

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Gryllus bimaculatus (ORTHOPTERA: GRYLLIDAE)'un SON
NİMFAL VE ERGİN EVRELERDEKİ BAZI DOĞAL İMMÜN
SİSTEM AKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

DİLEK ARSLAN

YÜKSEK LİSANS

ORDU 2018

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Dilek ARSLAN tarafından hazırlanan ve Prof. Dr. Hasan SEVGİLİ danışmanlığında yürütülen “*Gryllus bimaculatus* (Orthoptera: Gryllidae)’un Son Nimfal ve Ergin Evrelerdeki Bazı Doğal İmmün Sistem Aktivitelerinin Karşılaştırılması” adlı bu tez, jürimiz tarafından 26/06/2018 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Hasan SEVGİLİ

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Evrim SÖNMEZ
Matematik ve Fen Bilimleri Bölümü, Sinop Üniversitesi

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ali GÜNCAN
Bitki Koruma Bölümü, Ordu Üniversitesi

İmza :

Üye : Prof. Dr. Hasan SEVGİLİ
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Ordu Üniversitesi

İmza :

ONAY:

16/08 / 20.18 tarihinde enstitüye teslim edilen bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 27/08/2018 tarih ve 2018/378 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Enstitü Müdürü
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Sami GÜLER

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



Dilek ARSLAN

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

ÖZET

***Gryllus bimaculatus* (ORTHOPTERA: GRYLLIDAE)'un SON NİMFAL VE ERGİN EVRELERDEKİ BAZI DOĞAL İMMÜN SİSTEM AKTİVİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dilek ARSLAN

Ordu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 2018
Yüksek Lisans Tezi, 86 s.

Danışman: Prof. Dr. Hasan SEVGİLİ

Böceklerin immün sistemleri hücrenel ve humoral olmak üzere iki altgruba ayrılmaktadır. İmmün fonksiyonlar oldukça maliyetli olup, gelişim süresi, olgunlaşma, eşeyssel davranış ve üreme gibi diğer yaşam öyküsü özellikleriyle uzlaşmada olması gerekir. Bu çalışmada, laboratuvar şartlarında Akdeniz çekirgesi, *Gryllus bimaculatus*'a ait üç kuşakta doğal bağışıklık sisteminin farklı gelişim dönemlerinde, (son devre nimf, genç juvenil ergin (3 yaş) ve yaşlı ergin (25 yaş) durumu incelenmiştir. Böceklerde kutikula melanizmi ve doğal bağışıklık fonksiyonlarının ortak fizyolojik yolları paylaşımları nedeniyle, pronotumun ve arka femurun melanizasyonu da çalışılmıştır. Hemolimfteki toplam fenoloksidaz miktarı (FA), litik aktivite (LA-lizozim-benzeri aktivite), hemolimfteki protein konsantrasyonu (HPK) ve enkapsülasyon yeteneği (ENK) her bir gelişim grubu için belirlenmiştir. FA, vücut ağırlığı ve büyüklüğü ile güçlü ve pozitif bir ilişkiye sahiptir. LA sadece I. kuşakta vücut ağırlığı ve büyüklüğü ile pozitif ilişki göstermiştir. Kutikular melanizasyon gelişim süresi ile negatif ilişkili bulunmuştur. HPK vücut ağırlığı ve büyüklüğü ile negatif ilişki göstermiştir. Tüm immün parametreler üç kuşakta farklı olduğu tespit edilmiştir. FA, LA, HPK ve ENK incelenen gelişim grupları arasında farklılık göstermiştir. Son larval evreden erginliğe doğru FA artmış olmasına rağmen, nimflerde HPK ergin dönemlere göre daha yüksekti, fakat genç ve yaşlı erginlerde farklılık göstermemiştir. Genel olarak, dişilerde erkeklere nazaran FA daha yüksek iken LA, TKM, ENK ve HPK erkeklerde daha yüksekti ki bu da eşeye özgü bazı immün fonksiyonlar arasındaki uzlaşmaya işaret eder. Böylece, bu çalışma sisteminde elde edilen sonuçlar farklı kuşak, eşey ve yaş gruplarında immün fonksiyonların bazı yaşam öyküsü özelliklerinden nasıl etkilendiğini anlamak açısından çıkarımlar ortaya koymuştur.

Anahtar kelimeler: Bağışıklık, Fenoloksidaz, Litik aktivite, Enkapsülasyon, Protein, Melanizasyon, *Gryllus bimaculatus*

ABSTRACT

COMPARISON OF SOME INNATE IMMUNE SYSTEM ACTIVITIES OF *Gryllus bimaculatus* (ORTHOPHERE: GRYLLIDAE) IN THE LAST NYMPHAL AND ADULT STAGES

Dilek ARSLAN

University of Ordu
Institute for Graduate Studies in Science and Technology
Department of Molecular Biology And Genetics, 2018
MSc. Thesis, 86p.

Supervisor: Prof. Dr. Hasan SEVGİLİ

The immun systems of insects are divided into two subdivision: cellular and humoral. Immun functions are highly costly and they must compromise with other life-history traits such as developmantal stage , maturation, sexual behaviour and reproduction. In this study, in laboratory conditions, in three generations of Mediteranean Field Cricket, *Gryllus bimaculatus*, the status of the innate immune system in different growth stages (last nymphal stage, young juvenile adults(3 days) and late adulthood (25 days) was examined. The pronotum and hind femora melanisation were also studied due to the cuticular melanisation and their innate immune functions sharing common physiological pathways. Total haemolymph phenoloxidase activity (PO), lytic activity (LY), protein concentration of haemolymph (HPK), and encapsulation ability (ENK) were determined for each developmental groups. FA has a strong and positive association with body weight and size. LA was positively correlated only with body weight and size in the 1st generation. Cuticular melanism was found to be negatively associated with the development time. HPK showed a negative correlation with body weight and size. All immun parameters were found to be different in three generations. FA, LA, HPK and ENK differed between the examined development groups. Although FA increased during the period from the late larval to adulthood, HPK in nymphs was higher than in adult period , but did not differ in young and late adults. In general, while FA was higher in females compared to males, LA, TKM, ENK and HPK were higher in males, indicating a compromise between same gender spesific immunological functions. Thus , the results obtained in this study revealed implications in terms of understanding how immunological are influenced by some life-history traits in different generations, sexes and age groups.

Key words: Immunity, Phenoloxidase, Lytic activity, Encapsulation, Protein, Melanization, *Gryllus bimaculatus*

TEŐEKKÖR

Tez konumun belirlenmesi, çalıőmanın yűrűtűlmesi ve yazım esnasında desteęini esirgemeyen ve deęerli bilgilerini benimle paylaőan danıőman hocam sayın Prof. Dr. Hasan SEVGİLİ' ye araőtırma sűresince çekirgelerin besinlerinin hazırlanması, kafeslerin temizlenmesi ve çalıőma sırasında yardımlarını esirgemeyen kardeőim Uęur ARSLAN'a, Tez yazımı sırasında desteęi ve bilgisi ile her zaman yanımda olan arkadaőım Gűlőah YILMAZ'a ve Ebru KIRAN'a, eęitim hayatım boyunca yoluma ıőık tutan tűm űęretmenlerime, bűtűn zorluklara raęmen hayatımın her anında yanımda olan ve ideallerimi gerçekleőtirebilmem için maddi ve manevi desteęini esirgemeyen Babam ve varlıęını hep hissettięim Annem'e sonsuz teőekkűrlerimi sunarım.

Bu alıőma TűBİTAK-1002 "Hızlı Destek Programı" tarafından, 215Z455 nolu proje ile desteklenmiőtir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
ÇİZELGELER LİSTESİ	X
SİMGELER ve KISALTMALAR	XI
1. GİRİŞ	1
1.1. İmmün sistem aktiviteleri diğer yaşam öyküsü özelliklerine göre değişebilir.....	2
1.2. Eşeyssel dimorfizm ve bağışıklık	4
1.3. Böceklerde humoral ve hücrel savunma tipleri	6
1.3.1 Humoral Bağışıklık	6
1.3.1.1. Antimikrobiyal Peptitler	6
1.3.1.2. Enzimatik Kaskadlar	7
1.3.1.2.1. Hemolimf Pıhtılaşması	7
1.3.1.2.2. Hemolimf Melanizasyonu	7
1.3.1.3. Fenoloksidaz (FA) ve Lizozim benzeri aktiviteler (LA)	7
1.3.2. Hücrel Bağışıklık.....	9
1.3.2.1. Fagozitoz	10
1.3.2.2. Nodulasyon ve Enkapsülasyon	10
1.4. Araştırmanın hedefleri	11
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	13
3. MATERYAL ve METOT	20

3.1.	<i>Gryllus bimaculatus</i> 'un laboratuvarında yetiştirilmesi	20
3.2.	Deney düzeni	24
3.3.	İmmün aktivitelerin ölçülmesi.....	25
3.3.1.	Fenoloksidaz (FA) ve Litik aktivitelerin belirlenmesi.....	25
3.3.2.	Enkapsülasyon oranının belirlenmesi	26
3.3.3.	Kutikular melanizasyon ölçümü	28
4.	BULGULAR	31
4.1.	Üç Kuşağa Ait Hücresel Ve Humoral İmmün Aktiviteler	31
4.1.1.	Vücut Ağırlığı, Vücut Büyüklüğü, Arka Femur Uzunluğu, Kutikular Melenizasyon Sonuçlarına Ait Veriler	31
4.1.2.	Enkapsülasyon, litik aktivite, fenoloksidaz aktivitesi, hemolimfdeki protein konsantrasyonu sonuçlarına ait veriler.....	32
4.2.	Gelişim Dönemlerine Göre Kuşakların Değerlendirilmesi	34
4.3.	Gelişim Dönemlerine Göre 3 Kuşak.....	41
4.3.1.	Nimflerin 3 kuşak'a göre karşılaştırılması	41
4.3.2.	Juvenil (Genç Ergin) Bireylerin 3 kuşak'a göre karşılaştırılması	41
4.3.3.	Yaşlı Ergin Bireylerin 3 kuşak'a göre karşılaştırılması.....	43
4.4.	Vücut Büyüklüğü, Vücut Ağırlığı Gelişim Süresi ve İmmün Parametreler Arasında İlişkiler.....	44
4.5.	Hücresel ve Humoral Bağışıklık Parametrelerinin Eşey'e Göre Durumu	53
4.6.	Gelişim Dönemlerine Göre Erkek ve Dişi Bireylerin Karşılaştırılması.....	56
5.	TARTIŞMA	60
5.1.	Vücut Ağırlığı, Vücut Büyüklüğü, Kutikular Melenizasyon Sonuçları ve İmmün Parametreler	61
5.2.	Hücresel ve Humoral Bağışıklık Parametrelerinin Kuşaklara Göre Değerlendirilmesi	63
5.3.	Hücresel ve Humoral Bağışıklık Parametrelerinin Eşey'e Göre Durumu	67
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER	71

6.1	Genel Sonuç	71
6.2	Öneriler	73
7.	KAYNAKLAR	74
	ÖZGEÇMİŞ	86



ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Sekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1.	Eklembacaklılarda (Arthropoda) Profenoloksidaz (proFA) aktivasyon sistemi (pro-ppA: Profenoloksidaz-enzimi, detaylar için bkz. Cerenius ve Söderhall, 2004)	9
Şekil 3.1.	Laboratuvar ortamında yetiştirilen Akdeniz karaçekiresi <i>G. bimaculatus</i> 'a ait yumurtaların toplanması (A), yavru çıkışları (B), günlük besin hazırlanması(C), kafes içerisine bireylerin rastgele dağılımı(D)	21
Şekil 3.2.	Deney gruplarının oluşturulması.....	23
Şekil 3.3.	Enkapsülasyon yeteneğinin ölçülmesinde kullanılan misina parçasının 24 saat hemolimfte kaldıktan sonra melanize olmuş durumu.....	27
Şekil 3.4.	Vücudun pronotum (A, B), kanat (C) ve arka femur (D) koyuluk skorlarının (melanizasyonun) ölçümünde kullanılan fotoğraf örnekleri.....	28
Şekil 4.1.	Üç Kuşak Boyunca Vücut Ağırlığı (A), Vücut Büyüklüğü (B), Arka Femur Uzunluğu (C), ve Toplam Kutikular Melanizasyondaki (D) Değişimler.....	32
Şekil 4.2.	Üç Kuşak Boyunca Hemolimteki Protein Konsantrasyonu (A), Fenoloksidaz Aktivitesi (B), Litik Aktivite (C) ve Enkapsülasyon (D) Değişimleri	33
Şekil 4.3.	Kuşakların Gelişim Dönemlerine Göre, Vücut Ağırlığı (A) Hemolimfteki Protein Konsantrasyonu (B), Fenoloksidaz Aktivitesi (C), ve Litik Aktivite (D) Değerlerinin Karşılaştırılması.....	35
Şekil 4.4.	Kuşakların Gelişim Dönemlerine Göre, Enkapsülasyon (A), Vücut Büyüklüğü (B), ve Kutikular Melanizasyon(C) Değerlerinin Karşılaştırılması.....	36
Şekil 4.5.	Gelişim Dönemleri Arasında Ki Vücut Ağırlığı (A), Vücut Büyüklüğü (B), Arka Femur Uzunluğu (C) ve Toplam Kutikular Melanizasyondaki (D) Değişimler.....	42
Şekil 4.6.	Gelişim Dönemleri Arasında ki Hemolimteki Protein Konsantrasyonu(A), Fenoloksidaz Aktivitesi(B), Lizozim Aktivitesi (C) ve Enkapsülasyon(D) Değişimleri.....	43
Şekil 4.7.	Vücut Ağırlığının, Vücut Büyüklüğü Olan İlişkisi.....	45
Şekil 4.8.	Vücut Ağırlığının, Kutikular Melanizasyonla Olan İlişkisi.....	45

Şekil 4.9.	Vücut Ağırlığının, Litik Aktivite (A) ve Fenoloksidaz Aktivitesi (B) ile Olan İlişkileri.....	46
Şekil 4.10.	Vücut Ağırlığının(A), ve Vücut Büyüklüğünün(B) Hemolimfteki Protein Konsantrasyonu İle Olan İlişkileri.....	47
Şekil 4.11.	Vücut Büyüklüğünün, Litik Aktivite (A), Fenoloksidaz Aktivitesin (B) ile Olan İlişkisi.....	48
Şekil 4.12.	Kutikular Melanizasyonun Gelişim Süresi ile Gelişim Dönemlerine Göre Gösterdiği İlişki.....	49
Şekil 4.13.	Vücut Ağırlığının Gelişim Dönemlerine Göre FA'nin Karşılaştırılması.....	52
Şekil 4.14.	Vücut Büyüklüğünün Erkek ve Dişiye Göre FA Karşılaştırılması.....	52
Şekil 4.15.	Vücut Ağırlığının, Vücut Büyüklüğü/PCA (A) Ve Litik Aktivite (B) Verileriyle Eşeye Göre Olan İlişkisi.....	53
Şekil 4.16.	Kuşakların Eşeye Göre, Vücut Ağırlığı (A), Vücut Büyüklüğü (B), Kutikular Melanizasyon (C), Hemolimfteki Protein Konsantrasyonu (D) Yeteneği Bakımından Karşılaştırılması.....	55
Şekil 4.17.	Kuşakların Eşeye Göre, Vücut Ağırlığı, Litik Aktivite (A), Fenoloksidaz Aktivitesi (B), ve Enkapsülasyon (C) Yeteneği Bakımından Karşılaştırılması.....	56
Şekil 4.18.	Gelişim Dönemlerinin Eşeye Göre, Vücut Ağırlığı, (A), Vücut Büyüklüğü, (B), Kutikular Melanizasyon, (C) ve Enkapsülasyon, (D) parametrelerinin karşılaştırılması	58
Şekil 4.19.	Gelişim dönemlerinin eşeye göre, Fenoloksidaz Aktivitesi (A), Litik Aktivite (B), ve Hemolimfteki Protein Konsantrasyonu (C) parametrelerinin karşılaştırılması	59

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1.	Diyet malzeme listesi	20
Çizelge 4.1.	Bazı immün sistem parametreleri ve toplam kutikular melanizasyonu üzerine çeşitli faktörlerin etkileri	37
Çizelge 4.2.	Tüm grupların dahil edildiği genel korelasyona ilişkin 1. kuşak için sonuçlar.....	38
Çizelge 4.3	Tüm grupların dahil edildiği genel korelasyona ilişkin 2. kuşak için sonuçlar.....	39
Çizelge 4.4	Tüm grupların dahil edildiği genel korelasyona ilişkin 3. kuşak için sonuçlar.	40
Çizelge 4.5.	Tüm grupların dahil edildiği dişi ve erkek bireylere göre genel korelasyona ilişkin sonuçlar.....	50

SİMGELER ve KISALTMALAR

AFU: Arka femur uzunluğu

ENK: Enkapsülasyon

GE: Yeni erginleşen bireyler veya üç günlük ergin bireyler

GML: General: Linear Model (Genel Lineer Model)

GS: Gelişim süresi

HPK: Hemolimfteki Protein Konsantrasyonu

FA: Fenoloksidaz Aktivitesi

KLM: Kutikular melanizasyon

LA: Litik aktivite (Lizozim-benzeri aktivite)

N: Nimfal döneme ait grup

PCA-KM: Temel Bileşenler Analizinden (PCA) elde edilen kutikula koyuluğu (melanizasyonu) skorları

PCA-VB: Temel Bileşenler Analizinden (PCA) elde edilen vücut büyüklüğü skorları

ProFA: Profenoloksidaz

VA: Vücut ağırlığı

VB: Vücut büyüklüğü

YE: Yaşlı ergin gruplar

µl: Mikrolitre

1. GİRİŞ

Böcekler tüm hayvan türleriyle birlikte ele alındığında, toplam tür sayısının neredeyse ¾'lük kısmını oluşturmaktadır. Yapılan değerlendirmelere göre de hala keşfedilmeyi bekleyen çok sayıda böcek türü yaşamaktadır (Mora ve ark., 2011). Böcekler denizler hariç hemen bütün ekolojik nişleri işgal etmiş başarılı bir gruptur. Bu nedenle potansiyel olarak zararlı olan geniş bir çeşitlilikteki mikroorganizma grubuyla karşı karşıya kalırlar. Diğer canlılar gibi böcekler de yaşadıkları çevrede bulunan birçok patojen, parazit ve işgalcinin baskısı altında yaşarlar. Böceklerin yaşadıkları habitatlar arasındaki farklılıkların veya yeni habitatlara adaptasyonun bazı immün sistem aktiviteleri üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (Kurtz ve ark., 2002; Rosengaus ve Reichheld, 2016). Omurgalıların aksine, böceklerde bakteri, fungus, virüs ve daha büyük patojenlere karşı savunmada sadece doğal bağışıklık sistemi ile mücadele edilir (Hoffmann, 1995; Tsakas ve Marmaras, 2010). Bu savunma mekanizmaları patojenlerin epidermis boyunca vücut boşluğu içerisine girip zarar vermesini önlemek amacıyla hem fiziksel (kutikula) hem de kimyasal bariyerleri kapsar (Lemaitre ve Hoffmann, 2007). Bağırsak ve trakeal yapıların epitelyası mikroplarla hücreler arasındaki direkt teması önlemek amacıyla kitinize membran yapısıyla sınırlanmıştır. Enfeksiyon için en uygun yol olan barsakta sindirim enzimlerinin salgılanması, düşük pH ve reaktif oksijen unsurlarının üretimi yoluyla mikropların işgali ve zararı önlenir (Tzou ve ark., 2002; Lemaitre ve Hoffmann, 2007). Ancak, patojenler savunmanın öncül hattı olan bu fiziksel bariyerleri aşarlarsa barsak hücreleri mikropları öldüren antimikrobiyal peptidleri (AMPs) salgılar. Hem fiziksel hem de kimyasal bariyerler kırıldığında, vücut boşluğuna patojenlerin girmesi ile hücrel ve humoral bileşenlere sahip immün reaksiyonlar tetiklenecektir. Hastalıklara ve patojenlere karşı genel savunma fagositoz, melanizasyon, ekstraselüler matriks sentezi, yapışıcı hücreler, tanıma molekülleri, oksijen ve nitrojenin reaktif ara ürünleri, proapoptotik moleküller, sitokinler ve anti-mikrobiyal peptidleri kapsar (Nappi ve Vass, 2001; Nappi ve Christensen, 2005; Beckage, 2008; Tsakas ve Marmaras, 2010). Memelilerdeki doğal bağışıklığı tepkilerini de düzenleyen *Drosophila* Toll sinyal yolağının hücre yüzey reseptörünün Gram-pozitif bakteri veya fungusla indüksiyonu ile hücrel bağışıklıkla birlikte belirli antimikrobiyal peptidlerin de üretimini de başlatması özellikle *Drosophila* üzerinden

yapılan çalışmalarla aydınlatılmıştır (Lemaitre ve Hoffmann, 2007; Valanne ve ark., 2011). Ancak arthropodlarda, tüm bu immün tepkilerden en önemlileri ve en etkin olanları hiç şüphesiz melanogenez, bakteri hücre duvarlarının parçalanıp yıkılması (litik aktivite), işgalci nispeten büyük organizmaların enkapsülasyonudur (Yourth ve ark., 2002; Adamo, 2004; Cerenius ve Soderhall, 2004; Nappi ve Christensen, 2005; Gonzalez-Santoyo ve Cordoba-Aguilar, 2012; Dubovskiy ve ark., 2016). Özellikle omurgasız hayvanlar üzerinde doğal bağışıklığın fizyolojik, genetik ve ekolojik temelleri üzerinde çok sayıda araştırma yapılmış ve yapılmaktadır (Beckage, 2008). Böcekler doğal bağışıklığın temellerinin anlaşılmasında çok sayıda model organizma sunması bakımından da önemli bir gruptur. Son yıllarda, salt doğal bağışıklığın fizyolojisi ve tanımsal özelliklerinin çalışılmasından daha çok genetik ve moleküler temeli (Felix ve ark., 2012; Douglas, 2014), ekofizyolojisi (Siva-Jothy ve ark., 2005; Fedorka, 2014) ve yaşlanma ile olan ilişkisi (Adamo ve ark., 2001; Zerofsky ve ark., 2005; Horn ve ark., 2014) gibi konulara yoğunlaşmıştır. Özellikle insanlarla birlikte diğer organizma gruplarının bir kısmında, yaşamsal süreç ve immün sistem fonksiyonları arasındaki ilişkilerin anlaşılması, enfeksiyon ve savunma bağlamında önemli bulgular ortaya koymaktadır (DeVeale ve ark., 2004).

Çok hücreli organizmaların önemli bir kısmında yaşlanma ile birlikte bazı immün fonksiyonlarında fizyolojik bir zayıflama gösterdiği bildirilmektedir (Horn ve ark., 2014). Örneğin, insanlarda yaşlanmayla birlikte ciddi sağlık risklerinin ve hastaneye başvuru oranlarının arttığı bilinmektedir (High, 2004). Ancak, bazı çalışmalarda üreme dönemi ve yaşlılık karşılaştırıldığında doğal bağışıklık sisteminin aktivasyonunun bazı memeli ve böceklerde arttığı da bildirilmiştir (Zerofsky ve ark., 2005). Yaşlanmayla birlikte immün sistemle ilişkili gen ifadesinde, hücresel fonksiyonlarda ve biyokimyasal aktivitelerde fonksiyonel değişimler görülmektedir (DeVeale ve ark., 2004)

1.1. İmmün Sistem Aktiviteleri Diğer Yaşam Öyküsü Özelliklerine Göre Değişebilir

Canlı, hastalık etmenlerine karşı mücadele ederken aynı zamanda gelişim ve üreme gibi diğer yaşamsal işlevlerini de yerine getirme çabası içerisindedir. Yaşam öyküsü teorisi immün sistemin canlıya olan maliyetinin yüksek olduğunu ve diğer

yaşamsal/uyumsal aktivitelerle bir uzlaşma içerisinde olması gerektiğini savunur (Zuk ve Stoehr, 2002; Rantala ve Roff, 2005; Schwenke ve ark., 2016). Bağışıklık ve üreme davranışları (Adamo ve ark., 2001; Rolff ve Siva-Jothy, 2003), besin bulma (Konig ve Schmid-Hempel, 1995) ve öğrenme (Alghamdi ve ark., 2008) arasında bir dengeleme söz konusu olduğu bilinmektedir. Birçok biyotik ve abiyotik değişkenlerin immün tepkileri etkilediği birçok çalışmayla ortaya konmuştur. Örneğin, sıcaklık (Linder ve ark., 2008; Kutch ve ark., 2014), fitofag böceklerde konukçu bitkinin kalitesi (Vogelweith ve ark., 2011), eşey (Zuk ve Stoehr, 2002), fotoperiyot (Hammerschmidt ve ark., 2012), fizyoloji kondisyon (Gonzalez-Santoyo ve Cordoba-Aguilar, 2012), gelişim süresi ve yaş (Ryder ve Siva-Jothy, 2001).

Bağışıklık ekolojisi evrimsel biyolojinin en aktif çalışılan alanlarından birisi olup, özellikle immün fonksiyon ve diğer yaşam geçmişi özellikleri arasındaki uzlaşmaların anlaşılması açısından önemlidir (Roff, 2002; Zuk ve Stoehr, 2002; Schmid-Hempel, 2003; Malagoli ve Ottaviani, 2014; Martin ve ark., 2014). İmmünolojik yeterlilik birçok canlı için yaşamı boyunca göstereceği üreme başarısı ve uyumu için en önemli belirleyici bir faktördür (Lochmiller ve Deerenberg, 2000). Büyüme ve gelişim ile immün fonksiyonlar arasında bir uzlaşma olmalıdır; çünkü temel besin ve enerji gereksinimleri nedeniyle immün aktivite ile immün sistemin etkili bir şekilde sürdürülebilirliği arasındaki ilişki organizma için önemlidir (Sheldon ve Verhulst, 1996; Lochmiller ve Deerenberg, 2000). Roff (2000) gelişim süresi ile vücut büyüklüğü arasında sıklıkla bir ilişki olduğuna vurgu yapmıştır. Böceklerde yaşam geçmişi ile immün fonksiyonlar arasında genetik bir uzlaşmanın olduğuna ilişkin bazı deliller bulunmuştur. Örneğin, enkapsülasyon oranı ile vücut büyüklüğü arasında fenotipik bir ilişki vardır (Rantala ve Roff, 2005). Birçok çalışma enkapsülasyon yeteneği, hemosit sayısı, fagositoz yeteneği ve litik aktivitenin böceklerde kalıtılabilir olduğuna dikkat çekmiştir (Carton ve ark., 1992; Kraaijeveld ve Godfray, 1997; Kurtz ve Sauer, 1999; Ryder ve Siva-Jothy, 2000; Kraaijeveld ve ark., 2001). Ancak, çevresel faktörler (örn. sıcaklık, fotoperiyod gibi) kantitatif genetik yapıyı değiştirebilir ve bu durum da yaşam geçmişi ile immün özellikler anlamlı bir şekilde değişkenlik gösterir (Hammerschmidt ve ark., 2012). *Drosophila melanogaster*'de yaşlanmayla birlikte hemositlerde fagositik yeteneğin azaldığı tespit edilmiştir (Horn ve ark., 2014). Diğer taraftan üreme aktiviteleri ile immün sistem arasında bir

uzlaşının olması gerektiği birçok çalışmada ortaya konmuştur (DeVeale ve ark., 2004; Simmons ve Roberts, 2005; Lawniczak ve ark., 2007; McNamara ve ark., 2013). Üreme aktivitelerinin artmasına bir tepki olarak immün fonksiyonların azaldığı ve metabolizmanın immün değişime tepki olarak yükseldiği bildirilmiştir (Siva-Jothy ve ark., 2005). Çünkü her iki aktivite de maliyeti yüksek fizyolojik süreçler içermektedir (Schmid-Hempel, 2003; Siva-Jothy ve ark., 2005; McNamara ve ark., 2013; Fedorka ve Sevgili, 2014). Birçok çalışma böceklerde ergin ve daha sağlıklı olan bireylerde hem bağışıklık hem de eşeyssel seçilimli özelliklerin her ikisinin de pozitif ilişki gösterdiği bildirilirken (Rantala ve ark., 2003; Simmons ve ark., 2005), ergin öncesi dönem için durum farklıdır (McNamara ve ark., 2013). Deneysel manüplasyonlar gelişimin son larval veya ergin evresinde tetiklenen immün değişiklikler üreme yatırımını azaltırken (Simmons, 2012), bunun tersi olarak artan üreme yatırımının indirgenen immün fonksiyonlara yol açtığını göstermiştir (Kerr ve ark., 2010). *Teleogryllus oceanicus*'da antibakteriyal immün aktivite (lizozim aktivitesi) ile ejakulattaki canlı sperm arasında negatif ilişki tespit edilmişken, diğer birçok omurgasız grubunda bu ilişki pozitifdir (Simmons ve Roberts, 2005). Ancak aynı türde hücressel bağışıklığın iki parametresi (enkapsülasyon ve hemosit yükü) arasındaki fenotipik korelasyon pozitif bulunmuştur. Çünkü, immün yeterlilik handikap hipotezi erkeğin üreme başarısı için bağışıklığını takas etmesi gerektiğine işaret eder (Folstad ve Karter, 1992). Diğer taraftan humoral ve hücressel bağışıklık aktiviteleri arasında genetik bir uzlaşının olduğunu da göstermektedir (Simmons ve Roberts, 2005). Bu ve benzeri araştırmalar daha çok ergin dönem ve üreme sonrası araştırmaları kapsamaktadır. *Lestes viridis*'te (Odonata) yeni deri değiştirmiş yeni erginleşen bireylerde daha olgun bireylere göre daha yüksek fenoloksidaz aktivitesi (FA) saptanmış ve bu durum FA'nin kutikulanın melanizasyon sürecindeki işleviyle açıklanmıştır (Rolff, 2001). Larval dönem, gelişim süresi ve yaşa bağlı immün sistem aktiviteleri arasındaki bazı ilişkiler de araştırılmıştır (Adamo ve ark., 2001; DeVeale ve ark., 2004; Rantala ve Roff, 2005; Zerofsky ve ark., 2005; Horn ve ark., 2014).

1.2. Eşeyssel Dimorfizm ve Bağışıklık

Doğal bağışıklık patojen kaynaklı maddeleri tanılayan ve özgün reseptörlerin kullanıldığı enfeksiyonlara karşı gelişmiş ilk savunma bariyeridir. Yaşı ve immün

sistemi etkileyen moleküler bileşenler yaş ve bağışıklık arasındaki ilişkiyi etkileyen mekanizmalarda görev alırlar. Omurgalı omurgasız bir çok hayvan türünde erkek ve dişiler arasında, bağışıklık gibi bazı fizyolojik aktivitelere karşı farklı enerji yatırımı olduğu bildirilmiştir (Zuk ve McKean, 1996; Nunn ve ark., 2009). Bu bağlamda erkekler için düşünülecek olursa, immün yeterlilik azalırken ölüm riski artacak, diğer taraftan daha uzun ömürlü olarak da rekabet ettiği diğer erkeklerle karşı üreme başarısı yüksek olacaktır. Omurgalılarda ve omurgasızlarda parazitik enfeksiyonlara karşı hassasiyetin erkeklerde dişilere oranla daha yüksek olduğu ve immün tepkilerinin daha zayıf olduğu yönünde çok sayıda bulgu vardır (Zuk ve McKean, 1996; Kurtz ve ark., 2000; Sheridan ve ark., 2000; Adamo, 2004). Bateman'ın prensibine göre erkekler çiftleşme başarısını artırma eğiliminde iken dişiler daha uzun yaşayarak üreme başarısını artırma yönünde bir uyum geliştirmişlerdir (Bateman, 1948; Rolff, 2001; 2002). Kısaca birçok hayvan grubunda hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık parametreleri bakımından immün tepkiler tipik olarak erkeklerde dişilerden daha düşük olduğu kabul edilir (Klein ve Flanagan, 2016).

Diğer taraftan birçok omurgasız grubunda olduğu gibi çekirgelerde de dişiler genel olarak erkeklerden daha büyük vücut ölçülerine sahiptir (Whitman, 2008). Dişilerin erkek tercihinde vücut büyüklüğü önemli parametrelerden birisidir (Simmons, 1986; Whitman, 2008). Vücut büyüklüğü (ağırlık veya vücudun pronotum, arka femur uzunlukları gibi ölçüler) ile immün aktiviteler arasında ilişkiye bazı çalışmalarda ulaşılmışken, herhangi bir ilişkiye rastlanmamış çalışma sonuçları da vardır (Rantala ve Kortet, 2003; Rantala ve Roff, 2005; Fedorka ve ark., 2013a; Vogelweith ve ark., 2013). Vücut büyüklüğünün eşeyler arasında farklılık göstermesi immün aktiviteler bakımından eşeyler arasında bir varyasyona yol açacaktır. İmmün aktiviteler bakımından eşeysel dimorfizmin daha çok üreme dönemine girmiş erginlerde kendini gösterdiğini de burada belirtmek gerekir (Giglio ve ark., 2016). Çünkü erkek ve dişinin yaşam öyküsü stratejileri farklılık gösterir (Folstad ve Karter, 1992). Dolayısıyla genel kanı dişilerin erkeklerle göre immün yatırımlarının daha yüksek olması gerektiği yönündedir (Rolff, 2002). Bazı istisnalar dışında (bkz. Sheridan ve ark., 2000; Yourth ve ark., 2001; Siva-Jothy ve Thompson, 2002), dişi arthropodlar erkeklerle nazaran çok daha etkili immün fonksiyonlara sahiptir (Kurtz ve ark., 2000; Rolff 2001; Siva-Jothy ve ark., 2001). Çiftleşen *Gryllus texensis* dişilerinin *Serratia*

marcescens (*S. Marcescens*) enfeksiyonuna karşı virjinlere oranla daha duyarlı olması immün fonksiyonlarla üremenin bu çekirgelerde pozitif ilişkili olduğuna işaret eder (Shoemaker ve Adamo, 2007). Toprakta yaşayan termit türleriyle toprak üstü odunlarda yaşayan termitlerin fenoloksidaz aktiviteleri karşılaştırılmış ancak incelenen dört türde de eşeyler ve kastlar arasında herhangi bir farklılık tespit edilememiştir (Rosengaus ve Reichheld, 2016). Bilindiği gibi *Gryllus bimaculatus* erkeği, diğer birçok çekirge türünde olduğu gibi, dişilerle çiftleşme amaçlı olarak çağrı sesi oluşturur ve bu sesin oluşturulması maliyetli bir iştir (Rantala ve Kortet, 2003). Genel olarak eşeyssel sinyaller ile immün fonksiyonlar arasında bir uzlaşma söz konusudur (Ahtiainen ve ark., 2005). Sekonder eşeyssel karakterler maliyet içerse de, dişiyeye seçeceği erkeğin sağlıklı ve immün sistem olarak daha güçlü olabileceğine işaret eder (Folstad ve Karter, 1992).

1.3. Böceklerde Humoral ve Hücresel Savunma Tipleri

1.3.1. Humoral Bağışıklık

Bakteri, mantar ve virüs gibi istilacı organizmaları tanıma anında antimikrobiyal peptit sentezi ve salgılanması hemolimflerde olur. Peptitler başlıca yağ doku ve daha az miktarda da bağırsak, tükürük bezleri, integüment ve üreme yapılarında salgılanmaktadır.

1.3.1.1. Antimikrobiyal Peptitler

Böceklerde 150'den fazla antimikrobiyal peptit (AMPs) izole edilmiştir ve hepsi de karakteristiktir. Bu moleküller küçük (12-50 aa) ve katyonik peptitlerdir. Anyonik bakterilere ya da mantar zarlarına bağlanarak hücre ölümüne sebebiyet verirler.

Sekropinler

Bu peptitler gram-negatif ve gram-pozitif bakterilerin her ikisi tarafından oluşan septik yaralanmalara yanıt üretir ve bu bakterilerin hücre zarında protein sentezini inhibe ederek hücre çoğalmasını etkiler.

Defensinler

Bu peptitler sistein bakımından zengin peptitlerdir. Defensinler çoğunlukla gram-pozitiflerin hücre zarındaki peptitlere bir kanal oluşturarak hücre zarında lizise yol açar.

Drosomysinler

Drosophila'dan izole edilen bir antifungal ve antimikrobiyal peptittir. Gram-pozitif bakterileri tanır ve ayrıca antifungal aktiviteye sahiptir.

Dipterisinler

Sadece Diptera takımına bağlı türlerde bulunan bir antimikrobiyal peptit ve gram-negatif bakterileri tanır ve yanıt oluşturur.

1.3.1.2. Enzimatik Kaskadlar

1.3.1.2.1. Hemolimf Pıhtılaşması

Böcekler yaralanma durumlarında vücut sıvılarının kaybını önlemek için hemolimf pıhtılaşması mekanizması geliştirmiştir.

1.3.1.2.2. Hemolimf Melanizasyonu

Melanizasyon, melanin oluşumuna yol açan yollar ile patojenlere karşı savunmada geniş bir merkezi role sahiptir. Hem yaraların iyileşmesine katılırken hem de nodül ve kapsül oluşumunu sağlar. Melanizasyon trozin metabolizmasına bağlıdır. Kısaca fenoloksidaz aktivasyonunda önemli bir substrat noktasında trozini dopa dönüştürür. Dopa ya dopamin için dopa dekarboksilaz tarafından dekarboksilatlanmakta ya da dopa kinon için fenoloksidaz tarafından okside edilmektedir (Cerenius ve Soderhall, 2004; Tsakas ve Marmaras, 2010).

1.3.1.3. Fenoloksidaz (FA) ve Lizozim Benzeri Aktiviteler (LA)

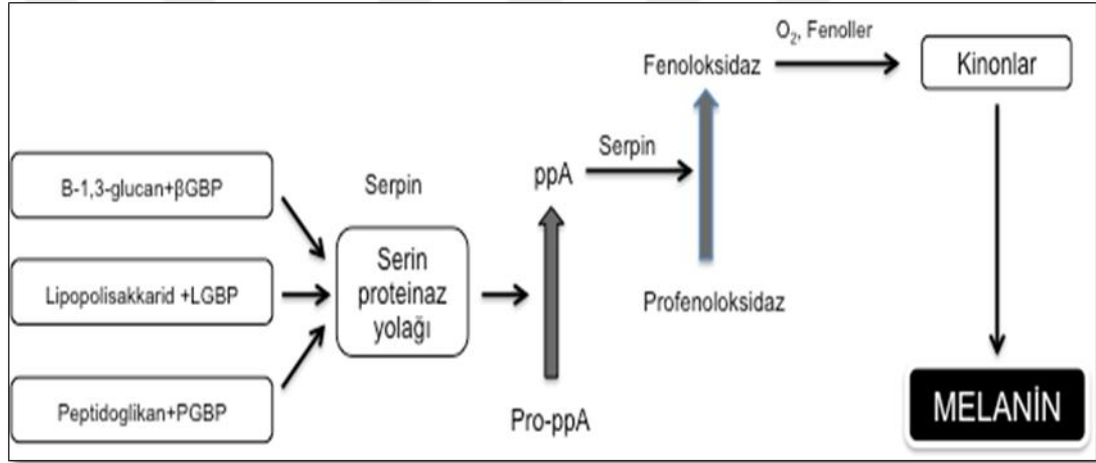
Böceklerde immün sistem uzlaşmaları sıklıkla iki anahtar parametre üzerinden araştırılmaktadır: melanin temelli fenoloksidaz aktivitesi (FA) ve antimikrobiyal litik aktivite (LA) (Adamo ve ark., 2001; Fedorka ve Zuk, 2003; McNamara ve ark., 2013). FA enzimi böceklerin bağışıklık sisteminin önemli bir bileşeni olup vücutta yabancı bir organizma ve patojen tespit edildiğinde veya yaralanma olduğunda hemolimfe salınır. Böceklerde en azından bir adet FA geni bulunur (Lu ve ark., 2014). FA pro-fenoloksidaz (proFA) yolağı üzerinden ilerleyerek, enkapsülasyon, antimikrobiyal ve melanizasyon aktivitelerinde temel rol üstlenir ve patojen ölümü gerçekleştirilir (Soderhall ve Cerenius, 1998; Sugumaran, 2002; Cerenius ve

Soderhall, 2004; Schwarzenbach ve Ward, 2007). FA ile patojen ve parazitlere karşı direnç gösterme yetisi arasında bir korelasyon vardır (Rantala ve Roff, 2007).

Böceklerde patojenlere karşı savunmada ve yaraların iyileşmesinde iş gören enzim yollarından birisi hemolimfin melanizasyonudur (Cerenius ve Soderhall, 2004; Mavrouli ve ark., 2005; Beckage, 2008; Cerenius ve ark., 2008). Böcek kutikulasında, fenoloksidaz enzimi (FA) L-Dopa ve/veya dopaminin melanine dönüşmesine öncülük etmekte ve sonuçta kutikula da koyulaşmaktadır (True, 2003). Özetle, melanizasyon tirozin metabolizmasına bağlıdır. Tirozin fenoloksidaz (FA) ile aktive edilerek dopaya dönüştürülür. Dopa ya dekarboksilasyon ile (dopa dekarboksilaz ile Ddc) dopamine veya FA vasıtasıyla oksidize olarak dopa-kinona dönüşmektedir (Şekil.1.1) (True, 2003; Cerenius ve Soderhall, 2004). Dopamin ve fenoloksidaz kutikula renklenmesi ve humoral bağışıklık sisteminde birlikte rol oynarlar. FA enzimleri doğal bağışıklıktaki rollerine ek olarak birçok dokunun pigmentasyon ve skleritizasyonundan da sorumludur. Bu enzimin aktivasyonu bir seri olaylar ile düzenlenmekte olup, bazı mikrobiyal ürünlerin varlığında aktifleşen proteinaz, mikroorganizmalarla ilişkili diğer bileşikler ve polisakkaritlere bağlanabilen proteinleri içeren proFA aktivasyon sistemiyle ortaya çıkar. Bu sistem β -1,3-glucanlipopolisakkaridler, peptidoglikanları bağlayan kalıp-tanım proteinleri veya doku yaralanmaları üzerinden üretilen içsel faktörler gibi diğer bileşikler tarafından aktive edilir (Nappi ve Christensen, 2005). FA eklem bacaklılarda birincil olarak özel hemositler (kristal hücreleri Rizki ve ark., 1985; Gonzalez-Santoyo ve Cordoba-Aguilar, 2012; Lu ve ark., 2014), sivrisineklerde ganulositlerde (Hillyer ve ark., 2003), *Drosophila*'da kristal hücrelerde (Eleftherianos ve Revenis, 2011) ve oenositoidler (böcek kan hücrelerini bir tipi) (Shrestha ve Kim, 2008; Shao ve ark., 2012) tarafından üretilmektedir. Profenoloksidaz (proFA) veziküllerde bir zimogen olarak depo edilir ve plazmaya inaktif proenzim olarak salınır. Plazmadaki proFA aktif FA enzimi ile aktive edilir. Patojen, parazit veya yaralanmış hücrelerdeki hücresel ürünler tarafından uyarılan enzim kaskadı yürür (Cerenius ve Soderhall, 2004; Gonzalez-Santoyo ve Cordoba-Aguilar, 2012). Son yıllarda yapılan araştırmalar proFA sisteminin zimojenik serin proteinazlar, serin protein homologları ve patojen tanıma proteinleri tarafından düzenlendiğini ortaya koymuştur (Cerenius ve ark., 2008; An ve ark., 2013). Melanizasyon süreci PAMPs yokluğunda da

başlatılabilmektedir (Brennan ve Anderson, 2004). ProFA aktivasyon yoluğı memelilerde olmamasına rağmen bu yolak insanlardaki diğere proteaz yollarına analogtur (kan pıhtılaşması gibi) (An ve ark., 2013). Arthropodlardaki FA gen sayısı çalışılan türlerde oldukça farklılık göstermektedir (Örnek: *Aedes aegypti* 10, Balarısı 1 gen taşır) (Cerenius ve ark., 2008).

Litik aktivite bakterilere karşı yapılan temel savunma olup, bakteriyel hücre duvarındaki peptidoglikanda yer alan β -1,4 bağımlı hidrolize eder (brennan ve anderson, 2004). Böcek hemolimfindeki lizozim aktivitesi bireysel hemolimflerdeki bakteriyel süspansiyonların bulanıklığının ölçülmesiyle tespit edilebilir. FA ve LA birbirleriyle negatif ilişki gösterebilir, bu da immün tepkilerin kendi içlerindeki faktörler arasında bir uzlaşma olabileğğine dikkat çeker (Kajla ve ark., 2010).



Şekil 1.1. Eklembacaklılarda (Arthropoda) Profenoloksidaz (proFA) aktivasyon sistemi (pro- ppA: Profenoloksidaz-enzimi, detaylar için bkz. Cerenius ve Söderhall, 2004)

1.3.2. Hücresel Bağışıklık

Hemositler böceklerde fagositoz, nodülasyon, kapsüllenme ve melanizasyon gibi bir takım savunma yanıtlarından sorumludur. Bu işlemler bağışıklık yanıt ve gen ekspresyonu bakımından ayrıdır. Ancak belirli bağışıklık yanıtlarında hemolimfler bir takım elementlerle ortak çalışarak patojenleri temizler (Tsakas ve Marmaras, 2010). *A. domesticus* erkeklerinden alınan hemolimfte granülositler, plazmatositler ve fibroblastlar olmak üzere üç temel tip hemosit olduğu bildirilmiş ve en yaygın hemosit tipinin granülositler olduğu saptanmıştır (da Silva ve ark., 2000). Hemositler ayrıca proFA sentezinin birincil yeri olarak ele alınmakta (Cerenius ve Soderhall,

2004), ancak FA sentezinden sorumlu aktüel hücre tipi böcekler arasında türden türe değişiklik göstermektedir (Gonzalez-Santoyo ve Cordoba-Aguilar, 2012).

1.3.2.1. Fagozitoz

Fagozitoz, işgalci patojenlerin tanınması ile başlar, yutulma ve hücre içi imha ile tamamlanır. Böceklerde fagositoz genellikle hemolimfte dolaşan plazmosit ve granülositlerle olur. Bir fagositik hücre tarafından son derece karmaşık yapıları bir mikroorganizmanın alınımı ve fagositoz sırasında birden fazla ardışık etkileşimleri gerektiren ve ayrıca patojenin yanı sıra birbirini izleyen sinyal iletim olayları sürecidir. Fagositik yüzey reseptörleri uyarıldığı zaman hedef hücrelerle aktive edilir. Şunu da belirtmek gerekir ki hemosit cevap bakterilerde farklılık gösterir. Örneğin, *Aedes aegypti* (*A. Aegypti*) de hemosit, *Escherichia coli* (*E.coli*) de fagositoz, *Manduca Sexta* (*M.sexta*) da melanizasyonla yanıt verir (Tsakas ve Marmaras, 2010). Ayrıca farklı bakteriler arasında fagositozun etkisi ve hızı arasında da farklılıklar vardır.

1.3.2.2. Nodulasyon ve Enkapsülasyon

Nodulasyon oluşması hemositlerin bir araya toplanıp bir grup oluşturarak bakteri hücrelerini hapsedmesi ile başlar; bu genellikle granülositler ve hastalık yapan mikroorganizma hücrelerinin bir araya gelmesidir (Rantala ve Kortet, 2003). Gelişmiş nodulasyon genellikle yağ dokusu gibi dokuların hücre duvarına bağlanmış bir şekilde olur. Böceklerdeki hücresel bağışıklıktaki hastalıklara karşı nodulasyon oluşmasında eikosanoidlerin (20 karbonlu yağ asitleri) büyük bir yer aldığı değişik böcek türleri ile yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Enkapsülasyon, böceklerde protozoonlar, nematodlar ve parazitik yumurta ve larvaların etrafında örtüşen hemosit tabakalarından oluşan kapsül şeklindeki çok hücreli bir savunma mekanizmasıdır (Gillespie ve ark., 1997; Cotter ve ark., 2004). Bu kapsüllenme melanizasyona eşlik eder. Kapsül içinde parazitler özgül radikal sitotoksik üretim ile öldürülür. Enkapsülasyon aynı zamanda virüslere karşı olan savunmada da iş görmektedir (Washburn ve ark., 1996).

Enkapsülasyon yeteneği hemolimfteki toplam FA'nden bağımsızdır (Pinera ve ark., 2013), dolayısıyla FA ile enkapsülasyon yeteneği arasında bazı türlerde herhangi bir korelasyona rastlanmamıştır (Wilson-Rich ve ark., 2008; Srygley, 2012).

1.4. Araştırmanın Hedefleri

Böceklerde diğer omurgasızlarda da olduğu gibi patojenlere ve enfeksiyonlara karşı savunmada, doğal bağışıklık sistemi iş görmektedir. Hayati öneme sahip immün fonksiyonlarla diğer yaşamsal faktörler (üreme, üreme davranışı, farklı çevre şartlarına adaptasyon vs.) arasında maliyet nedeniyle uzlaşmalar olması gerektiği bilinmektedir. Bu uzlaşmalar için belirgin farklılıkların kırılma gelişim basamaklarında daha güçlü bir şekilde ortaya çıkabileceği düşünülmektedir. Bu beklentiye göre;

1. Planlanan çalışmada model organizma seçilen çekirge türü *G. Bimaculatus*'ta doğal bağışıklık parametrelerinin (fenoloksidaz -FA ve litik aktivite-LA, enkapsülasyon-ENK, hemolimfteki protein konsantrasyonu-HPK), son nimfal dönem (N), üreme öncesi yeni erginleşen bireyler dönemi (GE) ve üreme dönemine girmiş nispeten yaşlı bireylerde (YE) üç farklı kuşakta karşılaştırılması amaçlanmıştır. Birçok böceğin hemolimfde erginlerde olmayan ve sadece larval dönemlerde görülen protohemositler bulunur. Bu da nimfal ve ergin dönemlerde farklı olarak hemosit fonksiyonlarında özelleşme bağlamında bir farklılığın olması gerektiğine işaret eder (Srygley, 2012). Gelişim süresinin uzun veya kısa olması vücut büyüklüğü parametrelerini etkiler ve bu durumun immün yeterliliği ne şekilde etkilediği araştırma konusudur (Rantala ve Roff, 2005).

2. Elde edilecek veriler üzerinden immün sistem parametreleri ile yaşamsal diğer özellikler (örn. üreme dönemi ve öncesi, yaşlanma) arasında bir uzlaşmanın olması gerektiği hipotezi sorgulanacaktır. Çünkü doğal seçim immün sistemin zamanlaması ve büyüklüğünün optimizasyonu bakımından gelişimsel süreçte büyüme ve diğer yaşam geçmişi özellikleriyle olan uyumu etkilemede rol oynar. Eşeyssel seçim üreme dönemindeki erkek ve dişilerin immün yeterlilikleri üzerinden de yürüyebilmektedir (Rantala ve Kortet, 2004; Giglio ve ark., 2016).

3. Genel olarak dişilerin erkeklerden daha güçlü bir bağışıklık sistemine sahip olduğu savunulur. Bu çalışmada erkek ve dişilerdeki immün farklılığın olup olmadığı tartışılacaktır.

4. Böylece immün sistem fonksiyonlarının eşeye ve yaşa bağlı olarak olası farklılığı irdelenmiş olacak ve immün sistem maliyetine ilişkin çıkarımlar olacaktır. Bu bulgular bize hangi immün fonksiyonun diğerine göre daha elastik veya değişmez

olabileceğine ilişkin bilgi verecek ve birbirlerine göre olan değiş tokuşlar/uzlaşılar hakkında bir değerlendirme yapmamıza olanak sağlayacaktır.

5. Yumurtadan ergine uzanan gelişim süresi bireysel farklılıklar gösterebilmektedir. Gelişim süresi farklılıkları vücut büyüklüğü parameterlerini etkilediği bilinmektedir. Diğer taraftan vücut büyüklüğü veya ağırlığı ile immün parametereler arasındaki ilişkiler de bu çalışma kapsamı içinde değerlendirilmiş olacaktır.

6. FA ile bazı immün aktivitelerin kutikular melanizasyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Armitage ve Siva-Jothy, 2005). Ancak, böceklerde gelişim sürecinde rol alan hormonal düzen ile FA arasında bir çatışma olduğunu belgeleyen ve FA'ni düzenleyen yolağın ikili rolüne dikkat çeken araştırma sonuçları da vardır (Rolf ve Siva-Jothy, 2002; Cotter ve ark., 2008). Bu çalışmada üç farklı kuşak ve farklı gelişim dönemlerinde kutikular melanizasyonun değişimi ve immün parametreler ile olan ilişkisi de değerlendirilecektir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Bu çalışmada kullanılan model organizma *Gryllus bimaculatus*'un immün aktivitelerinin ekolojisi, davranışla ilişkisi, evrimi ve kalıtımı üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır. Eşeye ait sekonder karakterler (renklenme, süslenme gibi) erkeğin sağlığının bir göstergesi olacak şekilde evrimleşmiştir varsayımından yola çıkarak, *G. bimaculatus*'un dişi bireylerin eşey seçiminde kullandığı erkek çağrı sesinin immün parametrelerle olan ilişkisi araştırılmıştır (Rantala ve Kortet, 2003). Bu amaçla immün sistemin iki önemli parametresi olan ENK ve LA çalışılmıştır. Dişi çekirgeler yüksek frekansa sahip ve daha uzun süreli yüksek frekanslı impulslar üreten erkekleri tercih etmişlerdir. Dişiler yüksek ENK yeteneğine sahip erkekleri daha çok tercih etmişlerdir. Bu bireylerde çağrı sesi parametreleri ile ENK arasında pozitif ilişki saptanmışken LA ile negatif ilişki bulunmuştur. Erkek vücut ağırlığı ile ENK ve LA arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır. Patojenlerin enkapsüle edilebilme yeteneğinin kalıtsal olduğuna dair bir çalışmada eş seçiminin çiftleşme şarkılarına göre bireylerin seçilmesiyle, daha sağlıklı erkekler seçileceğinden, ortaya çıkacak yavruların parazitlere karşı direncini arttırmada fayda sağladığı iddia edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışma dişiler tarafından tercih edilen kur seslerinin erkek ENK oranı ile pozitif korelasyon içerdiğini ortaya koymuştur.

Rantala ve Roff, (2005), tarafından yapılan çalışmada; patojenlere karşı yapılan immün savunmanın diğer yaşam geçmişi özellikleriyle ilişkili olduğunu iddia edilmiş ve *G. bimaculatus*'da bağışıklık fonksiyonunun iki ölçütü olan vücut büyüklüğü (VB) ve gelişim periyodunu ölçülmüş. cinsiyetler arasında anlamlı bir fark bulunmamış fakat gelişim zaman ve vücut büyüklüğü arasında bir korelasyon bulunmuştur. Dişi ve erkek bireylerde ENK yeteneği vücut büyüklüğü ve gelişim zamanı ile negatif ilişkili iken, LA bu iki özellik ile pozitif ilişki olduğu tespit edilmiştir. ENK yeteneği ve LA arasında negatif ilişki bulunmuştur. Bu sonuçlar tek bir parametrenin bağışıklık savunması için yeterli olmadığını ve bağışıklık fonksiyonlarının farklı tipleri ve yaşam geçmişi özellikleri arasındaki ilişkinin anlaşılabilmesi için, bu özelliklerin daha kapsamlı fizyolojik temelli olacak şekilde analiz edilmesi gerektiği şeklinde yorumlanmıştır. Bu çalışma enkapsülasyon ile vücut büyüklüğü arasındaki fenotipik dengeye dayalı hipotezi desteklemiştir. Ayrıca

iki bağışıklık parametresi arasında (ENK yeteneği ve LA) negatif yönde değiş tokuş olabileceğini göstermektedir ve bu sonuçların önceki çalışmalardan Moret ve Schmid Hempel, (2001)'in bulguları ile tutarlılık gösterdiği bildirilmiştir.

Uyarılabilir bağışıklık savunması, gelecekte beklenen parazitizmin riskini en aza indirmek için organizmalara maliyetli bağışıklığın duruma bağlı artışına izin verebilir. Yükseltilmiş bağışıklık aktivitesinin temel maliyeti, diğer uyuma ilişkin özelliklerin azalmasının yanı sıra immünopatoloji riskinin artışına neden olabilir. Bu bakış açısıyla Jacot ve ark., (2005) erkek *Gryllus campestris* cırcır böceklerinde deneysel olarak bağışıklık üzerine nimflerin, bağışıklık sistemlerinin aktive olmasının koşula bağlı etkisini ve yetişkinlik sürecinde fizyolojik koşullarını araştırmışlardır. Bakteriyel lipopolisakkaritlerin nimfal enjeksiyonu takiben yetişkin erkeklerde önemli derecede bağışıklığın artış gösterdiğini saptamışlardır. Bu bireyler iki ana bağışıklık parametresinin (hemolimfteki antibakteriyal aktivite ve profenoloksidaz (proFA) konsantrasyonu düzeylerinde belirgin olarak artış olduğunu göstermişlerdir. Aktif enzim olan fenoloksidaz (FA) artmamışken, sadece inaktif proenzim proFA'nun stratejik uzun dönemde artış gözlemlenmiştir. Nimfal bağışıklık yetersizliği, yetişkin hemolimf protein yükünde bir azalmaya neden olmuş ve bu durum genel metabolik koşullarda uzun süreli bir düşüşe neden olduğu ileri sürülmüştür. Nimfal dönemde besin bulunabilirliği, yetişkin lizozim aktivitesini pozitif yönde etkilerken, FA ve proFA konsantrasyonları etkilenmemiştir. Araştırmacılar sonucu enfeksiyonlara karşı cevapta uzun soluklu bir direncin ileri yaşlarda olabilecek hastalıklara karşı oluşacak direnci arttırmaya yönelik olarak, omurgasızlardaki yaygın bir stratejiye işaret ettiği şeklinde yorumlamıştır.

Mevsime bağlı ortamlarda yaşayan organizmalar üreme sürelerini kısıtlayan birçok etkenle karşı karşıya kalırlar. Mevsimin geç dönemlerinde ergenliğe ulaşan bireylerin ya küçük ölçekte çoğalması ya da büyüme oranlarını arttırması gerekir, fakat bunun da getirdiği olumsuzluklar ve bir maliyet vardır. Artan büyüme hızı, yüksek juvenil ölümleri, yetişkinlerin hayatta kalma başarısının azalması veya ödün verilmiş bağışıklık fonksiyonu ile canlı virüs ve bakteriyel etkenlere karşı savunmasız kalabilmektedir. Mevsimsellik gibi çevresel değişkenler kantitatif genetiğin mimarisini de değiştirmektedir. Hammerschmidt ve ark., (2012) tarafından yapılan araştırmada *G. bimaculatus* deneysel olarak oluşturulan iki farklı mevsimsellik

ortamında yaşam öyküsünü ve bağışıklık özelliklerinin kantitatif genetiği çalışılmıştır. Mevsimsel farklılıklar yaşam öykülerinde değişmelere neden olmuş gün uzunluğu azaldıkça bireylerin gelişim hızı yavaşlamış ve vücut büyüklüğü artmıştır. Deneysel olarak tetiklenen fotoperiyot çekirgenin gelişim zamanını ve vücut büyüklüğünü önemli ölçüde etkilese de beklentilerin aksine erginliğe ulaşma açısından önemli bir fark bulunamamıştır. İstatiksel etkilerin kontrolü için eşey ve yoğunluk parametreleri de analize dahil edildiğinde, bu iki parametrenin gelişim sürelerini önemli derecede etkilediği görülmüştür. Yoğunluğu düşük olan kutulardaki bireylerde proFA aktivitesi ve vücut boyutu daha yüksek bulunmuştur. Dişi bireylere göre erkek çekirgelerde hemosit ve LA aktivite önemli ölçüde yüksek bulunmuştur.

Bal arıları (*Apis mellifera*) ekonomik ve ekolojik önem gösteren sosyal hayvanlardır ve hayat döngüleri de yaş odaklı bir iş bölümü gösterirler. Wilson-Rich ve ark., (2008) tarafından yapılan çalışmada doğal bağışıklığın etkinliği bakımından 40 işçi ve damızlık bal arıları üç farklı alandan 10 koloni şeklinde toplanarak laboratuvar ortamına getirilerek 4 farklı yaşam evreleri (larva, pupa, hemşire ve toplayıcı) karşılaştırılmıştır. Yaşlanmaya bağlı olarak karşılaştıkları patojenlerin değişmesi bal arılarının ömür uzunluk sürelerinde farklılıklara neden olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada standart bağışıklık analiz (toplam hemosit sayısı, enkapsülasyon tepkisi, yağ kütle ölçümü, ve fenoloksidaz aktivitesi) testleri 4 farklı dönemde bal arılarına uygulanmış ve elde edilen sonuçlara göre; hemşire arıların toplayıcı arılara göre yağ kütle oranı daha yüksek bulunmuştur. FA aktivitesi bal arılarının gelişim dönemleriyle paralel olarak artarken, bağışıklık etkinliği genç arılar ve işçi arılara göre yaşlı arılarda daha yüksek ölçülerek yaşlanmaya bağlı olarak hücresel bağışıklık yeterliliğini terk ettiği yönündeki bulguların tersine bir sonuç göstermiştir. Davranışsal rollerde ortaya çıkan kaymalar şayet hemşire arıların tam olarak erginleşmeden besin bulma aktivitesine katılmaları durumunda koloninin hastalığa yatkınlığını arttırdığı görülmüştür.

Böcekler büyümenin etkisiyle farklı fizyolojik süreçlere kaynak paylaşırma nedeniyle giderek güçsüzleşen bağışıklık sistemine sahiptirler. Srygley, (2012) tarafından yaşları bilinen Mormon çekirgelerinde (*Anabrus simplex*) mantar enfeksiyonuna karşı ENK oranı, enzimatik bağışıklık ve duyarlılık yanıtı çalışılmıştır. 0-5 günlük ergin ve yeni deri değiştirmiş larvalarda (5., 6., 7. nimfal

dönemler) toplam ve doğal FA'nın yaşa bağlı olarak artmış, fakat ortalamalar gelişim grupları arasında değişmemiştir. Bunun da hemolimfte sirküle olan FA'nın her deri değişiminde yıkıldığına işaret ettiğini bildirmiştir. Bunun aksine ENK nimfal dönemden ergin döneme doğru giderek artış göstermiştir. Deri değişimi durduktan sonra yetişkin bireylerde FA değerleri yaşla birlikte istikrarlı bir şekilde artış göstermiştir. *Metarhizium acridum* mantarı ile enfekte edilen yetişkinlerde yaşlanma birlikte hayatta kalma oranı da artmıştır. Bu durum ergin dönemde mantarlara karşı daha iyi bir savunma ortaya çıktığına işaret etmiştir. Ayrıca her deri değişiminde FA değerlerinin yıkılması nedeniyle çok genç erginlerde enzimatik bağışıklık bakımından nimflerle çok benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Bir hayvanın hastalığa karşı koyma kabiliyeti genellikle bağışıklık sisteminin bir veya daha fazla bileşenini ölçerek tahmin edilir. Adamo, (2004) *Gryllus texensis*'de yaptığı çalışmada, immüno-yeterliliğinin FA ve LA'nin böcekler için ortak olan üç bakteriyel patojenlere (*Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens* ve *Bacillus cereus*) karşı direnç ile arasındaki ilişkiyi inceleyerek bu varsayımı test etmiştir. Toplam FA ile bireylerdeki temel lizozim benzeri aktivite arasında bir korelasyon saptanmıştır. Bununla birlikte, toplam FA ve başlangıçtaki LA seviyeleri, erkek çekirgelerin üç bakteriyel enfeksiyona karşı hangisinden sağ çıkabildiğini öngörmemiştir. Lizozim benzeri aktivite bağışıklık girişiminden sonra artmış ve arttıkça, çekirgenin *S. marcescens*'den veya *B. cereus* sağ kalma ihtimali artmıştır. Toplam hemolimfteki protein konsantrasyonu daha yüksek olan cırcır böcekleri, aynı zamanda üç bakteriyel patojenin herhangi birinde karşılaşılan zorluklardan toplam hemolimf protein konsantrasyonlarının düşük olduğu çekirgelere göre daha fazla hayatta kalma başarısı göstermiştir. Sonuç olarak, farklı immün parametreler ile farklı patojenlere direnç arasındaki ilişkiyi doğrulamak için konakçı direnç testlerinin kullanılması özellikle böceklerle çalışırken önemli olduğu vurgulanmıştır.

Rantala ve Roff, (2006), *Gryllus firmus* türünde yaptıkları çalışmada bir immün parametrenin desteklenmesinin diğer yaşam geçmişi özelliklerinde düşüğe neden olabileceğini hipotezlenmiştir. Dolayısıyla bağışıklık tepkisinin maliyeti hem bağışıklık sisteminin hem de ilişkili yaşam öyküsü özelliklerinin gelişimini etkileyebilir. Bu çalışmada *Gryllus firmus*'a ait (Kum çekirgesi) kendi içinde üremiş soy hatlarında bağışıklık fonksiyonunun iki parametresinin genetik temeli, metabolik

hızı ve çeşitli özellikleri araştırılmıştır. İmmün fonksiyonlar üzerinde maternal etkilerin ilaveli veya ilaveli olmayan etkileri üzerinde durulmuştur. Bağışıklık fonksiyonlarından iki önemli parametre olan LA ve ENK oranı kullanılmıştır. Her iki immün parametrenin anlamlı genetik varyasyon gösterdiği ancak diğer fenotipik özellikler (metabolik hız, baş genişliği, vücut kitlesi, gelişim zamanı vb.) ile tutarlı bir ilişki olmadığı bulunmuştur. Sadece ENK yeteneğinde genetik varyasyon oranı anlamlı diğer özelliklerde ise anlamlı bir varyasyon bulunamamıştır. Çekirgelerde metabolik hız kalıtımsaldır ancak bu bağışıklık fonksiyonunun iki parametresi arasında ne fenotipik ne de genetik ilişki saptanamamıştır. Dişi bireyler daha yüksek ENK yeteneği gösterirken LA için böyle bir fark bulunmamıştır. Bu çalışma bağışıklık parametrelerinde genetik varyasyonun fenotipik varyasyona önemli katkı sağladığını göstermektedir. ENK oranı ve LA arasında fenotipik korelasyonun olmaması bağışıklık sisteminin farklı yolları arasında olası bir değiş-tokuş olduğunu ileri süren önceki çalışmalar ile farklılık göstermiştir. Bu çalışma ile immün fonksiyonlardaki genetik varyasyon immün fonksiyonlardaki fenotipik varyasyonun önemli bir nedeni olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Lorenz ve Anand, (2008), yaptıkları çalışmada dişi *Gryllus bimaculatus*'un yaşa bağlı olarak vücudundaki yağ kompozisyonlarındaki değişimler ve karın yağ kütlesindeki lipogenezin kullanımını incelemişlerdir. Yağ kütlesinin lipit, protein ve serbest karbonhidrat içeriği ile vücut ısısı yağ ağırlığı bireyin erginleşmesi ile hızla artarak 2. günde iki katına ulaşarak pik yapmıştır. Lipogenez ve enerji depoları azalmaya başlamasıyla eş zamanlı olarak yumurtalık ağırlığında hızla artış başladığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar vücuttaki serbest karın yağlarının üreme için bir enerji kaynağı olarak kullanılmasındaki önemini açıklamaktadır.

Erkeklerin bağışıklık sistemi ile üreme arasında bir uzlaşma olup olmadığını belirlemek omurgalıların bağışıklık sisteminin karmaşıklığından dolayı güçtür. Bu sebepten basit bir bağışıklık sistemine sahip olan *Gryllus texensis*'de erkek ve dişi bireylerinde bağışıklık ve üreme yatırımı arasındaki ilişkiyi Adamo ve ark., (2000) incelenmiştir. *G. texensis* te immün yetersizliği FA, hemosit sayısı ve *Serratia marcescens* bakterisine duyarlılığı ölçülerek hesaplanmıştır. Son deri değişiminden erginliğe kadar immün yeterlilik dişi ve erkeklerde benzer sonuçlar göstermektedir. Erkeklerde üreme davranışlarını göstermeye başladıkları yaşta FA ve *S. marcescens*'e karşı

direnç dişi ve genç erkeklere göre azalmıştır. Dişilerde FA üreme dönemine girdikten sonra nimf dişi ve genç ergin dişilere göre artmıştır. Hem erkek hem dişi bireylerde yaşlanma ile birlikte bağışıklık sisteminde düşüş olduğu saptanmıştır. *S. marcescens*'e karşı direnç her iki cinsiyette de vücut büyüklüğü (VB) ve vücut ağırlığı (VA) ile ilişki göstermemiştir. Hemosit sayısının yaşa göre dişi ve erkek bireylerde farklılık göstermemiş olması immün yeterlilik için önemli bir indikatör özelliği yansıtmadığını düşündürmüştür. Bu sonuçlar üreme aktivitesinin erkek bireylerde immün yeterliliği azalttığını ve üreme yatırımı için bağışıklıktan taviz verdiği hipotezini desteklemiştir.

Bağışıklık sistemi; bir böceğin yaşamı boyunca karşılaşılabileceği geniş yelpazedeki patajenlere karşı koruyarak sağlıklı bir şekilde üreme döneminde hayatta kalma olasılığını artırmak için çalışmaktadır. Pintera ve ark., (2013) erkek Ev cırcırı *Acheta domesticus*' un doğuştan gelen bağışıklık sisteminin son iki farklı nimf döneminde ve erken- geç yetişkinlik dönememi olmak üzere 4 farklı gelişim evresi karşılaştırılmıştır. İncelenen her gelişim evresi ve yaş için FA, LA, hemosit sayısı ve ENK yeteneği belirlenmiştir. Hemosit sayısı ve LA çalışılan tüm gelişim dönemlerinde benzer sonuçlar bulunmuştur. Yaşlı ergin evresine göre nimf ve yeni erginleşmiş erkek bireylerde FA önemli ölçüde düşük bulunmuştur. Nimfal dönemde ki bireyler yetişkin bireyler kadar ENK yeteneğine sahip bulunmuştur.

Doums ve ark., (2002), immün savunma özelliklerinin yaşlanma şekli *Bombus terrestris* ve *Bombus lucorum* olmak üzere iki bombus işçi arısında laboratuvar koşullarında araştırılmıştır. Her iki türde de yabancı bir nesneyi kapsülleme yeteneğinde yaşla birlikte önemli bir azalma olmuştur. *B. terrestris*' de diğer bağışıklık savunması iki parametresi olan vücuttaki nispi yağ yüzdesi ve hemosit konsantrasyonu önemli bulunmuştur. Yağ kütlesi yaşlanma ile birlikte çok az artış göstermiş olup hemosit konsantrasyonuna herhangi bir etkisi bulunamamıştır. İşçi arıların tüm gelişim evrelerinde ENK sonrasında hemosit sayısı hızla azalma göstermiştir. Bağışıklık savunma özellikleri için gözlenen yaşlanma önemi işçi arıların sosyal biyolojisi bağlamında tartışılmaktadır.

Böceklerde kutikular melanizmin yaşam geçmişi ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Prokkola ve ark., (2013) aynı soy üzerinde üç farklı sıcaklıkta un

kurdu (*Tenebrio molitor*) ile yapılan çalışmada kutikular melanizasyon, doğal bağışıklık, gelişim süresi, vücut büyüklüğü arasındaki fenotipik ve genetik ilişkiler çalışılmıştır. Doğal bağışıklık ve melanizm dişi bireylerde erkek bireylere oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Sıcaklığın ölçülen tüm özellikler üzerinde kuvvetli etkisi bulunmuştur. Bu analizler sonucunda fizyolojik çevresel değişiklikler morfolojik ve yaşam öyküsü özelliklerine duyarlı entegre bir sistem ile çalıştığı görülmüştür.



3. MATERYAL ve METOT

3.1. *Gryllus bimaculatus*'un laboratuvarında yetiştirilmesi

Bu çalışmada Akdeniz Karaçekirgesi olarak isimlendirilen *Gryllus bimaculatus*'un De Geer laboratuvarında ürettiğimiz ata1 (daha önce laboratuvarında oluşturduğumuz VII. soy) I. kuşak olarak adlandırılmış, ata2 (III. ve IV. soy) II. kuşak ve III. kuşak bireylerini oluşturmada kullanılmıştır. İlk örnekler nimf ve son dönem nimfler halinde Ordu Üniversitesi, Cumhuriyet Kampüsü içerisinde toplanmıştır. Çekirgeler $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ve $65 \pm 8\%$ nem ayarında ve 12:12 saat-aydınlık: karanlık ortamında iklim dolabı içerisinde yetiştirilmiştir. Böceklerin beslenmesi için hazırlanan diyet yaygın olarak uygulanan bir protokole göre hazırlanmıştır (bkz. kaynakça-internet erişim yeri, Çizelge 3. 1). Bu protokole göre;

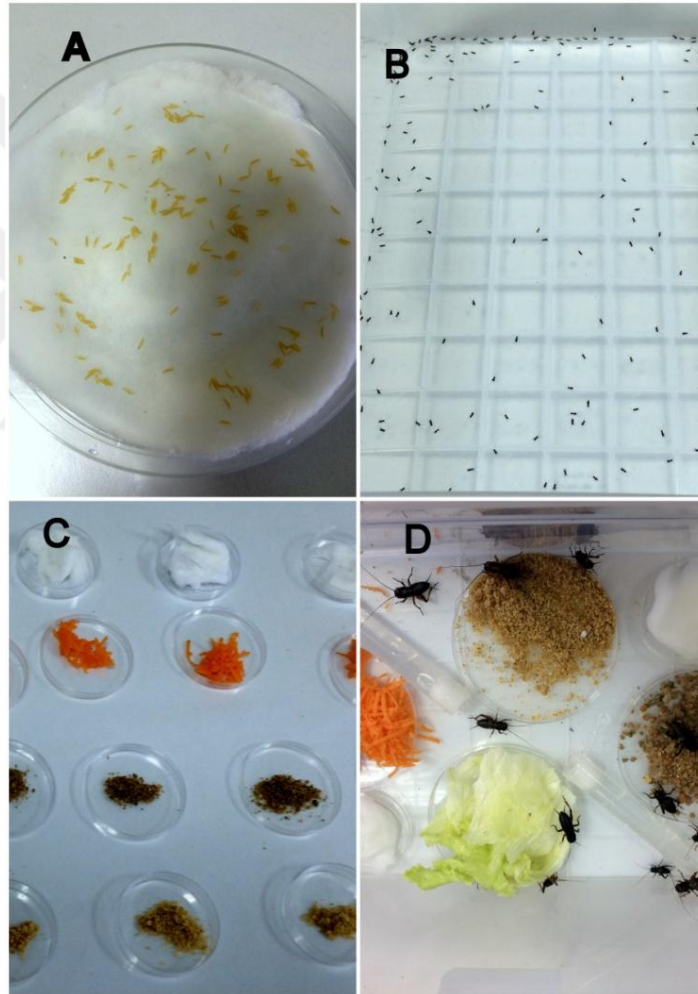
Çizelge 3.1. Diyet malzeme listesi

Malzeme	Miktar(g)
Yulaf gevreği	1000 g
Buğday ruşeymi	1000 g
Mısır unu	500 g
Maya	50 g
Şeker	50 g
Salt mix (deniz tuzu kullanıldı)	50 g

Yukarıda belirtilen gıdalar azaltılmış oranlarda kullanılmıştır. Karışım oransal mısır yağı (yukarıdaki karışım için 250 ml) ile karıştırılıp buzdolabında ($+4^\circ\text{C}$) saklanmış ve hazırlanan bu karışıma ek olarak yavru kedi maması ve havuç ayrı ayrı diyetten yer almıştır. Her 5 günde bir çekirgelerin yetiştirildikleri kutular değiştirilip temizlenmiştir. Besin miktarları deney süresince tüm kutularda eşit oranda tutulmuştur. Çünkü diyet farkı, immün aktiviteyi etkileyen önemli nedenlerden birisidir (Vass ve Nappi, 1998; Ojala ve ark., 2005; Srygley ve ark., 2009; Galicia ve ark., 2014) (Şekil 3.1 C-D).

G. bimaculatus 25°C 'de son deri değişiminden 6-8 gün sonra ses oluşturan erkek bireyler dişisini çiftleşmeye ikna ettiği ve 1 dk içerisinde dişiye spermatoforu naklettiği gözlenmiştir. Döllenen yumurtalar kafes içerisine petri kutusunda bırakılan steril gazlı bez ile sarılmış nemli pamukların arasına ovipositor borusu

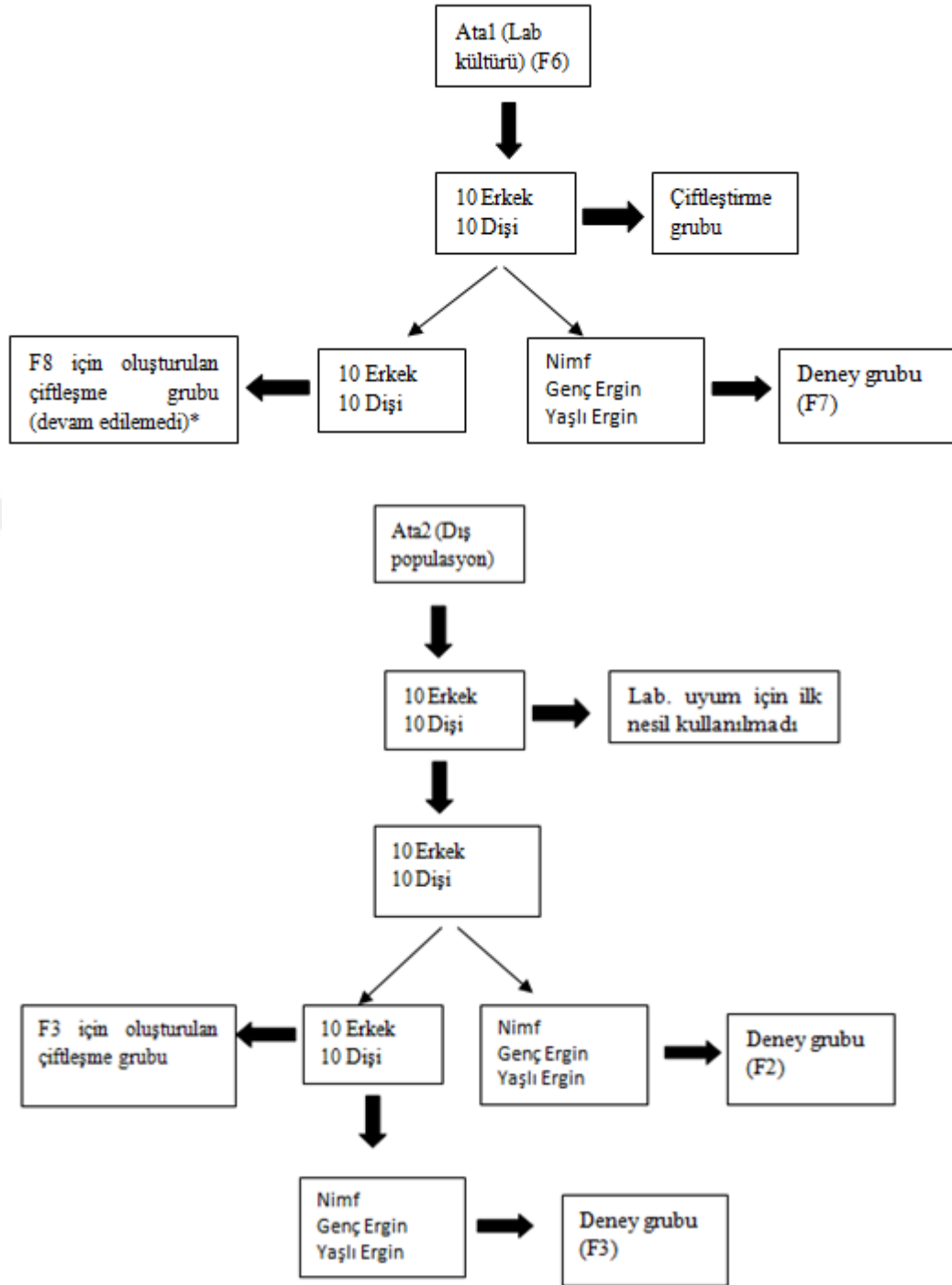
yardımıyla bırakılmaktadır. Yumurtaların bırakıldığı petri kutuları iki günde bir kontrol edilmiştir. Gazlı bez üzerindeki yumurtalar 2 lt su içerisinde pamuktan ayıklandıktan sonra çay süzgeci veya elek yardımıyla alınmıştır. Daha sonra standart petri kutuları içerisine PBS ile nemlendirilen pamuklar yerleştirilmiş ve yuvarlak kurutma kağıdı pamuk üzerine serilmiştir. Ayıklanmış yumurtalar kurutma kağıtlarının üzerine denk gelecek şekilde yerleştirilmiş (her bir petri için 100 adet yumurta) ve bu yumurtaların üzerine tekrar kurutma kağıdı kapatılarak petri kutuları etiketlenmiş ve inkübasyona bırakılmıştır. Günlük olarak petrideki pamuk PBS ile nemlendirilerek yumurtaların kuruması engellenmiştir (Şekil 3.1 A).



Şekil 3.1. Laboratuvar ortamında yetiştirilen Akdeniz karaçekiresi *G. bimaculatus*'a ait yumurtaların toplanması (A), yavru çıkışları (B), günlük besin hazırlanması(C), kafes içerisine bireylerin rastgele dağılımı(D)

Diğer ve daha etkili yöntemlerden birisi de Entomopatojeni çalışmalarda sıklıkla kullanılan White'in tuzağı (White-trap) (Ratcliffe ve Gagen, 1977; Dubovskiy ve ark., 2016) kullanılmıştır. Bu yöntemde dişilerin pamuk üzerindeki yumurtaları küçük pamuk parçalarıyla birlikte alınmış ve büyük petri içerisine yerleştirilen küçük petriye transfer edilmiş ve bir miktar nemlendirilmiştir. Küçük petrinin etrafında kalan boş bölgeye ise daha önce hazırlanan su jeli koyulmuş ve büyük petrinin üzeri kapatılmıştır. Bu şekilde çıkışlar kontrol altına alınmış, nem kaybı önlenmiş ve su jeli yardımıyla da çıkan nimflerin su ihtiyacı garanti altına alınmıştır. Günlük kontrollerle çıkan nimfler kendi küçük plastik kutularına aktarılmıştır. Bu şekilde yumurtalardan çıkıştaki başarı arttırılmıştır.

Ortalama olarak yukarıda belirtilen ayarlanmış şartlarda 10-12 gün içerisinde çıkan yavrular 16x11x7cm boyutlarında kutulara içerisine fırça yardımıyla dikkatli bir şekilde alınmıştır. (Şekil 3.1 B) Küçük yavrular için besin olarak yukarıda detayı belirtilen karışıma ilaveten iyice çekilmiş ve inceltmiş yavru kedi maması (Friskies marka) (%36 Protein, %18 yağ, %2.4 Lif) ve havuç (rendelenmiş) kullanılmıştır. Ayrıca ağzı pamukla kapatılmış küçük ependorf tüplerde su (3 adet), nemlendirilmiş pamuk (nemlendirme), yumurta viyolü (bireyler için küçük saklanma alanları oluşturacak yeterli yüzey alanı eldesi), kutu içindeki fazla nemi almak için havlu peçete kutu altına yerleştirilmiştir. Yavrular bu şekilde hazırlanan kutu içerisinde (16x11x7cm) 100 yavru birey olacak şekilde alınarak muhafaza edilmiş ve günlük olarak besinleri değiştirilmiştir. III. deri değişiminde kutu içerisinde birey sayısı yarıya (50 Birey) düşürülmüş IV. deri değişiminde kutu boyutu büyütülerek (19x12x9cm) birey sayısı 25 olarak değiştirilmiştir. VI. deri değişiminden sonra kutu boyutu (24x15x11cm) artırılmış birey sayısı aynı kalmıştır. Son devre nimf haline gelen bireyler erkek ve dişi olarak ayrı kutulara (34x20x15cm) 25 birey olacak şekilde rastgele alınmıştır. Çiftleşmenin bazı immün sistem aktivitelerinde değişikliğe neden olacağı düşünüldüğü için kutular günlük kontrol edilmiş ve erginleşen dişi ve erkek bireyler tek tek kutulara (19x12x9cm) alınarak yaşları tespit edilmiştir. Her bir yetiştirme kutusu için eşit sayıda olacak şekilde birey sayısı azaltılmıştır.



Şekil 3.2. Deney gruplarının oluşturulması (*laboratuvar popülasyonunun çökmesi nedeniyle yeni bir popülasyon Ordu üniversitesi kampüsünden oluşturulmuştur)

Çünkü popülasyon yoğunluğu gelişim süresi, vücut büyüklüğü ve bazı immün aktiviteleri etkileyebilmektedir (Hammerschmidt ve ark., 2012). Yine aynı çevre şartlarında muhafaza edilmiş ve günlük olarak besinleri değiştirilmiştir. Beslenme

durumu, kutu başına düşen birey sayısı ve diğer çevre şartları her deney serisi için eşit tutulmuştur.

3.2 Deney düzeni

Deneyde kullanılan her bireyin gelişim zamanı (yumurtadan çıkıştan deneyde kullanıldığı güne kadar geçen süre) ve yaşları (son deri değişiminden sonra geçen hergün 1 yaş olarak) kayıt altına alınmıştır. Kullanılan çekirgelerin tamamının virjin olmaları için eşeyler son larval dönemde ayrı kutulara aktarılmış, ancak biyoakustik olarak izole edilmemiştir. Çünkü farklı üreme statüleri eşeylerin immün aktiviteler için gerekli olan kaynaklar üzerinde dengelemeye yönelik bir değişime zorlayabilir (Stoehr ve Kokko, 2006; Giglio ve ark., 2016). Deney süresince beslenme farklılığı, popülasyon yoğunluğundan kaynaklanabilecek olası durumlar için her bir plastik kutuda eşit sayıda birey tutulmuştur. Her bir kutu için aynı miktarda ve aynı zamanda besin takviyesi yapılmıştır. Son devre nimf (N), üreme öncesi yeni erginleşen birey (3 yaş, GE) ve yaşlı ergin (25 yaş, YE) şeklinde ayrılan gruplara ana stoktan rastgele dağılım yapılmıştır (Şekil 3.2). İlk çalışılan kuşak laboratuvar stoğunda halihazırda yer alan kuşak üzerinden (Ordu Üniversitesi, Kampüs popülasyonundan yetiştirilmiş 7. Kuşak) gerçekleştirilmiştir (analizde F1 olarak gösterilmiştir). İkinci kuşak bu kuşaktan elde edilen soy ile devam edilmesi planlanmışken F8 popülasyonunun hastalanıp son deri değişimini gerçekleştirip erginliğe ulaşamaması sonucu kampüsten yeni bir popülasyon toplanmıştır. Bu popülasyonun ilk kuşağından elde edilen bireyler laboratuvar adaptasyonuna uyum sağlamaları ve bir önceki kuşak ile benzer çevre özelliklerini yansıtması açısından, analiz için kullanılmamıştır. Laboratuvar şartlarına uyum sağlayan bu yeni kuşaktan elde edilen yavrular yetiştirilmiş ve analiz için kullanılmıştır (analizde F2 olarak gösterilmiştir). Bu gruplarda erkek ve dişiler ayrı kafeslerde ve eşit sayıda birey (n= 5) olacak şekilde dağılım uygulanmıştır. Ana stoktan rastgele seçilen sağlıklı 10 erkek ve 10 dişi birey erginleştikten sonra II. kuşak çalışması için aynı kafes içerisinde tutulmuş ve yumurta alımı için çiftleşmelerine olanak sağlanmıştır. İkinci kuşaktaki yavruların beslenmesi ve deney dağılım düzenindeki yöntem, bir önceki grup için uygulananın aynısıdır. Üçüncü kuşağın oluşması için bu kültür içerisinde rastgele seçilen 10 erkek ve 10 dişi birey erginleştikten sonra aynı kafes içerisinde tutulmuş ve yumurta alımı için çiftleşmelerine olanak sağlanmıştır.

İmmünolojik işlemde önce her bireyin vücut ağırlığı 0.01 g hassasiyetle tartılmıştır. Çünkü vücut ağırlığı genel vücut büyüklüğü ile korelasyon gösterdiği için çalışmada vücut büyüklüğü indeksi olarak kullanılmıştır (Ratcliffe ve Gagen, 1977; Vilmos ve Kurucz, 1998). Diğer taraftan vücut büyüklüğü ölçümleri ile immün aktiviteler arasındaki ilişkinin belirlenmesi amacıyla; a) pronotum genişliği ve b) arka femur uzunluk ölçümleri laboratuvarında bulunan hassas kumpas (Mitutoyo) ile yapılmıştır.

2.3. İmmün aktivitelerin ölçülmesi

FA ve LA'ler Rantala ve Cortet, (2003), Rantala ve Roff, (2005), Fedorka ve Sevgili, (2014) ve White, (1927) çalışmalarında kullanılan protokollerin modifiye edilerek oluşturulmasıyla belirlenmiştir. Her bir çekirgeden CO₂ (10 sn) ile bayıldıktan sonra, Mikro-şırınga (Hamilton Co, Reno, Nevada, 10 µl) kullanılarak 5 µl hemolimf çekilmiştir. Hemolimf çekimi 2. ve 3. abdominal sternitler arasındaki "lateral pleural" bölgeden yatay şekilde girilerek yapılmıştır. Çekilen hemolimf daha önce hazırlanan 17 µl PBS içeren tüpe ilave edilip homojenize edilmiştir. Daha sonra çalışma stokları FA ve LA'lerinin ölçülmesinde oluşturulan protokolün uygulanmasına kadar -24°C'de muhafaza edilmiştir. Hemolimf çekilen çekirge enkapsülasyon uygulaması için hazırlanmıştır.

2.3.1. Fenoloksidaz (FA) ve Litik (LA) aktivitelerin belirlenmesi

İmmün parametrelerin belirlenmesi için Rantala ve Roff, (2005) tarafından uygulanan metodoloji kısmen modifiye edilerek kullanılmıştır (bkz. Sevgili, 2016). Analiz edilecek hemolimf örneklerinin her birinden 5 µl (5 µl Hemolimf + 17µl PBS karışımı) FA aktivitesinin belirlenmesi için kullanılmıştır. Kalan miktarın 15 µl'si ise LA aktivitenin ve 1 µl hemolimfteki protein konsantrasyonunun belirlenmesi için -24°C'de muhafaza edilmiştir. Protokole başlamadan önce hafifçe homojenize edilen karışımdan kuyucuklara transfer edilmiş (96 well plate) hemolimf örneklerinden sonra 14 µl Bovine pancreas α -chymotripsin (1.3 mg mL⁻¹ solusyonu) hızlı bir şekilde hemolimf örnekleri üzerine ilave edilmiştir. Daha sonra plaka 20 dk karanlıkta inkübasyona bırakıldıktan sonra bu arada hazırlanan 7nM L-Dopa 90µl kuyucuklara ilave edilmiştir. Benzer şekilde, inkübasyon sırasında hazırlanan 90 µl *Micrococcus lysodecticus (luteus)* solusyonu (0.003g mL⁻¹ PBS) LA'nin ölçüleceği kuyucuklardaki hemolimf örneklerine ilave edilmiştir. Daha sonra Mikroplaka

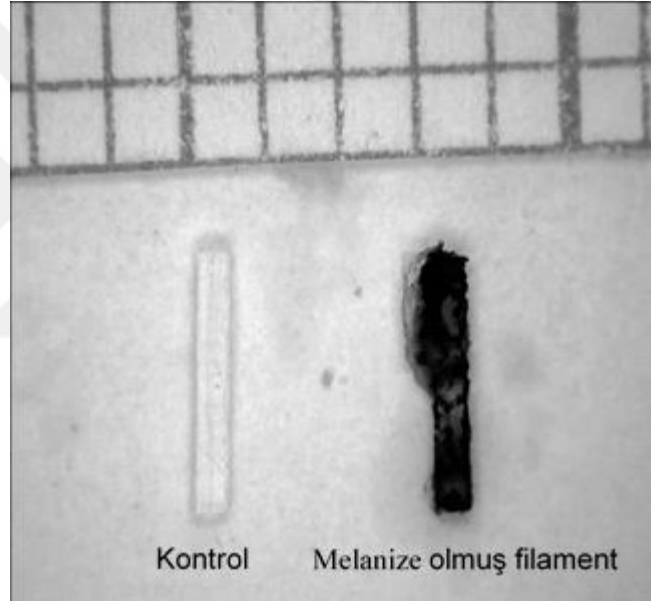
okuyucusu (Multiscan FC, Thermo Fisher Scientific) ile FA için 495 nm, LA için 450 nm kullanılmak üzere 5'er dk arayla 10 ölçüm yapılmıştır. Normalde negatif değerler taşıyan LA aktivite analizde karışıklık yaratmaması için ΔOD değeri pozitif absolute değer olarak hesaplanmıştır (Fedorka ve Sevgili, 2014).

FA reaksiyon sürecindeki OY (Optik yoğunluk) değerleri melanin formasyonu sonucunu vermiştir. Bu metodda hemolimfte sirküle olan fenoloksidaz miktarı ne kadar yüksek ise ölçülecek ΔOY değeri de en yüksek olacaktır. Ancak, bakteri hücre duvarlarının yıkıma uğraması nedeniyle litik aktivite süresince ΔOY değerlerinin düşmesi beklenir (Sevgili, 2016). Toplam FA ve LA aktivite ocular yoğunluk olarak ölçülmüştür, 0.00-şeffaf, 3.50 opak olmak üzere 50 dk boyunca her 5 dk'da bir okutulmuştur. FA ve LA immün parametrelere ilave olarak hemolimfteki protein konsantrasyonu hesaplanmıştır. Bunun için kalan hemolimf örneğinden 1 μl örneğe 99 μl Bradford Reagent (Sigma Aldrich) ilave edilmiş ve 96 kuyucuklu plakada 10 dakikalık inkübasyondan sonra 595 nm de mikropilaka okuyucusunda hemolimfteki protein konsantrasyonuna ilişkin veriler alınmıştır. Daha önce hazırlanan her bir okumada okutulan ve seri seyreltme uygulanan standartlardan (Bovine serum albümin standard/Thermo Scientific) elde edilen regresyon eğrisine ait formül kullanılarak son hesaplamalar yapılmıştır (Fedorka ve Sevgili, 2014).

2.3.2. Enkapsülasyon oranının belirlenmesi

Enkapsülasyon oranının belirlenmesinde (Rantala ve Roff, 2005; Fedorka ve ark., 2013b) tarafından uygulanan yöntem kısmen modifiye edilerek kullanılmıştır. Hemolimf çekilirken açılan delikten hemolimf çekildikten hemen sonra, daha önce hassasiyetle ölçülüp kesilmiş ve ince zımparadan geçirilmiş 3 mm misina parçası (çap: 0.20 mm) II. –III. sternit arasındaki pleural mebrandan açılan delikten içeriye gönderilmiştir. Daha sonra ayılan çekirge $25 \pm 1^\circ C$ ve $65 \pm 8\%$ nem ayarında 12:12 aydınlık: karanlık ortamında ayarlanmış iklim dolabı içerisinde immün tepkinin oluşabilmesi için 24 saat tutulmuştur. Bu uygulamadan sonra implant çekirgeden alınıp kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan misina parçaları ışık mikroskobu altında melanize olmamış aynı ölçüdeki bir misina parçası kontrol olarak kullanılarak fotoğraflanmıştır (Şekil 3.3). Fotoğraflar Dino-Lite Dijital USB (<http://www.dino-lite.com/>) bağlantılı görüntüleme ile yapılmıştır. Her bir çekim aynı ışık şartları

altında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen fotoğraflar ImageJ (Rantala ve Kortet, 2003) programı yardımıyla analiz edilerek, implanttan yansıyan grileşme değerleri elde edilmiştir. En koyu değere sahip implantın en yüksek enkapsülasyon oranına sahip olduğu kabul edilmiştir. Transformasyonda kontrol için her seferinde ölçüme dahil edilen temiz ve aynı uzunluktaki misina parçasından elde edilen değerler kullanılmıştır. ImageJ’de yapılan ölçümde en beyaz (255) en siyah (0) olduğu için elde edilen veriler, 255’den çıkarılarak melanizasyon artışının normal yönde değerlendirilmesi kolaylaştırılmıştır. Planlanan çalışma normal şartlarda 3 kuşak boyunca tekrarlanmıştır. Her bir larval ve yaş grubunu (üreme dönemi öncesi ve üreme bakımından aktif dönem) temsil edecek şekilde stoktan rastgele seçilen erkek ve dişi için ayrı ayrı olmak üzere yeter sayıda birey kullanılmıştır.



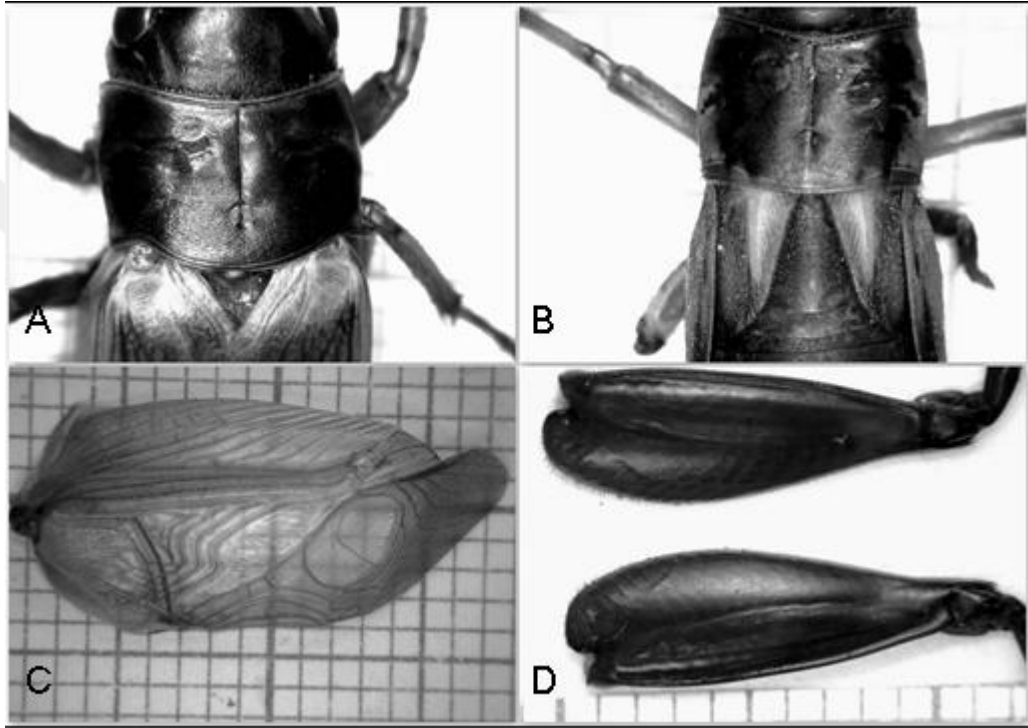
Şekil 3.3. Enkapsülasyon yeteneğinin ölçülmesinde kullanılan misina parçasının 24 saat hemolimfte kaldıktan sonra melanize olmuş durumu

Proje metninde öngörülen her bir grup ve eşey için 40’ar örnekten veri alma hedefine maalesef ulaşamamıştır. Bunun nedeni, kültürde meydana gelen ön görülmedik ve tespit edemediğimiz bir problem nedeniyle yaşanan ölümler olmuştur.

2.3.3. Kutikular melanizasyon ölçümü

Kutikular melanizasyonun ölçümü amacıyla işlem uygulanan her bireyin pronotum, kanat (sadece erginlerde) ve arka femur fotoğrafları Dino-Lite kullanılarak çekilmiştir (Şekil 3.4). Fotoğraflar kendi içerisinde aynı ölçekte çekilmiş ve referans

olarak milimetrik kağıt kullanılmıştır. Fotoğraflar ImageJ programında açılmış 16 bit Gray moduna çevrildikten sonra hem uzunluk hem de melanizasyon skorları alınmıştır. Kutikular melanizasyon ölçümünde ölçülecek kısmın etrafında hassas bir şekilde ortalama gri-ölçekli luminans değerleri “0” ile (en koyu) “255” (en beyaz) arasında elde edilmiştir (Rantala ve Roff, 2007). Grafikte görme kolaylığı açısından en koyu 255 olarak düşünülerek değerler 255’ten çıkarılmıştır. Bu durumda en yüksek değer en koyu-en melanik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada iki farklı



Şekil 3.4. Vücudun pronotum (A, B), kanat (C) ve arka femur (D) koyuluk skorlarının (melanizasyonun) ölçümünde kullanılan fotoğraf örnekleri (ölçümler için 1 mm’lik kağıt kullanılmıştır)

kuşakta son dönem nimf, üreme öncesi yeni erginleşmiş dönem (3 yaş, gün olarak) ve ergin üreme döneminde (25 yaş) vücut ağırlığı, vücut büyüklüğü (pronotum uzunluğu, ön ve arka genişliği, arka femur uzunluğu) kutikular melanizasyon (pronotumun dorsal kısmı, arka femur dorsali), humoral bağışıklık (toplam fenoloksidaz (FA) ve litik aktivite (LA), hücresel bağışıklık tepkisi (enkapsülasyon) ve hemolimfdeki protein konsantrasyonu verileri karşılaştırılmıştır. Birinci kuşakta toplamda 75 erkek ve 49 dişiden, II. kuşakta ise 45 erkek ve 48 dişiden ve III. kuşakta 105 erkek ve 90 dişiden veri alınmıştır Toplamda her üç kuşaktan 225 erkek ve 187 dişiden olmak üzere 412 bireye ait veri alınmıştır. Her üç kuşak için nimfal

dönemde (N) 76 erkek, 67 dişi, ergin dönemde (E) 149 erkek, 120 dişi olmak üzere nimfal dönemde 143, ergin dönemde 269 bireyden veri alınmıştır. Yaş gruplarına göre her üç kuşak birlikte ele alındığında nimfal dönemde 143 (76E, 67D) üç günlük ergin dönem (GE) dönemde 134 (66E, 68D), yaşlı ergin dönemde (YE) 135 (83E, 52D) birey çalışılmıştır. Stoktan yaş gruplarına rastgele dağıtım olmuşsa da gruplardaki bireylerde ölüm oranlarının farklı olması sayısal dengesizliğe neden olmuştur. Canlı örneklerle çalışmak, yumurtaları toplamak, inkübe etmek, yumurtadan çıkan yavruları günlük ayırmak, onları beslemek, kafesleri temizlemek, günlük verileri almak gibi işler çok sayıda örnekle çalışmayı güçleştirmektedir. Toplam FA 34 erkek bireyde, 13 dişi bireyde olmak üzere toplam 47 bireyde çalışmamıştır. LA ölçümleri genel olarak FA'ne göre daha başarılı bir şekilde sonuç vermiştir. Ancak, 5 erkek ve 4 dişi bireyde LA çalışmamıştır. Daha önce Sevgili, (2016), tarafından *Isophya speciosa* ve *Poecilimon similis* türlerinde yapılan çalışmada ise çalıçekirgelerde FA'si, LA'ye göre daha iyi çalıştığı bildirilmiştir. Gryllidae ve Phaneropterin çekirgelerde immün aktiviteler bakımından farklı yatırımların olabileceği ilerde çalışılabilecek bir konudur. Çünkü eşeyssel yatırım maliyeti, özellikle spermatofor büyüklüğündeki değişkenlik ya da spermatoforun olup olmaması durumları nedeniyle, oldukça farklı olabileceğini akla getirmektedir (Gwynne, 1995). *G. bimaculatus*'ta phaneropterin erkek çekirgelerdekine göre çok daha küçük bir spermatofor yapısı olup, dişi tarafından yenilebilir spermatofilakstan yoksundur (Sturm, 2014).

24 saatlik enkapsülasyon tepkisini ölçmek için çekirgenin vücut boşluğuna bırakılan misina parçası diseksiyon sırasında birkaç bireyde bulunamamış, birkaç birey de bayıltma işlemi sırasında kazara kaçtığı için sonuç alınamamıştır. Arka femur uzunluğunda görülen data kayıpları ise bireylerin herhangi bir nedenden dolayı (deri değişimi sırasında, grup içindeki agresif davranışlar vs.) bacaklarını kaybetmelerinden kaynaklanmıştır. Genel kutikular melanizasyon (PC1-KM) ve vücut büyüklüğü (PC1-VB) faktörlerinin eldesi için Temel Bileşenler Analizi (TBA=PCA) ile PC1 skorları elde edilmiştir. PC1-KM için pronotum ve sol ve sağ arka femurlarının dorsal kısımlarından elde edilen veriler analize dahil edilmiştir. Benzer şekilde PC1-VB için pronotum uzunluğu, pronotum ön ve arka genişliği, sol ve sağ arka femurlardan elde edilen ölçümler analize birlikte sokulmuştur.

İstatistikler büyük oranda R Studio (RStudio Team, (2015), RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL [http://www.rstudio.com/.](http://www.rstudio.com/)) üzerinden yapılmıştır. Verilerin normal dağılımının kontrolünde Shapiro-Wilk ve Kolmogorov-Smirnov testi kullanılmıştır. Analizin birinci kısmında çalışılan her üç kuşak birlikte ele alınmış; son devre nimf (N), üç günlük ergin (GE) ve yaşlı ergin (YE) karşılaştırılmaları yapılmıştır. Vücut ağırlığı ve büyüklüğü (pronotum ve arka femur uzunluğu) üzerinde gelişim süresinin etkili olup olmadığını anlamak için gelişim süresi (gün olarak) bağımsız değişken olarak analize girilmiş, gruplar faktör ve her bireyin cinsiyeti ve etiketi etkileşimli faktör olarak analize dahil edilmiştir (R, library=nlme, Genelleştirilmiş Linear Model, GLM). Normal dağılım göstermeyen veriler gruplar bazında nonparametrik olarak karşılaştırılmış ve gruplar arasındaki farklılığı görmek içinde “DunnTest” fonksiyonu kullanılmıştır (R, library (FSA), method=”bonferroni”). Grafikler SPSS paket programı aracılığıyla yapılmıştır.

4. BULGULAR

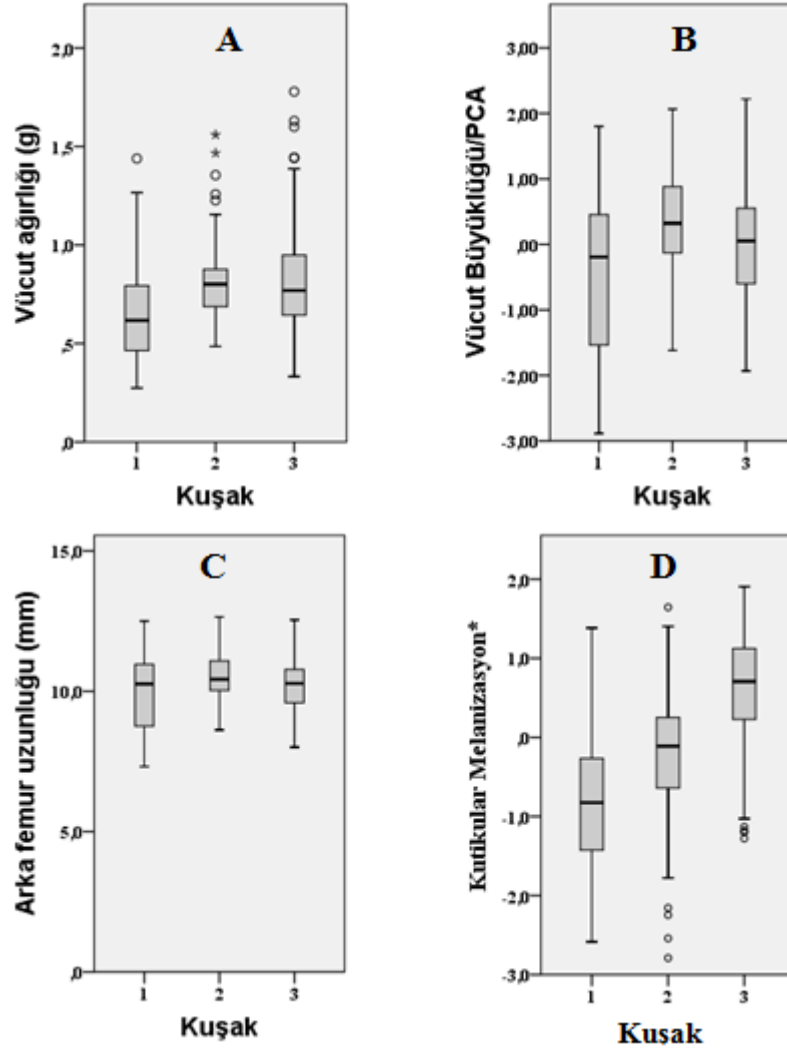
Bu araştırmada Akdeniz kara ekirgesi *G. bimaculatus*'un laboratuvar populasyonlarına ait birbirini takip eden  kuşak boyunca son devre nimf, juvenil (genç yetişkin, 3 günlük(erginleştikten sonraki 3. gün), yaşlı ergin (25 günlük (erginleştikten sonraki 25. Gün)) dönemleri immün parametreler ve kutikular melanizasyonun değişimi açısından karşılaştırılmıştır. Çalışmada *G. bimaculatus*'a ait birinci kuşakta 75 erkek, 49 dişi ikinci kuşakta 45 erkek 48 dişi ve nc kuşakta 105 erkek 90 dişi olmak üzere toplam 225 erkek 187 dişi birey çalışılmıştır. Bazı bireylerde FA ve LA değerleri ölçülememiştir. FA 34 erkek (%15.1) bireyde, 13 dişi (%6.9) bireyde olmak üzere toplam 47 (%11.4) bireyden veri alınamamışken LA lmleri genel olarak FA'ne göre daha başarılı bir Şekilde sonuç vermiştir. Ancak, 5 erkek (%2.2) ve 4 dişi (%2.1) bireyde toplam 9 (%2.1) LA verisi alınamamıştır. Enkapsülasyon (ENK) genelde daha başarılı olmuş ancak kazara kafesten kaçan 20 erkek (%8.8), 17 dişi (%9.1) birey olmak üzere toplam 37 (%8.9) bireyden veri alınamamıştır. Verilerin önemli bir kısmı normal dağılım göstermemiştir. O nedenle bağımsız gruplar arasındaki farkların istatistiksel analizi için parametrik olmayan testler kullanılmıştır. Ancak, llen değerler üzerinde birçok faktörün etkili olabileceği gerçeğinden yola çıkılarak güçlü bir analiz olan “Genelleştirilmiş Lineer Karma Model” (GLMM) (bkz. Bolker ve ark., 2009) ile birçok faktör analize dahil edilerek immün parametreler üzerinde etkili olan faktörler saptanmaya çalışılmıştır.

4.1.  Kuşağa Ait Hücresel ve Humoral İmmün Aktiviteler

4.1.1. Vücut Ağırlığı, Vücut Büyüklüğü, Arka Femur Uzunluğu, Kutikular Melenizasyon Sonuçlarına Ait Veriler

Kuşaklar arasında vücut ağırlığı (VA) karşılaştırıldığında I. kuşakta II. ve III. kuşağa göre daha düşük bulunmuştur (ANOVA, Bonferroni, $p < 0.001$, Şekil.4.1-A) ancak kuşaklar arasında fark bulunamamıştır. Toplam vücut büyüklüğü (PCA'den elde edilen skor) karşılaştırıldığında (Kruskal-Wallis, $Kikare=25.75$, $df=2$, $p < 0.001$) II. ve III. kuşaklar arasındaki vücut büyüklüğü (VB) farkının I. kuşağa göre daha az olduğu grlmştir (ANOVA, Tamhane, $p=0.016$, Şekil.4.1-B). Arka femur uzunluğu (AFU) (sol) I. ve III. kuşaklarda farklılık göstermemişken, toplam vücut büyüklüğü ile uyumlu bir Şekilde, II. kuşaktaki bireylerin daha büyük olduğu grlmştir

(ANOVA, Tamhane $p=0.001$, I. kuşak için; $p=0.019$, III. kuşak için, Şekil.4.1-C). Toplam kutikular melanizasyon (TKM) (PCA'den elde edilen skor) birbirini takip eden kuşaklarda giderek önemli derecede artış göstermiştir (Kruskal-Wallis test, Kikare =138.49, $df=2$, $p<0.001$, Şekil.4.1-D).

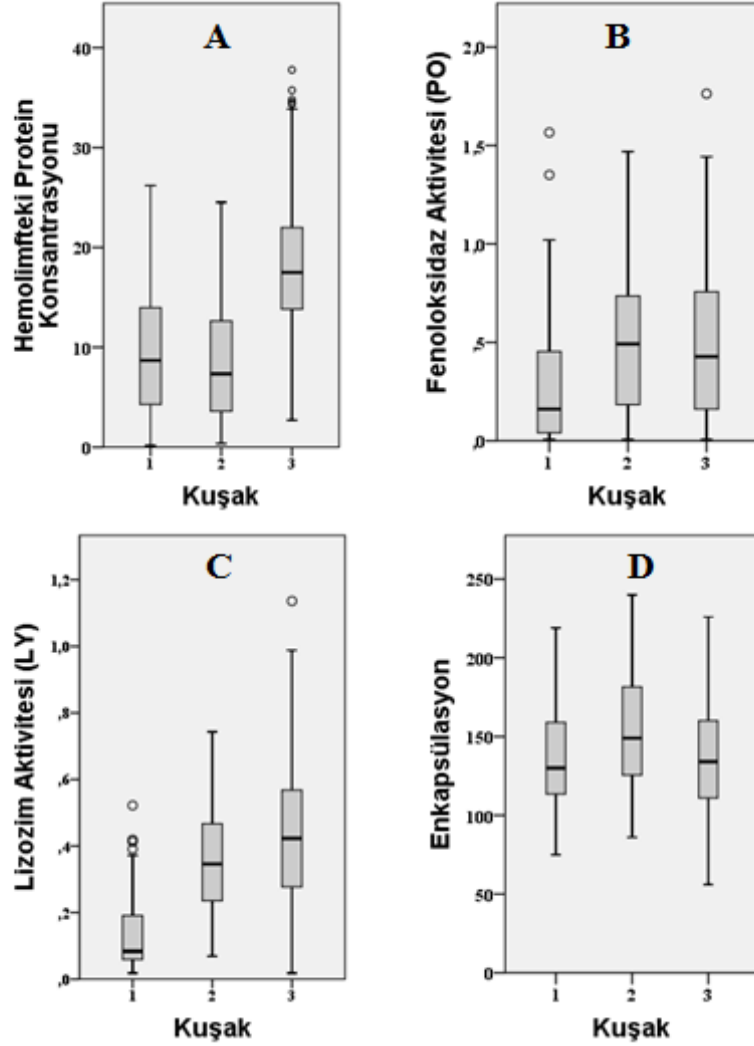


Şekil 4.1 Üç Kuşak Boyunca Vücut Ağırlığı (A), Vücut Büyüklüğü (B), Arka Femur Uzunluğu (C), ve Toplam Kutikular Melanizasyondaki (D) Değişimler

4.1.2. Enkapsülasyon, Litik Aktivite, Fenoloksidaz Aktivitesi, Hemolimfdeki Protein Konsantrasyonu Sonuçlarına Ait Veriler

Kuşaklar arasında hemolimfdeki protein konsantrasyonu karşılaştırıldığında (tüm gelişim dönemleri dahil) III. kuşak ile I. ve II. kuşak arasında önemli derecede fark olduğu görülmüştür (Kruskal-Wallis testi, Kikare =127.72, $df=2$, $p<0.001$), ancak I. ve II. kuşaklar arasında herhangi bir fark saptanmamıştır (ANOVA, Bonferroni test

p=0.326, Şekil.4.2-A). Fenoloksidaz aktivitesi I. kuşakta vücut büyüklüğü gibi genel olarak daha düşük bulunmuş, ancak II. ve III. kuşaklar arasında ise herhangi bir fark saptanmamıştır (Kruskal-Wallis testi, Kikare =24.12, df=2, p<0.001, Şekil.4.2-B).



Şekil 4.2. Üç Kuşak Boyunca Hemolimdeki Protein Konsantrasyonu (A), Fenoloksidaz Aktivitesi (B), Litik Aktivite (C) ve Enkapsülasyon (D) Değişimleri

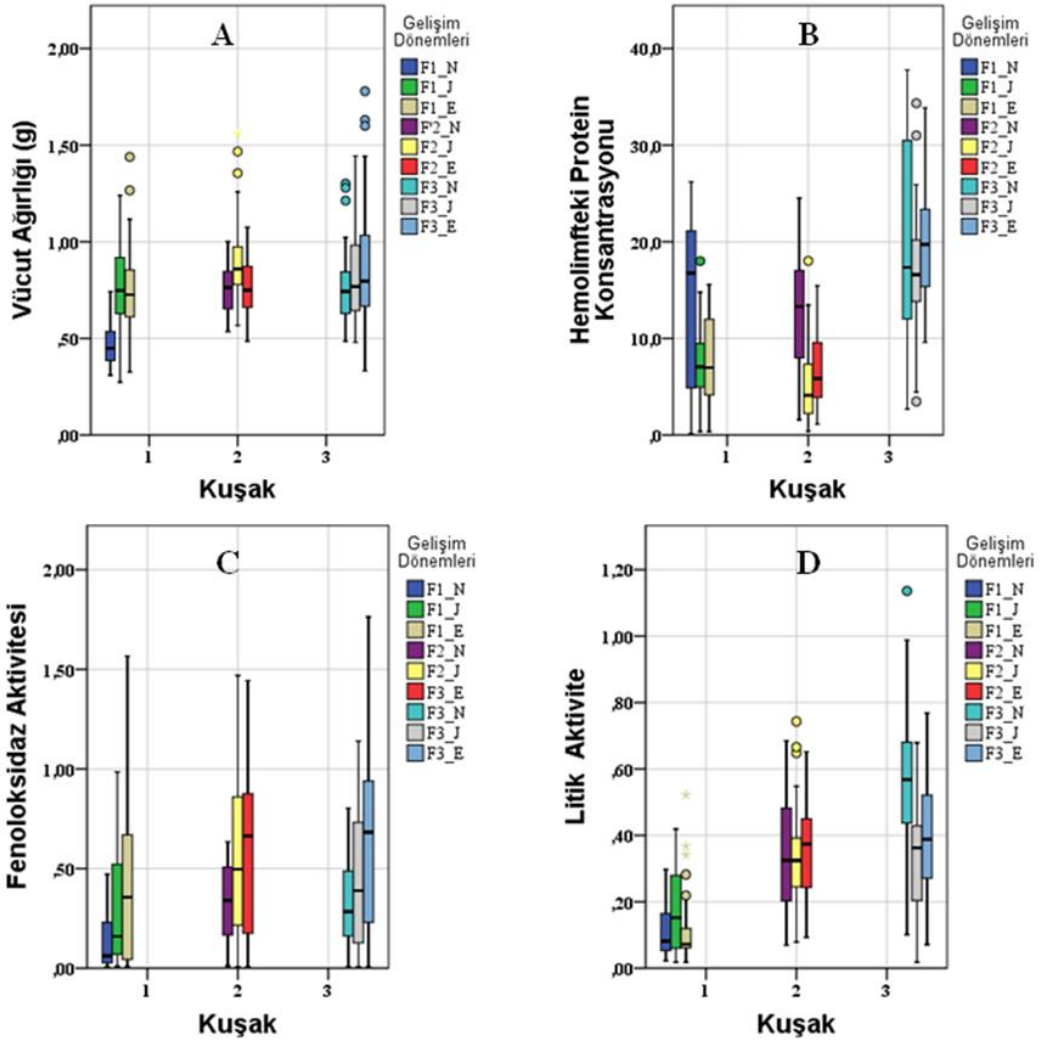
Litik aktivite birbirini takip eden kuşaklar arasında giderek artmıştır (Kruskal-Wallis test, Kikare=174.09,df=2,p<0.001 Şekil.4.2-C). Enkapsülasyon yeteneği II. kuşakta I. ve III. kuşağa göre daha yüksek iken I. ve III. kuşakta herhangi bir fark bulunamamıştır (Kruskal-Wallis testi, Kikare =16.86, df=2, p<0.001, Şekil.4.2-D).

4.2. Gelişim Dönemlerine Göre Kuşakların Değerlendirilmesi

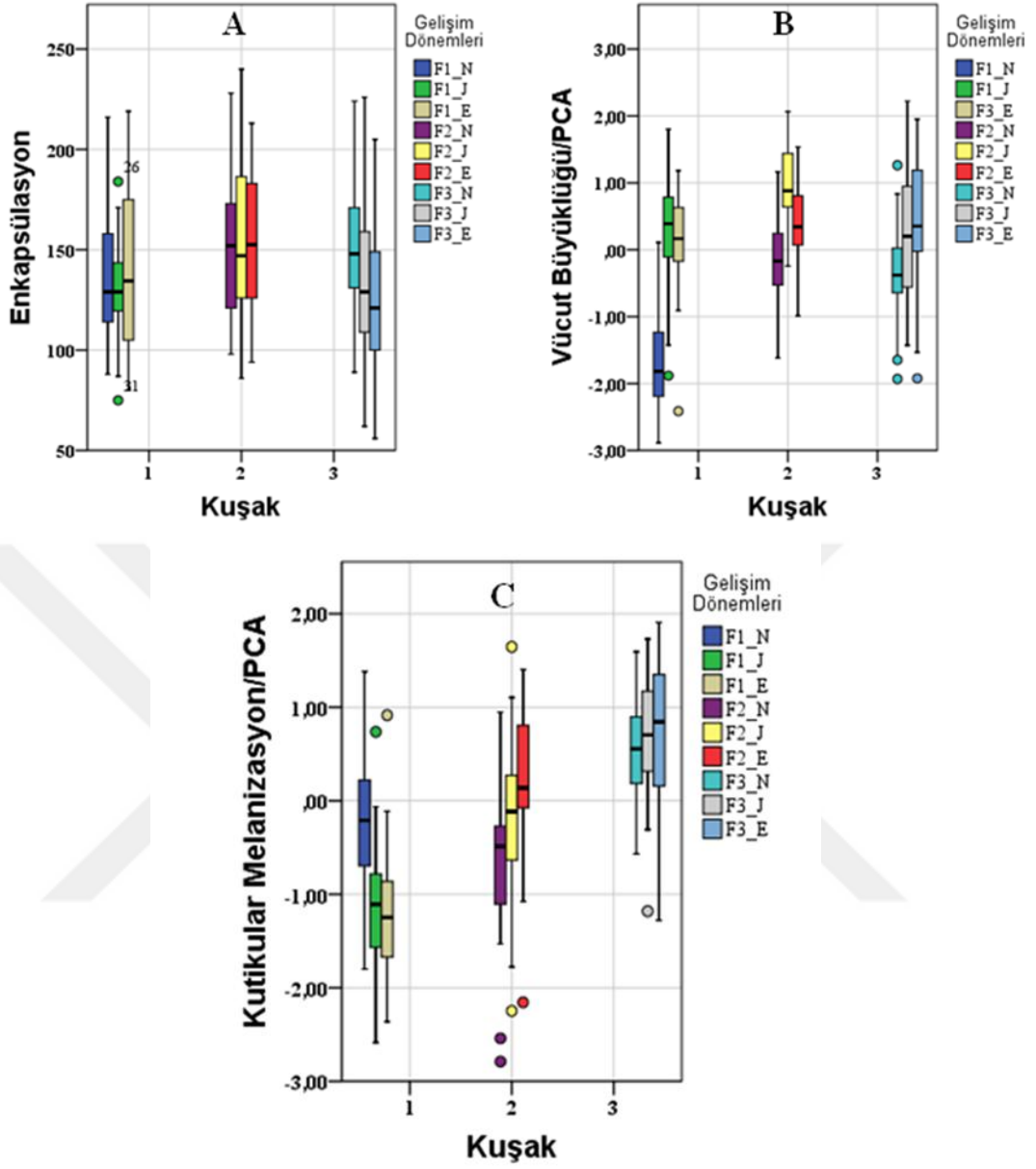
Genel olarak gelişim dönemleri arasında vücut ağırlığının nimflerde daha düşük olduğu tespit edilmiştir (ANOVA, Bonferroni test, $p < 0.001$ şekil.4.3-A) aynı şekilde genel vücut büyüklüğü skoru (Kruskal-Wallis, Kikare = 95.03, $df = 2$, $p < 0.001$) sol arka femur uzunluğu bakımından nimfler, juvenil ve yaşlı erginlere göre daha küçük vücut büyüklüğüne sahip oldukları görülmüştür.

Kutikular melanizasyon bakımından her üç kuşakta erkek ve dişi ayırt edilmeksizin bakıldığında herhangi anlamlı bir farklılığa rastlanmamıştır (Kruskal-Wallis, Kikare= 0.75, $df = 2$, $p = 0.688$, Şekil4.4-C:). Humoral ve hücrel immün aktivitelerin gelişim dönemlerine göre seyri her bir parametreye göre farklılık göstermiştir. HPK gelişim dönemlerinde farklılık göstermiştir (Kruskal-Wallis, Kikare=18.25, $df=2$, $p < 0.001$, Şekil4.3-B). HPK nimflerde, juvenil ve yaşlı erginlerden daha yüksek olduğu saptanmıştır (ANOVA, Bonferroni test, juvenil için $p < 0.001$; yaşlı ergin için $p = 0.010$, Şekil4.3-B). FA hayvan yaşlandıkça her dönemde önemli derecede artış göstermiştir (Kruskal-Wallis, Kikare= 26.77, $df = 2$, $p < 0.001$, Şekil 4.3-C). Ergin dönemde yaşlı bireylerde daha yüksek fenoloksidaz aktivitesi saptanmıştır (ANOVA, Tamhane test, $p = 0.027$). LA'nin HPK'na benzer şekilde nimflerde daha yüksek bulunmuş ancak ergin gruplar arasında farklılık görülmemiştir (Kruskal-Wallis, Kikare= 4.27, $df = 2$, $p = 0.118$, Şekil 4.4-D). Ancak bu farklılık sadece nimf ve genç erginler arasında önemlilik göstermiştir (ANOVA, Tamhane test, $p = 0.018$). ENK yeteneği bakımından gelişim dönemleri arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır (Kruskal-Wallis testi, Kikare= 5.98, $df = 2$, $p = 0.050$, Şekil 4.4-A).

Daha gelişmiş bir analiz yapıldığında (GLMM) immün parametreler ve toplam kutikular melanizasyon üzerinde gelişim süresi, vücut ağırlığı, vücut büyüklüğü, kuşak gelişim dönemleri ve eşey faktörlerinin etkileri Çizelge 4.1 verilmiştir. Tüm bu parametreler üzerinde kuşak farklılığının ve gelişim dönemlerinin önemli derecede etkili olduğu görülmüştür. Vücut ağırlığının sadece FA üzerinde etkili olması dikkat çekicidir (Şekil4.8.B). Gelişim süresinin uzaması ve vücut büyüklüğü toplam kutikular melanizasyon üzerinde pozitif etki oluşturmuştur (diğer ayrıntılar için bkz. Çizelge 4.2, 4.3, 4.4) (Şekil 4.10).



Şekil 4.3. Kuşakların Gelişim Dönemlerine Göre, Vücut Ağırlığı (A) Hemolimfteki Protein Konsantrasyonu (B), Fenoloksidaz Aktivitesi (C), ve Litik Aktivite (D) Değerlerinin Karşılaştırılması



Şekil 4.4. Kuşakların Gelişim Dönemlerine Göre, Enkapsülasyon (A), Vücut Büyüklüğü (B), ve Kutikular Melanizasyon (C) Değerlerinin Karşılaştırılması

Çizelge.4.1. Bazı immün sistem parametreleri ve toplam kutikular melanizasyonu üzerine çeşitli faktörlerin etkileri (GLMM, bireylerin künyeleri random faktör olarak analize eklenmiştir). Değişkenler üzerinde etkili olan faktörler **bold** olarak gösterilmiştir.

Değişkenler/Etkenler	F	df1	df2	p
Hemolimfteki Protein Konsantrasyonu				
Model	25.04	8	322	<0.001
Gelişim süresi	3.14	1	322	0.077
Vücut ağırlığı	0.006	1	322	0.937
Vücut büyüklüğü/PCA	0.893	1	322	0.345
Kuşak	64.06	2	322	<0.001
Gelişim dönemleri	8.099	2	322	<0.001
Eşey	2.995	1	322	0.084
Fenoloksidaz Aktivitesi				
Model	17.52	8	285	<0.001
Gelişim süresi	0.46	1	285	0.498
Vücut ağırlığı	23.51	1	285	<0.001
Vücut büyüklüğü/PCA	0.740	1	285	0.390
Kuşak	4.66	2	285	0.010
Gelişim dönemleri	11.68	2	285	<0.001
Eşey	2.858	1	285	0.092
Litik Aktivite				
Model	30.30	8	323	<0.001
Gelişim süresi	3.84	1	323	0.051
Vücut ağırlığı	0.96	1	323	0.329
Vücut büyüklüğü/PCA	0.114	1	323	0.736
Kuşak	69.98	2	323	<0.001
Gelişim dönemleri	6.51	2	323	0.002
Eşey	3.003	1	323	0.084
Enkapsülasyon				
Model	5.06	8	304	<0.001
Gelişim süresi	3.26	1	304	0.072
Vücut ağırlığı	0.036	1	304	0.850
Vücut büyüklüğü/PCA	0.256	1	304	0.613
Kuşak	10.33	2	304	<0.001
Gelişim dönemleri	3.05	2	304	0.049
Eşey	6.47	1	304	0.011
Toplam Kutikular Melanizasyon				
Model	71.59	8	327	<0.001
Gelişim süresi	14.15	1	327	<0.001
Vücut ağırlığı	0.224	1	327	0.636
Vücut büyüklüğü/PCA	59.50	1	327	<0.001
Kuşak	102.86	2	327	<0.001
Gelişim dönemleri	18.42	2	327	<0.001
Eşey	5.43	1	327	0.020

Çizelge 4.2. Tüm grupların dahil edildiği genel korelasyona ilişkin 1. kuşak için sonuçlar. Normal dağılım gösteren veriler için Pearson, diğerleri için Spearman korelasyon metodları kullanılmıştır. Önemli çıkan sonuçlar bold olarak verilmiştir).

Kuşak		GS	VA	HPK	FA	LA	ENK	AFU	VB/PCA	TKM
Gelişim Süresi (gün) (GS)	r/rho	1.000								
	p-değeri									
	N	123								
Vücut Ağırlığı* (VA)	r/rho	0.752	1.000							
	p-değeri	<0.001								
	N	123	123							
Protein Konsantrasyonu (HPK)*	r/rho	-0.181	-0.199	1.000						
	p-değeri	0.049	0.030							
	N	119	119	120						
Fenoloksidaz Aktivitesi (FA)	r/rho	0.401	0.534	-0.292	1.000					
	p-değeri	<0.001	<0.001	0.003						
	N	105	105	101	105					
Litik Aktivite (LA)	r/rho	0.300	0.315	-0.093	0.256	1.000				
	p-değeri	0.001	<0.001	0.315	0.009					
	N	121	121	118	104	122				
Enkapsülasyon (ENK)	r/rho	-0.031	-0.171	0.257	-0.190	-0.100	1.000			
	p-değeri	0.737	0.063	0.006	0.054	0.282				
	N	119	119	115	104	117	119			
Arka Femur Uzunluğu* (AFU)	r/rho	0.799	0.874	-0.276	0.377	0.211	-0.002	1.000		
	p-değeri	<0.001	<0.001	0.004	<0.001	0.030	0.985			
	N	108	108	105	92	106	105	108		
Vücut Büyüklüğü/PCA	r/rho	0.796	0.904	-0.245	0.463	0.212	0.047	0.973	1.000	
	p-değeri	<0.001	<0.001	0.017	<0.001	0.038	0.653	<0.001		
	N	97	97	94	82	96	94	97	96	
Toplam Kutikular Melanizasyon*	r/rho	-0.622	-0.591	0.227	-0.191	-0.127	0.031	-0.708	-0.702	1.000
	p-değeri	<0.001	<0.001	0.029	0.087	0.222	0.765	<0.001	<0.001	
	N	96	96	93	81	95	93	96	96	96

Çizelge 4.3. Tüm grupların dahil edildiği genel korelasyona ilişkin 2. kuşak için sonuçlar. Normal dağılım gösteren veriler için Pearson, diğerleri için Spearman korelasyon metodları kullanılmıştır. Önemli çıkan sonuçlar bold olarak verilmiştir).

Kuşak		GS	VA	HPK	FA	LA	ENK	AFU	VB/PCA	TKM
Gelişim Süresi (gün) (GS)*	r/rho	1.000								
	p-değeri									
	N	93								
Vücut Ağırlığı(VA)	r/rho	0.981	1.000							
	p-değeri	0.351								
	N	93	93							
Protein Konsantrasyonu (HPK)*	r/rho	0.080	-0.128	1.000						
	p-değeri	0.460	0.233							
	N	88	88	88						
Fenoloksidaz Aktivitesi (FA)*	r/rho	0.111	0.375	-0.145	1.000					
	p-değeri	0.317	<0.001	0.199						
	N	84	84	80	84					
Litik Aktivite (LA)*	r/rho	0.037	-0.265	-0.070	-0.095	1.000				
	p-değeri	0.727	0.010	0.515	0.388					
	N	93	93	88	84	93				
Enkapsülasyon (ENK)*	r/rho	0.103	0.234	0.086	0.007	-0.119	1.000			
	p-değeri	0.342	0.029	0.441	0.948	0.273				
	N	87	87	82	79	87	87			
Arka Femur Uzunluğu (AFU)	r/rho	0.079	0.621	-0.266	0.248	-0.164	0.071	1.000		
	p-değeri	0.465	<0.001	0.015	0.028	0.127	0.524			
	N	88	88	83	79	88	83	88		
Vücut Büyüklüğü/PCA*	r/rho	-0.042	0.726	-0.324	0.268	-0.205	0.182	0.910	1.000	
	p-değeri	0.701	<0.001	0.004	0.019	0.001	0.109	<0.001		
	N	84	84	79	76	84	79	84	84	
Toplam Kutikular Melanizasyon	r/rho	-0.290	-0.217	-0.039	0.100	0.091	-0.048	-0.273	-0.130	1.000
	p-değer	0.008	0.049	0.732	0.395	0.412	0.078	0.013	0.241	
	N	83	83	78	75	83	78	83	83	83

Çizelge 4.4. Tüm grupların dahil edildiği genel korelasyona ilişkin 3. kuşak için sonuçlar. Normal dağılım gösteren veriler için Pearson, diğerleri için Spearman korelasyon metodları kullanılmıştır. Önemli çıkan sonuçlar bold olarak verilmiştir).

Kuşak		GS	VA	HPK	FA	LA	ENK	AFU	VB/PCA	TKM
Gelişim Süresi (gün) (GS)	r/rho	1.000								
	p-değeri									
	N	194								
Vücut Ağırlığı(VA)	r/rho	0.117	1.000							
	p-değeri	0.106								
	N	194	194							
Protein Konsantrasyonu (HPK)	r/rho	0.114	0.011	1.000						
	p-değeri	0.115	0.884	193						
	N	193	193							
Fenoloksidaz Aktivitesi (FA)	r/rho	0.032	0.480	-148	1.000					
	p-değeri	0.682	<0.001	0.059						
	N	163	163	163	163					
Litik Aktivite (LA)*	r/rho	0.039	-0.102	0.138	-0.143	1.000				
	p-değeri	0.596	0.164	0.060	0.075					
	N	186	186	185	157	186				
Enkapsülasyon (ENK)*	r/rho	0.167	-0.023	0.075	-0.076	0.238	1.000			
	p-değeri	0.030	0.772	0.335	0.364	0.002	167			
	N	167	167	166	143	160				
Arka Femur Uzunluğu (AFU)*	r/rho	0.093	0.682	0.012	0.361	-0.116	-0.172	1.000		
	p-değeri	0.236	<0.001	0.876	<0.001	0.145	0.040			
	N	166	166	165	142	158	143	166		
Vücut Büyüklüğü/PCA*	r/rho	0.016	0.756	-0.63	0.458	-0.192	-0.129	0.900	1.000	
	p-değeri	0.841	<0.001	0.428	<0.001	0.018	0.129	<0.001		
	N	159	159	158	136	152	140	159	159	
Toplam Kutikular Melanizasyon	r/rho	-0.243	-0.507	0.064	-0.302	0.125	-0.016	-0.487	-0.471	1.000
	p-değeri	0.002	<0.001	0.429	<0.001	0.129	0.853	<0.001	<0.001	
	N	157	157	156	134	150	138	157	157	157

4.3. Gelişim Dönemlerine Göre 3 Kuşak

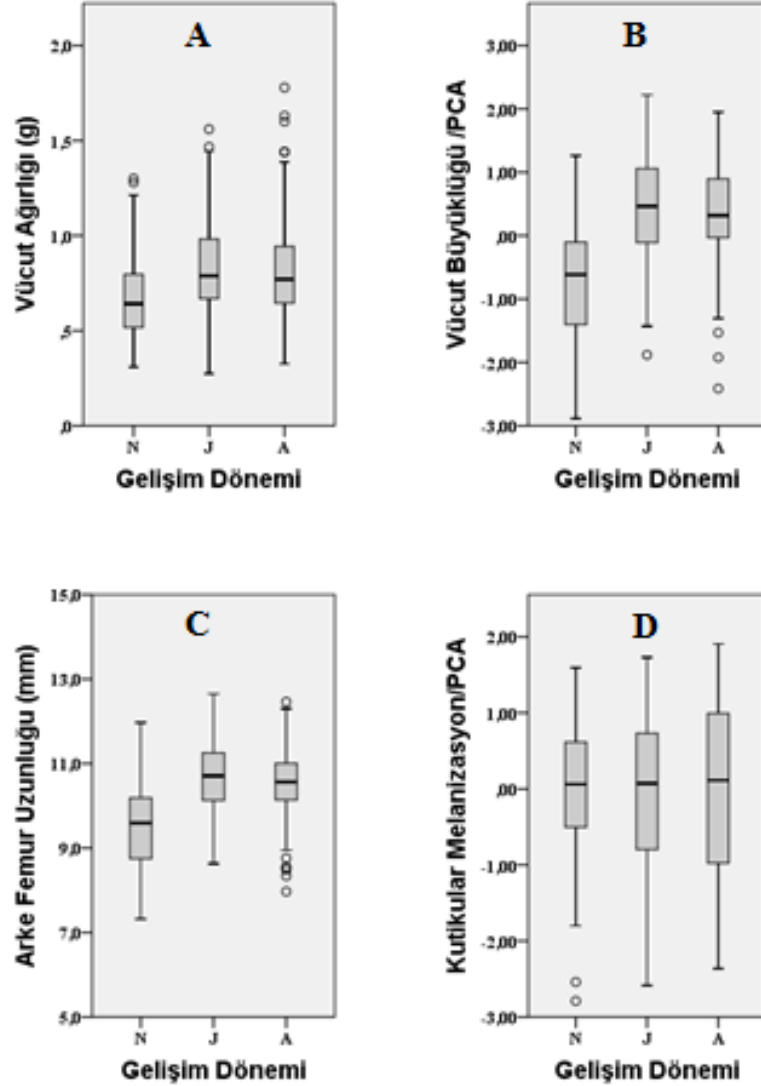
4.3.1. Nimflerin 3 kuşak'a göre karşılaştırılması

Nimflerde gelişim dönemi I. ve II. kuşak arasında II. ve III. kuşak arasında farklılık göstermemişken I. ve III. kuşak arasında farklılık saptanmamıştır. (ANOVA, Bonferroni, I.-II. kuşak için $p < 0.001$; I.-III. kuşak için $p = 0.073$). Vücut ağırlığı I. kuşak ile II. ve III. kuşak arasında farklılık göstermiştir (ANOVA, Bonferroni, $p < 0.001$) II. ve III. kuşak arasında önemli bir farklılık saptanmıştır (Şekil.4.3-A). Hemolimfde ki protein konsantrasyonu I. ve II. kuşak arasında nimflerde farklılık göstermiş ancak I.- III. (ANOVA, Bonferroni, $p = 0.010$) ve II.- III. kuşak arasında ($p = 0.004$) farklılık göstermiştir (Şekil.4.3-B). FA I. kuşak nimflerde II. ve III. kuşaklara göre daha düşük değerlerde ölçülmüştür (Şekil.4.3-C) (ANOVA, Bonferroni, $p < 0.001$). LA her kuşakta anlamlı bir şekilde artış göstermiştir (ANOVA, Bonferroni, $p < 0.001$) (Şekil.4.3-D). ENK kuşaklar arasında anlamlı bir farklılık göstermesede III. kuşakta gelişim dönemleri arasında giderek azalan bir grafik göstermiştir (Şekil.4.4-A). Arka femur uzunluğu (Şekil.4.5-C) ve vücut büyüklüğü skoru benzer bir eğilim göstermiş II. ve III. kuşak arasında farklılık yok iken I. kuşaktaki nimfler daha düşük vücut büyüklüğü ve arka femur uzunluğuna sahip oldukları tespit edilmiştir (Şekil.4.5-B-C). Toplam kutikular melanizasyon bakımından nimfler her 3 kuşakta birbirinden farklılık göstermiş olup III. kuşaktaki nimflerin daha koyu kutikulaya sahip oldukları saptanmıştır (ANOVA, Bonferroni, I.-II. kuşak için $p = 0.022$; II.-III. kuşak için $p < 0.001$) (Şekil.4.4-C).

4.3.2. Juvenil (Genç Ergin) Bireylerin 3 kuşak'a göre karşılaştırılması

Genç erginlerde her üç kuşakta gelişim dönemleri arasında önemli derecede fark bulunmuştur (ANOVA, Bonferroni, $p = 0.001$). Vücut ağırlığı genç erginlerde üç kuşak arasında önemli bir farklılık göstermemiştir. Sadece I. kuşak II. ve III. kuşağa göre daha düşük VA'na sahiptir (ANOVA, Tamhane, I. ve II. kuşak için $p = 0.054$, I. ve III. kuşak $p = 0.715$) (Şekil.4.3-A). Hemolimftteki protein konsantrasyonu genç ergin kuşaklar arasında bir fark bulunamazken (ANOVA, Bonferroni $p = 0.194$) I. ve III. kuşak arasında ve III. kuşak ile diğer her iki kuşakta önemli derecede farklılık tespit edilmiş olup III. kuşakta en yüksek protein konsantrasyonu ölçülmüştür (ANOVA, Benferron, I. ve III. kuşak için $p = 0.194$, diğerleri $p < 0.001$) (Şekil 4.3-B).

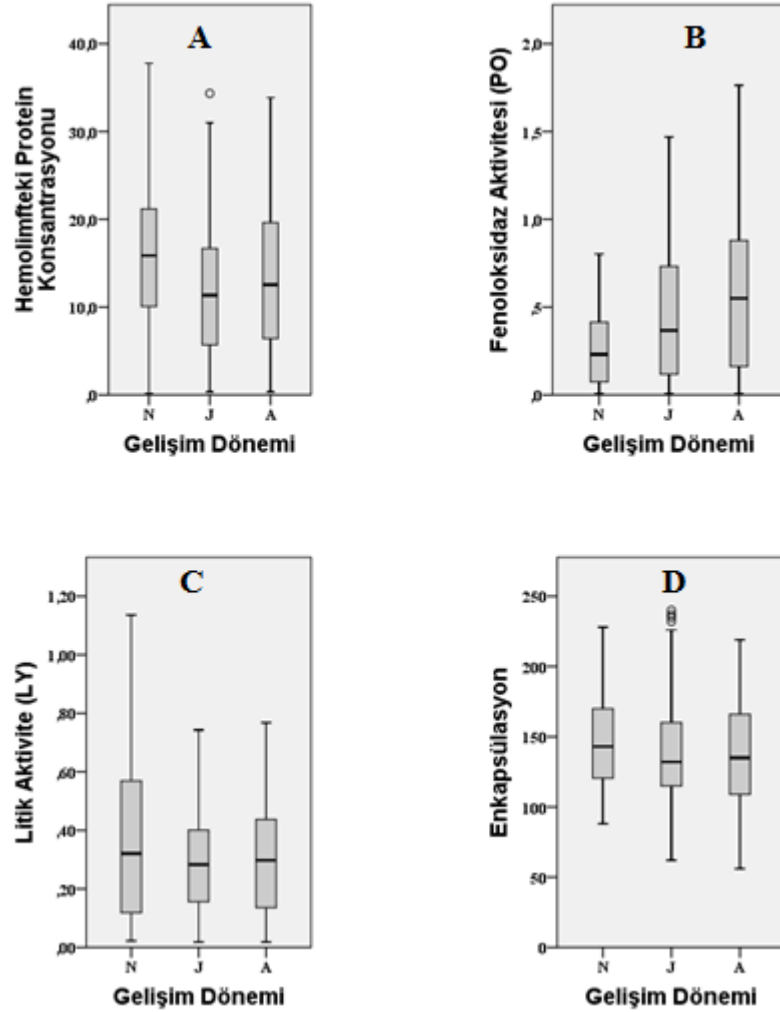
FA II. ve III. kuşak arasında farklılık göstermemiş sadece II. kuşakta I. kuşağa göre önemli derecede daha yüksek bir aktivite saptanmıştır (ANOVA, Bonferroni, $p=0.024$) (Şekil 4.3-C). LA juvenillerde II. ve III. kuşakta daha yüksek saptanmış olup I. kuşaktan anlamlı derecede farklıdır (ANOVA, Tamhane, $p<0.001$) (Şekil 4.3-D).



Şekil 4.5. Gelişim Dönemleri Arasında Ki Vücut Ağırlığı (A), Vücut Büyüklüğü (B), Arka Femur Uzunluğu (C) ve Toplam Kutikular Melanizasyondaki (D) Değişimler

ENK I.ve III. kuşak arasında farklılık göstermiştir. Benzer şekilde toplam vücut büyüklüğü skoru bakımından II. kuşakta ki genç erginler daha büyük değerler saptanmıştır (ANOVA, Bonferroni, I.-II. kuşaklar için $p=0.003$; II.-III. kuşaklarda $p=$

0.001) (Şekil 4.4-A) Toplam kutikular melanizasyon her kuşakta giderek önemli derecede artmıştır (ANOVA, Bonferroni, $p < 0.001$) (Şekil.4.4-C).



Şekil 4.6. Gelişim Dönemleri Arasında ki Hemolimfteki Protein Konsantrasyonu(A), Fenoloksidaz Aktivitesi(B), Lizozim Aktivitesi (C) ve Enkapsülasyon(D) Değişimleri

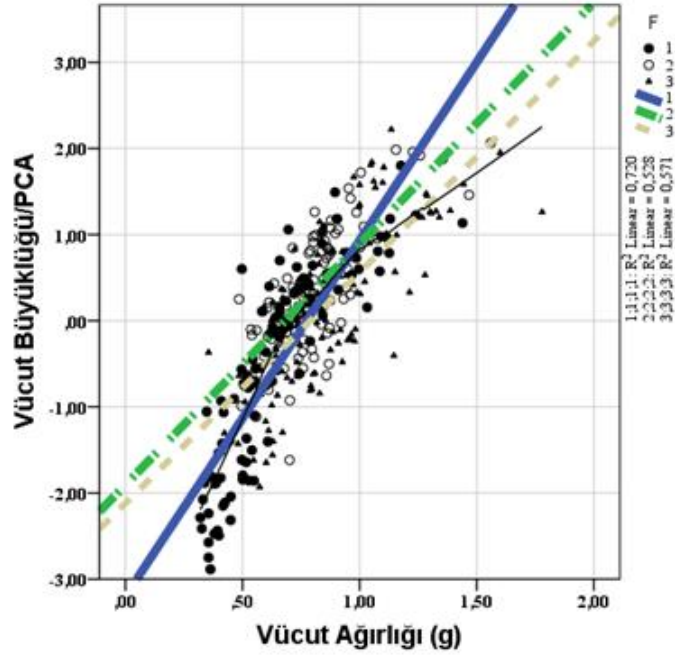
4.3.3. Yaşlı Ergin Bireylerin 3 kuşak'a göre karşılaştırılması

Erginlerin gelişim dönemlerine göre III kuşak birden ele alındığında LA ve kutikular melanizasyon normal dağılım göstermemiştir. Eşeye göre juvenillerde FA, LA ve ENK normal dağılım göstermemiştir. Eşeye göre nimflerde tüm veriler normal dağılım göstermiştir (Çizelge 4.1). Gelişim dönemlerine göre yaşlı erginlerde kuşaklar arasında LA ve toplam kutikular melanizasyon farklılık göstermiştir (sırasıyla Kruskal-Wallis, $Kikare = 62.15$, $df = 2$, $p < 0.001$; $Kikare = 53.81$ $df = 2$, $p < 0.001$) (Şekil.4.3-D; 4.4-C). Gelişim süreleri yaşlı erginlerde için her üç kuşakta

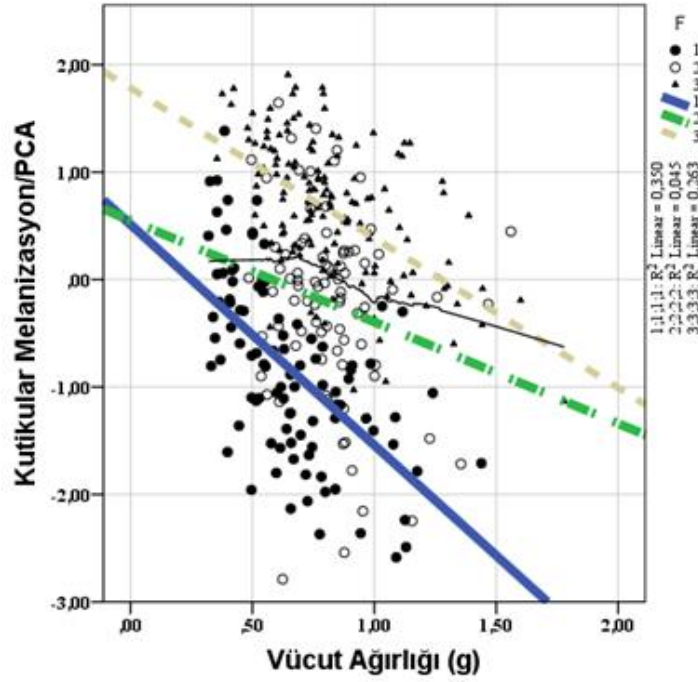
da önemli derecede farklılık göstermiştir (ANOVA, Bonferroni, $p < 0.001$). Vücut ağırlığı kuşaklar arasında farklılık göstermemiştir (Şekil 4.3-A). Hemolimfteki protein konsantrasyonu kuşaklar arasında önemli derecede farklılık göstermiştir (Şekil.4.3-B) (ANOVA, Bonferroni, $p < 0.001$) FA ergin yaşlılarda farklılık göstermemiştir. 1.ve 3. Kuşak arasında kısmen farklılık varsada istatistiksel açıdan önemli değildir (ANOVA, Bonferroni, $p = 0.081$) (Şekil 4.3-C). LA 2. ve 3. kuşaklar arasında farklılık göstermemiş (ANOVA, Bonferroni, $p = 0.418$) ancak 1. kuşakta daha yüksek LA gerçekleşmiştir (ANOVA, Bonferroni, $p < 0.001$) (Şekil 4.3-D). ENK 1. kuşakta daha küçük bulunmuş olup, 1. ve 2. kuşaklarda önemli bir farklılık ortaya çıkmamıştır (Sırasıyla ANOVA, Bonferroni, $p = 0.003$, $p = 0.366$) (Şekil.4.4-A). Arka femur uzunluğu ve toplam vücut büyüklüğü skoru bakımından erginlerde kuşaklar arasında bir fark bulunamamıştır.

4.4. Vücut Büyüklüğü, Vücut Ağırlığı Gelişim Süresi ve İmmün Parametreler Arasında İlişkiler

Vücut ağırlığı ve vücut büyüklüğü arasında her üç kuşakta pozitif bir ilişki olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2-4.4, Şekil4.7-A). Vücut ağırlığı ve toplam kutikular melanizasyon arasında genel olarak negatif bir ilişki olduğu görülmüş ve bu ilişkileri I. ve III. kuşaktan anlamlı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1, Şekil4.8-B). Vücut ağırlığı ile litik aktivite arasında ki ilişkiler belli bir düzende olmayıp sadece I. kuşakta pozitif bir ilişki saptanmıştır (Çizelge 4.2-4.4, Şekil 4.9.A). Hemolimfteki protein konsantrasyonu ile vücut ağırlığı kuşaklar arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır (Çizelge 4.2-4.4, Şekil 4.10).



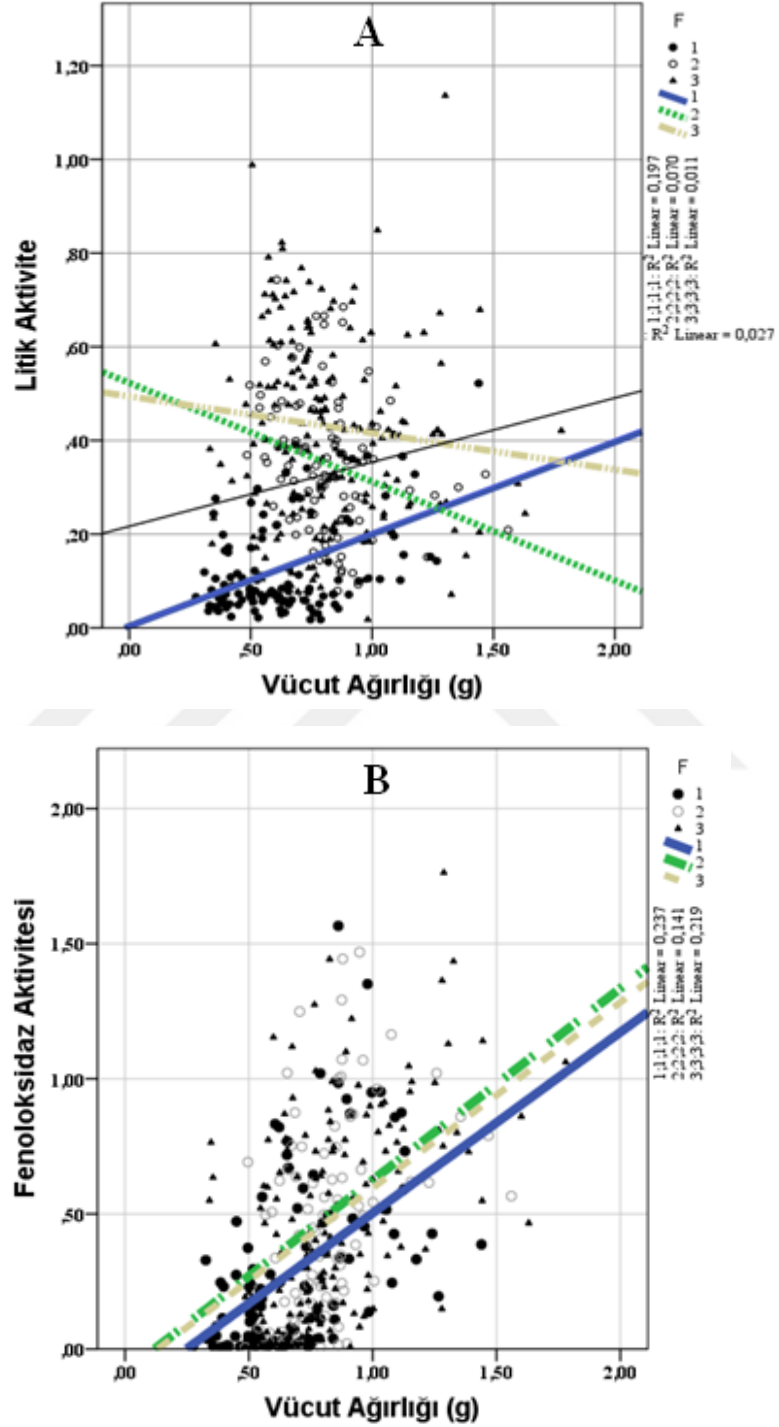
Şekil 4.7. Vücut Ağırlığının, Vücut Büyüklüğü Olan İlişkisi



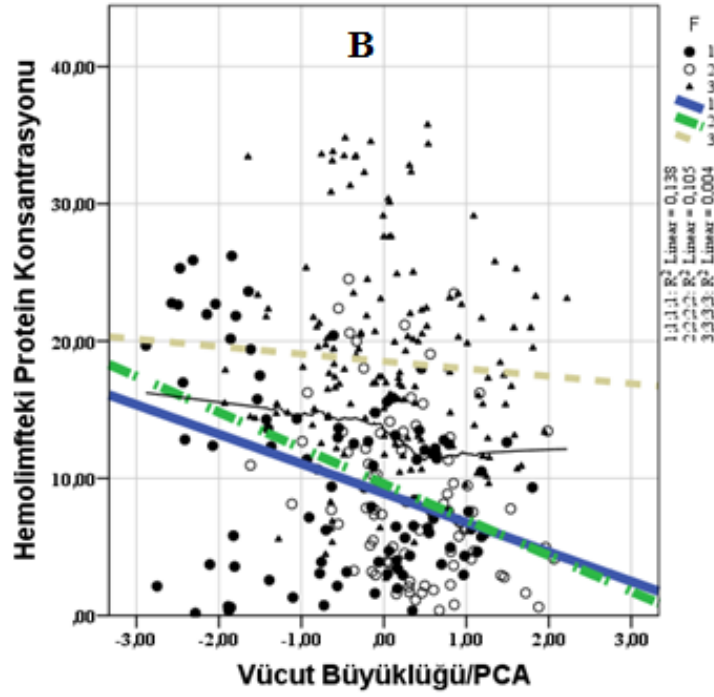
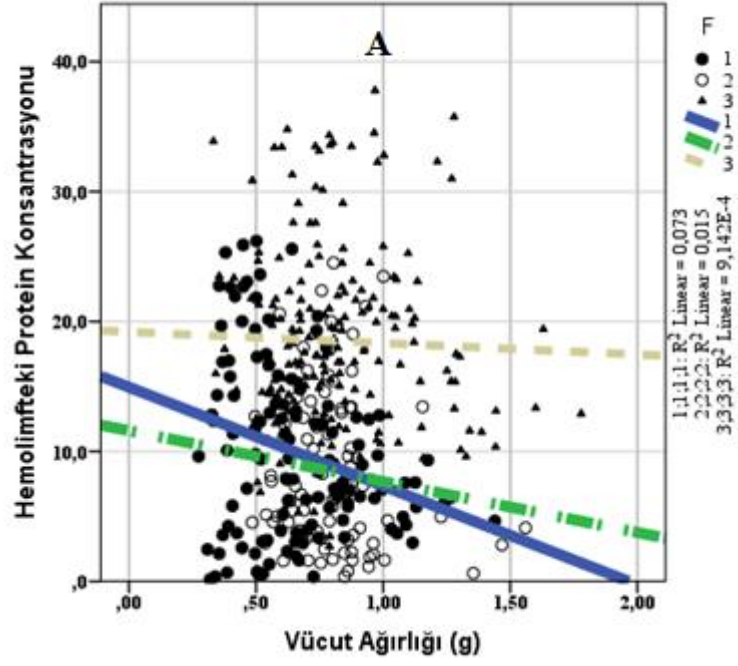
Şekil 4.8. Vücut Ağırlığının, Kutikular Melanizasyonla Olan İlişkisi

İlginç bir şekilde vücut ağırlığı ile fenoloksidaz aktivitesi arasında her üç kuşakta pozitif ilişki olduğu görülmüştür (Şekil.4.9-B). Vücut büyüklüğü ile hemolimf de ki

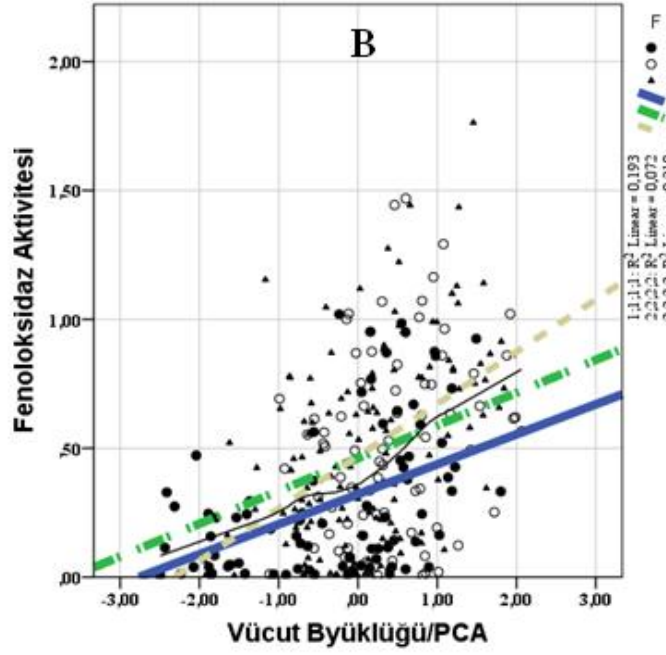
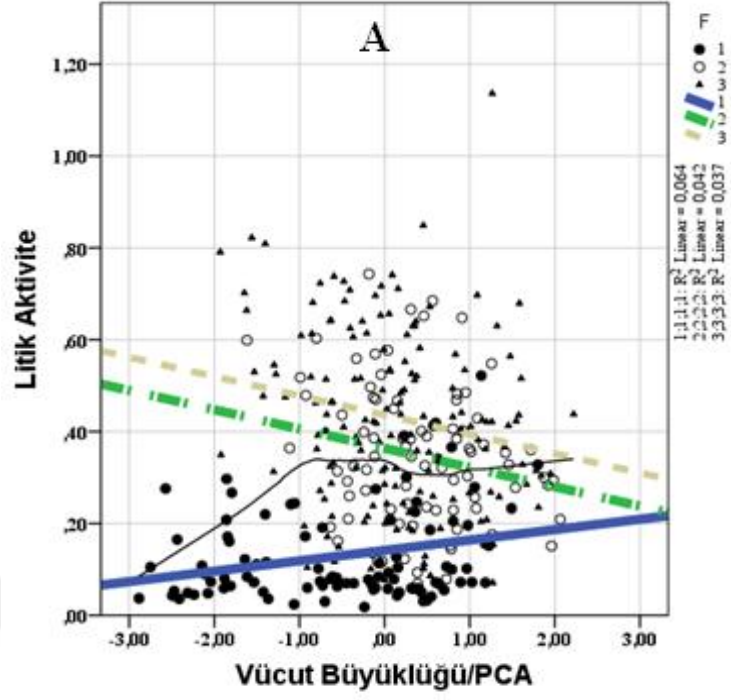
protein konsantrasyonu arasında I. ve II. kuşakta negatif ilişki olduğu saptanmıştır. (Şekil.4.10-B)



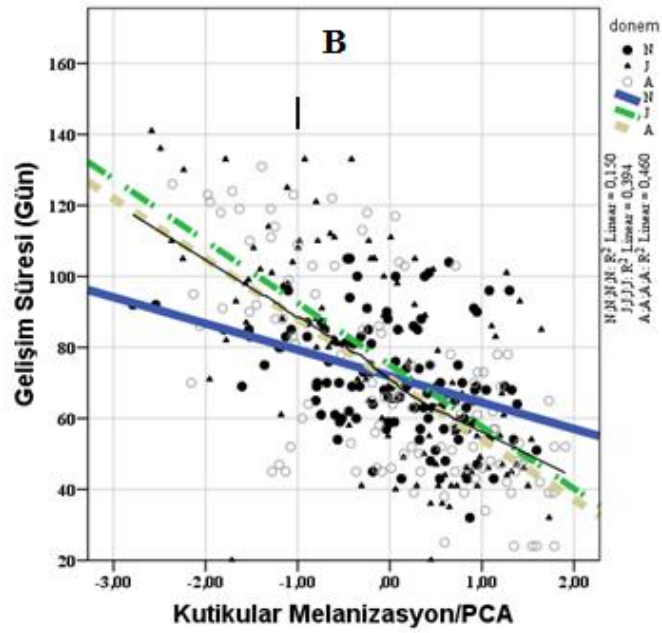
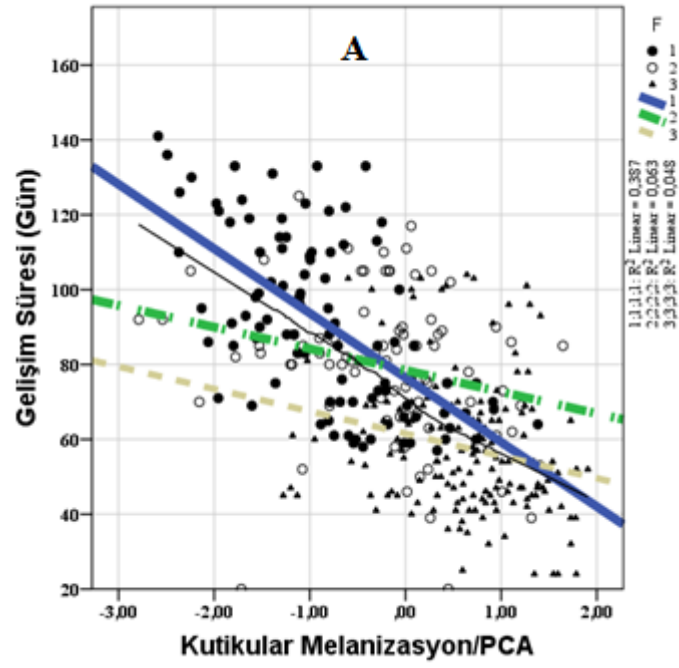
Şekil.4.9. Vücut Ağırlığının, Litik Aktivite (A) ve Fenolksidaz Aktivitesi (B) ile Olan İlişkileri



Şekil.4.10. Vücut Ağırlığının (A), ve Vücut Büyüklüğünün (B) Hemolymph Protein Konsantrasyonu İle Olan İlişkileri



Şekil.4.11. Vücut Büyüklüğünün, Litik Aktivite (A), Fenolksidaz Aktivitesinin (B) ile Olan İlişkileri



Şekil.4.12. Kutikular Melanizasyonun Gelişim Süresi ile Gelişim Dönemlerine Göre Gösterdiği İlişki

Çizelge 4.5. Tüm grupların dahil edildiği dişi ve erkek bireylere göre genel korelasyona ilişkin sonuçlar. Normal dağılım gösteren veriler için Pearson, diğerleri için Spearman korelasyon metodları kullanılmıştır. Önemli çıkan sonuçlar bold olarak verilmiştir)

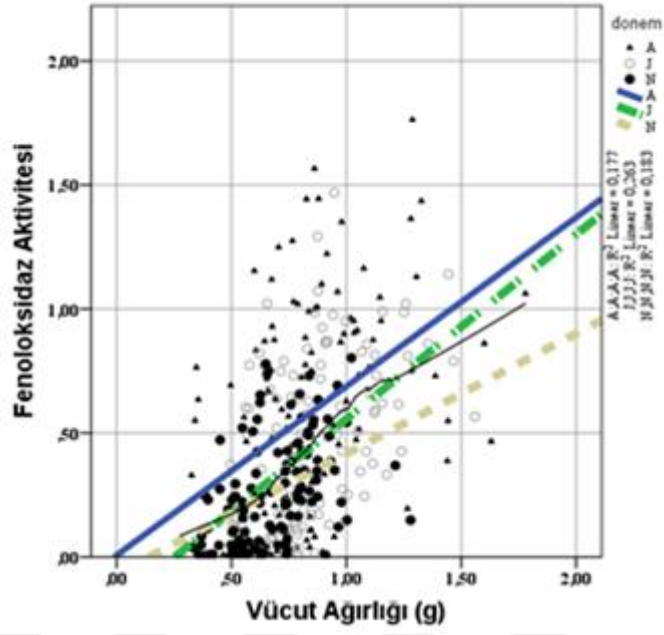
Eşey		GS	VA	HPK	FA	LA	ENK	AFU	VB/PCA	TKM
D	Gelişim Süresi (gün) (GS)	r/rho	1.000							
		p-değeri								
		N	187							
	Vücut Ağırlığı*(VA)	r/rho	0.093	1.000						
		p-değeri	0.205							
		N	187	187						
	Protein Konsantrasyonu (HPK)*	r/rho	-0.364	-0.116	1.000					
		p-değeri	<0.001	0.118						
		N	183	183	183					
	Fenoloksidaz Aktivitesi (FA)	r/rho	0.079	0.542	-0.214	1.000				
		p-değeri	0.306	<0.001	0.006					
		N	0.171	0.171	167	171				
	Litik Aktivite (LA)*	r/rho	-0.263	0.034	0.118	0.028	1.000			
		p-değeri	<0.001	0.645	0.012	0.718				
		N	183	183	179	168	83			
	Enkapülasyon * (ENK)	r/rho	0.001	-0.023	0.214	-0.027	0.189	1.000		
		p-değeri	0.986	0.769	0.006	0.734	0.015			
		N	170	170	166	157	166	170		
	Arka Femur Uzunluğu(AFU)*	r/rho	0.228	0.736	-0.242	0.338	0.017	-0.056	1.000	
		p-değeri	0.003	<0.001	0.002	<0.001	0.827	0.491		
N		168	169	165	156	165	150	169		
Vücut Büyüklüğü/Pca*	r/rho	0.137	0.802	-0.245	0.466	0.014	-0.027	0.949	1.000	
	p-değeri	0.089	<0.001	0.002	<0.001	0.863	0.749	<0.001		
	N	0.156	156	152	145	152	143	156	156	
Toplam Kutikular Melanizasyon*	r/rho	-0.603	-0.148	0.359	-0.084	0.272	0.085	-0.272	-0.226	1.000
	p-değeri	<0.001	0.066	<0.001	0.316	0.001	0.314	0.001	0.005	
	N	156	156	152	145	152	143	156	156	156

*Pearson korelasyonu, diğerleri Spearman

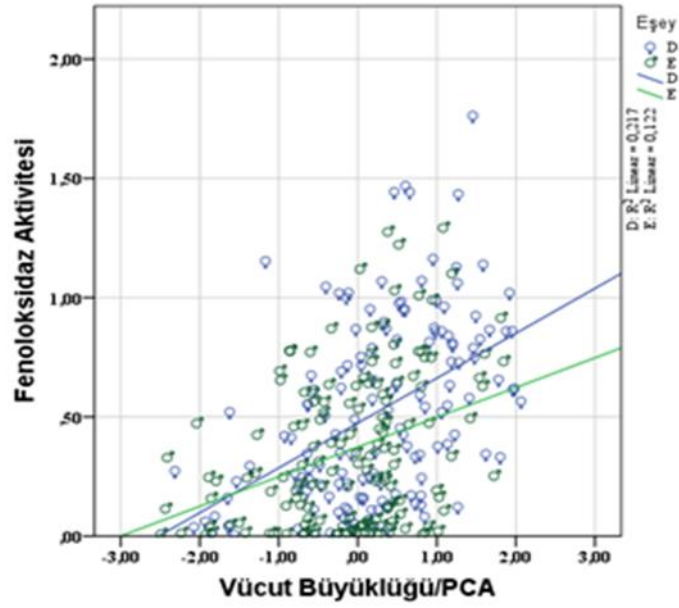
Çizelge 4.5. Tüm grupların dahil edildiği dişi ve erkek bireylere göre genel korelasyona ilişkin sonuçlar. Normal dağılım gösteren veriler için Pearson, diğçerleri için Spearman korelasyon metodları kullanılmıştır. Önemli çıkan sonuçlar bold olarak verilmiştir)(devamı)

Eşey		GS	VA	HPK	FA	LA	ENK	AFU	VB/PCA	TKM
E	Gelişim Süresi (gün) (GS)	r/rho	1.000							
		p-değçeri								
		N	223							
	Vücut Ağırlığı*(VA)	r/rho	0.064	1.000						
		p-değçeri	0.339							
		N	223	223						
	Protein Konsantrasyonu (HPK)*	r/rho	-0.239	0.211	1.000					
		p-değçeri	<0.001	0.002						
		N	217	217	218					
	Fenoloksidaz Aktivitesi (FA)	r/rho	-0.170	0.429	0.104	1.000				
		p-değçeri	0.022	<0.001	0.170					
		N	181	181	177	181				
	Litik Aktivite (LA)*	r/rho	-0.331	0.314	0.354	0.177	1.000			
		p-değçeri	<0.001	<0.001	<0.001	0.018				
		N	217	217	212	177	218			
	Enkapsülasyon * (ENK)	r/rho	0.164	0.104	-0.149	-0.025	-0.037	1.000		
		p-değçeri	0.019	0.141	0.037	0.751	0.608			
		N	203	203	197	169	198	203		
	Arka Femur Uzunluğu(AFU)*	r/rho	0.248	0.697	-0.061	0.228	0.025	0.080	1.000	
		p-değçeri	0.001	<0.001	0.402	0.004	0.738	0.287		
N		193	193	188	157	187	178	193		
Vücut Büyüklüğü/Pca*	r/rho	0.114	0.796	-0.052	0.323	0.132	0.163	0.897	1.000	
	p-değçeri	0.125	<0.001	0.492	<0.001	0.077	0.033	<0.001		
	N	184	184	179	149	180	170	170	184	
Toplam Kutikular Melanizasyon*	r/rho	-0.575	-0.115	0.362	0.154	0.517	-0.157	-0.368	-0.222	1.000
	p-değçeri	<0.001	0.126	<0.001	0.065	<0.001	0.044	<0.001	0.003	
	N	180	180	175	145	176	166	180	180	180

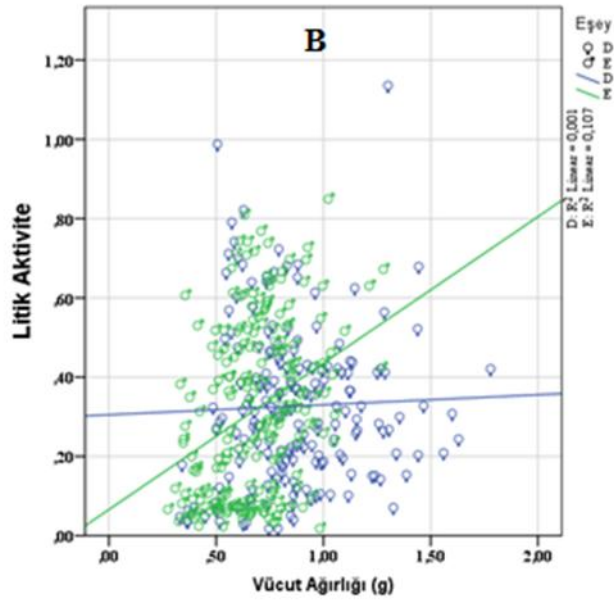
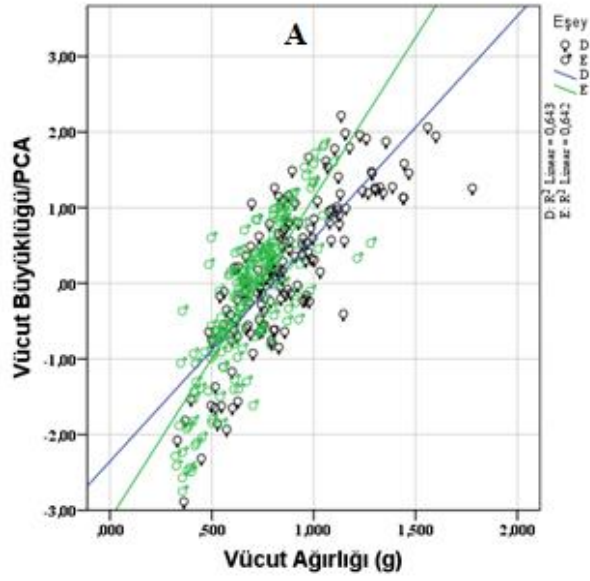
*Pearson korelasyonu, diğçerleri Spearman



Şekil.4.13. Vücut Ağırlığının Gelişim Dönemlerine Göre FA'nin Karşılaştırılması



Şekil.4.14. Vücut Büyüklüğünün Erkek ve Dişiyeye Göre FA Karşılaştırılması

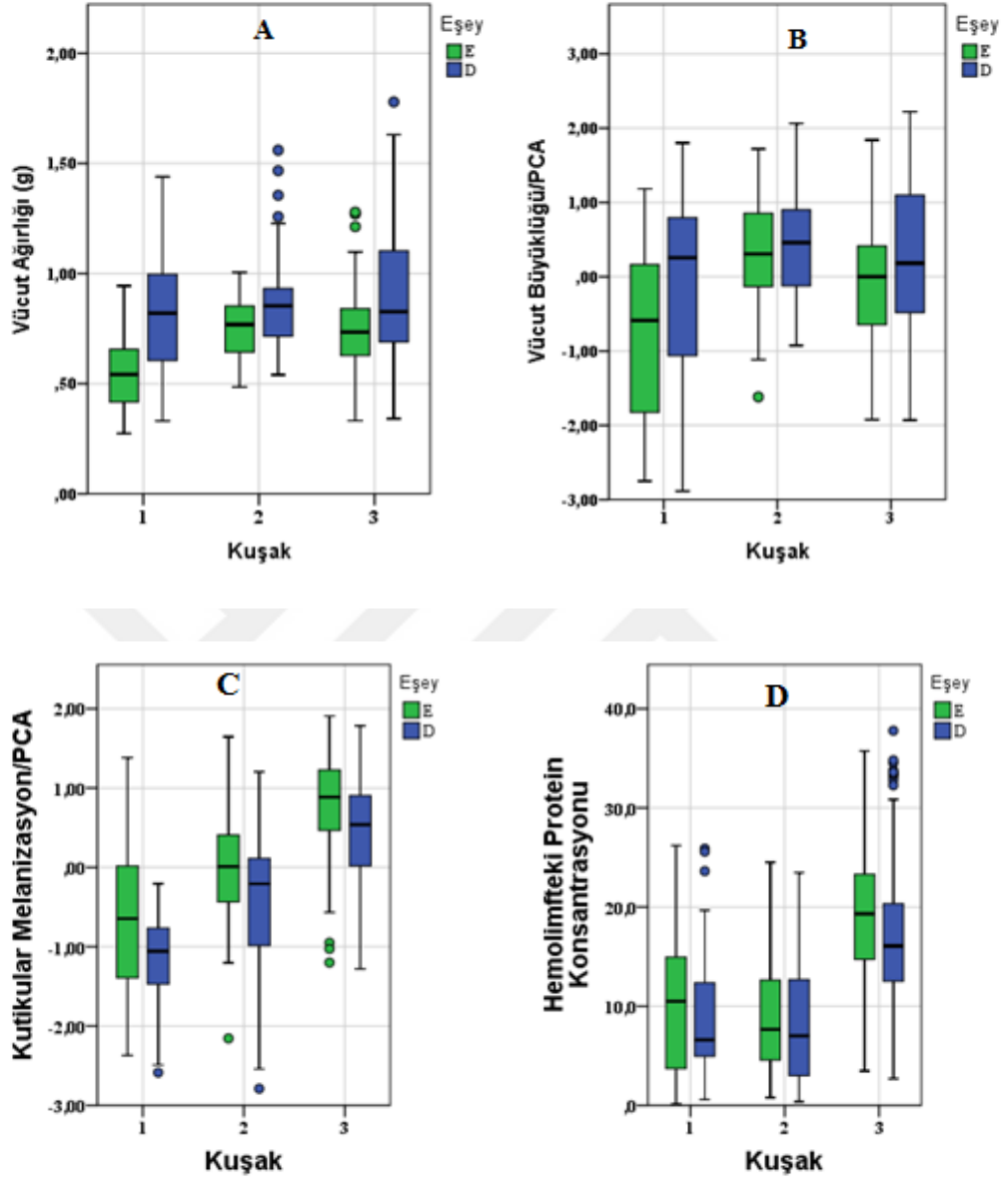


Şekil.4.15. Vücut Ağırlığının, Vücut Büyüklüğü/PCA (A) Ve Litik Aktivite (B) Verileriyle Eşeye Göre Olan İlişkisi

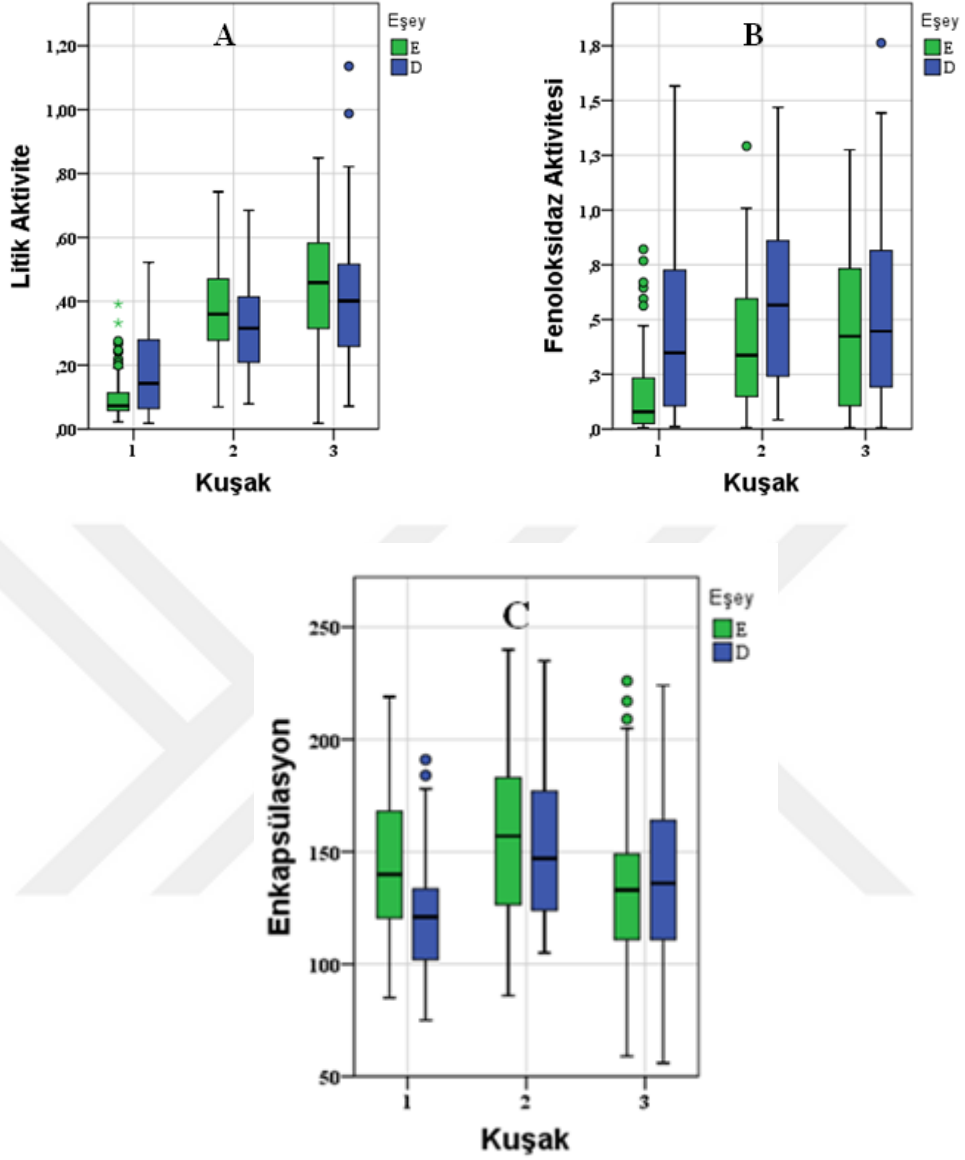
4.5. Hücresel ve Humoral Bağışıklık Parametrelerinin Eşey'e Göre Durumu

Vücut ağırlığı (log) eşeylere göre her üç kuşak için de normal dağılım göstermiştir (Kolmogorov-Smirnov, $p < 0.05$). Vücut büyüklüğü Kruskal-Wallis testine göre dişiler arasında anlamlı bir fark göstermezken, erkek bireyler arasında I. kuşak II. ve III. kuşağa göre daha düşük VB'ne sahiptir (Şekil.4.16-B). Toplam kutikular

melanizasyon dişi (Kruskal Wallis tets, Kikare= 76.594, df= 2, p<0.001) ve erkek (Kikare= 74.043, df= 2, p<0.001) bireylerde kuşaklar arasında giderek artış göstermiştir (şekil.4.16-C). LA normal dağılım göstermemiş ve karekık transformasyonu alınmış olup, dişiler homojen dağılırken erkek bireyler homojen dağılım göstermemiştir. Dişi ve erkek bireyler kuşaklara gıkre karşılaştırıldığında her iki eşey için de I. kuşak II. ve III. kuşağa gıkre farklı bulunmuştur (ANOVA, Tamhane test, p<0.001). HPK'nu I. ve II. kuşak arasında dişi ve erkek bireylerde fark bulunmaz iken III. kuşak dişi ve erkek bireylerinde diğer kuşaklara gıkre daha ylıksek HPK'na sahiptir Kruskal-Wallis test (dişi için; Kikare=55.740, df=2, p<0.001; erkek için, Kikare=74.123, fd=2, p<0.001) (şekil.4.16-D). FA dişiler arasında fark gıkstermezken erkek bireyler arasında I. kuşakta erkek bireyler arasında daha dlıksek bulunmuştur (Kruskal-Wallis test, Kikare=21.810, df=2, p<0.001) (şekil.4.17-B).



Şekil.4.16. Kuşakların Eşeye Göre, Vücut Ağırlığı (A), Vücut Büyüklüğü (B), Kutikular Melanizasyon (C), Hemolimftteki Protein Konsantrasyonu (D) Yeteneği Bakımından Karşılaştırılması

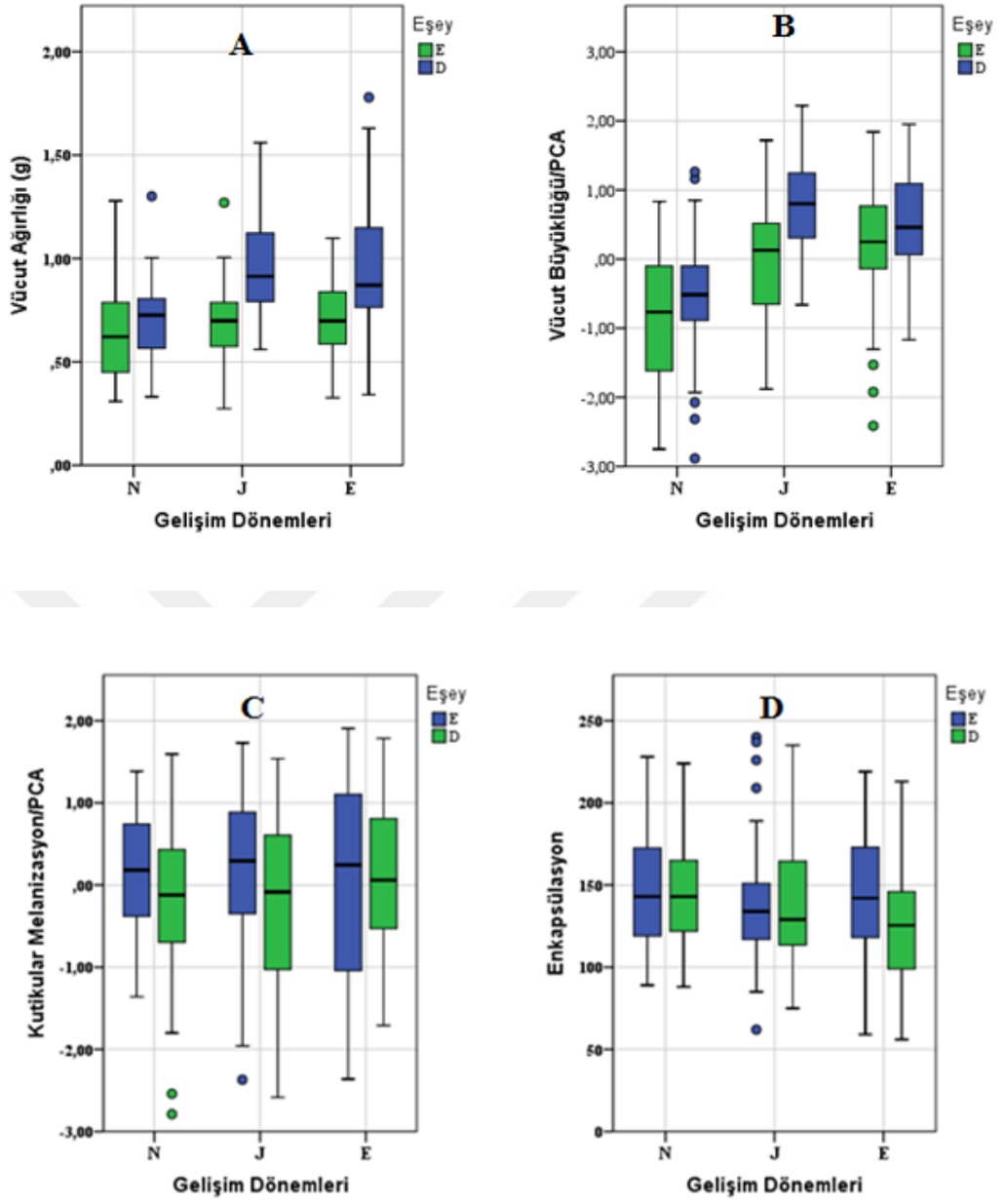


Şekil.4.17. Kuşakların Eşeye Göre, Vücut Ağırlığı, Litik Aktivite (A), Fenoloksidaz Aktivitesi (B), ve Enkapsülasyon (C) Yeteneği Bakımından Karşılaştırılması

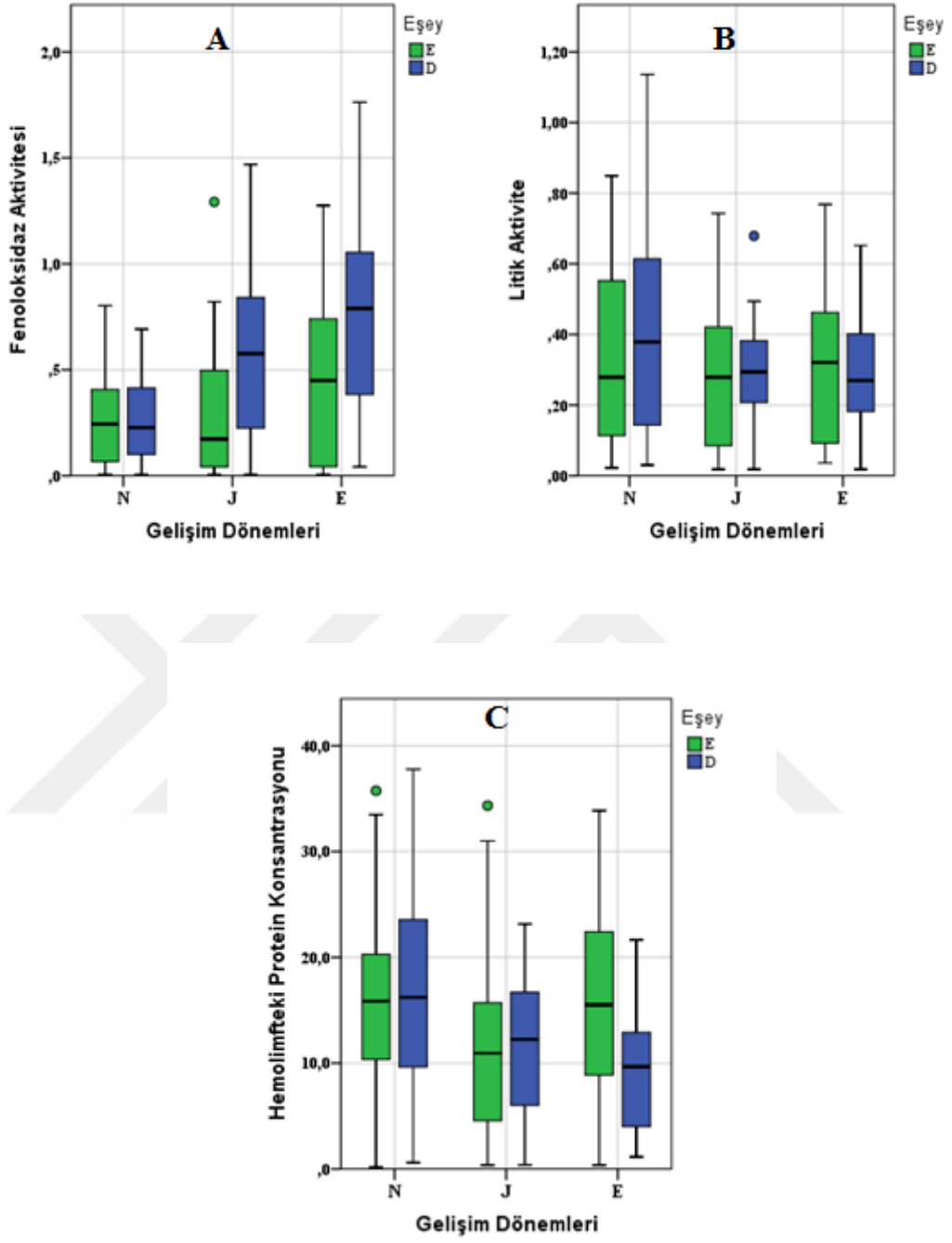
4.6. Gelişim Dönemlerine Göre Erkek ve Dişi Bireylerin Karşılaştırılması

Gelişim dönemlerine göre vücut ağırlığı karşılaştırıldığında dişi nimflerde juvenil ve yaşlı ergin bireylere göre istatistiksel, erkek bireyler arasında hiçbir dönem fark bulunmamıştır (ANOVA, Tamhane, $p < 0.001$) (Şekil.4.18-A) LA dişi ve erkek bireyler için normal dağılım göstermektedir erkek bireyler arasında anlamlı bir fark bulunmazken dişi nimf bireylerde Juvenil ve yaşlı erginlere göre LA daha yüksek bulunmuştur (Kruskal-Wallis testi, $Kikare=4.330$, $df=2$, $p=0.115$) (Şekil.4.19-B).

Genç Juvenil bireyler için vücut ağırlığı, fenoloksidaz aktivitesi, vücut büyüklüğü, arka femur uzunluğu ve toplam kutikular melanizasyon bakımından her iki eşey arasında farklılık saptanmıştır (sırasıyla $F= 57.30$, $p<0.001$; $F= 17.55$, $p<0.001$; $F= 29.24$, $p<0.001$; $F=28.94$, $p<0.001$; $F=4.35$, $p= 0.039$). Ancak gelişim süresi, hemolimfdeki protein konsantrasyonu, litik aktivite, ve enkapsülasyon yeteneği bakımından bir farklılık görülmemiştir (sırasıyla $F= 0.003$, $p= 0.084$; $F= 0.001$, $p= 0.990$; $F= 0.010$, $p= 0.920$; $F= 0.011$, $p= 0.918$). Nimflerde erkek ve dişi arasında sadece toplam kutikular melanizasyon bakımından farklılık saptanmıştır ($F= 5.98$ $p= 0.016$) diğerleri arasında bir farklılık bulunamamıştır (Şekil.4.18-C). Eşeye göre ergin yaşlılarda gelişim dönemleri bakımından herhangi bir fark saptanmamıştır ($F= 2.02$; $F= 0.158$). Erkek ve dişiler arasında vücut ağırlığı hemolimfdeki protein konsantrasyonu, fenoloksidaz aktivitesi ve enkapsülasyon aktivitesi bakımından farklılık saptanmıştır (sırasıyla $f=37.65$, $p<0.001$; $f=25$, $p<0.001$; $f=18.55$, $p<0.001$; $f=5.71$, $p=0.018$). Litik aktivite arka femur uzunluğu, vücut büyüklüğü skoru ve toplam kutikular melanizasyon bakımından erginlerde erkek ve dişi arasında önemli derecede bir fark bulunamamıştır (sırasıyla $f= 0.60$, $p=0.439$; $f=1.83$, $p=0.179$; $f=3.05$, $p=0.083$; $f=0.021$, $p=0.886$) (Diğer ayrıntılar için Çizelge 4.5 bkz).



Şekil 4.18. Gelişim Dönemlerinin Eşeye Göre, Vücut Ağırlığı, (A), Vücut Büyüklüğü, (B), Kutikular Melanizasyon, (C) ve Enkapsülasyon, (D) parametrelerinin karşılaştırılması



Şekil 4.19. Gelişim dönemlerinin eşeye göre, Fenolksidaz Aktivitesi (A), Litik Aktivite (B), ve Hemolimfteki Protein Konsantrasyonu (C) parametrelerinin karşılaştırılması

4. TARTIŞMA

Böcekler dünyadaki mevcut hayvan türlerinin yaklaşık %75'ini oluşturmakta olup, biyoçeşitlilik açısından gösterdikleri uyumsal başarı nedeniyle “bağışıklık” çalışmaları konusunda da ilgi çeken bir gruptur (Sevgili, 2016). Omurgalı türler yabancı hücre ve patojenleri tanımak ve yok etmek için hem doğal hem de adaptif bağışıklık (edinsel bağışıklık) mekanizmalarına sahipken, omurgasızlar enfeksiyonlarla savaşmak için sadece doğal bağışıklığa sahiptir (Hoffmann ve Reichart, 2002; Janeway ve Medzhitov, 2002; Cooper ve Alder, 2006). Böceklerde bağışıklık özelleşmemiş doğal tepkilere dayalı süreçleri kapsar ve aynı zamanda patojen tanıma sisteminin oldukça hızlı işlediği bir sistemdir ve genel olarak humoral ve hücrel tepkiler birlikte de düşünülebilir (Sevgili, 2017). Humoral tepkiler koagülasyon ve hemolimfin melanizasyonu gibi enzimatik yollarla düzenlenen, böcek yağ dokusunda antimikrobiyal peptidlerin üretimiyle sonuçlanırken, hücrel tepkiler hemolimf içerisinde dolaşan hemositlerin aktivitelerini kapsar (Gillespie ve ark., 1997). Bu immün tepkiler patojenlerin fagositozunu, nodülasyonunu ve enkapsülasyonunu içerir (Tunaz, 2004; Tsakas ve Marmaras, 2010). Böceklerde sıklıkla iki anahtar immün parametre üzerinde çalışılmaktadır; fenoloksidaz (FA) yolağı ve litik aktivite (LA). *Manduca sexta* ile yapılan bir çalışmada FA aktivasyonunun işgalci mikroorganizmaları bloke eden ve öldüren çok sayıda enzim içeren (proteinaz, oksidaz gibi) böcek savunma sisteminin tamamlayıcı bir ögesi olduğuna işaret edilmiştir (Zhao ve ark., 2007). Lizozimler bakteri hücre duvarındaki peptidoglikanları çözen bir grup enzim olup pek çok böcek grubunda bakteriyel direnç ile bağlantılıdır (Moret ve Schmid-Hempel, 2001). Lizozim aktivitesi aynı zamanda genel olarak doğal bağışıklık sisteminde vücuda giren daha büyük organizmaların yok edilmesinde rol olan enkapsülasyon yeteneği ile de pozitif ilişki gösterdiği bilinmektedir (Sevgili, 2016). Birçok araştırmada gelişim süresine bağlı olarak vücut büyüklüğü ve yaş arasındaki potansiyel etkileşimdeki varyasyon erginlerdeki uyumsal süreci anlamada küçük bir katkı yapar (De Block ve Stoks, 2005). Hem morfolojideki değişim (büyüme oranı gibi) hem de bağışıklık gibi fizyolojik süreçlerin birlikte değerlendirilmesi ergin uyumundaki değişkenliği anlamak için önemli yollardan birisidir (Rolff ve Siva-Jothy, 2003; Rolff ve ark., 2004).

Bu araştırmada Akdeniz kara çekirgesi *Gryllus bimaculatus*'un Ordu ilinden toplanmış ve laboratuarda yetiştirilmiş populasyonundan üç farklı kuşakta ve ontogenetik (nimf –N, üç günlük ergin-GE ve yaşlı ergin-YE) humoral ve hücrenel bazı immün aktivitelerin değişimi incelenmiştir. Araştırma sonucunda ilk dikkat çeken durum kuşaklar arasındaki gelişim süresinin (yumurtadan-erginliğe geçen zamana kadar geçen gün sayısı) çok farklı oluşudur. Oysa deney şartları (beslenme-*ad libitum*, sıcaklık, fotoperiyot, kutulardaki birey yoğunluğu vs.) her üç kuşak için de aynı olmuştur. Genel olarak *G. bimaculatus*'larda ortalama olarak erginleşme süresi literatüre göre 50-60 gün arasında değişmektedir (Hammerschmidt ve ark., 2012). Sıcaklık artışı bu gelişim süresini azaltabileceği bildirilmiştir (Behrens ve ark., 1983).

5.1. Vücut Ağırlığı, Vücut Büyüklüğü, Kutikular Melenizasyon Sonuçları ve İmmün Parametreler

Vücut büyüklüğü yaşam geçmişi özelliklerinden en çok etkilenen parametrelerden birisi olsa da Çekirgelerde (Orthoptera) genetik olarak kalıtılabilir olduğu birçok araştırmada ortaya konmuştur (Simons ve Roff, 1994; Mousseau, 1997; Ryder ve Siva-Jothy, 2001). Vücut büyüklüğünün eş tercihinde avantajlı olduğu sıklıkla tespit edilmiş ve özellikle *G. bimaculatus*'da erkek vücut boyutunun rekabet yeteneği ve çiftleşme başarısı için önemli etkileri olduğu bildirilmiştir (Simmons, 1986; Bateman ve ark., 2001). Fakat vücut büyüklüğü immüne yeterlilik için tek başına ölçüt olarak kullanılamayacağını Rantala ve Roff, (2005), tarafından *G. bimaculatus* ile yapılan çalışmada daha büyük erkekler için daha yüksek antibakteriyal aktivite (litik aktivite) tespit edilmişken küçük vücut ölçüsüne sahip erkeklerden daha düşük ENK yeteneğine sahip olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada tam aksine erkek bireylerde vücut büyüklüğü ile ENK arasında pozitif ilişki saptanmışken LA ve VB arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Yine *G. bimaculatus* ile aynı familyada yer alan (Gryllidae) Ev çekirgesi *Acheta domesticus* kapsülleme yeteneği, hemosit miktarı ve vücut büyüklüğü (VB) arasında pozitif genetik korelasyon görölmektedir ve bu dişi bireylerin eş seçiminde yüksek ENK yeteneğine sahip bireyleri tercih ettiğini göstermektedir (Ryder ve Siva-jothy, 2001). Bu çalışmada virjin bireyler ile çalışma planlandığı için immün parametrelere göre çiftleşme ve eş seçimleri çalışmamış, fakat VB parametresi, vücut ağırlığı (VA), ENK ve FA ile pozitif ilişki

göstermiştir. Bu durum vücut büyüklüğü ile ilişkili immün aktivitelerin de yaşam geçmişi özelliklerine etki eden genetik faktörlerden etkilenebildiği şeklinde yorumlanabilir. *G. bimaculatus*'da vücut boyutunun erkek rekabetinde ve dişi bireylerin eş seçiminde önemli olduğu görülmüştür (Simmons, 1986a; Simmons, 1986b). Daha büyük vücuda sahip bireylerin fizyolojik açıdan daha avantajlı olmalarının yanında, rekabette de daha avantajlı oldukları ve teritorial davranışlarda belirgin bir avantaj sağladıkları açıktır (Whitman, 2008).

Böceklerde kutikular melanizasyonun bir dizi yaşam öyküsüyle bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Prokkola ve ark., 2013). Kutikular melanizm ve doğuştan gelen immün parametreler böceklerdeki yaygın fizyolojik yolları paylaşabilir. Bu fonksiyonel bağlantı böcek renk polimorfizmlerinin korunmasına katkıda bulunabileceği düşüncesiyle Prokkola ve ark., (2013) tarafından Un kurdu (*T. molitor*) ile yapılan çalışmada özellikle doğal popülasyonlarda renklenme ve bağışıklık parametreleri arasında ilişki olduğunu gösteren kanıtlar bulunmuştur. Diğer böcekler üzerinde yapılan çalışmalarda olduğu gibi, Mormon çekirgesi'nde (*A. simplex*) kutikular melanizasyonun bağışıklık parametrelerinden ENK ve FA ile pozitif ilişkili olduğu görülmüştür (Bailey, 2011). Melanin sentezinde FA enziminin anahtar rolü olduğu bilinmektedir (Cerenius ve Söderhall, 2004). Melanin hem omurgalı hemde omurgasız gruplarda parazitlere karşı dirençte önemli bir pigmentir (Söderhall ve Ajaxon, 1982; Nappi ve Vass, 1993). FA enziminin hemosit ve kutikül içerisinde bulunduğu, sklerotizasyonda ve melanizmde önemli katkısı olduğu bilinmektedir bu nedenle fenoloksidazın kalıtımı bağışıklık için önem arz etmektedir (Andersen, 1985). Mormon çekirgesi'nde (*A. simplex*) yapılan çalışmada yeşil- az melanik ve kahverengi-daha melanik nimfler karşılaştırıldığına kahverengi nimflerin daha yüksek ENK yeteneğine sahip olduğu yetişkin bireylerde ise bu durumun beklenenin aksine olduğu görülmüştür. Yine aynı çalışmada LA ve kutikular melanizasyon arasında ilişki bulunamaması diğer çalışmalar ile tutarlıdır (Bailey, 2011). Örneğin yusufçuk *Coenagrion puellada* (Joop ve ark., 2006) ve güve *Mamestra brassicae* (Goulson ve Cory, 1995) üzerinde yapılan araştırmalarda da benzer sonuçlar bulunmuştur. Bu çalışmada her bir kuşak boyunca kutikular melanizasyon artış gösteren en melanik bireyler III. kuşağa aittir. Yine gelişim dönemleri arasında I. kuşak hariç N- GE ve YE döneme doğru kutikular

melanizasyon artış göstermiş birinci kuşakta ise N grubunda daha yüksek bulunmuştur. Toplam kutikular melanizasyon (TKM) VA ve gelişim süresi (GS) parametreleri ile güçlü ancak negatif bir ilişki göstermiştir. Bu sonuçlar gösteriyor ki türün doğal populasyonlarında renk ve bağışıklık fonksiyonu arasındaki ilişkiyi daha iyi anlamak için, bağışıklık savunmasının gelişimini etkileyebilecek diğer ilişkili faktörleri dikkate almak gerekir. Kutikular melanizasyon ve farklı bağışıklık parametreleri arasındaki ilişkilerdeki tutarsızlık böcek türlerine özgü yaşam öyküsü, gelişimsel, fizyolojik ve çevresel durumun tüm faktörleri etkilediğini düşündürmektedir (Bailey, 2011).

5.2 Hücresel ve Humoral Bağışıklık Parametrelerinin Kuşaklara Göre Değerlendirilmesi

Doğuştan gelen bağışıklık parametreleri ergin ve nimfal gelişim dönemlerinde değişebilir (Pinera ve ark., 2013). Bugüne kadar böcekler üzerine yapılan çalışmalarda nimf ve ergin dönem arasındaki bağışıklık sisteminin karşılaştırıldığı çalışma sayısı oldukça azdır (örn. *Gryllus integer*: Adamo ve ark., 2001; *Apis mellifera*: Gättschenberger ve ark., 2012; *Locusta migratoria*: Mullen ve Goldsworthy, 2003; *Dendroctonus valens*: Shi ve Sun, 2010; *Anabrus simpleksi*, Syrgley, 2012). Pinera ve ark., (2013)'nin *A. domesticus* üzerinde yaptıkları çalışmada her deri değişiminden sonra enzimatik bağışıklığın geri düştüğü görülmüştür. Bu çalışmada deri değişiminden sonraki 5. günden itibaren anlık ve toplam FA yaşla birlikte artış başlamıştır ve bu durum deri değişimi sırasında Juvenil Hormon tarafından FA'nin inhibasyonuna bağlı enzimatik bağışıklık ve deri değiştirmenin çatışma içerisinde olduğu şeklinde yorumlanmaktadır. *A. domesticus*'da son devre nimfal dönemden ergin döneme geçişte hemolimfdeki FA miktarında güçlü bir artış görülürken hemosit miktarı ve LA miktarlarında anlamlı bir değişim görülmemiştir. Yine ENK oranı en yüksek nimfal grupta gözlenmiştir. Bu çalışmada FA her üç kuşak içinde gelişim dönemleriyle paralel şekilde yaş ile birlikte artış göstermiş ve en yüksek FA değeri YE (25 yaş) grupta ölçülmüştür yine bu çalışma ile uyumlu bir şekilde ENK en yüksek nimfal grupta bulunmuştur. Bu çalışmayla uyumlu bir şekilde larva veya nimf dönemlerine göre erginlerde FA'nin anlamlı bir şekilde artış gösterdiği Balarısı *A. mellifera* (Wilson-Rich ve ark., 2008), Mormon çekirgesi *A. simplex* (Srygley, 2012) ve Ev cırcırı *A. domesticus* (Pinera ve

ark., 2013) tarafından da gösterilmiştir. Ancak bu bulguların tam tersi (ergin dönemde hemolimfteki FA'nin azalması) *Dendroctonus valens* (Coleoptera) (Shi ve Sun, 2010) ve erkek *G. texensis*'te (Orthoptera) (Adamo ve ark., 2001) rapor edilmiştir. FA enzimi böceklerde doğuştan gelen bağışıklık sisteminin temel bileşeni olduğu bilinmektedir (Pintera ve ark., 2013). Yetişkinlerde anlık ve toplam FA nimflerin çok üzerinde bir konsantrasyona sahip olması muhtemelen deri değiştirmenin durmasıyla ilgilidir (Srygley, 2012). FA'ndeki bu değişimin nedenlerinden biriside hormonal çevrenin nimfal dönemden ergin döneme geçişte değişikliğe uğramasından kaynaklandığı şeklinde açıklanmıştır. Çünkü böceklerde nimfal dönem boyunca Corpora allata'dan salgılanan juvenil hormon (JH) bir diğer nimfi oluşturacak deri değişimi için korunmaktadır. Nimfin vücut ağırlığı kritik değere ulaştığında JH hızla azalır ve deri değişimi için ektizon hormonu seviyesi artar (Gilbert ve ark., 2002). Bu sonuç enzimatik bağışıklık ile deri değiştirme arasındaki karşılık nedeniyle JH tarafından deri değiştirme sırasında FA'nin inhibe edilmesi şeklinde de yorumlanmıştır (Rolf ve Siva-Jothy, 2002). JH titresi nimfal dönemler arasında yüksek deri değişimi sonrasında erginliğe doğru düşüktür ve FA'nin hem kutikular tabakalanma hem de enfeksiyonlara karşı olan bağışıklıktaki görevi nedeniyle gelişim sürecindeki rolüyle bağışıklık fonksiyonu arasında bir tezatlık oluşmaktadır (Srygley, 2012). JH enjekte edilen ergin un kurdunda (*T. molitor*) hemolimfteki FA ve enkapsülasyon yeteneği azalırken, LA etkilenmemiştir (Rantala ve ark., 2003b). Lipopolisakkarit (LPS) enjekte edilmiş *Gryllus assimilis*'te erginleşmeden sonraki 3. haftadan itibaren nodulasyon reaksiyonunda azalma başladığı ve hemolimfte sirküle olan hemosit sayısında ise yaşa bağlı olarak sürekli bir düşüş olduğu bildirilmiştir (Park ve ark., 2011).

Üremeye ilgili sinyallerin erkek bireyin sağlığını ortaya koyan bir belirteçler olduğunu ve bu sekonder eşeyssel karakterlerin dişiyi çiftleşmeye ikna edecek şekilde evrimleştiği birçok çalışma ile kesinleşmiştir (Rantala ve Kortet, 2002). *G. bimaculatus*'un erkek bireyleri de dişişine kur şarkısı ve davranışı yapar (Von Hörmann-Heck, 1957; Rantala ve Kortet, 2002). Dişi bireylerin desibeli yüksek impuls oranına sahip ve uzun süreli sinyal üreten erkekleri tercih ettiği görülmüştür (Rantala ve Kortet, 2002). Bu seçim dişi bireyin aynı zamanda yüksek ENK'ye sahip bireyi tercih ettiğini de göstermektedir. Bu çalışmada sadece virjin bireyler

üzerinde çalışma yapıldığı için çiftleşme ve eş seçimlerine dair veri toplanmamıştır. Un kurdu *Tenebrio molitor*'de dişiler yüksek ENK yeteneğine sahip bireyleri feromonlar aracılığı ile bulduğu (Rantala ve ark., 2003) ve ilginç bir şekilde *Acheta domesticus*'da erkek kur şarkıları ile kapsülleme yeteneği arasında bir ilişki bulunmadığı her ötüşün hemosit miktarı ile arasında pozitif ilişki olduğu görülmüştür (Ryder ve Siva-Jothy, 2001). Bir çok çalışma böceklerdeki kapsülleme yeteneğinin ve hemosit miktarının kalıtılabilir olduğunu bildirilmiştir (Carton ve Bouletreau, 1985; Carton ve ark., 1992; Kraaijeveld ve ark., 2001; Ryder ve Siva-Jothy, 2001). Bu çalışmada hemosit miktarı ölçülmemiş bunun yerine HPK'na bakılmış ve erkek bireylerde ENK ile arasında pozitif ilişki bulunmuştur. Yine Kurtz ve Sauer, (1999) LA ve fagositoz yeteneğinde kalıtsal varyasyonlar saptamıştır. Bu nedenle dişiler yavrularında parazit direncini artırmak için bu kur şarkılarına göre eş tercihi yaptığı bildirilmiştir. Böceklerde bağışıklık fonksiyonunun kısmen koşula bağlı olduğuna dair kanıtlar vardır. Örneğin *D. melanogaster*'de bireylerin melanin üretimi ile bağışıklık yanıtının oluşturabilmesi için genetik kalıtımın yanında besin bulunabilirliği de etkili olmuştur. Fakat *G. bimaculatus*'un kur şarkılarının koşula bağlı olup olmadığı bilinmemektedir (Sang ve Burnet, 1963). Yine dişi bireylerin tercih ettiği kur şarkılarının LA ile negatif ilişki göstermesinin nedeni bilinmese de neslin devamı için hücrel bağışıklık yerine humoral bağışıklığa daha çok yatırım yapıldığını düşündürmektedir.

Gelism süresi ve vücut büyüklüğü arasında anlamlı pozitif fenotipik korelasyon bulunmuştur. Hızlı gelişen bireyler daha küçük boyutta erginleşmişlerdir. Bu sonuç Rantala ve Roff, (2005) bulguları ile tutarlıdır. Yine hızlı gelişen bu bireylerde hemosit miktarı ve ProFA artış gösterir iken gelişim süresi ile hemosit sayısı arasında negatif ilişki saptanmıştır (Hammerschmidt ve ark., 2012). Bu tez çalışmasında ise gelişim süresi, HPK ile tüm kuşaklar için güçlü negatif ilişki göstermişken VB ile güçlü pozitif ilişki bulunmuştur. Kantitatif genetik analiz, LA dışında (Rantala ve Roff, 2006 tarafından *Gryllus firmus* için rapor edilmiştir), tüm yaşam geçmişi ve bağışıklık özellikleri için anlamlı ek genetik varyans göstermiştir. Yine Cotter ve ark., (2004) tarafından *Spodoptera littoralis*'de yaptıkları çalışmada hemolimfteki hemosit miktarı ve FA arasında pozitif ilişki saptanmıştır. Yapılan bu çalışmalar yine gösteriyor ki böceklerde hemosit miktarı artıkça entomopatojene karşı yüksek direnç

sergilenmektedir (Strand, 2008). *G. bimaculatus* ile yapılan bu çalışmada üç kuşak için de FA ve HPK arasında negatif ilişki bulunmuştur. Yıl boyunca çok sayıda nesil veren (multivoltin) bu çekirgede fotoperiyota bağlı olarak üreme dönemi ve gelişiminde de değişiklik olabilmekte ve bu nedenle yaşam geçmişi özelliklerinin ve bağışıklık parametrelerinin esnek olması ve ortam şartlarından etkilenmesi kaçınılmazdır (Hammerschmidt ve ark., 2012).

Hayvanlarda hastalık direncini tahmin etmek zor bir iştir (Norris ve Evans, 2000; Zuk ve Stoehr, 2002). Farklı immün parametreler ile farklı patojenlere direnç arasındaki ilişkiyi doğrulamak için konakçı direnç testlerinin kullanılması özellikle böceklerle çalışırken önemlidir. Büyük türlerde bağışıklık organizasyonu farklı olabilir (Hoffmann ve ark., 1996). Bir immün tehdidine karşılık olarak lizozim benzeri aktivitedeki artış ne kadar büyük olursa, bir erkek Gram pozitif veya Gram negatif bakteriyle enfeksiyondan hayatta kalma başarısı da paralel olarak artacaktır. Tek bir bağışıklık parametresinin, tüm hastalıklara karşı direnci tahmin etmesi olası değildir (Boa-Amponsen ve ark., 1999). Farklı tipteki patojenler, farklı immün savunma formları tarafından yok edilir (Dimopoulos ve ark., 1997) ve bu farklı formlar, birbirleriyle pozitif olarak ilişkili olmayabilir (Moret ve Schmid-Hempel, 2001). Dahası, direnç sadece bağışıklık tepkisinin bir işlevi değildir, aynı zamanda bağışıklık sisteminin işgalcileri tanıması yeteneğine de bağlıdır (Rigby ve ark., 2002). Bu yetenek yüksek oranda antijene spesifik olabilir (Roitt ve ark., 1996). Yapılan bu çalışmada LA II. ve III. kuşak için nimflerde en yüksek seviyede ölçülür iken I. kuşak için genç ergin (3 günlük) grupta yüksek bulunmuştur. Yine bu sonuçlarla aynı şekilde LA, VB/PCA ve VA ile I. kuşak hariç negatif ilişki göstermiştir. Yapılan çalışmada I. kuşak laboratuvar ortamında yetişen VI. nesilden elde edilmiş ve daha çok kendileşmiş bir grup iken istenmeyen durumlar neticesinde deneyin çökmesi ile yeni oluşturulan kültürün (II. ve III. kuşak) laboratuvara uyum sürecinden kaynaklı bir farklılık olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenlerden ötürü, birkaç patojene karşı immün duyarlılığının ölçülmesi, hayvanın doğal çevresindeki önemli patojenleri tanıma yeteneğinin tahmin edilmesi güçtür (Vernick, 1997). Bir türün ana patojenlerini belirlemek, özellikle yıldan yıla farklılık gösterebileceği için detaylı olarak araştırılması gereklidir (Smith, 1965).

Böceklerdeki hücrel ve humoral bağışıklık sistemi üzerine genellikle laboratuvar koşullarındaki durumu incelenmiş olup doğal yaşam ortamlarındaki bağışıklık fonksiyonlarının rolü ve populasyonlar arasındaki durumu çok az bilinmektedir. Bu çalışmada *G. bimaculatus*'a ait üç farklı kuşakta da immün parametrelerin vücut büyüklüğü ve birbirleriyle olan ilişkileri nimf ve ergin dönemlerde oldukça varyasyonel olduğu görülsede kuşaklara arasında FA ile pozitif ilişkili iken HPK ve LA ile negatif ilişki bulunmuştur. Kuşaklar arasında III. kuşakta en yüksek HPK ölçülsede gelişim dönemleri karşılaştırıldığında nimfal grup en yüksek HPK'na sahiptir. Gelişim süresi ile negatif korelasyon gösteren yaşam geçmişi özellikleri çok sayıda türden bildirilmiştir (Roff, 2000). Kaldı ki, kendileşen populasyonlarda parazit ve patojenlere direnci etkileyen immün tepkilere ilişkin erkek ve dişilerdeki genetik varyasyonun yönü birbirlerinden farklı olabilmektedir (Rantala ve Roff, 2007).

5.3 Hücrel ve Humoral Bağışıklık Parametrelerinin Eşey'e Göre Durumu

Erkeklerin bağışıklık sistemi ile üreme faaliyeti arasında enerji değiş tokuşu (trade-off) yapıp yapmadığını belirlemek omurgalıların bağışıklık sisteminin karmaşıklığından dolayı güçtür. Bu sebepten basit bir bağışıklık sistemine sahip olan *Gryllus texensis*'de bu durum incelenmiştir. İmmün yeterlilik için FA, hemosit miktarı ve *Serratia marcescens* bakterisine karşı duyarlılığı ölçülerek hesaplanmıştır. Juvenil dönemde FA aktivitesi dişi ve erkek bireylerde fark göstermezken ergin dönemde erkek bireyler FA ve *S. marcescens*'e karşı direnç dişi ve juvenil erkeklere oranla azalmıştır (Adamo ve ark., 2000). Yine Srygley ve ark., (2009) tarafından yapılan çalışmada dişilerin erkeklere göre daha yüksek FA'ne sahip oldukları saptanmıştır. Bu çalışmada daha yüksek protein oranlı diyeteye tabi tutulan çekirgelerde de daha yüksek FA saptanmıştır. Yine aynı çalışmada ENK yeteneği ile LA'nin vücut ağırlığı ile pozitif korelasyon gösterdiği de bildirilmiştir. Bu çalışmada FA nimf dönemde erkek bireylerde az da olsa yüksek bulunsa da ergin dönemde dişilerde üç kuşak için de yüksek değer göstermiştir. Yine çalışmada VA, LA ile güçlü pozitif ilişki gösterir iken ENK ile anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Hastalıklara karşı savunmada rol alan melanizasyon yolağı (FA) ve renklenme gibi eşeye ait görsel faktörlerden sorumlu bileşenler aynı zamanda dişilerde yumurtaların koruyularının koyulaşmasından da sorumludur (Li ve Christensen, 1993).

Dolayısıyla erginlerde immün yeterlilik ile eşeye ait karakterlerin ortaya çıkışı ve yumurtanın yaşayabilirliği arasında dengeleme/ilişki beklenir (Zuk ve Stoehr, 2002). Ergin dişilerde daha yüksek FA'nin olması yumurta üretimi sürecinde melanizasyon ihtiyacı için FA yolağının daha fazla çalışması gerektiği üzerinden açıklanabilir (Ferdig ve ark., 1993; Lu ve ark., 2014). *Scathophaga stercoraria* (Sarı gübre sineği) yüksek FA'ne sahip olan dişilerin daha büyük yumurtlama yerine sahip oldukları ve daha fazla yumurta bıraktıkları saptanmıştır (Schwarzenbach ve Ward, 2006). Dolayısıyla ergin ve eşeyssel olarak aktif dönemde dişilerde daha yüksek FA'nin olması üreme başarısı ile açıklanabilir. Erkek daha çok günlük çiftleşme oranını arttırmaya yönelik bir strateji içerisinde olduğu için uyumsuz olarak uzun yaşamaktan ziyade çiftleşme başarısı için daha çok enerji harcar

Akrep sineklerinde (Mecoptera, *Panorpa vulgaris*) immün yeterliliğin iki ölçüsü, lizozim benzeri antibakteriyel aktivite ve in vitro fagositoz kapasitesi, ergin dişilerde ergin erkeklere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Kurtz ve ark., 2000). Örneğin, *G. bimaculatus* ile aynı familyadan olan *Acheta domesticus*'ta son devre dişi nimfleri, aynı yaştaki erkeklere göre, *Serratia liquefaciens* bakterisi ile enfeksiyona karşı daha dirençli olduğu saptanmıştır (Gray, 1998). Bu sonuçlar, bazı taksonlarda bu değiş tokuşa testosteronun aracılık ettiğini öne sürse de, bağışıklık ve üreme arasındaki değişimlerin birçok taksonda var olabileceğini ileri sürmektedir (Wedekind ve Jakobsen, 1998; Kurtz ve ark., 2000). Bu hipotezi doğrudan test etmek için, bağışıklığa yatırılan enerji miktarını manipüle etmek ve bunun üreme üzerindeki etkisini değerlendirmek (ve tersi) gibi daha ileri deneylere ihtiyaç vardır. Bu çalışmada ise LA gelişim dönemlerinde her kuşak için farklı bir seyir izlese de erkek bireylerde dişilere göre daha yüksek olduğu bulunmuş ve GS ile LA dişi ve erkek bireylerde negatif ilişki gösterir iken HPK ile pozitif ilişki göstermiştir. Bir başka araştırmada *G. bimaculatus* için LA cinsiyetler arasında farklılık göstermemiştir (Rantala ve Roff, 2005). Rantala ve Roff, (2005), *G. firmus*'da yaptıkları çalışmada dişi bireylerde erkeklere göre daha yüksek ENK oranına sahip olduğunu ancak LA de cinsiyetler arası fark olmadığını bildirmişler ve bu çalışmada immün parametrelerden ENK ve LA arasında fenotipik veya genetik ilişki bulunamamıştır. Bu bağışıklık sisteminin farklı kolları arasındaki uzlaşmayı öneren önceki çalışmalar ile tutarsızdır (Moret ve Schmid - Hempel, 2001; Rantala ve Kortet, 2003; Siva - Jothy,

2003; Cotter ve ark., 2004a; Rantala ve Roff, 2005). Fakat bu tezdeki bulgular ENK ve LA arasında uzlaşma olmadığını gösteren çalışmalar ile tutarlıdır (Fedorka ve ark., 2004; Rantala ve Kortet, 2004). Fenotipik ve genetik ilişkilerdeki bu varyasyonlar bağışıklık sisteminin bileşenleri arasındaki kovaryansın oluşumunu anlamak için sistemi etkileyen fizyolojik mekanizmalar araştırılmalıdır. Yine aynı türde (*G. bimaculatus*) yapılan bir çalışmada ENK yeteneği, VB ve GS ile negatif ilişki gösterirken LA, VB ve GS ile pozitif ilişki göstermiştir (Rantala ve Roff, 2005). *Allenomobius socius*'ta (Gryllidae) VB ile çalışılan herhangi bir bağışıklık parametresi arasında herhangi bir ilişki saptanmamıştır (Fedorka ve ark., 2004). Yine Zuk ve ark., (2004) tarafından yapılan çalışmada *T. oceanicus* ve *T. commodus* türlerinde ENK ve VB arasında ilişki bulunamamıştır. Bu çalışmada VB, her iki cinsiyette de FA ile pozitif ilişkili iken HPK ile sadece dişilerde, ENK ile erkek bireylerde pozitif ilişki göstermiştir. Gelişimin farklı dönemlerinde yaşam geçmişi ve immün özellikler beslenme, rekabet, üreme gibi faaliyetlerdeki farklılıklar nedeniyle oldukça varyasyonel olabilmektedir. Hem doğal seçilim unsurları hem de eşeyssel seçilim unsurları hayvanın uyumunu şekillendirerek diğer birçok özelliğe olduğu gibi immün tepkiler üzerinde de belirli ölçüde esnekliğe neden olur. Bu nedenle immün aktiviteler doğal bağışıklık sisteminde hem çevresel hem de genetik faktörler tarafından nimfal ve ergin dönemlerde birbirleriyle dengelemeye gitmek durumundadırlar (Pinera ve ark., 2013; Khan ve ark., 2016).

Omurgasız hayvan grubunda dişilerin erkelere göre daha zayıf immün tepkiler gösterdiği bildirilmiş, fakat bu konu tartışılmaya devam etmektedir (Zuk ve McKean, 1996; Kurtz ve ark., 2000; Kurtz ve Sauer, 2001; Rolff, 2002; McKean ve Nunnet, 2005). Dolayısıyla literatüre bakıldığında bazı türler için “dişilerin erkelere göre daha yüksek immün yeterliliğe sahip” olduğuna ilişkin hipotez desteklenmemektedir. Diğer taraftan popülasyonların doğal yaşam alanları ve laboratuvar şartlarında farklı immün tepki gösterdiklerine ilişkin çalışmalar da söz konusudur. Örneğin, çalışılan tür *G. bimaculatus* ile aynı familyada yer alan birbirlerine çok yakın iki tür *T. ocaenicus* ve *T. commodus*'da yapılan çalışmada, *T. oceanicus* ENK yeteneği bakımından erkek ve dişiler arasında arazi ve laboratuvar popülasyonlarının her ikisinde de farklılık saptanmamıştır. *T. commodus*'da erkekler dişilere göre hem laboratuvar hem de arazi popülasyonlarında daha güçlü ENK tepkisi göstermiştir

(Zuk ve ark., 2004). Ancak bu iki türün çok farklı yaşam geçmişi özelliklerine sahip olduğunu da belirtmek gerekir (*T. commodus* mevsimsel üremeye sahipken, *T. oceanicus* herhangi bir mevsimsellik göstermez) (Zuk ve ark., 2004). Yaptığımız çalışmada sadece laboratuvar koşullarında yetiştirilen bireyler üzerinden immün sistem parametreleri karşılaştırılmıştır. *G. bimaculatus*'da I. ve II kuşak için erkek bireylerde ENK yeteneği yüksek bulunurken, III. kuşak için dişilerde yüksek bulunmuştur. Yine *G. bimaculatus* ile yakın akraba bir tür olan *G. firmus*'da yapılan çalışmada dişi bireylerin erkeklere göre daha yüksek ENK yeteneği gösterdiği bildirilmiştir (Rantala ve Roff, 2005). Eşeyler arasındaki immün yeterliliğin temel nedeni erkek ve dişinin farklı yaşam geçmişi özelliklerine sahip olmasıdır (Folstad ve Karter, 1992; Rolff, 2002). Çalıçekirgesi *Kawanaphila nartee*'nin doğal popülasyonlarında FA ve ENK bakımından eşeyler arasında herhangi bir farklılık görülmemişken, laboratuvar ortamında eşeysel yatırım değeri deneysel olarak artırıldığında erkek immün yatırımının dişilere göre daha yüksek olduğu ortaya konmuştur (Vincent ve Gwynne, 2014). Üreme dönemine girmiş erginlerde kınkantil *Carabus lefebvrei*'nin FA düzeyinde eşeysel dimorfizm saptanmışken virjin erginlerde herhangi bir eşeysel farklılık görülmemiştir (Giglio ve ark., 2016)

Özellikle üreme dönemine girmiş eşeylerde immün aktivitelerin eşeyler arasında farklılaşması beklenen bir durumdur. Çünkü immün aktiviteler oldukça maliyetli süreçler içerir ve bu nedenle de hayvanın uyumu ve kısıtlı kaynakların kullanımı açısından immün savunmalar ile üreme, büyüme ve gelişme gibi özellikler arasında bir dengeleme söz konusu olacaktır (Rolff, 2002; Zuk ve Stoehr, 2002; Rolff ve Siva-Jothy, 2003) *G. texensis*'in üreme dönemindeki erkeklerinde immün yeterlilik azalırken dişilerde artış gösterdiği bildirilmiştir (Adamo ve ark., 2001).

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

6.1. Genel Sonuç

Bu çalışmada *G. bimaculatus*'un doğal bağışıklık parametreleri (fenoloksidaz aktivitesi-FA, litik aktivite-LA, enkapsülasyon-ENK, hemolimfteki protein konsantrasyonu-HPK), son nimfal dönem (N), üreme öncesi yeni erginleşen bireyler dönemi (GE) ve üreme dönemine girmiş nispeten yaşlı bireylerde (YE) üç farklı kuşakta karşılaştırılmıştır. Kuşaklar arasında gelişim sürelerinin çok farklı olması immün sistem aktiviteleri üzerinde önemli bir varyasyona yol açmıştır. Her böcek türü farklı gelişim dönemleri süresince farklı immünyeterlilik stratejilerine uyum sağlamıştır. Bir ya da birden fazla hücrel ya da humoral immün tepki her bir gelişim dönemindeki ömür uzunluğu ve türün kendi yaşam geçmişi özellikleri arasında belirgin bir varyasyona sahiptir (Zuk ve Stoehr, 2002; Giglio ve Giulianini, 2013). Yaptığımız çalışmada VA ve VB arasında her kuşak için güçlü pozitif ilişki görülmüş iken kutikular melanizasyon ile negatif ilişki göstermiştir. VB yapılan analiz sonuçlarında melanin temelli immün aktivite (FA) pozitif ilişkili iken, beklenenin aksine LA II. ve III. kuşakta negatif ilişki göstermiş I. kuşakta ise beklenildiği gibi pozitif ilişki bulunmuştur. Diğer immün parametreler (hemolimfteki protein konsantrasyonu-HPK ve hücrel immün tepki olan enkapsülasyon-ENK) gelişim özellikleri ve vücut büyüklüğü ile olan durumları oldukça değişkendir Bateman'ın, (1948), prensibine uygun olarak FA tüm kuşaklar için dişilerde daha yüksek bulunmuş fakat LA sadece I. kuşakta bu durumu sağlamıştır. Hemolimfteki protein miktarı özellikle nimfal evrede erginlere göre daha yüksek düzeydedir. İmmün aktiviteler farklı dönemlerde eşeyler arasında farklı derecelerde dimorfizm göstermiştir. Melanin temelli immün direnç ile ilişkili olduğu rapor edilen kutikular melanizasyonun erkek bireylerde dişilere göre daha yüksek bulunmuştur. Özellikle üreme dönemlerinde her iki eşey için de immün aktiviteler ile üreme için gerekli enerjinin fizyolojik olarak kullanımında uyumsal varyasyonlara sahip olmaları hayati derecede önemlidir. FA, LA, melanin temelli bağışıklık ile ilgili kutikular melanizasyon (Fedorka ve ark., 2013b; Kutch ve ark., 2014) ve ENK gibi önemli bağışıklık bileşenleri bakımından birçok çalışmada eşeysel dimorfizm olduğu saptanmıştır (Adamo ve ark., 2001; Schwarzenbach ve ark., 2005; Shi ve Sun, 2010;

Bailey, 2011; Prokkola ve ark., 2013; Vincent ve Gwynne, 2014). Daha çok çiftleşip daha fazla sayıda yumurta döllenmeye uyum sağlamış erkeklerle daha uzun yaşayarak daha fazla sayıda yumurta başarısı sağlamaya uyum sağlamış dişi stratejisi (Bateman'ın Kuralı) bağışıklık fizyolojilerinde de farklılıklar ortaya çıkarır (Rolff, 2002; Zuk ve Stoehr, 2002)

Direnç bağlamında hastalıklara karşı mücadele oldukça maliyetli olup immün sistem diğer yaşam geçmişi özellikleri ile sürekli bir dengeleme halindedir. Hastalıklarla savaş enerji için kaynaklara ihtiyaç duyar ve bu kaynaklar aynı zamanda “büyüme” ve “üreme” gibi diğer uyumsal bileşenlerin kaynak gereksinimleriyle çakışabilir (Zuk ve Stoehr, 2002). Birçok omurgasız ve omurgalıda gelişim süresince immün yeterliliğin arttığı bildirilmiştir (Laughton ve ark., 2011). Gelişim sürecinde bağışıklık tepkilerinin ortaya çıkmasına yol açan enfeksiyona maruz kalması o canlının büyüme oranını düşürdüğü gibi ve yaşayabilirliğini de azaltacaktır (Eleftherianos ve ark., 2008). Böceklerde nimfal dönemden erginliğe ve eşeyssel olgunluk dönemlerinden yaşlılığa olan süreç immün değişimler üzerinde seçim baskısı oluşturmaktadır (Zuk ve Stoehr, 2002; Wilson-Rich ve ark., 2008). Bu durum ontogenik olarak gelişim sürecinde farklı immün tepkiler arasında da karşıt etkileşimler olduğuna işaret etmektedir. Eşeye ait farklı yaşam stratejileri de immün yatırımlar arasında bir dimorfizm olmasına yol açar. Bateman'ın kuralı erkeklerin daha yüksek üreme başarısına uygun bir yaşam stratejisine uyum sağladıklarını, dişilerin ise daha uzun yaşayarak daha fazla sayıda yavru yapma yönünde bir uyuma sahip olduğunu iddia eder (Bateman, 1948; Trivers, 1972). Buradan da dişilerin uzun yaşama uyum bağlamında erkeklere göre daha güçlü bağışıklık sistemine sahip olduğunu öngörülür (Adamo ve ark., 2001; Rolff, 2002). İmmün fonksiyonlar ile büyüme oranı arasındaki uzlaşma olduğu birçok böcek immün sistemi için bildirilmiştir (Rantala ve Roff, 2005; Cotter ve ark., 2008; Vijendravarma ve ark., 2009). Fazla enerji gereksinimi bir tarafa, güçlü immün fonksiyon immünopatoloji riskini arttırabilmektedir (Ricklefs ve Wikelski, 2002; Zuk ve Stoehr, 2002; Graham ve ark., 2005). Sonuçta, optimal bağışıklık fonksiyonları için maksimum düzeyde bir immün fonksiyon gerekli değildir (Sheldon ve Verhulst, 1996; Zuk ve Stoehr, 2002). Çünkü farklı immün aktiviteler farklı enerji miktarına ve besine gereksinim duyar (Van der Most ve ark., 2011).

6.2. Öneriler

Omurgasızlarda enfeksiyonlara, patojenlere ve yaralanmalara karşı doğal bağışıklık sistemi ile mücadele edilir. Ülkemizin büyük bir bölümünde tarım en önemli geçim kaynaklarımızdan birisidir. Bu alanlarda yetiştirilen bitkilerde en çok zarara yol açan veya tozlaşmayı sağlayarak pozitif girdiler sağlayan önemli gruplardan birisi de böceklerdir. Küresel iklim değişikliği, giderek artan dünya nüfusu ve tüketim talebi karşısında sınırlı kaynakların bulunması alternatif protein kaynak arayışını ortaya çıkarmıştır (Huis ve Oonincx, 2017). Yine böcekler insanlar, canlı hayvanlar ve balıklar için alternatif bir protein kaynağı olarak önerilmiştir (Van Huis ve ark., 2013). Bu ve buna benzer durumlar bağlamında böceklerin, daha geniş anlamda omurgasızların doğal bağışıklıklarının ekolojik açıdan araştırılması önemlidir. Maalesef Türkiye adresli araştırmalarda omurgasızlarda “eko-immünolojik” araştırmalar yeterli düzeyde değildir. Bu araştırma ile bu alanda çalışacaklar için öncül eko-immünolojik yaklaşımların bir ölçüde tanıtılmış olması önemli bir çıktıdır. Diğer taraftan canlı organizma ve laboratuvar kültürü üzerinde çalışmak “devamlılık” gerektiren uzun soluklu sorumluluklar yükler. Yeterli altyapı, kültürü takip edecek yeterli sayıda ve yetkin insan kaynağının olmayışı birçok zorluk ve fedakarlıkları da beraberinde getirmektedir. Bu tür araştırmaların yaygınlaştırılması ve desteklenmesi doğal bağışıklığın yaşam geçmişi özelliklerine olan ilişkilerini anlamak açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

- Adamo, S.A. 2004. Estimating disease resistance in insects: phenoloxidase and lysozyme-like activity and disease resistance in the cricket *Gryllus texensis*. *Journal of Insect Physiology*, 50(2-3): 209-216.
- Adamo, S.A., Jensen, M., Younger, M. 2001. Changes in lifetime immunocompetence in male and female *Gryllus texensis* (formerly *G. integer*): trade-offs between immunity and reproduction. *Animal Behaviour*, 62: 417-425.
- Ahtiainen, J.J., Alatalo, R.V., Kortet, R., Rantala, M.J. 2005. A trade-off between sexual signalling and immune function in a natural population of the drumming wolf spider *Hygrolycosa rubrofasciata*. *Journal of Evolutionary Biology*, 18(4): 985-991.
- Alghamdi, A., Dalton, L., Phillis, A., Rosato, E., Mallon, E.B. 2008. Immune response impairs learning in free-flying bumble-bees. *Biology Letters*, 4(5): 479-481.
- An, C.J., Zhang, M.M., Chu, Y., Zhao, Z.W. 2013. Serine protease MP2 activates prophenoloxidase in the melanization immune response of *Drosophila melanogaster*. *Plos One*, 8(11).
- Andersen, S.O. 1985. Sclerotization and tanning of the cuticle. *Comprehensive insect physiology, Biochemistry and Pharmacology* (ed. by G.A. Kerkut and L.I. Gilbert), Vol. 3, pp. 59–74. Pergamon Press, U.K.
- Armitage, S.A. O., Siva-Jothy, M.T. 2005. Immune function responds to selection for cuticular colour in *Tenebrio molitor*. *Heredity*, 94(6): 650-656.
- Bailey, N.W. 2011. A test of the relationship between cuticular melanism and immune function in wild-caught Mormon crickets. *Physiological Entomology*, 36(2): 155-164.
- Bateman, A.J. 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity*, 2: 349-368.
- Bateman A., Culpan FJ., Pickering A.D., Powell J.H., Scott O.M., Greenwood R.J. 2001. The effect of aerobic training on rehabilitation outcomes after recent severe brain injury: a randomized controlled evaluation. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 82(2):174-82.
- Beckage, N.E. 2008. *Insect immunology*. 1 edition edn. (Academic Press) 360
- Behrens, W., Hoffmann, K.H., Kempa, S., Gassler, S., Merkelwallner, G. 1983. Effects of diurnal thermoperiods and quickly oscillating temperatures on the development and reproduction of crickets, *Gryllus bimaculatus*. *Oecologia*, 59(2-3): 279-287.
- Bradshaw, W., Holzapfel, C.M. 1996. Genetic constraints to life-history evolution in the pitcher-plant mosquito, *Wyeomyia smithii*. *Evolution*, 50(3): 1176-1181.
- Brennan, C.A., Anderson, K.V. 2004. *Drosophila*: The genetics of innate immune recognition and response. *Annual Review of Immunology*, 22: 457-483.
- Boa-Amponsen, K., Larsen, C., Dunnington, E., Siegel, P., 1999. Immunocompetence and resistance to marble spleen disease of broiler- and layer-type pure lines of chickens. *Avian Pathology* 28: 379–384.
- Bolker, B.M., Brooks, M.E., Clark, C.J., Geange, S.W., Poulsen, J.R., Stevens, M.H.H., White, J.S.S. 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution, *Trends in Ecology & Evolution*, 24(3): 127-135.
- Brown, W.D. 1999. Mate choice in tree crickets and their kin. *Annual Review of Entomology*, 44: 371-396.

- Carton Y., Boulétreau M. 1985. Encapsulation ability of *Drosophila melanogaster*: a genetic analysis. *Developmental and Comparative Immunology* 9: 211–219.
- Carton, Y., Frey, F., Nappi, A. 1992. Genetic determinism of the cellular immune-reaction in *Drosophila-Melanogaster*. *Heredity*, 69: 393-399.
- Cerenius, L., Lee, B.L., Soderhall, K. 2008. The proPO-system: Pros and cons for its role in invertebrate immunity. *Trends in Immunology*, 29(6): 263-271.
- Cerenius, L., Soderhall, K. 2004. The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunological Reviews*, 198: 116-126.
- Cooper, M.D., Alder, M.N., 2006. The evolution of adaptive immune system. *Cell*, 124: 815-822.
- Cotter, S.C., Kruuk, L.E.B., Wilson, K. 2004. Costs of resistance: genetic correlations and potential trade-offs in an insect immune system. *Journal of Evolutionary Biology*, 17(2): 421-429.
- Cotter, S.C., Myatt, J.P., Benskin, C.M.H., Wilson, K. 2008. Selection for cuticular melanism reveals immune function and life-history trade-offs in *Spodoptera littoralis*. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(6): 1744-1754.
- Da Silva, C., Dunphy, G.B., Rau, M.E. 2000. Interaction of hemocytes and prophenoloxidase system of fifth instar nymphs of *Acheta domesticus* with bacteria. *Developmental and Comparative Immunology*, 24(4): 367-379.
- De Block, M., Stoks, R. 2005. Fitness effects from egg to reproduction: Bridging the life history transition. *Ecology*, 86(1): 185-197.
- DeVeale, B., Brummel, T., Seroude, L. 2004. Immunity and aging: the enemy within?. *Aging Cell*, 3(4): 195-208.
- Dimopoulos, G., Richman, A., Muller, H., Kafatos, F.C., 1997. Molecular immune responses of the mosquito *Anopheles gambiae* to bacteria and malaria parasites. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94: 11508–11513
- Douglas, A.E. 2014. The molecular basis of bacterial-insect symbiosis. *Journal of Molecular Biology*, 426(23): 3830-3837.
- Drayton, J.M., Jennions, M.D. 2011. Inbreeding and measures of immune function in the cricket *Teleogryllus commodus*. *Behavioral Ecology*, 22(3): 486-492.
- Dubovskiy, I.M., Kryukova, N.A., Glupov, V.V., Ratcliffe, N.A. 2016. Encapsulation and nodulation in insects. *Invertebrate Survival Journal*, 13: 229-246.
- Eleftherianos, I., Baldwin, H., Ffrench-Constant, R.H., Reynolds, S.E. 2008. Developmental modulation of immunity: Changes within the feeding period of the fifth larval stage in the defence reactions of *Manduca sexta* to infection by *Photographus*. *Journal of Insect Physiology*, 54(1): 309-318.
- Eleftherianos, I., Revenis, C. 2011. Role and importance of phenoloxidase in insect hemostasis. *Journal of Innate Immunity*, 3(1): 28-33.
- Eweleit, L., Reinhold, K. 2014. Body size and elevation: do Bergmann's and Rensch's rule apply in the polytypic bushcricket *Poecilimon veluchianus*?. *Ecological Entomology*, 39(1): 133-136.
- Fedorka, K.M., Zuk, M. 2003. Reproductive behavior and immune defense in the striped ground cricket. *Integrative and Comparative Biology*, 43(6): 924-924.
- Fedorka, K.M., Copeland, E.K., Winterhalter, W.E. 2013a. Seasonality influences cuticle

- melanization and immune defense in a cricket: support for a temperature-dependent immune investment hypothesis in insects. *Journal of Experimental Biology*, 216(21): 4005-4010.
- Fedorka, K.M., Lee, V., Winterhalter, W.E. 2013b. Thermal environment shapes cuticle melanism and melanin-based immunity in the ground cricket *Allonemobius socius*. *Evolutionary Ecology*, 27(3): 521-531.
- Fedorka, K.M. 2014. Reproductive and immune system interactions in the context of life history and sexual selection theory. *Eco-immunology: Evolutionary aspects and future perspectives*. Editor: E.O.A.D. Malagoli. Springer Netherlands.
- Fedorka, K.M., Sevgili, H. 2014. The influence of nuptial feeding and sperm transfer on the immunological cost of reproduction in the ground cricket *Allonemobius socius*. *Physiological Entomology*, 39(2): 89-93.
- Felix, T.M., Hughes, K.A., Stone, E.A., Drnevich, J.M., Leips, J. 2012. Age-specific variation in immune response in *Drosophila melanogaster* has a genetic basis. *Genetics*, 191(3): 989-U584.
- Ferdig, M.T., Beerntsen, B.T., Spray, F.J., Li, J.Y., Christensen, B.M. 1993. reproductive costs associated with resistance in a mosquito-filarial worm system. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 49(6): 756-762.
- Folstad, I., Karter, A.J. 1992. Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *American Naturalist*, 139(3): 603-622.
- Galicia, A., Castillo, R.C.D., Contreras-Garduno, J. 2014. Is sexual dimorphism in the immune response *Gryllodes sigillatus* related to the quality of diet?. *ISRN Evolutionary Biology*, 2014: 1-6.
- Gatschenberger, H., Gimple, O., Tautz, J., Beier, H., 2012. Honey bee drones maintain humoral immune competence throughout all life stages in the absence of vitellogenin production. *Journal of Experimental Biology* 215:1313–1322.
- Gerloff, C.U., Ottmer, B.K., Schmid-Hempel, P. 2003. Effects of inbreeding on immune response and body size in a social insect, *Bombus terrestris*. *Functional Ecology*, 17(5): 582-589.
- Gershman, S.N. 2008. Sex-specific differences in immunological costs of multiple mating in *Gryllus vocalis* field crickets. *Behavioral Ecology*, 19(4): 810-815.
- Giglio, A., Brandmayr, P., Cammarata, M., Cavaliere, F., Trapani, M.R., Giulianini, P. G. 2016. Are immune responses gender-related in *Carabus lefebvrei* (Coleoptera: Carabidae)?. *Invertebrate Survival Journal*, 13: 102-110.
- Giglio, A., Giulianini, P.G. 2013. Phenoloxidase activity among developmental stages and pupal cell types of the ground beetle *Carabus (Chaetocarabus) lefebvrei* (Coleoptera, Carabidae) *Journal of Insect Physiology*, 59(4): 466-474.
- Gilbert, L.I., Rybczynski, R., Warren, J.T. 2002. Control and biochemical nature of the ecdysteroidogenic pathway. *Annual Review of Entomology*, 47: 883-916.
- Gillespie, J.P., Kanost, M.R., Trenczek, T. 1997. Biological mediators of insect immunity. *Annual Review of Entomology*, 42: 611-643.
- Gonzalez-Santoyo, I., Cordoba-Aguilar, A. 2012. Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 142(1): 1-16.
- Graham, A.L., Allen, J.E., Read, A.F. 2005. Evolutionary causes and consequences of immunopathology. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 36: 373-

397.

- Graham, R.I., Deacutis, J.M., Simpson, S.J., Wilson, K. 2015. Body condition constrains immune function in field populations of female Australian plague locust *Chortoicetes terminifera*. *Parasite Immunology*, 37(5): 233-241.
- Gray, D.A. 1998. Sex differences in susceptibility of house crickets, *Acheta domesticus*, to experimental infection with *Serratia liquefaciens*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 71(3): 288-289.
- Gullan, P.J., Cranston, P.S. 2010. *The Insects: An Outline of Entomology*. Fourth edn. (Wiley-Blackwell: West Sussex UK)
- Goulson, D., Cory, J.S. 1995. Responses of *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae) to crowding: interactions with disease resistance, colour phase and growth. *Oecologia*, 104, 416–623.
- Gwynne, D.T. 1995. Phylogeny of the Ensifera (Orthoptera): A hypothesis supporting multiple origins of acoustical signalling, complex spermatophores and maternal care in crickets, katydids, and weta. *Journal of Orthoptera Research*, 4: 203-218.
- Hammerschmidt, K., Deines, P., Wilson, A.J., Rolff, J. 2012. Quantitative genetics of immunity and life history under different photoperiods. *Heredity*, 108(5): 569-576.
- High, K.P. 2004. Infection as a cause of age-related morbidity and mortality. *Ageing Research Reviews*, 3(1): 1-14.
- Hillyer, J.F., Schmidt, S.L., Christensen, B.M. 2003. Hemocyte-mediated phagocytosis and melanization in the mosquito *Armigeres subalbatus* following immune challenge by bacteria. *Cell and Tissue Research*, 313(1): 117-127.
- Huis Arnold van , Oonincx Dennis G.A.B. 2017. The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. *Agronomy for Sustainable Development*
- Von Hormann-Heck S. 1957. Untersuchungen über den Erbgang einiger Verhaltensweisen bei Grillenbastarden. *Zeitschrift Fur Tierpsychologie* 14: 137–183.
- Hoffmann, J.A. 1995. Innate Immunity of Insects. *Current Opinion in Immunology*, 7(1): 4-10.
- Hoffmann, J.A., Reichart, J.M., 2002. *Drosophila* innate immunity: an evolutionary perspective. *Nature Immunology*, 3: 121-126.
- Hoffmann, J.A., Reichert, J., Hetru, C., 1996. Innate immunity in higher insects. *Current Opinion in Immunology* 8: 8–13
- Horn, L., Leips, J., Starz-Gaiano, M. 2014. Phagocytic ability declines with age in adult *Drosophila* hemocytes. *Aging Cell*, 13(4): 719-728.
- Jacot, A., Scheuber, H., Kurtz, J., Brinkhof, M. W.G. 2005. Juvenile immune system activation induces a costly upregulation of adult immunity in field crickets *Gryllus campestris*. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 272(1558): 63-69.
- Janeway, C.A., Medzhitov, R., 2002. Innate immunity recognition. *Annual Review of Immunology*, 20: 197-216
- Judge, K.A., Ting, J. J., Gwynne, D.T. 2008. Condition dependence of male life span and calling effort in a field cricket. *Evolution*, 62(4): 868-878.

- Joop, G., Mitschke, A., Rolff, J., Siva-Jothy, M.T. 2006. Immune function and parasite resistance in male and polymorphic female *Coenagrion puella*. *BMC Evolutionary Biology*, 6:19
- Kajla, M.K., Andreeva, O., Gilbreath, T.M., Paskewitz, S.M. 2010. Characterization of expression, activity and role in antibacterial immunity of *Anopheles gambiae* lysozyme c-1. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry , Molecular Biology*, 155(2): 201-209.
- Kerr, A.M., Gershman, S.N., Sakaluk, S.K. 2010. Experimentally induced spermatophore production and immune responses reveal a trade-off in crickets. *Behavioral Ecology*, 21(3): 647-654.
- Klein, S.L., Flanagan, K.L. 2016. Sex differences in immune responses. *Nature Reviews Immunology*, 16(10): 626-638.
- Konig, C., Schmid-Hempel, P. 1995. Foraging activity and immunocompetence in workers of the Bumble Bee, *Bombus terrestris* L. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 260(1358): 225-227.
- Kraaijeveld, A.R., Godfray, H.C.J. 1997. Trade-off between parasitoid resistance and larval competitive ability in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, 389(6648): 278-280.
- Kraaijeveld, A.R., Limentani, E.C., Godfray, H.C.J. 2001. Basis of the trade-off between parasitoid resistance and larval competitive ability in *Drosophila melanogaster* *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 268(1464): 259-261.
- Kurtz, J., Sauer, K.P. 1999. The immunocompetence handicap hypothesis: testing the genetic predictions. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 266(1437): 2515-2522.
- Kurtz, J., Wiesner, A., Gotz, P., Sauer, K.P. 2000. Gender differences and individual variation in the immune system of the scorpionfly *Panorpa vulgaris* (Insecta : Mecoptera). *Developmental and Comparative Immunology*, 24(1): 1-12.
- Kurtz, J., Sauer, K.P. 2001. Gender differences in phenoloxidase activity of *Panorpa vulgaris* hemocytes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 78(1): 53-55.
- Kurtz, J., Klappert, K., Schneider, W., Reinhold, K. 2002. Immune defence, dispersal and local adaptation *Evolutionary Ecology Research*, 4(3): 431-439.
- Kutch, I.C., Sevgili, H., Wittman, T., Fedorka, K.M. 2014. Thermoregulatory strategy may shape immune investment in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 217(20): 3664-3669.
- Laughton, A.M., Boots, M., Siva-Jothy, M.T. 2011. The ontogeny of immunity in the honey bee, *Apis mellifera* L. following an immune challenge. *Journal of Insect Physiology*, 57(7): 1023-1032.
- Lavine, M.D., Strand, M.R. 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32(10): 1295-1309.
- Lawniczak, M.K.N., Barnes, A.I., Linklater, J.R., Boone, J.M., Wigby, S., Chapman, T. 2007. Mating and immunity in invertebrates. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(1): 48-55.
- Leclerc, V., Pelte, N., El Chamy, L., Martinelli, C., Ligoxygakis, P., Hoffmann, J.A., Reichhart, J. M. 2006. Prophenoloxidase activation is not required for survival to microbial infections in *Drosophila*. *Embo Reports*, 7(2): 231-235.
- Lehmann, G.U.C. 2007. Density-dependent plasticity of sequential mate choice in a

- bushcricket (Orthoptera : Tettigoniidae). Australian Journal of Zoology, 55(2): 123-130.
- Lehmann, G.U.C., Lehmann, A.W. 2007. Sex differences in "Time out" from reproductive activity and sexual selection in male bushcrickets (Orthoptera : Zaprochilinae : *Kawanaphila mirila*). Journal of Insect Behavior, 20(2): 215-227.
- Lemaitre, B., Hoffmann, J. 2007. The host defense of *Drosophila melanogaster*. Annual Review of Immunology, 25: 697-743.
- Lee KP, Cory JS, Wilson K, Raubenheimer D., Simpson SJ 2006. Flexible diet choice offsets protein costs of pathogen resistance in a caterpillar. Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences 273: 823–829.
- Li, J.Y., Christensen, B.M. 1993. Involvement of l-tyrosine and phenoloxidase in the tanning of *Aedes aegypti* eggs. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 23(6): 739-748.
- Libersat F, Murray J.A, Hoy RR. 1994. Frequency as a releaser in the courtship song of two crickets, *Gryllus bimaculatus* (de Geer) and *Teleogryllus oceanicus*: a neuroethological analysis. Journal of Comparative Physiology A 174: 485– 494.
- Linder, J.E., Owers, K.A., Promislow, D.E.L. 2008. The effects of temperature on host-pathogen interactions in *D-melanogaster*: Who benefits?. Journal of Insect Physiology, 54(1): 297-308.
- Lochmiller, R.L., Deerenberg, C. 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? Oikos, 88(1): 87-98.
- Lorenz M.W, Anand A.N, 2004. Changes in the biochemical composition of fat body stores during adult development of female crickets, *Gryllus bimaculatus*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 56:110-119.
- Lu, A.R., Zhang, Q.L., Zhang, J., Yang, B., Wu, K., Xie, W., Luan, Y.X., Ling, E. J. 2014. Insect prophenoloxidase: the view beyond immunity. Frontiers in Physiology, 5.
- Malagoli, D., Ottaviani, E. 2014. Eco-immunology: Evolutive Aspects and Future Perspectives. (Springer Netherlands)
- Martin, L. B., Boughton, R. K., Ardia, D.R. 2014. A New Division of Ecoimmunology and Disease Ecology. Integrative and Comparative Biology, 54(3): 338-339.
- Masaki, S., Walker, T. J. 1987. Cricket life-cycles. Evolutionary Biology, 21: 349-423.
- Mavrouli, M.D., Tsakas, S., Theodorou, G.L., Lampropoulou, M., Marmaras, V. J. 2005. MAP kinases mediate phagocytosis and melanization via prophenoloxidase activation in medfly hemocytes. Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research, 1744(2): 145-156.
- McKean, K.A., Nunney, L. 2005. Bateman's principle and immunity: Phenotypically plastic reproductive strategies predict changes in immunological sex differences. Evolution, 59(7): 1510-1517.
- McNamara, K. B., Van Lieshout, E., Jones, T.M., Simmons, L.W. 2013. Age-dependent trade-offs between immunity and male, but not female, reproduction. Journal of Animal Ecology, 82(1): 235-244.
- Mora, C., Tittensor, D.P., Adl, S., Simpson, A.G.B., Worm, B. 2011. How many species are there on earth and in the ocean? Plos Biology, 9(8).
- Moradian, N.R., Walker, S.E. 2008. Relationships between body size and sound-producing structures in crickets: do large males have large harps?. Invertebrate Biology, 127(4): 444-451.

- Moret, Y., Schmid-Hempel, P. 2001. Entomology - Immune defence in bumble-bee offspring. *Nature*, 414(6863): 506-506.
- Moret, Y., Siva-Jothy, M.T. 2003. Adaptive innate immunity? Responsive-mode prophylaxis in the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 270(1532): 2475-2480.
- Morris, G.K. 2008. Size and carrier in the bog katydid, *Metrioptera sphagnum* (Orthoptera: Ensifera, Tettigoniidae). *Journal of Orthoptera Research*, 17: 333-342.
- Mousseau, T.A. 1997. Ectotherms follow the converse to Bergmann's Rule. *Evolution*, 51(2): 630-632.
- Mullen, L., Goldsworthy, G. 2003. Changes in lipophorins are related to the activation of phenoloxidase in the haemolymph of *Locusta migratoria* in response to injection of immunogens. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 33(7): 661-670.
- Nappi, A.J., Christensen, B.M. 2005. Melanogenesis and associated cytotoxic reactions: Applications to insect innate immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35(5): 443-459.
- Nappi, A.J., Vass, E. 2001. Cytotoxic reactions associated with insect immunity. *Phylogenetic Perspectives on the Vertebrate Immune System*, 484: 329-348.
- Nappi, A.J., Vass, E. 1993. Melanogenesis and the generation of cytotoxic molecules during insect cellular immune-reactions. *Pigment Cell Research*, 6(3): 117-126.
- Nunn, C.L., Lindenfors, P., Pursall, E.R., Rolff, J. 2009. On sexual dimorphism in immune function. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 364(1513): 61-69.
- Norris, K., Evans, M.R., 2000. Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. *Behavioral Ecology* 11:19–26
- Ojala, K., Julkunen-Tiito, R., Lindstrom, L., Mappes, J. 2005. Diet affects the immune defence and life-history traits of an Arctiid moth *Parasemia plantaginis*. *Evolutionary Ecology Research*, 7(8): 1153-1170.
- Park, Y., Kim, Y., Stanley, D. 2011. Cellular immunosenescence in adult male crickets, *Gryllus assimilis* *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 76(4): 185-194.
- Pinera, A.V., Charles, H. M., Dinh, T.A., Killian, K.A. 2013. Maturation of the immune system of the male house cricket, *Acheta domesticus* *Journal of Insect Physiology*. 59(8): 752-760.
- Prokkola, J., Roff, D., Karkkainen, T., Krams, I., Rantala, M.J. 2013. Genetic and phenotypic relationships between immune defense, melanism and life-history traits at different temperatures and sexes in *Tenebrio molitor*. *Heredity*, 111(2): 89-96.
- Rantala, M.J., Kortet, R. 2003. Courtship song and immune function in the field cricket *Gryllus bimaculatus*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 79(3): 503-510.
- Rantala, M.J., Kortet, R. 2004. Male dominance and immunocompetence in a field cricket. *Behavioral Ecology*, 15(2): 187-191.
- Rantala, M.J., Kortet, R., Kotiaho, J.S., Vainikka, A., Suhonen, J. 2003a. Condition dependence of pheromones and immune function in the grain beetle *Tenebrio molitor*. *Functional Ecology*, 17(4): 534-540.
- Rantala, M.J., Vainikka, A., Kortet, R. 2003b. The role of juvenile hormone in immune function and pheromone production trade-offs: a test of the immunocompetence handicap principle. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*,

270(1530): 2257-2261.

- Rantala, M.J., Roff, D.A. 2005. An analysis of trade-offs in immune function, body size and development time in the Mediterranean Field Cricket, *Gryllus bimaculatus*. *Functional Ecology*, 19(2): 323-330.
- Rantala M.J., Roff D.A.2006. Analysis of the importance of genotypic variation, metabolic rate, morphology, sex and development time on immune function in the cricket, *Gryllus firmus*. *Journal of Evolutionary Biology* 19(3): 834-843
- Rantala M.J, Kortet R. 2002. Courtship song and immune function in the field cricket *Gryllus bimaculatus*. Department of Biological and Environmental Science, University of Jyväskylä, PO Box 35, FIN-40351, Jyväskylä, Finland
- Rantala, M.J., Roff, D.A. 2007. Inbreeding and extreme outbreeding cause sex differences in immune defence and life history traits in *Epirrita autumnata*. *Heredity*, 98(5): 329-336.
- Rantala MJ, Roff D.A. 2006. Analysis of the importance of genotypic variation, metabolic rate, morphology, sex and development time on immune function in the cricket, *Gryllus firmus*. *Journal of Evolutionary Biology*. 19(3):834-43.
- Ratcliffe, N.A., Gagen, S. J. 1977. Studies on the in vivo cellular reactions of insects: an ultrastructural analysis of nodule formation in *Galleria mellonella*. *Tissue Cell*, 9: 73-85.
- Renucci, M., Martin, N., Strambi, C. 1984. Temporal variations of hemolymph esterase-activity and juvenile hormone titers during ovocyte maturation in *Acheta domesticus* (Orthoptera). *General and Comparative Endocrinology*, 55(3): 480-487.
- Ricklefs, R.E., Wikelski, M. 2002. The physiology/life-history nexus. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(10): 462-468.
- Rigby, M., Hechinger, R., Stevens, L., 2002. Why should parasite resistance be costly? *Trends in Parasitology* 18, 116–120.
- Rizki, T.M., Rizki, R.M., Belloti, R.A. 1985. Genetics of *Drosophila* phenoloxidase. *Molecular and General Genetics*, 201: 7-13.
- RStudio Team (2015). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>
- Robert B. Srygley, Patrick D. 2013. Lorch Coping with uncertainty: Nutrient deficiencies motivate insect migration at a cost to immunity. *Integrative and Comparative Biology*, 53(6): 1002–1013.
- Roitt, I., Brostoff, J., Male, D., 1996. *Immunology*, fourth ed. . Mosby, London.
- Roff, D.A. 2000. Trade-offs between growth and reproduction: an analysis of the quantitative genetic evidence. *Journal of Evolutionary Biology*, 13(3): 434-445.
- Rolff, J. 2001. Effects of age and gender on immune function of dragonflies (Odonata, Lestidae) from a wild population. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, 79(12): 2176-2180.
- Rolff, J. 2002. Bateman's principle and immunity. *Proceedings of the Royal Society B:Biological Sciences*, 269(1493): 867-872.
- Roff, D.A. 2002. *Life History Evolution*. (Sinauer Associates, Sunderland, MA.) 465.
- Rolff, J., Siva-Jothy, M. T. 2002. Copulation corrupts immunity: A mechanism for a cost of mating in insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United*

- States of America, 99(15): 9916-9918.
- Rolff, J., Siva-Jothy, M. T. 2003. Invertebrate ecological immunology. *Science*, 301(5632): 472-475.
- Rolff, J., Van de Meutter, F., Stoks, R. 2004. Time constraints decouple age and size at maturity and physiological traits. *American Naturalist*, 164(4): 559-565.
- Rosengaus, R.B., Reichheld, J.L. 2016. Phenoloxidase activity in the infraorder Isoptera: unraveling life-history correlates of immune investment. *Science of Nature*, 103(1-2).
- Ryder, J.J., Siva-Jothy, M.T. 2000. Male calling song provides a reliable signal of immune function in a cricket. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 267(1449): 1171-1175.
- Ryder, J.J., Siva-Jothy, M.T. 2001. Quantitative genetics of immune function and body size in the house cricket, *Acheta domesticus*. *Journal of Evolutionary Biology*, 14(4): 646-653.
- Sang J.H., Burnet B. 1963. Physiological genetics of melanotic tumours in *Drosophila melanogaster*. I. The effects of nutrient balance on tumour penetrance in tuA strain. *Genetics*, 48: 235-253
- Schmid-Hempel, P. 2003. Variation in immune defence as a question of evolutionary ecology. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 270(1513): 357-366.
- Schwarzenbach, G.A., Hosken, D.J., Ward, P.I. 2005. Sex and immunity in the yellow dung fly *Scathophaga stercoraria*. *Journal of Evolutionary Biology*, 18(2): 455-463.
- Schwarzenbach, G.A., Ward, P.I. 2007. Phenoloxidase activity and pathogen resistance in yellow dung flies *Scathophaga stercoraria*. *Journal of Evolutionary Biology*, 20(6): 2192-2199.
- Schwarzenbach, G.A., Ward, P.I. 2006. Responses to selection on phenoloxidase activity in yellow dung flies. *Evolution*, 60(8): 1612-1621.
- Schwenke, R.A., Lazzaro, B.P., Wolfner, M.F. 2016. Reproduction-immunity trade-offs in Insects. *Annual Review of Entomology*, Vol 61: 239-256.
- Schneider, P.M., 1985. Purification and properties of three lysozymes from hemolymph of the cricket, *Gryllus bimaculatus* (De Geer). *Insect Biochemistry* 15, 463-470.
- Sevgili, H., 2016. İki çalı çekirgesi üzerinde doğal bağışıklık parametrelerinden fenoloksidaz aktivitesi ile litik aktivitenin ve hemolimfteki protein konsantrasyonunun yöntemsel olarak belirlenmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 5(1): 51-62.
- Sevgili, H., 2017. Böceklerde melanizasyon ve melanin temelli bağışıklık. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 7 (2): 203-2015.
- Shao, Q.M., Yang, B., Xu, Q.Y., Li, X. Q., Lu, Z.Q., Wang, C.S., Huang, Y.P., Soderhall, K., Ling, E. J. 2012. hindgut innate immunity and regulation of fecal microbiota through melanization in insects. *Journal of Biological Chemistry*, 287(17): 14270-14279.
- Sheldon, B.C., Verhulst, S. 1996. Ecological immunology: Costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(8): 317-321.
- Sheridan, L.A.D., Poulin, R., Ward, D.F., Zuk, M. 2000. Sex differences in parasitic infections among arthropod hosts: is there a male bias?. *Oikos*, 88(2): 327-334.
- Shi, Z.H., Sun, J.H. 2010. Immunocompetence of the red turpentine beetle, *Dendroctonus*

- valens* LeConte (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae): Variation between developmental stages and sexes in populations in China. *Journal of Insect Physiology*, 56(11): 1696-1701.
- Shrestha, S., Kim, Y.G. 2008. Eicosanoids mediate prophenoloxidase release from oenocytoids in the beet armyworm *Spodoptera exigua*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38(1): 99-112.
- Simmons, L.W. 1986. Female Choice in the Field Cricket *Gryllus bimaculatus* (Degeer). *Animal Behaviour*, 34: 1463-1470.
- Simmons, L.W. 1987. Heritability of a male character chosen by females of the field cricket, *Gryllus bimaculatus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 21(2): 129-133.
- Simmons, L.W. 2012. Resource allocation trade-off between sperm quality and immunity in the field cricket, *Teleogryllus oceanicus*. *Behavioral Ecology*, 23(1): 168-173.
- Simmons, L.W., Roberts, B. 2005. Bacterial immunity traded for sperm viability in male crickets, 309(5743): 2031-2031.
- Simmons, L.W., Zuk, M., Rotenberry, J. T. 2005. Immune function reflected in calling song characteristics in a natural population of the cricket *Teleogryllus commodus*. *Animal Behaviour*, 69: 1235-1241.
- Simons, A.M., Roff, D.A. 1994. The effect of environmental variability on the heritabilities of traits of a field cricket. *Evolution*, 48(5): 1637-1649.
- Siva-Jothy, M.T., Moret, Y., Rolff, J. 2005. Insect immunity: An evolutionary ecology perspective. *Advances in Insect Physiology*, 32: 1-48.
- Simmons LW. 1986a. Inter-male competition and mating success in the field cricket, *Gryllus bimaculatus* (De Geer). *Animal Behaviour* 34: 567-579.
- Simmons LW. 1986b. Female choice in the field cricket *Gryllus bimaculatus* (De Geer). *Animal Behaviour* 34: 1463- 1470
- Soderhall, K., Ajaxon, R. 1982. Effect of quinones and melanin on mycelial growth of aphanomyces spp and extracellular protease of aphanomyces-astaci a parasite on crayfish. *Journal of Invertebrate Pathology*, 39(1): 105-109.
- Soderhall, K., Cerenius, L. 1998. Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. *Current Opinion in Immunology*, 10(1): 23-28.
- Srygley, R.B. 2012. Ontogenetic changes in immunity and susceptibility to fungal infection in Mormon crickets *Anabrus simplex*. *Journal of Insect Physiology*, 58(3): 342-347.
- Srygley, R.B., Lorch, P.D., Simpson, S.J., Sword, G.A. 2009. Immediate protein dietary effects on movement and the generalised immunocompetence of migrating Mormon crickets *Anabrus simplex* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Ecological Entomology*, 34(5): 663-668.
- Stoehr, A.M., Kokko, H. 2006. Sexual dimorphism in immunocompetence: what does life-history theory predict?. *Behavioral Ecology*, 17(5): 751-756.
- Strand, M.R. 2008. The insect cellular immune response. *Insect Science*, 15(1): 1-14.
- Sturm, R. 2014. Comparison of sperm number, spermatophore size, and body size in four cricket species. *Journal of Orthoptera Research*, 23(1): 39-47.
- Sugumaran, H. 2002. Comparative biochemistry of eumelanogenesis and the protective roles of phenoloxidase and melanin in insects. *Pigment Cell Research*, 15(1): 2-9.
- Trivers, R.L. 1972. Parental investment and sexual selection. *Sexual selection and the*

- descent of man, 1871-1971. Editör: B. Campbell. Heinemann, London.
- True, J.R. 2003. Insect melanism: the molecules matter. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(12): 640-647.
- Tsakas, S., Marmaras, V.J. 2010. Insect immunity and its signalling: an overview. *Isj-Invertebrate Survival Journal*, 7(2): 228-238.
- Tunaz, H., 2004. Böceklerde bağışıklık mekanizması. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 7(2): 78-82.
- Tzou, P., Meister, M., Lemaitre, B. 2002. Methods for studying infection and immunity in *Drosophila*. *Molecular Cellular Microbiology*, 31: 507-529.
- Valanne, S., Wang, J.H., Ramet, M. 2011. The *Drosophila* toll signaling pathway. *Journal of Immunology*, 186(2): 649-656.
- Van der Most, P.J., De Jong, B., Parmentier, H.K., Verhulst, S. 2011. Trade-off between growth and immune function: a meta-analysis of selection experiments. *Functional Ecology*, 25(1): 74-80.
- Vass, E., Nappi, A.J. 1998. The effects of dietary yeast on the cellular immune response of *Drosophila melanogaster* against the larval parasitoid, *Leptopilina boulardi*. *Journal of Parasitology*, 84(4): 870-872.
- Vernick, K., 1997. Mechanisms of immunity and refractoriness in insect vectors of eukaryotic parasites. In: Brey, P.T., Hultmark, D. (Eds.), *Molecular Mechanisms of Immune Responses in Insects*. Chapman and Hall, London, pp. 261-294.
- Vijendravarma, R.K., Kraaijeveld, A.R., Godfray, H.C.J. 2009. Experimental evolution shows *Drosophila melanogaster* resistance to a microsporidian pathogen has fitness costs. *Evolution*, 63(1): 104-114.
- Vilmos, P., Kurucz, E. 1998. Insect immunity: evolutionary roots of the mammalian innate immune system. *Immunology Letters*, 62(2): 59-66.
- Vincent, C.M., Gwynne, D.T. 2014. Sex-biased immunity is driven by relative differences in reproductive investment. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 281(1790).
- Vogelweith, F., Thiery, D., Moret, Y., Moreau, J. 2013. Immunocompetence increases with larval body size in a phytophagous moth. *Physiological Entomology*, 38(3): 219-225.
- Vogelweith, F., Thiery, D., Quaglietti, B., Moret, Y., Moreau, J. 2011. Host plant variation plastically impacts different traits of the immune system of a phytophagous insect. *Functional Ecology*, 25(6): 1241-1247.
- Washburn, J.O., Kirkpatrick, B.A., Volkman, L.E. 1996. Insect protection against viruses. *Nature*, 383(6603): 767-767.
- White, G.F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*, 66: 302-303.
- Whitman, D.W. 2008. The significance of body size in the Orthoptera: a review. *Journal of Orthoptera Research*, 17(2): 117-134.
- Wilson-Rich, N., Dres, S.T., Starks, P.T. 2008. The ontogeny of immunity: Development of innate immune strength in the honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of Insect Physiology*, 54(10-11): 1392-1399.
- Wittkopp, P.J., Beldade, P. 2009. Development and evolution of insect pigmentation: Genetic mechanisms and the potential consequences of pleiotropy. *Seminars in Cell &*

- Developmental Biology, 20(1): 65-71.
- Yourth, C.P., Forbes, M.R., Baker, R.L. 2002. Sex differences in melanotic encapsulation responses (immunocompetence) in the damselfly *Lestes forcipatus* rambur. Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie, 80(9): 1578-1583.
- Zhao, P., Li, J., Wang, Y., Jiang, H., 2007. Broad-spectrum antimicrobial activity of the reactive compounds generated in vitro by *Manduca sexta* phenoloxidase. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 37: 952-959.
- Zerofsky, M., Harel, E., Silverman, N., Tatar, M. 2005. Aging of the innate immune response in *Drosophila melanogaster*. Aging Cell, 4(2): 103-108.
- Zuk, M., Bryant, M.J., Kolluru, G.R., Mirmovitch, V. 1996. Trade-offs in parasitology, evolution and behavior. Parasitology Today, 12(2): 46-47.
- Zuk, M., McKean, K.A. 1996. Sex differences in parasite infections: Patterns and processes. International Journal for Parasitology, 26(10): 1009-1023.
- Zuk, M., Simmons, L.W., Rotenberry, J.T., Stoehr, A.M. 2004. Sex differences in immunity in two species of field crickets. Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie, 82(4): 627-634.
- Zuk, M., Stoehr, A.M. 2002. Immune defense and host life history. American Naturalist, 160: S9-S22.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Dilek ARSLAN
Doğum Yeri : SAMSUN
Doğum Tarihi : 01.01.1989
Yabancı Dili : İngilizce
E-mail : D.Arslan-55@hotmail.com
İletişim Bilgileri : Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Ordu Üniversitesi	2014
Y. Lisans	Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı	Ordu Üniversitesi	2018

İş Deneyimi:

Görev	Görev Yeri	Yıl
Öğretmen	Ordu Atatürk Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi	2015

Sertifikalar:

ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi Temel Eğitimi 06.04.2013

ISO 17025 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarları Temel Eğitimi 06.04.2013

HACCP Planı Hazırlama ve Yönetimi Eğitimi 05.04.2013

ÇED Raporu Hazırlama Eğitimi 05.04.2013

Ege Tıp Genetik Çalıştay Uygulamalı Dizi Analizi Eğitimi 13-14.10. 2014

Doğa Bilimlerinde Arazi Kamp Teknikleri Eğitimi 26.11.2017- 03.12.2017

Analitik Doğa Kümeleme Ve Ordinasyon Teknikleri Eğitimi 08-14.01.2018

Biyolojik Çeşitlilik Ölçüm Süreçleri: Envanter, Veri Transferleri Ve Hesaplama Teknikleri Eğitimi 08-14.03.2018