

**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STREPTOMİSİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'İN YAŞAMA, GELİŞİM VE  
BAZI BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**VOLKAN KELEŞ**

**OCAK 2018**



**BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STREPTOMİSİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'İN YAŞAMA, GELİŞİM VE  
BAZI BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**VOLKAN KELEŞ**

**DANIŞMAN: PROF. DR. ENDER BÜYÜKGÜZEL**

**ZONGULDAK**  
**OCAK 2018**



**KABUL:**

Volkan Keleş tarafından hazırlanan “Streptomisin’in *Drosophila melanogaster*’in yaşama, gelişim ve bazı biyokimyasal özellikleri üzerine etkisi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans oybirliğiyle kabul edilmiştir. 03/01/2018

**Danışman:** Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL .....

Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

**Üye:** Prof. Dr. Nursel GÜL .....

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

**Üye:** Doç. Dr. Suna CEBESOY .....

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

---

**ONAY:**

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. ..../..../20....

Doç. Dr. Ahmet ÖZARSLAN  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü





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

Volkan KELEŞ





## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### STREPTOMİSİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'İN YAŞAMA, GELİŞİM VE BAZI BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Volkan KELEŞ

Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Pof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

OCAK 2018, 69 sayfa

Aminoglikozid bir antibiyotik olan streptomisin *Drosophila melanogaster* (Meigen) larvalarını yetiştirmek için kullanılan yapay besin ortamına eklenerek, böceğin yaşam oranı, gelişim süresi, ergin ömür uzunlukları üzerine etkisi laboratuvar koşullarında incelendi. Ayrıca, bu antibakteriyal maddenin, *D. melanogaster*'ın tüm gelişim evrelerinde lipid peroksidasyonu ürünü, malondialdehid (MDA) miktarı, protein oksidasyonu ürünü protein karbonil (PCO) miktarı ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi üzerine etkisi incelendi.

Birinci evre larvaları 600, 1200 ve 1800 mg/L streptomisin içeren besin ortamlarına bırakılarak ergin evreye kadar beslendi. Kontrol besininde 3. evreye ulaşan larva oranı %  $95,00 \pm 3,02$  iken denenen en yüksek konsantrasyon olan 1800 mg/L'de bu oran %  $43,75 \pm 2,72$ 'ye düştü. Benzer etki pup olma oranı üzerinde de elde edildi. Kontrol besininde ergin olma süresi  $7,73 \pm 0,29$  gün iken, en yüksek konsantrasyonda bu süre  $9,65 \pm 0,65$  güne uzadı.

Streptomisin ergin ömür uzunluğu üzerine de önemli bir etki yaptı. Kontrol besininden elde edilen erginlerin ömür uzunluğu süresi  $21,89 \pm 2,46$  gün olarak tespit edilirken, en yüksek konsantrasyon olan 1800 mg/L'de ise  $8,16 \pm 0,77$  güne gerilediği belirlendi. Streptomisinin en yüksek konsantrasyonu böceğin ergin evresindeki MDA miktarını kontrol besinine göre istatistiki olarak önemli derecede arttırdı. Böceğin tüm gelişim evrelerindeki PCO miktarları incelendiğinde ise, streptomisin içermeyen kontrol besinindeki PCO miktarı ile denenen tüm konsantrasyondaki PCO miktarı karşılaştırıldığında önemli bir artış gözlemlendi. Streptomisinin *D. melanogaster*'ın tüm evrelerinde denenen tüm konsantrasyonlarda SOD aktiviteleri önemli derecede azaldı. Böceğin larva ve pup evresinde de CAT aktivitesinde benzer bir sonuç elde edildi.

**Anahtar Kelimeler:** *Drosophila melanogaster*, streptomisin, yaşama oranı, gelişim süresi, antioksidan enzimler

**Bilim Kodu:** 402.02.02

## **ABSTRACT**

**M. Sc. Thesis**

### **THE EFFECT OF STREPTOMYCIN ON SURVIVAL, DEVELOPMENT AND SOME BIOCHEMICAL ASPECTS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*.**

**Volkan KELEŞ**

**Bülent Ecevit University**

**Graduate School of Natural and Applied Sciences**

**Department of Molecular Biology**

**Thesis Advisor: Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL**

**JANUARY 2018, 69 pages**

The effects streptomycin that is an antibacterial antibiotic on insect's survival rate and developmental time, adult longevity was examined by adding to artificial diets used for cultivate *Drosophila melanogaster* (Meigen) larvae in laboratory condition. The effect of this antibacterial antibiotic on lipid peroxidation product, malondialdehyde (MDA), protein carbonyl (PCO) and glutathione superoxide dismutase (SOD) activities in all developmental stages of *D. melanogaster* were also investigated.

The first-instar larvae were placed onto diets that contain 600, 1200 and 1800 mg/L of streptomycin and were fed until the adult emergence. While the larval survival rate that reached to the 3rd. instar in control diet was  $95.00 \pm 3.02\%$ , this rate in 1800mg/L which is the highest tested concentration decreased to  $43.75 \pm 2.72\%$ . Similar effects were obtained on pupation rate. The time to reach adult stage was  $7.73 \pm 0.29$  days in control, this developmental time in the highest concentration extended to  $9.65 \pm 0.65$  days.

Streptomycin significantly affected adult developmental time, adult longevity. While adult longevity was decreased at the highest concentration of streptomycin 1800 mg/L ( $8.16 \pm 0.77$  days) compared with control diet ( $21.89 \pm 2.46$  day), this was significantly decreased at the highest concentration of gemifloxacin to ( $10.82 \pm 3.19$  days). Compared with control diet, the highest concentration of streptomycin, the amount of MDA in adult stage was increased to statistically important level. Relative to the control, all concentration of streptomycin increased the amount of PCO content. SOD activity was reduced in all stage of insect. Similar results were obtained in CAT activity in larval and pupal stage.

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, streptomycin, survival rate, development time, antioxidant enzymes

**Science Code:** 402.02.02

## TEŞEKKÜR

Sadece bu tez çalışmasında değil yüksek lisans eğitimim boyunca bana her anlamda çok şey katan ve hiç bir zaman yardımlarını esirgemeyen danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL' e ve Biyoloji Bölümü Başkanı Sayın Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e teşekkürlerimi bir borç bilirim. Ayrıca bu tez çalışmasında yardımlarını esirgemeyen ve moral desteği sağlayan başta ailem olmak üzere Cihat ÇELİK, Gökçe ÜSTÜNDAĞ ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL: .....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT .....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
BÖLÜM 1 GİRİŞ .....	1
BÖLÜM 2 MATERYAL VE METOT .....	9
2.1 MALONDİALDEHİT MİKTARININ TAYİNİ .....	11
2.2 PROTEİN KARBONİL MİKTARI TAYİNİ .....	11
2.3 SOD AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜLMESİ .....	12
2.4 CAT AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜLMESİ .....	12
2.5 TOTAL PROTEİN TAYİNİ.....	12
2.6 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ .....	13
BÖLÜM 3 ARAŞTIRMA BULGULARI.....	15
3.1 STREPTOMİSİNİN <i>D.MELANOGASTER</i> 'İN 3. EVRE LARVAYA ULAŞMA ORANI, PUP OLMA ORANI VE ERGİN OLMA ORANINA ETKİSİ.....	15

3.2 STREPTOMİSİNİN <i>D. MELANOGASTER</i> 'İN GELİŞİM SÜRELERİ VE ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİSİ.....	17
3.3 STREPTOMİSİNİN <i>D. MELANOGASTER</i> 'İN LARVA, PUP VE ERGİN EVREDEKİ MDA MİKTARINA ETKİSİ.....	19
3.4 STREPTOMİSİNİN <i>D. MELANOGASTER</i> 'İN LARVA, PUP VE ERGİN EVRESİNDEKİ PCO MİKTARINA ETKİSİ.....	21
3.5 STREPTOMİSİNİN <i>D. MELANOGASTER</i> 'İN 3. ERVE LARVA, PUP VE ERGİN EVRELERİNDEKİ SOD VE CAT ENZİMLERİNİN AKTİVİLERİ ÜZERİNE ETKİSİ.....	24
BÖLÜM 4 TARTIŞMA.....	29
BÖLÜM 5 SONUÇ.....	37
KAYNAKLAR.....	39
ÖZGEÇMİŞ.....	47



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Aminoglikosid antibiyotiklerin etkisi ile gerçekleşen hücre ölümü.....	2
Şekil 2. a) Streptomisin kimyasal yapısı ve ribozoma bağlanma bölgeleri.....	3
Şekil 2.b) Streptomisin 30S ribozomal alt birimin proteinlerine bağlanarak oluşturduğu kompleks.....	3
Şekil 3. Streptomisin kimyasal yapısı.....	3
Şekil 4. Oksidasyona yatkın olan amino asitler ve bu amino asitlerin oksidasyon ürünleri.....	6
Şekil 5. Streptomisin <i>D. melanogaster</i> 'in larva, pup ve ergin evredeki lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarına etkisi.....	21
Şekil 6. Streptomisin <i>D. melanogaster</i> 'in larva, pup ve ergin evresindeki PCO miktarına etkisi.....	24
Şekil 7. Streptomisin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. erve larva, pup ve ergin evrelerindeki SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	28
Şekil 8. Streptomisin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. erve larva, pup ve ergin evrelerindeki CAT enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	29



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1. Streptomisin'in <i>D.melanogaster</i> 'in son evreye ulaşma oranı, pup olma oranı ve ergin olma oranına etkisi. ....	16
Çizelge 2. Streptomisin'in <i>D.melanogaster</i> 'in gelişme süreleri ve ergin ömür uzunluğu üzerine etkisi.....	18
Çizelge 3. Streptomisin'in <i>D.melanogaster</i> 'in MDA miktarı üzerine etkisi.....	20
Çizelge 4. Streptomisin'in <i>D.melanogaster</i> 'in PCO miktarı üzerine etkisi.....	23
Çizelge 5. Streptomisin'in <i>D.melanogaster</i> 'in SOD ve CAT enzimlerinin aktivitesi üzerine etkisi.....	27



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### SİMGELER

%	: Yüzde
°C	: Santigrad Derece
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
g	: Gram
kg	: Kilogram
lt	: Litre
m	: Metre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
nmol/mg protein:	nanomol/miligram protein
sn	: Saniye
w	: Watt (güç birimi)
µl	: Mikrolitre

### KISALTMALAR

ANOVA	: Analysis of Variance
BSA	: Bovine Serum Albumin
LSD	: Least Significant Difference
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
$\chi^2$	: Ki Kare (Chi square)



## BÖLÜM 1

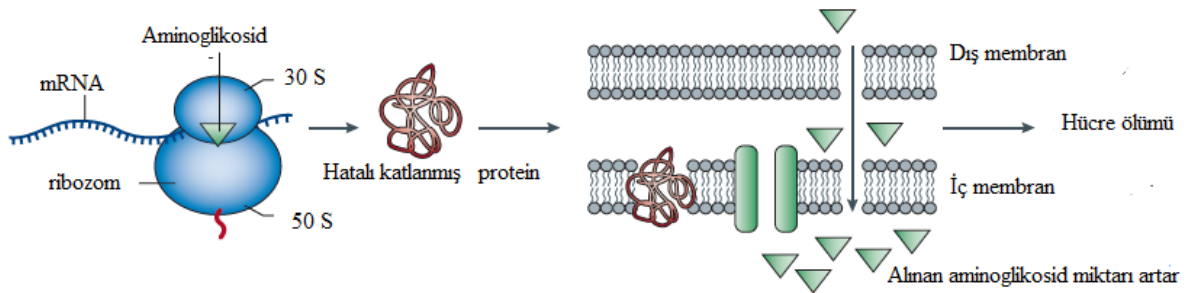
### GİRİŞ

Ülke ekonomisine önemli kayıplara neden olan tarım zararlısı böceklerin kimyasal mücadelesinde hızlı sonuç alabilmek için doğrudan sinir sistemi üzerinde etkili olan organofosfatlı bileşiklerin tercih edilmesi, çevre ve hedef olmayan diğer canlılara önemli bir tehdit unsuru oluşturmaktadır (Fenske et al. 2002). Son yapılan çalışmalar daha etkili ve çevre dostu mücadele yöntemleri geliştirebilmek yönünde olmaktadır; bu amaçla birçok türün laboratuvar şartlarında yapay besin ortamlarında üretimleri yapılarak yeni kimyasal maddelerin böcek üzerindeki etkileri araştırılmaktadır (Bernardi et al. 2000; Büyükgüzel and Kalender 2007, 2008 and 2009).

Aminoglikozid antibiyotikler 1940'lı yıllardaki keşfinden beri tüberküloz tedavisinde ve bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır. Aminoglikozid antibiyotikler doğal olarak *Acterobacteria* familyasına ait bakteriler tarafından üretilir. *Streptomyces* cinsinden üretilenler isimlendirilirken sonuna –mycin, *Micromonospora* cinsinden üretilenler ise sonuna –micins eki alırlar (Stead 2000). Aminoglikozid antibiyotikler yaklaşık olarak 300 – 600 dalton ağırlığındadır. Tüm doğal ve yarı sentetik aminoglikozidler benzer halkasal içeriklere sahiptir. Bu halkalar sitosollere glikozidik bağla bağlanmış beş ya da altı karbonlu şekerlerden oluşur. Aminoglikozidlerin bu halkalarına bağlanan amino gruplar ve ek olarak hidroksil gruplar bu moleküllere suda yüksek çözünürlük özelliği kazandırmaktadır. Bu moleküllerin polar özellikte olması onların hücre zarından kolayca geçmesini önler. Bu yüzden oral yolla alındıklarında yeteri kadar absorbe edilemezler ve sadece oral yolla alınan dozun % 1' i gastrointestinal kanaldan kan dolaşımına geçebilir (Forge and Schacht 2000). Aminoglikozid antibiyotiklerin karakteristik etkisi aerobik gram negatif ve gram pozitif bakterilerdeki ribozomun A bölgesine bağlanarak protein sentezini engellemesidir. (Janna and Deb 2006).

*Streptomyces griseus* tarafından üretilen streptomisin, 1944'te Waksman ve arkadaşları tarafından ilk tanımlanan aminoglikozid antibiyotiktir. Aerobik gram-negatif ve gram-pozitif bakterilere karşı etkili olduğu gibi tüberküloz tedavisinde de kullanılmaktadır (Adams et al. 2000).

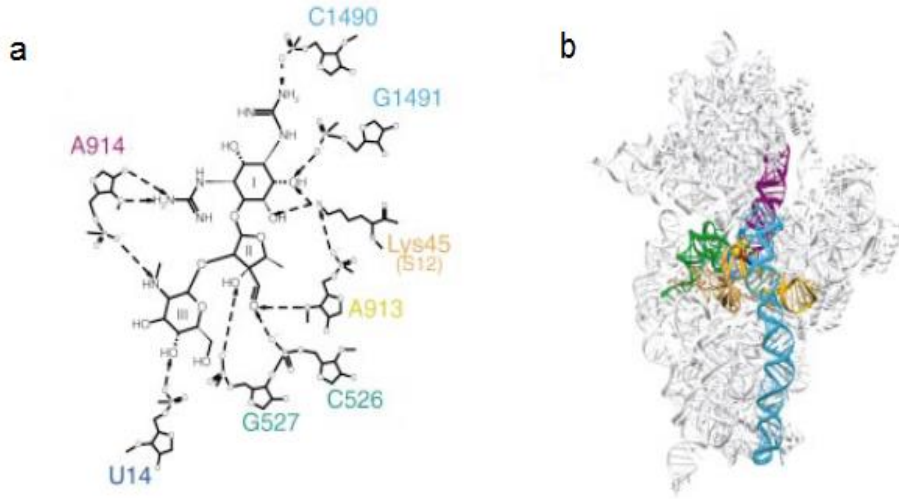
Streptomisin, bakteriyel ribozomun 30S alt ünitesine bağlanarak protein sentezini inhibe eder ve böylece hücre ölümüne yol açan süreçleri başlatır. 30S ribozomal alt ünitenin protein sentezindeki fonksiyonu genetik şifrenin doğru bir şekilde çözülerek gerekli proteinlerin sentezlenmesini ve bu sürecin devamlılığını sağlamaktır (Holzgrabe et al. 2011). Streptomisin, 30S ribozomal alt birimdeki S12 proteinine ve 16S RNA molekülünün fosfat omurgasına tuz köprüleri veya hidrojen bağlarıyla bağlanarak bu bölgede konformasyonel bir değişikliğe neden olur. Bölgedeki bu değişiklik 30S ribozomal alt ünitenin konformasyonel esnekliğini bozar ve kodon - antikodon eşleşmesini engelleyerek toksik proteinlerin sentezlenmesine neden olur ve bu proteinler membran proteinleriyle etkileşime geçerek membran bütünlüğünün bozulmasına neden olur. Membran proteinlerindeki bu değişiklik sonucunda hücre içine daha fazla streptomisin alımı olur ve artan ribozom disfonksiyonları nedeniyle bir süre sonra protein sentezi sona erer. Son olarak hücre ölümü gerçekleşir (Carter et al. 2000, Gromadski et al. 2004, Kohanski et al. 2010, Van Acker and Coenye 2017).



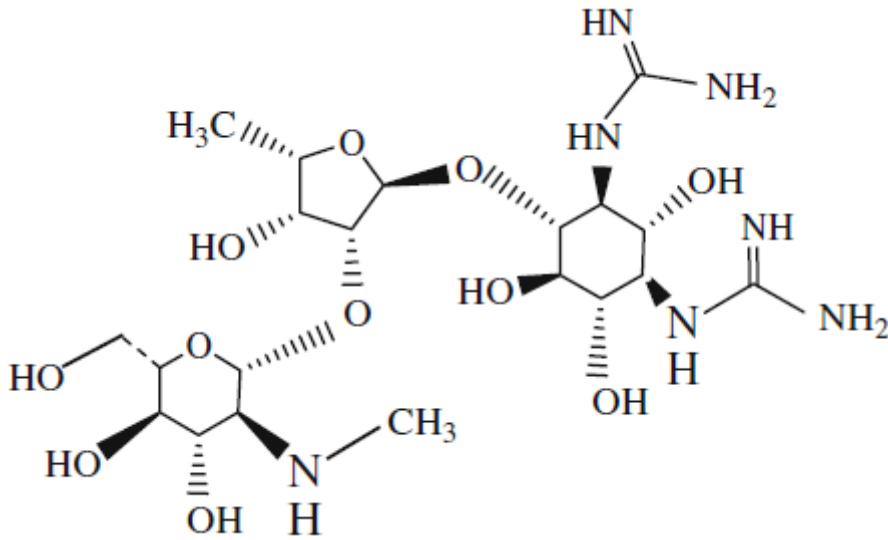
**Şekil 1.** Aminoglikosid antibiyotiklerin etkisi ile gerçekleşen hücre ölümü

(Kohanski et al. 2010)





**Şekil 2.** a) Streptomisinin kimyasal yapısı ve ribozoma bağlanma bölgeleri b) Streptomisinin 30S ribozomal alt birimin proteinlerine bağlanarak oluşturduğu kompleks (Carter et al. 2000)



**Şekil 3.** Streptomisinin kimyasal yapısı (Janna and Deb 2006).

Bunlara ek olarak, streptomisin gibi karakteristik etkisi protein sentezi inhibisyonu üzerine olan antibiyotikler mitokondriyal disfonksiyona neden olarak memeli hücrelerde oksidatif

strese neden olabilirler ve bu antibiyotiklerin uzun periyotlarda kullanılması ototoksik ve nefrotoksik etkileri ortaya çıkmaktadır. Bunun yanında streptomisin zararlı böcekler ile mücadelede insektisit olarak geniş bir kullanıma sahiptir (Thompson 1983, Büyükgüzel and Kalender 2007, 2008 and 2009).

*Drosophila melanogaster* bilinen tüm insan hastalıklarından sorumlu genlerin yaklaşık %75'ini genomunda bulundurmaktadır. Ek olarak *D. melanogaster* genomu ileri genetik çalışmalarda kullanılan yöntemler için çok elverişli bir organizmadır. *D. melanogaster* bu özelliklerinden dolayı kanser, diyabet, obezite gibi insan sağlığını önemli ölçüde etkileyen hastalıkların moleküler mekanizmalarının belirlenmesinde ve ilaç keşiflerinde güçlü bir model organizma olarak kullanılmaktadır (Rudrapatna et al. 2012, Men et al. 2016, Liu and Huang 2013).

*Drosophila melanogaster* yaşam döngüsü boyunca yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört farklı başkalaşım geçirir. Döllenmeyi takiben embriyo yumurtanın içinde gelişmeye başlar. Bundan yaklaşık 36 saat sonra 1. evre larvalar yumurtadan çıkmaya başlar. Larvalar beslenip gelişmeye devam ederken bu dönemde iki deri değişimi görülmektedir. Bu deri değişimleri larval dönemi 3 farklı döneme ayırmaktadır. 1. evre larvaların beslenip gelişerek 3. evre larva dönemine ulaşması yaklaşık olarak 4 – 5 gün sürmektedir. 3. evre larvalar prepup dönemine yaklaştıklarında besinden uzaklaşarak pupal döneme girerler ve bu evrede hareketsizdirler. Pupal dönemi takiben yaklaşık 4 gün sonra ergin bireyler görülmeye başlar. Yaşam döngüsü boyunca geçirilen bu dönemler sıcaklığa ve bazı dış faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Yukarıda verilen gelişim süreleri  $25 \pm 2$  °C , % 60 – 70 bağıl nemde ve 12 saatlik fotoperiyodik koşullarda gerçekleşmektedir (Jennings 2011, Pandey and Nichols 2011).

*Drosophila melanogaster* erginlerinde vücut baş, toraks ve abdomen olmak üzere 3 kısma ayrılır. Baş bölgesinde basit göz, ağız parçaları, bir çift anten ve toraks bölgesinde de devam eden etraftaki değişimleri algılayabilen hassas kıllar bulunmaktadır. Toraks bölgesi 3 segmentten oluşur ve bu segmentte simetrik olarak 3 çift bacak bulunmaktadır. Ayrıca erkek bireylerdeki toraksın 1. segmentinin sol tarafında kıllarla kaplı bir eşey tarağı bulunmaktadır. Abdomendeki değişiklikler cinsiyete göre farklılık göstermektedir. Dişi bireylerde abdomen şişkin ve ucu beyaz renktedir. Erkek bireylerde ise abdomen dişilere göre daha küçük ve ucu siyah renktedir. Abdomen kısmındaki bu farklılıklar cinsiyet belirlemede kullanışlıdır. Fakat

erkek bireylerdeki eşey tarağı bu konuda daha kesin bilgi sağlamaktadır (Jennings 2011, Pandey and Nichols 2011).

*Drosophila melanogaster* genetik yapısı iyi bilinen, yüksek ergin verimi ve kısa hayat döngüsüne sahip olması ve laboratuvarında her mevsimde kültürü yapılabilmesinden dolayı önemli bir model organizmadır. Aynı zamanda tüm endojen ve eksojen kaynaklı prooksidanların canlıların yaşam süresi sırasındaki biyomoleküllerin etkilerini kısa sürede izleyebilme imkânı sağlar (Rogina and Helfand 2000). Hücreler çevresel faktörlerin etkisiyle veya kendi metabolik aktiviteleri sonucunda oksijenden tek elektron indirgenmesiyle oluşan süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil ve peroksit radikalleri gibi reaktif oksijen türevleri(ROT) üretmektedirler. Aerobik solunum yapan organizmalarda ROT'nin en çok üretildiği yer mitokondrieldir. Canlılarda aerobik solunum sonucu oluşan serbest radikaller DNA, protein ve lipitler gibi hücre ve organel bileşenlerini oksidatif olarak hasara uğratmaktadır. Oluşan oksidatif hasar yapı değişimi ile birlikte yaşlanma ve hücre ölümüne sebep olacak şekilde biyolojik işlev kaybına yol açarlar. Mitokondri iç zarındaki solunum zinciri ökaryotlarda ROT oluşumu için önemli hücre içi kaynaktır. ROT oldukça reaktif ve kısa ömürlü olduğundan mitokondri sürekli olarak oksidatif strese maruz kalır. Hücre ve dokuların yapısal bütünlüğünün korunmasında, normal fonksiyonlarını devam ettirmesi için üretilen serbest radikaller ile antioksidan sistemler arasındaki dengenin korunması büyük önem taşımaktadır. Antioksidan sistemler süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon S- transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GPX) gibi enzim ve proteinlerden oluşmaktadır. Bunların bazıları serbest radikallerin uzaklaştırılmasında doğrudan bir role sahiptir, örneğin SOD süperoksit anyonunu  $H_2O_2$  'ye dönüştürür. Daha sonra  $H_2O_2$  CAT ve peroksidaz (POX) ile detoksifiye edilerek moleküler oksijen ve suya dönüştürülür. Eğer oksidatif strese karşı savunma mekanizması zayıflatılırsa patofizyolojik durumlar ortaya çıkabilir. Organizmalardaki bu dengenin bozulması sonucunda oksidatif stres oluşmaktadır ve bu oksidatif strese bağlı oluşan serbest radikaller proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi hücrenin yapısal moleküllerini oksidatif olarak hasara uğratmaktadır (Değer vd. 2008, Büyükgüzel 2013).

Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipit radikali niteliği kazanır. Lipit peroksidasyonu hücre için zararlı bir zincir reaksiyonudur ve direk olarak membran yapısına,

indirek olarak da reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir (Değer vd. 2008).

Proteinlerin oksidasyonu sonucu aromatik grupların ve alifatik amino asit yan zincirlerinin hidroksilasyonu, aromatik amino asit köklerinin ve sülfidril gruplarının nitrolanması, metiyoninin sülfoksitlenmesi, aromatik ve primer amin gruplarının klorlanması ve bazı amino asit köklerinin karbonil türevlerine dönüşümü gerçekleşir. Oksidasyon aynı zamanda çapraz bağlı proteinlerin oluşumu ve polipeptit zincirinin kırılmasına da neden olarak sonuçta bazı radikallerin en önemlisi alkoksi radikallerinin oluşumunu sağlar. Ayrıca proteinlerin fonksiyonel grupları 2-alkenal, 4-hidroksi-2-alkenal ve ketoaldehid gibi çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyon ürünleri ve bazı karbohidrat türevleri (karbohidrat eklenmesi veya karbohidratların oksidasyon ürünleri) ile reaksiyona girerek inaktif türev bileşikleri oluştururlar. Protein oksidasyonu seviyesi çeşitli oksidatif stres faktörlerinden kaynaklanan bazı hastalıklar ve önemlisi yaşlanma sırasında miktarı yükselen protein oksidasyonun en önemli belirteci olan protein karbonil bileşiklerinin ve diğer son ürünlerin miktarının ölçülmesi ile belirlenebilmektedir (Büyükgüzel 2013).

Amino asit	Oksidatif saldırı	Oksidasyon ürünleri
Sistein	HO <sup>•</sup> , diğer hidrojen atomu çıkaran türler	Sistein disülfidler, sülfenik asit,
Metionin	HO <sup>•</sup> , bir elektron oksidasyonu	Metionin sülfoksit, metionin sülfon
Triptofan	HO <sup>•</sup> , bir elektron oksidasyonu	2-,4-,5-,6- ve 7-Hidroksitriptofan, nitrotriptofan, kinürenin, formil ve hidroksi kinürenin
Fenilalanin	HO <sup>•</sup> ; bir elektron oksidasyonu	2,3-Dihidroksifenilalanin, 2-,3-, ve 4-hidroksifenilalanin
Tirozin	HO <sup>•</sup> , RNT, HOCl	3,4-Dihidroksifenilalanin, tirozin-tirozin çapraz bağları, Tyr-O-Tyr, çapraz bağlı nitrotirozin, 3-klorotirozin, DOPA
Histidin*	HO <sup>•</sup> ; bir elektron oksidasyonu	2-Okso-histidin, aspartat, aspartilüre
Arginin*	O <sub>2</sub> varlığında HO <sup>•</sup>	Glutamik semialdehit, 5-hidroksi-2-amino valerik asit
Lizin*	O <sub>2</sub> varlığında HO <sup>•</sup>	Lizin hidroperoksitleri ve hidroksitleri, 2-aminoadipik semialdehit karbonil bileşiği
Glisin	a-C dan hidrojen atomu çıkarılması	Amino malonik asit
Prolin*	O <sub>2</sub> varlığında HO <sup>•</sup>	2-Pirrolidon, 4- ve 5-hidroksiprolin, piroglutamik asit, glutamik semialdehit
Valin*	O <sub>2</sub> varlığında HO <sup>•</sup>	Valin hidroperoksitleri ve hidroksitleri
Lösin*	O <sub>2</sub> varlığında HO <sup>•</sup>	Lösin hidroperoksitleri (3-,4-,5-hidroksilösin) ve hidroksitleri, α-ketoizokaproik asit, izovalerik asit ve aldehit
İzolösin	O <sub>2</sub> varlığında HO <sup>•</sup>	İzolösin hidroperoksitleri
Treonin	O <sub>2</sub> varlığında HO <sup>•</sup>	2-Amino-3-ketobütirik asit
Glutamik asit	O <sub>2</sub> varlığında HO <sup>•</sup>	Glutamik asit hidroperoksit

**Şekil 4.** Oksidasyona yatkın olan amino asitler ve bu amino asitlerin oksidasyon ürünleri

( \* karbonil bileşiklerinin oluşumuna yol açan aminoasitler )

Bu çalışmamızda larval besin ile alınan streptomisin meyve sineği *D. melanogaster*'in son evre larvaları, pup ve erginlerindeki protein ve lipit molekülleri üzerine etkileri ile bu evrelerdeki SOD ve CAT aktivitelerine etkileri araştırılmıştır. Bu oksidatif etki ile ilişkili olarak böceğin yaşama oranı, gelişme süresindeki değişimler belirlenmiştir. Laboratuvar ortamında Streptomisin ile beslenen *D. melanogaster*' in yaşama, gelişme, oksidatif stres indikatörlerindeki değişikliklerin belirlenmesi, zararlı böceklerin mücadelesinde bu maddenin insektisit olarak kullanılmasına yönelik yeni bilgilerin elde edilmesine önemli katkı sağlayacaktır.





## BÖLÜM 2

### MATERYAL VE METOT

Yapılacak olan analizler için *D. melanogaster* (Meigen)'in Oregon R soyu (Diptera: Drosophilidae) yabancıl tip (wild type) kullanıldı ve  $25 \pm 2$  °C, % 60-70 bağıl nemde ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyot koşullarında inkübatörde 250 ml'lik cam şişelerde yapay besin ile yetiştirilerek stok kültür oluşturuldu. Kültürün devamı ergin bireylerin besine yumurta bırakması, yumurtalardan açılarak çıkan larvaların beslenip gelişerek 3 evreye ulaşması ve pupların tekrar ergin hale geldikten sonra erginlerin yeni bir kültür kabına aktarılmasıyla gerçekleştirildi. Kültürünün devamını sağlamak için patates ve sükröz içeren yapay besin kullanıldı ve bu besin streptomisin *D. melanogaster* üzerindeki etkisini incelemek amacıyla kontrol besini olarak da kullanıldı (Helfand and Rogina 2000, Lesch et al. 2007).

250 ml'lik yapay besinin hazırlanışı için; bir kavanozda 2 gr agar, 5 gr sakkaroz, 2,945 gr kuru maya tartılarak 150 ml saf su ilave edildi ve kaynamaya bırakıldı. Kaynamakta olan karışımın üzerine 9 gr patates püresi tartıldı ve üzerine 100 ml saf su eklendi. Patates püresi bulunduğu beherdeki suyu emdikten sonra beherdeki fazla su uzaklaştırıldı ve kaynamakta olan karışıma ilave edildi. Kaynayan karışım homojen bir hal alıp istenilen kıvama geldikten sonra soğumaya bırakıldı. Üzerine tam olarak donmadan önce 0,2 gr askorbik asit ve 1,95 ml nipajin ilave edildi. Besin tekrar karıştırıldıktan sonra kültür şişelerine 50 şer ml olarak paylaştırıldı ve besinin donması beklendi. Kültür şişelerindeki besinler hazır hale geldikten sonra bu şişelere erginler bırakıldı ve şişelerin ağzı hidrofıl pamuk ile kapatıldı. Bu işlem kültürün devamı için haftada bir yapıldı ve elde edilen stoklar streptomisin deneyleri için kullanıldı (Koç ve Gülel 2006).

Besine ek olarak katılacak streptomisin konsantrasyonlarını belirlemek için ön denemeler yapıldı ve elde edilen veriler doğrultusunda streptomisin konsantrasyonları 600 mg/L, 1200 mg/L ve 1800 mg/L olarak belirlendi (Graf and Benz 1970).

Besinle birlikte oral yolla alınan streptomisin bu konsantrasyonlarına bağı olarak *D. melanogaster*'in tüm gelişme evrelerinin yaşama oranı, gelişme süreleri, ergin ömür uzunluğu ve 3. evre larva, pup ve ergin evrelerindeki oksidatif stres indikatörleri olarak bilinen PCO ve MDA miktarları ve reaktif oksijen ürünlerinin uzaklaştırılmasında görev alan SOD ve CAT enzimlerinin aktiviteleri ölçüldü.

Belirlenen her streptomisin konsantrasyonu için 20 adet 5 ml lik kültür şişeleri kullanıldı. Stok kültürden elde edilen 1. evre larvalar stereo mikroskop altında ince uçlu fırça yardımıyla her şişeye bir birey olmak üzere paylaştırıldı. Streptomisin her konsantrasyonu için 20 birey kullanıldı. Bu kültür şişeleri  $25 \pm 2$  °C, % 60-70 bağıl nemde ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyot koşullarındaki inkübatörde muhafaza edildi.

Hazırlanan bu kültürün devamı *D. melanogaster*'in 3. evre larva, pup ve ergin olma oranlarının ve 1. evre larva döneminden itibaren bu evrelere ulaşma sürelerinin belirlenmesi için kullanıldı. Ergin ömür uzunluğunun belirlenmesi için hazırlanan 5 ml 'lik kültür şişeleri 2 gün de bir değiştirilerek erginler taze besine aktarıldı.

MDA, PCO, SOD, CAT ve total protein analizleri için 250 ml 'lik kültür şişeleri kullanıldı. Bu aşamada streptomisin konsantrasyonları 50 ml üzerinden hesaplanarak belirlenen her konsantrasyon ayrı kültür şişelerine 600 mg/L, 1200 mg/L, 1800 mg/L olarak oral yapay besinle karıştırıldı. Hazırlanan şişler  $25 \pm 2$  °C, % 60-70 bağıl nemde ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyot koşullarındaki inkübatörde muhafaza edildi. Streptomisin içermeyen kontrol grubu ve 600 mg/L, 1200 mg/L ve 1800 mg/L streptomisin içeren yapay besinlerden her grup için böceğin 3. evre larva, pup ve erginlerinden 20 birey olmak üzere örnekler alındı ve ependorf tüplerinde -80 °C de saklandı. *D. melanogaster*'in larva, pup ve erginlerinin ekstraksiyonu, homojenizasyon tamponu içerisinde ultrasonik homojenizatörde + 4°C'de 15'er saniye olmak üzere yapıldı ve + 4°C' de 1000 g' de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen homojenatların süpernatant kısmından MDA, PCO ve SOD analizleri için 200 µl, CAT analizi için 150 µl ve total protein analizi için 50 µl olarak farklı ependorflara paylaştırıldı. MDA ve PCO miktarları, SOD, CAT enzim aktiviteleri ve total protein tayini için ayrılan örnekler her analiz için 4 kez tekrar edildi.



## 2.1 MALONDİALDEHİT MİKTARININ TAYİNİ

532 nm’de tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona giren lipit preoksidaz (LPO) son ürünü olan MDA miktarının ölçümü Jain ve Levine’nin kullandığı metot temel alınarak yapıldı (Jain and Levine 1995). Homojenize edilip süpernatantları ayrılan örneklerden 200 µl alınarak 800 µl pH 7,4 olan fosfat tamponu (18 mM NaCl, 18 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), 25 µl 0,04 M BHT ve 500 µl % 30’luk TCA eklendi. Vortekslendikten sonra 2 saat karanlıkta buzun içerisinde bekletildi. Sonra 15 dk + 4 °C, 5000 x g’de santrifüj edildi. Tüplerin üst sıvısından 1 ml alınarak üzerine 0,1 M’lık EDTA ve % 1’lik TBA ilave edildi ve kaynar su banyosunda 45 dk bekletildi. Kaynar su banyosundan çıkarılan örnekler oda ısısına gelmesi için bir süre beklendikten sonra spektrofotometrede 532 nm’de absorbansı okundu. Sabit kat sayısı, 1,56 x 10<sup>5</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, kullanılarak LPO ürünü olan MDA miktarı nmol/mg protein olarak verildi.

## 2.2 PROTEİN KARBONİL MİKTARI TAYİNİ

Kuvvetli asit ortamda (2 M HCl) proteinlerdeki karbonil gruplarının 2,4 DNPH ile kararlı bileşik olan 2,4-dinitrofenilhidrazon oluşturması ve bu ürünlerin 370 nm’de ölçülmesine dayanan PCO miktarının tayini, Levine et al. (1994)’in metodu temel alınarak yapıldı (Krishnan and Kodrik 2006). Daha önceden hazırlanan üst sıvıdan 400 µl alınıp 44,4 µl % 10’luk streptomisin sülfat ilave edilerek 37 °C’de 15 dk benmaride bekletildi. Daha sonra nükleik asitlerin çöktürülmesi için 8000 x g’de + 4 °C’de santrifüj edildi. Tüplerin üst sıvısından 200 µl alınarak üzerine 800 µl 10 mM 2,4 DNPH eklendi ve 37 °C’de 15 dk belirli aralılar ile çalkalamak suretiyle beklendi. Daha sonra buz üzerinde tüplere 700 µl % 20’lik triklorasetik asit (TCA) ilave edilerek 10 dk bekletildi. Oluşan 2,4-dinitrofenilhidrazon bileşiklerinin çöktürülmesi için + 4 °C’de 10000 x g’de 10 dk santrifüj edildi. Üst sıvı atılarak çöküntü üzerine 1 ml etanol: etil asetat karışımı (1:1) ilave edildi ve vorteks ile yavaşça homojenize edildikten sonra 10000 x g’de + 4 °C’de santrifüj edilerek üst sıvı tekrar atıldı. Santrifüjleme işleminden sonra çöküntünün çözülmesi için örneğin üzerine 2,5 ml 6 M guanidin hidroklorür ilave edilerek 37 °C’de 10 dk karıştırılmak suretiyle çöküntü iyice çözüldü. Toplam protein analizinde kullanılmak için bu homojen çözeltilerden 150 µl’si alındı. Üst sıvı 370 nm’de spektrofotometrede kör tüpe karşı absorbansı (Shimadzu 1700 UV/Vis, Kyoto, Japan) okunarak PCO miktarı 22,000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> kat sayısı kullanılarak nmol/mg protein olarak verildi.

### **2.3 SOD AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜLMESİ**

SOD (EC 1.15.1.1) enzim aktivitesinin ölçülmesinde pyrogallol'un 3 dakikada 440 nm'de alkali ortamda otooksidasyonu ile yükselen absorbansı tespit edildi (Marklund and Marklund 1974). 3 ml'lik plastik küvete 2,80 ml Tris-EDTA ve 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50 µl'lik değişen hacimlerde enzim kaynağı olarak süpernatant kaynağı eklendi. Her küvetin son hacmi Tris-EDTA tamponu ile 2,90 ml'ye tamamlandı 100 µl 15 mM pyrogallol eklenerek otooksidasyon başlatıldı. Her bir karışımın % inhibisyon miktarları hesaplanarak bir grafik oluşturuldu. Bu grafik ile bir ünite toplam SOD aktivitesi pyrogallol'un otooksidasyonunun % 50 inhibisyonuna neden olan protein miktarı olarak hesaplandı. Homojenattaki 1 mg protein başına toplam SOD aktivitesini bulmak için  $1 / (\text{mg prot. pyrogallolun otooksidasyonu \% 50 inhibisyonu})$  eşitliği ile hesaplanarak enzim aktivitesi U/mg protein olarak verildi.

### **2.4 CAT AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜLMESİ**

Katalaz (EC 1.11.1.6) enziminin aktivite tayini için Aebi tarafından geliştirilen metod kullanılmıştır (Aebi 1984). Süpernatantta mikrozoim ve bulunan peroksizomlardaki katalazı açığa çıkarmak için % 1'lik Triton X-100 (h/h) kullanıldı. Daha sonra üzerine 50 mM fosfat tamponu (pH 7) ilave edilerek seyreltme işlemi yapıldı. Kuartz küvete sulandırılmış örnekten 2 ml konularak ml %30'luk hidrojen peroksit ilave edildi. 240 nm'de 60 saniyede H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in parçalanmasını gösteren azalan absorbans ölçüldü. Katalaz aktivitesinin, birim zaman başına absorbansdaki değişimler ( $\epsilon_{340}$ : 0,0394 mM/cm) olarak ölçüldü. Enzimin spesifik aktivitesi ise mmol/mg protein/dk'dır.

### **2.5 TOTAL PROTEİN TAYİNİ**

Lowry et al 1951 metoduna göre lipid peroksidasyon ürünü olan MDA miktarlarını ve SOD ve CAT antioksidan enzimlerinin aktivitelerini hesaplamak için alınan örneklerden total protein tayini yapıldı. Örneklerin absorbansları spektrofotometrede 600 nm'de ölçülerek örneklerdeki protein miktarını tespit etmek için farklı konsantrasyonlarda Bovin serum

albümin çözeltileri hazırlandı ve standart grafik elde edildi. Elde edilen bu grafikten örneklerdeki toplam protein miktarları hesaplandı.

Protein oksidasyonu sonucunda meydana gelen PCO miktarının hesaplanması için de ayrı bir total protein tayini yapıldı. 6 M guanidin hidroklorür ile çözülen homojen karışımdan alınan 150 µl'ye 1350 µl guanidin hidroklorür ilave edilerek 1:10 oranında sulandırıldı. Örneklerin absorbanları 280 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. 6 M guanidin hidroklorür ile Bovin serum albümin standart çözeltileri hazırlandı. Standart grafik oluşturularak total protein miktarı hesaplandı (Pajot 1976).

## **2.6 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Gelişme süreleri, ergin ömür uzunluğu, MDA ve PCO miktarları, antioksidan enzim aktiviteleri (CAT ve SOD) ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü "Varyans Analizi" (ANOVA) (SPSS 1997) kullanılırken ortalamalar arasındaki farkın önemini saptamak için "LSD Testi" (SPSS 1997) kullanıldı. Yaşama oranı ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde ise " $\chi^2$  (Chi square) Testi" kullanıldı (Snedecor and Cochran 1967). Ortalamalar arasındaki fark ise 0,05 olasılık seviyesinde değerlendirildi.



## BÖLÜM 3

### ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1 STREPTOMİSİNİN *D.MELANOGASTER*'İN 3. EVRE LARVAYA ULAŞMA ORANI, PUP OLMA ORANI VE ERGİN OLMA ORANINA ETKİSİ

Streptomisin içermeyen kontrol besininde 3. evreye ulaşan larva oranı %  $95 \pm 3,26$  olarak belirlenirken bu oran streptomisinin 600 mg/L konsantrasyonunu içeren besinde %  $67,5 \pm 4,14$ , 1200 mg/L içeren besinde %  $61,25 \pm 5,41$  ve 1800 mg/L' konsantrasyonlarını içeren besinde %  $43,75 \pm 2,72$  olarak belirlenmiştir. Streptomisinin konsantrasyonlarına bağlı olarak azalan 3. evre larvaya ulaşma oranı benzer bir şekilde pup olma oranı ve ergin olma oranında da belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Streptomisinin *D.melanogaster*'in son evreye ulaşma oranı, pup olma oranı ve ergin olma oranına etkisi.

Streptomisin (mg / L)	3.evreye ulaşan larva oranı (%) (Ort * ± S.H) <sup>†</sup>	Pup olma oranı (%) (Ort * ± S.H) <sup>†</sup>	Ergin olma oranı (%) (Ort * ± S.H) <sup>†</sup>
0,0 <sup>§</sup>	95 ± 3,26a	91,25 ± 3,69a	87,5 ± 2,79a
600	67,5 ± 4,14b	66,25 ± 4,8b	65 ± 5,3b
1200	61,25 ± 5,41a	52,5 ± 6,25b	56,6 ± 6,2ba
1800	43,75 ± 2,72c	38,75 ± 2,07c	31,25 ± 2,07c

\* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 larva kullanıldı.

<sup>†</sup> Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P > 0,05  
(Chi – squareTesti).

<sup>§</sup>Kontrol besini (Streptomisin içermeyen).

### 3.2 STREPTOMİSİNİN *D. MELANOGASTER*'İN GELİŞİM SÜRELERİ VE ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİSİ

*D.melanogaster*'in streptomisin içermeyen kontrol grubunda belirlenen gelişim süreleri streptomisinin farklı konsantrasyonlarını içeren gruplar ile karşılaştırıldığında bu gelişim sürelerinde önemli derecede artış gözlemlenmiştir. Streptomisinin artan konsantrasyonlarıyla birlikte böceğin 3. evre larvaya ulaşma süresi, pup olma süresi ve ergin olma süresi uzamıştır. Ayrıca streptomisinin en yüksek konsantrasyonunda belirlenen ergin ömür uzunluğu süresini kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli derecede kısalttığı gözlemlenmiştir.

Genel olarak streptomisin *D.melanogaster*' in 3. evre larva, pup ve ergin gelişme sürelerine ve ergin ömür uzunluğuna olumsuz bir etki yaparak bu gelişim sürelerinin uzamasına ve ergin ömür uzunluğunun kısılmasına neden olmuştur ( Çizelge 2).

Çizelge 2. Streptomisin'nin *D. melanogaster*'in gelişme süreleri ve ergin ömür uzunluğu üzerine etkisi.

Streptomisin (mg / L)	3.evre larvaya ulaşma süresi (gün) (Ort* ± S.H)†	Pup olma süresi (gün) (Ort* ± S.H)†	Ergin olma süresi (gün) (Ort* ± S.H)†	Ergin ömür uzunluğu (gün) (Ort* ± S.H)†
0,0§	2,79 ± 0,26a	4,45 ± 0,33ab	7,73 ± 0,29a	21,89 ± 2,46b
600	3,15 ± 0,46a	4,33 ± 0,26a	7,82 ± 0,29a	14,27 ± 0,5a
1200	3,26 ± 0,37a	4,89 ± 0,39ab	8,25 ± 0,14a	10,61 ± 0,43ac
1800	3,56 ± 0,28a	5,61 ± 0,38b	9,65 ± 0,65b	8,16 ± 0,77c

\* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 larva kullanıldı.

† Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P > 0,05 (LSD Testi).

§Kontrol besini (Streptomisin içermeyen).



### 3.3 STREPTOMİSİNİN *D. MELANOGASTER*'İN LARVA, PUP VE ERGİN EVREDEKİ MDA MİKTARINA ETKİSİ

Streptomisin'in artan konsantrasyonları kontrol grubu karşılaştırıldığında böceğin larva evresindeki MDA miktarı önemli derecede azalırken pup evresindeki MDA miktarı streptomisin'in en yüksek konsantrasyonunda önemli derece düşürmüştür. Buna karşın böceğin ergin evresindeki MDA miktarı streptomisin'in en yüksek konsantrasyonunda önemli derece artarak MDA miktarı  $8,31 \pm 2,11$  nmol/mg olarak tespit edilmiştir. MDA miktarı kontrol grubunda  $2,12 \pm 0,51$  nmol/mg protein olarak belirlenmiştir (Çizelge 3) (Şekil 5).

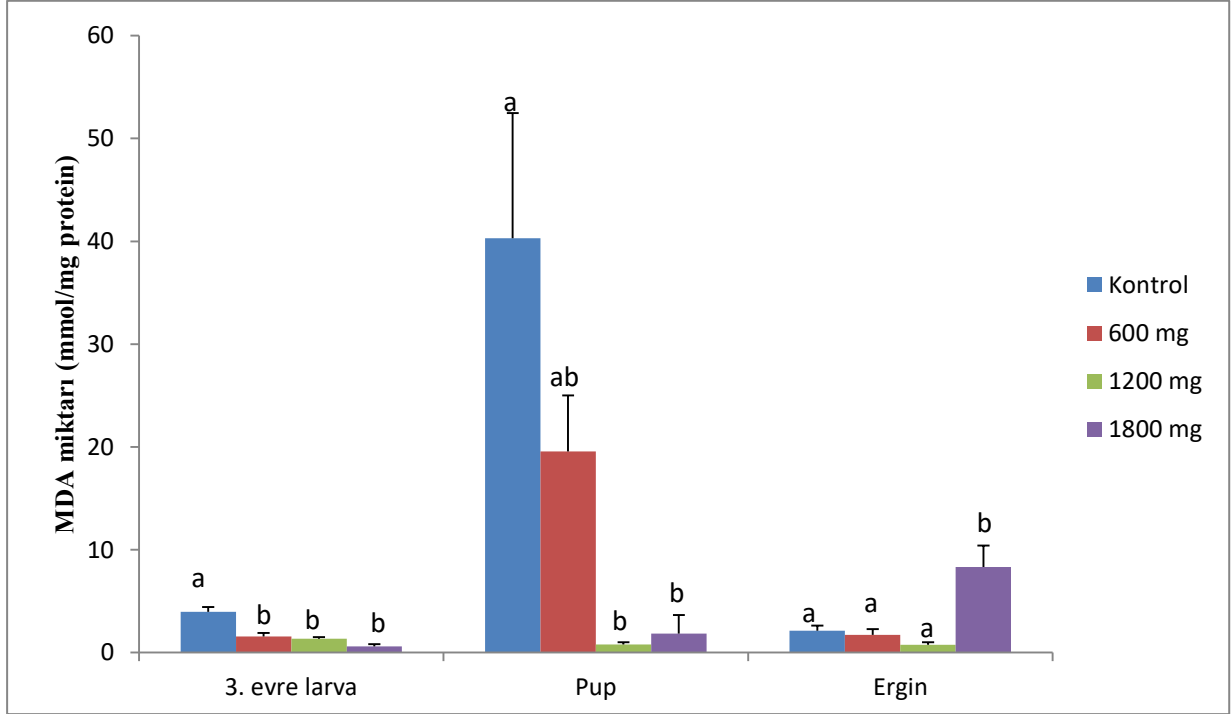
Çizelge 3. Streptomisin'in *D. melanogaster*'in MDA miktarı üzerine etkisi.

Streptomisin (mg / L)	MDA Larva (nmol/mg protein) (Ort* $\pm$ S.H) <sup>†</sup>	MDA Pup (nmol/mg protein) (Ort* $\pm$ S.H) <sup>†</sup>	MDA Ergin (nmol/mg protein) (Ort* $\pm$ S.H) <sup>†</sup>
0,0 <sup>§</sup>	$3,96 \pm 0,46a$	$40,30 \pm 12,17a$	$2,12 \pm 0,51a$
600	$1,55 \pm 0,35b$	$19,55 \pm 5,46ab$	$1,71 \pm 0,56a$
1200	$1,36 \pm 0,15b$	$0,78 \pm 0,21b$	$0,76 \pm 0,25a$
1800	$0,59 \pm 0,22b$	$8,71 \pm 1,83b$	$8,31 \pm 2,11b$

\* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 birey kullanıldı.

<sup>†</sup> Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir,  $P > 0,05$  (LSD Testi).

<sup>§</sup>Kontrol besini (Streptomisin içermeyen).



**Şekil 5.** Streptomisin'in *D. melanogaster*'in 3. evre larva, pup ve ergin evredeki lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarına etkisi.

### **3.4 STREPTOMİSİNİN *D. MELANOGASTER*'İN LARVA, PUP VE ERGİN EVRESİNDEKİ PCO MİKTARINA ETKİSİ**

Streptomisin artan konsantrasyonları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında böceğin 3. evre larva, pup ve ergin evresindeki PCO miktarlarını önemli derecede arttırmıştır. Kontrol grubunda böceğin 3. evre larvasındaki PCO miktarı  $9,75 \pm 1,85$  nmol/mg olarak belirlenirken aynı evrede streptomisin en yüksek konsantrasyonu kontrol grubuna göre 5 kat artmış ve  $46,94 \pm 8,36$  nmol/mg olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunda böceğin pup evresindeki PCO miktarı  $6,35 \pm 1,07$  nmol/mg olarak belirlenirken aynı evredeki PCO miktarı streptomisin en yüksek konsantrasyonunda kontrol grubuna göre yaklaşık 14 kat artarak  $86,4 \pm 20,32$  nmol/mg olarak belirlenmiştir. 600 mg/L 'de pup evresindeki PCO miktarı  $40,72 \pm 11,32$  nmol/mg olarak belirlenirken 1200 mg/L' de aynı evredeki PCO miktarı 2 kat artarak  $89,79 \pm 15,63$  nmol/mg olarak tespit edilmiştir. Ayrıca 600 mg/L ve 1200 mg/L'de pup evresindeki PCO miktarı kontrol grubunda aynı evredeki PCO miktarına göre sırasıyla 6 kat ve 13 kat artarak  $40,72 \pm 11,32$  nmol/mg ve  $89,79 \pm 15,63$  nmol/mg olarak elde edilmiştir.

Kontrol grubunda böceğin ergin evresindeki PCO miktarı  $12,88 \pm 2,64$  nmol/mg olarak belirlenirken denenen en yüksek streptomisin miktarı kontrol grubuna göre yaklaşık olarak 13 kat artmış olup, bu değer  $163,25 \pm 50,52$  nmol/mg olarak tespit edilmiştir. Ayrıca 600 mg/L ve 1200 mg/L'de ergin evresindeki PCO miktarı kontrol grubunda aynı evredeki PCO miktarına göre 2 kat artarak sırasıyla  $24,1 \pm 6,02$  nmol/mg ve  $24,76 \pm 5,61$  nmol/mg olarak belirlenmiştir ( Çizelge 4) (Şekil 6).

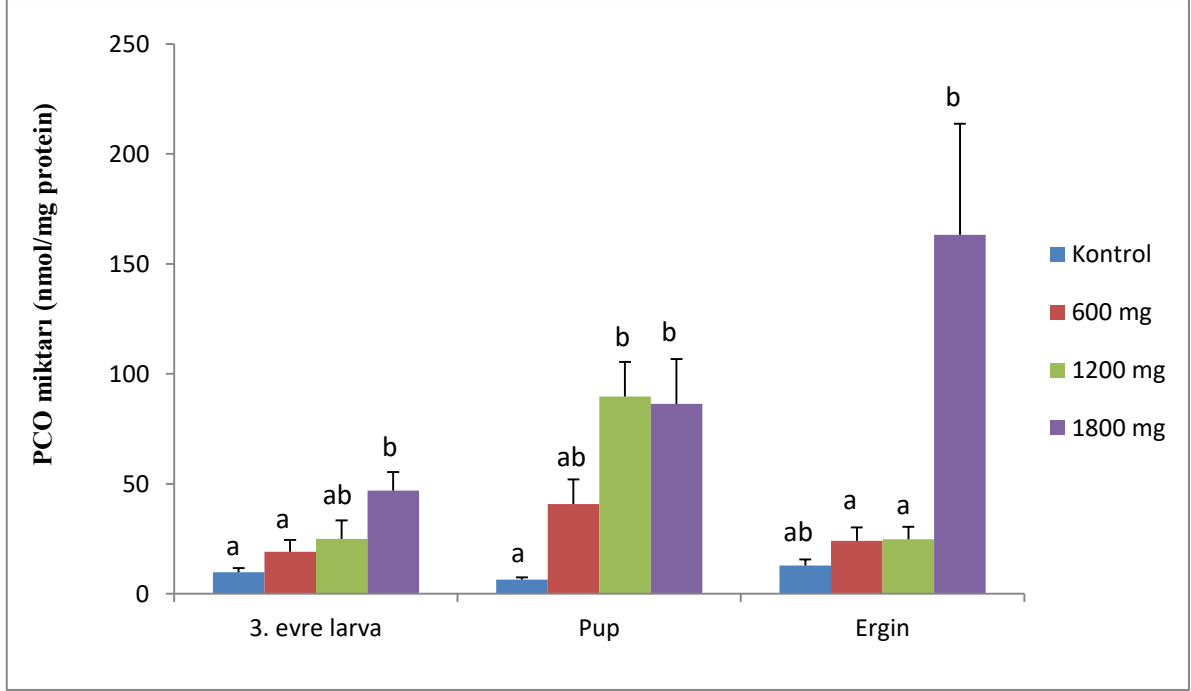
Çizelge 4. Streptomisinin *D. melanogaster*'in PCO miktarı üzerine etkisi.

Streptomisin (mg / L)	PCO Larva (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)†	PCO Pup (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)†	PCO Ergin (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)†
0,0§	9,75 ± 1,85a	6,35 ± 1,07a	12,88 ± 2,64ab
600	19,08 ± 5,38a	40,72 ± 11,32ab	24,1 ± 6,02a
1200	24,95 ± 8,38ab	89,79 ± 15,63b	24,76 ± 5,61a
1800	46,94 ± 8,36b	86,4 ± 20,32b	163,25 ± 50,52b

\* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 larva kullanıldı.

† Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P > 0,05 (LSD Testi).

§ Kontrol besini (Streptomisin içermeyen).



**Şekil 6.** Streptomisinin *D. melanogaster*'in 3. evre larva, pup ve ergin evresindeki PCO miktarına etkisi.

### **3.5 STREPTOMİSİNİN *D. MELANOGASTER*'İN 3. ERVE LARVA, PUP VE ERGİN EVRELERİNDEKİ SOD VE CAT ENZİMLERİNİN AKTİVİLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Denenen streptomisin konsantrasyonları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında böceğin ergin evresindeki CAT aktivitesi dışında 3. evre larva, pup, ergin evresindeki SOD ve CAT enzimlerinin aktivitesi önemli derecede azalmıştır ( Çizelge 5).

Kontrol grubunda böceğin 3. evre larvasındaki SOD aktivitesi  $6,24 \pm 0,53$  U/mg protein olarak belirlenirken streptomisinin en yüksek konsantrasyonunda SOD aktivitesi kontrol grubuna göre önemli derecede azalmış ve  $0,2 \pm 0,73$  U/mg protein olarak belirlenmiştir. Ayrıca 600 mg/L deki ve 1200 mg/L'de 3. evre larvasındaki SOD aktivitesi sırasıyla  $1,01 \pm 0,2$  U/mg protein ve  $1,58 \pm 0,69$  U/mg protein olarak elde edilmiştir. Kontrol grubunda aynı evredeki SOD aktivitesine göre önemli derecede azalmıştır.

Kontrol grubunda böceğin pup evresindeki SOD aktivitesi  $10,6 \pm 1,88$  U/mg protein olarak belirlenmiştir. Streptomisinin 1800 mg/L'lik konsantrasyonunu içeren besinde yetiştirilen böceğin pup evresinde SOD aktivitesi  $2,84 \pm 1,81$  U/mg protein olarak tespit edilmiştir. Ayrıca 600 mg/L'deki konsantrasyonda pup evresindeki SOD aktivitesi  $8,7 \pm 2,42$  U/mg protein olarak elde edilmiş olup kontrol grubuna göre önemli derecede azalmıştır.

Böceğin ergin evresindeki SOD aktivitesi kontrol grubunda  $1,44 \pm 0,65$  U/mg protein olarak belirlenirken aynı evrede 600 mg/L ve en yüksek konsantrasyon olan 1800 mg/L'de SOD aktivitesi sırasıyla  $0,58 \pm 0,22$  U/mg protein ve  $0,34 \pm 0,13$  U/mg protein olarak gözlemlenmiştir. Ayrıca 1200 mg/L'deki konsantrasyonda böceğin ergin evresindeki SOD aktivitesi kontrol grubuna göre yaklaşık önemli derecede azalarak  $0,14 \pm 0,9$  U/mg protein olarak belirlenmiştir (Şekil 7).

*D. melanogaster*'in son evre larvasındaki CAT aktivitesi kontrol grubunda  $8,78 \pm 0,49$  mmol/mg protein/dk olarak belirlenmiştir. CAT aktivitesi 600 mg/L ve 1200 mg/L 'lik streptomisin konsantrasyonlarında bu değer sırasıyla  $1,13 \pm 0,14$  mmol/ mg protein/dk ve  $1,57 \pm 0,26$  mmol/mg protein/dk olarak tespit edilmiştir. Streptomisinin en yüksek konsantrasyonunda böceğin son evre larvasındaki CAT aktivitesi kontrol grubuna göre önemli derecede azalmış ve  $0,37 \pm 0,04$  mmol/ mg protein/dk olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubunda böceğin pup evresindeki CAT aktivitesi  $29,88 \pm 1,93$  mmol/mg protein/dk olarak tespit edilmiştir. Bu değer 1200mg/L' de ve 1800 mg/L 'deki konsantrasyonlarda sırasıyla  $0,94 \pm 0,12$  mmol/mg protein/dk ve  $3,72 \pm 0,66$  mmol/ mg protein/dk olarak ölçülmüştür. 600 mg/L'deki konsantrasyonda böceğin pup evresindeki CAT aktivitesi kontrol grubuna göre önemli derecede azalmış ve  $11,82 \pm 1,78$  mmol/mg protein/dk olarak belirlenmiştir.

Böceğin ergin evresinde kontrol grubu CAT aktivitesi  $0,91 \pm 0,08$  mmol/mg protein/dk olarak elde edilmiştir. Streptomisinin en yüksek konsantrasyon olan 1800 mg/L 'de bu değer  $2,42 \pm 0,11$  mmol/mg protein/dk olarak tespit edilmiş ve kontrol grubuna göre istatistiki açıdan önemli derecede arttığı gözlenmiştir (Şekil8).

Çizelge 5. Streptomisin'in *D. melanogaster*'in SOD ve CAT enzimlerinin aktivitesi üzerine etkisi.

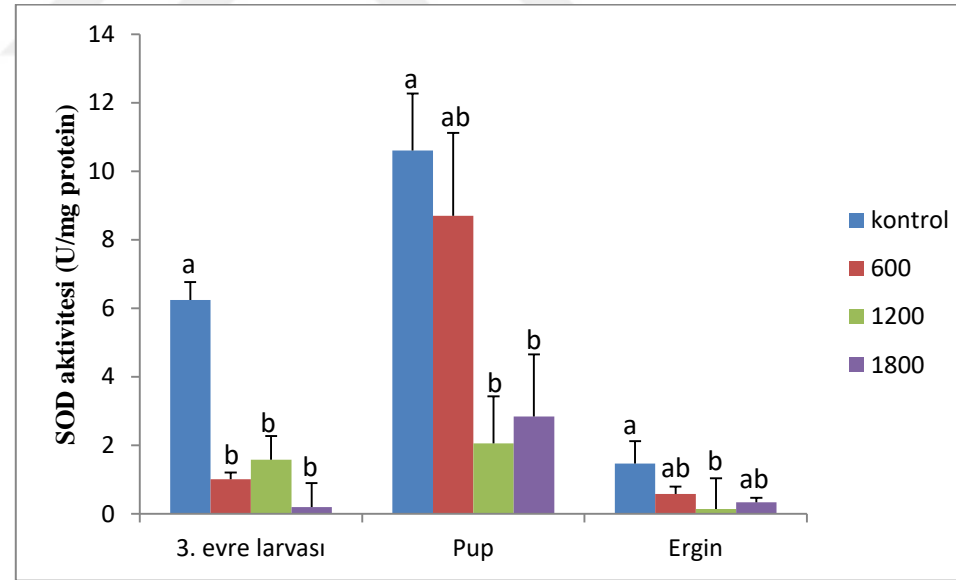
	SOD Larva	SOD Pup	SOD Ergin	CAT Larva	CAT Pup	CAT Ergin
Streptomisin (mg / L)	(U/mg protein) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>	(U/mg protein) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>	(U/mg protein) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>	(mmol/mg protein/dk) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>	(mmol/mg protein/dk) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>	(U/mg protein/dk) (Ort* ± S.H) <sup>†</sup>
0,0 <sup>§</sup>	6,24 ± 0,53a	10,6 ± 1,88 a	1,44 ± 0,65 a	8,78 ± 0,49a	29,88 ± 1,93a	0,91 ± 0,08a
600	1,01 ± 0,2b	8,7 ± 2,42 ab	0,58 ± 0,22ab	1,13 ± 0,14bc	11,82 ± 1,78b	1,75 ± 0,95a
1200	1,58 ± 0,69b	2,06 ± 1,86 b	0,14 ± 0,9 b	1,57 ± 0,26b	0,94 ± 0,12c	0,99 ± 0,02a
1800	0,2 ± 0,73b	2,84 ± 1,81 b	0,34 ± 0,13ab	0,37 ± 0,04c	3,72 ± 0,66c	2,42 ± 0,11a

\* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 larva kullanıldı.

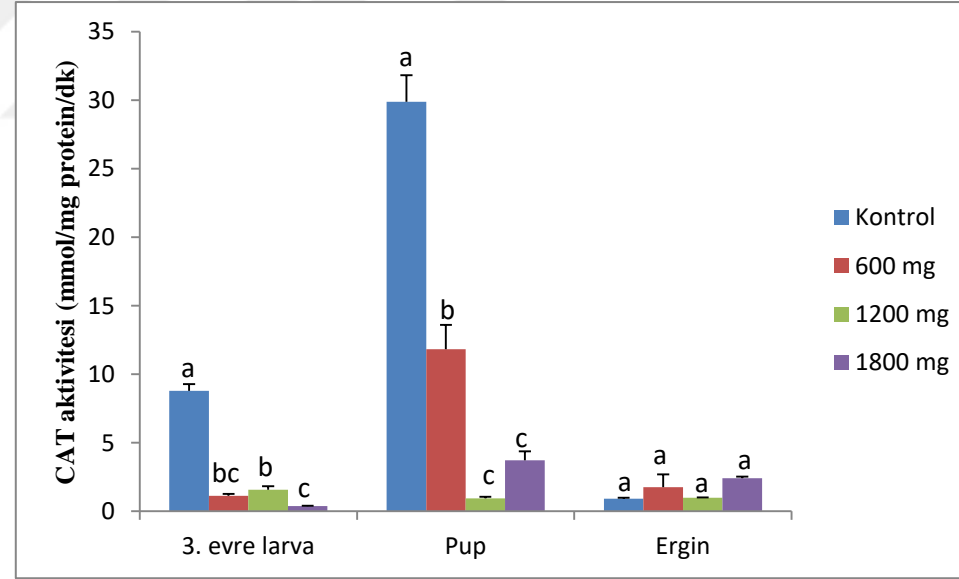
<sup>†</sup> Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, P > 0,05 (LSD Testi).

<sup>§</sup>Kontrol besini (Streptomisin içermeyen).





Şekil 7. Streptomisin'in *D. melanogaster*'in 3. evre larva, pup ve ergin evrelerindeki SOD enzim aktivileri üzerine etkisi.



**Şekil 8.** Streptomisinin *D. melanogaster*'in 3. evre larva, pup ve ergin evrelerindeki CAT enzim aktivileri üzerine etkisi.

## BÖLÜM 4

### TARTIŞMA

Çeşitli antibiyotiklerin belirli konsantrasyonlarda insan ve yüksek organizasyonlu hayvanlarda konak organizmaya zarar vermeden bazı bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarının tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Bazı antibiyotik çeşitlerinin de laboratuvar koşullarında yetiştirilen böcek türlerinin yapay besin ortamlarına olası mikroorganizma üremesini engellemek ve besin kalitesini arttırmak için ilave edildiği bilinmektedir. Bunun yanı sıra zararlı bazı böcek türlerinin gelişimi ve üremesi için gerekli besin maddelerinin sağlanmasında önemli role sahip olan orta bağırsaktaki endosimbiyont mikroorganizmaların antibiyotikler tarafından öldürülmesi sonucu bu böcekler ile mücadeleye yönelik birçok çalışmada da antibiyotiklerin kullanıldığı gösterilmiştir (Costa et al. 1997, Pearson and Raybould 1998; Miao et al. 2004).

Bu çalışmada aminoglikozid bir antibiyotik olan streptomisin meyve sineği *Drosophila melanogaster* larvalarını yetiştirmek için yapay besin ortamına eklenerek böceğin, yaşam oranı, gelişim süresi ve ergin ömür uzunluğuna etkisi incelenmiştir. Ayrıca *Drosophila melanogaster* farklı gelişim evrelerindeki (3. evre larvası, pup ve ergin) lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehid (MDA), protein oksidasyonu ürünü protein karbonil (PCO) miktarları ve antioksidan enzimlerden Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) enzimlerinin aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar Streptomisin'in *D. melanogaster*'in larva, pup ve ergin evreleri üzerinde olumsuz etkisinin olduğunu göstermiştir.

Streptomisin'in en yüksek besinsel konsantrasyonu (1800 mg/L) böceğin pupal ve ergin evreye ulaşma süresini önemli derecede uzatırken, denenen tüm streptomisin konsantrasyonlarında böceğin son evre larvası, pup ve ergin olma oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüş göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, denenen bu antibiyotiğin, böceğin yaşama ve gelişimi üzerindeki etkilerini böceğin hem larval gelişme hem de larva sonrası gelişme evrelerinde gösterdiği belirlenmiştir. Bu konu ile ilgili yapılan diğer çalışmalar,

benzer sonuçları ortaya çıkarmış olup antibiyotiklerin yüksek konsantrasyonlarının yapay besin ortamlarının kalitesini azalttıkları ve toksisiteyi arttırdıklarını göstermiş; besinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin bu antibiyotikler ile değişmesine bağlı olarak çeşitli böceklerde ölüm oranının arttığı, gelişme süresinin ise uzadığı belirtilmiştir (Alverson and Cohen 2002, Ruan et al 2006, Büyükgüzel and Kalender, 2007, 2008, 2009). *Galleria mellonella* ile yapılan son çalışmalar borik asit ve sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonlarının yaşama ve gelişme üzerine önemli olumsuz etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Hyrsl et al. 2007, Durmuş and Büyükgüzel 2008). *Bemisia tabaci* (Gennadius) erginlerinin rifampisin ile muamele edilmesi gelişimi önemli derecede geciktirmiş ve yaşama oranını düşürmüştür (Ruan et al 2006). Bizim çalışmamızda da yapay besin ortamına ilave edilen streptomisin besin kalitesi üzerine olumsuz etki göstermiş olabilir, buna bağlı olarakta böceğin yaşama gelişme parametrelerinde tespit edilen değişikliklere neden olmuş olabilir. Yapay besine ilave edilen tüm streptomisin konsantrasyonları ergin ömür uzunluğunu önemli derecede kısaltmıştır. Bulduğumuz sonuçla uyumlu olarak (Fitzpatrick and Dowell 1981), *Aleurocantus woglumi* (Homoptera: Aleyrodidae)' ye 14 farklı insektisit uygulamış ve kullanılan insektisitlerin bu böceğin parazitoidleri olan *Amitus hisperidum* (Hymenoptera: Platygasteridae) ve *Prospaltella opulenta* (Hymenoptera: Aphelinidae)'nın dördüncü larval evresindeki ömür uzunluğuna etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer sonuçlar birçok çalışmada gösterilmiş olup, belirli sınırlar içerisindeki sıcaklık artışının poiklotermal canlılarda metabolizmanın hızlanmasına ve buna bağlı olarak da gelişim süresinin, ergin ömür uzunluğunun kısalmasına neden olduğu bildirilmiştir (Ekesi et al. 1999, Urbaneja et al. 1999; Graf et al. 2001, Kim et al. 2001, Lauzière et al. 2002, Levesque et al. 2002, Liu et al. 2002, Seal et al. 2002, Sæthre and Hofsvang 2002). Larval evrede alınan besinin böceğin bu evreden sonraki gelişim evrelerine önemli etkisinin olduğu bilinmektedir (Ali et al. 2006). Gündüz ve Gülel 2004 tarafından yapılan bir çalışmada da bal çözeltisi ile beslenen *Bracon hebetor* erginlerinin diğer besin tipleriyle beslenenlerden daha uzun süre yaşadıkları gösterilmiş olup, bunun sebebinin bal çözeltisini oluşturan balın bileşiminde bulunan karbonhidrat dışındaki vitamin, aminoasit gibi bileşenlerin olası katkılarından kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Çalışmamızda gösterilmiş olan ergin ömür uzunluğu süresinin kısalması larval evrede besin ile alınan streptomisinin besinin yapısını bozarak, alınan besinin böcek tarafından etkin bir şekilde kullanılmadığından kaynaklanmış olabilir.

Bu çalışmada streptomisinin yaşama ve gelişme parametrelerindeki olumsuz etkisi ile ilişkili olarak MDA ve PCO miktarlarında da önemli değişiklikler gözlemlenmiştir. Artan

streptomisin konsantrasyonları ile MDA miktarı arasında negatif, PCO miktarı ile de pozitif bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Denenen antibiyotik konsantrasyonlarına bağlı olarak *D. melanogaster*'in tüm evrelerinin protein karbonil miktarının önemli derecede artması yoğun bir protein hasarının olduğunu açıkça göstermektedir. Proteinler serbest radikallerin doğrudan etkilerine lipidlerin yapısındaki doymamış yağ asitlerinden daha az duyarlıdır. Aşırı doymamış yağ asitlerinin oksidasyon son ürünü olan toksik aldehit ürünler MDA, glioksal, 2-hidroksiheptanal ve 4-hidroksi-2-nonenal proteinlerin çeşitli aminoasit köklerinin amino grupları ve karboksil grupları ile çapraz bağlar yaparak proteinlerin yapılarının bozulmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda işlevsel ve yapısal proteinlerde yapı bozulması meydana geldiği için görevlerini eksik yapmakta veya tamamen işlevleri kaybolmaktadır (Büyükgüzel and İçen 2004, Büyükgüzel and Kalender 2008, Requena et al. 1996). Bu sonuçlara bağlı olarak SOD ve CAT aktivitelerindeki azalmanın beklenildik bir sonuç olduğu açıkça görülmektedir. Streptomisin tüm konsantrasyonları larval ve pupal evrede MDA miktarını önemli derece düşürdüğü, en yüksek miktarının (1800 mg/L) ise ergin evrede MDA miktarını kontrol besinine göre önemli derece arttırdığı tespit edilmiştir. Lipid peroksidasyonunun önemli bir belirteci olan MDA miktarı böceğin larval gelişme evreleri ve antibiyotik konsantrasyonlarına göre değişiklik gösterdiği de açıkça görülmektedir. Çeşitli kimyasal maddelere maruz bırakılan böceklerde MDA miktarında artış gözlenmiş olup artan toksisiteye bağlı olarak da antioksidan enzimlerin aktivitelerinde önemli düşüş olduğu gösterilmiştir (Cervera et al. 2003, Büyükgüzel 2009, Erdem and Büyükgüzel 2015). Bizim sonuçlarımızda da artan PCO miktarıyla birlikte azalan SOD ve CAT aktivitesinin belirlenmesi, besin ile alınan antibiyotiğe bağlı olarak reaktif oksijen radikallerinin üretiminin artması sonucu PCO miktarının artması ve buna bağlı olarak da antioksidan savunma sisteminin zayıflamasından ileri gelebilir. Yakınlarda yapılan bir çalışma borik asidin Alman hamam böceği *Blattella germanica* (L)'da sindirim işlemini ve enzimatik antioksidan savunma sistemini olumsuz etkilediğini açıkça göstermiştir (Habes et al. 2006 ).

Canlıların, çeşitli kimyasallara veya çevre kirliliğine neden olan maddelerin etkileri altında kalmaları, serbest oksijen radikallerinin oluşumuna ve dolayısıyla metabolik olayların bozulmasına neden olduğu bilinmektedir (Büyükgüzel ve Kaya 2015, Suganya et al. 2016). Bu maddeler, serbest radikal oluşturma ve reaktif oksijen türlerini (ROT) ortadan kaldıran enzimlerin yapısında da değişiklik meydana getirerek oksidatif stres oluşmasına sebep olmaktadır (Dettbarn et al. 2006, Giordano et al. 2007). Ayrıca, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerinin, oksijen kullanan tüm organizmalarda

normal metabolik süreçler sonucu üretildiği ve antioksidan enzim sistemi tarafından vücut içindeki hemoastazın sağlandığı bilinmektedir. SOD ve CAT enzimleri ROT'lara karşı savunmada beraber çalışan önemli antioksidan enzim grubunu oluşturmaktadır (Chaurasia et al. 2016, Suganya et al. 2016, Sahoo et al. 2015). Süperoksit dismutaz, süperoksit serbest radikalinin ( $O_2 \cdot^-$ ) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve moleküler oksijene ( $O_2$ ) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. Katalaz ise hidrojen peroksidi ( $H_2O_2$ ) suya ve oksijene parçalar (Carillon et al. 2013). Yapılan bir çalışmada *Spodoptera litura* larvalarında ağır metal (Kadmiyum ve Kurşun) toksisitesini belirlemek için glutatyon-S-transferaz (GST), katalaz (CAT), peroksidaz (POX), asit fosfotaz (ACP), alkalın fosfotaz (AKP), lipit peroksidaz (LPO) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri araştırılmış, kadmiyum ve kurşun maruziyetine bağlı olarak antioksidan enzimlerde önemli değişikliklerin olduğu, lipit peroksidasyon seviyesinin yükseldiği, böceğin yağ dokusundaki katalaz aktivitesinin yüksek ağır metal konsantrasyonlarında önemli derecede düştüğü tespit edilmiş ve bu azalmanın ağır metale karşı bir savunma mekanizması olarak geliştirildiği ifade edilmiştir (Suganya et al. 2016). Bizim çalışmamızda da benzer bir durum tespit edilmiştir, uygulanan tüm streptomisin konsantrasyonlarının tüm larval, pupal, ergin evredeki SOD aktivitelerini aynı zamanda larval ve pupal evredeki CAT aktivitelerini önemli derecede düşürmüş olması, böceğin denenen kimyasala karşı savunma mekanizması geliştirmiş olabileceği düşünülmektedir. Bir başka çalışmada ise, besinsel nikotine karşı toleransın bal arısı *Apis mellifera*'nın detoksifikasyon mekanizması üzerine etkisi incelenmiş, metabolomik ve proteomik analizler sonucunda arılarda nikotinin aktif detoksifikasyonunu, artan enerji yükü ile ayrıca antioksidan ve ısı şoku proteinlerinin yanıtları olarak ilişkilendirilmiştir (Rand et al. 2015). Yapılan bazı çalışmalarda da birçok böcek türü üzerinde farklı uygulamalar yapılmış ve tüm çalışmalarda antioksidan savunma sisteminden sorumlu enzimlerin aktivitelerinde değişiklik olduğu tespit edilmiştir. *Antheraea mylitta* 'nın diapoz pupalarının farklı dokularında (hemolenf ve yağ doku) inter-voltlatif [bivolit (BV) ve trivoltin (TV)] in oksidatif hasar ürünlerinden,  $H_2O_2$  miktarı ve antioksidan savunması ile ilişkisi araştırılmıştır. Sonuçlar yağ dokuda her iki voltine grubunda hidrojen peroksit miktarının ve lipit peroksidasyon seviyelerinin hemolenf kiyasla daha iyi enzimatik savunmaya sahip olduğunu gösterilmiştir. Yağ dokudaki antioksidan savunma mekanizmasının yüksek olması, bu dokuda yoğun lipit içeriğinin bulunmasına ve çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) bolluğuyla birlikte, ilgili dokunun yüksek metabolik hızına sahip olmasına bağlanmıştır (Sahoo et al. 2015). Kırmızı mason arılarının (*Osmia bicornis* L.) erkek ve dişi bireylerinin gelişiminde serbest radikalleri inaktive etme yeteneği araştırılmıştır. Ayrıca antioksidan enzimlerden, süperoksit dismutaz, katalaz, peroksidaz ve glutatyon S-

transferaz enzim aktiviteleri, glutasyon içeriği ve total antioksidan miktarları belirlenmiş ve cinsiyetler arasındaki önemli farklılıkların olduğu gözlenirken özellikle aktif dişilerde erkeklere göre katalaz aktivitesinde değişiklik olduğu tespit edilmiştir (Dmochowska-Ślęzak 2015). Bir başka çalışmada *Antheraea mylitta*'nın larval gelişimi sırasında oluşabilecek prooksidatif bozukluklar ve antioksidan savunma sistemi seviyeleri değerlendirilmiş, larva ontogenezi sırasında oksidatif tehdidin giderek azaldığı gösterilmiştir. Birinci evre larvalarında süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerinin yükseldiği ve bunun oksidatif bozukluğa bağlı olarak bir antioksidan cevap olduğu ileri sürülmüştür (Sahoo et al. 2015). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda denenen en yüksek streptomisin miktarındaki *D. melanogaster*'in ergin evresindeki MDA, PCO miktarındaki artışın reaktif oksijen türlerine bağlı olarak oluşan oksidatif stresten ileri gelmiş olduğu söylenebilir. Buna bağlı olarak da antioksidan enzimlerden olan SOD ve CAT enzim aktiviteleri üzerinde önemli değişikliklere neden olduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, 24 saat aralıklarla dört farklı grelin hormonu miktarı *Lymantria dispar* larvalarına enjekte edilmiş ve orta bağırsak dokusundaki Cu-Zn süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), bunların jel elektroforez profilleri, glutasyon redüktaz (GR), glutasyon miktarı (GSH) ve faz II biyotransformasyon enzimi glutasyon S-transferaz (GST) aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Grelini ile muamele edilen grupların hepsinde kontrol grubuna göre SOD, CAT, GR, GST aktivitelerinin ve GSH miktarlarının yükseldiği tespit edilmiştir (Mataruga et al. 2015). Ali et al. 2017 tarafından yapılan bir çalışmada ise lepidopter takımına ait bir böcek olan *Mythimna separata*'da sıcaklığa bağlı olarak bir takım fizyolojik stres tepkilerinin olduğu belirlenmiştir. Maruz kalınan termal stresin böcekte oksidatif hasara neden olarak hücre için zararlı olabilen reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu tespit etmek için farklı sıcaklık (5, 10, 15, 20, 30, 35, 40 ve 45 ° C) ve zaman (1, 4 ve 7 saat) aralıklarında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POX) ve glutasyon S-transferazlar (GSTs) ve toplam antioksidan kapasitesi (T-AOC) gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri üzerindeki etkileri tespit edilmiştir. Termal stres SOD, CAT ve GST aktivitelerinin önemli ölçüde yükselmesine neden olarak bu enzimlerin, oluşan ROT'ndeki artışın neden olduğu oksidatif hasara karşı savunma mekanizmalarına katkıda bulunduğuna işaret edilmiştir. Hamam böceğinin biyolojik kontrolünü sağlamak amacıyla yapılan bir çalışmada da entomopatojenik mantar olan *Hirsutella thompsonii* kullanılarak *Periplaneta americana*'nın mortalite ve antioksidan enzimler üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Mantarların conidial süspansiyonları 24 saat boyunca farklı şekillerde hamamböceğine verilmiş, hamam böceklerinin farklı dokularında *H. thompsonii*'nin hem mortalite hem de antioksidan enzimlerden CAT, SOD,

GPx aktivitesi üzerindeki olumlu etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. *H. thompsonii*'nin böceklerle karşı biyolojik mücadele için alternatif insektisit olarak büyük potansiyele sahip olduğu ileri sürülmüştür (Chaurasia et al. 2016).

Streptomisin, gram negatif ve gram pozitif bakterilerde 30S ribozomal alt üniteye bağlanarak protein sentezini inhibe etmektedir. Ribozomal konformasyondaki bu değişiklik protein sentezinde hatalı okumaya neden olmaktadır ve bir süre sonra protein sentezi sona ermektedir. Bu sürecin devamında sitoplazmik membranın parçalanmasıyla beraber hücre ölümü gerçekleşmektedir (Vinal and Conn 2017). *Drosophila* bağırsağında yaklaşık olarak 30 farklı türde mikroorganizma yaşamaktadır; bu mikroorganizmaların immün sisteme ve çeşitli fizyolojik süreçlere önemli katkıları bulunmaktadır. Bağırsak florasında bulunan gram negatif bakteriler böcek için hayati rol oynamaktadırlar. Bu mikroorganizmaların yokluğu veya flora dengesinin bozulması böceği mantar ve virüs enfeksiyonlarına karşı daha hassas hale getirdiği bilinmektedir (Rupal Mistry et al. 2016). Çalışmada kullanılan maddenin antibakteriyal bir etkiye sahip olması göz önünde bulundurulursa, yapay besin ortamına ilave edilen ve böcek tarafından oral yolla alınan streptomisinin yüksek konsantrasyonları, böceğin sindirim sistemine ulaşması ile bağırsak florasını etkilemiş ve reaktif oksijen ürünlerinin oluşumuna sebep olarak fizyolojik bir dengesizliğe yol açmış olabilir. Yapılan analizler sonucu PCO miktarı ve SOD – CAT enzim aktiviteleri arasında bir negatif korelasyon olduğu belirlenmiştir. PCO miktarındaki artış, bu fizyolojik dengesizlik ile oluşan reaktif oksijen ürünlerinin proteinler ile tepkimeye girerek karbonil bileşiklerini oluşturmuş; SOD ve CAT enzimlerinin yapısını bozarak reaktif oksijen ürünlerin ortadan kaldırarak bu enzimlerin aktivitelerini azaltmış olabilir. Bunun yanı sıra, elde edilen verilerde streptomisinin yüksek konsantrasyonlarının *D. melanogaster*'in yaşam parametrelerini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir.

Yapılan analizler sonucunda streptomisin konsantrasyonunun artmasıyla ilişkili olarak böceğin bazı yaşam parametrelerinin (3. evre larvaya ulaşma süresi, ergin olma süresi ve pup olma süresi) olumsuz yönde etkilendiği; streptomisin konsantrasyonları ile MDA miktarlarında bir negatif korelasyon görülürken, PCO miktarıyla bir pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. Bu veriler oral yolla alınan streptomisinin ikincil etkisinin böcekte oksidatif strese yol açarak oluşturduğu reaktif oksijen ürünlerinin proteinleri etkileyerek karbonil bileşiklerinin oluşumunu artırdığını fakat membran lipitlerini etkilemediğini göstermektedir.



Ayrıca SOD ve CAT enzimlerinin aktiviteleri arasında da pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir.





## BÖLÜM 5

### SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçları, denenen antibiyotiğin *Drosophila melanogaster*'in hem larval hem de larval evre sonrasındaki yaşama oranını, gelişme süresini ve ergin ömür uzunluğunu olumsuz yönde etkilediğini ortaya çıkartmıştır. Elde edilen sonuçlar aynı zamanda antibiyotiğin böceğin tüm gelişim evrelerindeki MDA, PCO miktarları ve antioksidan enzimlerden SOD ve CAT üzerinde de etkili olduğunu göstermiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar kimyasal mücadelede yeni hedef mekanizmalarının araştırılması yönünde odaklanılmıştır.

Hızla artan dünya nüfusuyla beraber global olarak yaşanan en büyük sorunlardan biri doğadan elde edilen gıdaların dramatik bir şekilde artan bu nüfusa göre yetersiz kalmasıdır. Bu noktada izlenen stratejiler arasında tarıma elverişsiz olan arazilerin çeşitli çalışmalarla tarıma verimli hale getirilmesi ve tarım zararlısı organizmalarla mücadele yöntemleri kritik bir rol oynamaktadır (Sudakin 2003, Tilman et al. 2002). Tarım zararlılarıyla mücadelede böcekler büyük bir önem teşkil etmektedir. Bu mücadelede kullanılan insektisitler ve çeşitli kimyasal maddeler, hedef olmayan organizmalara da olumsuz etkiler yapmaktadır ve bu etkiler, kontrol edilmeyen bir mekanizmaya dönüşerek insan sağlığı ve çevre açısından hayati kayıplara neden olmaktadır. Bu yüzden tarım zararlılarıyla mücadelede yarılanma ömrü uzun olan kimyasallar yerine antibiyotikler gibi doğadan elde edilebilen biyomoleküllerin kullanılması hedef organizmanın ekolojisi ve elde edilen mahsullerin verimliliği açısından hayati bir önem teşkil etmektedir (Gerwick and Sparks 2014, Copping and Deke 2007, Rimando and Duke 2006).

Yapılan bu çalışmamızda beslenme ve sindirim fiziyojisi araştırmalarında ve aynı zamanda tarımsal ürünlerin korunmasında çevreye duyarlı yöntemlerin geliştirilmesinde model organizma olarak kullanılan *D. melanogaster* üzerinde streptomisin kullanılabiliirliği gösterilmiştir. Ayrıca elde edilen veriler, yararlı böceklerin laboratuvar şartlarındaki kitle üretiminde kullanılan yapay besinlerdeki mikrobiyal kontaminasyonların önlenmesi ve fiziyojistik çalışmalar için steril böcek yetiştirilmesi amacıyla bu antibiyotiğin besindeki

miktarlarının iyi bir şekilde ayarlamasına ve kullanılmasına yönelik katkıda bulunmaktadır.



## KAYNAKLAR

**Adams E, Raffie M, Roets E and Hoogmartens J** (2000) Liquid chromatographic analysis of streptomycin sulfate. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 24(2): 219-226.

**Aebi H** (1984) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126.

**Ali A, Xue R D and Barnard D R** (2006) Effects of sublethal exposure to boric acid sugar bait on adult survival, host-seeking, blood feeding behavior, and reproduction of *Stegomyia albopicta*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22: 464-468.

**Alverson J and Cohen A C** (2002) Effect of antifungal agents on biological fitness of *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae). *Journal of economic entomology*, 95(2): 256-260.

**Bernardi E B, Haddad M L and Parra J R P** (2000) Comparison of artificial diets for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865)(Lep., Pyralidae) for *Trichogramma* mass production. *Revista Brasileira de Biologia*, 60(1): 45-52.

**Buyukguzel E** (2013) Protein oksidasyonun biyokimyasal ve moleküler mekanizması. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3(1): 40-51.

**Büyükgüzel E** (2009) Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion. *Journal of economic entomology*, 102(1): 152-159.

**Büyükgüzel E and Kalender Y** (2007) Penicillin-induced oxidative stress: effects on antioxidative response of midgut tissues in instars of *Galleria mellonella*. *Journal of economic entomology*, 100(5): 1533-1541.

**Büyükgüzel E and Kalender Y** (2008) *Galleria mellonella* (L.) survivorship, development and protein content in response to dietary antibiotics. *Journal of Entomological Science*, 43(1): 27-40.

**Büyükgüzel E and Kalender Y** (2009) Exposure to streptomycin alters oxidative and antioxidative response in larval midgut tissues of *Galleria mellonella*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 94(2): 112-118.

**Büyükgüzel E and Kayaoğlu S** (2014) Niklozamid'in *Galleria mellonella* L.(Lepidoptera: Pyralidae)'nın bazı biyolojik ve fizyolojik özelliklerine etkisi. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 38(1): 83-99.

**Büyükgüzel K and İçen E** (2004) Effects of gyrase inhibitors on the total protein content of *Pimpla turionellae* L. reared on an artificial diet. *Journal of Entomological Science*, 39(1): 108-116.

**Carillon J, Rouanet J M, Cristol J P and Brion R** (2013) Superoxide dismutase administration, a potential therapy against oxidative stress related diseases: several routes of

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

supplementation and proposal of an original mechanism of action. *Pharmaceutical research*, 30(11): 2718-2728.

**Carter A P, Clemons W M, Brodersen D E, Morgan-Warren R J, Wimberly B T and Ramakrishnan V** (2000) Functional insights from the structure of the 30S ribosomal subunit and its interactions with antibiotics. *Nature*, 407(6802): 340-348.

**Cervera A, Maymo A C, Martinez-Pardo R and Garcera M D** (2003) Antiooxidant enzymes in *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae) exposed to cadmium. *Environmental Entomology*, 32: 705-710.

**Chaurasia A, Lone Y and Gupta U S** (2016) Effect of entomopathogenic fungi, *Hirsutella thompsonii* on mortality and detoxification enzyme activity in *Periplaneta americana*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(1): 234-239.

**Copping L G and Duke S O** (2007) Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest management science*, 63(6): 524-554.

**Costa H S, Enneberry T J and Toscano N C** (1997) Effects of antibacterial materials on *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) oviposition, growth, survival, and sex ratio. *Journal of economic entomology*, 90(2): 333-339.

**Değer Y, Ertekin A, Değer S and Mert H** (2008) Lipid peroxidation and antioxidant potential of sheep liver infected naturally with distomatosis. *Türkiye Parazitol Derg*, 32(1): 23-26.

**Dettbarn W D, Milatovic D and Gupta R C** (2006) Oxidative stress in anticholinesterase-induced excitotoxicity. In *Toxicology of organophosphate and carbamate compounds*, 36: 511-532.

**Dmochowska-Ślęzak K, Giejdasz K, Fliszkiewicz M and Żółtowska K** (2015) Variations in antioxidant defense during the development of the solitary bee *Osmia bicornis*. *Apidologie*, 46(4): 432-444.

**Durmuş Y and Büyükgüzel K** (2008) Biological and immune response of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) to sodium tetraborate. *Journal of economic entomology*, 101(3): 777-783.

**Ekesi S, Maniania N K and Onu I** (1999) Effect of temperature and photoperiod on development and oviposition of the legume flower thrips. *Megalurothrips sjostedti*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 93: 149-155.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

**Erdem M and Büyükgüzel E** (2015) The effects of xanthotoxin on the biology and biochemistry of *Galleria mellonella* L.(LEPIDOPTERA: PYRALIDAE). *Archives of insect biochemistry and physiology*, 89(4): 193-203.

**Fenske R A, Kedan G, Lu C S, Fisker-Andersen J A and Curl C L** (2002) Assessment of

**Fitzpatrick G E and Dowell R V** (1981) Survival and emergence of citrus blackfly parasitoids after exposure to insecticides. *Environmental Entomology*, 10(5): 728-731.

**Fitzpatrick G E and Dowell R V** (1981) Survival and emergence of citrus blackfly parasitoids after exposure to insecticides. *Environmental Entomology*, 10(5): 728-731.

**Forge A and Schacht J** (2000) Aminoglycoside antibiotics. *Audiology and Neurotology*, 5(1): 3-22.

**Gerwick B C and Sparks T C** (2014) Natural products for pest control: an analysis of their role, value and future. *Pest management science*, 70(8): 1169-1185.

**Giordano G, Afsharinejad Z, Guizzetti M, Vitalone A, Kavanagh T J and Costa L G** (2007) Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. *Toxicology and applied pharmacology*, 219(2): 181-189.

**Graf B, Höpli H U and Höhn H** (2001) The apple sawfly, *Hoplocampa testudinea*: temperature effects on adult life- span and reproduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 98: 377-380.

**Graf E and Benz G** (1970) Toxicity of streptomycin and terramycin, and influence on growth and developmental time of *Drosophila melanogaster*. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 26(12): 1339-1341.

**Gromadski K B and Rodnina M V** (2004) Streptomycin interferes with conformational coupling between codon recognition and GTPase activation on the ribosome. *Nature structural & molecular biology*, 11(4): 316-322.

**Gündüz E A and Gülel A** (2004) Bracon hebetor (Say)(Hymenoptera: Braconidae) erginlerinde konukçu türünün ve besin tipinin ömür uzunluğuna etkisi. *Turkish Journal of Entomology*, 28(4).

**Habes D, Morakchi S, Aribi N, Farine J P and Soltani N** (2006) Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: Alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione-s-transferase activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 84: 17-24.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Helfand S L and Rogina B** (2000) Regulation of gene expression during aging. In *The Molecular Genetics of Aging*, 29: 67-80.
- Holzgrabe U, Nap C J, Kunz N and Almeling S** (2011) Identification and control of impurities in streptomycin sulfate by high-performance liquid chromatography coupled with mass detection and corona charged-aerosol detection. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 56(2): 271-279.
- Hyršl P, Büyükgüzel E and Büyükgüzel K** (2007) The effects of boric acid-induced oxidative stress on antioxidant enzymes and survivorship in *Galleria mellonella*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 66: 23-31.
- Hyršl P, Büyükgüzel E and Büyükgüzel K** (2008) Boric acid-induced effects on protein profiles of *G. mellonella* hemolymph and fat body, *Acta Biologica Hungarica*, 59: 281-288.
- Jain S K and Levine S N** (1995) Elevated lipid Peroxidation and vitamin E-quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 18: 337-341.
- Jana S and Deb J K** (2006) Molecular understanding of aminoglycoside action and resistance. *Applied microbiology and biotechnology*, 70(2): 140-150.
- Jennings B H** (2011) *Drosophila* – a versatile model in biology and medicine. *Materials Today*, 14(5): 190-195.
- Kim T H, Kwak J S, Lim J and Kim J** (2001) Effect of temperature on the development of *Tropidothorax cruciger* (Hemiptera: Lygaeidae) on *Cynanchum wilfordii*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 4(1): 55-58.
- Koç Y ve Gülel A** (2006) Fotoperiyot ve besin çeşidinin *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera. Drosophiladae)'un gelişim süresi, ömür uzunluğu, verim ve eşey oranına etkisi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21: 204-212.
- Kohanski M A, Dwyer D J and Collins J J** (2010) How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, 8(6): 423-435.
- Krishnan N and Kodrík D** (2006) Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): Are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress? *Journal of Insect Physiology*, 52: 11-20.
- Lauzière I, Setamou M, Legaspi J and Jones W** (2002) Effect of temperature on the life cycle of *Lydella jalisco* (Diptera: Tachinidae), a parasitoid of *Eoreuma loftini* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology*, 31(3): 432-437.



## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Lesch C, Goto A, Lindgren M, Bidla G, Dushay M S and Theopold U** (2007) A role for Hemolectin in coagulation and immunity in *Drosophila melanogaster*. *Developmental and Comparative Immunology*, 31: 1255-1263.
- Levesque K, Fortin R M and Mauffette Y** (2002) Temperature and food quality effects on growth, consumption and post-ingestive utilization efficiencies of the forest tent caterpillar *Malacosoma disstria* (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Bulletin of Entomological Research*, 92: 127-136.
- Levine R L, Williams J A, Stadtman E R and Shacter E** (1994) Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, 233: 346-357.
- Liu S S, Chen F Z and Zalucki M P** (2002) Development and survival of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) at constant and alternating temperatures. *Environmental Entomology*, 31(2): 221-231.
- Liu Z and Huang X** (2013) Lipid metabolism in *Drosophila*: development and disease. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 45(1): 44-50.
- Lowry O H, Rosebrough N L, Farr A L and Randall R J** (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent, *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265.
- Marklund S and Marklund G** (1974) 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.
- Men T T, Thanh D N V, Yamaguchi M, Suzuki T, Hattori G, Arie M, Huy T N and Kamei K** (2016). A *Drosophila* Model for Screening Antiobesity Agents. *BioMed research international*, 2016: 10 s.
- Miao X S, Bishay F, Chen M and Metcalfe C D** (2004) Occurrence of antimicrobials in the final effluents of wastewater treatment plants in Canada. *Environmental science & technology*, 38(13): 3533-3541.
- Miao X S, Bishay F, Chen M, and Metcalfe C D** (2004) Occurrence of antimicrobials in the final effluents of wastewater treatment plants in Canada. *Environmental science & technology*, 38(13): 3533-3541.
- Mistry R, Kounatidis I and Ligoxygakis P** (2016) Exploring interactions between pathogens and the *Drosophila* gut. *Developmental and Comparative Immunology*, 64: 3-10.
- organophosphorous pesticide exposures in the diets of preschool children in Washington State. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 12: 21-28.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

**Pajot P** (1976) Fluorescence of Proteins in 6-M Guanidine Hydrochloride. *European Journal of Biochemistry*, 63: 263-269.

**Pandey U B and Nichols C D** (2011) Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological reviews*, 63(2): 411-436.

**Pearson B and Raybould A F** (1998) The effects of antibiotics on the development of larvae and the possible role of bacterial load in caste determination and diapause in *Myrmica rubra* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 31: 77-90.

**Requena J R, Fu M X, Ahmed M U, Jenkins A J, Lyons T J and Thorpe S R** (1996) Lipoxidation products as biomarkers of oxidative damage to proteins during lipid peroxidation reactions. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 11(5): 48-53.

**Rimando A M and Duke S O** (2006) Natural products for pest management. *American Chemical Society*, 1: 2-21.

**Ruan Y M, Xu J and Liu S S** (2006) Effects of antibiotics on fitness of the B biotype and a non-B biotype of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Entomologia experimentalis et applicata*, 121(2): 159-166.

**Rudrapatna V A, Cagan R L and Das T K** (2012) *Drosophila* cancer models. *Developmental Dynamics*, 241(1): 107-118.

**Sæthre M G and Hofsvang T** (2002) Effect of temperature on oviposition behavior, fecundity, and fertility in two northern european populations of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, 31(5): 804-815.

**Sahu B D Kumar J M and Sistla R** (2015) Baicalein, a bioflavonoid, prevents cisplatin-induced acute kidney injury by up-regulating antioxidant defenses and down-regulating the MAPKs and NF- $\kappa$ B pathways. *PLoS One*, 10(7): e0134139.

**Seal D R, Stansly P A and Schuster D J** (2002) Influence of temperature and host on life history parameters of *Catolaccus hunteri* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Environmental Entomology*, 31(2): 354-360.

**Snedecor G S and Cochran W G** (1989) Statistical methods, 8th edn., Iowa State University Press, Ames, IA.

**SPSS Inc** (1997) User's manual, version 10. SPSS Inc., Chicago, IL.

**Stead D A** (2000) Current methodologies for the analysis of aminoglycosides. *Journal of Chromatography B*, 747(1), 69-93.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

**Sudakin D L and Trevathan W R** (2003) DEET: a review and update of safety and risk in the general population. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 41(6): 831-839.

**Suganya T, Varman M, Masjuki H H and Renganathan S** (2016) Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: a biorefinery approach. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55(2016): 909-941.

**Thompson J N** (1983) Selection pressures on phytophagous insects feeding on small host plants. *Oikos*, 40(3): 438-444.

**Tilman D, Cassman K G, Matson P A, Naylor R and Polasky S** (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418(6898): 671-677.

**Urbaneja A, Llácer E, Tomás Ó, Garrido A and Jacas J A** (1999). Effect of temperature on development and survival of *Cirrospilus* sp. near *lyncus* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Environmental Entomology*, 28(2): 339-344.

**Van Acker H and Coenye T** (2017) The Role of Reactive Oxygen Species in Antibiotic-Mediated Killing of Bacteria. *Trends in Microbiology*, 25(6): 456-466.

**Vinal K and Conn G L** (2017) Substrate Recognition and Modification by a Pathogen-Associated Aminoglycoside Resistance 16S rRNA Methyltransferase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(5): e00077-17.



## ÖZGEÇMİŞ

Volkan KELEŞ 1991 yılında Zonguldak'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini aynı ilde tamamladı. 2014 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun olduktan sonra 2015 yılında başladığı Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Programına devam etmektedir.

### **ADRES BİLGİLERİ:**

Adres: Bahçelievler Mah. Hacı Memiş Sok. Ayfer Apt. No: 12

Tel: (+90) 543 857 7176

E-posta: volkankeles@outlook.com