

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ**  
**ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ZEBULARİNİN KONAK *Galleria mellonella* VE**  
**ENDOPARAZİTOİD *Pimpla turionella*'nın YAŞAM DÖNGÜSÜ**  
**İLE KONAK HEMOSİTLERİNE ETKİLERİ**

**BERNA KÖSE**

**KOCAELİ 2019**

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ




BİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZEBULARININ KONAK *Galleria mellonella* VE  
ENDOPARAZİTOİD *Pimpla turionellea*'nın YAŞAM DÖNGÜSÜ  
İLE KONAK HEMOSİTLERİNE ETKİLERİ

Berna KÖSE

Dr. Öğr. Üyesi Fevzi UÇKAN  
Danışman, Kocaeli üniversitesi  
Doç. Dr. Aylin ER  
Jüri Üyesi, Balıkesir Üniversitesi  
Doç. Dr. Halim Aytekin ERGÜL  
Jüri Üyesi, Kocaeli üniversitesi

  
.....  
  
.....  
  
.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 05.07.2019

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimi mümkün kılan, öğrencisi olmaktan hep gurur duyduğum, engin bilgi ve tecrübesinden hem eğitim hem öğretim gördüğüm, yardımını, hoşgörüsünü, sabrını hiçbir zaman esirgemeyen, çok değerli danışmanım Sayın Dr. Fevzi UÇKAN'a çok teşekkür ederim. Çalışmam boyunca beni tecrübeleri ve bilgisi ile aydınlatan çok değerli hocam Doç. Dr. Aylın ER'e içtenlikle teşekkür ederim. Hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen aileme, özellikle ablam Betül KÖSE'ye ve canım arkadaşım Ömer Emre DURSUN'a teşekkür ederim. Bu süreçte yanımda olan laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim. Son olarak hayallerime, mücadeleleme, azmime teşekkürü borç bilirim.

Haziran - 2019

Berna KÖSE

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	iv
TABLolar DİZİNİ .....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	viii
GİRİŞ .....	1
1. GENEL BİLGİLER .....	3
1.1. <i>Galleria mellonella</i> Biyolojisi .....	4
1.2. Parazitoid .....	5
1.3. <i>Pimpla turionellae</i> Biyolojisi .....	7
1.4. Zebularin .....	8
1.5. Böceklerde Bağışıklık Sistemi .....	10
1.5.1. Prohemositler .....	11
1.5.2. Granülositler .....	12
1.5.3. Plazmatosit .....	12
1.5.4. Sferülositler .....	12
1.5.5. Önositoidler .....	13
1.6. Önceki Çalışmalar .....	13
2. MALZEME VE YÖNTEM .....	16
2.1. Laboratuvar .....	16
2.2. Konak Kültürü .....	16
2.3. Parazitoid Kültürü .....	17
2.4. Zebularin .....	19
2.5. Uygulama .....	19
2.6. Zebularinin <i>G.mellonella</i> 'nın Biyolojisine Etkisi .....	19
2.6.1. Puplaşma süresi .....	20
2.6.2. Erginleşme süresi .....	20
2.6.3. Ergin birey kütleleri .....	21
2.6.4. Ergin yaşam süresi .....	21
2.6.5. Ergin birey boyları .....	21
2.7. Zebularinin <i>G. mellonella</i> Larvasının Hemosit Sayısına Etkisi .....	21
2.8. Zebularinin <i>G. mellonella</i> Hemosit Tiplerine Etkileri .....	24
2.8.1. Giemsa boyama çözeltisinin hazırlanması .....	24
2.9. Zebularinin <i>G. mellonella</i> Hemositlerinde Mitotik İndekse Etkileri .....	25
2.10. Zebularinin <i>G.mellonella</i> Hemositlerinde Mikronükleus Sayılarına Etkileri .....	25
2.11. Zebularinin Endoparazitoid <i>P. turionellae</i> 'nin Biyolojisine Etkisi .....	26
2.12. İstatistik .....	26
3. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	27
3.1. Zebularinin <i>G.mellonella</i> Larvalarının Yaşam Döngüsüne Etkisi .....	27
3.2. Zebularinin <i>P. turionellae</i> 'nin Yaşam Döngüsüne Etkisi .....	32

3.3. Zebularinin <i>G. mellonella</i> Hemosit Sayısına Etkileri .....	36
3.4. Zebularinin <i>G. mellonella</i> Hemosit Tiplerine Etkisi.....	39
3.5. Zebularinin <i>G.mellonella</i> Hemositlerinde Mitotik İndekse ve Mikroçekirdek Sayısına Etkisi.....	42
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	46
KAYNAKLAR.....	50
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER .....	57
ÖZGEÇMİŞ .....	58



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Zebularinin molekül yapısı.....	8
Şekil 1.2.	Böcek hemosit çeşitleri PR:Prohemosit, PL: Plazmatosit, GR: Granülosit, SP: Sferosit, CO: Önositoit (Nation, 2002).....	11
Şekil 2.1.	Bronskill (1961) tarafından önerilen, Sak ve diğ., (2006) tarafından kepek değiştirilmiş yarı sentetik besinin (bal, petek, kepek, gliserin ve saf su) içerisindeki <i>G. mellonella</i> larvaları. Ölçü Barı: 1cm .....	17
Şekil 2.2.	%30 bal çözeltisi emdirilmiş hidrofil ve steril pamukla beslenen <i>P.turionellae</i> ergin bireyleri. Ölçü Barı: 1cm .....	18
Şekil 2.3.	Üreme olgunluğuna ulaşan <i>P.turionellae</i> ergin dişi bireyleri konak pupaya yumurta bırakması. Ölçü Barı: 1cm.....	18
Şekil 2.4.	Zebularinin molekül yapısı.....	19
Şekil 2.5.	<i>G.mellonella</i> 'nın larva dönemi. Ölçü Barı: 1cm.....	20
Şekil 2.6.	<i>G.mellonella</i> 'nın pupa dönemi. Ölçü Barı: 1cm.....	20
Şekil 2.7.	<i>G.mellonella</i> 'nın ergin dönemi. Ölçü Barı: 1cm .....	21
Şekil 2.8.	Neubauer hemositometre lamı .....	22
Şekil 2.9.	Neubauerhemositometresi sayım alanı.....	23
Şekil 3.1.	Zebularinin <i>G.mellonella</i> 'nın biyolojik özelliklerine etkileri.....	28
Şekil 3.2.	Zebularinin <i>G.mellonella</i> ağırlığına etkisi. ....	28
Şekil 3.3.	Zebularinin <i>G.mellonella</i> boy uzunluğuna etkisi. ....	29
Şekil 3.4.	Zebularinin <i>P.turionellae</i> 'nin biyolojik özelliklerine etkileri. ....	33
Şekil 3.5.	Zebularinin <i>P.turionellae</i> ağırlığına etkisi. ....	33
Şekil 3.6.	Zebularinin <i>P.turionellae</i> boy uzunluğuna etkisi.....	34
Şekil 3.7.	1mg/L zebularin uygulanan <i>G.mellonella</i> hemositometreden görünüm. Ölçü Barı: 500 µm. ....	37
Şekil 3.8.	Zebularinin <i>G. mellonella</i> hemosit sayısına etkisi. ....	37
Şekil 3.9.	Zebularin uygulanan <i>G. mellonella</i> hemolenfinde Granülosit. Ölçü Bar: 10 µm.....	39
Şekil 3.10.	Zebularin uygulanan <i>G. mellonella</i> hemolenfinde Önositoid. Ölçü Bar: 10 µm.....	40
Şekil 3.11.	Zebularin uygulanan <i>G. mellonella</i> hemolenfinde Plazmatosit Ölçü Bar: 10 µm.....	40
Şekil 3.12.	Farklı konsantrasyonlarda Zebularinin <i>G. mellonella</i> hemosit tipine etkisi. ....	42
Şekil 3.13.	Zebularin uygulanan <i>G.mellonella</i> hemolenfinde mitotik evrede hemosit. Ölçü Bar: 10 µm. ....	42
Şekil 3.14.	Zebularinin <i>G. mellonella</i> hemositlerinde mitotik indekse etkisi. ....	44

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Zebularinin <i>G.mellonella</i> 'nın biyolojik özelliklerine etkileri.....	27
Tablo 3.2. Zebularinin <i>P.turionellae</i> 'nın biyolojik özelliklerine etkileri. ....	32
Tablo 3.3. Zebularinin <i>G. mellonella</i> hemosit sayısına etkisi. ....	36
Tablo 3.4. Zebularinin <i>G. mellonella</i> hemosit tipine etkisi. ....	40
Tablo 3.5. Zebularinin <i>G. mellonella</i> hemositlerinde mitotik indeks ve mikronukleusa etkisi. ....	43



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
=	: Eşittir
$\mu$ l	: Mikrolitre
$\mu$ m	: Mikrometre
$\mu$ M	: Mikromolar
cm	: Santimetre
gr	: Gram
L	: Litre
M	: Molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
$^{\circ}$ C	: Santigrat derece
Ppm	: Milyonda bir

### Kısaltmalar

Na <sub>2</sub> EDTA	: Disodyum Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
NaCl	: Sodyum Klorür
NaOH	: Sodyum Hidroksit
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
SH	: Standart Hata



## ZEBULARININ KONAK *Galleria mellonella* (L.) ve ENDOPARAZİTOİD *Pimpla turionellae* (L.) YAŞAM DÖNGÜSÜ İLE KONAK HEMOSİTLERİNE ETKİLERİ

### ÖZET

Epigenetikte son on yıldaki gelişmeler nedeniyle, DNA metilasyonu ilgi çekici hale geldi. DNA metilasyonundaki değişiklikler kansere, gelişimsel bozukluklara ve yanlış hücre farklılıklarına neden olabilir. Zebularin, kanser tedavilerinde ve antitümör baskılayıcı olarak kullanılan DNA metilasyonunun inhibitör ajanıdır. Zebularin etkisi hakkında ayrıntılı bilgi edinmek için model organizmalar üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerekir.

Çalışma boyunca konak *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera; Pyralidae) ve pup endoparazitoidi *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera; Ichneumonidae) için  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklık,  $60\pm 5\%$  bağıl nem ve 12:12 (Aydınlık: Karanlık) fotoperiyot uygulandı. Zebularinin *G.mellonella*'nın yaşam döngüsüne, toplam hemosit sayısına, hemosit tiplerine, mikroçekirdek, mitotik indeks değerlerine etkisi ve endoparazitoid olan *P.turionellae*'nin yaşam döngüsüne etkileri incelendi.

Zebularinin *G.mellonella*'nın ve *P.turionellae*'nin gelişim evrelerini geciktirdiği yaşam süresini kısalttığı tespit edildi. Zebularinin *G.mellonella*'nın hemosit sayısını azalttığı, hemosit tiplerinden granülosit, plazmatosit sayısının azaldığı, önositoid sayısının arttığı tespit edildi. Zebularin uygulanan *G.mellonella* hemolenfinde mitotik indeks ve mikronukleus oluşumunda azalma tespit edildi. Zebularinin farklı organizmalar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, gen ekspresyon mekanizmalarının, hücre farklılaşmalarının, kanser tehditlerinin ve gelişimsel bozuklukların anlaşılmasına katkıda bulunabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyolojik özellik, *Galleria mellonella*, *Pimpla turionellae*, Toplam ve farklı hemosit sayısı, Zebularin.

## EFFECTS OF ZEBULARINE ON LIFE CIRCLE OF HOST *Galleria mellonellae* (L.) AND ENDOPARASITOID *Pimpla turionellae* (L.) AND HOST HEMOCYTES

### ABSTRACT

Due to recent developments in epigenetics, DNA methylation has become more intriguing in last decades. Alterations in DNA methylation may cause to cancer, development disorders and cell differentiations. Zebularine is an inhibitory agent of DNA methylation which commonly used as a tumor suppressive in cancer treatments. Further researches on model organisms have importance to obtain detailed information about effect of zebularine.

All procedures involving the cultivating of host *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera; Pyralidae) and pupal endoparasitoid *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera; Ichneumonidae) were carried out in constant temperature  $25 \pm 2$  °C with  $60 \pm 5$  % relative humidity under a photoperiod of light/dark cycle 12 h cycle. The effects of Zebularine on the life cycle of *G. mellonella* and the endoparasitoid *P. turionellae* and also the total number of the hemocytes, hemocyte types, micronucleus and mitotic index were examined.

It has been determined that Zebularine shortens the life expectancy of *G. mellonella* and *P. turionellae*. It was determined that Zebularin decreased the number of hemocytes of *G. mellonella*, decreased the number of granulocytes, plasmatocyte and increased the number oenocytoids. Mitotic index and micronucleus formation were decreased in *G. mellonella* hemolymph. Determination of effects of zebularine on different organisms may contribute to understanding of gene expression mechanisms, cell differentiations, treatments of cancer and developmental disorders.

**Keywords:** Biological Features, *Galleria mellonella*, *Pimpla turionellae*, Total and differential hemocyte, Zebularine.

## GİRİŞ

Tarih boyunca dünya nüfusu artarak bugünlere gelmiştir. Her geçen gün artan dünya nüfusu, güncel verilere göre 7 milyarı geçmiştir (Weeks, 2010). Dünya nüfusundaki bu artışla beraber, doğal kaynakların verimli kullanılmaması, farklılaşan yaşam koşulları ve dünya üzerinde meydana gelen krizler ortaya çıkan sorunlardır (Gürlük ve Turan, 2008). Canlıların temel gereksinimi olan besin, artan nüfus artışıyla 2007 yılında dünya gıda krizi olarak kendini gösterdi (Gürlük ve Turan, 2008). T. Robert MALTHUS (1766-1834) nüfus hakkındaki araştırmasında yirminci yüzyılda insanoğlunun besin yetersizliği ile mücadele edeceğinden bahsetmiştir (Malthus, 1798). Bu kriz var olan gıda kaynaklarının ve buradan kazanılan gıda maddelerini dikkatli kullanma ve korunmasını zorunlu kılmaktadır. Gıda ihtiyacını karşılamak için tarım alanları genişletmek ekolojik ve sosyal nedenlerden dolayı mümkün olmadığı ve tarıma uygun alanların son sınıra ulaşmasından dolayı, var olan tarım alanlarından nitelikli daha fazla ürün elde etme çalışmaları başlamıştır. Nitelikli ve fazla ürün elde etmek amacıyla teknolojik çalışmalardan yararlanarak tarımı iyileştirmek amaçlanmıştır. Bu amaç için uygulanan yöntemlerden biri de tarım zararlılarına karşı kullanılan pestisitlerdir (Turabi, 2007). Tarım zararlılarının, tarım ürünlerinin miktarı ve kalitesi üzerinde etkisi vardır (Peter 1984, Ecevit 1988). Kimyasal kirliliğin ana nedenlerinden biride denetimsiz pestisit kullanımınıdır. Pestisit kullanımda hedef organizmaya % 0,015 - 6'sı ulaşırken geri kalan pestisit diğer organizmalara, toprağa ve yer altı sularında kimyasal kirlilik olarak birikir (Yıldız ve diğ., 2005). Aynı zamanda pestisit besin zincirine karışarak insanlara ulaşır ve ekolojik, ekonomik sorunlar ortaya çıkarmaktadır (Andow, 1997; Graethead, 1983).

Pestisit kullanımı organizmada direnç oluşturur ve pestisit etkili olabilmesi için kimyasal değiştirilir (Durmuşoğlu ve diğ., 2010). Bu döngüde doğadaki diğer canlılarda zarar görür, ekosistemde kimyasal madde miktarı artar ve ekonomik zarar verir (Ecevit, 1988; Fenemore, 1984). 1980 yılından sonra yeni mücadele yöntemi olan "Entegre Zararlı Yönetimi (IPM = Integrated Pest Management)" ekosisteme en az zararlı, tarım zararlılarıyla mücadeleyi amaçlamıştır (Edge, 2001; Fait,2001).

Fakat IPM yönteminde kullanılan bitki gelişim düzenleyiciler pestisitler gibi hedef olmayan canlılara, doğaya ve insana zararı azımsanacak kadar değildir (Erol ve Kılınçer, 1986; Takada ve diğ., 2001; Harris, 1983). Bu sebeplerden dolayı biyolojik kontrol yöntemi en kabul gören yöntemdir (Hill, 1983). Biyolojik kontrolde, doğal düşmanlardan en az risk taşıyanı ve seçici etki yapan parazitoidlerdir (Xu ve diğ., 2001; Andow ve diğ., 1997). Ekolojik can simitleri olarak ifade edilen parazitoidler biyolojik mücadelede kullanılan en önemli gruptur (Uçkan ve Gülel, 2002). Konak ve parazitoid sayısındaki artış birbiriyle bağlantılıdır. Konak sayısındaki artış, parazitoid sayısının da arttırır, aynı şekilde konak sayısındaki azalma parazitoid sayısının azaltmaktadır (Driesche, 1988; Faulds, 1991; Hassel ve Waage, 1984). Konak ve parazitoid sayısı birbiriyle bağlantılıdır. Çağımızın hastalıklarından biri olan kanserin tedavisinde kullanılan ilaçlardan biri de sitidin analogu olan zebularindir. Bu çalışmanın amacı zebularin maddesinin, model bir organizma olan *G.mellonella*'nın yaşam döngüsüne, toplam hemosit sayısına, hemosit tiplerine, mikroçekirdek, mitotik indeks değerlerine etkisi ve endoparazitoid olan *P.turionellae*'nin yaşam döngüsüne etkisi hakkındaki etkilerine bakılmasını amaçlamış olup gelecekteki yapılacak olan çalışmalar için temel bir çalışma görevi görmesi amaçlanmıştır.

## 1. GENEL BİLGİLER

Böceklerin Paleozoik dönem Pensilvanian periyodundan itibaren yani 300 milyon yıl öncesine ait fosil kayıtları mevcuttur. Jura periyodunda Lepidoptera ve Neuroptera üyeleri ortaya çıkmıştır. Mezozoik dönem Kretase periyodunda böcekler gelişip çeşitlenme göstermiştir. Günümüzdeki böcek yapısına, hassas ve ayrıntılı yapıya sahip böcek türleri Senozoik dönem ortaya çıkmıştır. Senozoik dönemde diğer hayvan gruplarına üstünlük sergileyen canlı grubunun böcekler olması nedeniyle bu nedenle bu döneme 'böcek devri' denir. Bitki tozlaşmasında önemli rolü olan böcekler, bitki evrimiyle paralel evrimleşme göstermektedir. "İnsanlar hastalık ve zararlılardan geriye kalan ürünleri kullanır." düşüncesi yaklaşık 1 milyon 300 bin böcek türünün olduğu %99'dan fazlasının doğaya yararlı, %1'den az bir kısmının ise doğaya canlılara zararlı olduğu görüşü savunulur (Nalçacıoğlu, 2008). Dünyadaki mahsulün 1/3'ü böcekler tarafından kullanılır, yok edilir. 150-200 böcek türü sürekli olarak, yaklaşık 6000 böcek türü ise nadir olarak doğaya mahsullere zarar verir (Akkuzu vd., 2002). Yaklaşık 10.000 tür (pire, bit, sinek, tahta kuruları, güveler, termitler, hamam böcekleri..) canlılar üzerinde sorun teşkil eder (Demirsoy, 2006). Mahsul kaybına neden olan sadece böcekler değildir. Bunun yanı sıra iklim, zararlı hayvanlar, bakteriler, parazit mantarların da olumsuz etkileri vardır. Böcek tarihi, insanlarla ve bitkilerle olan ilişkilerinden dolayı insanlık tarihi kadar eskiye dayanır. İklim değişikliği böcek popülasyonlarını ve bağlantılı olarak tarımı etkiler. Böcekler iklim değişikliğine duyarlıdır. Olası bir sıcaklık değişimi böceklerde biyoçeşitlilik, göç gibi değişimler ile sonuçlanır.

İklim değişikliği böcek popülasyonlarında yükselme ve dirençli biyotiplerin oluşmasına neden olur (Kambrekar, 2015). Böcek kaynaklı riskleri en aza indirmek için böceklerin izlenmesi gerekir (Susanne, 2012). Lepidoptera takımında (Kelebek) bulunan türlerin larvaları ekonomik kayıplara neden olur. Örneğin; *G.mellonella* (Büyük bal mumu güvesi) larvaları ve *Achroia grisella* F. (Küçük bal mumu güvesi) larvaları arı ürünleri, petek, bal mumu ile beslenir (Uygur ve Girişgin, 2008; Demirsoy, 2006).

## 1.1. *Galleria mellonella* Biyolojisi

Çalışmamızda konak olarak kullanılan Lepidoptera takımına ait *G.mellonella* (Büyük bal mumu güvesi) aynı zamanda holometabol bir böcek türü olup yumurta, larva, pup, ve ergin yaşam döngüsüne sahiptir (Akyol, 2013). *G.mellonella* larvaları, bal arısı (*Apis mellifera* L.) kovanlarında döküntülere ekonomik zarara neden olur. *G.mellonella* larvaları bal, bal peteği gibi maddelerle beslenmesinin yanında bal arılarını strese sokup verimi azaltarak arıcılık sektöründe zarara neden olur (Ellis vs.,2013). Amaç bu canlı türünü ortadan kaldırmak değil fiziksel, kimyasal, biyolojik ve farklı bazı yöntemler kullanarak popülasyon seviyesini değiştirmektir (Sezer ve Özalp, 2011). Son yıllarda yapılan çalışmalarda yapay besin hazırlayıp yetiştirilen böcekler ile farklı etkilere sahip ilaçların böcek üzerinde öldürücü, popülasyon azaltıcı etkisi üzerine çalışmalar artmıştır (Sugeçti, 2016; Çelik, 2017).

*G. mellonella* 'nın sistematikteki yeri şu şekildedir:

- Alem: Animalia
- Şube: Arthropoda
- Sınıf: Insecta
- Takım: Lepidoptera
- Üstfamilya: Pyraloidea
- Familya: Pyralidae
- Altfamilya: Galleriinae
- Cins: *Galleria* (Fabricius, 1798)
- Tür: *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758)

Günümüzde model organizma olarak sıklıkla *G.mellonella*, laboratuvar ortamında kültürü yapılması hızlı, ekonomik, yaşam döngüleri kısa ve çok fazla yumurta bırakan ve bu yumurtalardan çok sayıda sağlıklı birey yetişen bir türdür. Ergin bireyler nokturnal böceklerdendir. Geceleri aktif, gündüzleri karanlıkta saklanırlar. Çiftleşmiş ergin dişi bireyler tarafından yaklaşık 50-150 yumurta bırakılır.

Ergin dişi bireyler ömürleri boyunca yaklaşık 600-700 yumurta bırakırlar (Akyol, 2013). Arıların yumurtalara ulaşmasını engellemek isterler. Yumurtalarını genellikle arı peteklerinin ince çatlak bölgelerine bırakmayı tercih ederler. Yumurtalar beyaz krem renk aralığında, yumurta uzunluğu ortalama 0,45 mm ve yaklaşık 0,40 mm'lik

çapta olabilir. Bu nedenle çıplak gözle görmek zordur (Charriere ve Imdorf, 1997). Uygun ortam koşulları (optimum sıcaklık 29-35°C, bağıl nem %29-33) sağlandığında yumurtadan 8-15 günde larvalar çıkar. Larvalar 7 larval evreye sahiptir. Larva gelişimi besin, sıcaklık, nem oranına bağlıdır. Besin olarak arı kovanında bulunan petek, bal, polen, mum gibi besinlerle beslendiklerinden ekonomik zarara neden olurlar. Ortalama 28 mm'ye kadar gelişebilirler ve 40 günde larval gelişimi tamamlanır. Gelişimini tamamlayan larvalar koza örüp pup evresine geçer (Çağlar ve Tutkun, 2001). Pupal dönemde beslenme olmaz ve larva döneminde ekonomik kayıplara neden olurlar. Pupa sarımsak turuncu renktedir. Pupal dönem sıcaklık ve neme bağlı olarak 7-15 gün sürer. Pupa evresinden çıkan ergin bireyler yani kelebekler 24 saat içinde çiftleşir. Dişi bireyler erkek bireylerden daha iri ve büyüktür. Ergin dönemde beslenmeyen bireyler ortam şartlarına bağlı olarak dişi bireyler ortalama 1-3 hafta, erkek bireyler ortalama 2-4 hafta yaşar (Charriere ve Imdorf, 1997).

## **1.2. Parazitoid**

Doğadaki böcek popülasyonları predatörler, parazitoidler ve hastalık yapıcı patojenler tarafından doğal olarak kontrol edilir. Parazitler, parazitoidler, virüsler, predatörler ve bazı patojen bakteriler biyolojik kontrol ajanıdır. Biyolojik ajanlardan en az risk ile en çok spesifik etkiye sahip olan parazitoidler ekolojik can simitleri olarak nitelendirilirler (Xu ve diğ., 2001; Uçkan ve Gülel, 2002). Konak ile parazitoid arasında denge vardır. Bu denge, parazitoidlerin artışı konak ile orantılı olarak artar. Konak azalışı ise parazitoid sayısını azaltmaktadır (Driesche, 1988; Faulds, 1991; Hassel ve Waage, 1984). Parazitoid türler Hymenoptera, Diptera, Hemiptera ve Coleoptera takımlarında bulunur (Godfray, 1994). Biyolojik mücadele için parazitoid türlerin biyolojik özelliklerinin, konak ile ilişkisinin bilinmesi gerekir. Parazit ile parazitoid birbirine karıştırılan kavramlardır.

Parazitler, yaşamlarının büyük bir kısmını ya da tamamını yararlandıkları canlının (konak) üzerinde geçirirler. Bu ilişkide birbiriyle akraba olmayan en az iki tür vardır. Parazit tür konağa zarar verir ve konağı üremeyecek hale getirir (Caullery 1950; Sellier, 1959; Askew, 1971). 1913 yılında Reuter tarafından önerilen parazitoid kavramı, yalnızca larval dönemde konak üzerinde yaşayan canlılar için kullanılır.

Parazitoidleri parazitlerden ayıran özellikler şunlardır:

- Parazitoidler yalnızca larval dönemde konak üzerinde parazit olarak yaşar.
- Parazitoidler ergin dönemde konaktan ayrılır serbest yaşar.(İstisna Strepsiptera dişileri ergin dönemde parazit olarak yaşar.)
- Parazitoid larvası konağı öldürür.
- Parazitoidler kendilerine benzer taksonlara ilgi gösterirler (Doutt, 1959).

Parazitoid larvalarının konaktan beslenme davranışına göre endoparazitoid ve ektoparazitoid olarak iki gruba ayrılırlar. Konağın içinden gelişen parazitoidlere endoparazitoid, konağın dışından gelişen parazitlere ektoparazitoid denir (Shaw, 1983).

Konak endoparazitoid ilişkisi şu şekildedir:

- Ergin dişi parazitoid konağa yumurta bırakır.
- Parazitoidin salgıları ve yumurta bırakmasından sonra konakta oluşan fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler sonucu konak ölür.
- Parazitoid konakta gelişimini tamamlar ve çıkar (Reed, 1998).

Parazitoidler konaklarının gelişim evrelerine göre yumurta (Scheurer ve Aschermann, 1976; Prasad ve diğ., 1977), prepupa (Worthing, 1969; Richter ve Caceda, 1984), pupa veya ergin parazitoidi olarak gruplandırılır. Soliter parazitizmde bir konaktan bir parazitoid çıkar ve kalan yumurtalar konak tarafından yok edilir. Bir konaktan birden fazla parazitoid oluşmasına ise gregar parazitizm denir.

Bu parazitizm çeşitlerinde ortak olarak larva gelişimi konakta olur ve parazitoidin gelişimi konağın ölümü ile sonuçlanır (Godfray, 1994).

Yumurtlama sırasında konaklarını felç eden ya da öldüren türler idiobiont parazitoidlerdir ve genellikle ektoparazitoidtirler (Askew ve Shaw, 1986). Yumurtlama sırasında konağı öldürmeden, konağın gelişmesine izin veren sadece kısa süreli felce neden olan türler ise koinobiont parazitoidlerdir (Askew ve Shaw, 1986). Koinobiont parazitoidler genellikle endoparazitirler. Parazitoidler gelişimleri için seçtikleri konaklara çoğunlukla zarar verecek şekilde, bağışıklık, endokrin sistemleri ve metabolizmalarını düzenlenmesini sağlayan mekanizmalara sahiptirler (Beckage, 2004). Bazı parazitoidler yumurtalarını konağın besinine bırakır.



Beslenme sonrası yumurtalar konağa geçiş yapmış olur ve yumurtalar konak içinde gelişmeye başlar (Godfray, 1994). Parazitoidlerin yoğunluklu olarak tercih ettiği konaklar Lepidoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Diptera, Heteroptera, Hemiptera, Homoptera gibi böcek takımlarıdır.

### 1.3. *Pimpla turionellae* Biyolojisi

Parazitoid türler larvalarının beslenme davranışına göre endoparazitoid ve ektoparazitoid olmak üzere ikiye ayrılır (Godfray, 1994). Konak içine yumurta bırakarak ve konaktan beslenen parazitoidler endoparazitoidlerdir. Yumurtalarını konak üzerine bırakan ağız parçaları ile konak vücudundan beslenen parazitoidler ektoparazitoiddir. Konağa dişi parazitoid tarafından birden fazla sayıda yumurta bırakıldıysa ve sadece bir ergin birey yetişiyorsa soliter parazitoid olarak tanımlanır. Dişi parazitoid tarafından konağa birden fazla yumurta bırakılıyorsa ve buradan birden fazla ergin birey gelişiyor ise bu tür böceklere gregar parazitoid denir (Godfray, 1994). Çalışmamızda kullandığımız parazitoid türümüz *P.turionellae* idiobiont, soliter bir endoparazitoiddir. Çalışmamızda kullanılan Hymenopter takımına ait parazitoid *P.turionellae* birçok Lepidopter türünün prepup ve pupunda soliter, idiobiont pupal bir parazitoiddir. (Uçkan ve Gülel, 1990). Palearktik ve Doğu bölgelerde yayılış gösteren *P.turionellae* özellikle ormanlık alanları tercih eder. Hymenoptera takımı Ichneumonidae familyasına ait böcekleri titreşim sesi ile konak konum bulma özelliği gelişmiştir. Dişiler çevrelerinde bulunan konakları antenleri aracılığı ile aldığı titreşim ile bulurlar. Parazitoid larvaları konak hemolenfi ile beslenip larva evresini tamamladıktan sonra pupadan delik açarak dışarı çıkarlar. Ergin dişiler 3-6 gün süresinde pupalara yumurta bırakacak döneme ulaşırlar. Parazitoid yumurtasının konakta erginleşme süresi, parazitoidin cinsiyetine ve konağın büyüklüğüne bağlıdır. *G.mellonella* pupasında gelişme süresi dişilerde 17-19 gün, erkeklerde 16-18 gün arasında değişir. Dişi *P.turionellae* bireyleri vücutlarında bulunan ovipozitör ile yumurta bırakırlar. Larval dönemlerini konakta geçirirler ve harekete yardımcı yapıları bulunmaz. Konak pup beslenme, boşaltım yapamaz ve abdominal hareketleri sınırlıdır. Larvalar yaklaşık 10 gün içinde pupa dönemine sonra ergin döneme geçiş yaparlar. Pupa döneminde göz ve anten oluşumu başlar. Ortalama yaşam süreleri 50-60 gün arasındadır.

*P. turionellae*'nın sistematikteki yeri şu şekildedir:

-Alem: Animalia

-Şube: Arthropoda

-Sınıf: Insecta

-Takım: Hymenoptera

-Üstfamilya: Ichneumonoidea

-Familya: Ichneumonidae

-Altfamilya: Pimplinae

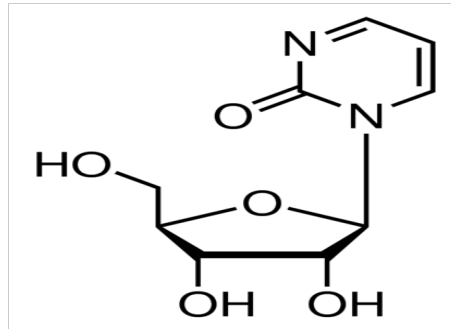
-Cins: *Pimpla*

-Tür: *Pimpla turionellae* (Linnaeus, 1758)

#### 1.4. Zebularin

Zebularin 1961 yılında sitidindeaminaz olarak üretildi (Kim vd., 1986). Zebularin 2-(1H)- primidinon halka içeren, nükleosit analoglarının demaninasyonunu engelleyici olarak kullanılan en sitidin analogudur ve sitidin deaminaz inhibitörü olarak geliştirilmiştir (Marquez, vd.,1980; Cheng, vd, 2004).

Zebularinin ilerleyen zamanda DNA demetilasyonuna sebep olduğu görülmüş ve kanserli hücrelerde metilasyon ile sessizleştirilmiş tümör baskılayıcı genleri yeniden aktive ettiği (Billam vd., 2010) için DNMT inhibitörü (Zhou vd., 2002) olarak vurgulanmıştır. Zebularin ikinci nesil kanser hücrelerini hedefleyen DNA metilasyonunun güçlü hidrofilik inhibitörüdür (Andersen, JB, vd., 2010; Cheng, JC, vd., 2004). Hücre sayısının artışı engelleyici etkisinin olduğu ve apoptozu uyarak antitümör etkiye sahip olduğunu gösterilmiştir (Andersen, 2010). Zebularinin yarılanma ömrü 37°C pH:7.0 PBS içinde 508 saattir (Cheng vd., 2004).



Şekil 1.1. Zebularinin molekül yapısı

Literatür taraması sonucunda zebularinin *P.turionellae* ve *G.mellonella*'ya etkileri hakkında bir çalışma yapılmadığı görüldü. DNA'da yapılan çalışmalara göre bulunan tek epigenetik modifikasyon metilasyondur. DNMT'ler aracılığı ile S-adenosil-methionin (SAM)'den CpGdi nükleotitlerinde bulunan sitozin rezüdlerinin primidin halkasının C5 pozisyonuna bir metil grubu eklenir (Foulks vd., 2012).

Böceklerde DNA metilasyonunun bir sonraki kuşakta farklı fenotipler ortaya çıkaracağı tahmin edilmektedir (Bonasio, 2014). İlaç keşfetme ve geliştirme çalışmalarında, *P.turionellae* ve *G.mellonella* modelinde zebularinin etkisine bakarak memeli ve insan modellerinde benzer özellikler gösterebileceği düşünülmektedir. Bir ajan in vitro koşullarında anlamlı sonuçlar veriyor ama *P.turionellae* ve *G.mellonella* modelinde anlamlı sonuçlar vermiyor ise memeli çalışmalarına devam edilmez. Bu sayede diğer testler için kullanacak memelilerin sayısı azaltılmış olur (Desbois ve Coote 2012).

*P.turionellae* ve *G.mellonella* modeli etik oranda kullanılan memeli modellerin yerini tamamen almasa da bu omurgasız modeli ilaç geliştirmenin erken evrelerinde toksisite ve etkinliği belirleyebilir. İn vivo anlamlı sonuçlara ulaşılmadığı takdirde çalışmaya son verilir ve başka ajanlara yoğunlaşılabilir (Desbois ve Coote 2012). Bu nedenle sitidin analogu olan Zeb'in konak *G.mellonella* ve endoparazitoidi *P.turionellae*'nin yaşam döngüsü ve konak hemositlerine etkileri tez kapsamında araştırıldı.

Model böcek fizyolojisi, böcek biyokimyası, parazitoid fizyolojisi, omurgalı ve omurgasız hayvan evrimi ve zebularine maruz kalan böceklerin ve dolaylı olarak insan sağlığı üzerinde yapabileceği etkilerin belirlenmesi hedeflendi. Zebularinin 0,25mg/ml, 1mg/ml, 4mg/ml, 8 mg/ml, 16 mg/ml, 32mg/ml dozları enjeksiyon ile *G.mellonella* son evre larvalarına verildi.

*G.mellonella* pupalaşma süresi, erginleşme süresi, ergin birey ağırlık, ergin yaşam süresi, ergin birey boy, hemosit sayısı, hemosit tipi, mitotik indeks, mikroçekirdek ve aynı dozlar kullanılarak *G.mellonella* larvalarının pupa evresine geçiş süresi, bu pupalar ile parazitlenen *P.turionellae* bireylerinin pupadan çıkış süresi, ergin yaşam süresi, ergin birey ağırlık, ergin birey boy uzunluğu sonuçları incelendi.

## 1.5. Böceklerde Bağışıklık Sistemi

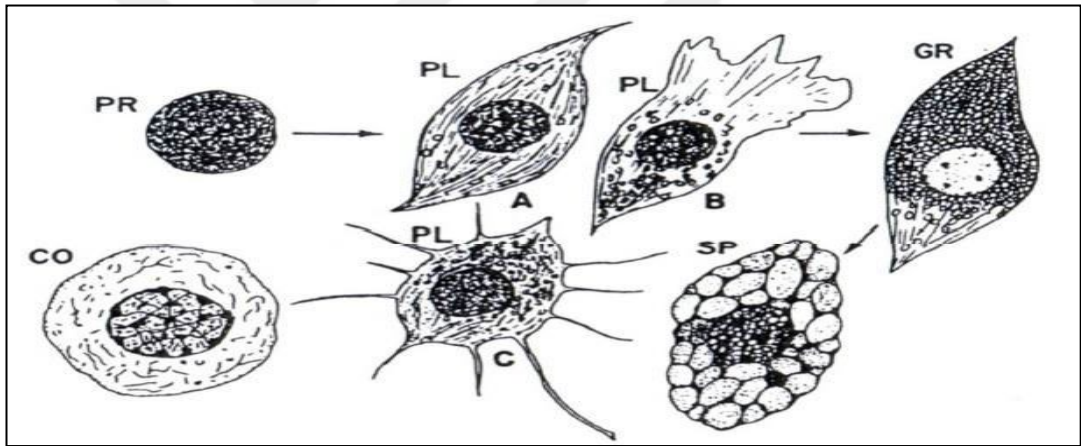
Omurgalı canlılarda kan ve lenfatik sıvı damar içinde dolaşır yani kapalı dolaşım sistemini sahiptirler. Omurgasız canlılar ise açık kan dolaşımına sahip canlılardır. Böceklerde ve diğer omurgasız canlılarda kan ve lenfatik sıvı ayrımı yoktur. Böcek dolaşım sıvısı hemolenf olarak isimlendirilir ve bu sıvı damar içinde dolaşmaz. Hemolenf yani vücut sıvısı, vücut boşluğunda (hemosöl) dolaşır (Rosales, 2011). Hemolenf böceğin vücudunun yaklaşık %5-40'ını oluşturur. İçeriğindeki pigmentlerden dolayı yeşilimsi sarımtırak olabildiği gibi renksizde olabilir. Hemolenf içeriğindeki kan hücrelerine hemosit denir. Hemositler besin maddelerinin, hormonların, boşaltım maddelerinin taşınmasını, besinlerin depolanmasını, yara iyileşmesi sağlar ve zehirli maddeleri detoksifiye eder. Yabancı organizmalara karşı canlıyı korur, fagositoz, melanizasyon, enkapsülasyon, nodül oluşumu gibi bağışıklık tepkilerinde rol oynayarak yabancı organizmaya cevap verir. Bu şekilde savunmada görev alan hemositler çoğunlukla plazmatositler ve granülositler olup melanizasyonda ise önositoidler rol alır (Levin, 2007).

Böcekler yeryüzünde sayısı en fazla olan canlı grubudur. Bu durum fiziksel yapıları, açık kan dolaşımına sahip olmaları ve bağışıklık sistemlerinin güçlü olmasından kaynaklanır (Bergin ve ark., 2006). Açık kan dolaşımına sahip olmaları, vücutlarına giren zararlılara karşı yanıt verme hızını arttıran bir durumdur. Bağışıklık sistemleri sürekli olarak gelişmiştir (Brodeur ve Vet, 1995).

Böceklerin bağışıklık sistemi memeli canlıların bağışıklık sistemine oldukça benzerdir. Bilimsel çalışmalarda memeli canlı kullanmak yerine böcekleri tercih etmek daha ekonomik ve etiktir. Bilimsel çalışmalarda memelilere en yakın sonuçları böcekler verir (Ramarao ve ark., 2012). Omurgalı canlılarda doğal ve edinsel bağışıklık sistemi görülür. Omurgalı canlılarda yabancı organizmaya karşı antikor üretimi gerçekleşir (Tunaz, 2004; James ve Xu, 2012). Böcekler gibi omurgasız canlılarda ise sadece doğal bağışıklık sistemi mevcuttur (Strand, 1995). Omurgasız canlılarda antikor üretimi yoktur (Tunaz, 2004; James ve Xu, 2012). Hemositler humoral ve hücrel bağışıklıkta görevlidir. Böceklerin bağışıklık sistemi oldukça komplekstir ve tam anlamıyla çözülememiştir. Böcekler herhangi bir nedenden dolayı savunmaya geçtiklerinde mesodermal kökenli hemositler ilgili bölgeye

toplanır ve her hemositin farklı görevi vardır (Lackie, 1988; Rosales, 2011). Hemositler morfolojik, histokimyasal ve görevlerine göre beş gruba ayrılır (Dubovskiy ve ark., 2016).

Çeşitli böcek türlerinin hemositleri ışık mikroskobu, faz-kontrast ve elektron mikroskobuyla incelenmiş ve hemosit çeşitleri özellikleri belirlenmiştir. Hemosit çeşitleri farklı böcek türlerinde değişiklik gösterir (Rosales, 2011). Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera, Coleoptera gibi takımlarda tanımlanan hemositler prohemositler, granülositler, plazmatositler, sferülositler ve önositoidlerdir (Ribeiro ve Brehelin, 2006). *G.mellonella* larvalarında beş çeşit hemosit tespit edilmiştir (Ashhurst ve Richards, 1964). Hemositler çevresel faktörlere karşı duyarlıdır. Buna bağlı olarak bazı maddelerin toksik etkisi, sitolojik zararları araştırılırken hemositler kullanılır (Sak, 2006).



Şekil 1.2. Böcek hemosit çeşitleri PR:Prohemosit, PL: Plazmatosit, GR: Granülosit, SP: Sferosit, CO: Önositoid (Nation, 2002).

### 1.5.1. Prohemositler

Tüm hemosit çeşitleri göz önüne alındığında prohemositler hemolenfte %1-7 oranında bulunur. Genellikle böceğin larval döneminde fazla bulunur. Hemolenfte bulunan en küçük hemosit çeşididir. Oval görüntüye sahip ve 4-10 µm boyutunda hemositlerdir (Levin, 2007). Oval şekildeki bu hemositlerin çekirdekleri hücreyi hemen hemen dolduracak büyüklüktedir ve golgi aygıtı, endoplazmik retikulum, mitokondri gibi organellerin sayısı azdır (Ribeiro ve Brehelin, 2006; Levin, 2007). Bazı araştırmacılar tarafından diğer hemositlerin kaynağı olarak görülmektedir. Çünkü sentriol ve mikrotübül içerirler ve mitotik hücrelerdir (Er, 2011).

### **1.5.2. Granülositler**

Granülositler oval yuvarlak görüntüye sahip 4-45 µm boyutunda hemositlerdir. Diğer hemositlere oranla hemolenfin %30-60'ını granülositler oluşturur. Elektron mikroskopuyla yapılan incelemelerde sitoplazmalarında membrana bağlı granül bulundurulur. Hücrenin boyutuna oranla çekirdekleri küçüktür (Wu ve ark., 2015). Granülositlerin sitoplazmasında granül, endoplazmik retikulum, lizozom, ribozom bulunur. Granülositlerin yabancı cisimlere yapışma özelliği vardır ve fagositoz yetenekleri yüksektir. Böcekler yabancı organizmayla savaşırken ya da yaralanma esnasında savunma amaçlı granülositler granül içeriğini bırakır (Levin, 2007). Eğer hedef organizma, granülositlerden büyük ise fagositoz yapamaz ama ilk tepkimeyi gerçekleştirirler. Bu tepkime enkapsülasyon ve nodülasyon oluşumu için önemlidir (Levin,2007).

### **1.5.3. Plazmatosit**

Şekillerinde değişiklik gösteren polimorfik hemosit türüdür. Daire, oval, mekik gibi şekillerde bulunabilirler. Boyları 20-40 µm olabilir (Ribeiro ve Brehelin, 2006). Çekirdekleri hücrenin ortasındadır, lizozomal enzim, endoplazmik retikulum, mitokondrileri bulunur (Levin, 2007; Wu ve ark., 2015). Hemolenfte en fazla oranda bulunan hemosit çeşididir (Levin, 2007). Diğer hemosit çeşitlerine oranla hemolenfte %30-60 oranında bulunur. Plazmatositler tek veya grup halinde bulunurlar. Transmisyon elektron mikroskopuyla yapılan incelemelere göre pinositik vezikül, vakuol, yabancı ayak, poliribozom gözlenmiştir (Ribeiro ve Brehelin, 2006). Plazmatositlerin granül içeriği oldukça azdır, bazen granül bulundurmaz. Fagositoz yapılamayan yabancı organizmaların etrafında enkapsülasyon, nodül oluştururlar (Er, 2011). Tüm hücrel savunma basamaklarında görev alırlar (Levin, 2007).

### **1.5.4. Sferülositler**

Yuvarlak, oval, düzensiz şekilli hücrelerdir ve 5-20µm boyutlarındadır. Düzensiz şekilli olmalarına neden olan sferül adı verilen küresel inkülüzyonlar taşırlar. Çekirdekleri küçük, hücrenin ortasında ve hareketsiz hemositlerdir. Histokimyasal yapısında mukopolisakkarit ve glikomukoprotein bulunur (Gupta, 1985). Granüllü

yapıya sahip olduklarından ışık mikroskopunda ayırt edilmeleri zordur (Wu ve ark., 2015). Yapılarında ribozom, golgi, lizozom, mitokondri, endoplazmik retikulum bulundurlar (Levin, 2007). Hemolenfte az bulunan hemosit tipidir (Hall, 1983). Sferüositlerin melanizasyon, fagositoz ve pıhtılaşmada görevli olduğu bilinmekle beraber bağışıklık sistemindeki görevleri net olarak belirlenememiştir (Er, 2011).

### 1.5.5. Önositoidler

Diğer hemosit çeşitlerine oranla en büyük yapıda olan önositoidler yaklaşık 54 µm boyutunda, genellikle oval yuvarlak yapıya sahip ve yanlardan basık şekildedirler (Hall, 1983). Hücre boyutuna göre çekirdekleri oldukça küçük ve eksantirik konumludur (Wu ve ark., 2015). Hemolenfte seyrek karşılaşılan hemosit tiplerinden olupyaklaşık %1-2 oranında bulunur. Transmisyon elektron mikroskopunda yapılan incelemelerde sitoplazmalarında bol ribozom bulundurur golgi aygıtı, granüllü endoplazmik retikulum sisternaları az ya da hiç gelişmemiş durumdadır (Ribeiro ve Brehelin, 2006; Uçkan ve Sak, 2010). Granül miktarları azdır (Wu ve ark., 2015). Büyümede etkili olan growth-blocking peptide (GBP) gibi proteinleri bulunduran hemositlerdir. Melanizasyon, önositoidlerin yapısında bulunan fenoloksidaz enzimi (proPO) ile gerçekleşir (Levin, 2007; Er, 2011).

### 1.6. Önceki Çalışmalar

Pellissier ve ark. (2016) *G. mellonella*'nın patojenleri algılayan bağışıklık sistemine sahip olması ve doğal bağışıklık sisteminde hücrelerle etkileşimli hastalıkların araştırılması için kusursuz bir omurgasız model organizma olduğunu belirtmiştir. Sak ve Uçkan (2009), cypermethrinin farklı konsantrasyonlarını *G.mellonella* besinlerine ilave ederek beslenmelerini sağlamış ve etkilerini gözlemlemiştir. Cypermethrin konsantrasyonunun artmasıyla *G.mellonella*'nın larval ve pupal gelişim süresinde gecikme, pup oluşma oranında gerileme ve ölüm oranında artış tespit edilmiştir. Uçkan ve ark. (2010), *P.turionellae* zehir enjeksiyonu ve parazitlenmesinin *G.mellonella* enkapsülasyon ve melanizasyonuna etkilerini belirlemiştir. 4. ve 24. saatte zehir konsantrasyonu arttıkça enkapsüle olmamış boncuk sayısında artış tespit edilmiştir. 4. saatte konsantrasyona bağlı artış ile zayıf enkapsülasyonda artış, 24. saatte ise bir değişim gözlenmemiştir. Konsantrasyona bağlı olarak güçlü enkapsülasyonda bir artış tespit edilmemiştir. Sak (2004), farklı dozlarda

cypermethrin ile hazırlanan besinle beslenen pup parazitoidi olan *P. turionellae* hemositlerine, apoptozis ve mikronukleusa etkisi incelenmiştir. Cypermethrin etkisiyle *P.turionellae* hemositlerinde mitotik aktivitede azalma, apoptotik hücre sayısında ve mikronukleuslu hücre sayısında ise artma tespit edilmiştir. Sak ve ark. (2011), *P.turionellae* zehirinin ve parazitlenmesinin *G.mellonella* hemolenfindeki protein miktarına etkisini araştırılmış ve değişime neden olmadığını tespit etmişlerdir. Altuntaş ve ark. (2012) farklı konsantrasyonlardaki gibberellik asidin *G.mellonella* larva hemositlerine etkilerini belirlemiştir. Gibberellik asidin tüm konsantrasyonlarında toplam hemosit sayısında artış tespit edilmiştir. Eskin (2017), gümüş ve çinko oksit nanopartiküllerinin *G.mellonella* hemositlerine etkisi araştırmıştır. Çinko oksit nanopartikülleri 1000 ppm ve üstü konsantrasyonlarında hemosit sayısını azaltırken, gümüş nanopartikülleri 500 ppm ve üstü konsantrasyonlarda hemosit sayılarını azaltmıştır. Yılmaz (2013) çeşitli konsantrasyonlarda alüminyum klorürü besine ilave ederek *G.mellonella* larvalarına uygulamıştır. Alüminyum klorür konsantrasyonları *G.mellonella* larvalarının hemosit sayılarında ve larva, pup, ergin ağırlıklarında değişikliğe neden olmamıştır. *G.mellonella* larvalarının gelişim sürelerini kısaltarak erginleşme sürelerinde değişikliğe neden olmuştur.

Nurulloğlu (2012), *G.mellonella* pupalarında yetiştirilen endoparazitoid *P.turionellae*'nin larva döneminde derece derece sıcaklık değişiminin etkisi tespit edildi. Dişi erkek bireylerde ergin çıkış süresi kontrol grubuna göre uzadığı ve bu süre özellikle düşük sıcaklıkta bekletilen deney grubu bireylerinde %50 oranında arttığı tespit edilmiştir. Ergin birey çıkış yüzdesi düşük sıcaklıkta (4°C) bekletme süresiyle birlikte azaldığı tespit edilmiştir. Kelly ve Kavanagh (2011), mantar tedavisinde ilaç olarak kullanılan kaspofunginin uygulamasıyla *G.mellonella* larvalarının hayatta kalma oranını arttırdığı ve kaspofunginin antifungal özelliklerine ve kaspofunginin insektin immün tepkisine neden olduğu tespit edilmiştir. Kalyoncu ve ark. (2005), farklı sıcaklık derecelerinin *G.mellonella* pupalarının gelişimine etkilerini araştırmış ve sıcaklığın böcek gelişimi üzerinde önemli etkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Nurulloğlu'nun (1998), *G.mellonella* pupalarıyla +4°C'de yapılan çalışmada pupalardan çıkış süresinin uzadığı pupalardan çıkan birey sayısının azaldığı ve erginlerin boy kilo azalışı olduğu tespit edilmiştir.



Kalyoncu ve ark. (2005), yaptığı çalışmada da pupalardan çıkan erginlerin küçük boyutta ve kanatlarının kırık olduğu, pupadan ergin bireylerin çıkış süresi yüzdesi deney süresine ve sıcaklığa göre azaldığı tespit edilmiştir. Mircic ve ark.(2010), çevresel faktörlerin böceklerde fizyolojik değişikliklere neden olduğu ve bu faktörlerin gelişimi olumsuz etkilediği, yaşam süresini kısalttığını açıklamıştır. Bunun nedeni detoksifikasyon mekanizmasının enerji harcanan bir durum olduğu ve enerji deposunu verimli kullanmak için geliştirdiği bir seçenek olabileceğini belirtmiştir. Ortel (1995), *G.mellonella* larvalarının besinine kurşun ve kadmiyum ekleyerek *G.mellonella* ve pup endoparazitoidi *P.turionellae*'ya etkilerini araştırmıştır. Yüksek dozlardaölüm oranının arttığı tespit edilmiştir. Durmuş ve Büyükgüzel (2008), sodyum tetraboratın *G.mellonella*'nın yaşam döngüsüne etkilerini araştırmıştır. Yüksek konsantrasyonlarda larvaların yaşam süresinin kısaldığı, 7. dönem larvaya ulaşan birey sayısının azaldığı, pup ve ergin döneme geçiş oranının azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca larvaların yumurta bırakma ve yumurtaların canlılığı azalmıştır. Büyükgüzel (2001a) çalışmasında novabioksinin düşük konsantrasyonlarda *P.turionellae*'nin yaşam süresini arttırdığı, yüksek konsantrasyonlardaki novabioksinin etkisi *P.turionellae*'nin yaşam süresini kısalttığı tespit edilmiştir.

Büyükgüzel (2001) çalışmasında novabioksin ve nalidiksik asidi *P.turionellae*'nin besinine karıştırarak %80,8 pupalaşma ve %69,94 ergin olma verimliliği gözlemiş, erginleşme süresinin kısaldığını tespit etmiştir. Büyükgüzel (2006) çalışmasında malathionun 100 ppm konsantrasyonunda *G.mellonella* pupalaşma oranını düşürdüğünü tespit etmiştir. Wu ve Yi (2015) çalışmasında krom ve kurşunun farklı konsantrasyonlarının *G.mellonella*'nin yaşam döngüsüne etkisini incelemişlerdir. Düşük konsantrasyonda (5µg/g) toplam hemosit sayısını arttırdığını, yüksek konsantrasyonda ise (100 µg/g) azalttığını tespit etmişlerdir.

## 2. MALZEME VE YÖNTEM

### 2.1. Laboratuvar

Kocaeli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi Laboratuvarında konak ve parazitoid kültürleri yetiştirildi. Konak ve parazitoid kültürlerinin yetiştirilmesinde ve tüm deneyler süresince, laboratuvarında  $25\pm 5^{\circ}\text{C}$  sıcaklık,  $\%60\pm 5$  bağıl nem ve 12: 12 saat (Aydınlık: Karanlık) ışıklandırma şartları sağlandı.

Laboratuvarında sıcaklık termostatlı radyatör kullanılarak, bağıl nem ise Weewell WHC730 Soğuk Buhar Makinesi Nem, Sinbo SAH-6109 Hava Nemlendirme Cihazı ve radyatörün her iki yanına asılan içi su dolu plastik kaplar ile sağlandı. Sıcaklık ve nem değerleri maksimum-minimum termometre ile devamlı olarak takip edildi. Aydınlık ve karanlık süresi fotoperiyot cihazları ile ayarlandı.

### 2.2. Konak Kültürü

Çalışmamızda konak kültürü olarak *G.mellonella* erginleri kullanıldı. Konak kültürünün devamlılığını sağlamak amacıyla, içinde doğal kararmış petek bulunan 1lt'lik kavanozlara 5 dişi ve 4 erkek *G.mellonella* erginleri bırakıldı. Kavanozların ağız kısmına hava sirkülasyonunu önlemeyecek bez, paket lastiği yardımıyla yerleştirildi. Üzerine küçük delikler açılmış kavanoz kapağı ile kapatıldı. Kavanozlar  $25\pm 5^{\circ}\text{C}$  sıcaklık,  $\%60\pm 5$  bağıl nem ve 24 saat karanlık ortam şartlarında laboratuvarında bekletildi. Yumurtadan yeni çıkan larvaların beslenebilmesi amacıyla, populasyon yoğunluğuna bağlı olarak kavanozlara Bronskill (1961) tarafından önerilen sentetik besinin Sak ve diğ., (2006) tarafından kepek miktarı değiştirilmiş hali ilave edildi (Şekil 2.1.). Uygun boyuta ( $0.21 \pm 0.01$  g) gelen larvalar zebuların ile ilgili deneylerde kullanıldı. Bir kısmı da içinde merdiven şeklinde katlanmış teksir kağıdı (tutunma yüzeyini arttırmak ve koza oluşturmasını kolaylaştırmak için) bulunan kavanoza alınarak, üzerine küçük delikler açılmış kavanoz kapağı ile kapatıldı.

Aynı laboratuvar şartlarında pupa evresine geçmeleri sağlandı. Pupa evresine geçen bireylerin bir kısmı konak kültürünün devamı için kullanıldı. Pupaların bir kısmı da pupa endoparazitoidi *P.turionellae* kültürünün devamı için kullanıldı. Pupalar; konak ve parazitoid kültürlerinin devamlılığı ve zebularin ile ilgili deneylerde gerekli larvaları elde etmek için kullanıldı.



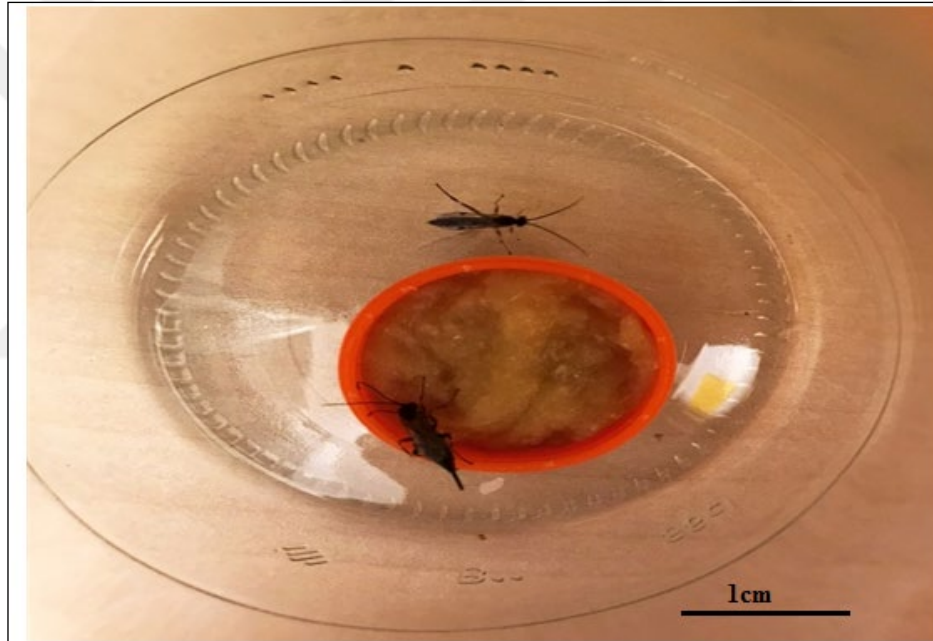
Şekil 2.1. Bronskill (1961) tarafından önerilen, Sak ve diğ., (2006) tarafından kepek değiştirilmiş yarı sentetik besinin (bal, petek, kepek, gliserin ve saf su) içerisindeki *G. mellonella* larvaları. Ölçü Barı: 1cm

### 2.3. Parazitoid Kültürü

Çalışmalarda, Kocaeli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Fiziyojisi Laboratuvarında yetiştirilen pupa endoparazitoidi *P.turionellae* kullanıldı. Parazitoid kültürlerinin yetiştirilmesinde ve deneyler süresince, laboratuvarında  $25\pm 5^{\circ}\text{C}$  sıcaklık,  $60\pm 5$  bağıl nem ve 12: 12 saat (Aydınlık: Karanlık) ışıklandırma şartları sağlandı. Parazitoid türün beslenmesi için düzenli aralıklarla %30 bal çözeltisi emdirilmiş hidrofil ve steril pamuk kullanıldı.

Ek olarak zaman zaman konak pupalarının hemolenfleri ile beslenmeleri sağlandı. Pupadan çıkan *P.turionellae* bireyleri 500 ml'lik cam kavanozlara tarih etiketlemesi

yapılarak 1 dişi - 1 erkek ya da 2 dişi - 3 erkek şeklinde yerleştirildi. Pupadan çıkış süresi 30 gün olan *P.turionellae* bireyleri üç yanı uygun ağla kapatılmış ahşap 25x25 cm ölçülerindeki kafeslerde yetiştirildi. Üreme olgunluğuna ulaşan yani pupadan çıkış süresi 10 gün - 30 gün arasında olan *P.turionellae* ergin dişi bireyleri cam deney tüplerine alındı ve konak pupaya yumurtalarını bırakması sağlandı. Parazitlenen pupalar 100 ml'lik cam kavanozlara alındı ve parazitlenme tarihi etiketlemesi yapıldı. Parazitlenen pupalar yukarıda belirtilen laboratuvar koşullarında gelişmeye bırakıldı. Yaklaşık 16 - 20 gün sonra parazitlenmiş konak pupalarından çıkan ergin *P.turionellae* bireyleri parazitoid kültürünün devamı ve zebularin ile ilgili deneylerde kullanıldı.



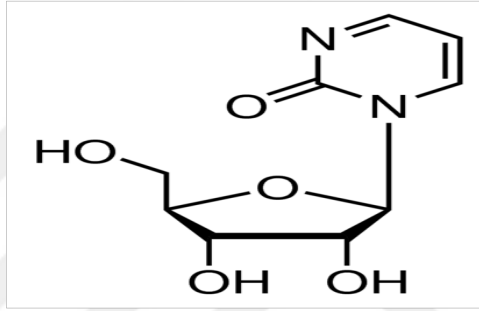
Şekil 2.2. %30 bal çözeltisi emdirilmiş hidrofil ve steril pamukla beslenen *P.turionellae* ergin bireyleri. Ölçü Barı: 1cm



Şekil 2.3. Üreme olgunluğuna ulaşan *P.turionellae* ergin dişi bireyleri konak pupaya yumurta bırakması. Ölçü Barı: 1cm

## 2.4. Zebularin

Zebularin (ZEB) (Şekil 2.4.), nükleozit analoglarının deaminasyonunu önlemek için sitidindeaminaz inhibitörü olarak geliştirilen 2-(1H)- primidin halkası içeren bir sitidin analogudur. Zebularin, DNA metiltransferazları (DNMT'ler) ile kovalent bir kompleks oluşturarak etki eden bir DNA metilasyon inhibitörüdür. DNA metil transferaz inhibitörleri (DNMTi) tümör hücre ölümlerini önlemede klinik çalışmalarda yaygın olarak kullanılır ve kansere karşı kemoterapi de yararlı olabileceğini göstermektedir. Zebularinin Kapalı Formülü:  $C_9H_{12}N_2O_5$  , Molekül ağırlığı: 228,20 g/mol, CAS-No. : 3690-10-6.



Şekil 2.4. Zebularinin molekül yapısı

## 2.5. Uygulama

Zebularin (Sigma 3690-10-6)'nin (0,25mg/ml, 1mg/ml, 4mg/ml, 8 mg/ml, 16 mg/ml, 32mg/ml) konsantrasyonları *G.mellonella*'nın ( $0.21 \pm 0.01$  g) larvalarına 10  $\mu$ l enjeksiyon yoluyla verildi. Kontrol gruplarını da herbirine 10  $\mu$ l saf su uygulanan bireyler ve herhangi bir işleme tabii tutulmayan bireyler oluşturdu. Bu şekilde zebularinin (0,25mg/ml-32mg/ml) farklı konsantrasyonları mikroenjektör (Hamilton) ile enjekte edilen *G.mellonella* bireylerin yaşam döngüsü, hemosit sayısı, hemosit tipi, mitotik indeks, mikrocekirdek ve aynı konsantrasyonlara maruz bırakılan *G.mellonella* pupaları ile parazitlenen parazitoid *P.turionellae*'nin yaşam döngüsü incelendi.

## 2.6. Zebularinin *G.mellonella*'nın Biyolojisine Etkisi

Farklı konsantrasyonlardaki zebularin (0,25mg/ml, 1mg/ml, 4mg/ml, 8 mg/ml, 16 mg/ml, 32mg/ml) dozları uygulanan *G.mellonella*'nın ( $0.21 \pm 0.01$  g) larvaları ve kontrol grubu 60x15 mm ölçülerde petrilere alınıp laboratuvarında  $25 \pm 5^\circ C$  sıcaklık,

%60±5 bağıl nem ve 12: 12 saat (Aydınlık: Karanlık) ışıklandırma şartlarında bekletildi. Zebularinin *G.mellonella*'nın biyolojisine etkilerini belirlemek amacıyla her gün gözlem çizelgeleri tutuldu.

### 2.6.1. Puplaşma süresi

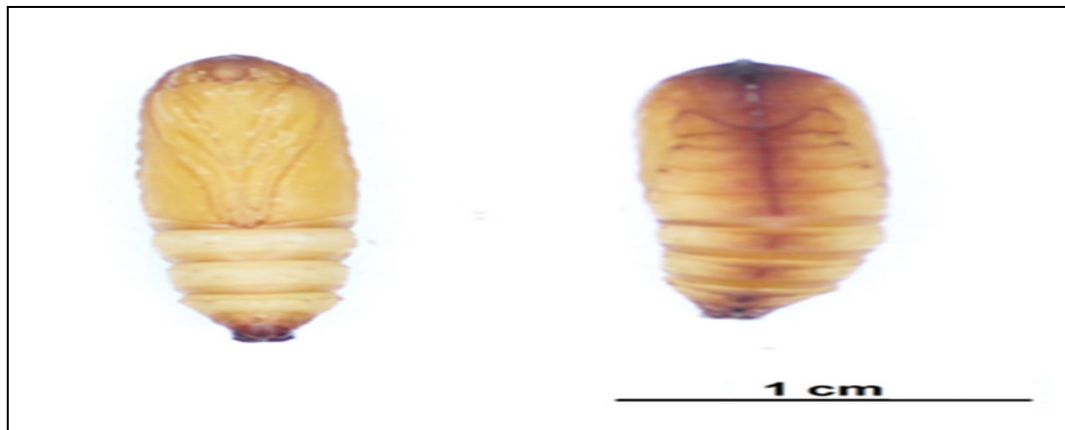
Farklı konsantrasyonlardaki zebularin (0,25mg/ml - 32mg/ml) dozları uygulanan *G.mellonella* (0.21 ± 0.01 g) larvalarının ve kontrol grubu *G.mellonella* larvalarının puplaşma süresine etkilerini belirlemek amacıyla her gün aynı saatte değişimler not alındı. Larvaların petriye alındığı günden itibaren geçen süre, gün olarak hesaplandı.



Şekil 2.5. *G.mellonella*'nın larva dönemi. Ölçü Barı: 1cm

### 2.6.2. Erginleşme süresi

Farklı konsantrasyonlardaki zebularin (0,25mg/ml - 32mg/ml) uygulanan *G.mellonella* (0.21 ± 0.01 g) larvalarının ve kontrol grubu *G.mellonella* larvalarının, pupa evresinden ergin birey oluncaya kadar geçen süre hesaplandı. Madde uygulanan her bireyin her gün aynı saatte kontrol edilerek, pupa olduktan sonra ergin birey oluncaya kadar geçen süre gün olarak hesaplandı.



Şekil 2.6. *G.mellonella*'nın pupa dönemi. Ölçü Barı: 1cm



### 2.6.3. Ergin birey kütleleri

Farklı konsantrasyonlardaki zebularin (0,25mg/ml - 32mg/ml) dozları uygulanan *G.mellonella* (0.21 ± 0.01 g) larvalarının ve kontrol grubu *G.mellonella* larvaları ergin birey oldukları gün, hassas terazide tartılarak miligram cinsinden kaydedildi.

### 2.6.4. Ergin yaşam süresi

Farklı konsantrasyonlardaki zebularin (0,25mg/ml - 32mg/ml) dozları uygulanan *G.mellonella* (0.21 ± 0.01 g) larvalarından ve kontrol grubu *G.mellonella* larvalarından erginleşen bireylerin her gün aynı saatte kontrolleri yapıldı ve değişimler not alındı. Her bireyin pupadan ergin çıkışının olduğu gün ilk gün kabul edildi ve ölünceye kadar geçen süre yaşam süresi olarak hesaplandı.



Şekil 2.7. *G.mellonella*'nın ergin dönemi. Ölçü Barı: 1cm

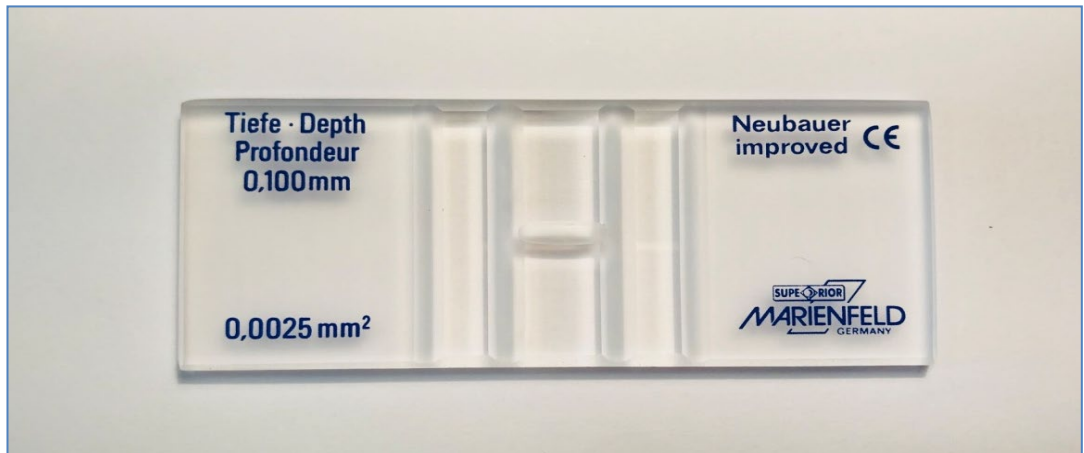
### 2.6.5. Ergin birey boyları

Farklı konsantrasyonlardaki zebularin (0,25mg/ml - 32mg/ml) dozları uygulanan *G.mellonella* (0.21 ± 0.01 gr) larvalarının ve kontrol grubu *G.mellonella* larvalarının ergin bireyleri, ölümlerinin gerçekleştiği gün boyları (mm cinsinden) ölçüldü.

## 2.7. Zebularinin *G. mellonella* Larvasının Hemosit Sayısına Etkisi

Farklı konsantrasyonlardaki zebularin (0,25mg/ml - 32mg/ml) dozları uygulanan *G.mellonella* (0.21 ± 0.01 g) larvalarının ve kontrol grubu *G.mellonella* larvalarının

hemosit sayıları belirlenmesi için deney grupları oluşturuldu. Deney grupları oluşturulurken her bir doz ve kontrol grupları için farklı zaman aralıklarında üç kez tekrar yapıldı ve toplam 15'er larva kullanıldı. Farklı konsantrasyondaki zebuların dozları ve saf su enjekte edilen *G.mellonella* larvalarından, enjeksiyonu takiben 24 saat sonra hemolenf alındı. Enjeksiyon yapılan bireyler enjeksiyonu takiben 24 saatlik süreyi  $25\pm 5^{\circ}\text{C}$  sıcaklık,  $\%60\pm 5$  bağıl nem ve 12: 12 saat (Aydınlık: Karanlık) ışıklandırma şartlarında geçirdi. Farklı konsantrasyondaki zebuların enjekte edilmiş larvaların ve kontrol grubu larvalarının hemosit sayılarını belirlemek için larva birinci arka bacak üzerinden ince uçlu diseksiyon iğnesiyle delindi, 5  $\mu\text{l}$  hemolenf mikropipet tüp (Sigma) yardımıyla alındı. Elde edilen hemolenf buz üzerinde bekletilen ve içerisinde 45  $\mu\text{l}$  pıhtılaşma engelleyici solüsyon (0,098 M NaOH, 0,186 M NaCl, 0,017 M  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  ve 0,041 M Citric asit, Ph 4,5) (Nealis ve Frankenhyzen 1990; Tojo ve ark., 2000; Teramoto ve Tanaka, 2004; Er ve ark., 2010) bulunan eppendorf tüplerine aktarıldı. 1: 10 oranında seyreltilmiş hücre süspansiyonu mikropipet yardımıyla birkaç kez çekilip bırakılarak karıştırıldı ve hücre süspansiyonundan 10  $\mu\text{l}$  mikropipet ile çekilerek 0,1 mm derinlikteki Neubauer hemositometresine (Improved Neubauer Hemocytometer; Superior, Germany) (Şekil 2.8.) aktarıldı. Hemositler Nikon Ti-U model inverted mikroskop faz- kontrast da 60x büyütmede sayıldı ve bir mililitre hemolenftekihemosit sayısı belirlendi.



Şekil 2.8. Neubauer hemositometre lamı

Neubauer hemositometresi birbirinden bir çukurla ayrılan iki farklı sayım alanına sahip bir sayma lamıdır (Şekil 2.8.). Her sayım alanının köşelerinde dört tane 1  $\text{mm}^2$ lik (büyük kareler) bölümler bulunur. Bu bölümler 16 tane orta büyüklükte



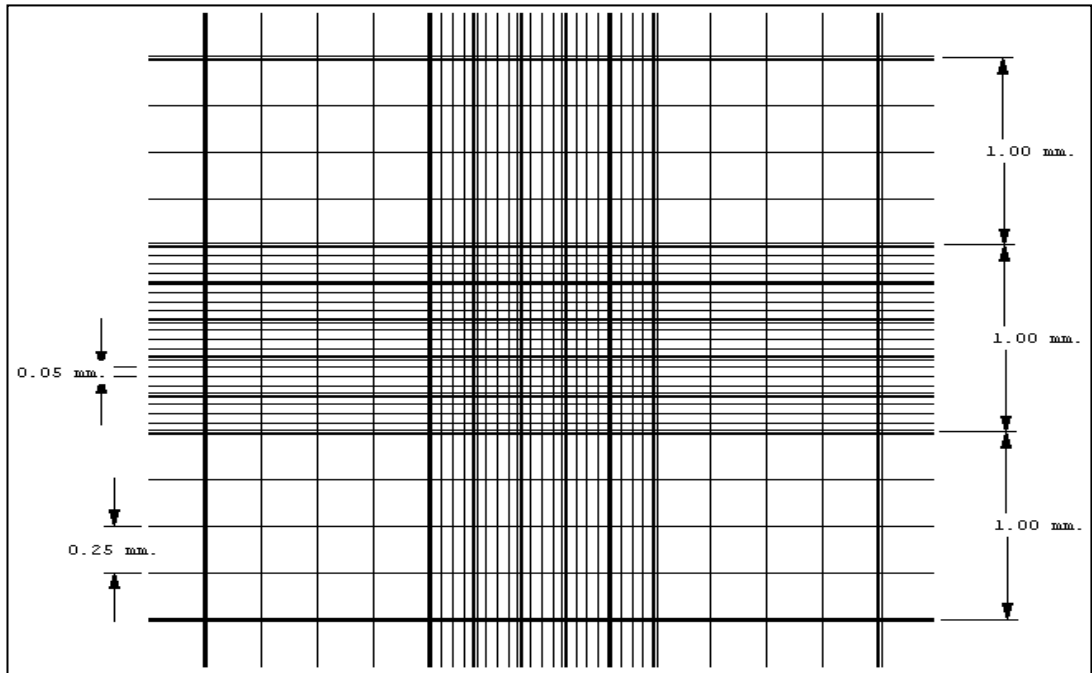
kareye ayrılmıştır ( $1/4 \times 1/4 = 1/16 \text{ mm}^2$ ). Orta alanda bulunan büyük kare ise 25 tane orta büyüklükte kare içerir. Orta büyüklükteki karelerin çevresi çift çizgi ile çevrilmiştir. Orta karelerin her biri 16 küçük kareye bölünmüştür (Şekil 2.9.). Orta alanda 25 tane orta kare, 400 tane küçük kare vardır. Küçük bir karenin alanı  $1/20 \times 1/20 = 1/400 \text{ mm}^2$ 'dir. Sayım alanı dışındaki kenarlar, sayım alanı yüzeyinden 0,1 mm yüksektir. Hemositometrenin lameli sayım alanı üzerine konunca lamel ile sayım alanı yüzeyi arasında 0,1 mm'lik boşluk kalır. Bu sayede lam ve lamel arasında kalan her karenin hacmi hesaplanabilir.

En büyük ( $1 \text{ mm}^2$  'lik) karenin hacmi=  $1 \times 1 \times 0,1 = 0,1 \text{ mm}^3$

$0,1 \text{ mm}^3 = 0,0001 \text{ cm}^3 = 0,0001 \text{ ml}$ 'dir.

Sayım için hemositometre lamının orta kısmında bulunan, 25 orta büyüklükteki karenin tamamı yani  $1 \text{ mm}^2$ 'lik büyük karenin tamamı sayılarak toplam hemosit sayıları belirlendi. Mililitredeki toplam hemosit sayılarının hesaplanması için aşağıdaki formülden yararlanıldı:

Hücre sayısı / ml = Büyük karede saydığımız hücre sayısı X Sulandırma katsayısı X  $10^4$



Şekil 2.9. Neubauer hemositometresi sayım alanı

## 2.8. Zebularinin *G. mellonella* Hemosit Tiplerine Etkileri

Farklı konsantrasyonlardaki zebularin (0,25mg/ml - 32mg/ml) dozları uygulanan *G.mellonella* larvalarının hemosit tiplerine etkilerinin belirlenmesi için  $0.21 \pm 0.01$  gr son evre larvaları kullanıldı. Farklı konsantrasyondaki zebularin dozları ve saf su enjekte edilen *G.mellonella* larvalarından, enjeksiyonu takiben 24 saat sonra hemolenf alındı. Deney grupları oluşturulurken her bir doz ve kontrol grupları için farklı zaman aralıklarında üç kez tekrar yapıldı ve toplam 15'er larva kullanıldı. Kontrol grubunda herhangi bir işleme tabi tutulmamış larvalardan da aynı şekilde hemolenf alındı. Enjeksiyon yapılan bireyler enjeksiyonu takiben 24 saatlik süreyi  $25 \pm 5^\circ\text{C}$  sıcaklık,  $\%60 \pm 5$  bağıl nem ve 12: 12 saat (Aydınlık: Karanlık) ışıklandırma şartlarında geçirdi. Farklı konsantrasyondaki zebularin enjekte edilmiş larvaların ve kontrol grubu larvalarının hemosit tiplerini belirlemek için larva birinci arka bacak üzerinden ince uçlu diseksiyon iğnesiyle delindi ve 5 µl mikrokapiler tüp (SIGMA) yardımıyla hemolenf alındı. Melenizasyona izin verilmeden, alkolle temizlenmiş lamlar üzerine hemolenf yayıldı oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Hemositlerin fiksasyonu için lam kuruduktan sonra lamlar 5 dakika metanol: asetik asit (3:1) içinde bekletildi. Metanol üzerinden akıtılarak kurumaya bırakıldı. Fiksasyon işleminden sonra kuruyan lamlar giemsa boya çözeltisine alınarak 10 dakika bekletildi ve boyanmaları sağlandı. Boyanma süresi sonunda lamlar saf su daha sonra PBS ile yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Daha sonra preparatlar entellan ile kapatıldı ve preparatlar Nikon Eclipse Ti marka mikroskopta incelendi. Hemosit tipleri belirlenerek fotoğrafları çekildi.

### 2.8.1. Giemsa boyama çözeltisinin hazırlanması

Boyama çözeltisinin hazırlanabilmesi için, 3 ml Giemsa boya solüsyonu (MERCK Giemsa's Azure Eosine Methylene Blue Solution), içerisinde 57 ml PBS (pH = 7,4) bulunan lam boyama kaplarına yavaşça damlatılarak karıştırıldı ve 10 dakika bekletildi. Tespit işleminden sonra kurutulmuş lamlar giemsa boyama çözeltisi içine alınarak boyanmaları sağlandı. Preparatlar giemsa boya çözeltisi içinde 10-15 dakika bekletildikten sonra saf su ile yıkandı ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruyan lamlar entellan ile kapatılarak Nikon Eclipse Ti marka mikroskopta incelendi ve hemosit tipleri belirlenerek fotoğrafları çekildi. Hazırlanan

preparatlardaki hemosit tipleri Er ve diğ. (2010)'nin yaptıkları çalışmadan yararlanılarak belirlendi. Her doz ve kontrol grupları için hazırlanan preparatlarda 250 hücre sayılarak farklı hemosit tiplerinin oranları tespit edildi.

### **2.9. Zebularinin *G. mellonella* Hemositlerinde Mitotik İndekse Etkileri**

Zebularinin *G.mellonella* hemositlerinde mitotik indekse etkilerinin belirlenmesi için deney grupları oluşturuldu. Farklı konsantrasyonlardaki zebularin (0,25mg/ml - 32mg/ml) dozları,  $0.21 \pm 0.01$  gr *G.mellonella* larvalarına mikroenjektör (HAMILTON) ile enjekte edildi. Kontrol grubu, herhangi işleme tabi tutulmamış larvalar ve saf su enjekte edilmiş larvalardan oluşturuldu. Zebularin ve saf su enjekte edilen larvaların hemolenfi, enjeksiyonu takiben 24 saat sonra alındı.

Enjeksiyon yapılan bireyler enjeksiyonu takiben 24 saatlik süreyi  $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$  sıcaklık,  $\%60 \pm 5$  bağıl nem ve 12:12 saat (Aydınlık: Karanlık) ışıklandırma şartlarında geçirdi. Farklı zaman aralıklarında her doz ve kontrol grupları için 3 tekrar 15'er larva kullanıldı. Hemolenf larvalarının birinci arka bacak üzerinden ince uçlu diseksiyon iğnesiyle delindi, 5 µlmikrokapiler tüp (SIGMA) yardımıyla hemolenf alındı. Alınan hemolenfler melanizasyona izin verilmeden önceden alkolle silinmiş lamlar üzerine alındı ve kurumaya bırakıldı. Fiksasyon için lamlar 5 dakika metanol: asetik asit (3:1) içinde bekletildi. Beş dakika sonunda metanol üzerinden akıtılarak kurumaya bırakıldı. Fiksasyon işleminden sonra kuruyan lamlar giemsa boya çözeltisine alınarak 15 dakika bekletildi ve boyanmaları sağlandı. Boyanma süresi sonunda lamlar saf su daha sonra PBS ile yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Daha sonra preparatlar entellan ile kapatıldı ve preparatlar Nikon Eclipse Ti marka mikroskopta incelendi. Mitotik indeksin belirlenmesi için mitoz evresindeki hemositler sayıldı.

### **2.10. Zebularinin *G.mellonella* Hemositlerinde Mikronükleus Sayılarına Etkileri**

Zebularinin *G.mellonella* hemositlerin de mikronükleus sayısına etkisinin belirlenmesi için deney grupları oluşturuldu. *G.mellonella*  $0.21 \pm 0.01$  gr son evre larvalarına, çeşitli zebularin (0,25mg/ml - 32mg/ml) konsantrasyonları ve saf su enjekte edildi. Bu bireylerin hemolenfi 24 saat sonra alındı. Enjeksiyon yapılan bireyler enjeksiyonu takiben 24 saatlik süreyi  $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$  sıcaklık,  $\%60 \pm 5$  bağıl nem ve

12: 12 saat (Aydınlık: Karanlık) ışıklandırma şartlarında geçirdi. Kontrol grubunda muamelesiz yani hiçbir işleme tabi tutulmamış aynı ağırlıktaki larvalardan hemolenf alındı. Alınan hemolenfler melanizasyona izin verilmeden önceden alkolle silinmiş lamalar üzerine alındı ve kurumaya bırakıldı. Fiksasyon için lamalar 5 dakika metanol: asetik asit (3:1) içinde bekletildi ve beş dakika sonunda üzerinden metanol akıtılarak kurumaya bırakıldı. Fiksasyon işleminden sonra kuruyan lamalar giemsa boya çözeltisine alınarak 10 dakika bekletildi ve boyanmaları sağlandı. Boyanma süresi sonunda lamalar saf su daha sonra saf su ile yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Daha sonra preparatlar entellan ile kapatıldı ve preparatlar Nikon Eclipse Ti marka mikroskopta incelendi. İnceleme işleminde her konsantrasyon ve kontrol gruplarında 3 tekrar toplam 15'er birey 100'lük objektif altında mikronükleusa sahip hücre sayısı not alındı. Mikronükleuslu hücrelerin tespiti Venier vd. (1997) tarafından gösterilmiş kriterlerle belirlendi. Buna göre nükleustan ayrı ve temas olmayan, ana nükleustan küçük ve nükleusla aynı tonda boyanan yapılar mikronükleus olarak değerlendirildi.

### **2.11. Zebularinin Endoparazitoid *P. turionellae*'nin Biyolojisine Etkisi**

Zebularinin farklı konsantrasyonları (0,25mg/ml, 1mg/ml, 4mg/ml, 8 mg/ml, 16 mg/ml, 32mg/ml) uygulanan konak *G.mellonella* (0.21 ± 0.01 g) lavraları ve kontrol grubu larvaları 60x15 mm ölçülerde plastik petrilere alınıp laboratuvarında 25±5°C sıcaklık, %60±5 bağıl nem ve 12: 12 saat (Aydınlık: Karanlık) ışıklandırma şartlarında bekletildi. Her gün gözlem çizelgesi tutuldu. Konak *G.mellonella* larvalarının pup evresine girdiği süre kaydedildi. Deney ve kontrol grupları ergin *P.turionellae* dişileri tarafından parazitlendirildi yani yumurta bırakılması sağlandı. *G.mellonella* larvalarının pupa olma süresi, *P.turionellae* bireylerinin pupadan çıkış süresi, ergin yaşam süresi, ergin ağırlık ve ergin boy uzunlukları her gün yapılan periyodik takipler ile belirlendi.

### **2.12. İstatistik**

Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz deney verilerinin ortalamaları SPSS 18. versiyonunda one-way varyans analizi ya da Independent Samples T test kullanılarak hesaplandı. One-way varyans analizinde ortalamaların homojen olması durumunda Tukey HSD (Tukey's Honestly Significant Difference) testi, homojen olmaması durumunda ise Tamhane T2 testi kullanıldı (P<0,05).

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1. Zebularinin *G.mellonella* Larvalarının Yaşam Döngüsüne Etkisi

Zebularinin *G.mellonella*'nın biyolojik özelliklerine etkileri Tablo 3.1 de verilmiştir.

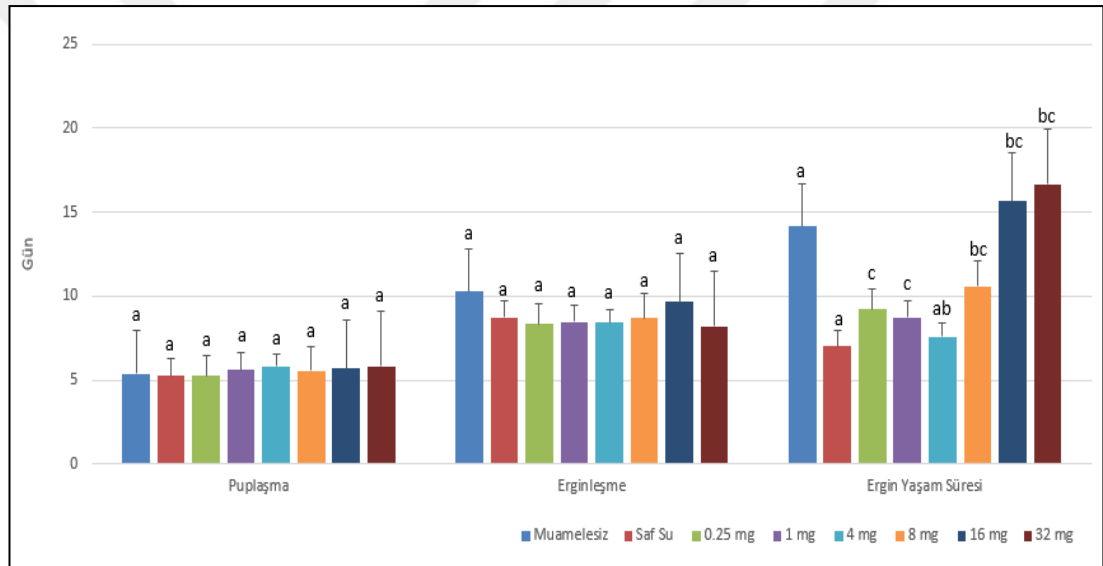
Tablo 3.1. Zebularinin *G.mellonella*'nın biyolojik özelliklerine etkileri.

Konsantrasyonlar mg/L	<i>G. mellonella</i> Pupalaşma Süresi (Gün)	<i>G. mellonella</i> çıkış süresi (Gün)	<i>G. mellonella</i> Ergin Yaşam Süresi (Gün)	<i>G.mellonella</i> Ağırlık (mg)	<i>G.mellonella</i> Boy (mm)
Muamelesiz	5,4 ±0,6 <sup>a</sup>	10,2± 0,6 <sup>a</sup>	14,1 ± 0,4 <sup>ab</sup>	78,6±0,3 <sup>a</sup>	14,0 ±0,0 <sup>a</sup>
Su	5,2± 0,2 <sup>a</sup>	8,7± 0,3 <sup>a</sup>	7,0± 0,8 <sup>b</sup>	78,4± 0,4 <sup>a</sup>	14,8 ± 0,2 <sup>a</sup>
0,25	5,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	8,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,9 ± 0,5 <sup>ab</sup>	85,1±0,0 <sup>a</sup>	15,1 ±0,1 <sup>a</sup>
1	5,6 ±0,6 <sup>a</sup>	8,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	8,7 ±0,9 <sup>ab</sup>	76,6±0,2 <sup>a</sup>	14,8 ±0,4 <sup>a</sup>
4	5,8 ±0,3 <sup>a</sup>	8,4 ±0,4 <sup>a</sup>	7,6 ±0,3 <sup>b</sup>	79,4± 0,3 <sup>a</sup>	14,7 ±0,3 <sup>a</sup>
8	5,5 ±0,0 <sup>a</sup>	8,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	10,6 ±0,3 <sup>ab</sup>	75,5± 0,3 <sup>a</sup>	14,3 ±0,3 <sup>a</sup>
16	5,6 ±0,1 <sup>a</sup>	9,6 ±0,7 <sup>a</sup>	15,6 ±0,5 <sup>a</sup>	73,5± 0,2 <sup>a</sup>	14,3 ±0,1 <sup>a</sup>
32	5,4 ±0,2 <sup>a</sup>	7,1 ±1,0 <sup>a</sup>	12,4 ±0,7 <sup>ab</sup>	78,1± 0,6 <sup>a</sup>	11,4 ±3,2 <sup>a</sup>

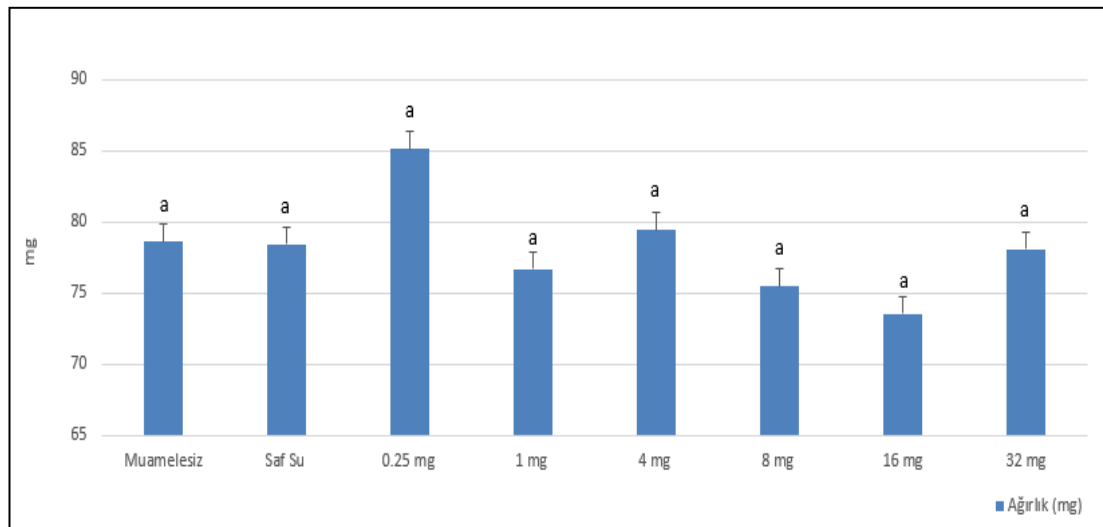
\*Aynı sütunda ve satırda aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0,05). Farklı zaman aralıklarında her doz ve kontrol grupları için 3 tekrar 15'er larva kullanıldı.

Yapılan deneyler sonucunda kontrol grupları ve farklı konsantrasyonlari zebularin uygulanan *G.mellonella* bireyleri karşılaştırıldığında en uzun puplaşma süresinin, uygulanan konsantrasyonlar arasında 4 mg/L zebularinde gerçekleştiği tespit edildi. Puplaşmanın en az olduğu konsantrasyon 0,25 mg/L zebularin ve kontrol su grubunda olduğu görüldü. *G.mellonella*'nın ergin birey olarak çıkış süresi ise en uzun süre kontrol muamelesiz grubu *G.mellonella* bireylerinde olduğu tespit edildi.

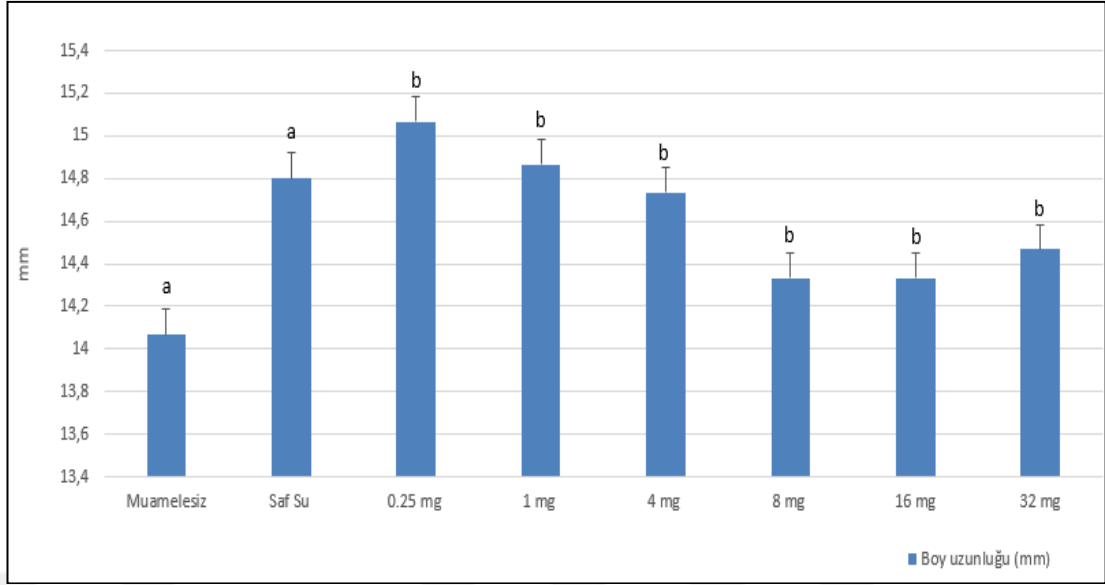
*G.mellonella*'nın ergin birey olarak çıkış süresi ise en kısa süre 32 mg/L zebularinde olduğu tespit edildi. *G.mellonella* bireylerinde ergin yaşam süresi en uzun 16mg/L zebularında en kısa ergin yaşam süresinin ise 4mg/L de olduğu tespit edildi. *G.mellonella*'nın ergin birey kütleleri karşılaştırıldığında en fazla ağırlık 0,25 mg/L zebularin konsantrasyonunda, en az ağırlık ise 16mg/L zebularin konsantrasyonunda olduğu tespit edildi. *G.mellonella*'nın ergin birey boyları karşılaştırıldığında en uzun boya sahip bireyler 0,25mg/L zebularin konsantrasyonu enjekte edilen deney grubu, en kısa boya sahip deney grubu ise 32mg/L zebularin konsantrasyonu uygulanan bireylerde olduğu tespit edildi. Şekil 3.1. zebularinin *P.turionelllae* biyolojik özelliklerine etkileri.gösterildi.



Şekil 3.1. Zebularinin *G.mellonella*'nın biyolojik özelliklerine etkileri.



Şekil 3.2. Zebularinin *G.mellonella* ağırlığına etkisi.



Şekil 3.3. Zebularinin *G.mellonella* boy uzunluğuna etkisi.

Yukarıda Tablo3.1.'de belirtildiği gibi farklı zebularin konsantrasyonları *G.mellonella* yaşam oranını düşürdü, gelişim süresini ise kısalttı. Daha önce yapılan çalışmalarda *G.mellonella* üzerine uygulanan farklı maddeler, antibiyotiklerinde zebularinin etkisine benzer etki yaptığı görüldü. Çeşitli maddelerin, antibiyotiklerin, ilaçların *G.mellonella* ve diğer böcek türleri üzerinde etkisi üzerinde çok sayıda çalışma vardır. Fakat bu çalışmada sitidin analogu olan zebularin ile yapılan ilk çalışmadır. Sak ve Uçkan (2009), farklı cypermethrin konsantrasyonlarının *G.mellonella* üzerinde etkisini araştırmıştır. Cypermethrinin *G.mellonella* gelişim sürelerinde gecikme, yaşam süresinde kısalma, ölüm oranında artış gibi etkileri, *G.mellonella*'nın zebularinin farklı konsantrasyonlarına verdiği cevap ile benzerdir. Kelly ve Kavanagh (2011), mantar hastalığında tedavi amaçlı kullanılan kaspofungi ilacının *G.mellonella* larvalarının yaşam süresini arttırdığını tespit etmiştir.

Yaptığımız çalışmada 16mg/L zebularin konsantrasyonunda *G.mellonella* yaşam süresinin arttığı tespit edilmiştir. Ortel (1995), kurşun ve kadmiyum ile hazırlanmış besini *G.mellonella* larvalarına etkilerini incelemiştir. Yüksek dozlarda gelişimin yavaşladığını ve ölümün arttığını gözlemlemiştir. Yaptığımız çalışmada 0,25 mg/L, 1mg/L, 4 mg/L, 8 mg/L, 32mg/L zebularin konsantrasyonunda *G.mellonella* yaşam süresinin kısalttığı tespit edilmiştir. Benzimidazol grubu olan ve antibiyotik olarak kullanılan triklabendazolun *G.mellonella* larvaları ile yapılan çalışmada böceğin larva, pup ve ergin evrede yaşama ve gelişme süresine etkisi incelenmiştir.

Çalışma sonucunda triklabendazolun böceğin hem larval hemde ergin dönemde gelişim süresi ve tüm gelişim evrelerinde yaşama oranını olumsuz etkilediği görülmüştür. Yaptığımız çalışmayı destekleyecek sonuçlardır (Kılıç, 2015). Bitki büyüme hormonu olan Gibberellik asit farklı konsantrasyonlarda, konak *G.mellonella*'ya uygulandı ve konak çıkış süresini kısattı. Yaptığımız çalışmada da *G.mellonella* ergin çıkış süresi 32mg/L zebularin konsantrasyonunda (7,1 ±1,0) kısaldığı tespit edildi (Usmani ve Knowles, 2001; Öztürk, 2010).

Büyükgüzel (2006) çalışmasında malathionun 100 ppm konsantrasyonunda *G.mellonella* pupalaşma oranını düşürdüğünü tespit etmiştir. Durmuş ve Büyükgüzel (2008), sodyum tetraboratın *G.mellonella*'nın yaşam süresini kısalttığını, pupa ve ergin döneme geçiş süresini uzattığını tespit etmiştir.

Zebularinin *G.mellonella* üzerindeki etkileri, farklı kimyasalların ya da antibiyotiklerin diğer takımlardaki böcekler üzerinde etkileri ile benzer sonuçlar vermiştir. Örneğin, endoparazitoid olan *Trichogramma* cinsini besin ortamına ilave edilen nistatin, sodyum benzoat ve metil phidroksibenzoat gibi maddeler yaşam ve gelişimi olumsuz etkilediği tespit edilmiştir (Xie ve diğ. 1986, Grenier ve Liu 1990, 1991).

Farklı konsantrasyonlardaki zebularin uygulanan bireyler ile kontrol grubu bireyleri arasında gün farkı vardır. *G.mellonella* ergin dönemde beslenmez sadece çiftleşir ve yumurta bırakır. Ergin yaşam süresinin kısılması yumurta bırakma sayısını azaltır. Buda dolaylı olarak neslinin azalmasına neden olur. Durmuş (2006), malathionun farklı konsantrasyonlarında *G.mellonella* pupalaşma oranını düşürdüğünü gözlemlemiştir.

Yapılan araştırmalarda kimyasal maddelerin ilaçların böceklerin yaşam ve gelişimini olumsuz etkilemesinin nedenini serbest radikallerin toksitesine bağlı olduğu şeklindedir (Cohen ve Crittenden, 2004).

Yapılan bazı çalışmalarda farklı antibiyotiklerin *G.mellonella* üzerinde oksidatif stres oluşturdukları bundan dolayı yaşam ve gelişim evreleri olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir (Kastamonuluoğlu, 2013). Zebularininde diğer kimyasal maddeler ve antibiyotiklerle aynı yönde etki oluşturmasının nedeni oksidatif stres, serbest



radikallerin toksitesi ile ilişkili olabilir. Benzer bir çalışmada alüminyum klorürün *G.mellonella* üzerinde etkileri incelendiğinde gelişim süresini olumsuz etkilediği, yaşam süresini kısalttığı ve ağılıkta istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Bunun nedeni alüminyum klorürün olumsuz etkilerinin bu tür tarafından regüle edilebildiği göstermektedir (Yılmaz, 2013). Zebuların uygulanan *G.mellonella* bireylerinin yaşam ve gelişim sürelerinde değişiklik meydana gelirken, ağırlıkta istatistiksel olarak bir fark bulunamadı. Bunun bir nedeni de zebularının olumsuz etkilerinin regüle edilmeye çalışılması olabilir. Yapılan başka bir çalışmada yine benzer sonuçlar alınmıştır.

*Epirrita autumnata* (Lepidoptera: Geometridae)'da bakır, nikel, kadmiyum, kurşun ve çinko ağırlığı etkilememiştir (Van Ooik, 2007). Ağırlık değişiminin olmamasının bir nedeni böceklerde türe bağlı olarak kimyasal maddelere karşı seçimli fizyolojik mekanizmalarının var olduğunu gösterir (Van Ooik, 2007).

Hayvanların kimyasal maddelere verdiği tepkiler, canlının türüne, maruz kaldığı madde konsantrasyonuna ve süresine bağlı olarak değişir (Wu ve ark. 2006). Araştırmalara göre böcekler maruz kaldıkları kimyasal maddeleri özellikle ağır metalleri detoksifikasyon mekanizması ile dışkı ile yada deri değiştirerek dışarı atarlar. *Spodoptera litura* larvalarına verilen farklı konsantrasyonlardaki nikelin büyük kısmını dışkı ile dışarı attığı görüldü (Sun ve ark., 2008).

Klinik bir madde olan mebendazolun antihelmintik yani insan vücuduna giren parazitlerden kurtulma amaçlı kullanılan aynı zamanda böcek mücadelesinde kullanılan insektisit bir maddedir. Mebendazolün düşük dozları *G.mellonella* larvalarında yaşam ve gelişimi olumsuz etkilememiştir.

Yapılan çalışmalarda kimyasal maddelerin böcek türleri üzerinde olumsuz etkilere neden olan konsantrasyonlar ve bunların etki mekanizmaları hakkında ayrıntılı bilgi yoktur (Liles 1958, Singh ve House 1970, Griffiths ve Beck 1974, Costa 1997, Büyükgüzel ve Yazgan 2002, Alverson ve Cohen 2002).

Yapılan çalışma insan sağlığı için önemi olan sitidin analogu ve kanser ilacı olarak kullanılan zebularının model organizma *G.mellonella*'ya etkisi, böcek mücadelesinde kimyasal insektisit olarak kullanılabilirliğini ortaya koymak amacıyla önem taşır.

### 3.2. Zebularinin *P. turionellae*'nin Yaşam Döngüsüne Etkisi

Zebularinin *P.turionellae* biyolojik özelliklerine etkileri Tablo 3.2 'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Zebularinin *P.turionellae*'nin biyolojik özelliklerine etkileri.

Konsantrasyonlar mg/L	<i>G. mellonella</i> Pupalaşma Süresi(gün)	<i>P.</i> <i>turionellae</i> çıkış süresi (Gün)	<i>P.</i> <i>turionellae</i> Ergin Yaşam Süresi (gün)	<i>P.</i> <i>turionellae</i> Ağırlık (gr)	<i>P.</i> <i>turionellae</i> Boy (mm)
Muamelesiz	6,3±0,77 <sup>a</sup>	16,2±0,7 <sup>a</sup>	38,57±1,5 <sup>a</sup>	18,8±0,6 <sup>a</sup>	11,2±0,54 <sup>a</sup>
Su	5,1±0,26 <sup>a</sup>	15,1±0,6 <sup>a</sup>	33,7±2,01 <sup>a</sup>	16,6 ±0,5 <sup>a</sup>	10,3±0,38 <sup>a</sup>
0,25	5,7±0,20 <sup>a</sup>	15,4±0,2 <sup>a</sup>	21,56±2,66 <sup>c</sup>	15,5±0,5 <sup>a</sup>	9,7±0,05 <sup>b</sup>
1	4,8±0,15 <sup>a</sup>	15,2±0,1 <sup>a</sup>	21,83±0,97 <sup>c</sup>	16,5±0,7 <sup>a</sup>	9,4±0,15 <sup>b</sup>
4	5,18±0,36 <sup>a</sup>	14,7±0,2 <sup>a</sup>	33,22±1,95 <sup>ab</sup>	16,4±0,3 <sup>a</sup>	9,9±0,29 <sup>b</sup>
8	5,33±0,26 <sup>a</sup>	15,0±0,5 <sup>a</sup>	25,27±1,12 <sup>bc</sup>	15,2±0,1 <sup>a</sup>	9,8±0,09 <sup>b</sup>
16	5,7±0,40 <sup>a</sup>	15,4±0,3 <sup>a</sup>	28,06±1,73 <sup>bc</sup>	15,2±0,4 <sup>a</sup>	9,6±0,07 <sup>b</sup>
32	5,7±0,40 <sup>a</sup>	16,1±0,6 <sup>a</sup>	29,7±1,48 <sup>bc</sup>	16,5±0,3 <sup>a</sup>	9,8±0,20 <sup>b</sup>

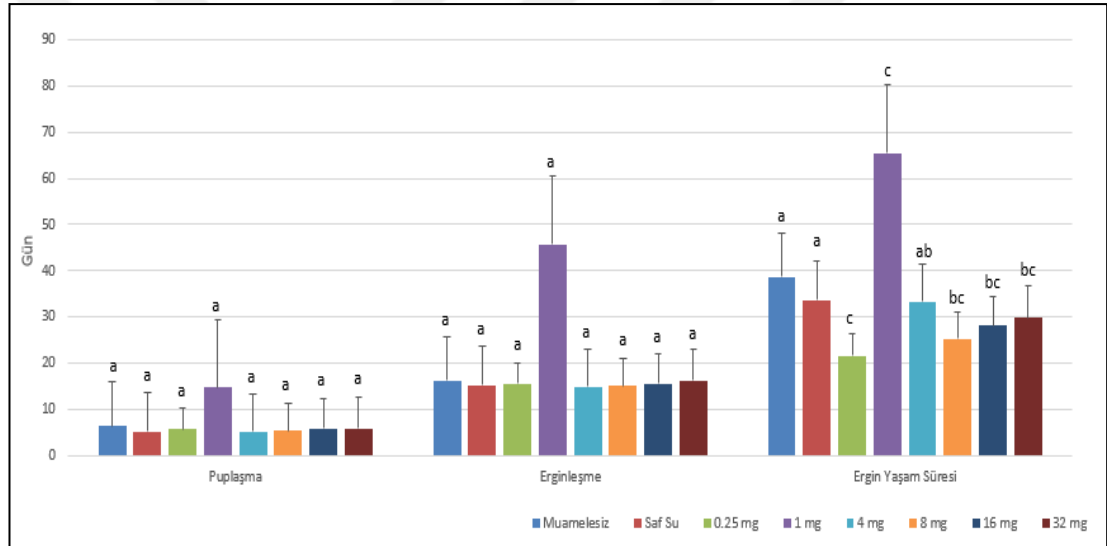
\*Aynı sütunda ve satırda aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0,05). Farklı zaman aralıklarında her doz ve kontrol grupları için 3 tekrar 15'er larva kullanıldı.

Yapılan deneyler sonucunda kontrol grupları ve farklı konsantrasyonlarki zebularin uygulanan *G.mellonella* bireyleri incelendiğinde en uzun süren pupalaşma muamelesiz kontrol grubunda, en kısa süren pupalaşmanın ise 1mg/L de olduğu tespit edildi. Farklı zebularin konsantrasyonlu pupalar endoparazitoid olan *P.turionellae* ile parazitlendiğinde *P.turionellae* ergin çıkış süresi en uzun sürede tamamlayan deney grubunun kontrol muamelesiz olduğu, en kısa sürede ergin çıkışın ise 4mg/L zebularin konsantrasyonunda olduğu tespit edildi.

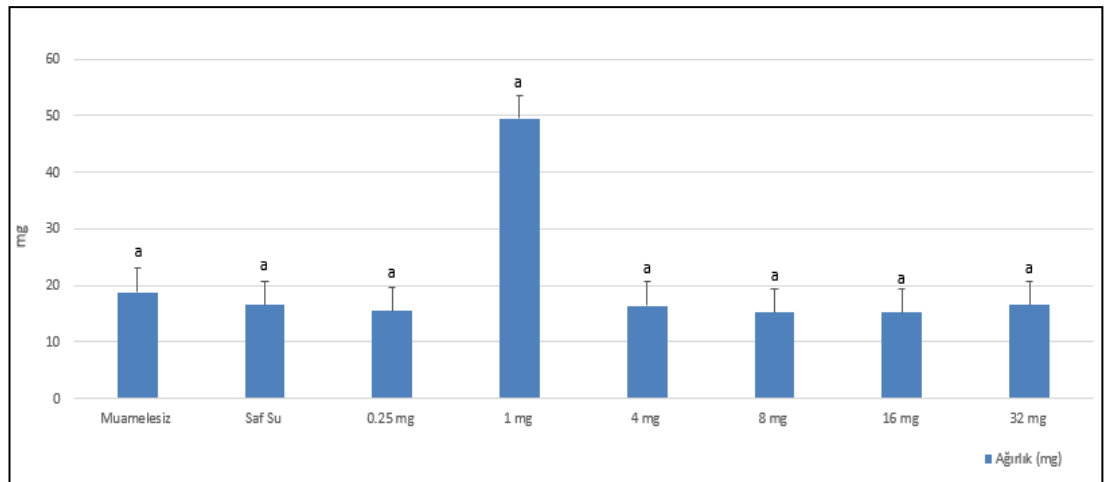
*P.turionellae*'nin ergin yaşam süresi kontrol grubu ve farklı konsantrasyonlardaki zebularin ile karşılaştırıldığında en uzun süren ergin yaşam süresinin ise muamelesiz kontrol grubunda olduğu, en kısa süren yaşam 0,25 mg/L zebularin

konsantrasyonunda tespit edildi. Kontrol grupları ve farklı zebularin konsantrasyonları karşılaştırıldığında *P.turionellae* ergin birey kütleleri karşılaştırıldığında en fazla kütle muamelesiz kontrol grubundaki bireylerde, en az kütle ise 8mg/L, 16mg/L zebularin konsantrasyonunda olduğu tespit edildi.

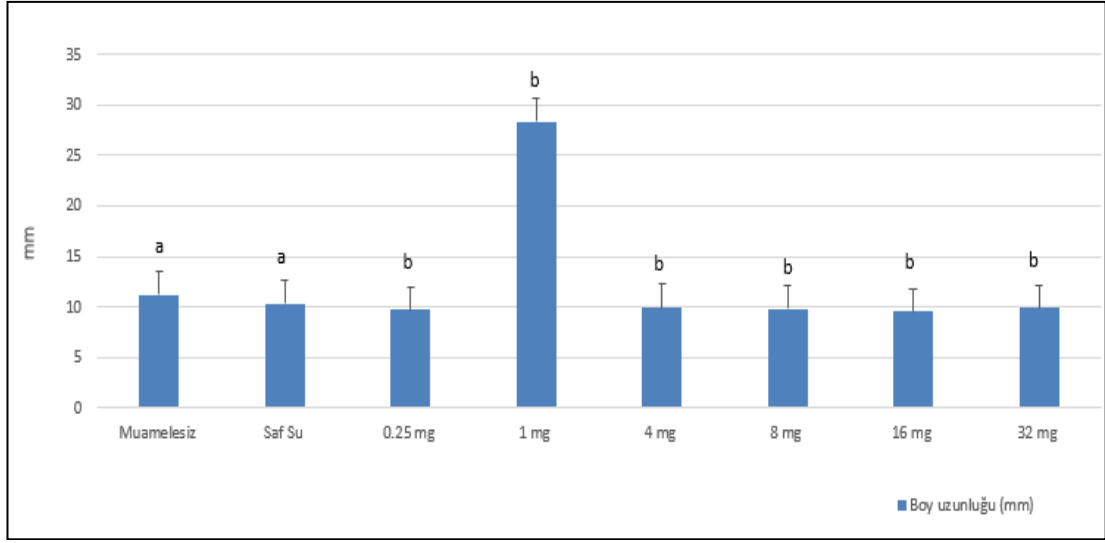
Farklı zebularin konsantrasyonlu pupalar endoparazitoid olan *P.turionellae* ile parazitlendiğinde erginleşen *P.turionellae* erginlerinin boy uzunlukları kontrol grubu *P.turionellae* bireyleri ile karşılaştırıldığında en uzun boy kontrol muamelesiz deney grubunda en kısa boya sahip 1mg/L zebularin konsantrasyonuna sahip deney grubunda olduğu tespit edildi. Şekil3.4. zebularinin *P.turionellae* yaşam ve gelişim süresine etkisi gösterildi.



Şekil 3.4. Zebularinin *P.turionellae*'nin biyolojik özelliklerine etkileri.



Şekil 3.5. Zebularinin *P.turionellae* ağırlığına etkisi.



Şekil 3.6. Zebularinin *P.turionellae* boy uzunluğuna etkisi.

Yapılan çalışmalarda bakırın *P.turionellae* yaşam ve gelişimi üzerinde etkisi araştırılmıştır ve çalışmada en uzun yaşam süresi kontrol grubu bireylerinde gözlenmiştir. Bakır konsantrasyonu arttıkça yaşam süresi kısaldığı tespit edilmiştir (Yılmaz, 2013). Zebularin konsantrasyonu arttıkça *P.turionellae* yaşam süresi kısalmıştır. Bizimde yaptığımız çalışmada kontrol grubu muamelesiz ve kontrol su grubu bireylerinde, zebularin konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında en uzun yaşam süresine sahiptir. Yani literatür yaptığımız deney sonuçlarını destekliyordur. Büyükgüzel ve Yazgan (1996), penisilin, streptomisin, rifampisin endoparazitoid *P.turionellae*'nin yaşam ve gelişim süresine etkisi incelenmiş ve gelişimin geciktiği, yaşam süresinin ise azaltığı belirlenmiştir. Çalışmamızda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Büyükgüzel (2001a) çalışmasında novabioksinin düşük konsantrasyonlarda *P.turionellae*'nin yaşam süresini arttırdığı, yüksek konsantrasyonlardaki novabioksinin etkisi *P. turionellae*'nin yaşam süresini kısalttığı tespit edilmiştir.

Yaptığımız çalışmada 4mg/L zebularin konsantrasyonunda yaşam süresi artmıştır, zebularin konsantrasyonu arttıkça yaşam süresi kısalmıştır 16mg/L, 32 mg/L. Büyükgüzel (2001b) çalışmasında novabioksin ve nalidiksik asidi *P.turionellae*'nin besinine karıştırmıştır ve %80.8 pupalaşma ve %69.94 ergin olma verimliliği sağlandı, erginleşme süresinin kısaldığını tespit etmiştir. Streptomisin *P.turionellae* üzerinde yaşam ve gelişimine etkisi incelendiğinde en yüksek streptomisin konsantrasyonunun ergin evreye ulaşma süresini uzatmıştır (Büyükgüzel, 1999).

Yaptığımız çalışmada da en yüksek zebularin konsantrasyonunda, ergin birey çıkış süresi uzamıştır. Bu çalışma bizim yaptığımız çalışmayı destekleyen yöndedir. Neomisin *P.turionellae* yaşam ve gelişimine etkisi incelendiğinde yaşam ve gelişimi geciktirdiği tespit edilmiştir. Eritromisin *P.turionellae*'nin biyolojisine etkisi araştırıldığında 30 mg ve üzeri konsantrasyonlarda pup olma süresi kısalmıştır, bizim sonuçlarımızı destekleyen bir bulgudur. Bitki büyüme hormonu olan Gibberellik asit farklı konsantrasyonlarda, konak *G.mellonella*'ya uygulandı ve konak çıkış süresini kısattı fakat parazitoid *P.turionellae* ergin çıkış süresinde anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır. Bunun nedeni gibberellik asit besin kalitesini etkileyerek konak gelişiminde etkisini göstermiştir. *G.mellonella* savunma mekanizmaları ile detoksifiye etmiş olabilir ve parazitoidin ergin çıkış süresi etkilenmemiş olabilir (Usmani ve Knowles, 2001; Öztürk, 2010). Yaptığımız çalışmada *P.turionellae*'nin ergin çıkış süresinde azalma meydana geldi. Konak *G.mellonella*'nın zebularine karşı detoksifikasyon mekanizmasının bulunmadığı ya da gelişmediğini bu durumdan dolayı parazitoidin ergin çıkış süresini, ergin yaşam süresini azalttığını söyleyebiliriz. Uçkan ve diğ. (2000), yaptıkları çalışmada, gibberellik asitin konak *A.grisella*'nın ve endoparazitoid *A.galleriae*'nin yaşam ve gelişimine olan etkileri araştırılmıştır. Yumurtadan ergin döneme kadar geçen süreyi etkilediği ve bu süre yüksek gibberellik asit konsantrasyonlarında %40 daha uzadığı tespit edilmiştir (Uçkan, 2008). Yaptığımız çalışmada parazitoid *P.turionella*'nın ergin çıkış süresi yüksek zebularin konsantrasyonlarında uzamıştır. Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda indol asetik asit uygulanan *P.turionellae*'nin erginleşme süresi gecikmiş, ergin yaşam süresi ise kısaldığı tespit edilmiştir (Özbek, 2012). Bu çalışmada yaptığımız çalışmayı destekleyen aynı yönde bulgular veren bir çalışmadır. Bitki gelişim düzenleyicisi olan kinetinin farklı konsantrasyonları *Zaprionus paravittiger* Godbole ve Vaidya (Diptera: Drosophilidae)'de ergin çıkış süresini kontrol grubuna göre uzattığı belirlenmiştir (Sharma ve ark., 1997). Bu bulguda bizim sonuçlarımızı destekler. Yapılan çalışmada 2,4-diklorofenoksiasetik asit ve 4-klorofenoksiasetik asidin *Drosophila melanogaster*'nin yaşam ve gelişimini etkilemesinin sebebi protein sentezi ve hücre büyümesini engellemiş olabileceği bundan dolayı gelişim evreleri uzamıştır (Kaya ve Yanıkoğlu, 1999). Azadirachtinin *Tetranychus cinnabarinus* (pamuk kırmızı örümcek) üzerine yaptığı biyolojik etkiler araştırılmıştır ve böceği olumsuz etkilediği, 60 ppm'lik konsantrasyonda ölüm oranının %100 arttığı, ergin

böcek çıkışı olmadığı tespit edilmiştir (Topakçı ve Göçmen, 2008). Yapılan başka bir çalışmada antifungal kökenli üç farklı antibiyotik karışımının dipter türü olan *Hypoderma lineatum* (Villers)'un yaşam ve gelişimine etkisi araştırılmıştır ve anlamlı derecede yaşamın etkilendiği görülmüştür (Chamberlain ve School, 1991). Antimikrobiyal maddeler *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Clark ve ark. 1961, Ouye 1962), *Trichoplusiani* (Hübner) (Kishaba ve ark., 1968), *Graphognathus spp.* (Bass ve Barnes, 1969), *Bemisia argentifolii* Belows & Perring (Costa ve ark., 1997) gibi parazitoid yaşam biçimine sahip olmayan böceklerde yaşam ve gelişim olumsuz etkilenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu parazitoitlerin ergin hayat uzunluğu çeşitli faktörlere bağlı olarak türden türe değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir (Uçkan ve Gülel, 2000).

### 3.3. Zebularinin *G. mellonella* Hemosit Sayısına Etkileri

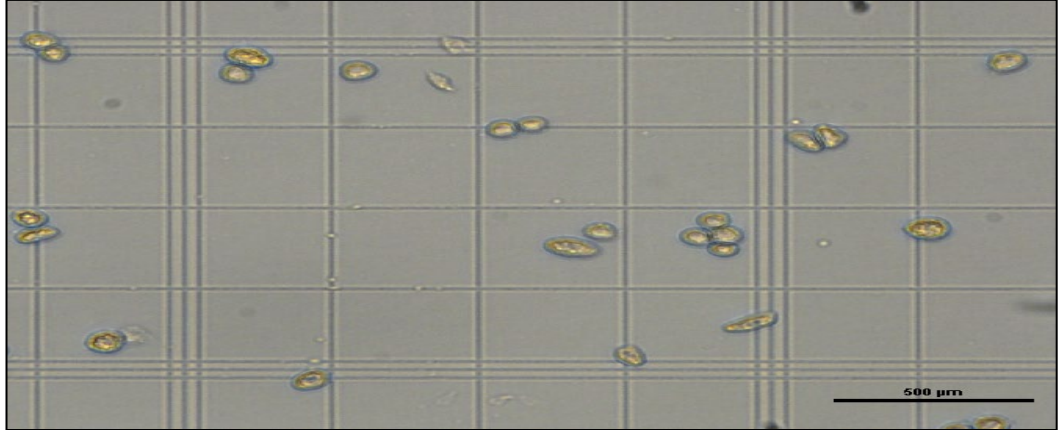
Zebularinin *G. mellonella* hemosit sayısına etkileri Tablo 3.3 'de verilmiştir.

Tablo 3.3. Zebularinin *G. mellonella* hemosit sayısına etkisi.

Dozlar Zeb (mg/ml)	Toplam Hemosit Sayısı (x10 <sup>6</sup> hücre / ml) <sup>#</sup> (Ort ± S.H)
Muamelesiz	25,8±6,2 <sup>a</sup>
Su	25,5±5,6 <sup>a</sup>
0,25 mg/ml	14,4±4,5 <sup>c</sup>
1 mg/ml	14,1±4,0 <sup>c</sup>
4 mg/ml	11,6±3,8 <sup>d</sup>
8 mg/ml	12,5±2 <sup>cd</sup>
16 mg/ml	23,9±4 <sup>a</sup>
32 mg/ml	21,4±5,4 <sup>b</sup>

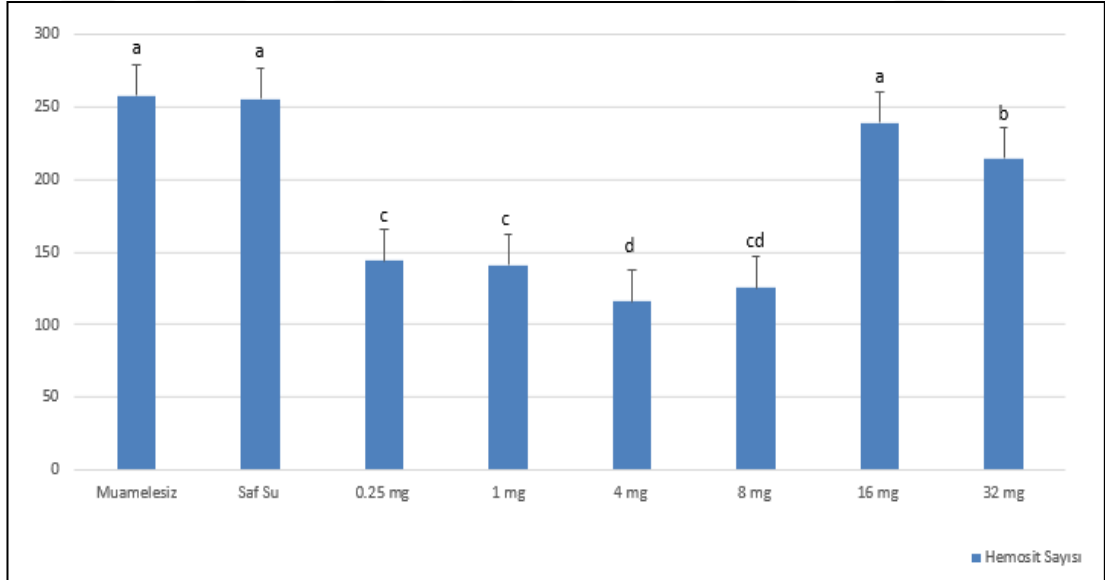
# Her biri 15 larvanın toplam hemosit sayısının ortalamalarını göstermektedir.

\*Aynı sütunda ve satırda aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0,05). Farklı zaman aralıklarında her doz ve kontrol grupları için 3 tekrar 15'er larva kullanıldı.



Şekil 3.7. 1mg/L zebularin uygulanan *G.mellonella* hemositometreden görünüm. Ölçü Barı: 500 µm.

Yapılan çalışmalarda *G.mellonella* kontrol grubu ile farklı zebularin konsantrasyonları uygulanan *G.mellonella* larvalarının hemosit sayısı karşılaştırıldığında en fazla hemosit muamelesiz kontrol grubunda, en az hemosit sayısına sahip olan grup ise 4mg/L konsantrasyona sahip zebularin grubunun olduğu tespit edilmiştir. Zebularinin *G.mellonella* hemosit sayısına etkisi Şekil 3.8.'de gösterildi.



Şekil 3.8. Zebularinin *G. mellonella* hemosit sayısına etkisi.

George ve Ambrose (2004), yaptığı çalışmada monocrotophos, dimetioate, metilparathion ve quinalphos uygulanan *Rynocoris kumarii*'nin hemosit sayısının arttığı tespit edilmiştir. İnsektisit olan chlordan'ın *Periplaneta americana*'nın toplam hemosit sayısını arttırdığı tespit edilmiştir (Gupta ve Sutherland, 1968). *Pimpla*

*hypocondriaca* (Retzius) (Hymenoptera; Ichneumonidae) zehri uygulanan konak canlıının toplam hemosit sayısı incelendiğinde, zehrin hemosit sayısının azalttığı gözlenmiştir (Richards ve Parkinson, 2000). Chlorozan uygulaması ile *Schistocera gregaria*'da toplam hemosit sayısı kontrol grubuna göre yarı yarıya azalmıştır. Deltametrin ve spinosaf uygulanan *Schistocera gregaria*'da hemosit sayısının azaldığı tespit edilmiştir (Halawa ve ark., 2007).

Yapılan çalışmada *P.turionellae* zehrinin *G.mellonella* toplam hemosit sayısına etkisi araştırılmıştır ve pupal hemosit sayısında anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir (Er ve ark., 2010). Giberellik asidin *G.mellonella* larva hemosit sayısına etkisi araştırılmıştır ve giberellik asit konsantrasyonlarının toplam hemosit sayısını arttırdığı tespit edilmiştir (Altuntaş, 2012). Gümüş ve çinko oksit nanopartiküllerinin *G.mellonella* hemosit sayısına etkisi araştırılmıştır. Çinko oksidin ve gümüş nanopartiküllerinin toplam hemosit sayısını azalttığı tespit edilmiştir (Eskin, 2017). Yapılan çalışmalarda farklı konsantrasyonlarda uygulanan alüminyum klorürü *G.mellonella* larvalarının hemosit sayısına etkisi araştırılmıştır ve hemosit sayısında bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir (Yılmaz, 2013). Stres koşullarına karşı bağışıklık sisteminin verdiği yanıt hemosit sayısının artışıdır (Coles ve ark., 1995). Yapılan çalışmalarda stres faktörlerinden biri olan sıcaklık artışında böceklerde hemosit sayısı önce artarken stres faktörü uzadıkça hemosit sayısının azaldığı görülmüştür. Bilim insanları bu durumun nedenini hücre döngüsünün durmasına bağlı olduğunu açıklamışlardır (Kiuchi, 2008).

Kurt (2013), yaptığı çalışmalara deltametrinin *G.mellonella*'nın hemosit sayısı 24. saatte kontrole göre azalırken 72. ve 96. saatlerde artmıştır. Yapılan çalışmalarda ağır metal ile beslenen *E. autumnata* (Lepidoptera: Geometridae), enkapsülasyon oranı artmıştır ve bu durum hemosit sayısının artmasına bağlı olarak meydana gelmiştir. Enkapsülasyon ile hemosit sayısının artışında doğru orantı vardır (Rantala ve diğ., 2000). Uçkan ve diğ., (2011), hemosit sayısının azalmasının bir nedenin de hemositlerin mitoz bölünmesinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Hemosit azalmasının nedenini böceğe uygulanan kimyasal maddenin toksik etkisinden, endokrin bez inhibisyonundan, nodül oluşumu, enkapsülasyon olaylarından kaynaklanıyor olabileceği yapılan çalışmalar sonucu belirtilmiştir (Sabri ve Tariq, 2004; Pandey ve diğ., 2007). Sendi ve Salehi (2011), (Pandey ve diğ.,2012) benzer



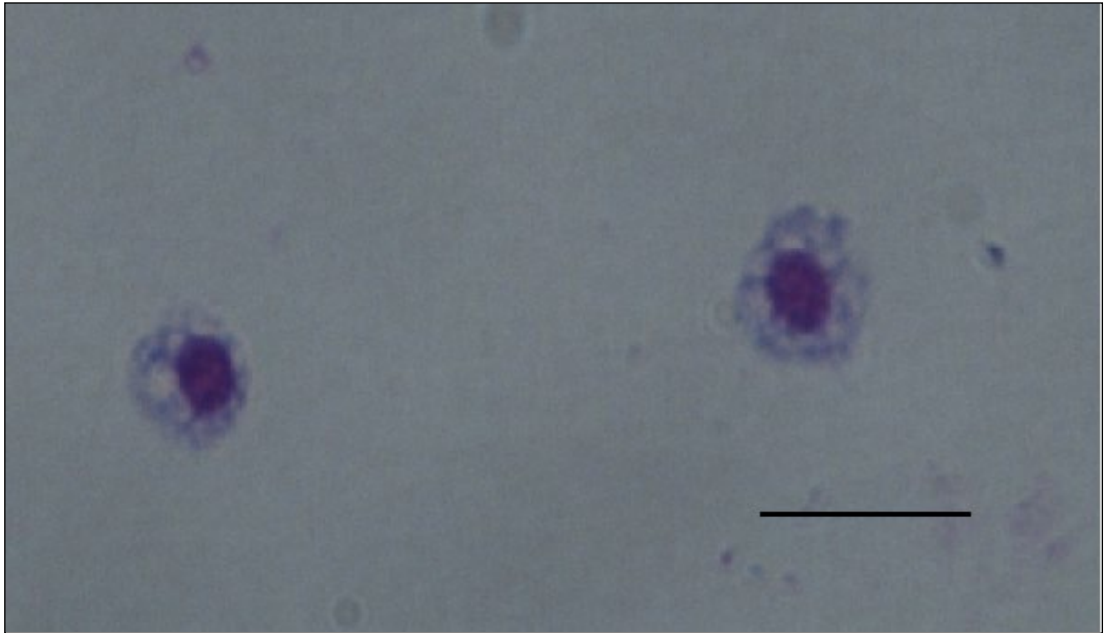
bulguları tespit etmişlerdir. Azadirachtin uygulanan *G.mellonella* larvalarının hemosit sayısı, kontrol grubunun hemosit sayısına oranla azalmıştır (Taşkıran, 2016). Yapılan çalışmada bazı insektisitlerin (chlorozan, deltametrinin, spinosad), çöl çekirgesi olan *Schistocera gregaria*'da kontrol grubuna göre hemosit sayısını azalttığı tespit edilmiştir (Halawa, 2007).

Yaptığımız çalışmada da kontrol gruplarına göre hemosit sayısında azalma tespit edilmiştir. *G.mellonella* zebularine karşı savunmaya geçmiştir ve hemosit sayısı yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı azalmış olabilir. Literatür çalışması yaptığımız deneyi olumlu yönde desteklemiştir.

### 3.4. Zebularinin *G. mellonella* Hemosit Tiplerine Etkisi

Böceklerde bağışıklığın en önemli elemanları hemositlerdir (Lackie, 1988). Er ve diğ.,(2011), yaptığı çalışmada *G.mellonella* larva hemolenfinde bulunan hemosit tiplerinin analizi bu çalışmada baz alınarak hemosit tipi teşhisi yapıldı.

Yaptığımız çalışmada zebularin enjekte edilen *G.mellonella* larvalarının hemosit tiplerinden önositoidler, plazmatositler, granülositler ve diğerleri şeklinde değerlendirildi. Zebularinin *G.mellonella* hemosit tipine etkisi Tablo 3.4.'de gösterildi.



Şekil 3.9. Zebularin uygulanan *G. mellonella* hemolenfinde Granülosit. Ölçü Bar: 10  $\mu$ m.



Şekil 3.10. Zebularin uygulanan *G. mellonella* hemolenfinde Önositoid. Ölçü Bar: 10 µm.



Şekil 3.11. Zebularin uygulanan *G. mellonella* hemolenfinde Plazmatosit Ölçü Bar: 10 µm.

Tablo 3.4. Zebularinin *G. mellonella* hemosit tipine etkisi.

Konsantrasyonlar (mg/L)	Önositoid sayıları (Hücre/250) (Ort ±SH)*	Plazmatosit sayıları (Hücre/250)	Granülosit sayıları (Hücre/250)	Diğerleri (Hücre/250)
Muamelesiz	12,5 ± 0,7 <sup>d</sup>	22,1 ± 0,3 <sup>a</sup>	43,4 ± 1,0 <sup>a</sup>	22,0 ± 0,4 <sup>bc</sup>
Su	8,6 ± 0,7 <sup>d</sup>	27,4 ± 0,8 <sup>a</sup>	38,4 ± 1,7 <sup>b</sup>	25,5 ± 2,5 <sup>ab</sup>

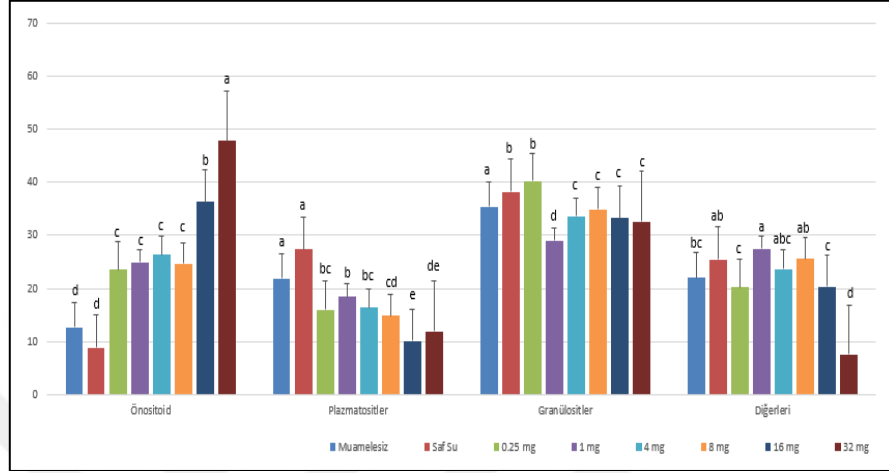
Tablo 3.4.(Devam) Zebularinin *G. mellonella* hemosit tipine etkisi.

Konsantrasyonlar (mg/L)	Önositoid sayıları (Hücre/250) (Ort ±SH)*	Plazmatosit sayıları (Hücre/250)	Granülosit sayıları (Hücre/250)	Diğerleri (Hücre/250)
0,25	23,4 ± 0,5 <sup>c</sup>	16,0 ± 0,4 <sup>bc</sup>	40,2 ± 1,2 <sup>b</sup>	20,4 ± 1,0 <sup>c</sup>
1	24,9 ± 0,0 <sup>c</sup>	18,4 ± 1,2 <sup>b</sup>	29,2 ± 0,2 <sup>d</sup>	27,5 ± 1,0 <sup>a</sup>
4	26,3 ± 0,6 <sup>c</sup>	16,4 ± 0,6 <sup>bc</sup>	33,7 ± 0,0 <sup>c</sup>	23,6 ± 1,4 <sup>abc</sup>
8	24,6 ± 0,9 <sup>c</sup>	14,8 ± 1,0 <sup>cd</sup>	34,8 ± 0,1 <sup>c</sup>	25,8 ± 0,4 <sup>ab</sup>
16	36,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	10,1 ± 0,3 <sup>c</sup>	33,3 ± 0,0 <sup>c</sup>	20,3 ± 0,5 <sup>c</sup>
32	47,8 ± 0,6 <sup>a</sup>	11,9 ± 0,3 <sup>dc</sup>	32,6 ± 0,0 <sup>c</sup>	7,7 ± 0,3 <sup>d</sup>

\*Aynı sütunda ve satırda aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0,05). Farklı zaman aralıklarında her doz ve kontrol grupları için 3 tekrar 15'er larva kullanıldı.

Yapılan çalışmalar sonucunda kontrol muamelesiz *G.mellonella* larvalarının hemosit tipleri sayıldığında, kontrol muamelesiz hemolenfindeki hemositlerin büyük bir kısmını granülositlerin, daha sonra yoğun olarak plazmatosit bulunduğu, az miktarda da önositoid bulunduğu tespit edildi. Geriye kalan hemosit tipleri (prohemosit, sfrerosit) diğerleri başlığı altında toplandı. Kontrol su grubu *G.mellonella* larvalarının hemosit tipleri sayıldığında, kontrol su hemolenfindeki hemositlerin büyük bir kısmını granülositlerin oluşturduğu, daha sonra yoğun olarak plazmatosit bulunduğu, az miktarda da önositoid bulunduğu tespit edildi. Geriye kalan hemosit tipleri (prohemosit, sfrerosit) diğerleri başlığı altında toplandı Tablo 3.4'de gösterildiği gibi zebularin uygulanan *G.mellonella* larvalarının hemosit tipleri ile kontrol gruplarının hemosit tipleri karşılaştırıldığında en fazla granülosit muamelesiz deney grubunda, en az granülosit 1mg/L zebularin konsantrasyonundadır. Zebularin uygulanan *G.mellonella* larvalarının hemosit tipleri ile kontrol gruplarının hemosit tipleri karşılaştırıldığında en fazla plazmatosit kontrol su grubunda, en az plazmatosit ise 16mg/L zebularin konsantrasyonu uygulanan larvada olduğu, en fazla önositoid sayısının ise en fazla 32mg/L zebularin konsantrasyonu uygulanan deney grubunda, en az önositoidin ise su kontrol grubunda olduğu tespit edildi. Diğerleri başlığında

toplanan hemosit tipleri en fazla 8mg/L zebularin konsantrasyonunda, en az diğer hemosit çeşitleri ise 32mg/L zebularin konsantrasyonu uygulanan larvalarda bulunduğu tespit edildi. Farklı konsantrasyonlarda zebularinin *G. mellonella* hemosit tipine etkisi Şekil.3.12.'de gösterildi.

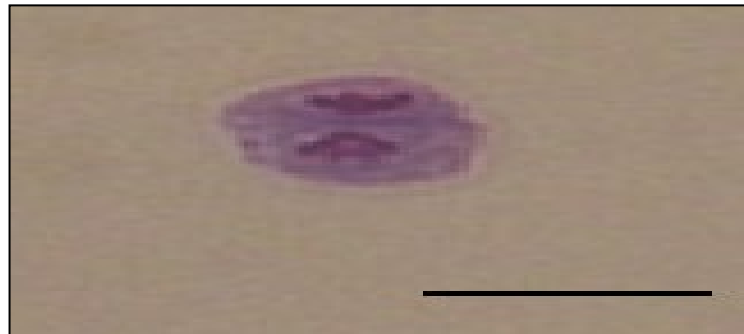


Şekil 3.12. Farklı konsantrasyonlarda Zebularinin *G. mellonella* hemosit tipine etkisi.

Aylin Er ve diğ.,(2010), *P.turionellae* zehrinin *G.mellonella* hemositleri üzerine etkisi araştırılmıştır. *G.mellonella* evresinde granülosit sayısında azalma, plazmatosit sayısında artış tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada da kontrol muamelesiz grubuna göre granülosit sayısında azalma meydana geldi.

### 3.5. Zebularinin *G.mellonella* Hemositlerinde Mitotik İndekse ve Mikroçekirdek Sayısına Etkisi

Zebularinin *G. mellonella* hemositlerinde mitotik indeks ve mikronukleusa etkileri Tablo3.5'de gösterildi.



Şekil 3.13. Zebularin uygulanan *G.mellonella* hemolenfide mitotik evrede hemosit. Ölçü Bar: 10 µm.

Tablo 3.5. Zebularinin *G. mellonella* hemositlerinde mitotik indeks ve mikronukleusa etkisi.

Konsantrasyonlar (mg/L)	Mitotik indeks (mitoza giren hücre sayısı/100)	Mikronükleus
Muamelesiz	2,6 ± 0,5 <sup>a</sup>	0,4 ± 0,1 <sup>a</sup>
Su	2,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,2 <sup>a</sup>
0,25	0,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>a</sup>
1	1,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>
4	0,1 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>a</sup>
8	0,5 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>a</sup>
16	1,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,2 ± 0,0 <sup>a</sup>
32	1,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	0,1 ± 0,0 <sup>a</sup>

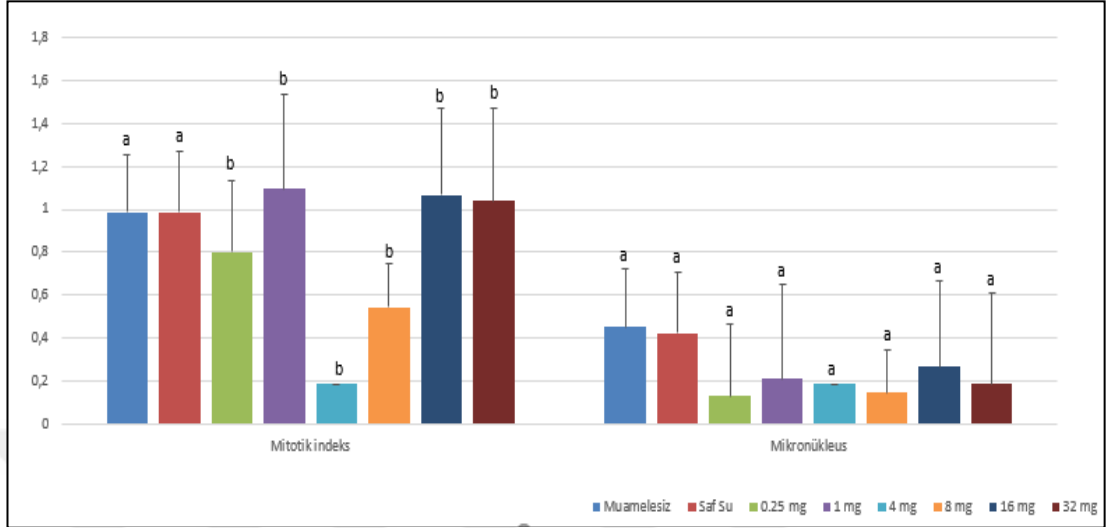
\*Aynı sütunda ve satırda aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0,05). Farklı zaman aralıklarında her doz ve kontrol grupları için 3 tekrar 15'er larva kullanıldı.

Yapılan çalışmalar sonucunda kontrol grupları ve çeşitli zebularin konsantrasyonları uygulanan *G.mellonella* larvalarının hemositlerinde en fazla mitotik indeks muamelesiz kontrol grubunda, en az mitotik indeks ise 4mg/L zebularin konsantrasyonda görüldü. Tablo 3.5'da gösterildi.

Kontrol grubu ve çeşitli zebularin konsantrasyonları uygulanan *G.mellonella* larvalarının hemositlerinde en fazla mikronükleus oluşumu su kontrol grubunda en az mikronükleus oluşumu ise 0,25mg/L, 4mg/L, 8mg/L, 32mg/L zebularin konsantrasyonunda görüldü. Şekil 3.14.'de zebularinin *G.mellonella* hemositlerinde mitotik indekse etkisi gösterildi.

Er ve diğ. (2010), *P.turionellae* zehrinin *G.mellonella* hemositleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Zehir dozlarına bağlı olarak hemositlerinde mitotik indeks azalmıştır. Yaptığımız çalışmada zebularin konsantrasyonu arttıkça, mitotik indeks azalmıştır. Sak (2004), cypermethrin uygulanan *P.turionellae*'nın hemositlerine etkisi

araştırılmıştır ve cypermethrin artışına bağlı olarak mikronukleus sayısında artış tespit edildi.



Şekil 3.14. Zebularinin *G. mellonella* hemositlerinde mitotik indekse etkisi.

Yılayaz (2005), paratyon metilinin *Barbus rajanurum Mystaceus* üzerindeki etkisi incelenmiştir. Paratyon metilinin çeşitli konsantrasyonları mikronukleus sayısında artışla neden olmuştur. Revankar ve Shyama (2009) insektisit olan monokrotofoz Meretrix yumurtalarına uygulanmıştır ve mikronukleus sayısında artış meydana gelmiştir. Li ve diğ., (2011), farklı acetamiprid ve chlorphyrifosun konsantrasyonları *Pardosa asterigera* uygulanmıştır. Mikronukleus sayısında artış tespit edilmiştir. Çeşitli konsantrasyonlarda deltametrin uygulanan *G.mellonella* hemolenfinde mikronukleus sayısında artış görüldü (Kurt, 2013). Mikronukleus, hücrelerde mitoz bölünme sırasında ortaya çıkan kromozom hasarlarından kaynaklanan çekirdeğe dahil olmayan bir yapıdır.

Mikronukleus sayısındaki artış mutajen, karsinojenik veya toksik maddeden kaynaklanan durumdur (Şekeroğlu, 2011). Çalışmamız sonucu elde edilen veriler ile literatürdeki veriler aynı yönde sonuç vermedi. Bunun nedeni literatürdeki mikronukleus çalışmalarında genellikle insektisit yani böcek ilacı kökenli maddeler kullanılmasıdır. Biz çalışmamızda kanser tedavilerinde kullanılan, DNA metil transferaz inhibitörü (DNMTi) olan zebularin kullandığımız için kromozomal bozukluklarını artırarak mikronukleus oluşumunu arttırmadı. Aksine kontrol grubuna göre mikronukleus sayısını düşürdü, kanser tedavilerinde zebularinin olumlu

sonuç vermesini destekleyen bir bulgudur. Bu sonuç yaptığımız çalışmanın doğru yönde ilerlediğini gösterdi.



#### 4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İlaç keşfetme ve geliştirme çalışmalarında, *P.turionellae* ve *G.mellonella* modelinde zebularinin etkisine bakarak memeli ve insan modellerinde benzer özellikler gösterebileceği düşünülür. Bir ajan in vitro koşullarında anlamlı sonuçlar veriyor ama *P.turionellae* ve *G.mellonella* modelinde anlamlı sonuçlar vermiyor ise memeli çalışmalarına devam edilmez. Bu sayede diğer testler için kullanacak memelilerin sayısı azaltılmış olur (Desbois ve Coote 2012).

*P.turionellae* ve *G.mellonella* modeli etik oranda kullanılan memeli modellerin yerini tamamen almasa da bu omurgasız modeli ilaç geliştirmenin erken evrelerinde toksisite ve etkinliği belirtebilir. İn vivo anlamlı sonuçlara ulaşılmadığı takdirde çalışmaya son verilir ve başka ajanlara yönelme yapılabilir (Desbois ve Coote 2012). DNA metil transferaz inhibitörü (DNMTi) zebularinin farklı konsantrasyonları *G.mellonella* ve *P.turionellae* bireylerine uygulandı. Çalışmamızın amacı doğrultusunda zebularinin *G.mellonella*'nın yaşam döngüsüne, toplam hemosit sayısına, hemosit tiplerine, mikroçekirdek, mitotik indeks değerlerine etkisi ve endoparazitoid olan *P.turionellae*'nin yaşam döngüsüne etkisi ayrı ayrı incelendi.

Yapılan ilk çalışma sonucunda kontrol muamelesiz, kontrol su ve farklı konsantrasyonlardaki zebularin uygulanan *G.mellonella* bireyleri karşılaştırıldığında en yüksek puplaşma süresi uygulanan konsantrasyonlar arasında 4 mg/L zebularinde gerçekleştiği tespit edildi. Puplaşmanın en az olduğu konsantrasyon 0,25 mg/L zebularinde görüldü. *G.mellonella*'nın ergin birey olarak çıkış süresi ise en uzun süre kontrol grubu olan muamelesiz *G.mellonella* bireylerinde olduğu tespit edildi.

*G.mellonella*'nın ergin birey olarak çıkış süresi ise en kısa süre 32 mg/L zebularinde olduğu tespit edildi. *G.mellonella* bireylerinde ergin yaşam süresi en uzun 16 mg/L zebularında en kısa ergin yaşam süresinin ise kontrol su grubu olduğu tespit edildi. *G.mellonella*'nın ergin birey kütleleri karşılaştırıldığında en fazla kütle 0,25 mg/L zebularin konsantrasyonunda, en az kütle ise 16 mg/L zebularin konsantrasyonunda olduğu tespit edildi.



*G.mellonella*'nın ergin birey boyları karşılaştırıldığında en uzun boya sahip grup 0,25 mg/L zebularin konsantrasyonu, en kısa boya sahip deney grubu ise 32 mg/L zebularin konsantrasyonu uygulanan bireylerde olduğu tespit edildi. Zebularinin *G. mellonella*'nın ergin yaşam süresini kısalttığı kaydedildi. Yani zebularin konsantrasyonları *G.mellonella* yaşam oranını düşürdü, gelişim süresini ise uzattı. Çalışmamızın ikinci aşaması ise zebularinin *P.turionellae*'nin yaşam ve gelişimine etkisi incelendi. Yapılan deneyler sonucunda kontrol muamelesiz, kontrol su ve farklı konsantrasyonlarki zebularin uygulanan *G. mellonella* bireyleri incelendiğinde en uzun süren pupalaşma muamelesiz kontrol grubunda, en kısa süren pupalaşmanın ise 1mg/L de olduğu tespit edildi. Farklı zebularin konsantrasyonlu pupalar endoparazitoid olan *P. turionellae* ile parazitlendiğinde *P.turionellae* ergin çıkış süresi en uzun sürede tamamlayan deney grubunun kontrol muamelesiz olduğu, en kısa sürede ergin çıkışın ise 4 mg/L zebularin konsantrasyonunda olduğu tespit edildi. *P.turionellae*'nin ergin yaşam süresi kontrol su, kontrol muamelesiz ve farklı konsantrasyonlardaki zebularin ile karşılaştırıldığında en kısa süren yaşam 0,25 mg/L zebularin konsantrasyonunda, en uzun süren ergin yaşam süresinin ise muamelesiz kontrol grubunda olduğu tespit edildi. Kontrol grupları ve farklı zebularin konsantrasyonları karşılaştırıldığında *P.turionellae* ergin birey kütleleri karşılaştırıldığında en fazla kütle muamelesiz kontrol grubundaki bireylerde, en az kütle ise 8 mg/L, 16 mg/L zebularin konsantrasyonunda olduğu tespit edildi. Farklı zebularin konsantrasyonlu pupalar endoparazitoid olan *P.turionellae* ile parazitlendiğinde, *P.turionellae* erginlerinin boy uzunlukları kontrol muamelesiz, kontrol su *P.turionellae* bireyleri ile karşılaştırıldığında en uzun boy kontrol muamelesiz deney grubunda en kısa boya sahip 1mg/L zebularin konsantrasyonuna sahip deney grubunda olduğu tespit edildi. Çalışmamızın üçüncü aşamasında zebularinin *G.mellonella*'nın toplam hemosit sayısına etkisi incelendi. Yapılan çalışmalarda *G.mellonella* su kontrol grubu, muamelesiz kontrol grubu ile farklı zebularin konsantrasyonları uygulanan *G.mellonella* larvalarının hemosit sayısı karşılaştırıldığında en fazla hemosit muamelesiz kontrol grubunda, en az hemosit sayısına sahip olan grup ise 4mg/L konsantrasyona sahip zebularin grubunun olduğu tespit edildi. Çalışmamızın dördüncü aşamasında zebularinin *G.mellonella*'nın hemosit tiplerine etkisi incelendi. Yapılan çalışmalar sonucunda kontrol grubu muamelesiz, kontrol grubu su ve zebularin uygulanan *G.mellonella* larvalarının

hemosit tipleri sayıldığında, en fazla granülosit muamelesiz deney grubunda, en az granülosit 1mg/L zebularin konsantrasyonundadır. Zebularin uygulanan *G.mellonella* larvalarının hemosit tipleri ile kontrol muamelesiz grubunun hemosit tipleri karşılaştırıldığında en fazla plazmatosit kontrol su grubunda, en az plazmatosit ise 16mg/L zebularin konsantrasyonu uygulanan larvada olduğu, en fazla önositoid sayısının ise en fazla 32mg/L zebularin konsantrasyonu uygulanan deney grubunda, en az önositoidin ise su kontrol grubunda olduğu tespit edildi. Diğerleri başlığında toplanan hemosit tipleri en fazla 8mg/L zebularin konsantrasyonunda, en az diğer hemosit çeşitleri ise 32mg/L zebularin konsantrasyonu uygulanan larvalarda bulunduğu tespit edildi. Çalışmamızın son aşamasında zebularinin *G.mellonella* larvalarının mikroçekirdek, mitotik indeks değerlerine etkisi incelendi. Yapılan çalışmalar sonucunda su kontrol grubu, muamelesiz kontrol ve çeşitli zebularin konsantrasyonları uygulanan *G.mellonella* larvalarının hemositlerinde en fazla mitotik indeks muamelesiz kontrol grubunda, en az mitotik indeks ise 4mg/L zebularin konsantrasyonda görüldü. Su kontrol grubu, muamelesiz kontrol grubu ve çeşitli zebularin konsantrasyonları uygulanan *G.mellonella* larvalarının hemositlerinde en fazla mikronükleus muamelesiz kontrol grubunda, en az mikronükleus oluşumu ise 0,25mg/L, 4mg/L, 8mg/L, 32mg/L zebularin konsantrasyonunda görüldü. Zebularin ilk kez *G.mellonella* ve *P.turionellae* türlerine uygulanmıştır. Bu nedenle bu çalışmanın özgün değeri vardır.

Çalışmanın bulguları literatür ile karşılaştırılarak tartışılmıştır. Sonuç olarak; sitidin analogu, klinik öneme sahip olan zebularinin model organizma olan *G.mellonella*'nın yaşam döngüsünü, toplam hemosit sayısını, hemosit tiplerini, mikroçekirdek, mitotik indeks değerlerini ve biyolojik mücadelede önemli yeri olan endoparazitoid *P.turionellae*'nin yaşam döngüsünü etkilediği tespit edildi. Çalışmamız insan sağlığı için önemli bir madde olan zebularinin; böcek fizyolojisi, böcek biyokimyası, böcek bağışıklık sistemi, genotoksisite, sitotoksisite gibi çalışmalar için önemli bir veri kaynağı olarak katkı sağlayacaktır. Zebularinin farklı organizmalar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, gen ekspresyon mekanizmalarının, hücre farklılaşmalarının, kanser tehditlerinin ve gelişimsel bozuklukların anlaşılmasına katkıda bulunabilir. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların daha fazla detaylandırılması biyokimyasal çalışmalar yapılması, antioksidan enzim sistemi, bağışıklık tepkilerin hangi

mekanizmalarla çalıştığı, detoksifikasyon mekanizmaları ayrıntılı olarak açıklanmalı, meydana gelen değişimlerin gelecek nesillere aktarılıp aktarılmayacağı, gelecek nesillerde anormalliklere neden olup olmayacağı yapılacak yeni ilave çalışmalarla tespit edilmesi gerekir.



## KAYNAKLAR

Akkuzu E., Ayberk H. ve Mol T., Pestisit Kullanımı ve Faydalı Arthropodlar Üzerine Etkileri, *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 85-90, 2002.

Akyol E., Mum Güvesi (*Galleria mellonella* L.) Zararı ve Kontrol Yöntemleri, *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 2-7, 2013.

Altuntaş H., Kılıç A.Y., Uçkan F., Ergin E., Effects of Gibberellic Acid on Hemocytes of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), *Environmental Entomology*, 688-696, 2012.

Andow, D.A., Ragsdale, D.W. ve Nyvall, R.F., *Ecological Interactions and Biological Control*, Westview Press, Colorado, 1997.

Ashhurst, D.E. and Richards, G., Some histochemical observations on the blood cells of the wax moth, *Galleria mellonella* L., *J. Morph.*, 247- 254, 1964.

Askew R. R., Shaw M. R., *Insect parasitoids* 2th ed., Academic, London, 1986.

Askew R. R., *Parasitic insects*. 4th ed., Elsevier, London, 1971.

Ballou T. S., Flabber T. W., *Handbook of Biological Control*, Academic, London, 1999.

Bergin D., Murphy L., Keenan J., Clynes M., Kavanagh K., Pre-exposure to yeast protects larvae of *Galleria mellonella* from a subsequent lethal infection by *Candida albicans* and is mediated by the increased expression of antimicrobial peptides, *Microbes and Infection*, 2105-2112, 2006.

Brodeur J., Vet L.E.M., Relationships between parasitoid host range and host defence: a comparative study of egg encapsulation in two related parasitoid species, *Physiological Entomology*, 7-12, 1995.

Büyükgüzel K., Positive Effects of Some Gyrase Inhibitors on Survival and Development of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) Larvae Reared on an Artificial Diet, *J. Econ. Entomol.*, 21-26, 2001.

Büyükgüzel K., DNA gyrase inhibitors: Novobiocin enhances the survival of *Pimpla turionellae* (Hym., Ichneumonidae) larvae reared on an artificial diet but other antibiotics do not, *J. Appl. Ent.*, 583-587, 2001.

Büyükgüzel K., Positive Effects of Some Gyrase Inhibitors on Survival and Development of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) Larvae Reared on an Artificial Diet, *J. Econ. Entomol.*, 21-26, 2001.

Büyükgüzel K., Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp, effect on adult emergence, longevity, fecundity ve oxidative ve antioxidative response of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae), J. Econ. Entomol, 1225-1234, 2006.

Caullery M., Le parasitisme et la symbiose, 4th ed., Doin, Paris, 1950.

Chamberlain W. F., School P. J., New procedures to enhance survival of third-inst *Hypoderma lineatum* (Villers) (Diptera: Oestridae) in artificial media, Med.Entomol., 266-269, 1991.

Charriere J. D. ve Imdorf A., Protection of Honeycombs From Moth Damage, Swiss Bee Research Center Federal Dairy Research Station, Communication, 16, 1997.

Clark E. W., Richmond C. A. ve McGough J. M., Artificial media and rearingtechniques for the pink bollworm, J. Econ. Entomol., 4-9, 1961.

Coles, J.A., Farley, S.R., Pipe, R.K., Alteration of the immune-response of the common marine mussel *Mytilus edulis*resulting from exposure to cadmiu, Diseases of Aquatic Organisms, 59–65, 1995.

Costa H. S., Henneberry T. J. ve Toscano N. C., Effects of Antibacterial materials on Bemisia argentifolii (Homoptera: Aleyrodidae) oviposition, Growth, Survival and Sex ratio, Entomol., 333-339. 1997.

Çağlar Y., Tutkun E., Tutar A. ve Yılmaz B., Bal mumu Güvesi Mücadelesinde Kullanılan Kükürtdioksitin (SO<sub>2</sub>) Farklı Dozlarının Kimyasal Etkisi ÜzerineAraştırmalar, *Tek. Arıcılık Dergisi*, 55-58, 2001.

Çelik C., Oksiklozanidin *Galleria Mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'nın Yaşama ve Gelişimi ve Toplam Proteini Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Bülent EcevitÜniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak, 2017.

Doutt R. L.,The Biology of Parasitic Hymenoptera, 3th ed., Elsevier, London, 1959.

Driesche R. G., Field measurement of population recruitment of *Apanteles glomeratus* (L.) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Pieris rapae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae) and factors influencing adult parasitoid foraging success inkale, Bull. ent. Res., 199-208, 1988.

Dubovskiy I. M., Kryukova N. A., Glupov V. V., Ratcliffe N. A., Encapsulation and nodulation in insects, *Invertebrate Survival Journal*, 13, 229-246. 2016

Durmus Y., Büyükgüzel E., Terzi B., Tunaz H., Stanley D., Büyükgüzel K., Eicosanoids mediate melanotic nodulation reactions to viral infection in larvae of the parasitic wasp, *Pimpla turionellae*, *Journal of Insect Physiology* 54: 17–24, 2008.

Durmuşoğlu E., Tiryaki O., Canhilal R., Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Dayanıklılık Sorunları, VII. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, Ankara,Türkiye, 11-15 Ocak 2010.

Ecevit O., Zirai Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri, 3. Baskı., OndokuzMayıs Üniversitesi Yayınları, Samsun, 1988.

Ellis J. D., Graham J. R., ve Mortensen A., Standard Methods for Wax Moth Research, Journal of Apicultural Research, 1-17, 2013.

Er A., Endoparazitoid *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera; Ichneumonidae) Zehiri ve Parazitlenmesinin Konak Hemositlerine Etkileri, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, Balıkesir, 2011.

Er A., Uçkan F., River D. B. ve Sak O., “Cytotoxic effects of parasitism and application of venom from the endoparasitoid *Pimpla turionellae* on hemocytes of the host *Galleria mellonella*,” *J. Appl. Entomol.*, 136, 225-236, 2011.

Erol T., Kılınçer N., Bazı insektisitlerin pupa asalağı *Pimpla turionellae* L. (Hym:Ichneumonidae)’ ye etkileri üzerine araştırmalar, Türkiye 1. Biyolojik Mücadele Kongresi, Adana, Türkiye, 12-14 Şubat 1986.

Eskin A., Çinko Oksit (ZnO) ve Gümüş (Ag) Nanopartiküllerinin *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) Üzerindeki Toksik Etkilerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 2017.

Fait A., Iversen B., Tiramani M., Visentin S., Maroni M., Preventing Health Risks from the Use of Pesticides in Agriculture, World Health Organization International Centre for Pesticide Safety Number 1, 7, 2001.

Faulds W., Spread of *Bracon phylacteophagus* a biocontrol agent of *Phylacteophaga froggatti* and impact on host, New Zealand Journal of Forestry Science, 1991.

Fenimore P. G., Plant Pests and Their Control, 4th ed., Elsevier, London, 1984.

Foulks, Jason M., Epigenetic drug discovery: targeting DNA methyltransferases, Journal of biomolecular screening, 17.1: 2-17, 2012.

Godfray H. C. J., Parasitoids-Behavioral and Evolutionary Ecology, Princeton University Press, New Jersey, 1994.

Graethead, D.J. ve Waage, J.K., Opportunities for Biological Control of Agricultural Pests in Developing Countries, World Bank Technical Paper, Number 11, The World Bank, Washington, D.C., U.S.A., 1983.

Gürlük S., Turan Ö., Dünya Gıda Kirizi: Nedenleri ve Etkileri, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22: 63-74, 2008.

Hall D. W., Mosquito Hemocytes: A Review. Developmental and Comparative Immunology, 7, 1-12, 1983.

Harris M. K., Integrated pest management of pecans, Ann. Rev. Entomol., 1983.

Hassel M. P., Waage J. K., Host-parasitoid population interactions, Ann. Rev. Entomol., 28-89, 1984.

Hız P., Erdem M., Büyükgüzel E. ve Büyükgüzel K., Gemifloksasinin *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) Erginlerinin Bazı Biyolojik Özelliklerine Etkisi, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 777-784, 2016.

Hill D. S., Agricultural insect pests or the tropic and their control, 2nd ed., Cambridge university pres., USA, 1983.

Kalyoncu L., Üstüner T., Aktümsek A., Farklı Sıcaklık Derecelerinin *Galleria mellonella* (L.) Puplarının Açılma Oranına Etkileri, Selçuk Üniversitesi Fen Dergisi, 71-74, 2005.

Kastamonuluoğlu S., Terbinafinin *Galleria mellonella* L'nin bazı biyolojik ve biyokimyasal parametrelerine etkisi. Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2013.

Kelly J. and Kavanagh K., Caspofungin Primes the Immune Response of the Larvae of *Galleria mellonella* and Induces a Non-Specific Antimicrobial Response, Journal of Medical Microbiology, 60: 189-196, 2011.

Kılıç A., Yapay besin ile beslenen *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının yaşama ve gelişimine triklabendazolun etkisi, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2015.

Kurt, D., Piretroit Grubu İnsektisit Deltametrinin *Galleria mellonella* L'nin Hemositleri Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Adıyaman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adıyaman, 2013.

Malthus T., An Essay on the Principle of Population, St. Paul's Church-Yard, London, 1-126, 1798.

Marquez, Liu, PS., Kelley, JA., Driscoll, JS., McCormack, JJ., Synthesis of 1, 3 diazepin-2-one nucleosides as transition-state inhibitors of cytidine deaminase, J Med Chem, 23:713, 1980.

Nalçacıoğlu R., Demirbağ Z. ve Demir İ., Böcek Virüslerinin Biyoteknolojik Önemi, Tarım Bilimleri Dergisi, 193-201, 2008.

Nurullahoğlu, Z.V., Öztürk. R., Ergin, E., Tedrici Azalan Sıcaklığın *Pimplaturionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın Ergin Öncesi Gelişim Süresi, Ergin Çıkış, Eşey Oranı ve Ağırlığına Etkileri, 2014.

Ortel, J., Accumulation of Cd and Pb in successive stages of *Galleria mellonella* and metal transfer to the pupal parasitoid *Pimpla turionellae*, Entomologia Experimentalis et Applicata, 77(1), 89-97, 1995.

Özbek R., İndol-3-asetik asit (IAA)'in konak *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera:Pyralidae) ile endoparazitoit *Pimpla turionellae* L. (hymenoptera: ıchneumonidae) biyolojiközelliklerine etkileri, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli, 2012.

Öztürk Z., Farklı dozlarda konağa verilen ga3 (gibberellikasit)'in parazitoid *Pimpla turionellae* L.(Hymenoptera: Ichneumonidae) Biyolojik özellikleri ve hemolenftoplam protein, glukoz ve yağ miktarına etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli, 2010.

Pandey, J.P., Upadhyay, A.K. and Tiwari, R.K., Effects of some plant extracts on hemocyte count and moulting of *Danaus chrysippus* larvae, *Journal of Advanced Zoology*, 28: 14-20, 2007.

Pandey, S., Pandey, J.P. and Tiwari, R.K., Effect of some botanicals on hemocytes and molting of *Papilio demoleus* larvae, *Journal of Entomology*, 23-31, 2012.

Prasad R., Behera H. N., Das C. C., MLC induced meiotic instability in grasshopperspermatocytes, *Current Science*, 46, 191-192, 1977.

Ramarao N., Leroux C. H., Lereclus D., The insect *Galleria mellonella* as a powerful infection model to investigate bacterial pathogenesis. *Journal of Visualized Experiments*, 1-7, 2012.

Rantala, M.J., Koskimaki, J., Taskinen, J., Tynkkynen, K., Suhonen, J., Immunocompetence, developmental stability and wingspot size in the damselfly *Calopteryx splendens* L. *Proceedings of the Royal Society of London Series Biological Sciences*, 267, 2453–2457, 2000.

Revankar, P.R., and Shyama, S.K., Genotoxic effects of monocrotophos, an organophosphorous pesticide, on an estuarine bivalve, *Meretrix ovum*, *Food and Chemical Toxicology*, 1618-1623, 2009.

Ribeiro, Brehelin, M., Insect haemocytes: What type of cell is that? *Journal of Insect Physiology*, 417-429, 2006.

Rosales C., Phagocytosis, a cellular immune response in insects, *Invertebrate Survival Journal*, 8, 109-131, 2011.

Sabri, M.A., Tariq B., Toxicity of some insecticides on the haemocytes of red pumpkin beetle, *Aulacophora foveicollis* Lucas, *Journal of Pakistan Entomology*, 109-114, 2004.

Sak O., Uçkan F., Cypermethirin'in *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera:Pyralidae)'nın Puplaşma ve Ölüm Oranlarına Etkisi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 88-96, 2009.

Sak O., Ergin E., Uçkan F., Rivers D.B., Er A., Changes in the hemolymph total protein of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) after parasitism and envenomation by *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Turk. J. Biol.* 425-432, 2011.



Sendi, J.J., Salehi, R., The effect of methoprene on total hemocyte counts and histopathology of hemocytes in *Papilio demoleus* L. (Lepidoptera). *Munis Entomology and Zoology*, 240-248, 2011.

Sezer B., Ozalp P., Azadirachtinin *Galleria mellonella* Larvalarında Total Glikojen Miktarına Etkisi, *Ekoloji*, 81 (20): 67-72, 2011.

Sugeçti S, Büyükgüzel K., Büyükgüzel E., Laboratory Assays of the Effects of Oxfendazole on Biological Parameters of *Galleria mellonella* (Lepidoptera:Pyralidae), *Journal of Entomological Science*, 129-137, 2016.

Susanne K., Prevention of Damage from Insects- Prevention is Better than Cure. *Information for forest management*, 10, 2012.

Şekeroğlu V., Atlı-Şekeroğlu Z., Genotoksik Hasarın Belirlenmesinde Mikronükleus Testi, *Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 241-52, 2011.

Taşkıran D., Azadirachtın'ın *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'da hemositler üzerine etkileri, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir, 2016.

Tunaz, H., Böceklerde Bağışıklık Mekanizması. *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 78-82, 2004.

Turabi M. S., Bitki Koruma Ürünlerinin Ruhsatlandırılması, Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi, Ankara, Türkiye, 2007.

Uçkan F., Er A., Ergin E., Levels of encapsulation and melanization in *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) parasitized and envenomated by *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae), *J. Appl. Entomol.*, 134: 718–726. 2010.

Uçkan F., Gülel A., *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera; Braconidae)'nın bazı biyolojik özelliklerine konak türün etkileri, *Tr. J. of Zoology*, 105-113, 2000.

Uçkan F., Gülel A., Endoparazitoid *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera:Ichneumonidae) dişilerinde zehir aparatının yapısı ve zehirinin başlıca kimyasal grubunun tayini, X. Ulusal Biyoloji Kongresi, Erzurum, Türkiye, 1990.

Uçkan F., Sak O., Cytotoxic Effect of Cypermethrin on *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) Larval Hemocytes, *Ekoloji* 19, 75, 20-26, 2010.

Uçkan F., Tüven A., Er A., Ergin E., Effects of gibberellic acid on biological parameters of the larval endoparasitoid *Apanteles galleriae* (Hymenoptera: Braconidae), *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 112-120, 2008.

Weeks J. R., Population and Introduction to Concepts and Issues, 11th ed., Thomson Corporation, Belmont, 2010.

Wu G., Yi Y., Effects of dietary heavy metals on the immune and antioxidant systems of *Galleria mellonella* larvae, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 131–139, 2015.

Xu J., Shelton A. M., Cheng X., Comparison of *Diadegma insulare* (Hymenoptera:Ichneumonidae) and *Microplitis plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) as biological control agents of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): field parasitism, insecticide susceptibility, and host-searching, *J. Econ. Entomol.*, , 94, 14-20, 2001.

Yan, Hua, DNA methylation in social insects: how epigenetics can control behavior and longevity, *Annual review of entomology*, 60: 435-45, 2015.

Yılayaz, Ö., Parathion methyl (İnsektisit)'in *Barbus rajanorum mystaceus* (Heckel,1843) üzerindeki genotoksik etkisinin eritrosit mikronukleus testi ile belirlenmesi, Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları 2005, Elazığ, 2005.

Yıldız M., Gürkan O., Turgut C., Kaya Ü., Ünal G., Tarımsal Savaşında Kullanılan Pestisitlerin Yol Açtığı Çevre Sorunları, VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, Ankara, Türkiye, 3–7 Ocak 2005.

Yılmaz E., Farklı dozlardaki alüminyum klorür'ün *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera:Pyralidae)'nın biyolojisine ve hemosit sayılarına etkileri, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2013.

Yılmaz N., Farklı bakır oranlarının ergin *Pimpla turionellae* L'nin yaşam süresi ve yumurta verimi ile sentezlediği protein ve glikojen miktarına etkileri, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana. 2013.

Zhou, L., Cheng, X., Connolly, BA, Zebularine: DNA metiltransferazları ile kovalent bir kompleks oluşturan yeni bir DNA metilasyon inhibitörü. *Moleküler Biyoloji Dergisi* **321** (4), 591-599, 2002.

Zhou, L., Zebularine: a novel DNA methylation inhibitor that forms a covalent complex with DNA methyltransferases, *Journal of molecular biology*, 321.4: 591-599, 2002.

## KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

- [1] **Köse B.**, Uçkan F., Effects of Zebularine on Life Cycle of Model Organism *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), 7. International Molecular Biology and Biotechnology Congress, Konya, Türkiye, 25-27 Nisan 2018.



## ÖZGEÇMİŞ

1994 yılında Trabzon’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kocaeli’de tamamladı. 2012 yılında başladığı Uludağ Üniversitesi Biyoloji bölümünden, birincilik ile 2016 yılında mezun oldu. 2016 yılında başladığı Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda lisansüstü öğrenimini tamamlama aşamasındadır.

