

**T.C.
BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Yüksek Lisans Tezi

**İYONİZE OLMAYAN (UV) RADYASYONUN UN GÜVESİ
EPHESTIA KUEHNIELLA ZELLER (LEPIDOPTERA:
PYRALIDAE) LARVALARI ÜZERİNDE MEYDANA GETİRDİĞİ
OKSİDATİF STRESİN VE DNA HASARININ BELİRLENMESİ**

Esra ERARSLAN

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Dilek PANDIR**

Yozgat 2016

**T.C.
BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Yüksek Lisans Tezi

**İYONİZE OLMAYAN (UV) RADYASYONUN UN GÜVESİ
EPHESTIA KUEHNIELLA ZELLER (LEPIDOPTERA:
PYRALIDAE) LARVALARI ÜZERİNDE MEYDANA GETİRDİĞİ
OKSİDATİF STRESİN VE DNA HASARININ BELİRLENMESİ**

Esra ERARSLAN

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Dilek PANDIR**

**Bu çalışma, Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından 2014FBE/T100 kodu ile desteklenmiştir**

Yozgat 2016

T.C.
BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAYI

Enstitümüzün Biyoloji Anabilim Dalı 70110312001 numaralı öğrencisi Esra ERARSLAN'ın hazırladığı “İyonize Olmayan (UV) Radyasyonun Un Güvesi *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) Larvaları Üzerinde Meydana Getirdiği Oksidatif Stresin Ve DNA Hasarının Belirlenmesi” başlıklı yüksek lisans tezi ile ilgili tez savunma sınavı, lisansüstü eğitim-öğretim ve sınav yönetmeliği uyarınca 09/02/2016 salı günü saat 11:00'te yapılmış, tezin onayına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Başkan : Yrd. Doç. Dr. Fahriye ERCAN



Üye : Doç. Dr. Dilek PANDIR (Danışman)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Sedat PER



ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 12/02/2016 tarih ve 06 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

12/02/2016
Doc. Dr. Fuat KÖKSAL
Müdür


İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin amacı	1
1.2. Tezin konusu ve önemi.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. UV radyasyon.....	3
2.2. <i>Ephestia kuehniella</i> ZELLER, 1879 (Akdeniz un güvesi).....	6
2.3. Oksidatif stres	9
2.4. Antioksidanlar	9
2.5. DNA Hasarı.....	10
2.5.1. DNA Hasarına Hücre Yanıtı.....	12
2.6. Komet analizi ve DNA hasarının belirlenmesi.....	12
2.6.1 “Komet Testi” basamakları.....	13
2.6.1.1. Hücrelerin hazırlanması	13
2.6.1.2. Hücrelerin jele gömülmesi	14
2.6.1.3. Lizis:.....	14
2.6.1.4. Alkali ortamda DNA süpersarmal yapısının çözülmesi:.....	14
2.6.1.5. Elektroforez.....	14
2.6.1.6. Yıkama	14
2.6.1.7. DNA'nın boyanması	14
2.6.1.8. Komet görüntülerinin sayılması ve DNA hasarının belirlenmesi.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	16
3.1. <i>Ephestia kuehniella</i> (Zeller, 1879) (Lepidoptera:Pralidae) Kültürlerinin Kurulması	16
3.2. <i>Ephestia kuehniella</i> larvalarının UV radyasyona maruz bırakılması.....	16

3.3. Tek Hücre Süspansiyonunun Hazırlanması.....	17
3.3.1. Larvaların Hazırlanması	17
3.3.2. Lamların Kaplanması.....	17
3.3.3.Lizis	17
3.3.4. Elektroforez	17
3.3.5. Boyama	18
3.3.6. Görüntüleme ve Komet sayımı	18
3.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Ölçümü.....	18
3.4.1. Doku toplama.....	18
3.4.2. Örnek hazırlama.....	18
3.4.3.Malondialdehit (MDA) Aktivite Tayini	19
3.4.4. Süperoksit dismutaz (SOD) Aktivite Tayini.....	19
3.4.5. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini	19
3.4.6. Glutasyon peroksidaz (GPx) Aktivite Tayini.....	19
3.4.7. Glutasyon-S-transferaz (GST) Aktivite Tayini	20
3.5. Verilerin Değerlendirilmesi.....	20
4. BULGULAR.....	21
4.1. UV radyasyon'un Malondialdehit Düzeyi ve Enzim Aktivitelerine Etkisi....	21
4.2. UV radyasyon'un Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesine Etkisi.....	21
4.3. UV radyasyon'un Katalaz Enzim Aktivitesine Etkisi	22
4.4.UV radyasyon'un Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesine Etkisi.....	23
4.5. UV radyasyon'un Glutasyon-S-Transferaz Enzim Aktivitesine Etkisi	23
4.6.Ölüm oranları	24
4.7. Komet Testi Bulguları	25
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	30
KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	41

İYONİZE OLMAYAN (UV) RADYASYONUN UN GÜVESİ *EPHESTIA KUEHNIELLA ZELLER* (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) LARVALARI ÜZERİNDE MEYDANA GETİRDİĞİ OKSİDATİF STRESİN VE DNA HASARININ BELİRLENMESİ

Esra ERARSLAN

**Bozok Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

2015; Sayfa: 41

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Dilek PANDIR

ÖZET

Ultraviyole (UV) radyasyona maruz kalmak tüm canlılar için tehlikelidir. UV böcekler üzerinde birçok etki göstermektedir. Bu çalışmada, *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) larvaları üzerine UV'nin öldürücü etkisi çalışılmıştır. Larvalar UV radyasyonuna (254 ve 365 nm) farklı zaman periyotlarında (15, 30, 45 ve 60 dk.) maruz bırakılmıştır. Çalışma sonunda larvaların ölüm oranları, komet değerleri ve antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GST ve GPx) ve MDA seviyeleri araştırılmıştır. Işınlama süresi arttıkça *E. kuehniella* larvalarının ölüm oranları artmıştır. Kısa (254 nm) ve uzun (365 nm) dalga boylarının ölüm oranları üzerindeki etkilerini karşılaştırdığımızda 254 nm dalga boyunun 365 nm dalga boyundan daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu durum, antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA seviyesinde de tespit edilmiştir. Komet değerlendirme sonuçlarına göre kuyruk % DNA'sı ve komet kuyruk uzunluğu 254 nm dalga boyunun tüm uygulama zamanlarında istatistiksel olarak artarken bu değişimler 365 nm UV radyasyonun yalnızca 45. ve 60. dakikalarında tespit edilmiştir. Kuyruk % DNA'sı ve kuyruk uzunluğu 254 nm dalga boyunda 365 nm dalga boyuna göre daha fazladır. Sonuç olarak, UV radyasyon depo zararlılarının kontrolünde güvenilir bir metod olarak, çevreye zararlı kimyasal pestisitlere bir alternatif olarak kullanılabilir.

Anahtar sözcükler: *Ephestia kuehniella*, UV radyasyon, ölüm oranı, antioksidan enzimler, komet testi, oksidatif stres.

**UV RADIATION-INDUCED OXIDATIVE STRESS AND DNA DAMAGE
MEDITERRANEAN FLOUR MOTH *EPHESTIA KUEHNIELLA* ZELLER
(LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) LARVAE**

Esra ERARSLAN

**Bozok University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Master of Science Thesis**

2015; Page: 41

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dilek PANDIR

ABSTRACT

Exposure to ultraviolet (UV) radiation is hazardous for all organisms. UV shows numerous effects on insects. In this study, mortality effect of UV on *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) larvae was studied. The larvae were exposed to UV radiation (254 and 365 nm) at different time periods (15, 30, 45 and 60 min). After exposure, mortality rate, comet assay studies, antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, GST and GPx), and MDA levels were investigated on the larvae. The mortality rate of *E. kuehniella* larvae increased with increasing exposure times. It was determined that 254 nm was more effective than 365 nm compared to the effects of short (254 nm) and long-wave (365 nm) radiations on mortality rate of *E. kuehniella* larvae. Likewise 254 nm had more potency than 365 nm on antioxidant enzyme activities and levels of MDA. According to the comet assay results, the tail DNA% and comet tail length significantly increased in all exposure times at 254 nm, but these changes were seen only 45 min and 60 min at 365 nm of UV radiation. Therefore, tail DNA% and tail lengths of 254 nm radiation could be greater than the tail lengths of 365 nm UV radiation. The UV radiation could be effectively as a safe pest control method and as an alternative to environmentally hazardous chemical pesticides.

Key words: *Ephestia kuehniella*, UV radiation, mortality, antioxidant enzymes, comet assay, oxidative stres.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam Sayın Doç. Dr. Dilek PANDIR'a ve her zorlukta kapısını çalabildiğim değerli hocam Sayın Arş. Gör. Dr. Hatice BAŞ'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: 2014FBE/T100). Maddi desteklerinden dolayı Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim

Ayrıca bu süreçte beni yalnız bırakmayan, dualarıyla her zaman destek olan canım annem Hatice GÜVEN'e, her konuda fikirleriyle yanımda olan ve tüm imkanlarını sonuna kadar kullanan kıymetli eşim Abdülhakim ERARSLAN'a ve tüm aileme teşekkür ederim.

TABLolar LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1:	Biyolojik mücadele ve kimyasal mücadelenin karşılaştırılması.....	6
Tablo 4.1:	<i>E.kuehniella</i> larvalarının 254 ve 365 nm UV radyasyona maruz kaldıklarında LT ₅₀ ve LT ₉₉ değerleri.....	24
Tablo 4.2:	Farklı dalga boyları ve sürelerde uygulanan UV nin komet değerleri üzerine olan etkisi.....	27

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1.	<i>E.kuehniella</i> Zeller, 1879.....7
Şekil 2.2.	Ergin <i>E. Kuehniella</i> 8
Şekil 2.3.	DNA hasarı ve hücre sel yanıt.....9
Şekil 2.4.	Komet testinin genel aşamaları.....13
Şekil 3.1.	<i>E. kuehniella</i> 'nın yetisme kapları.....16
Şekil 4.1.	<i>E. kuehniella</i> larvaların MDA düzeyinde 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi.....21
Şekil 4.2.	<i>E. kuehniella</i> larvaların SOD aktivitesi üzerine 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi.....22
Şekil 4.3.	<i>E. kuehniella</i> larvaların CAT aktivitesi üzerine 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi.....22
Şekil 4.4.	<i>E. kuehniella</i> larvaların GPx aktivitesi üzerine 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi.....23
Şekil 4.5.	<i>E. kuehniella</i> larvaların GST aktivitesi üzerine 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi.....24
Şekil 4.6.	<i>E. kuehniella</i> larvalarının ölüm oranına 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi25
Şekil 4.7.	<i>E. kuehniella</i> larvaları ölüm oranına 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi.....26
Şekil 4.8.	<i>E.kuehniella</i> larvalarının 254 nm ve 365 nm UV'de farklı maruz kalma zamanlarında komet kuyruk DNA'sının değışiklik yüzdesi....28
Şekil.4.9	<i>E. kuehniella</i> larvalarında 254 ve 365 nm UV'de farklı maruz kalma zamanlarındaki komet kuyruk uzunluğu değışiklikleri.....28
Şekil.4.10.	<i>E. kuehniella</i> larvalarında 254 ve 365 nm UV'de farklı maruz kalma zamanlarındaki kuyruk momenti değışiklikleri.....29

KISALTMALAR LİSTESİ

CAT	: Katalaz
CDNB	: 1-chloro-2,4-dinitrobenzen
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
FTT	: Fosfatla Tamamlanmış Tuz Çözeltisi.
GPx	: Glutatyon Peroksidaz
GSH	: Glutatyon
GST	: Glutatyon-S-Transferaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
LPO	: Lipid Peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
NADP	: Nikotinamid-adenin-dinükleotid Fosfat
NADPH	: Nikotinamid-adenin-dinükleotid Hidrojen Fosfat
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiyobarbütirik Asit
UV	: Ultraviyole

1. GİRİŞ

1.1. Tezin amacı

Bu çalışma, daha güvenli haşere kontrol yöntemi geliştirerek kimyasal pestisit kullanımını azaltmayı amaçlamaktadır. Bunun için, *Ephestia kuehniella* larvaları ultraviyole (UV) radyasyona maruz bırakılmış ve UV'nin etkileri komet testiyle, ölüm oranlarını gözlemleyerek ve antioksidan enzimler olan Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon S-transferaz (GST) enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonunun en önemli son ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesi belirlenerek yapılmıştır.

1.2. Tezin konusu ve önemi

İnsanlar için tahıllar temel besin kaynağıdır çünkü mineral, vitamin, karbonhidrat ve protein gibi birçok besin maddesi içerirler [1]. Fakat depolanan ürünlerin zararlıları tahılın kalite ve miktarında önemli miktarda kayba neden olur. *E. kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) depolanan ürünlerin zararlılarından biridir. Dünyada ciddi ve yaygın tahıl zararlılarından [2]. *E. kuehniella* larvaları ağ üretir, ağ ekonomik kayıplara neden olduğundan tüketiciler için kabul edilemez [3]. Esas olarak, bu zararlıların kontrolü insektisitler ile sağlanır [4]. Fakat bunlar birçok çevresel sorunlara neden olur [3]. Ayrıca bunlar böceklerin direncini artırırken memelilerde zehirlenmeye ve besin zincirinde aksaklığa neden olur [5]. Bu nedenle insektisitlerin tüm bu istenmeyen etkilerinden dolayı alternatif kontrol yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır [6].

Radyasyon tekniği depolanan ürün zararlıları için alternatif kontrol yöntemlerinden biridir [7,8]. Uzun yıllar boyunca, birçok farklı ortamda, UV radyasyon organizmalar için potansiyel bir stres olarak kabul edilmiş ve çok çeşitli zararlı etkilerinin olduğu tespit edilmiştir [9]. UV çok önemli bir çevresel faktör olup, UV radyasyon nedeniyle, genler kolayca zarar görebilir ve daha sonra mutasyonlar oluşabilir [10].

UV tarafından DNA'da oluşturulan en temel hasar pirimidin dimerlerinin oluşumudur [11-13]. UV fitoplanktonları, yumurtaları ve balıkların yumurta ve larva

dönemlerini ve diğer sucul organizmaların sağlığını olumsuz olarak etkileyebilir [14]. Ayrıca böcekler üzerinde çok sayıda olumsuz etkisi vardır [15]. UV radyasyonun depo zararlıları üzerindeki etkilerini Ayvaz ve ark., (2008) yaptıkları çalışmalarda göstermiştir [7,8]. Böcek çekici ilaçlar ve böcek yumurtalarının dezenfeksiyonu bunlar arasında sayılabilir [16].

UV radyasyon reaktif oksijen türleri (ROT) üretebilir, dolayısıyla doğrudan ya da dolaylı olarak oksidatif stres yoluyla DNA hasarı oluşturduğu kanıtlanmıştır [10,17]. ROT, DNA ve enzim oksidasyonuna, antioksidan enzim aktivitelerinde değişikliklere ve böcek dokularında lipid peroksidasyonuna (LPO) neden olur. LPO'nun son ürünü MDA en çok çalışılan oksidatif stres göstergesidir ve biyomoleküler hasara neden olabilir. Detoksifikasyon ve antioksidan sistemler, hücrelerin savunmasında önemli bir rol oynamaktadır [18]. ROT böceklerdeki bir grup antioksidan enzim tarafından yok edilir. SOD, CAT, GPx ve GST böceklerdeki antioksidan enzimlerdir [19]. Bunlar endojen olarak meydana gelen ROT'a karşı koruyucu kompleks oluşturur [18].

Fiziksel ve kimyasal maddelerin neden olduğu genotoksik etkileri belirlemek için, bakteri, memeli ve bitki hücreleri gibi farklı türde hücreler kullanılır [20]. Potansiyel genotoksisiteyi belirlemek için, tek hücre jel elektroforezi veya "komet" testi kullanılır [21,22]. Komet testinin DNA hasarının iyi bir göstergesi olduğu kanıtlanmıştır [20,23]. Komet, DNA hasarını değerlendirmek için kullanılabilen güvenilir, hassas ve hızlı bir yöntemdir [24].

2. GENEL BİLGİLER

Dünya’da olduğu gibi ülkemizde de tarım büyük önem taşımaktadır. Bu denli önemli olan tarımın zarar görmesinin önlenmesi, kazancın en üst seviyede tutulmasını sağlamak için oldukça önemlidir. Bunlar için uygulanan pestisit kullanımı oldukça yaygındır. Özellikle son dönemlerde ülkemizde organik tarım yaygınlaştığı için pestisit ve kimyasal kullanımı azaltılmak istenmiştir. Bu sebeple, insanlar alternatif biyolojik mücadele yöntemlerine yönelmiştir [25].

Biyolojik mücadele; zararlı popülasyonunu azaltmak ve baskı altında tutabilmek için canlı organizmalardan faydalanılarak yapılan bir mücadele şeklidir. Depolanan tarımsal ürünlerin korunması üretici, işletme ve ihracatçılar açısından oldukça önemlidir [25].

Biyolojik mücadeleyi olumsuz yönde etkileyen faktörler vardır. Bunlar; iklim, konukçu uygunluğu, karınca, toz, zararlı ve hastalıklara karşı kullanılan zirai ilaçlardır [26]. UV radyasyon tekniği, son dönemlerde ön plana çıkan kolay uygulanan zararsız biyolojik mücadele yöntemidir. Ürüne zarar veren böcek ve haşerelerden ürüne zarar vermeden kurtulma yöntemlerinden birisidir. UV radyasyon, böceklerin hangi evrede olduğuna bakılmaksızın farklı gelişim evrelerinde uygulanabilir. Radyasyon ABD, Rusya, Brezilya, İngiltere gibi ülkeleri de içeren 40’ın üzerinde ülkede zararlı kontrolünde kullanılmaktadır [27].

2.1. UV radyasyon

UV radyasyon, güneşten gelen ışık enerjisinin bir şeklidir. Güneş elektromagnetik spektrum diye bilinen bir dizi enerji yayar. Enerjinin şekilleri, dalga boylarına göre sınıflandırılır. En kısa dalga boylu radyasyon en fazla enerjik olandır. UV radyasyon 320-400 nm arasında UV-A, 280-320 nm arasında UV-B ve 200-280 nm arasında UV-C olmak üzere üç kategoride sınıflandırılabilir [28,29]. UV radyasyon, yeryüzüne erişen güneş enerjisinin bir parçasıdır. Yeryüzüne ulaşan güneş radyasyonunun yaklaşık % 5’ini oluşturur ve dalga boyları 100-400 nm arasındadır. Aralığın; % 95-98’i UV-A, % 2-5’i UV-B’dir, UV-C yeryüzüne ulaşmadan stratosferik ozon tabakasında emilir. Eğer normalin üstünde UV dünyaya erişirse, en kısa dalga boylu UV radyasyon canlılar için önemli derecede zararlı olabilir [30]. UV-A, UV

radasyonun en az zararlı şeklidir ve dünyaya büyük miktarlarda erişir. Çoğu UV-A ışınları ozon tabakasının içerisinde doğrudan geçer. UV-B radyasyon potansiyel olarak çok zararlıdır. Güneşin UV-B radyasyonunun çoğu stratosferde ozon tarafından yutulur. UV-C radyasyon çok enerjik olduğundan potansiyel olarak en fazla zararlıdır. UV-C'nin tamamı stratosferde oksijen ve ozon tarafından yutulur ve asla dünya yüzeyine erişmez [31].

UV radyasyon güneşten gelen bir enerji türü olduğu için insanları etkiler. Özellikle güneş tam doğarken UV ışınları fazlaca yayılır. İnsanlar beyaz renk elbise giyerek bu ışınların yansımaları sağlayabilir. Kar veya kumdan yansıyan bu ışınların kar ve güneş körlüğü yapabileceği ihtimalde bir diğer risk faktörüdür. UV'nin derine inmesi zor olduğu için göz ve deri kanseri yapma ihtimali diğer hastalıklara göre daha fazladır. Deri kanserlerinin %80'ine yakını UV etkisi ile olmaktadır. Zararlarının yanı sıra mikropları öldürmesi gibi faydalarından dolayı da hastanelerin ameliyat odalarında UV lambaları kullanılır. UV ışınları görünmezdir ve de görünür ışığın dalga boyundan daha az dalga boyuna sahiptir. UV ışınları floresan bir madde ile aranabilir [32]. Bunların yanı sıra dünyada yer ve israfın bir sorun oluşturması neticesinde gıdayı korumak ve gıdadan kaynaklanan hastalıklarının azaltılmak istenmesi nedeniyle radyasyon kullanımı yaygınlaşmıştır. Bunun bazı örneklerini şöyle sıralayabiliriz.

- Et ve et ürünlerinin raf ömrünü uzatmak,
- Baharatlardaki zararlı organizmaları azaltmak,
- Patates ve soğanın çimlenmesini sağlamak,
- Tahıllarda bulunan zararlıların yok edilmesi,
- Meyve olgunlaşma sürecini geciktirmek,
- Et ve kümes hayvanları ile su ürünleri sterilizasyonu [31].

UV radyasyon uygulamaları gibi biyoteknolojik [32], faydalı böceklerin salımı gibi biyolojik yöntemler ve feromon uygulamaları [33] zararlıları baskı altında tutan yaygın kullanımlardandır. Biyolojik mücadelede kullanılan yöntemlerin önemlilerinden olan UV, kısa dalga boylu ancak yüksek enerjili elektromanyetik spektrumun bir parçasıdır. UV radyasyon hücre içindeki moleküller tarafından

absorbe edilebilir ve spesifik kimyasal değisikliklere yol açabilir. Radyasyon DNA üzerinde ciddi hasarlara neden olup lme sebep olabilir. UV radyasyon, DNA'da timin bazları arasındaki dimer bağlarını koparıp replikasyonu engelleyebilir [34]. UV radyasyondan kaynaklanan serbest radikallerin ve ROT'un neden olduğu birçok DNA hasarı bilinmektedir. UV radyasyonun gen aktivitesinin değişiminde tetikleyici rol oynadığı da bildirilmektedir [33]. Organizmaların UV'yi nasıl algıladıkları ve sinyal iletiminin nasıl gerekleştiiği henüz bilinmemektedir. Gen aktivitesinin değişiminde aktif oksijen radikallerinin tetikleyici olduğu düşünülmektedir [34].

rn zararlılarının kontrolü, ekonomik ve sağlık açısından önemli hasarlara neden olduklarından dolayı yapılmalıdır. Bunun için çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Bu yöntemlerden yaygın olarak kullanılan yöntem insektisit yani kimyasal kullanımıdır. Fakat kimyasalların çevreye verdiği zarar ve de böceklerin bu tür bileşiklere karşı oluşturdukları direnç, mücadele yöntemlerinin değişmesine sebep olmuştur. Zararlı böceklerle mücadelede günümüze kadar biyolojik mücadele strateji ve yöntemleri farklı şekillerde araştırılmış ve uygulanmıştır. Depo zararlılarına karşı uygulanabilir yöntemlerden bir tanesi de UV radyasyon tekniğidir. Bu yöntem hızlı ve etkili bir yöntem olmasının yanı sıra kimyasallara göre zararı daha azdır. Depo zararlılarının UV radyasyona karşı toleransları her evrede (larva, ergin, vb.) vardır. Farklılıklar böcek türlerinin UV radyasyona karşı hassaslığı ile de belirlenebilir [34]. Bunlar biyolojik mücadelenin kimyasal mücadeleye karşı avantajlarındandır (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1: Biyolojik mücadele ve kimyasal mücadelenin karşılaştırılması [35].

<u>Biyolojik Mücadele</u>	<u>Kimyasal Mücadele</u>
<ul style="list-style-type: none">• İnsan ve çevre sağlığına olumsuz etkisi yoktur.	<ul style="list-style-type: none">• İnsan ve çevre sağlığını tehdit eden etkileri vardır.
<ul style="list-style-type: none">• Doğal düşmanları korur.	<ul style="list-style-type: none">• Doğal düşmanları yok eder.
<ul style="list-style-type: none">• Potansiyel zararlıları baskı altında tutar	<ul style="list-style-type: none">• Potansiyel zararlılar ana zararlı konumuna geçebilir.
<ul style="list-style-type: none">• Uygulamada kullanılacak etmenlerin çoğu doğada vardır	<ul style="list-style-type: none">• Her uygulamada tekrar kullanılmak zorundadır.
<ul style="list-style-type: none">• Mücadele maliyeti ucuzdur.	<ul style="list-style-type: none">• Mücadele maliyeti pahalıdır.
<ul style="list-style-type: none">• Dayanıklılık problemi yaratmaz.	<ul style="list-style-type: none">• Dayanıklılık problemi yaratabilir
<ul style="list-style-type: none">• Doğal düşmanlar etkili oldukları zararlıyı baskı altına alırlar.	<ul style="list-style-type: none">• Uygulama hataları nedeniyle her zaman beklenen sonuç alınmayabilir.

2.2. *Ephestia kuehniella* ZELLER, 1879 (Akdeniz un güvesi)

Şube: Arthropoda

Alt şube: Uniramia

Sınıf: Insecta (Hexapoda)

Alt sınıf: Pterygota (Metabola)

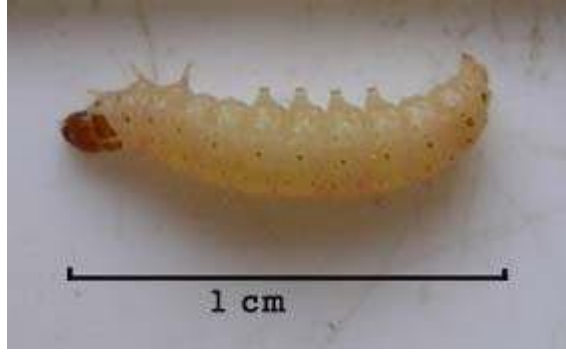
Takım: Lepidoptera (Güveler ve Kelebekler)

Alt takım: Frenata (Heteronuera)

Familya: Pyralidae

Cins: *Ephestia*

Tür: *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879



Şekil 2.1. *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879, [32].

Ephestia kuehniella Zeller, tüm dünyada depolanmış tahıl, un ve irmiğin en önemli zararlılarından (Şekil 2.1) [36]. Un güvesi, *E. kuehniella* önemli bir depo zararlısıdır ve özellikle nişastalı ürünlere zarar verir, doğrudan bulaşmasının yanı sıra dışkıları ve larvaların ördüğü ağlar ile de ürünü kirletir [37-39]. Depo zararlısı bu türlerin, ülkemizde ve yaygın olarak Trakya bölgesinde depolanmış un, buğday ve ayçiçeğinde de yaygın olarak bulunduğu bilinmektedir [39-42,43,44].

Depolanmış ürünlerde zarar oluşturan böcekler hem kalitatif hem kantitatif özellikler bakımından önemli kayıplar meydana getirmektedirler [45]. Lepidoptera takımından önemli bir tür olan *E. kuehniella* pek çok üründe zarar meydana getirmektedir [46]. Un güvesinin özellikle larvaları birinci derecede un ve mamullerinde, ikinci derecede tahıllarda zarar meydana getirmektedir. Bu türün larvaları ördükleri ağlar ile unlarda topaklanmalara neden olmakta, beslenmeleri sonucu gıda maddelerini kirletmekte, kızılaşma sonucu bozulma ve kokuşmaların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır [45]. *E. kuehniella*'nın besinler ile kültüre alınması ekoloji ve fizyolojilerinin yanında bunların farklı evrelerindeki bazı metabolik olayların moleküler düzeyde incelenmesine de olanak sağlar [47].

Dişi böcekler beslendiği un ya da gıdaların üzerine 100-600 yumurta bırakabilir. Yumurtalar oval ve beyaz renklidir ve 27 °C de 2-6 günde açılır. Yumurtaların ortalama büyüklükleri 0.57-0.30 mm'dir [48]. Larvalar krem renkte ve kıllarla kaplı, kıl diplerinde kahverengi pigment halkaları bulunmaktadır, olgun larvalar 10-19 mm boyunda, pupalar ise sarımsı renkte ve 9 mm boyundadır. Gelişimlerinin 40 gününü larva olarak geçirirler ve sonra kahverengi olurlar [48]. Larvalar olgunlaşınca kültür

ortamından ayrılıp pupa için uygun olan çatlak, girinti gibi yerlerde kokon yani ağ örterler. Pupa evresi 8-12 gün arasındadır. Sonra ergin hale geçerler [48].

E. kuehniella'nın erginleri dumanlı gri renkte ve 10-14 mm boyunda olup, ön kanatları üzerinde enine zikzak bantlar bulunmakta geniş, uçları saçaklıdır ve kanat açıklığı 16-25 mm'dir (Şekil 2.2). Sıcaklığa ve beslenmeye bağlı olarak yılda 2-6 döl verebilirler [48]. Zararı un, hurma, kuru sebze, kepek, makarna ve bisküvide görülür. *E. kuehniella* türlerinde çiftleşme kısa sürer ve genellikle karanlıkta gerçekleşir. Erkek böcekler yaşamı boyunca 5-8 dişi ile çiftleşebilirken her bir çiftleşme sonucunda yumurtaların dölllenme verimi düşer [49-52].

Bu böcekler genellikle hava karardıktan sonra uçmaya başlarlar ve şafak vaktine kadar hareketlidirler. Erkeklerin hareketliliğinde şafak vaktinden hemen sonra bir artış görülür [53]. Dişileri un ya da diğer tozlar cezbeder [54]. Bu zararlının seksenin üzerinde doğal düşmanı vardır. Bu nedenle biyolojik mücadelesi mümkündür. En etkili düşmanları parazitlerdir. *E. kuehniella*'nın yumurta, larva ve pupa paraziti bulunmaktadır [55].



Şekil 2.2. Ergin *E. kuehniella* [32].

Entomolojide radyasyonla ilgili son 50 yılda yapılan çalışmalar incelendiğinde radyasyona en dayanıklı böcek takımının Lepidoptera olduğu görülmektedir [56]. Lepidopterlerin kromozomları çok küçük, küresel, çok sayıda ve belirli bir sentromerik yapıya sahip değildirler. Buna rağmen metafaz aşamasında kardeş kromatitler düzgün bir şekilde dizilirler ve diğer jenerasyonlara düzgün bir şekilde aktarılırlar. Lepidopterler bu özellikleriyle holokinetik kromozomları olan bir tür

olarak tanımlanmakta ve onların yüksek radyasyon direncinin sebebinin kromozomlarının bu özelliğinden ileri geldiği düşünülmektedir [57].

2.3. Oksidatif Stres

Tüm canlılar için hayati önemi olan oksijen, hücre için gerekli olan enerji üretiminde kullanılır. Enerji üretiminin doğal bir yan ürünü olan serbest oksijen radikalleri reaktif ve potansiyel olarak yüksek düzeyde zararlı maddelerdir [58]. Hücreler, serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için antioksidan üretirler. Serbest radikallerin oluşumları ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilmeleri arasında bir denge vardır. Bu denge sayesinde hücreler serbest radikallerin olumsuz etkilerinden zarar görmez. Bu dengenin serbest radikaller lehinde bozulması halinde hücrede serbest radikaller artar. Serbest radikallerin hücredeki bu artışına ve hücre fonksiyonları üzerinde yapmış olduğu olumsuz etkiye oksidatif stres denir [59]. Oksidatif stres, canlı organizmadaki prooksidan/antioksidan sistemin dengesinin bozulmasından kaynaklanmaktadır. Mitokondriyal elektron taşınımı ya da bazı nörotransmitterlerin (norepinefrin, dopamin gibi) otooksidasyonu sonucundaki oksidan oluşumunu ve doku hasarını tetiklemektedir. Oksidatif stres temel olarak süperoksit ve nitrik oksit üretimine dayanmaktadır [60].

2.4. Antioksidanlar

Serbest radikaller, üzerinde elektron fazlalığı veya eksikliği nedeniyle yüklü olan kimyasal olarak aktif atom veya moleküllerdir. Serbest radikallerin en önemlileri özellikle reaktif tür oksijen içerenlerdir. Bunlar; hidrojen peroksit, alkoksit ve ozon gibi eşleşmemiş elektronu bulunmayan oksijen türevleri ile hidroksil, peroksil, azot oksit, azot trioksit ve süperoksit radikallerini içerir. İşte bu serbest radikalleri ortadan kaldıran, oksidasyonunu engelleyen ya da oksidasyon reaksiyonunun gecikmesine neden olan maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir [61]. Yani antioksidanlar, serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirip, reaksiyonları yavaşlatıp, sonlandırıp ya da serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkilerini azaltmaya çalışırlar [62].

Canlı organizmada normal metabolizma sırasında ya da patolojik yolla ortaya çıkan serbest radikaller ve buna karşı koruyucu sistem olan antioksidan savunma sistemi

arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması oksidatif stres olarak adlandırılır. Normal fizyolojik şartlarda serbest radikal ürünleri antioksidan sistemler tarafından dengelenir. Bu antioksidan moleküller serbest oksijen radikallerinin temizlenmesinde ve dolayısıyla oksidatif hasarın önlenmesinde oldukça önemlidirler [35].

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek, reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler [63].

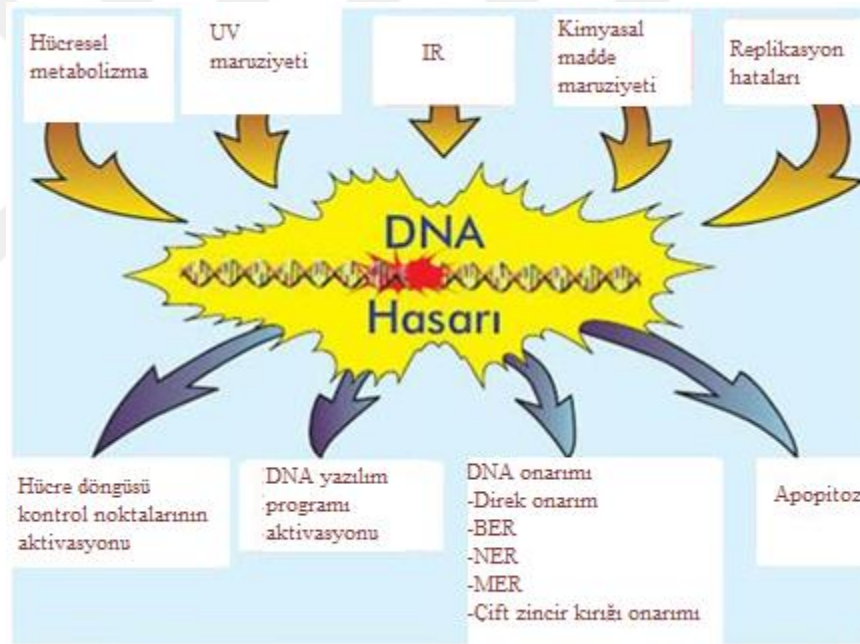
Hücreler oksidatif hasara karşı enzimatik ve enzimatik olmayan antoksidan sistem ve moleküllerle korunurlar. Hücresel seviyede etkili olan enzimatik sistemler içinde biricil olan antioksidan enzimler arasında SOD, CAT, GPx, GST enzimatik olmayan antioksidanlara ise vitamin E, vitamin C ve glutatyon örnek olarak verilebilir [35].

SOD, süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalize eden bir enzimdir. Süperoksid radikallerinin dismutasyonu ile ya da direkt olarak oluşan hidrojen peroksit ise GPx ve CAT enzimleri tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir [64].

2.5.DNA Hasarı

Doğada canlılar yaşamları süresince pek çok biyotik ve abiyotik stres etmeniyle karşı karşıya kalmaktadırlar. Bu stres etmenleriyle mücadelede çeşitli kimyasallar, özellikle pestisitler, kullanım kolaylıkları ve etkilerinin kısa sürede ortaya çıkması gibi nedenlerden dolayı tercih edilmektedirler. Artan bu pestisit kullanımına bağlı olarak hem hedef organizma hem de hedef olmayan farklı canlılar üzerinde fizyolojik, biyokimyasal, morfolojik ve moleküler olarak tespit edilebilen farklı toksik etkiler oluşabilmektedir [65]. Gama ışınları gibi iyonize ışınların mikroorganizmalar üzerindeki etkileri hücre içerisine giren ışınların atomlardan elektron uzaklaştırarak iyonize moleküller oluşturması ile gerçekleştirilir. Bunun sonucu hücre DNA'sı ve membranın fonksiyonlarında önemli ölçüde değişimler oluşur ve serbest radikaller meydana gelir. Serbest radikallerin reaktiviteleri de

ikincil değişimlere yol açar. DNA hasarı ve hasar derecesinin belirlenmesi genotoksik etkilerin ortaya konması açısından önemlidir. Şimdiye kadar DNA hasarının belirlenmesi ile ilgili çok sayıda teknik kullanılmış, bunların birçoğunun pahalı ve uzun çalışma süresi gerektirmesi ve kimi zaman da birçok laboratuvar veya üniversitenin sahip olmadığı radyoaktif çalışmaları içermesi ve hatta çalışma sonunda beklenen başarının elde edilememesi bu alanda çalışma yapılmasını güçleştirmiştir [32,66]. Ancak, son yıllarda tıp ve biyoloji alanlarında belirtilen sorunlara cevap verebilecek “Komet Testi” veya “Tek Tip Hücre Jel Elektroforezi” adında giderek daha fazla kabul gören yeni bir moleküler test sistemi geliştirilmiştir. Günümüzde komet testinin, yaşlanma, genetik toksikoloji ve moleküler epidemiyoloji gibi pek çok alanda uygulamaları vardır [67].



Şekil 2.3: DNA hasarı ve hücresel yanıt [67].

240-400 nm dalga boyunda olan UV ışınları DNA üzerinde iki tip hasar oluşturabilir.

- **Pirimidin dimerlerinin oluşumu:** UV ışınlarına maruz kalan DNA’ da komşu pirimidinler arasında kovalent bağlar oluşur. En çok siklobütan pirimidin dimerleri oluşmaktadır [68].

- **DNA çapraz bağları ve zincir kırıkları:** UV radyasyon DNA-protein ve daha az olmak üzere DNA-DNA çapraz bağlarının oluşumuna neden olur [58,69]. Ayrıca UV'ye maruz kalan DNA'da zincir kırıkları oluştuğu bilinmektedir [68].

2.5.1. DNA Hasarına Hücre Yanıtı

Hücrede DNA hasarı meydana geldiğinde dört önemli yanıt oluşur [69].

1- DNA hasarı kontrol noktalarının aktivasyonu ile hücre döngüsünün ilerlemesinin engellenmesi, bu şekilde hasarlı genetik materyalin onarımına imkan sağlanması ve hasarlı kromozomların genetik geçişinin önlenmesi,

2- Hasarlı DNA'nın çıkarılarak DNA çift zincirinin doğru bir şekilde yeniden yapılandırılması (DNA onarımı),

3- Hücredeki bazı genlerin transkripsiyon düzeylerinin hücrenin yararına olacak şekilde değişmesi (transkripsiyonel cevap),

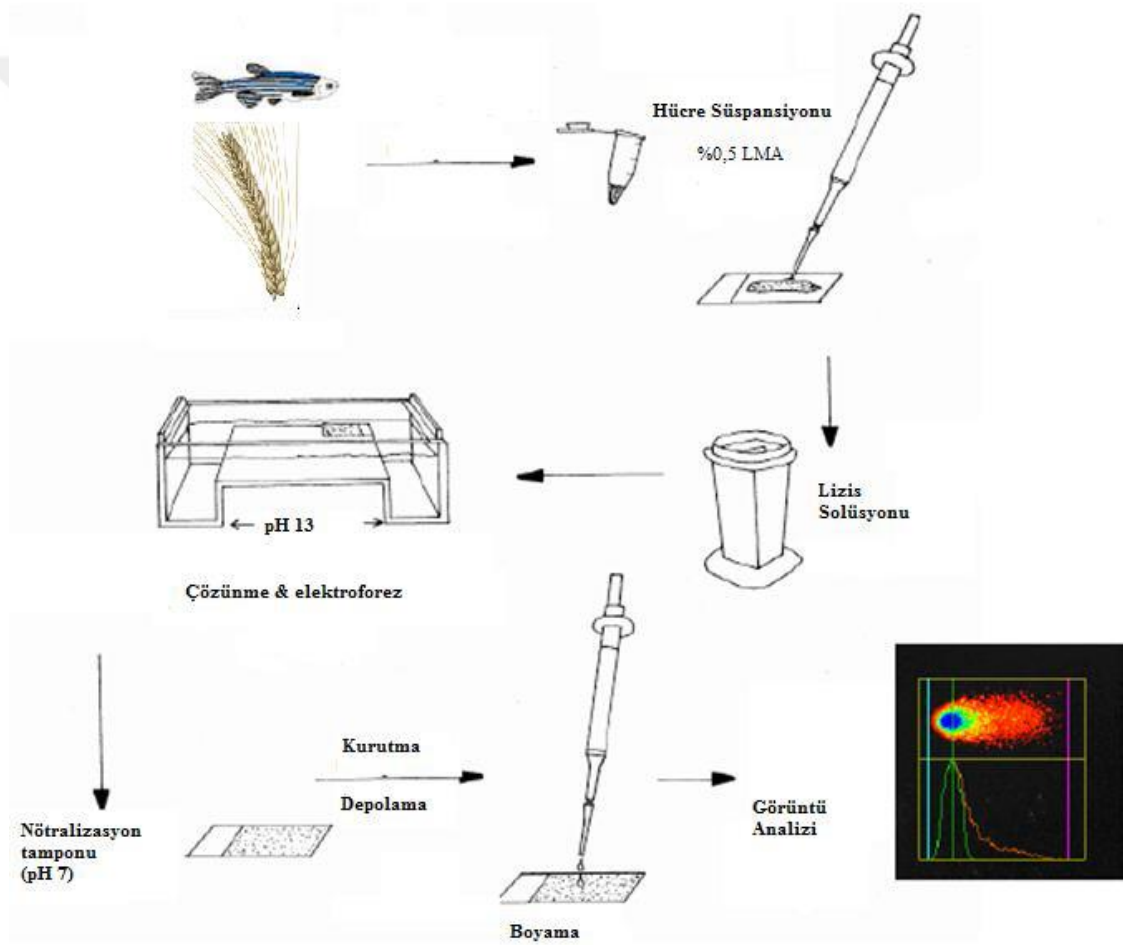
4- Ciddi olarak hasar görmüş hücrelerin ölümü (programlı hücre ölümü, apoptoz) (Şekil 2.3.).

2.6. Komet Analizi Ve DNA Hasarının Belirlenmesi

Hücrelerde DNA hasarı ilk kez 1978 yılında Rydberg ve Johanson tarafından belirlendi. Daha sonra bu teknik geliştirilerek hücrelerde DNA hasar tespitinin hassasiyetini arttırmak için Ostling ve Johanson tarafından elektroforez basamağı eklendi. Bu yöntemin geliştirilmesi için atılan önemli son adım da sadece çift sarmal kırıkları değil tek sarmal kırıklarının da anlaşılması için nötral değil alkali koşullarda işlemin yapılması idi. Bu nedenle 1988 yılında Singh ve ark. yüksek alkali ortamda (pH >13) yöntemi uygulamışlardır. Bugün hala Singh ve ark.'nın geliştirmiş olduğu, hem tek hem de çift zincir kırıklarının anlaşılmasını sağlayan metod kullanılmaktadır. Tek hücreli jel elektroforezi veya diğer adıyla "Komet Testi" tekniği hücre düzeyinde DNA hasarını saptamak ve derecesini belirlemek için uygulanan hızlı ve hassas bir floresan mikroskopik yöntemdir [70]. Yaşlanma, moleküler epidemiyoloji, klinik ve genetik toksikoloji alanların da önemli uygulamaları olan "Komet Testi" son yıllarda giderek artan bir sıklıkta apoptoz,

oksidatif stres antioksidan çalışmalarında da yer almıştır [67]. Mikroskop lamı üzerindeki agaroz jel içine gömülen hücreler, zarların parçalanıp çekirdekte bulunan süpersarmal DNA'nın serbestleşmesi için lizis işlemine tabi tutulur. Alkali ortamda süpersarmal yapı gevşer, açılır ve kırıklar ortaya çıktıktan sonra elektroforez etkisi ile kırılmış DNA zincirleri anoda doğru göç edip kuyruklu yıldız görüntüsü oluşturur. Lizis basamağından sonra ilave kırıklar oluşmaması için işlemler mümkün olduğunca karanlık ortamda gerçekleştirilir [71].

2.6.1“Komet Testi” basamakları



Şekil 2.4: Komet testinin genel aşamaları [71].

2.6.1.1. Hücrelerin hazırlanması: Kültüre edilmiş hücreler, tam kan örnekleri, kemik iliği, doku örnekleri, sperm hücreleri materyal olarak kullanılabilir. Tam kan örneklerinde DNA hasar çalışmasında heparinize kan kültür ortamına alınır, düşük erime noktalı agaroz ile karıştırılarak kullanılır. Kan örneklerinde hücre fraksiyonları

histopak ile izole edildikten sonra kullanılır. Doku kültürlerinde tampon çözelti kullanılarak DNA'nın izolasyonu gerçekleştirilir. Fibroblast ve doku örneklerinde ise tripsin-EDTA ile muamele edilerek önce proteinler uzaklaştırılır. Semen örneklerinde semen içeriğinden hücreler izole edilir. Bu tip ön işlemlerle serbestleşen hücreler agaroz jel ile kaplama yapılmış lamalar üzerine uygulanırlar [72].

2.6.1.2. Hücrelerin jele gömülmesi: Hücreler hazırlanmadan önce normal erime noktalı agaroz jel mikroskop lamalarına tamamen yayılır. Düşük erime noktalı agaroz jel içinde süspanse edilmiş hücreler kaplama yapılmış olan lamaların üzerine yayılır. Yaklaşık 10.000 hücre ile işlemin gerçekleştirilmesi en idealidir [72].

2.6.1.3. Lizis: Agaroz jel donduktan sonra yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren lizis çözeltisinde bekletilir. Lizis işlemi sırasında membranlar parçalanır ve hücre içeriği çekirdekten uzaklaştırılır [72].

2.6.1.4. Alkali ortamda DNA süpersarmal yapısının çözülmesi: Hazırlanmış olan preparatlar çift sarmal DNA yapısının açılması için elektroforez öncesinde yüksek alkali özellikteki (pH>13) elektroforez tamponunda inkübe edilir. Alkali tampon içersinde çekirdekteki çift sarmal DNA, zincir kırıklarının bulunduğu noktalardan açılmaya baslar. İşlem süresi hücre tipine göre değişmekle birlikte genellikle 5-20 dk olarak uygulanmaktadır [72].

2.6.1.5. Elektroforez: Alkali ortamda DNA sarmalının açılmasından sonra, jel içinde oluşan tek zincir DNA alkali koşullarda elektroforeze tabi tutularak komet oluşumu sağlanır. Elektrik akımı uygulandığı zaman, anoda doğru hareket eden DNA parçaları bir kuyruklu yıldız görüntüsü verir. Hasarsız DNA ise çekirdekten çıkamaz. Spot şeklinde görülür. Elektroforez 24 V, 300 mA akım ve yine hücre tipine göre 14-20 dk süre içinde gerçekleştirilir [72].

2.6.1.6. Yıkama: Alkali ortamda elektroforezden sonra, jel pH'sının nötralizasyonu ve elektroforez tampon çözeltisinden arındırmak amacıyla 5 dk distile su ile yıkanır. Yıkama işleminden sonra lamaların boyanma işlemine geçilir [72].

2.6.1.7. DNA'nın boyanması: "Komet" in görüntülenmesi için floresan boya ve uygun büyütme seçilir. İşaretleme için en çok kullanılan floresan boya etidyum

bromiddir. Boyama sonrasında floresan mikroskobunda anoda doğru göç eden DNA fragmentleri kuyruklu yıldız görüntüsü verir, hasarsız DNA ise yuvarlağımsı bir şekilde görülür [72].

2.6.1.8. Komet görüntülerinin sayılması ve DNA hasarının belirlenmesi: Güvenilir sonuçlar elde edebilmek için değerlendirme deneyimli bir kişi tarafından yapılmalıdır. “Komet”lerin sayılmasında iki farklı yol izlenebilir:

a) Görsel analiz: Görsel değerlendirmeye göre “komet”ler DNA göç uzunluğuna göre 3 kategoride tanımlanır. Sınıflandırma “komet”lerin görünümüne göre şöyle tanımlanır: Parlak başlı objeler ve görünmeyen kuyruklar 0 kategorisine girer (kuyuksuz yuvarlak şeklindeki görüntüler), çok küçük başlı kometler ve uzun dağınık kuyruklar 2. kategoriye girer, 0-2 kategorileri arasında yer alan “komet”ler kolaylıkla ayırt edilebilecek şekilde yer alır. Sayım işlemi için her lamdan rastgele 100 “komet” seçilir ve her birine içinde buldukları kategoriye göre bir değer verilir.

b) Bilgisayarlı görüntü analizi: Mikroskop ile bağlantılı olan kamera sistemi ile “komet”lerin görüntüleri tespit edilir. Bu işlem için üretilen yazılımlar ile otomatik değerlendirme yapılır. Programlar kuyruk uzunluğu, baş ve kuyruktaki floresans yüzdesi, kuyruk momenti gibi çeşitli parametreleri belirleyebilecek şekilde tasarlanmıştır [29].

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. *Ephestia Kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera:Pralidae) Kültürlerinin Kurulması

E. kuehniella stok kültürü Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. 3-3,5 litrelik plastik kaplarda %5 maya, 1 kg buğday unu ve 30 gr buğday tohumundan oluşan karışımda yetiştirilmiştir [73]. Bu karışım içerisine bırakılan yumurtalar 27 ± 2 °C ve % 70 ± 5 bağıl neme ayarlı iklimlendirme kabinlerinde, 14 saat karanlık evre 10 saat aydınlık evre periyotlarında yetiştirilmiştir. Oluşan larvalar ergin hale geldiğinde (35-40 gün) vakum pompası adı verilen toplama aleti ile toplanıp yumurtlama kaplarına alınmıştır. Yumurtlama kapları plastik kavanozların altları kesilip yumurtanın geçebileceği büyüklükte gözenekleri olan tül ile yapıştırılmış, kapak kısmı ise 5 cm çapında kesilip yine aynı tül geçirilmiş malzemedir. Buraya alınan erginlerin yumurtlaması ile kültürün devamlılığı sağlanmıştır.



Şekil 3.1. *E. kuehniella* 'nın yetisme kapları, [32].

3.2. *Ephestia Kuehniella* Larvalarının UV Radyasyona Maruz Bırakılması

1-2 günlük *E. kuehniella* larvalarından,

365 nm'de 15, 30, 45, ve 60 dk için 10'ar adet seçilip petri kabına alındı.

254 nm'de 15, 30, 45, ve 60 dk için 10'ar adet seçilip petri kabına alındı.

Bu larvalara aynı ortam koşullarında farklı dalga boyları uygulandı. 254 ve 365 nm dalga boyları Azizoğlu ve ark., (2011)'ına göre seçilmiştir [5]. Her bir parametre için uygulamalar 6 kez tekrar edildi.

3.3. Tek Hücre Süspansiyonunun Hazırlanması

3.3.1. Larvaların Hazırlanması

Larvalar neşter ile 1 gr'lık ince dilimlere ayrıldı. 5 ml'lik soğuk fosfat tamponu (FTT) behere aktarıldı ve 500 devirde 1 dk süreyle karıştırıldı. Süspansiyon önce 500 µl daha sonra 200 µl bir bez ile süzüldü ve 5 dk (+4°C) buzdolabında dinlendirildi [74].

3.3.2. Lamaların Kaplanması

Hücrelerin lama daha iyi tutulmasını sağlamak için lam bir gece öncesinden ince bir agaroz jel (% 0,5 lik) ile kaplanıp buzlarda (+4°C) bekletildi. Süpernatant, hücre süspansiyonu olarak kullanıldı. Hücre süspansiyonu 100 ml'lik düşük erime noktalı agaroz ile (FTT içinde % 0.8) ile karıştırıldı. Bu karışımın 100 µl'si kaplanmış lamlara yayılıp hava kabarcığı olmayacak şekilde lamel ile kapatıldı. Hücre süspansiyonunu yaydığımız lamalar donması amacı ile 20 dk süreyle buzdolabında bekletildi. Daha sonra lamel dikkatlice lamdan ayrıldı [74].

3.3.3. Lizis

Kaplı lamellerimiz boyama kaplarına dizildi ve 2-9 dk boyunca (0.045M TBE, pH:8.4, %2.5 SDS) lizis tamponu içerisinde bekletildi. Buradan alınan lamalar 2 dk elektroforez çözeltisi içerisinde bekletildi [74].

3.3.4. Elektroforez

Alınan preparatlar elektroforez tankına rodajlı kısım katoda bakacak şekilde, aralarında boşluk bırakılmadan dizildi. 25 V da 4 dk süreyle akım uygulandı. Akım kesildikten sonra dikkatlice çıkarılan lamalar nötralizasyonu sağlamak maksadı ile suya alındı ve 2-5 dk distile edilmiş suda bekletildi. Ardından kurumaya bırakıldı [74].

3.3.5. Boyama

Boyama çözeltisi olan 100 mg ethidium bromide 100 ml distile su eklenerek %1'lik stok hazırlandı. Boyama esnasında stok çözeltisinden 70 µl alınarak her bir preparat ayrı ayrı boyandı. Boyanın her yere dağılması ve görüntünün netliği amacıyla preparatlarımız lamel ile kapatıldı ve görüntülemeye hazır hale gelen preparatlar floresan mikroskopta görüntülenmeye alındı [74].

3.3.6. Görüntüleme ve Komet sayımı

Aynı şartlarda hazırlanan preparatlar floresan mikroskop (BS 200 Prop, floresanlı) kullanılarak dijital renkli video kamera ile 40x büyütme ile incelendi. Göz ile değerlendirilen hücrelerde, herbir slayt için yaklaşık 100 hücre rastgele seçildi ve görüntü analiz sistemi (BAB Görüntüleme Sistemi, Ankara, Türkiye) kullanılarak incelendi [74].

3.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Ölçümü

3.4.1. Doku Toplama

MDA içeriği ve antioksidan enzim aktivitelerini belirlemek için on adet larva kullanıldı. Larvalar, 5 dakika boyunca buz üzerinde donduruldu ve etanol ile sterilize edildi. Sonra bunlar kesildi ve soğuk homojenizasyon tampon maddesi (pH 7.4) ile doldurulmuş eppendorf tüplerin içine toplandı ve -80 ° C'de depolandı. Kullanmadan önce doku çözülmeye kadar tüpler oda sıcaklığında tutuldu.

3.4.2. Örnek Hazırlama

Larvaların özleri 4 °C'de bir homojenizatör (IKA T-18 temel Ultra Turrax homojenleştirici) ile ve daha sonra santrifüjde (Nüve NF800R) 4 °C'de 15 dk'da santrifüj edildi. Daha sonra süpernatantlar analiz için toplandı. Süpernatantlar 4 °C'de SOD ve CAT deneyleri için 1000 g'da, GST ve GPx için 16,000 g'da ve MDA için 4000 g'da santrifüj edildi. Antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA seviyeleri spektrofotometre (Shimadzu UV 1800, Kyoto, Japonya) kullanılarak örneklerin absorbansının ölçülmesiyle belirlendi. Protein konsantrasyonu Lowry ve ark., (1951)'e göre tespit edildi [75].

3.4.3. Malondialdehit (MDA) Aktivite Tayini

Süpernatantlar MDA miktarının tayini için 10 dk. 4.000 g'de santrifüj edildi. MDA düzeyi Ohkawa ve ark., (1979) tarafından tarif edilen tiyobarbitürik asit (TBA) testi kullanılarak analiz edildi [76]. Absorbans 532 nm'de ölçüldü. MDA seviyesi nmol / mg protein olarak tanımlanmalı.

3.4.4. Süperoksit dismutaz (SOD) Aktivite Tayini

SOD enzim aktivite tayini için Marklund ve Marklund'un metodu kullanıldı [77]. Küvetlere Tris-EDTA tamponu ve farklı hacimlerde süpernatant eklenip üzerlerine enzim kaynağı ilave edilerek bu karışımlara pyrogallol konuldu ve spektrofotometrede 440 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. Hesaplamalar yapıldıktan sonra aktivite U/mg protein olarak verildi.

3.4.5. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini

CAT enzim aktivitesinin tayini için süpernatantlar 4 °C'de 10 dk. 1000 g'de santrifüj edildi. Aktivite tayini Aebi tarafından ortaya konulan metot ile gerçekleştirildi [78]. Peroksizomlardaki CAT'ı açığa çıkarmak amacı ile süpernatantlara Triton X-100 ilave edildi, daha sonra H₂O₂ eklenerek absorbans 240 nm'de ölçüldü. Hesaplamaların ardından enzim aktivitesi mmol/mg protein olarak verildi.

3.4.6. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivite Tayini

GPx enzim aktivitesinin tayini için süpernatantlar 4 °C'de 20 dk. 16.000 g'de santrifüj edildi. GPx aktivitesinin belirlenmesinde Paglia ve Valentine'in metodu uygulandı [79]. Bu yöntem, GR'nin 340 nm'de NADPH'ı (nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat) okside etmesi ile oluşan absorbansın ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. NADPH'ın NADP (Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat)'a yükseltgenmesi 340 nm'de absorbansın azalmasına sebep olur, böylece dolaylı olarak GPx'in aktivitesinin tespitinde kullanılmaktadır. Bu karışımın üzerine H₂O₂ eklenerek enzimatik reaksiyon başlatıldı ve 3 dk. boyunca 340 nm'de azalan absorbanslar okundu. Enzimin spesifik aktivitesi nmol/mg protein olarak verildi.

3.4.7. Glutatyon-S-transferaz (GST) Aktivite Tayini

GST enzim aktivitesinin tayini için süpernatantlar 4 °C'de 20 dk. 16.000 g'de santrifüj edildi. GST aktivitesinin belirlenmesinde Habig ve ark'nın metodu kullanıldı [80]. Enzim aktivitesi tayini 340 nm'de, GST enzimi tarafından CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzen), indirgenmiş GSH (glutatyon) ile konjuge edilerek GSH'ın oksidasyonuna bağlı olarak yapıldı. Yapılan hesaplamaların sonrasında aktivite $\mu\text{mol/mg}$ protein olarak verildi.

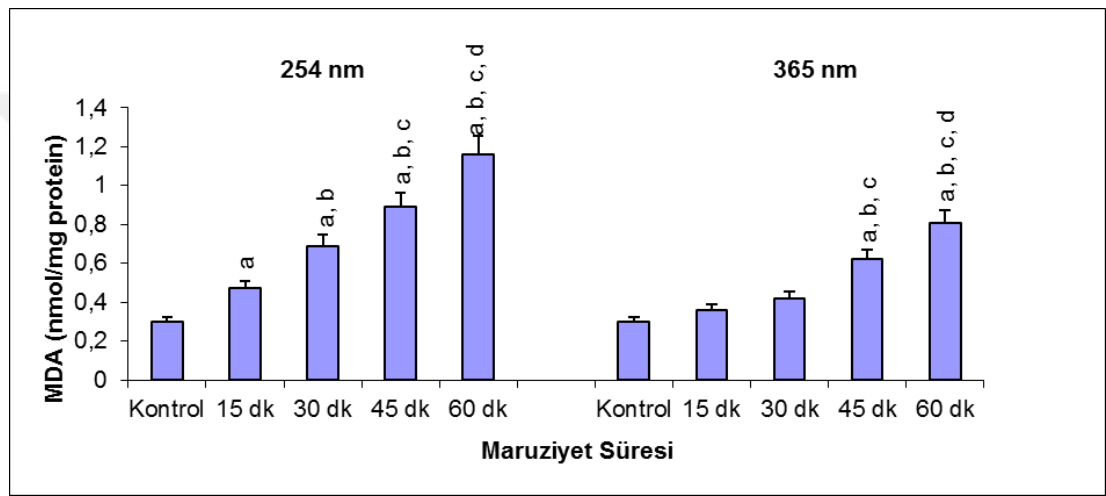
3.5. Verilerin Değerlendirilmesi

E. kuehniella larvaları üzerinde yapılan bu çalışmada, doz artışı ve süreye bağlı olarak, MDA düzeylerinde artış meydana gelirken, SOD, CAT, GPx ve GST aktivitelerinde azalma meydana geldiği görülmüştür. Değerler tek yönlü değişken analizi kullanılarak hesaplandı ve hesaplamada Tukey çoklu karşılaştırma işlemi izlendi. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler *E. kuehniella* larvalarına karşı UV ışınlarının LT50 ve LT99 değerleri değerlendirmek için aynı istatistik programı ile probit analizine tabi tutulmuştur [5].

4. BULGULAR

4.1. UV Radyasyon'un Malondialdehit Düzeyi Ve Enzim Aktivitelerine Etkisi

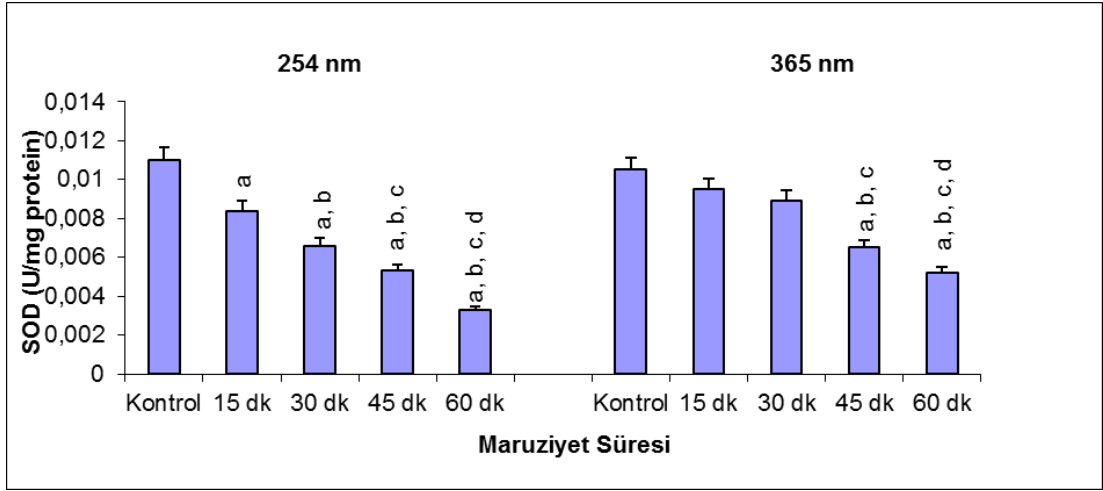
MDA aktivitesi 254 nm UV'de kontrol ve uygulama gruplarında maruziyet süresi arttığında MDA seviyesi artmıştır. 365 nm UV'de ise 15 ve 30. dakikalarda MDA seviyesinde artış az iken, 45 ve 60. dakikalarda MDA seviyesindeki artış daha fazladır. 254 nm UV ve 365 nm UV ile kıyaslandığında 254 nm UV'de MDA seviyesinde 365 nm UV'ye göre daha fazla artış göstermiştir. (Şekil.4.1.).



Sekil.4.1. *E. kuehniella* larvalarının MDA düzeyinde 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi. a) Kontrol ve diğer grupların karşılaştırılması b) 15. dk ve diğer grupların karşılaştırılması. c) 30. dk ve diğer grupların karşılaştırılması. d) 45. dk ve diğer grupların karşılaştırılması.

4.2. UV Radyasyon'un Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesine Etkisi

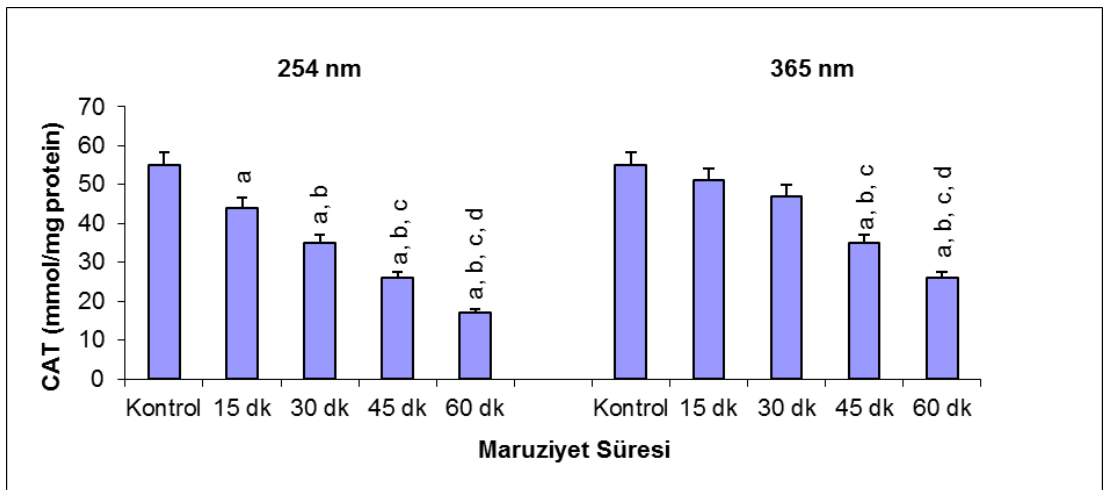
SOD enzim aktivitesi 254 nm UV'de maruziyet süresi arttıkça bir azalma meydana gelirken, 365 nm UV'de 45. dkdan sonra azalma oranı artmıştır. 254 nm UV ve 365 nm UV karşılaştırıldığında 254 nm UV'de SOD enzim aktivitesinde 365 nm UV'ye göre daha anlamlı bir azalma görülmektedir (Şekil.4.2.).



Şekil 4.2. *E. kuehniella* larvalarının SOD enzim aktivitesi üzerine 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi. a) Kontrol ve diğer grupların karşılaştırılması. b) 15. dk ve diğer grupların karşılaştırılması. c) 30. dk ve diğer grupların karşılaştırılması. d) 45. dk ve diğer grupların karşılaştırılması.

4.3. UV Radyasyon'un Katalaz Enzim Aktivitesine Etkisi

CAT enzim aktivitesi 254 nm ve 365 nm UV'de maruziyet süresi arttıkça CAT enzim aktivitesinde azalma meydana geldiği gözlemlenmiştir. 254 nm UV ve 365 nm UV karşılaştırıldığında, 254 nm UV'de CAT enzim aktivitesinde 365 nm UV'ye göre daha anlamlı bir azalma görülmektedir (Şekil.4.3.).

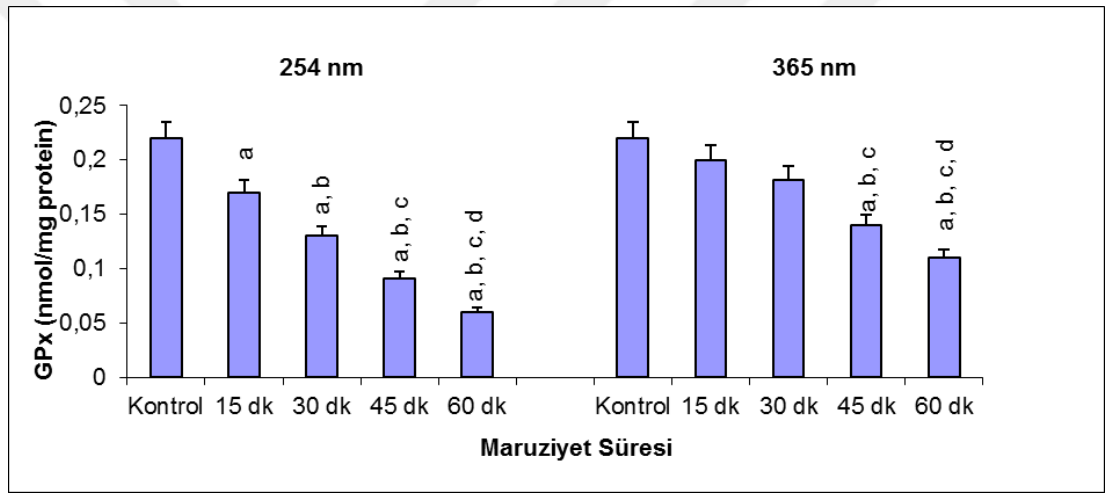


Şekil 4.3. *E. kuehniella* larvalarının CAT enzim aktivitesi üzerindeki 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi. a) Kontrol ve diğer grupların karşılaştırılması b) 15. dk ve diğer grupların karşılaştırılması.

diğer grupların karşılaştırılması. c) 30. dk ve diğer grupların karşılaştırılması. d) 45. dk ve diğer grupların karşılaştırılması.

4.4. UV Radyasyon'un Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesine Etkisi

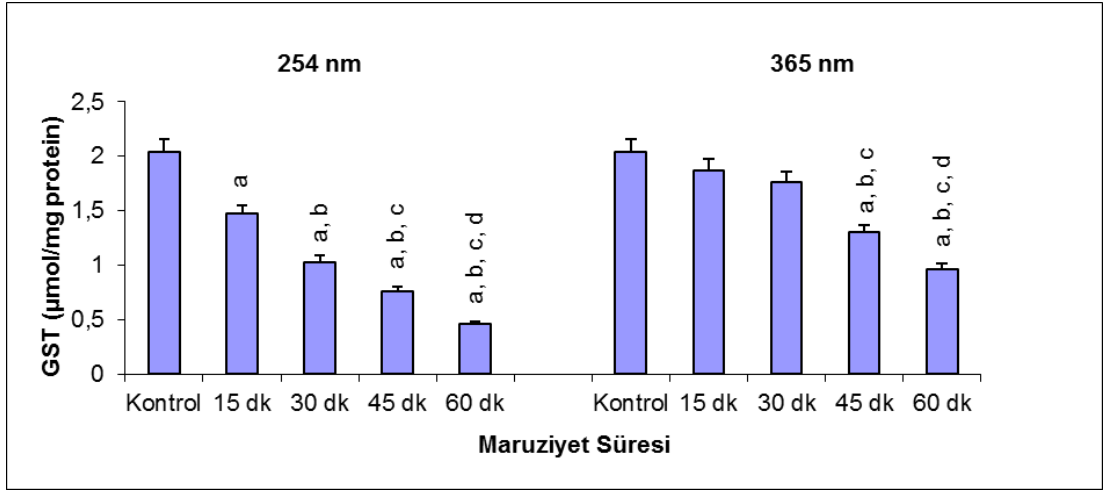
GPx enzim aktivitesi 254 nm ve 365 nm UV'de maruziyet süresi arttıkça GPx enzim aktivitesinde azalma meydana geldiği gözlemlenmiştir. 254 nm UV ve 365 nm UV karşılaştırıldığında 254 nm UV'de düzenli bir azalma meydana gelirken, 365 nm UV'de 45. dkdan sonra azalma daha fazla olmuştur (Şekil.4.4.).



Şekil 4.4. *E. kuehniella* larvalarının GPx enzim aktivitesi üzerine 254 ve 365 nm UV radyasyon etkisi. a) Kontrol ve diğer grupların karşılaştırılması. b) 15 dk ve diğer grupların karşılaştırılması. c) 30 dk ve diğer grupların karşılaştırılması. d) 45 dk ve diğer grupların karşılaştırılması.

4.5. UV Radyasyon'un Glutasyon-S-Transferaz Enzim Aktivitesine Etkisi

GST enzim aktivitesi 254 nm ve 365 nm UV'de maruziyet süresi arttıkça GST enzim aktivitesinde azalma meydana geldiği gözlemlenmiştir. 254 nm ve 365 nm UV kıyaslandığında ise 254 nm UV'deki GST enzim aktivitesinde 365 nm UV'ye göre daha anlamlı bir azalma görülmektedir (Şekil.4.5.)



Şekil 4.5. *E. kuehniella* larvalarının GST enzim aktivitesi üzerindeki 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi. a) Kontrol ve diğer grupların karşılaştırılması. b) 15. dk ve diğer grupların karşılaştırılması. c) 30. dk ve diğer grupların karşılaştırılması d) 45. dk ve diğer grupların karşılaştırılması.

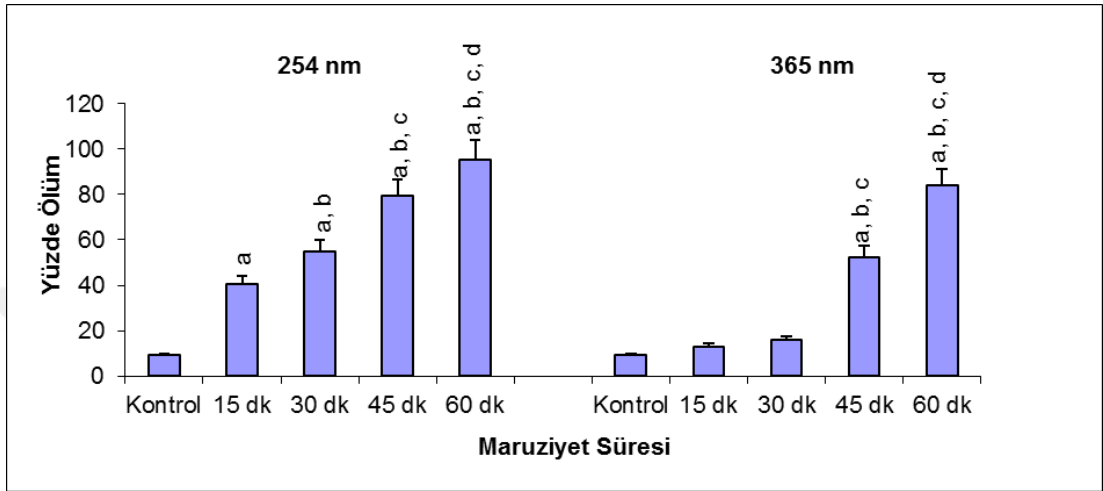
4.6. Ölüm Oranları

254 nm UV'de LT_{50} (min) değeri 25,19 iken 365 nm UV'de 42,70 dir. Aynı şekilde kısa dalga (254 nm) ve uzun dalga (365 nm) LT_{99} (min) değerleride sırasıyla 76,18 ve 99,21 olarak hesaplanmıştır. Burada 365 nm UV LT_{50} (min) 'ye kıyasla LT_{99} (min) değerlerindeki artış yüzdesi 254 nm UV dekinden daha fazladır (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. *E. kuehniella* larvalarının 254 nm ve 365 nm UV radyasyona maruz kaldıklarında LT_{50} ve LT_{99} değerleri.

UV kaynağı	LT_{50} (min)	LT_{99} (min)	Df	Chi-square	P
254 nm	25.19	76.18	3	5.39	0.146
365 nm	42.70	99.21	3	19.91	0.000

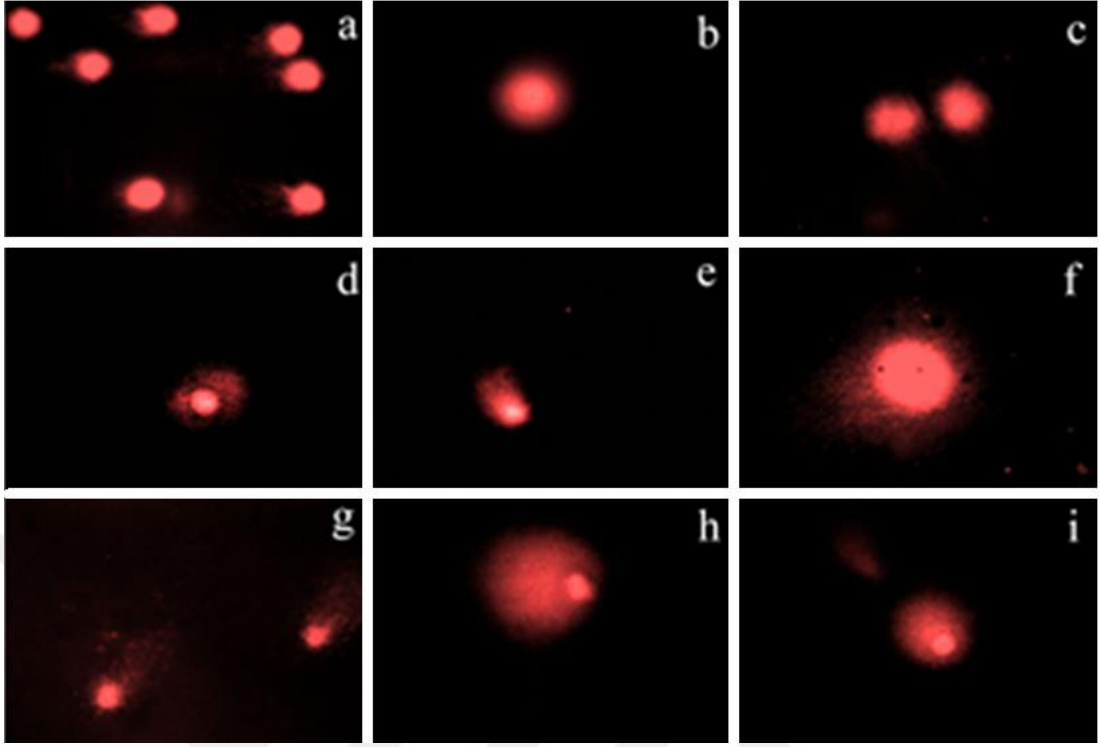
254 nm ve 365 nm UV’de maruziyet süresi arttıkça ölüm yüzdeleri artmıştır. Ancak 15. ve 30. dakikalarda ölüm yüzdelerindeki artış fazla olmazken 45 ve 60. dakikalarda ölüm yüzdelerindeki artış oldukça fazladır. 365 nm UV deki ölüm yüzdeleri 254 nm UV ye göre anlamlı şekilde fazladır (Şekil 4.6.).



Sekil 4.6. *E. kuehniella* larvalarının ölüm oranına 254 ve 365 nm UV radyasyonunun etkisi. a) Kontrol ve diğer grupların karşılaştırılması. b) 15 dakikanın ve diğer grupların karşılaştırılması. c) 30 dakikanın ve diğer grupların karşılaştırılması. d) 45 dakikanın ve diğer grupların karşılaştırılması.

4.7. Komet Testi Bulguları

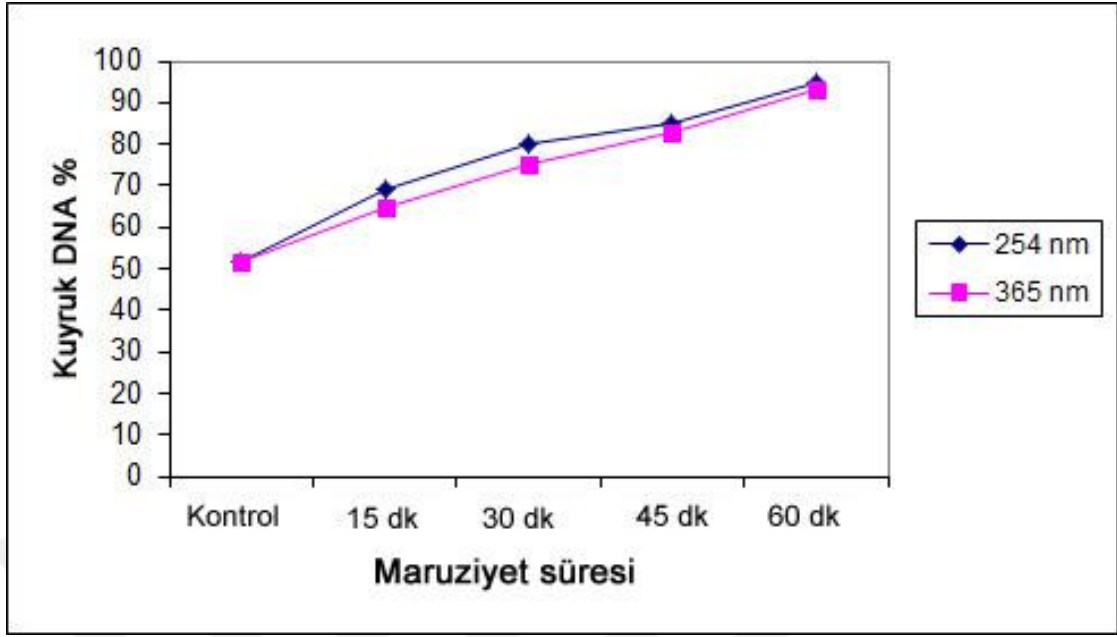
Komet tahlil sonuçlarına göre maruziyet süresinin artması ile 254 nm UV’de DNA kuyruk yüzdesi, kuyruk momentini, kuyruk uzunluğu artmıştır. 254 nm UV’de DNA kuyruk yüzdesi 60. dk. da uyarılmışken 365 nm UV’de 45. ve 60. dk’larda uyarılma görülmüştür. DNA hasar derecesi 254 nm UV’de 60. dk 365 nm UV’deki hasar daha fazladır (Şekil 4.7.).



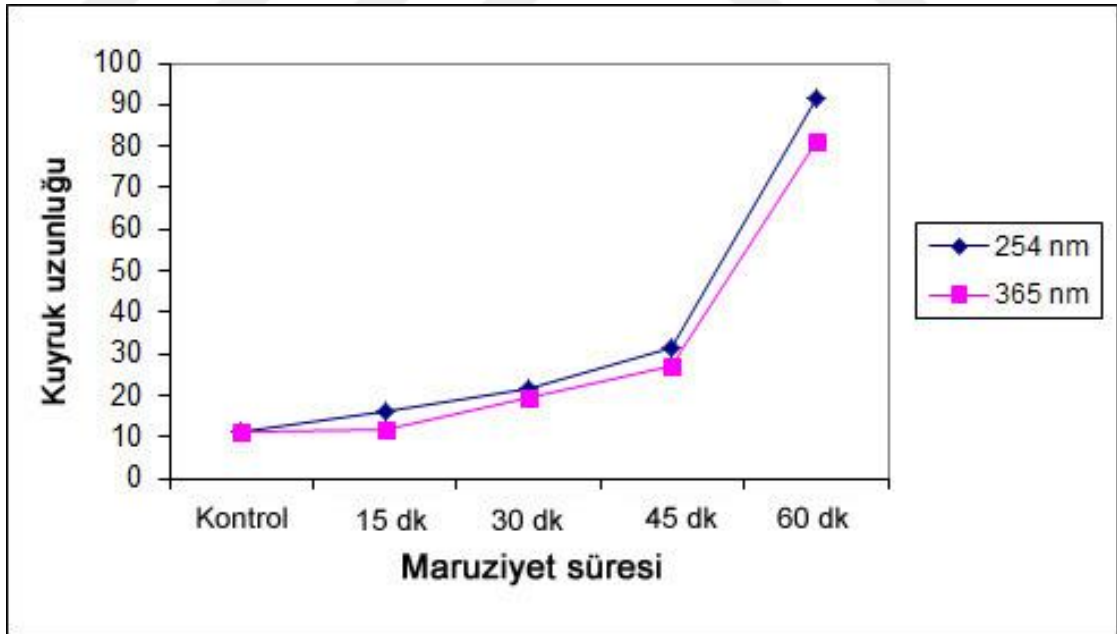
Şekil 4.7. UV radyasyona maruz bırakılan *E. kuehniella* larvalarının komet ve kontrol grubu görüntüleri ; (a) kontrol ,(b-c) 15 dk. ,(d-e) 30 dk. ,(f-g) 45 dk. ,(h-i) 60 dk. maruziyet süreleri için sırasıyla kısa dalga (254 nm) ve uzun dalga (365 nm) boylarındaki DNA hasarlarını göstermektedir.

Tablo 4.2. Farklı dalga boyları ve sürelerde uygulanan UV' nin kuyruk DNA yüzdesi ,kuyruk uzunluğu ,kuyruk momenti üzerine olan etkisi.

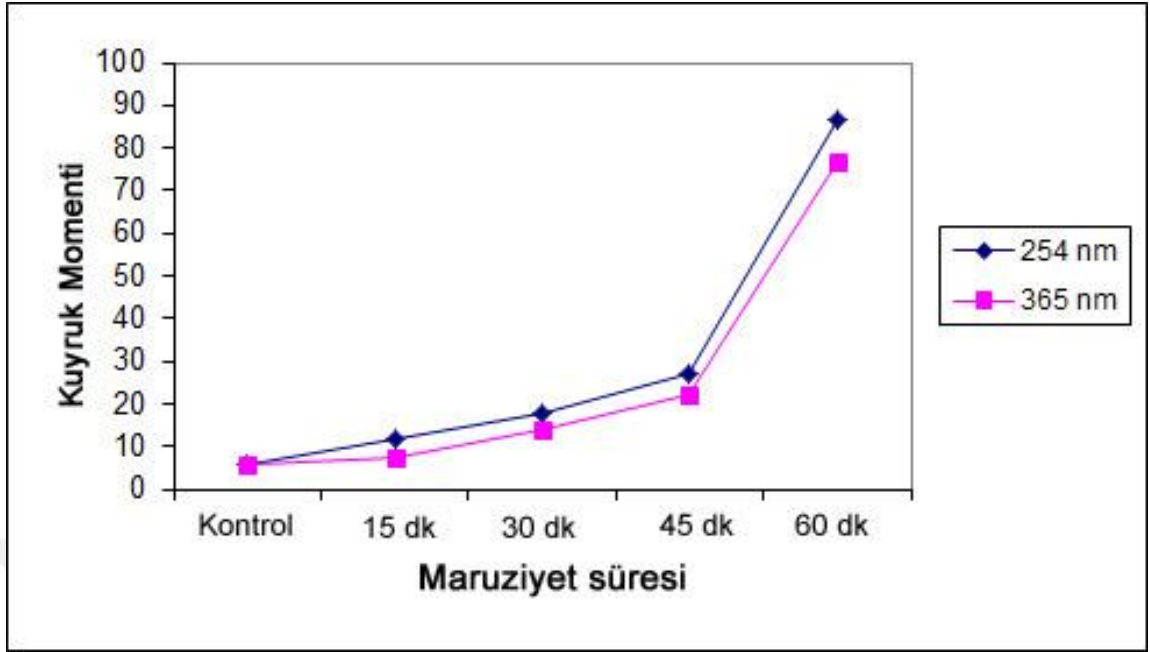
Farklı ışınlama süreleri ve UV dalgaboyu		Kuyruk DNA%	Kuyruk uzunluğu	Kuyruk momenti
Kontrol		51.90±0.28	11±0.70	5.71±1.17
254 nm	15 dk	69.0±0.38 ^a	16.00±1.20	11.72±1.35
	30 dk	80.13±1.95 ^{ab}	21.84±2.35 ^{ab}	17.5±3.12 ^{ab}
	45 dk	84.91±1.93 ^{ab}	31.55±1.75 ^{ab}	26.79±3.45 ^{ab}
	60 dk	94.55±3.28 ^{abc}	91.75±1.68 ^{abc}	86.75±4.96 ^{abc}
365 nm	15 dk	64.86±1.08	11.65±2.74	7.56±2.03
	30 dk	64.95±0.75	19.61±2.35	12.19±2.64
	45 dk	82.72±4.01 ^{abc}	26.7±1.12 ^{ab}	22.08±3.75 ^{ab}
	60 dk	93.30±3.03 ^{abcd}	80.46±8.05 ^{abc}	76.87±9.09 ^{abc}



Şekil 4.8. *Ephesia kuehniella* larvalarının 254 nm ve 365 nm UV’de farklı maruz kalma zamanlarında komet kuyruk DNA’sının değışiklik yüzdesi (15. dk., 30. dk., 45. dk., 60. dk.).



Şekil.4.9. *Ephesia kuehniella* larvalarında 254 ve 365 nm UV’de farklı maruz kalma zamanlarındaki komet kuyruk uzunluğu değışiklikleri (15. dk., 30. dk., 45. dk., 60. dk.)



Şekil.4.10. *Ephesia kuehniella* larvalarında 254 ve 365 nm UV'de farklı maruz kalma zamanlarındaki kuyruk momenti değişiklikleri (15. dk., 30. dk., 45. dk., 60. dk.).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

UV radyasyon, sitotoksik ve mutajenik etkilerinin yanı sıra DNA'da dolaylı olarak hasara neden olabilir [79]. Haşarat kontrolü olarak kullanıldığında UV radyasyonun avantajları vardır. Avantajlarından bazıları gıdalarda istenmeyen kalıntıların olmaması, kimyasal özelliklerde ya da gıdaların besleyici değerlerinde çok küçük değişiklikler ve haşarelerin direncinin gelişmemesi sayılabilir [80-81]. UV radyasyonun yumurta koryonuna zarar verdiğini ve yumurta sıvı sızıntısını indüklediğini göstermiştir. Guerra ve ark., (1968) *Heliothis Virescens* (Fabricius), 1777 ve *Heliothis zea* (Boddie), 1850 (Lepidoptera: Noctuidae) yumurtalarını 254 nm UV radyasyonuna maruz bırakmış ve süreyi artırdıkça ölüm oranının da belirgin ölçüde arttığını belirtmiştir [67]. Bu çalışmaları destekleyen sonuçlara göre, *Tribolium castaneum* (Herbst), *T. confusum* Jacquelin du Val, 1863 (Coleoptera: Tenebrionidae) ve *Cadra cautella* (Walker), 1863 (Lepidoptera: Pyralidae) yumurtaları kısa dalga boylu UV radyasyona maruz bırakıldığında da ölüm oranlarının arttığı tespit edilmiştir [16].

Bu çalışma 60 dakika 254 nm UV radyasyona muamele edilen larvaların ölüm oranının % 95.5, 365 nm UV radyasyonda ise 83,83% olduğunu gösterdi. Bizim sonuçlarımız 254 nm UV radyasyonun ölüm etkisinin 365 nm UV den daha etkili olduğunu göstermektedir. UV dalga boyları kısaltıldığında, böcekler üzerindeki zararlı etkisi önemli ölçüde artmıştır [82]. Bunun yanında, artan zaman aralıklarına bağlı olarak , ölüm oranının arttığı bu çalışmada tespit edilmiştir. Böceklerde UV radyasyona maruz kalma süresinin artmasına bağlı olarak, ölüm oranlarının arttığı Azizoglu ve ark. (2011) tarafından belirtilmiştir [5].

UV radyasyon, LPO'ya neden olan ve DNA'ya oksidatif zarar verdiği bilinen oksijen türevlerini içeren serbest radikaller üretebilir [79,83]. LPO fototoksik etkileri oluşturabilecek bir mekanizmaya sahiptir [80]. MDA çoklu doymamış yağ asitlerinin ana oksidasyon ürünüdür. Bu hem LPO düzeyini belirlemek için hem de oksidatif stres belirteci olarak kullanılır [18]. Miktarca en çok üretilen aldehit olan MDA, proteinler ve fosfolipidler gibi biyomoleküllere bağlanarak ve nükleik asitlerle Schiff bazlarını meydana getirerek hücrelerde hasara neden olur [18]. Bu çalışmada, oksidatif stresin belirteci olarak değerlendirilen MDA ile antioksidan enzim

aktivitelerindeki azalma ilişkili olabilir. Antioksidan enzimler oksidatif hasara karşı hücrelerin önemli koruyucularındandır [84]. SOD ve CAT dokularda sırasıyla oksijen ve hidrojen peroksit (H_2O_2) içinde süperoksit radikalleri dismutasyonundan ve H_2O_2 'nin katalize edilmesinden sorumludur [85]. GPx enzim H_2O_2 'nin H_2O 'ya dönüşümünde hücre zarının oksidatif hasarını önleyebilir [84]. GST, LPO ürünlerinin yok edilmesiyle oksidatif hasarın önlenmesi ile önemli bir detoksifikasyon özelliğindedir [86]. Böcek dokularında oksidatif stres derecesini araştırmak için MDA düzeyi ve antioksidan enzim aktiviteleri Büyükgüzel & Kalender, (2009); Büyükgüzel ve ark. (2010) tarafından incelenmiştir [18,85]. Antioksidan enzim aktivitelerindeki değişiklikler ROT üretimine bağlı olabilir, ROT oksidatif strese, böcek dokularında kontrolsüz lipid peroksidasyonuna, protein, enzim ve DNA oksitlenmesine yol açabilir [86,87]. ROT'un bir kısmı askorbat, glutation, tokoferoller ve karotenoidler gibi enzimatik olmayan antioksidanların tarafından ortadan kaldırılır ama çoğu böceklerde bir takım antioksidan enzimlerle ortadan kalkar [88]. Antioksidan enzimlerin bastırılmış faaliyetleri larva dokusundaki lipid peroksidasyonunda eşzamanlı artış, reaktif türlerin yetersiz nötrleştirmesinden kaynaklanan oksidatif strese bağlanmıştır [89]. Bu çalışma, *E. kuehniella* larvalarında uygulanan UV radyasyon ile MDA düzeyinde önemli bir artış olduğunu, SOD, CAT, GST ve GPx aktivitelerinde azalma olduğunu göstermektedir.

Hücrelerde DNA, UV radyasyon hasarı için bir hedef olarak bilinmektedir. Son yıllarda, bu tür radyasyon ve çevresel toksinler gibi ajanlar tarafından uyarılan DNA hasarı araştırmaları komet analizi ile yapılmıştır [90]. Bu nedenle, bu çalışmada, komet tahlili, UV ışınlarına maruz kalan *E. kuehniella* larvalarının DNA hasarını incelemek için kullanılmıştır. Bu hızlı ve duyarlı yöntemde, hasarlı hücre baş ve kuyruk bölgelerinde bir kuyruk (komet) görünümünü alır. Kuyruk uzunluğu ve yoğunluğu DNA'da tek zincirli kırılma sayısını gösterir. Ayrıca, kuyruktaki DNA yüzdesi DNA hasarına niceliksel veri temin eder [79]. Daha önce yapılan çalışmalarda da komet tahlili ile UV radyasyonun etkileri gösterilmiştir [12,79,90]. Bu çalışmada kuyruk uzunluklarının UV radyasyonunun 254 nm'de ve artan maruziyet süresinde artmış olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, 365 nm 'de, bu artış sadece, 45 dakika ve 60 dakikada görülmüştür. *E. kuehniella* larvaları dokusu üzerinde 254 nm'nin 365 nm'den daha etkili olduğu açıktır.

Bu çalışma ile, ölüm oranlarının, MDA düzeylerinin ve kuyruk uzunluklarının arttığı gösterilmiştir. SOD, CAT, GST ve GPx aktiviteleri, *E. kuehniella* larvaları üzerinde UV radyasyonunun maruz kaldığı zamana bağlı olarak azalmıştır. Bu çalışmada sunulan veriler, UV radyasyon oksidatif strese neden olmaktadır ve DNA hasarını uyarmaktadır hipotezimizi desteklemektedir. Buna bağlı olarak UV radyasyon (özellikle kısa dalga) *E. kuehniella* larvaları üzerinde insektisidal aktiviteye sahiptir demek mümkündür. UV radyasyon, kimyasal kontrol için bir alternatif olarak kullanılabilir. UV radyasyon kullanımı böceklerin kontrol edilmesi için kimyasallara göre daha güvenilir ve sağlıklı bir yöntem olabilir.



KAYNAKLAR

1. Schöller, M., S. Prozell., A.G. Al-Kirshi, C., Reichmuth., Towards Biological Control as a Major Component of Integrated Pest Management in Stored Product Protection. *Journal of Stored Products Research*, 33 (1): 81-97, 1997.
2. Lynn, DE., Ferkovich, SM., New cell lines from *Ephestia kuehniella*: characterization and susceptibility to baculoviruses. *J Insect Sci*, 4(9): 1-5, 2004.
3. Hansen, LS., Jensen, KMV., Effect of temperature on parasitism and host-feeding of *Trichogramma turkestanica* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, 95 (1): 50–56, 2002.
4. Arthur, FH., Grain protectants: current status and prospects for the future. *Journal of Stored Products Research*, 32: 293-302, 1996.
5. Azizoglu, U., Yılmaz, S., Karabörklü, S., Ayvaz. A., Ovicidal activity of microwave and UV radiations on mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae)1 *Türk. entomol. derg.*, 35 (3): 437-446, 2011.
6. Ayvaz, A., S. Karabörklü., Effect of cold storage and different diets on *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep: Pyralidae). *Journal of Pest Science*, 81: 57–62, 2008.
7. Ayvaz, A., Albayrak, S., Karaborklu, S., Gamma radiation sensitivity of the eggs, larvae and pupae of Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pest Management Science*, 64: 505–512, 2008.
8. Azizoglu, U., Karabörklü, S., Yılmaz, S., Ayvaz, A., Temizgül, R., Insecticidal activity of microwave radiation on *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) adults, *Erciyes University Journal of the Institute of Science and Technology*, 26 (4): 323-327, 2010.
9. Mora, S., Demers, S., Vernet, M., The effects of UV radiation in the marine environment. Cambridge University Press, 2000.
10. Frank R. de Gruijl, Henk J. van Kranen, Leon H.F., Mullenders, UV-induced DNA damage, repair, mutations and oncogenic pathways in skin cancer *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 63, 19–27, 2001.

11. Tornaletti, S., P.Pfeifer, G., UV Light as a Footprinting Agent: Modulation of UV-induced DNA Damage by Transcription Factors Bound at the Promoters of Three Human Genes *J. Mol. Biol.*, 249, 714–728, 1995.
12. Myllyperkio, MH., Koski, TRA., Vilpo, LM., Vilpo, JA., Kinetics of excision repair of UV-induced DNA damage, measured using the comet assay *Mut. Res.*, 448, 1–9, 2000.
13. Mone, MJ., Volker, M., Nikaido, O., Mullenders, LHF., van Zeeland, AA., Verschure, PJ., Manders, EMM., van Driel, R., Local UV-induced DNA damage in cell nuclei results in local transcription inhibition. *EMBO Reports*, 21 (11): 1013-1017, 2001.
14. Häder, DP., Kumar, HD., Smith, RC., Worrest, RC., Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change *Photochem. Photobiol. Sci.*, 6, 267–285, 2007.
15. Halverson, SL., Phillips, TW., Bigelow, TS., Mbata, GN., Payton, ME., The control of various species of stored product insects with EHF energy. In: *Proceeding of the Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions*. Published Abstract, pp. 54 1-4, 1999.
16. Faruki, SI., Das, DR., Khan., AR., Khatu, M., Effects of ultraviolet (254nm) irradiation on egg hatching and adult emergence of the flour beetles *Tribolium castaneum*, *T. confusum* and the almond moth *Cadra cautella*. *Journal of Insect Science*, 7 (36): 1-6, 2007.
17. Ichihashi, M., Ueda, M., Budiyanto, A., Bito, T., Oka, M., Fukunaga, M., Tsuru, K., Horikawa, T., UV-induced skin damage. *Toxicology*, 189: 21-39, 2003.
18. Büyükgüzel, E., Hyršl, P., Büyükgüzel, K., Eicosanoids mediate hemolymph oxidative and antioxidative response in larvae of *Galleria mellonella* L. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 156 ,176–183 UV-induced skin damage *Toxicology* 189, 21-39, 2010.
19. Mamur, S., Yuzbasıoglu, D., Unal, F., Yılmaz, S., Does potassium sorbate induce genotoxic or mutagenic effects in lymphocytes? *Toxicology In Vitro* 24, 790–794, 2010.
20. Rencuzogulları, E., Tuylu, BA., Topaktas, M., İla, HB., Kayraldız, A., Arslan, M., Diler, S., Genotoxicity of Aspartame. *Drug Chem Toxicol* 27(3):257–268, 2004.
21. Yılmaz, S., Unal, F., Yuzbasıoglu, D., Aksoy, H., Clastogenic effects of food additive citric acid in human peripheral lymphocytes *Cytotechnology*, 56:137–144, 2008.

22. Liou, SH., Chen, YH., Loh, CH., Yang, T., Wu, TN., Chen, CJ., Hsieh, LL., The association between frequencies of mitomycin C-induced sister chromatid exchange and cancer risk in arseniasis. *Toxicol Lett* 129:237–243, 2002.
23. Mpountoukas, P., Vantarakis, A., Sivridis, E., Lialiaris, T., Cytogenetic study in cultured human lymphocytes treated with three commonly used preservatives. *Food and Chemical Toxicology* 46, 2390–2393, 2008.
24. Zengin, N., Yuzbasioğlu, D., Unal, F., Yılmaz, S., Aksoy, H., The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: Sodium benzoate and potassium benzoate *Food and Chemical Toxicology* 49, 763–769, 2011.
25. Nordion, World Suppliers of Contract Gamma Processing Services., Nordion International, Inc., Canada, 1995.
26. Boğaziçi Üniversitesi, 2000. Kandilli Rasathanesi ve Deprem Araştırma Enstitüsü, www.koeri.boun.edu.tr. Kasım, 2014
27. Karaduman, A., Güneş Radyasyon ve Deri Üzerine Etkileri, www.saglik.tr.net, 1999, Kasım, 2014.
28. Berkow, R., Beers, MD., *The Merck Manual of Medical Information*, U.S., p.985-988, 1997.
29. Sümer, F., Canpolat, Ü., Öztemiz, S., Tunçbilek, A., Yumurta Parazitoidi *Trichogramma evanescens* Westwood(Hymenoptera: Trichogrammatidae)'in Farklı Biyolojik Dönemleri Üzerine Ultraviyole'nin Etkisi, *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21, (2), 49-56, 2007.
30. Mackerness, S., Surplus, AH., Jordan, SL., Thomas, B., Effects of supplementary ultraviolet-B radiation on photosynthetic transcripts at different stages of leaf development and light levels in pea (*Pisum sativum* L.): Role of active oxygen species and antioxidant enzymes. *Photochemistry and Photobiology*, 68:88-96, 1998.
31. Azizoğlu, U., Ultraviyole radyasyonu ile ışınlanmış *Ephestia kuehniella* ve *P.interpunctella* larvaları üzerine tarım arazilerinden izole edilen *Bacillus thuringiensis* izolatlarının etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2009.
32. Kılıçoğlu, H., *Ephestia kuehniella* zell (Pyralidae: Lepidoptera) üzerine radyasyon etkisinin tek hücre jel elektroforez tekniği (komet testi) ile izlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2012.

33. Athanassiou, CG., Kavallieratos, NG., Chintzoglou, GJ., Effectiveness of spinosad dust against different European populations of the confused flour beetle, *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. *Journal of Stored Products Research* 44: 47–51, 2008a.
34. Athanassiou, CG., Palyvos, NE., Kakouli-Duarte, T., Insecticidal effect of *steinernema feltiae* (Filipjev) (Nematoda: Steinernematidae) against *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) in stored wheat, *Journal of Stored Products Research*, 44: 52–57, 2008b.
35. Sedlacek, JD., Weston, PA., Barney, RJ., Lepidoptera and Psocoptera. In: Bh. Subramanyan and D.W. Hagstrum, Editors, *Integrated Management of Insects in Stored Products*, Marcel Dekker, New York, 41–70, 1995.
36. Özar, Ş., Yücel, A., Güneydoğu Anadolu Bölgesi' nde Ambarlanan Hububat Ürün Zararlıları Üzerinde Sürvey Çalışmaları. *Bitki Koruma Bülteni*, 22: 93-98, 1982.
37. Erakay, S., Ege Bölgesi' nde un ve undan mamul maddelerde bulunan zararlı böcekler üzerinde araştırmalar. *Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü, İstiklal Matbaası*, 60s, İzmir, 1974.
38. Işıkber, AA., Özdamar, HÜ., Karcı, A., Kahramanmaraş ve Adıyaman İllerinde Depolanmış Buğdaylar Üzerinde Rastlanan Böcek Türleri ve Bulaşma Oranları. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8(1):107-112, 2005.
39. Işıkber, AA., Alma, MH., Kanat, M., Karcı, A., Fumigant Toxicity of Essential Oils from *Laurus nobilis* and *Rosmarinus officinalis* against All Life Stages of *Tribolium confusum*. *Phytoparasitica* 34(2): 167-177, 2006.
40. Aydın, N., Soran, H., Trakya Bölgesinde Depolanmış Buğday ve Un Fabrikalarında Saptanan Zararlılar, Bulaşma Oranları. *Türkiye I. Entomoloji Kongresi Bildirileri*, İzmir, 717-727, 1987.
41. Özder, N., Tekirdağ İli ve Çevresinde Depolanmış Ayçiçeği Tohumluklarında Zararlı Böcekler Üzerinde Araştırmalar, *Türk Entomoloji Dergisi*, 22(2): 143-148, 1998.
42. Erdoğan, P., Gürkan, O., *Ephestia kuehniella* Zell. (Lep.:Pyralidae) ile *Rhyzopertha dominica* F. (Col.:Bostrychidae)'nın laboratuvar koşullarında gelişmeleri ve rekabetleri üzerinde araştırmalar, *Bitki Koruma Bülteni*, 35, 1-2, 1995.
43. Rees, D., *Insects of Stored Products*, CSIRO Publishing, London, 181s. Richards, 2003.

44. Tunçyürek, C., Bracon hebetor Say. (Hymenoptera : Braconidae) ile Carda cautella (Walk.) ve Anagasta kuehniella (Zeller) (Lepidoptera :Pyralidae) ‘ya karşı biyolojik savaş imkanları üzerine araştırmalar. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Araştırma Eserleri Serisi, Teknik bülten No:20, İzmir, 78 s, 1972.
45. Demirsoy, A., Yaşamın temel kuralları, Omurgasızlar / Böcekler, Entomoloji, Cilt II / Kısım II,” Meteksan A.S., Ankara, 2006.
46. Norris, J., Contributions towards the study of insect fertility. I. The structure and operation of the reproduction organs of the genera Ephestia and Plodia (Lepidoptera: Phycitidae), Proceedings of the Zoological Society of London, 595-611, 1932.
47. Norris, J., Contributions towards the study of insect fertility. II. Experiments on the factors influencing fertility of Ephestia kuehniella Z. (Lepidoptera, Phycitidae). Proceedings of the Zoological Society of London, 903-934, 1933.
48. Norris, J., Contributions towards the study of insect fertility. III. Adult nutrition, fecundity and longevity in the genus Ephestia kuehniella Z. (Lepidoptera, Phycitidae), Proceedings of the Zoological Society of London, 333-380, 1934.
49. Williams, J., The mating of Ephestia kuehniella Zeller and its results. Entomologists Newsletter, 49, 121-127, 1938.
50. Edwards, D., Laboratory determinations of the daily flight times of separate sexes of some moths in naturally changing light, Canadian Journal of Zoology, 40, 4, 511-530, 1962.
51. Ulyyett, G., Oviposition by Ephestia kuehniella Zell., Journal of the Entomological Society of Southern Africa, 7, 53-59, 1945.
52. Gordh, G., Hartman, H., Hymenopterous parasites of stored-food insect pests, In: Gordham JR, ed. Ecology and management of food-industry pests, 217-227, 1991.
53. Marec, F., Tothova, A., Chromosomal principle of radiation-induced F1 sterility in Ephestia kuehniella(Lepidoptera:Pyralidae), Published on the NRC Research Press Web site, Corresponding Editor: R.J. Kemble, 2001.
54. Gichner, T., Znider, I., Wagner, ED., Plewa, M., The use of higher plants in the comet assay, The Comet Assay in Toxicology, Edited by Alok Dhawan and Diana Anderson. Royal Society of Chemistry, 98- 119, 2009.

55. Tice, RR., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., The single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing, *Environmental Molecular Mutagenesis* 35: 206-21, 2000.
56. Martin, V.J., Green, MHL., Schmezer, P., Zobel, B.L., De Meo, M.P., Collins, A., The Single Cell Gel Electrophoresis Assay (Comet Assay), A European Review, *Mutation Research*, 288: 47-63, 1993.
57. İşlekel H.çeviren. Biyosinyal iletimi. İçinde Kılıç N, çeviri editörü. *Lehninger Biyokimyanın İlkeleri*. Ankara: Palm, pp. 437-83, 2005.
58. Cavdar, C., Sifil, A., Camsari, T., Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology Association*, 3(4), 92-95, 1997.
59. Haines, GA., Hendry, JH., Daniel, CP., Morris, ID., Germ Cell and Dose-Dependent DNA Damage Measured by the Comet Assay in Murine Spermatozoa after Testicular X-Irradiation. *Biology Of Reproduction* 67, 854-861, 2002.
60. Collins, A.R., The Comet Assay. principles, applications and limitations, *Methods Mol Biol.*, 203, 163-177, 2002.
61. Warner, DS., Sheng, H., Batinić-Haberle, I., Oxidants, antioxidants and the ischemic brain, *J Exp Biol*, 207 (18): 3221 -3231, 2004.
62. Gutteridge, JMC., Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clin Chem*, 41, 1819-1828, 1995.
63. Akkuş, İ., Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri , Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Konya, 33-42, 1995.
64. Kasprzak, KS., Oxidative DNA and protein damage in metal-induced toxicity and carcinogenesis, *Free Radic Biol Med*, 32(10): 958-967, 2002.
65. Dinçer, Y., Akçay, T., DNA Hasarı Review. *Türk Biyokimya Dergisi*, 25: 73-9, 2000.
66. Dinçer, Y., Akçay, T., Erdem, T., Ilker, E., Gündoğdu, S., DNA damage, DNA susceptibility to oxidation and glutathione level in women with polycystic ovary syndrome. *Scand J Clin Invest* 65: 721-8, 2005.
67. Guerra, AA., Ouye, MT., Bullock, HR., Effect of ultraviolet irradiation on egg hatch, subsequent larval development, and adult longevity of the tobacco budworm and the bollworm. *Journal of Economic Entomology*, 61: 541-542, 1968.

68. Akkan, T., Organofosforlu pestisitlerin arpa bitkisi (*Hordeum vulgare* L.) ve zebra balığı (*Danio rerio*) üzerindeki *in vitro* genotoksik etkilerinin comet testi ile araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2012.
69. Akkan, T., Uv radyasyonunun *Bracon hebetor* (hymenoptera:braconidae) ile konukçuları *Ephesia kuehniella* (Lepidoptera: pyralidae) ve *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: pyralidae) larvaları üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2010.
70. Dikilitaş, M., Kocyiğit, A., Canlılarda “tek hücre jel elektroforez” yöntemi ile dna hasar analizi (teknik not): comet analiz yöntemi, *J.ASgric. Fac. HR.U.*, 14(2): 77-89, 2010.
71. Tuncbilek, A.S., Canpolat, U., Ayvaz, A., Effects of gamma radiation on suitability of stored cereal pest eggs and the reproductive capability of the eggparasitoid *Trichogramma evanescens* (Trichogrammatidae: Hymenoptera). *Biocontrol Science and Technology*, 19 (1): 179-191, 2009.
72. Rahman, R., Haque, AKMM., Sumar, S., Chemical and biological methods for the identification of irradiated foodstuffs. *Nutrition & Food Science*, (1): 4-11, 1995.
73. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., Protein measurement with the folin reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 19, 265-275, 1951.
74. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analytical Biochemistry*, 95, 351-358, 1979
75. Marklund, S., Marklund, G., Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *European Journal of Biochemistry*, 47, 469-474, 1974.
76. Aebi, H., Catalase *in vitro*, *Methods in Enzymology*, 105, 121-126, 1984
77. Paglia, D.E., Valentine, W.N., Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathione peroxidase, *Journal Laboratory Medicine*, 70, 158-165, 1987.
78. Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation, *The Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130-7139, 1974.
79. Patton, WP., Chakravarthy, UR., Davies, JH., Archer, DB., Comet assay of UV-induced DNA damage in retinal pigment epithelial cells. *Investigate Ophthalmology and Visual Science*, 40: 3268-3275, 1999.

80. Zhao, S., Qiu, C., Xiong, S. Cheng, X., A thermal lethal model of rice weevils subjected to microwave irradiation. *Journal of Stored Product Research*, 43: 430–434.33, 2007.
81. Ghanem, I., Sharma, M., Effect of non-ionizing radiation (UVC) on the development of *Trogoderma granarium everts*. *Journal of Stored Product Research*, 43: 362–366, 2007.
82. Cohen, S., Saousa, JA., Roach, JF., Gingrich, JB., Effects of UV irradiation on nymphs of *Blattella germanica* and *Periplaneta americana*. *Journal of Economic Entomology*, 68: 687-693, 1975.
83. Gruijl, FR., Kranen, HJ., Mullenders, LH., UV-induced DNA damage, repair, mutations and oncogenic pathways in skin cancer. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 63: 19–27, 2001.
84. Messarah, M., Klibet, F., Boumendjel, A., Abdennour, C., Bouzerna, N., Boulakoud, MS., Feki, AE., Hepatoprotective role and antioxidant capacity of selenium on arsenic-induced liver injury in rats. *Experimental Toxicology and Pathology*, 64: 167–174, 2012.
85. Buyukguzel, E., Kalender, Y., Exposure to streptomycin alters oxidative and antioxidative response in larval midgut tissues of *Galleria mellonella*. *Pesticide Biochemistry Physiology*, 94: 112–118, 2009.
86. Ahmad, S., Oxidative stress from environmental pollutants. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 29: 135–157, 1995.
87. Krishnan, N., Kodrik, D., Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress. *Journal of Insect Physiology*, 52: 11–20, 2006.
88. Felton, G., Summers, CB., Antioxidant systems in insects, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 29: 187–197, 1995.
89. Modesto, KA., Martinez, CB., Effects of roundup transorb on fish: hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, 81:781–787, 2010.
90. Rapp, A., Bock, C., Dittmar, H., Greulich, KO., UV-A breakage sensitivity of human chromosomes as measured by COMET-FISH depends on gene density and not on the chromosome size. *Journal of Photochemical Photobiology B: Biology*, 56: 109–117, 2000.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Yozgat'da doğan Esra ERARSLAN, orta öğretimini Şehit Mehmet Armağan Alper İ.Ö okulunda, lise öğrenimini Serpil Akdağ Lisesi'nde tamamlamıştır. Giresun Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü 2013 yılında bitirmiştir.2013-2014 öğretim yılında yüksek lisans eğitimine Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında başlamıştır. Bildiği yabancı dil İngilizcedir.

İletişim Bilgileri

Adres: Çapanoğlu Mah. Cemil Çiçek Bulvarı Albatros sitesi B blok Kat:4
No:15 66100 Merkez/YOZGAT

Telefon: 05349846406

e-posta:esra_guven66@hotmail.com, esra.guven@bozok.edu.tr