes yerleştirilmiş kapak ile kapatıldı. Yaklaşık 25-30 gün sonra gelişimlerini tamamlayan olgunlaşan 7. evre larvaları (Şekil 3.1) pup olmaları için içerisine pelur kağıt konmuş diğer bir kavanoza aktarıldı (Campos et al. 1990). Oluşan puplardan (Şekil 3.2) yaklaşık 7-8 gün sonra ergin (Şekil 3.3) bireyler elde edildi. Bu erginlerin büyük bir çoğunluğu böcek kültürünün devamı için bir kısımda niklozamidin farklı konsantrasyonları ile ilgili beslenme çalışmaları için kullanıldı. Deneylerde yumurtalardan yeni çıkmış birinci evre larvaları kullanıldı. $28 \pm 2^{\circ} \text{C}$ ve $\% 65 \pm 5$ bağıl neme ayarlı bir inkübatörde (Nüve, ES 500) ve gün boyu devamlı karanlıkta ortamda gerçekleştirildi.



Şekil 3.1 *Galleria mellonella* 7. evre larvası.



Şekil 3.2 *Galleria mellonella*'nın pup evresi.



Şekil 3.3 *Galleria mellonella*'nın ergin evresi.

3.2 NİKLOZAMİDİN DENEYLERDE KULLANILMASI

Niklozamid (2',5-Dikloro-4' nitrosalisilanilid, beyaz sarı toz, % 98) Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) firmasından temin edildi. Yürütülen beslenme deneylerinde niklozamidin denenilen miktarlarının konsantrasyonu 100 gram besin başına gram antibiyotik (% a/a) olarak belirtildi. Niklozamid, doğrudan besine ilave edilerek deneylerde kullanıldı. Niklozamid içermeyen kontrol besini hariç niklozamidin *G. mellonella* için % 0,001, 0,01, 0,1 ve 1,0 olmak üzere dört farklı konsantrasyonu kullanıldı. Niklozamid konsantrasyonları *G. mellonella* (Büyükgüzel and Kalender 2007, 2008, 2009) ve bazı parazitoid böcek türleri (Büyükgüzel 2001, Büyükgüzel ve Yazgan 1996) üzerinde yapılan önceki çalışmalar temel alınarak tespit edilmiştir. Ön beslenme deneyleri yapılarak, böceğin ergin evreye kadar gelişimini tamamlayabileceği konsantrasyon aralıkları belirlendi.

3.3 YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANI İLE İLGİLİ BESLENME DENEYLERİ

Niklozamidin belirlenen miktarlarını içeren besinler uygun besin kaplarına (Cam kavanozlar, 60 x120 mm) paylaştırıldı. Her bir besin kabına 20 larva aşılandı ve deneyler dörder kez tekrar edildi. Niklozamid içeren besinlere bırakılan larvalar olgun 7. evre larvalarını meydana getirdikten sonra pup olmaları için içerisinde ince pelur kağıt bulunan 30 ml'lik plastik örnek kaplarına (ORLAB, L190030, 35x55 mm) her kaptaki bir olgun larva (7. evre larva) olacak şekilde bırakıldı. Bu larvalardan pup olan ve erginleşen bireylerin oranı ve bu evrelere ulaştıkları süre belirlendi. Erginleşen bireylerin erkek ve dişi oranı ve ömür uzunlukları tespit edildi. Erginlerin eşey ayrımı, vücut büyüklüklerine ve abdomenlerinin son segmentindeki genital yapıya göre yapıldı.

3.4 ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ BESLENME DENEYLERİ

Niklozamidin farklı konsantrasyonlarında yetiştirilen ergin bireylerin ömür uzunluğuna etkisini tespit etmek için yumurtadan yeni çıkmış *G. mellonella* larvaları ergin evreye kadar yetiştirildi. Her bir deney için 10 adet ergin kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı. Elde edilen ergin bireyler 30 ml'lik, geniş ağızlı, şeffaf, delikli kapaklı plastik kaplara (ORLAB, L190030, 35x55 mm) birer adet konuldu. *G. mellonella* ergin evresinde beslenme ihtiyacı olmadığından ömür uzunluğu deneyleri esnasında ergin böceğe besin verilmemiştir.

Deneyler stok kültürün yapıldığı ortam şartlarında yapılmıştır. Erginler, her gün belirli saatte kontrol edilerek en son erginin ölümüne kadar her erginin yaşama süresi tespit edildi.

3.5 YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANI İLE İLGİLİ DENEYLER

Denenen niklozamid konsantrasyonlarının *G. mellonella* dişilerinin yumurta verimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla yumurtadan yeni çıkan larvalar bu antihelmintik antibiyotiğin bulunduğu besinlerde ergin evreye kadar beslendi. Yumurta verimi için yeni erginleşmiş ve döllenmemiş bir günlük dişiler kullanıldı. Her bir deney için 10 adet dişi kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı. Bu dişiler geniş ağızlı, delikli kapaklı, plastik kaplara (15 ml, ORLAB) her kapta bir adet dişi olacak şekilde bırakıldı. Erginleri besin almadığı (Charriere and Imdorf 1997) için dişilere yumurta bırakma süresince besin verilmedi. Bırakılan yumurtalar siyah bir zemin üzerine konularak bir petri kutusu içinde sayıldı. Ön denemelerden elde edilen sonuçlara göre erginleşen dişilerin ilk 48-72 saat içinde yumurtalarını bıraktığını gözlenmiştir. Bu yüzden ilk 2-3 gün içinde bırakılan yumurtalar sayılmıştır. Yumurta verimi, bir günde dişi başına bırakılan yumurta sayısı olarak ifade edilmiştir. Her gün açılan larvalar yine siyah bir zemin üzerinde sayılarak ortalama sayısı kaydedildi ve yumurtaların açılma oranı belirlendi.

3.6 MDA, PROTEİN KARBONİL MİKTARI VE GST AKTİVİTESİ

3.6.1 Orta Bağırsak İzolasyonu

Niklozamidin belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile 7. evreye kadar yetiştirilen *G. mellonella*'nın larvalarının orta bağırsağında lipid peroksidasyonu ürünü, MDA ve protein oksidasyonu ürünü protein karbonil miktarları ile antioksidan enzim GST aktivitesi ölçüldü. Diseksiyon yapılmadan önce larvalar buz üzerinde 5 dk bekletildikten sonra % 95 etil alkol ile yüzeyleri dezenfekte edildi ve daha sonra parafinle doldurulmuş petri kabına sırt kısmı parafine gelecek şekilde yerleştirildi. Daha sonra larvalar karın kısmından orta eksen boyunca ince uçlu diseksiyon makası ile kesildi ve streomikroskop (Olympus SZ61, Tokyo, Japan) altında ince uçlu bir pens yardımıyla sindirim kanalının orta bağırsağın olduğu bölüm izole edilerek alındı ve bu bölüme tutunmuş olan diğer dokular ve bağırsak içeriği uzaklaştırıldı. İzole edilen orta bağırsaklar, soğuk homojenizasyon tamponu [% 1,15'lik potasyum klorür (KCL) a/h, 25 mM dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4), 5 mM etilendiamintetraasetik asit

(EDTA), 2 mM fenilmetilsülfonil (PMSF), 2 mM ditiyotritol (DTT), pH: 7,4)] ve birkaç feniltiyoüre kristali bulunan bir ependorf tüpe aktarıldı. Dokular analiz yapılmaya kadar derin dondurucuda (-80°C) bekletildi. Deneyler her bir tekrarda 15 ortabağırsak kullanılarak dörder defa tekrarlandı.

3.6.2 Malondialdehid (MDA) Miktarının Tayini

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA miktarı Jain ve Levine (1995)'nin kullandığı metod temel alınarak 532 nm 'de ölçüldü. Orta bağırsak % 1,15'lik KCl ile ultrasonik homojenizatör (10 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus HD2070, Berlin, Germany) ile parçalandı. Daha sonra örnekler pH 7,4 olan fosfat tamponu (18 mM NaCl, 18 mM Na_2HPO_4), 0,04 M butillenmiş hidroksi toluen (BHT), % 30'luk trikloroasetik asit (TCA)] eklenerek 2 saat buzun içerisinde bekletildi. 2 saat beklemeden sonra 4°C de, $2000 \times g$ devirde 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üst sıvı alınarak 0,1 M EDTA ve % 1'lik TBA ilave edilerek kaynar su banyosunda 45 dakika bekletildi, tüpler oda sıcaklığına geldikten sonra spektrofotometrede (Shimadzu 1700 UV/Vis, Kyoto, Japan) 532 nm 'de absorbansı okundu. MDA miktarı $1,56 \times 10^5\text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ kat sayısı kullanılarak nmol/mg protein olarak belirlendi.

3.6.3 Protein Karbonil Miktarının Tayini

Levine et al. (1994)'in metodu temel alınıp bir ölçüde değiştirilerek (Krishnan and Kodrik 2006) 370 nm 'de Protein karbonil tayini yapılmıştır. Örnekler, homojenizasyon tamponunda [% 1,15'lik potasyum klorür (KCL) a/h, 25 mM dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4), 5 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA), 2 mM fenilmetilsülfonil (PMSF), 2 mM ditiyotritol (DTT), pH: 7,4)] ultrasonik homojenizatör (10 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus HD2070, Berlin, Germany) ile $+4^{\circ}\text{C}$ 'de parçalandı. Elde edilen özüt $+4^{\circ}\text{C}$ 'de $1000 \times g$ 'de 10 dk santrifüj (Hettich Zentrifugen, Mikro 200 R soğutmalı santrifüj) yapıldı. Santrifüj yapılan tüplerden üst sıvı alınıp üzerine % 10'luk streptomisin sülfat ilave edilerek 37°C 'de 15 dk benmaride bekletildi. Daha sonra $8000 \times g$ 'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'de santrifüj edilerek nükleik asitler çöktürüldü. Üst sıvıdan 200 μl alınarak üzerine 800 μl 10 mM 2,4 dinitrofenilhidrazin (DNPH) eklendi. Oda ısısında bir saat veya benmaride 37°C 'de 15 dk belirli aralıklar ile çalkalamak suretiyle beklendi. Daha sonra tüplere 700 μl % 20'lik trikloroasetik asit ilave edilerek buz üzerinde 10 dk bekletildikten sonra $+4^{\circ}\text{C}$ 'de $10000 \times g$ 'de 10 dk santrifüj edildi.

Böylece oluşan 2,4-dinitrofenilhidrazon bileşikleri çöktürüldü. Üst sıvı atılarak çöküntü üzerine 1:1 oranında 1 ml etanol: etil asetat karışımı ilave edildi ve vorteks ile yavaşça homojenize edildi. Bu işlem 3 defa tekrarlanıp her defasında 10000 x g'de + 4 °C'de santrifüj edilerek üst sıvı atıldı. En son santrifüjleme işleminden sonra çöküntü üzerine 2,5 ml 6 M guanidin hidroklorür ilave edilerek iyice 37 °C'de 10 dk (oda ısısında 45 dk) karıştırılmak suretiyle çöküntü çözüldü. Bu homojen çözeltiden 150 µl alınarak toplam protein analizinde kullanıldı. Karışımın diğer bölümü çözünmeyen kaba partiküllerin çökmesi için 10000 x g'de 10 dk +4 °C'de santrifüj edildi. Üst sıvının absorbansı 370 nm de kör tüpe karşı spektrofotometrede (Shimadzu 1700 UV/Vis, Kyoto, Japan) okunarak protein karbonil miktarı 22,000 M⁻¹ cm⁻¹ kat sayısı kullanılarak nmol/mg protein olarak verildi.

Protein karbonil analizi yapılan örneklerdeki toplam protein tayini için 6 M guanidin hidroklorür ile çözülen çöküntüden alınan 150 µl karışım 1350 µl guanidin hidroklorür ile 1:10 oranında sulandırıldı. Örneğin absorbansı 280 nm'de ölçüldü. 6 M guanidin hidroklorür ile hazırlanan Bovin serum albumin (BSA) standart çözeltileri (12,5-1600 mg/100ml) ile standart grafik oluşturularak toplam protein miktarı bu grafiğe göre hesaplandı.

3.6.4 Glutasyon S-transferaz (GST) Aktivitesinin Tayini

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

oluřturulan tioether miktarı olarak ölçüldü ve enzimin spesifik aktivitesi µmol/mg protein/dk olarak ifade edildi.

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

3.7 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

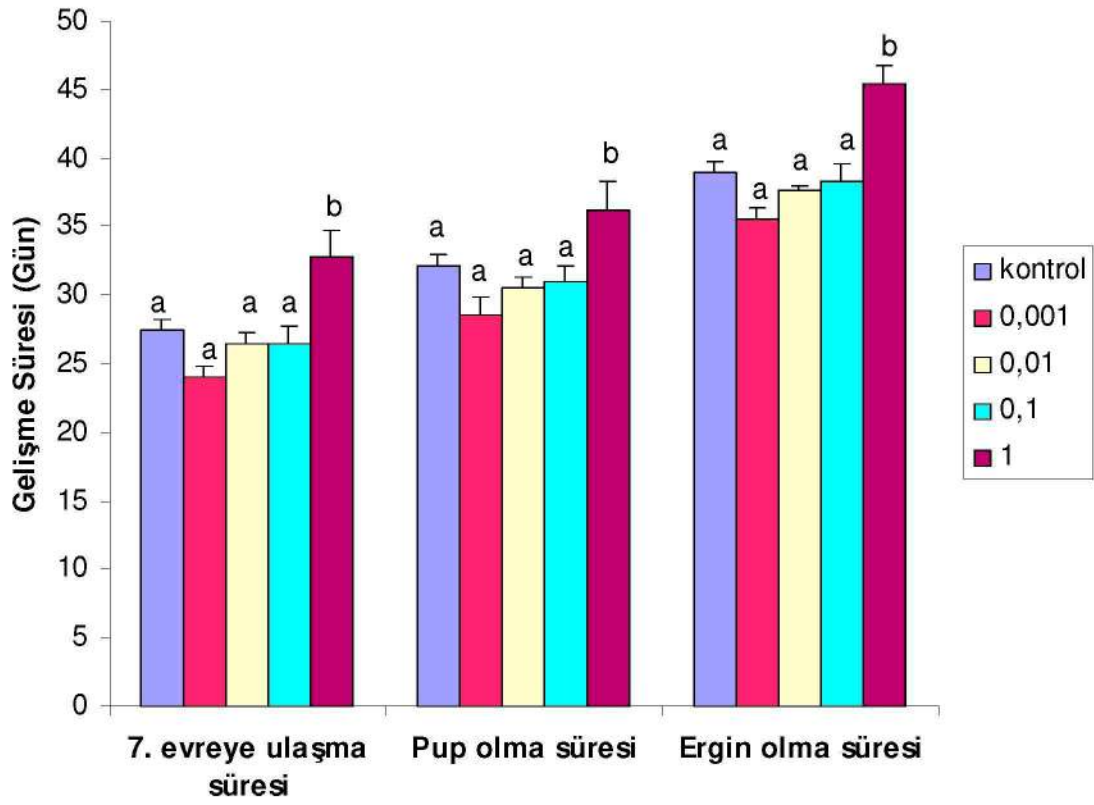
Deneyler farklı zamanlarda dörder defa tekrarlandı. Deneylerde elde edilen veriler kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırılmak suretiyle değerlendirildi ve *G. mellonella*'nın gelişme süresi, erginlerin ömür süresi, dişilerin yumurta verimi ve yumurtaların açılma oranı, 7. evre larvalarının orta bağırsaktaki MDA ve protein karbonil miktarı ve GST aktivitesinin değerlendirilmesinde tek yönlü "Varyans Analizi" (ANOVA) (SPSS 1997), ortalamalar arasındaki farkın önemini saptamak için "LSD Testi" (SPSS 1997), yaşama ve eşey oranı ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde ise " χ^2 (Chi square) Testi" (Snedecor and Cochran 1989) kullanıldı. Ortalamaların önemi 0,05 olasılık seviyesinde değerlendirildi.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI

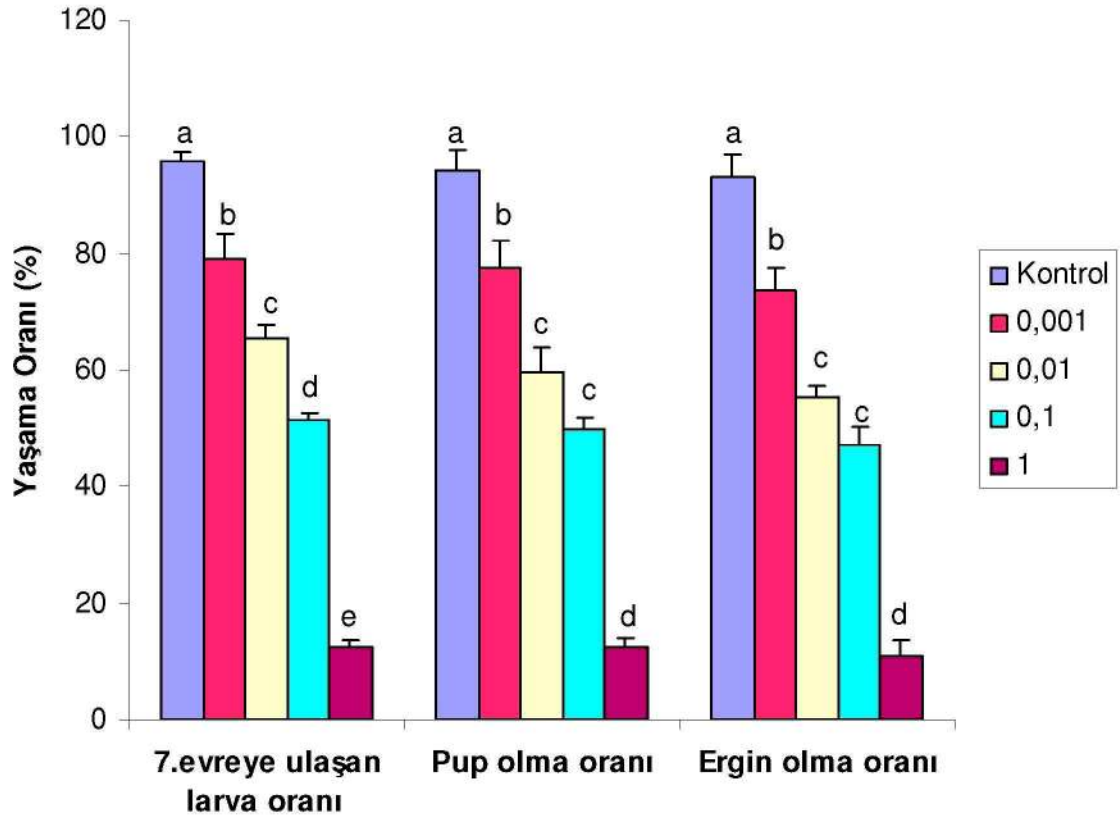
4.1 NİKLOZAMİDİN *G. MELLONELLA* LARVALARININ YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANINA ETKİSİ

En yüksek niklozamid konsantrasyonu (% 1,0) böceğin 7. evreye ulaşma süresini, pup ve ergin olma süresini önemli derecede uzatmıştır. Niklozamidin düşük konsantrasyonları 7. evreye ulaşma süresini ve pup olma süresini kısaltmasına rağmen bu kısalma istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Kontrol besinine göre niklozamidin en yüksek konsantrasyonu böceğin larval gelişimini 5 gün, pupal gelişimini 4 gün ve ergin evreye gelişimini ise 6 gün geciktirmiştir (Şekil 4.1). Niklozamid içermeyen kontrol besinine göre denenen düşük niklozamid konsantrasyonları 7. evreye ulaşan larva oranını, pup ve ergin olma oranını önemli derecede azaltmıştır. Kontrol besininde sırasıyla % $95,8 \pm 1,6$, % $94,4 \pm 3,5$ ve % $93,0 \pm 4,2$ oranında 7. evre larvası, pup ve ergin elde edilirken % 0,001 oranında niklozamid içeren besinden itibaren bu oranlar önemli derecede azalmıştır (Şekil 4.2). Bu antihelmintik maddenin en yüksek miktarını (% 1,0) içeren besin sırasıyla 7. evreye ulaşma oranını, pup olma oranını ve ergin olma oranını önemli derecede düşürmüştür.



(Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$).

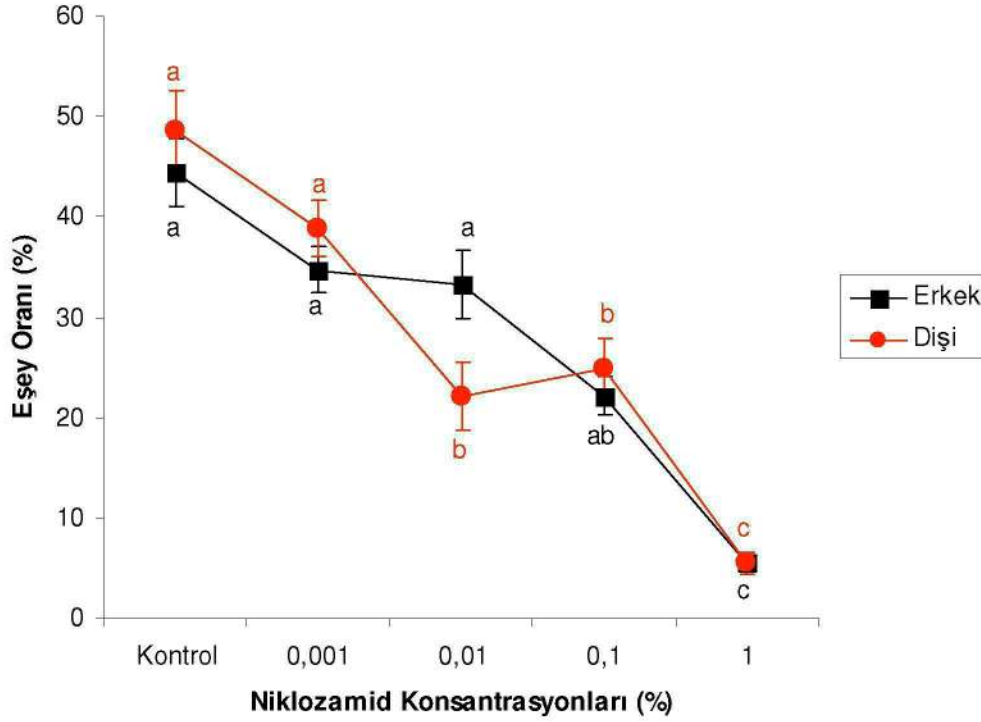
Şekil 4.1 Niklozamidin *G. mellonella* larvalarının gelişme süresine etkisi.



(Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$).

Şekil 4.2 Niklozamidin *G. mellonella* larvalarının yaşama oranına etkisi.

Kontrol besininden $93,0 \pm 4,2$ oranında ergin olmuş, bu erginlerinden de $\% 44,4 \pm 3,4$ erkek, $\% 48,6 \pm 4,1$ dişi elde edilmiştir. En düşük niklozamidin konsantrasyonu erkek ve dişi ergin oranı üzerinde etkili olmamıştır. Niklozamidin $\% 0,01$ 'lik konsantrasyonu dişi ergin oranını kontrole göre önemli derecede azaltmıştır. Niklozamidin $\% 0,1$ 'lik konsantrasyonu ise hem erkek ergin oranını hem de dişi ergin oranını önemli derecede azaltmıştır. En yüksek niklozamid konsantrasyonu erkek ve dişi oranını $\% 5,5 \pm 1,1$ 'e düşürmüştür (Şekil 4.3).

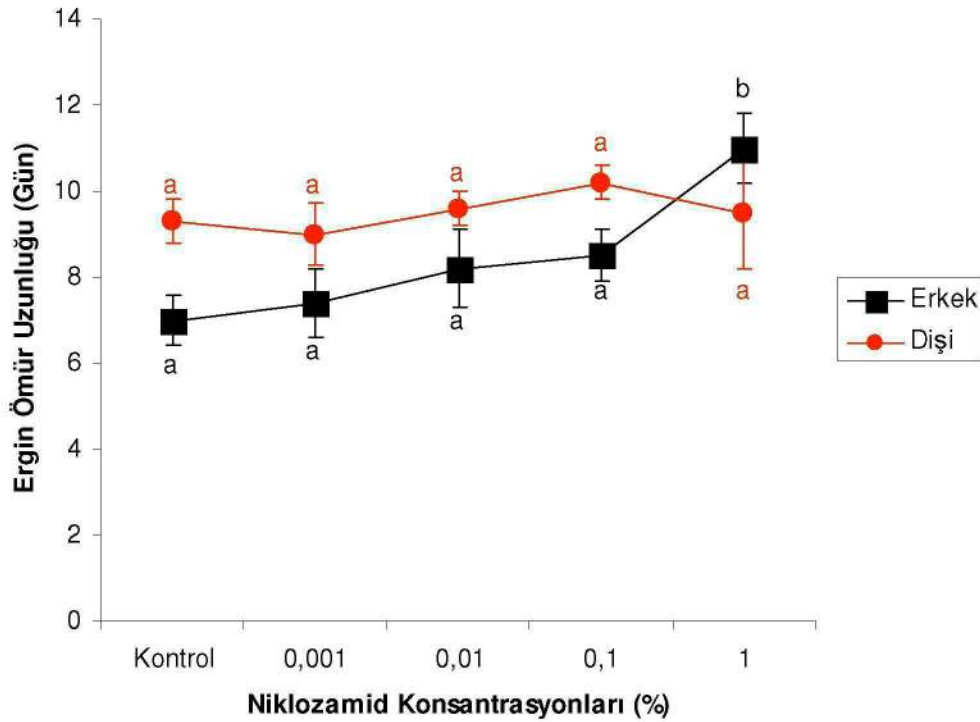


(Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$).

Şekil 4.3 Niklozamidin *G. mellonella* larvalarının eşey oranına etkisi.

4.2 NİKLOZAMİDİN *G. MELLONELLA*'NİN ÖMÜR UZUNLUĞU, YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANINA ETKİSİ

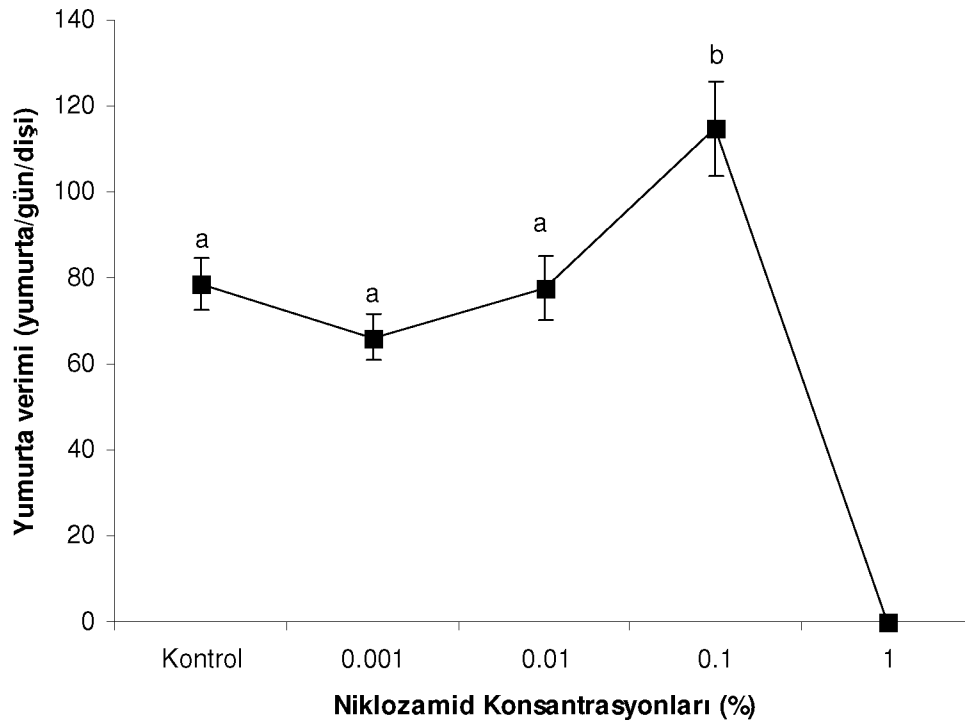
En yüksek niklozamid konsantrasyonu (% 1,0) erkeklerin ömür uzunluğunu kontrol besinine göre önemli derecede uzatmıştır. Denenen tüm niklozamid konsantrasyonları dişi erginlerin ömür uzunluğu üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir etki yapmamıştır. Bu antihelmintik maddenin denenen en yüksek konsantrasyonu erkek ömür uzunluğunu $7,0 \pm 0,6$ günden $11,0 \pm 2,2$ güne ortalama 4 gün uzatırken, dişi ömür uzunluğunu ise etkilememiştir (Şekil 4.4).



(Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$)

Şekil 4.4 Niklozamidin *G. mellonella* ergin ömür uzunluğuna etkisi.

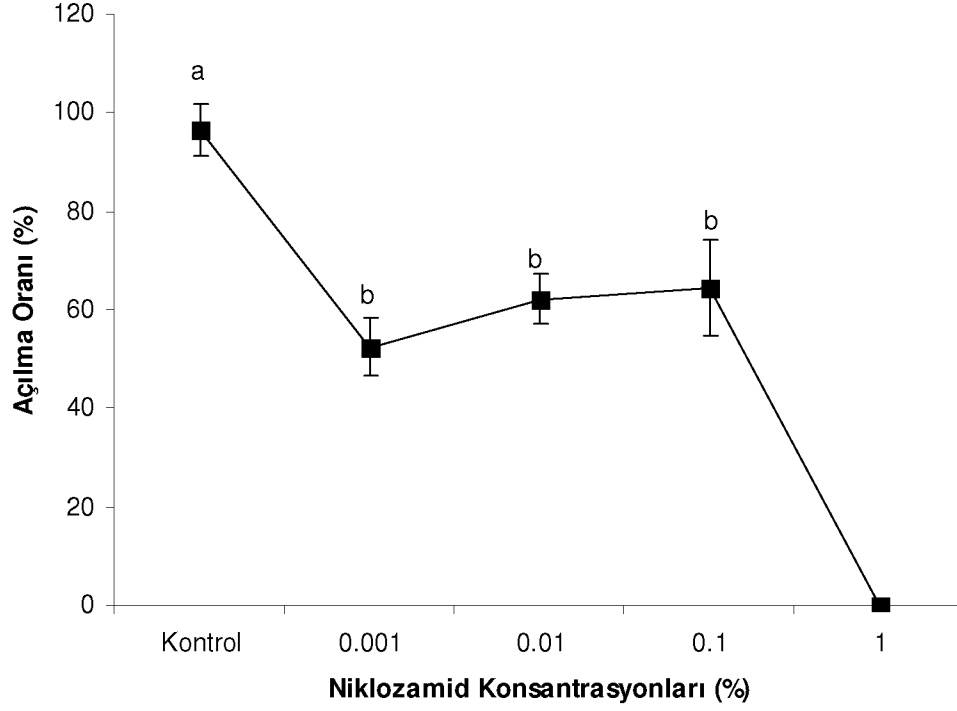
En yüksek konsantrasyonu (% 1,0) içeren besin ile yetiştirilen dişilerin hiç biri yumurta bırakmamıştır. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında, niklozamidin % 0,1'lik konsantrasyonunu içeren besin yumurta verimini önemli derecede artırmıştır. Kontrol besininden elde edilen dişilerden $78,6 \pm 6,1$ yumurta elde edilmiş olup bu sayı % 0,001'lik niklozamid konsantrasyonu tarafından $66,2 \pm 5,5$ 'ye düşürülmüştür. Ancak bu azalma istatistiksel olarak önemli olmamıştır. Buna karşılık % 0,1'lik niklozamid konsantrasyonu dişilerin yumurta verimini önemli derecede arttırmış olup yumurta sayısını ise dişi başına bir günde $114,7 \pm 10,9$ 'ye yükselmiştir (Şekil 4.5)



(Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$).

Şekil 4.5 Niklozamidin *G. mellonella* dişilerinin yumurta verimine etkisi.

Niklozamid içermeyen kontrol besine göre, denenen tüm niklozamid konsantrasyonları yumurtaların açılma oranını önemli derecede düşürmüştür (Şekil 4.6). Niklozamid içermeyen kontrol besini ile yetiştirilen dişilerin bıraktığı yumurtaların % $96,6 \pm 5,3$ 'sı açıldığı halde niklozamidin % 0,1'lik konsantrasyonu bu açılma oranını % $64,4 \pm 9,6$ 'e düşürmüştür.



(Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$).

Şekil 4.6 Niklozamidin *G. mellonella* dişilerinin yumurta açılımına etkisi.

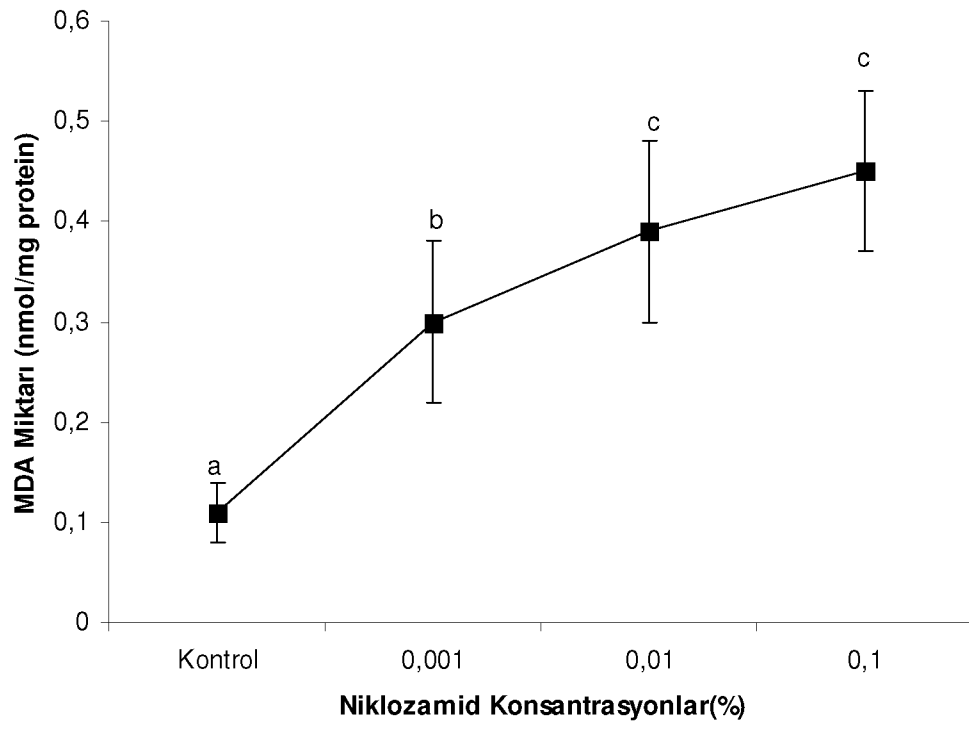
4.3 NİKLOZAMİDİN *G. MELLONELLA* ORTA BAĞIRSAGINDA MDA, PROTEİN KARBONİL VE GST AKTİVİTESİNE ETKİSİ

7. evreye ulaşan larvaların orta bağırsak MDA, protein karbonil ve GST analizi yapılmıştır. Niklozamidin en yüksek konsantrasyonda (%1,0) 7.evreye ulaşan larva oranı oldukça düşük olduğundan bu analizler yapılamamıştır.

Kontrol besinine göre niklozamidin tüm konsantrasyonları MDA miktarını önemli derecede artırmıştır. Niklozamidin % 0,001’lik oranını içeren besin MDA miktarını yaklaşık 2,5 katı artırarak $0,30 \pm 0,08$ nmol/mg protein’e yükseltmiştir. Buna karşılık, niklozamidin denenen en yüksek konsantrasyonu 7. evre larvalarının orta bağırsak MDA miktarını önemli derecede artırmıştır. Bu antibiyotigin % 0,01’lik konsantrasyonu MDA miktarını $0,11 \pm 0,03$ ’den $0,39 \pm 0,09$ nmol/mg protein’e önemli derecede yükseltmiştir. En yüksek niklozamid konsantrasyonu (% 0,1) kontrol besinine göre MDA miktarını yaklaşık 4 katı oranında artırmıştır (Şekil 4.7).

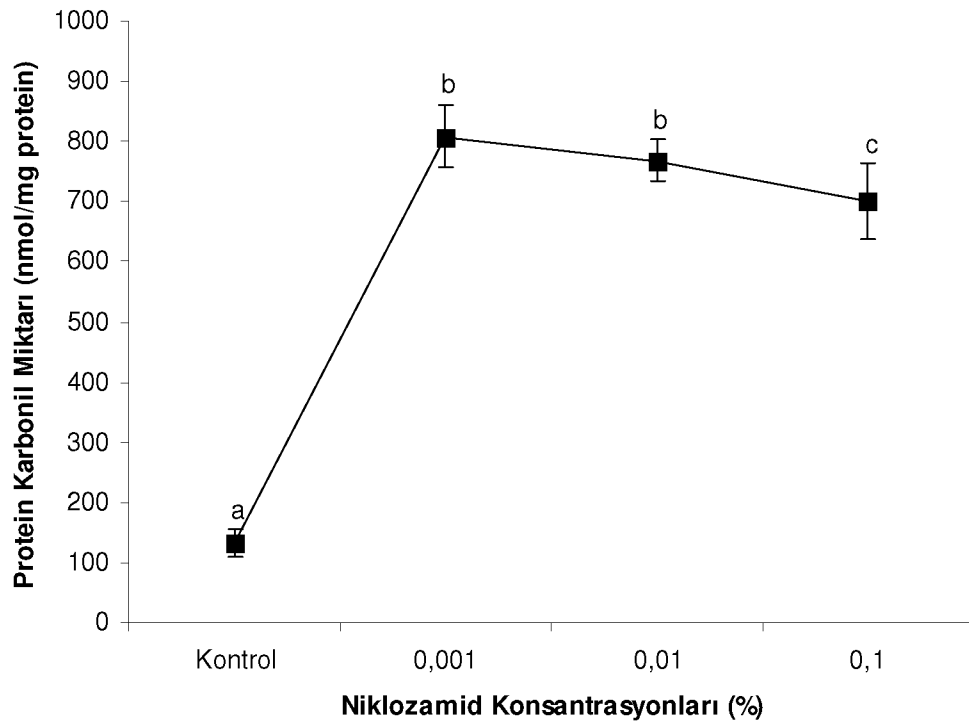
Niklozamidin % 0,001’lik konsantrasyonu kontrol besinine göre protein karbonil miktarını sırasıyla 133 ± 23 nmol/mg protein’den $808,02 \pm 52,1$ nmol/mg protein’e artırmıştır. Benzer bir durum niklozamidin % 0,01’lik ve % 0,1’lik konsantrasyonlarında da gözlenmiş ve protein karbonil miktarını sırasıyla $768,61 \pm 35,7$; $701,24 \pm 64,3$ nmol/mg protein’e yükseltmiştir (Şekil 4.8).

Niklozamid en düşük konsantrasyonu GST aktivitesinde azalmaya sebep olmasına karşın istatistiksel olarak önemli derecede etkili göstermemiştir. Buna karşılık, % 0,01 ve 0,1’lik niklozamid konsantrasyonları GST aktivitesini önemli derecede artırmıştır. Niklozamid içermeyen kontrol besin ile yetiştirilen larvaların orta bağırsak GST aktivitesi $1,47 \pm 0,3$ µmol/mg protein/dk olarak bulunmuştur. En yüksek niklozamid konsantrasyonu GST aktivitesini yaklaşık 2 katı artırarak $2,88 \pm 0,8$ µmol/mg protein/dk’ya kadar yükseltmiştir (Şekil 4.9).



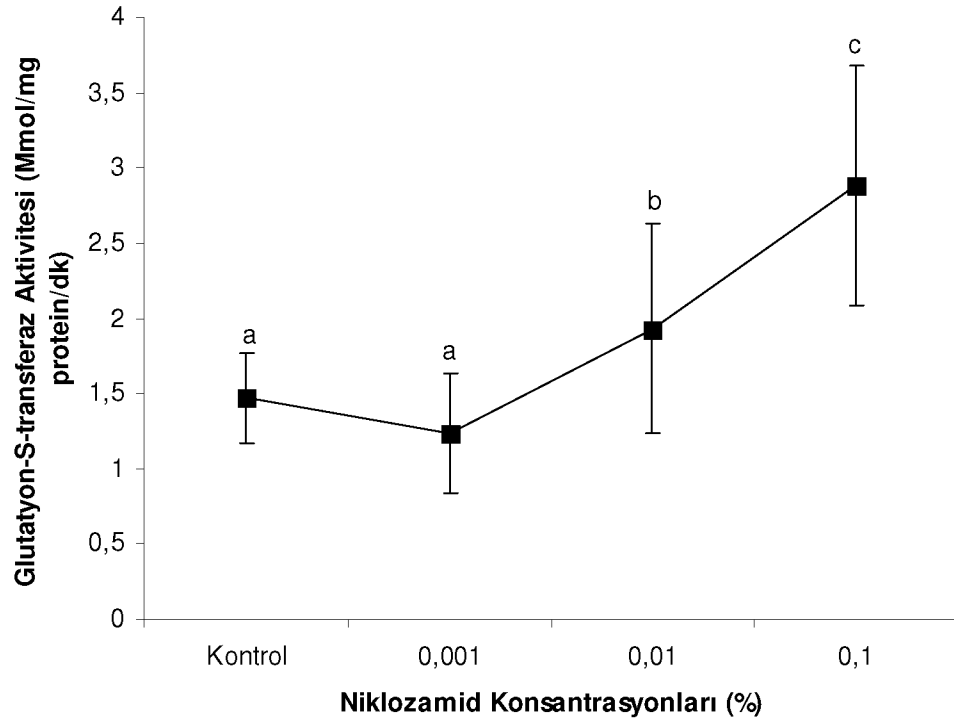
(Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$).

Şekil 4.7. Niklozamidin *G. mellonella* orta bağırsağında MDA miktarına etkisi.



(Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$).

Şekil 4.8. Niklozamidin *G. mellonella* orta bağırsağında protein karbonil miktarına etkisi.



(Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$).

Şekil 4.9. Niklozamidin *G. mellonella* orta bağırsağında GST aktivitesine etkisi.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* L. yapay besin ortamında beslenerek salisilanilid türevi bir antihelmintik antibiyotik olan niklozamidin böceğin yaşama, gelişme, eşey oranı, ergin dişi ve erkek ömür uzunluğu, yumurta verimi, açılma oranı gibi biyolojik özellikleri üzerine etkisi laboratuvar şartlarında incelenmiştir. Ayrıca bu antihelmintik antibiyotiğin böceğin 7.evre larvalarının orta bağırsağında lipid peroksidasyonu ürünü malondialdehid (MDA) ve protein oksidasyonu ürünü protein karbonil miktarları ile detoksifikasyon enzimi glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Niklozamidin de dahil olduğu salisilanilid grubu antihelmintik antibiyotikler tıp ve veteriner hekimlikte antiparazitik ilaç olarak yaygın kullanıma sahiptir. Memelilerin paraziter enfeksiyonlarının tedavisinde niklozamidin güçlü bir antihelmintik olarak kullanılmasına rağmen bu antihelmintik maddenin çevre ve hedef olmayan canlılara karşı etkisi bilinmemektedir. Hayvanlar tarafından dışkı ile dış ortama bırakılan sistemik insektisit olarak da etki gösteren avermektin gibi antiparaziter antibiyotiklerin dışkının parçalanmaları ve besin zinciri sırasında hedef olmayan canlıların gelişimi ve yaşama oranını olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir (Halley et al 1989, Schmidt 1983). Diğer taraftan, Macri et al. (1988) bakteriyel ve protozoal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan furazolidonun sivrisinek türü *Culex pipiens molestus* larvalarına oldukça toksik etki yaptığını göstermiştir. Bu çalışmada *G. mellonella* larvaları kullanılarak niklozamidin in vivo olarak insektisit etkisi araştırılmıştır. *G. mellonella*'nın bu tür çalışmalarda oldukça uygun olduğu ve niklozamidin yüksek konsantrasyonlarda insektisit olarak kullanılabileceği gösterilmiştir. Organik sentetik insektisitlerin kullanımı önemli çevresel sorunlar oluşturmasının yanında böceklerin bu insektisitlere karşı direnç kazanmasını da sağlamaktadır. İnsan ve hayvanlarda enfeksiyon oluşturan bazı küf, mantar ve bakterilerin patojenitesini belirlemede memeli deney hayvanlarına alternatif omurgasız bir konak model sistemi olarak kullanılan büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* L. (Miyata et al. 2003, Altincicek et al. 2007, Joyce et al. 2010,

Mukherjee et al. 2010) klinik öneme sahip antimikrobiyal ilaçların insektisit özelliklerinin değerlendirilmesinde de model olarak ele alınmaktadır (Büyükgüzel and İçen 2004, Büyükgüzel and Kalender 2008).

Gaaboub and Dawood (1974), beş jenerasyon boyunca *Culex pipiens*'i malatyonun belirli konsantrasyonuna maruz bırakmış ve bunun sonucunda fertilitenin önemli derecede düştüğünü, bir başka çalışmada da Zettler and LeCato (1974), subletal dozdaki malatyonun *Attagenus negatoma*'da fertilitayı önemli derecede düşürdüğünü göstermişlerdir. Buna benzer sonuçlar niklozamidin denen tüm konsantrasyonları (% 0,001, 0,01, 0,1) gerek yaşama, gelişim parametrelerini gerekse dişilerin yumurta verimi ve açılımını önemli derece düşürmüş, özellikle % 1,0'lik niklozamid konsantrasyonunda yumurta elde edilememiş buna bağlı olarakta yumurtaların açılma oranı da tespit edilememiştir. Fitzpatrick and Dowell (1981), *Aleurocantus woglumi*'ye 14 farklı insektisit uygulanmış ve bu böceğin parazitoidleri olan *Amitus hisperidum* ve *Prospaltella opulenta*'nın dördüncü larval evresinde yumurta açılımı ve ömür uzunluğuna bütün insektisitlerin etkili olduğu tespit etmişlerdir. Ergin ömür uzunluğunda dişi bireylerde istatistiksel olarak önemli bir sonuç elde edilmemesine karşın erkek bireylerde niklozamidin %1,0' lik konsantrasyonu ömür uzunluğunu yaklaşık 3 gün uzatmıştır. Cohen et al. (1988), hymenopter parazitoidlerinden *Aphytsi holoxantus* ve *Pteroptrix smithi*'nin konukçusu olan *Chrysompalus aonidum*'un gelişiminin farklı evrelerinde subletal dozda malatyonlu besinle beslemiş, bunun sonucunda parazitoidlerde ergin çıkışının azaldığını, konukçuda larva, pupa ve ergin ölümünün arttığını ve konukçudaki larva ve pupa sayının azaldığını göstermiştir. Denenen niklozamid konsantrasyonlarının miktarı arttıkça 7. evreye ulaşan larva oranı, pup, ergin olma oranında doza bağlı olarak düşme tespit edilmiş, buna karşın larva, pup, ergin evrelerinin gelişme süreleri de doza bağlı olarak uzamıştır.

Böcekler hayatsal faaliyetlerini gerçekleştirmek için protein, lipid ve karbohidrat gibi önemli organik maddelere ihtiyaçları vardır. Gelişim evreleri, diyapoz, besin kalitesi, mevsimsel durum, sıcaklık, cinsiyet, eşeysel aktivite ve insektisit uygulamaları gibi birçok faktör bu maddelere etki etmektedir (Yanikoğlu 1985, Ito 1989, Pullin 1992, Jacome et al. 1995, Aktümsek 1996, Warburg and Yuval 1996, Slojevsky and Ephrati 1997, Özalp ve Emre 1998, Socha et al. 1998, Ito and Nakata 1998, Şeker ve Yanikoğlu 1999, George et al. 2002, Bozkurt 2003, Akman 2004, Sak 2004, Varer 2005). İnsektisitlerin, böceklerde oksidatif stres meydana getirerek serbest radikal oluşturması ve bu oluşan reaktif moleküllerin de protein,

lipit, karbohidrat, nükleik asitler, DNA ve enzimler üzerine önemli derecede etkileri olduğu bilinmektedir (Büyükköroğlu et al. 2001, Damien et al. 2004). Bu çalışmada *G. mellonella* larvalarının orta bağırsağında oksidatif stresin göstergesi olan lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu düzeyi önemli derecede yüksek bulunmuştur. Niklozamidin denenen tüm konsantrasyonları 7.evre larvalarının orta bağırsağındaki bir aldehit türevi olan MDA'yı indüklemiş olabilir, daha önce yapılan bir çalışmada da organofosfat insektistlerin belirli konsantrasyonlarına maruz kalan böceklerde MDA miktarının arttığı gösterilmiştir (İçen et al. 2005, Büyükgüzel 2006, 2009, Yu et al. 2011). En düşük konsantrasyon olan 0,01 ppm'de MDA miktarında önemli bir etki gözlenmezken malatyonun yüksek konsantrasyonlarında (0,1, 1 ve 10 ppm) MDA miktarı önemli derecede yükselmiştir (Büyükgüzel 2009). Bu sonuçlara göre malatyonun dozuna bağlı olarak *G. mellonella* larvalarında MDA miktarının arttığı ortaya çıkarılmıştır (Büyükgüzel 2009).

Antibiyotik insektisit olarak kullanılan niklozamidin en düşük konsantrasyonu da dahil olmak üzere MDA miktarında oldukça önemli bir artış saptanmıştır. Bir organofosfat insektisit olan foksimin letal dozu ipek böceğinin orta bağırsak, yağ dokularındaki MDA miktarını maruz kalma süreleri ile doğru orantılı olarak artırdığını tespit edilmiştir (Yu et al. 2011). (Protein Karbonil) PCO'de MDA gibi oksidatif stresin önemli belirteçlerinden biridir. PCO miktarındaki artış, bize ortamda bulunan oksidatif stresin şiddeti hakkında bilgi vermektedir. Protein böceklerde, başlıca gelişme ve üreme aşamalarında kullanılmaktadır (Dadd 1985, Zucoloto 1988). Buna bağlı olarak proteinlerde meydana gelen hasar böceğin hem gelişim hem de biyolojik özellikleri üzerinde etki olacaktır. Yapılan bu çalışmada böceğin orta bağırsak protein karbonil miktarındaki artış, böcekte niklozamid tarafından meydana getirilen strese karşı proteinlerin okside olduğunu göstermektedir. Serbest radikallerin etkisi sonucu oluşan oksidatif protein modifikasyonu ve bunun sonucu oksitlenmiş proteinlerin fazla miktarda birikmesi hücre ve doku hasarına sebep olmaktadır (Stadtman 1992, Dean et al. 1997).

Denenen yüksek niklozamid konsantrasyonları önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST aktivitesinde önemli artışa sebep olmuştur. Bu sonuçlar besinsel niklozamidin yüksek konsantrasyonlarının böceğin biyolojik parametreleri üzerindeki olumsuz etkilerinin, antihelmintik antibiyotiğin prooksidatif etkisine bağlı olabileceğini göstermiştir. Oksidatif stres üreten organik ksenobiyotiklerin çevresel etkilerini değerlendirmek için GST bir belirteçtir (Monteiro et al. 2006, Otitoju and Onwurah 2007). Böceklerdeki GST doğrudan

GPx aktivitesi ile (Reaktif Oksijen Türleri) ROT tarafından üretilen sekonder ürün hasarlarından koruyarak ve tamir ederek antioksidan savunmaya katkıda bulunmaktadır (Singh et al. 2001, Vontas et al. 2001, Ding et al. 2005). Niklozamide maruz kaldıktan sonra, *G. mellonella* orta bağırsağında GST aktivitesi özellikle en yüksek konsantrasyonda kontrol grubuna göre 2 kat yükselmiştir. *G. mellonella* GST aktivitesi niklozamid ile indüklenmiş olabilir ve buna bağlı olarakta GST'nin indüklenmiş peroksidaz aktivitesi ile MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin seviyesinde düşmeye neden olabilir. Yapılan bir çalışmada bir organofosfat insektisite maruz kalan ipekböceğinin yağ dokusundaki GST aktivitesi orta bağırsaktakine göre daha fazla indüklenmiş olduğu gösterilmiştir (Yu et al. 2011). Giordano et al (2010), *Formica candida*'da yüksek dozlardaki antibiyotiklerin düşük toksisitesinde gösterdiği gibi *G. mellonella*'nın uzun sürede zamana bağlı olarak antihelmintik antibiyotiği ve metabolizma ürünlerini detoksifiye etmesi sonucu yükselmiş olabilir.

Bu çalışmada niklozamid ile beslenen larvaların orta bağırsak GST aktivitesinin yüksek bulunması bu görüşü desteklemektedir. Mısır ve çimenlerde bulunan güçlü antibiyotik etkisi gösteren (2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3) DIMBOA'nın bir afid türü olan *Rhosaplosiphum padi*'nin detoksifikasyon enzimleri (GST ve esteraz) üzerine etkisi incelenmiş, bu böcek türünün doğal besinlerine DIMBOA eklenerek afid erginleri beslenmiş ve bu maddenin bu maddenin böceğin esteraz, GST enzimlerinin aktivitelerini önemli derecede inhibe ettiği ortaya çıkarılmıştır. Böceklerdeki GST enzim sistemi üzerine insektisit veya allelokimyasalların etkisi ksenobiyotiklerin fizikokimyasal özelliklerine ve böcek türlerine bağlı olarak değişmektedir (Mukanganyama et al. 2003). Böceklerde pretroidlere karşı savunmada GST aktivitesi araştırılmış ve insektisitlere maruz kalma sürelerine bağlı olarak GST aktivitesinin değiştiği ve aynı zamanda bu enzimin insektisitlere karşı direncin sağlanmasında da etkili olduğu bulunmuştur (Kostaropoulos et al. 2001).

BÖLÜM 6

SONUÇ

Niklozamidin son evre larvalarının orta bağırsağında sebep olduğu oksidatif strese bağlı olarak oluşan biyomoleküler hasar sonucu böceğin biyolojik özellikleri üzerinde olumsuz etki gösterebileceği anlaşılmaktadır. Böceğin ergin evresinde niklozamidin oksidatif etkisine bakılmamasına rağmen bu antibiyotiğin sebep olduğu oksidatif hasardan böceğin ergin özelliklerinin olumsuz yönde etkilendiğini söyleyebiliriz. Niklozamidin denenen en yüksek konsantrasyonunda GST enziminin aktivitesindeki önemli artış, MDA ve protein karbonil miktarlarındaki yükselme ile birlikte yaşama oranının düşmesi, gelişme süresinin uzaması, eşey oranının, yumurta verimi ve açılma oranının azalması bu düşüncüyü destekleyen önemli sonuçlardır.

KAYNAKLAR

- Ahmad M** (1994) Biological Control of Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* L.. *J. Apic. Res.*, 32 (3): 319-323
- Ahmad M, Arif M I and Attique M R** (1997) Pyrethroid resistance of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. *Bull. Ent. Res.*, 87: 343-347.
- Akhurst R J and Bedding R A** (1986) Natural occurrence of insect pathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) in soil in Australia. *J. Aust. Entomol. Soc.*, 25: 241-244
- Akman E** (2004) İki Konak Türünün, Parazitoid *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) Erginlerinde, Yaşa Bağlı Olarak Total Lipit, Protein ve Glikojen Miktarına ve Parazitoidin Bazı Özelliklerine Etkileri. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, s.1-57.
- Aktümsek A** (1996) Parazitoid, *Itoplectis maculator* F. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'un Yağ Asiti Bileşimine Konak ve Eşey Farklılığının Etkisi. *Turk. J. Zool.*, 20: 7-10.
- Akyol E, Yeninar H, Şahinler N ve Ceylan D A** (2009) Büyük balmumu güvesi *Galleria mellonella* L.'nin (Lepidoptera: Pyralidae) kontrolünde karbondioksitin (CO₂) kullanımı. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 9: 26-31.
- Ali A D, Bakry N M, Abdellatif M A and El-Sawaf S K** (1973) The Control of Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* L., by Chemicals I. Susceptibility of the Wax Moth Larvae and Honey-Bee Workers to Certain Chemicals. *Zeit. Ang. Entomol.*, 74: 170-177.
- Allan N L** (2000) Wax Moth and Its Control, Department of Agriculture Western Australia, <http://www.agric.wa.gov.au/agency/pubns/farmnote/2000/f00697.htm>.
- Altınççek B, Linder M, Linder D, Preissner K T and Vilcinskas A** (2007) Microbial Metalloproteinases Mediate Sensing of Invading Pathogens and Activate Innate Immune Responses in the Lepidopteran Model Host *Galleria mellonella*. *Infect. Immun.*, 75: 175-183.
- Alverson J and Cohen A C** (2002) Effect of antifungal agents on biological fitness of *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae). *J. Econ. Entomol.*, 95: 256-260.
- Andow D A, Ragsdale D W and Nyvall R F** (1997) Ecological interactions and biological control. Westview Press, Colorado, p.334.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Arslan H** (2000) “Andezit ve Bazalt Tufunun Diclorvos (DDVP) Gideriminde Kullanılabilirliğinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, MEU. Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 96 s.
- Badhiya R L and Hazaraki L K** (1996) Effect of Methoprene and Diflubenzuron on Water, Lipid and Chitin content of *Dicladispa armigera*. *Entomon*, 21: 7-11.
- Balcioğlu İ C** (2003) Helminth enfeksiyonlarının ve artropod enfestasyonlarının sağaltımındaki yenilikler. *13. Parazitoloji Kongresi Bildiri Kitabı*, Konya, s. 58- 66.
- Barwal R N and Karla R L** (2001) Changes in the Lipid of Rust-Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. On Their Exposure to Dieldrin. *J. Appl. Zool. Res.*, 12: 60-63.
- Batcabe J P, Macgill R S, Zaman K, Ahmad S and Pardini R S** (1994) Mitomycin C induced alterations in antioxidant enzyme levels in a model insect species. *Spodoptera eridania*. *Gen. Pharmacol.*, 25: 569-574.
- Bonomo R A and Salata R A** (1996) Antiparasitic drugs for children, *Nelson WE (Sen. ed.), Behrman R E, Kliegman R M, Arvin A M (eds): Nelson Textbook of Pediatrics*, 15. baskı, W.B. Saunders Company, Pennsylvania, s. 1007-13.
- Booth N H and Mc Donald L E** (1982) *Veterinary pharmacology and therapeutics. 5th ed. The Iowa State, Press, Ames.*
- Bozkurt K** (2003) Phospholipid and Triacylglycerol Fatty Acid Compositions from Various Development Stages of *Melanogryllus desertus* Pall. (Orthoptera: Gryllidae). *J. Cell Biol.*, 27: 73-78.
- Bronskill J** (1961) A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae). *J. Lep. Soc.*, 15: 102-104.
- Büyükgüzel K ve Yazgan Ş** (1996) Bazı antibiyotiklerin endoparazitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)’nin yaşama ve gelişimine etkileri. *Doğa Tr. J. Zool.*, 20: 1-7.
- Büyükgüzel E** (2009) Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion. *J. Econ. Entomol.*, 102: 152-159.
- Büyükgüzel E and Kalender Y** (2007) Penicillin-induced oxidative stress: Effects on antioxidative response of midgut tissues in larval instars of *G. mellonella*. *J. Econ. Entomol.*, 100: 1533-1541.
- Büyükgüzel E and Kalender Y** (2008) *Galleria mellonella* (L.) Survivorship, Development and Protein Content in Response to Dietary Antibiotics. *J. Entomol. Sci.*, 43-1.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Büyükgüzel K** (2001) DNA gyrase inhibitors: Novobiocin enhances the survival of *Pimpla turionellae* larvae reared on an artificial diet but other antibiotics do not. *J. Appl. Entomol.*, 125: 583-587.
- Büyükgüzel K** (2001a) Positive effects of some gyrase inhibitors on survival and development of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera:Ichneumonidae) larvae reared on an artificial diet. *J. Econ. Entomol.*, 94: 21-26.
- Büyükgüzel K** (2001b) DNA gyrase inhibitors: Novobiocin enhances the survival of *Pimpla turionellae* larvae reared on an artificial diet but other antibiotics do not. *J. Entomol. Exp. Appl.*, 125: 583-587.
- Büyükgüzel K** (2006) Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp: effect on adult emergence, longevity, fecundity, and oxidative and antioxidative response of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J. Econ. Entomol.*, 99: 1225-1234.
- Büyükgüzel K and İçen E** (2004) Effects of gyrase inhibitors on the total protein content of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvae reared on an artificial diet. *J. Entomol. Sci.*, 39 (1): 108-116.
- Büyükgüzel K and Yazgan Ş** (2002) Effects of antimicrobial agents on survival and development of larvae of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) reared on an artificial diet. *Turk. J. Zool.*, 26: 111-119.
- Büyükkoroğlu M E, Gülçin I, Oktay M and Kufrevioğlu O I** (2001) Invitro Antioxidant Properties of Dantrolene Sodium. *Pharmacol. Res.*,44: 491-495.
- Campos F, Donskov N, Arnason J T, Philogene B J R, Atkinson P M and Werstuik N H** (1990) Biological effects and toxicokinetics of DIMBOA in *Diadegma terebrans* (Hymenoptera: Ichneumonidae), an endoparasitoid of *Ostrina nubilalis* (Lepidoptera: Pyralide). *J. Econ. Entomol.*, 83: 356-360.
- Charriere J D and Imdorf A** (1997) Protection of honeycombs from moth damage. Swiss Bee Research Center Federal Dairy Research Station. *Communication*, 24: 1-14.
- Chen Y H and Welter S C** (2002) Abundance of a native moth *Homoeosoma electellum* (Lepidoptera: Pyralidae) and activity of indigenous parasitoids in native and agricultural sunflower habitats. *Environ. Entomol.*, 31 (4): 626-636.
- Choi J, Roche H and Caquet T** (2001) Hypoxia, hyperoxia and exposure to potassium dichromate or fenitrothion alter the energy metabolism in *Chironomus riparius* Mg. (Diptera: Chironomidae) larvae. *Comp. Biochem. Physiol.*, 130 (1): 11-17.
- Cohen E, Podoler H and Hamlauwime** (1988) Effect of Malathion-Bai Crop. Protection, 7: 91-95.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Croft B A** (1990) Arthropod Biological Control Agents and Pesticide. Wiley, New York.
- Çağlar Y, Tutkun E, Tutar A ve Yılmaz B** (2001) Balmumu Güvesi Mücadelesinde Kullanılan Kükürtdioksitin (SO₂) Farklı Dozlarının Etkisi Üzerine Araştırmalar, Türkiye 3. Arıcılık Kongresi, Adana.
- Çetin H, Demir E, Kocaoglu S and Kaya B** (2010) Insecticidal Activity of Some Synthetic Pyrethroids with Different Rates of Piperonyl Butoxide (PBO) Combinations on *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Ekoloji*, 19 (75): 27-32.
- Dadd R H** (1985) Nutrition: Organisms in: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, eds. Kerkut G A. and Gilbert L I., *Pergamon Press*, Oxford. National Academy Press, Washington, DC, pp. 313-390.
- 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 Soil Pollution*, 152: 55-69.
- Davis A R, Solomon K R and Shuel R W** (1988) Laboratory studies of honeybee larval growth and development as affected by systemic insecticides at adult-sublethal levels. *J. Apic. Res.*, 27(3): 146-161.
- Dean R T, Fu S, Stocker R and Davies M J** (1997) Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *J. Biochem.*, 324: 1-18.
- Delen N, Durmuşoğlu E, Güncan A, Güngör N, Turgut C ve Burçak A** (2005) Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi, 7 Ocak 2005, Ankara, 21s.
- Ding Y, Hawkes N, Meredith J, Eggleston P, Hemingway J and Ranson H** (2005) Characterization of the promoters of Epsilon glutathione transferases in the mosquito *Anopheles gambiae* and their response to oxidative stress. *Biochem. J.*, 387: 879-888.
- Ehlers R U** (1996) Current and future use of nematodes in biocontrol: practice and commercial aspects with regard to regulatory policy issues. *Biocontrol. Sci. Technol.*, 6: 303-316.
- Eid M A A, El-Nakkadı A N and Saleh M A** (1989) Functional adaptation of silk glands after administration of antibiotic to larvae of *Philosamia ricini* (Boisd). *Insect Sci. Appl.*, 10: 139-143.
- Ergin E, Er A, Uçkan F and Rivers D B** (2007) Effect of cypermethrin exposed hosts on eggadult development time, number of offspring, sex ratio, longevity and size of *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae). *Belg. J. Zool.*, 137(1): 27-31.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Erlandson M, Hegedus D, Baldwin D, Noakes A and Toprak U** (2010) Characterization of the *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae) larval midgut protease complement and adaptation to feeding on artificial diet, Brassica species and protease inhibitor. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 75: 70-91.
- Fitzpatrick G E and Dowell R V** (1981) Survival and Emergence of *Citrus black fly* (*Aleurocanthus woglumi*) Parasitoids after Exposure Two Insecticides. *Environ. Entomol.*, 10 (5): 728-731.
- Gaaboub I A and Dawood M R** (1974) Effects of Sublethal concentrations of DDT and Malathion on the Fecundity and Reproduction of *Culex pipiens* L. *Zeit. Ang. Entomol.*, 22: 435-443.
- George P J E, Kannag J and Ambrose D P** (2002) Nutritional Influence of Prey on the Biology and Biochemistry in *Rhynocoris marginatus* (Heteroptera: Reduviidae) *J. Biol. Pest. Co.*, 16 (1): 1-4.
- Giordano R, Weber E, Waite J, Bencivenga N, Krogh P H and Soto-Adames F** (2010) Effect of a high dose of three antibiotics on the reproduction of a parthenogenetic strain of *Folsomia candida* (Isotomidae: Collembola). *Environ. Entomol.*, 39 (4): 1170-1177.
- Grenier S and Liu W H** (1990) Antifungals: Mold control and safe levels in artificial Media for *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Entomophaga*, 35: 283-291.
- Grover J K, Vats V, Uppal G and Yadav S** (2001) Antihelmintics: a review, *Trop. Gastroenterol.*, 22 (4): 180-9.
- Gupta P K** (2004) Pesticide Exposure-Indian Scene, *Toxicology*, 198: 83-90.
- Habig W H, Pabst M J and Jakoby W B** (1974) Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249: 7130-7139.
- Halley B A, Jacob T A and Lu A Y H** (1989) The environmental impact of the use of ivermectin. Environmental effects and fate. *Chemosphere*, 18: 1543-1563.
- Haynes K F** (1988) Sublethal Effects of Neurotoxic Insecticides on Insect Behavior. *Annu. Rev. Entomol.*, 33: 149-68.
- Hill T A and Foster R E** (2000) Effect of insecticides on the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) and its parasitoid *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J. Econ. Entomol.*, 93(3): 763-768.
- Hillocks R J** (1995) Integrated management of insect pests, diseases and weeds of cotton in Africa. *Integ. Pest. Manag. Rev.*, 1: 31-47.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Hominick W M and Brscoe B R** (1990) Survey of 15 sites over 28 months for entomopathogenic nematodes (Rhabadiia: Steinernematidae). *Parasitol.*,100:289-294.
- Inglis G D and Cohen A C** (2004) Influence of antimicrobial agents on the spoilage of a meat-based entomophage diet. *J. Econ. Entomol.*, 97: 235-250.
- Ito K** (1989) Studies on the Life History of *Cletus punctiger* Dallas (Heteroptera. Coreidae) with Special Reference to the Seasonal Interhabitat Movements and Mechanism of Migration into Rice Fields. Bull. National Agricultural Research Center, 14: 39-103.
- Ito K and Nakata T** (1998) Diapause and Survival in Winter in Two Species of Predatory Bugs, *Orius sauteri* and *O. minutus*. *Entomol. Exp. Appl.*, 89 (3): 271-276.
- İçen E, Armutçu F, Büyükgüzel K and Gürel A** (2005) Biochemical stress indicators of greater wax moth *Galleria mellonella* L. exposure to organophosphorus insecticides. *J. Econ. Entomol.*, 98 (2): 358-366.
- Jacome I, Aluja M, Liedo P and Netsel D** (1995) The Influence of Adult Diet and Age on Lipid Reserves in the Tropical Fruit Fly *Anastrepha serpentina* (Diptera Tephritidae). *J. Insect. Physiol.*, 41 (12): 1079-1086.
- Jain S K and Levine S N** (1995) Elevated lipid Peroxidation and vitamin E-Quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radic. Biol. Med.*, 18: 337-341.
- Joyce S A and Gahan C G M** (2010) Molecular pathogenesis of *Listeria monocytogenes* in the alternative model host *Galleria mellonella*. *Microbiology*, 156: 3456-3468.
- Kelly J and Kavanagh K** (2011) Caspofungin primes the immune response of the larvae of *Galleria mellonella* and induces a non-specific antimicrobial response. *J. Med. Microbiol.*, 60: 189-96.
- Kence M ve Kence A** (1992) Böceklerde İnsektist Direncinin Kırılması. Türkiye 2. Entomoloji Kongresi Bildirileri, 28-31 Ocak 1992, Adana, Cilt: 273-280.
- Kostaropoulos I, Papadopoulos A I, Metaxakis A, Boukouvala E and Papadopoulou-Mourkidou E** (2001) Glutathione-S-transferase in the defence against pyrethroids in insect. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31: 313-319.
- Krishnan N and Kodrik D** (2006) Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stres. *J. Insect Physiol.*, 52: 11-20.
- Kudon L H, Berisford C W and Dalusky M J** (1988) Refinement of a spray timing technique for the Nantucket pine tip moth (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Entomol. Sci.*, 23 (2): 180-186.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Kumova U ve Korkmaz A** (2002) Peteklerin Büyük Bal Mumu Güvesi (*Galleria mellonella* L.) 'ne Karşı Korunması Üzerine Bir Arastırma. Türkiye 3. Arıcılık Kongresi. Adana.
- Levine R L, Williams J A, Stadtman E R and Shacter E** (1994) Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.*, 233: 347-357.
- Liles J N** (1958) Some effects of dietary penicillin on the german cockroach, *Blattella germanica* (L.) (Orthoptera: Blattidae). *Ohio. J. Sci.*, 58: 84-96.
- Lohar M K and Wright D J** (1993) Changes in the lipid content in the haemolymph, fat body and oocytes of malathion treated *Tenebrio molitor* L. adult females. *Pakistan J. Zool.*, 25 (1): 57-60.
- Lowry O H, Rosebrough N L, Farr A L and Randall R J** (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 19: 265.
- Macri A, Stazi V and Dojmi di Delupis G** (1988) Acute toxicity of furazolidone on *Artemia salina*, *Daphnia magna* and *Culex pipiens molestus* larvae. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 16: 90-94.
- Malczewska M, Gelman D B and Cymborowski B** (1988) Effect of Azadirachtin on Development, Juvenile Hormone and Ecdysteroid Titres in Chilled *Galleria mellonella* Larvae. *J. Insect. Physiol.*, 34 (7): 725-732.
- McLeod P, Diaz F J and Johnson D T** (2002) Toxicity, persistence and efficacy of spinosad, chlorfenapyr and thiamethoxam on eggplant when applied against the eggplant flea beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.*, 95 (2): 331-335.
- Miduturi J S, Moens M, Hominick W M, Briscow B R and Reid A P** (1996) Naturally occurring entomopathogenic nematodes in the province of West-Flanders. *Belgium. J. Helminthol.*, 70: 319-327.
- Miller F and Uetz S** (1998) Evaluating biorational pesticides for controlling arthropod pests and their phytotoxic effects on greenhouse crops. *HortTechnology*, 8 (2): 185-192.
- Miyata S, Casey M, Frank D W, Ausubel F M and Drenkard E** (2003) Use of the *Galleria mellonella* caterpillar as a model host to study the role of the type III secretion system in *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. *Infect. Immun.*, 71: 2404-2413.
- Monteiro D A, J A de Almeida, Rantin F T and Kalinin A L** (2006) Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion). *Comp. Biochem. Physiol. C- Pharmacol. Toxikol. Endocrinol.*, 143: 141-149.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Mracek Z** (1980) The use of Galleria traps for obtainig nematode parasites of insects in *Czechoslovakia* (Lepidoptera: Nematoda, Steinernematidae). *Acta. Entomol. Bohemoslov.*, 77: 378-382.
- Mracek Z, Sturhan D and Reid A P** (2003) *Steinernema weiser* sp. (Rhabditida, Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Europa. *Syst. Parasitol.*, 56: 37-47.
- Mukanganyama S, Figueroa C C, Hasler J A and Niemeyer H M** (2003) Effects of Dimdoa on detoxification enzymes of the aphid *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: aphididae). *J. Insect. Physiol.*, 49: 223-229.
- Mukherjee K, Altincicek B, Hain T, Domann E, Vilcinskis A and Chakraborty T** (2010) *Galleria mellonella* as a Model System for Studying Listeria Pathogenesis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76: 310-317.
- Nguyen K B and Smart G C** (1990) *Steinernema scapterisci* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae). *J. Nematol.*, 22:187-199.
- Otitoju O and Onwurah I N E** (2007) Glutathione S-transferase (GST) activity as a biomarker in ecological risk assessment of pesticide contaminated environment. *African J. Biotechnol.*, 6: 1455-1459.
- Ouye M T** (1962) Effects of antimicrobial agents on microorganisms and pink bollworm development. *J. Econ. Entomol.*, 55: 854-857.
- Ozer N, Keskin N and Kirbas Z** (1995) Occurence of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae: Heterorhabditidae) in Turkey. *Nematologi*, 41: 639-640.
- Öncüer C** (2000) Tarımsal zararlılarla savas yöntemleri ve ilaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, Aydın, 13: 379s.
- Özalp P ve Emre İ** (1998) Karbohidratların *Pimpla turionellae* L. Ergin Dişilerinde Total Glikojen ve Protein Miktarına Etkileri. *Turk. J. Biol.*, 22: 15-19.
- Özparlak H** (2003) Böceklerde Kutikulanın Yapısı, Deri Değişirme ve Diflubenzuron'un (DFB) Etkileri. *S.Ü. Fen-Edb. Fakültesi Fen Dergisi*, 21: 7-19.
- Pearson B and Raybould A F** (1998) The Effects of antibiotics on the development of larvae and the possible role of bacterial load in caste determination and diapause in *Myrmica rubra* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 31: 77-90.
- Pullin A** (1992) Diapause Metabolism and Changes in Carbohydrates Related to Cryoprotection in *Pieris brassicae*. *J. Insect. Physiol.*, 38 (5): 319-327.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ribeiro B M, Guedes R N C, Oliveira E E and Santos J P** (2003) Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stor. Prod. Res.*, 39: 21-31.
- 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.
- Sak O** (2004) Cypermethrinin *Pimpla turionellae* L. Toplam Protein, Lipit ve Karbohidrat Miktarı ile Hemositlerine Etkisi. Doktora Tezi, Balıkesir Üni. F. B. E, Balıkesir, s.1-102.
- Sak O, Gülgönül E E and Uçkan F** (2009) Effects of cypermethrin exposed to host on the developmental biology of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 102 (2): 288-294.
- Sak O, Uçkan F and Ergin E** (2006) Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Belg. J. Zool.*, 136 (1): 53-58.
- Sanford M T** (2003) Controlling Wax Moth, one of a Series of the Entomology and Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, EDIS Web Site at <http://edis.ifas.ufl.edu>.
- Sayah F, Idaomar M, Soranzo L and Karlinsky A** (1998) Endocrine and Nevroendocrine effects of Azadirachtin in adult females of the earwig *Labidura riparia*. *Tissue and Cell*, 30 (1): 86-94.
- Schmidt C D** (1983) Activity of an Avermectin against selected insects in Aging Manure. *Environ. Entomol.*, 12: 455-457.
- Seyoum E, Bateman R P and Charnley A K** (2002) The effect of *Metarhizium anisopliae* var *aeridium* on Haemolymph Energy Reserves and Flight Capability in the Desert Locust, *Schistocerca gregaria*. *J. Appl. Entomol.*, 126: 119-124.
- Singh P and House H L** (1970) Antimicrobials safe levels in a synthetic diet of an insect, *Agria affinis*. *J. Insect. Physiol.*, 16: 1769-1782.
- Singh P and House H L** (1970c) Antimicrobial agents: their detrimental effects on size of an insect, *Agria affinis*. *Can. Entomol.*, 102: 1340-1344.
- Singh S P, Coronella J A, Benes H, Cochrane B J and Zimniak P** (2001) Catalytic function of *Drosophila melanogaster* glutathione S-transferase DmGSTS1G1 (GST 2) in conjugation of lipid peroxidation end products. *Eur. J. Biochem.*, 268: 2912-2923.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Sloyevsky Y and Ephrati H** (1997) Control of Beeswax moths using carbondioxide in flexible plastic and metal structure. In: Proc. Int. Conf. Controlled atmosphere and fumigation in grain storages, 21-26 April 1996, Nicosia Cyprus pp: 169-174.
- Snedecor G S and Cochran W G** (1989) *Statistical Method*. Iowa State University Press, 8th ed., Ames, IA.
- Socha R, Sula J and Zemek R** (1998) Feeding Behaviour, Digestive Physiology and Lipid Content in Macropterous Females of *Pyrrhocoris apterus* L. (Heteroptera: Pyrrhocoridae). *Physiol. Entomol.*, 23: 91-96.
- Soderlund D M and Knipple D C** (1999) Knockdown resistance to DDT and pyrethroids in the house fly (Diptera: Muscidae): from genetic trait to molecular mechanism. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 92(6): 909-915.
- SPSS** (1997) User's manual, version 10. SPSS, Chicago, IL.
- Stadtman E R** (1992) Protein oxidation and aging. *Science*, 257: 1220-1224.
- Şanlı Y ve Kaya S** (1994) *Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağlık Seçenekleri Kitabı*, 2.Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, s. 651-669.
- Şeker D A ve Yanıkoğlu A** (1999) *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın Açlık, Beslenme, Parazitlenme ve Yaşlılık Durumlarında Glikojen Seviyesindeki Değişmeler. *Turk. J. Zool.*, 23: 289-296.
- Takada Y, Kawamura S and Tanaka T** (2001) Effects of various insecticides on the development of the egg parasitoid *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *J. Econ. Entomol.*, 94 (6): 1340-1343.
- Tillman P G and Mulrooney J E** (2000) Effect of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon mellitor*, *Cardiochiles nigriceps* and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. *J. Econ. Entomol.*, 93 (6): 1638-1643.
- Toros S, Maden S ve Sözeri S** (2001) Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları (IV. Baskı). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 1520, Ders Kitabı: 473. 417 s.
- Tutkun E, Çakmakçı L ve Bosgelmez A** (1987) Bal Arısı Kolonilerinde *Bacillus thurugiensis* Preparatlarının Büyük Mum Güvesi (*G. mellonella*) Larvalarına Karşı Kullanım Olanakları Üzerinde Araştırmalar. TÜBİTAK, Tarım ve Ormancılık Araştırma Grubu, Tarımsal Mikrobiyoloji Ünitesi Proje no: Tarmik- 8-34 s.
- Uckan F and Sak O** (2010) Cytotoxic Effect of Cypermethrin on *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) Larval Hemocytes. *Ekoloji*, 19 (75): 20-26.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Uçkan F and Gülel A** (2002) Age-related fecundity and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Hym., Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its hyperparasitoid *Dibrachys boarmiae* (Hym., Pteromalidae). *J. Appl. Ent.*, 126 (10): 534-537.
- Varer Ö** (2005) Sabit ve Periyodik Olarak Değişen Sıcaklık Derecelerinin, Parazitoid *Bracon hebetor* (say, 1836) (Hymenoptera: Braconidae) Erginlerinde Total Protein ve Lipit Miktarı ile Ergin Yaşam Süresine Etkisi. O. M. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Samsun.
- Vijayaraghauon C and Chitra K C** (2002) Total Protein and Free Amino Acid Content of *Spodoptera litura* (Fab.) due to Botanicals and Conventional Insecticides. *Indian J. Entomol.*, 64: 92-95.
- Vontas J G, Small G J and Hemingway J** (2001) Glutathione-s-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochem. J.*, 357: 65-72.
- Wang A H, Wu J C, Yu Y S, Liu J L, Yue J F and Wang M Y** (2005) Selective Insecticide-Induced Stimulation on Fecundity and Biochemical Changes in *Tryporyza incertulas* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.*, 98: 1144-1149.
- Warburg M S and Yuval B** (1996) Effects of Diet and Activity on Lipid Levels of Mediterranean Fruit Flies. *Physiol. Entomol.*, 21: 151-158.
- Willrich M M and Boethel D J** (2001) Effects of Diflubenzuron on *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) and its Parasitoid *Copidosoma floridanum* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Environ. Entomol.*, 30: 794-797.
- Xie Z N, Nettles Jr C W, Morrison R K, Irie K and Vinson S B** (1986) Three methods for the in vitro culture of *Trichogramma pretiosum* riley. *J. Entomol. Sci.*, 21: 133-138.
- Xu J, Shelton A M and Cheng X** (2001) Comparison of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) and *Microplitis plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) as biological control agents of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): field parasitism insecticide susceptibility, and host-searching. *J. Econ. Entomol.*, 94 (1): 14-20.
- Yamkoğlu A** (1985) *Schistocerca gregaria* Forskal (Orthoptera: Acrididae) Nimflerinin Doğal ve Sentetik Besinde Gelişimi Sırasında Glikojen Miktarı Tayini. *Doğa Bilim Dergisi*, 9 (3): 582-592.
- Yavuz O ve Şanlı Y** (1999) *Halk Sağlığı ve Vektör Kontrolünde Kullanılan Pestisidler, Pestisid Formülasyonları ve Uygulama Seçenekleri*, I. Seminer. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Yu Q, Fang S, Zuo W, Dai F, Zhang Z and Lu C** (2011) Effects of Organophosphate Phoxim Exposure on certain oxidative stres biomarkers in the silkworm. *J. Econ. Entomol.*, 104: 101-106.
- Zeren O ve Erem G** (2000) Adana ve İcel İllerindeki Pestisit Kullanım Duzeyi, TMMOB. Yayınları, Cevre Bilim ve Teknoloji Dergisi, Ankara, 1(1): 29-33.
- Zettler J L and LeCato G L** (1974) Sublethal Doses of Malathion and Dichlorvos: Effects on Fecundity of the Black Carpet Betle. *J. Econ. Entomol.*, 67: 19- 21.
- Zucoloto F S** (1988) Qualitative and Quantitative Competition for Food in *Ceratitis capitata*. *Rev. Brasi. Biol.*, 48: 523-526.

ÖZGEÇMİŞ

Selver KAYAOĞLU 1984'te Şişli'de doğdu; ilk ve orta eğitimini İstanbul'da tamamladı; Şişli Kurtuluş Lisesi'nden mezun olduktan sonra 2004 yılında Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girdi; 2009'da mezun olduktan sonra aynı yıl BEÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına girdi.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres : Hacı Ahmet Mah. Dev Süleyman Sok.
No: 20 Daire 3
Beyoğlu/ İSTANBUL

Tel : (544) 556 41 51

E-posta : selver-kayaoglu@hotmail.com