

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

**NIKLOZAMİDİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'İN BAZI BİYOLOJİK VE  
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GÖKÇE ÜSTÜNDAĞ**

**TEMMUZ 2017**

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

**NİKLOZAMİDİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'İN BAZI BİYOLOJİK VE  
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gökçe ÜSTÜNDAĞ**

**DANIŞMAN: Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL**

**ZONGULDAK**

**Temmuz 2017**

**KABUL:**

Gökçe ÜSTÜNDAĞ tarafından hazırlanan “Niklozamidin *Drosophila melanogaster*’in Bazı Biyolojik ve Biyokimyasal Özelliklerine Etkisi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 04/07/2017

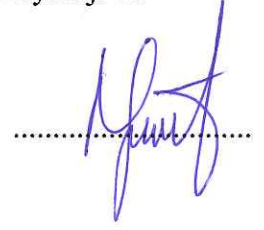
**Danışman:** Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

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.

.../.../2017



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.”*



Gökçe ÜSTÜNDAĞ

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### NİKLOZAMİDİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'İN BAZI BİYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

Gökçe ÜSTÜNDAĞ

Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

Temmuz 2017, 57 sayfa

*Drosophila melanogaster*'in yapay besin ortamına salisilanilid türevi bir antihelmintik olan niklozamidin belli oranlarda eklenerek beslendi; böceğin yaşama oranı, gelişme süresi ve ergin ömür uzunluğu üzerine etkisi incelendi. Ayrıca bu antihelmintik ilacın böceğin son evre larvaları (3. evre), pup ve erginlerinde oksidatif stresin önemli indikatörleri lipid peroksidasyonu ürünü malondialdehid (MDA), protein oksidasyonu ürünü protein karbonil (PCO) miktarları ve detoksifikasyon enzimi glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi üzerine etkisi belirlendi. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında, bu antihelmintik maddenin belirtilen konsantrasyonları 3.evreye ulaşan larva oranını, pup ve ergin olma oranını önemli derecede azaltmıştır. Kontrol besininde %  $94,00 \pm 1,00$  oranında 3.evre larvası elde edilmesine karşın en yüksek konsantrasyon olan 800 mg/L'de bu oran %  $14,00 \pm 1,73$ 'e düşmüştür. Kontrol besininde erginlerin  $42,08 \pm 0,50$ 'si yaşarken en yüksek konsantrasyon olan 800 mg/L'de bu süre  $2,30 \pm 0,15$  güne düşmüştür. Niklozamidin tüm konsantrasyonları *D. melanogaster*'in son evre larvalarında, pup evresinde ise 100 mg/L, 200 mg/L ve en yüksek niklozamid konsantrasyonlarında MDA miktarını kontrol grubuna göre önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir.

## ÖZET (devam ediyor)

Son evre larvalarında protein karbonil miktarı düşük niklozamid konsantrasyonlarında düşmüştür. 400 m/L niklozamid konsantrasyonu pup evresinde GST aktivitesini önemli derecede yükseltmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçlar, Niklozamidin oksidatif stres belirteçlerindeki artışa sebep olması *D. melanogaster*'in biyolojik özellikleri ve detoksifikasyon enzimi üzerine de olumsuz yönde etkisini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Drosophila melanogaster*, Oksidatif Stres, Niklozamid, Yaşama

**Bilim Kodu:** 401.02.00

## **ABSTRACT**

**M.Sc. Thesis**

### **THE EFFECT OF NICLOSAMIDE ON SOME BIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ASPECTS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER***

**Gökçe ÜSTÜNDAĞ**

**Bülent Ecevit University**

**Graduate School of Natural and Applied Sciences**

**Department of Molecular Biology**

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

**July 2017, 57 pages**

Niclosamide which is an antihelmintic derivative of salisilanilid; was added in certain amounts to artificial diets of *Drosophila melanogaster* (Meigen). Furthermore, effects on survival rate, development time and adult longevity of insects were examined. The effect of this antihelmintic antibiotic on important oxidative stress indicators; lipid peroxidation product, malondialdehyde (MDA) and protein oxidation products; protein carbonyl (PCO) contents and a detoxification enzyme, glutathione S-transferase (GST) activity in 3th-instar larvae, pupae and adult stage of the insect were also investigated. Compared with control diet, the tested concentrations of niclosamide significantly decreased survivorship in 3th-instars, pupal and adult stages of the insect. The control diet produced  $94.0 \pm 1.0$  % of 3th stage larvae whereas in the highest concentration (800 mg/L), this ratio decreased to  $14.00 \pm 1.73$  %. While  $42.08 \pm 0.50$  % of the adults are survived in the control diet, longevity decreased to  $2.30 \pm 0.15$  days in the highest concentration.

## **ABSTRACT (continued)**

All concentration of niclosamide resulted in increased MDA contents in last stage larvae of *D. melanogaster* and concentrations of 100, 200 and 800 mg/L niclosamide increased pupal MDA content in comparison to control. At low concentrations of niclosamide, protein carbonyl decreased at last stage of larvae. The diet with 400 mg/L niclosamide concentration significantly increased GST activity in pupal stage. The results of this work indicated that the negative effects of niclosamide on biological characteristics of *D. melanogaster* is due to increase of oxidative stress and crippled detoxification capacity of the insect.

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, Oxidative Stress, Niclosamide, Survival

**Science Code:** 401.02.00



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamda her türlü bilgi, deneyim ve tecrübelerini benden esirgemeyen, hayatımın her alanında örnek alacağım değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL'e içtenlikle teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca her an yanımda olan maddi manevi her türlü zorluğu beraber aştığım çalışma arkadaşım: Uzm. Moleküler Biyolog Cihat ÇELİK, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Lisans öğrencileri: Selim Emre ERGÜL, Çağrı ALKAN ve ayrıca tezimde kullandığım resimleri hazırlamama yardım eden Feyza YAZICI'ya teşekkür ederim.

Eğitim-öğretim hayatım boyunca her durumda arkamda olan ve benden maddi manevi desteklerini esirgemeyen: annem Ayşe ÜSTÜNDAĞ, manevi annem Zuhal ŞAHİN, abim Erol ŞAHİN ve dostum Neslihan SEYREKBASAN' a sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışmayı (Proje No: 2015-50737594-01) destekleyen Bülent Ecevit Üniversitesi Rektörlüğüne, Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne (BAP) teşekkür ederim.



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL .....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	v
TEŞEKKÜR .....	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
BÖLÜM 1 GİRİŞ .....	1
BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER .....	7
2.1 <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> .....	7
2.1.1 <i>Drosophila Melanogaster</i> ' in Hayat Döngüsü.....	8
2.1.1.1 Embriyonik Gelişme .....	10
2.1.1.1.1 Yumurta ve Yumurta Oluşumu .....	10
2.1.1.2 Post Embriyonal Gelişme.....	11
2.1.1.2.1 Larva .....	11
2.1.1.2.2 Pupa Evresi .....	11
2.1.1.2.3 Ergin Evresi .....	12
2.1.2 <i>D. Melanogaster</i> 'in Bazı Morfolojik ve Kalıtsal Özellikleri .....	13
2.1.3 <i>D. Melanogaster</i> 'in Yaşama Gelişim ve Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler... 14	
2.1.3.1 Sıcaklık.....	14
2.1.3.2 Birey Sayısı .....	14
2.1.3.3 Nem .....	15

## İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

### Sayfa

BÖLÜM 3 MATERYAL METOD .....	17
3.1 <i>D. MELANOGASTER</i> KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI VE DENEY ORTAMI .....	17
3.2 BESİYERİNİN HAZIRLANMASI.....	17
3.3 NİKLOZAMİDİN DENEYLERDE KULLANILMASI.....	18
3.4 <i>D. MELANOGASTER</i> 'İN YAŞAMA ORANI VE GELİŞİM SÜRESİ İLE İLGİLİ NİKLOZAMİDİN İLE YAPILAN DENEYLER.....	18
3.5 <i>D. MELANOGASTER</i> 'İN ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ YAPILAN DENEYLER .....	19
3.6 BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	19
3.6.1 MDA Miktarının Ölçülmesi.....	20
3.6.2 PCO Miktarının Ölçülmesi .....	20
3.6.3 GST Aktivitesinin Ölçülmesi.....	20
3.6.4 Toplam Protein Miktarının Ölçülmesi .....	21
3.7 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	21
BÖLÜM 4 ARAŞTIRMA BULGULARI.....	23
4.1 NİKLOZAMİDİN <i>D. MELANOGASTER</i> LARVALARININ YAŞAMA ORANI VE GELİŞME SÜRESİNE ETKİSİ.....	23
4.2 NİKLOZAMİDİN <i>D. MELANOGASTER</i> ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİSİ .....	28
4.3 NİKLOZAMİDİN FARKLI KONSANTRASYONLARI İLE YETİŞTİRİLEN <i>D.</i> <i>MELANOGASTER</i> 'İN FARKLI GELİŞİM EVRELERİNDE MDA, PCO, GST AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ.....	31
BÖLÜM 5 TARTIŞMA.....	43
BÖLÜM 6 SONUÇ .....	49
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ .....	57

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Niklozamidin kimyasal yapısı.....	4
Şekil 1.2 Niklozamidin üç boyutlu yapısı .....	4
Şekil 2.1 <i>Drosophila melanogaster</i> .....	7
Şekil 2.2 <i>D. melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü. a-) yumurta, b-) 3. evre larva, c-) pup evresi- d-) ergin evre (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Hayvan Fizyolojisi - Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir. Fotoğraf: Feyza YAZICI 2017). 9	9
Şekil 2.3 <i>D. melanogaster</i> 'in yumurtası. (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Hayvan Fizyolojisi - Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir. Fotoğraf: Feyza YAZICI 2017).....	10
Şekil 2.4 <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larvası. (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Hayvan Fizyolojisi – Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir. Fotoğraf: Feyza YAZICI 2017).....	11
Şekil 2.5 <i>D. melanogaster</i> 'in pupu. (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Hayvan Fizyolojisi - Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir. Fotoğraf: Feyza YAZICI 2017). .....	12
Şekil 2.6 <i>D. melanogaster</i> 'in ergini. (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Hayvan Fizyolojisi - Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir. Fotoğraf: Feyza YAZICI 2017). .....	13
Şekil 4.1 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larva, pup ve ergin bireylerinin yaşama oranına etkisi.....	23
Şekil 4.2 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larvalarının yaşama oranına etkisi.....	24
Şekil 4.3 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in puplarının yaşama oranına etkisi. ....	24
Şekil 4.4 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in ergin bireylerinin yaşama oranına etkisi. ....	25
Şekil 4.5 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larva, pup ve ergin bireylerinin gelişme süresine etkisi. ....	26
Şekil 4.6 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larvalarının gelişme süresine etkisi. ....	26
Şekil 4.7 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in puplarının gelişme süresine etkisi.....	27

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.8 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in ergin bireylerinin gelişme süresine etkisi. ....	27
Şekil 4.9 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in ergin bireylerinin ömür uzunluğuna etkisi. ....	28
Şekil 4.10 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larva, pup ve ergin bireylerinin MDA miktarına etkisi. ....	31
Şekil 4.11 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larvalarının MDA miktarına etkisi. ....	32
Şekil 4.12 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in puplarının MDA miktarına etkisi. ....	32
Şekil 4.13 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in ergin bireylerinin MDA miktarına etkisi. ....	33
Şekil 4.14 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larva, pup ve ergin bireylerinin PCO miktarına etkisi. ....	34
Şekil 4.15 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larvalarının PCO miktarına etkisi. ....	34
Şekil 4.16 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in puplarının PCO miktarına etkisi. ....	35
Şekil 4.17 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in ergin bireylerinin PCO miktarına etkisi. ....	36
Şekil 4.18 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larva, pup ve ergin bireylerinin GST aktivitesine etkisi. ....	36
Şekil 4.21 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in ergin bireylerinin GST aktivitesine etkisi. ....	39
Şekil 4.20 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in puplarının GST aktivitesine etkisi. ....	38
Şekil 4.19 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larvalarının GST aktivitesine etkisi. ....	37

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 <i>D. melanogaster</i> 'in bazı kalıtsal özellikleri. ....	14
Çizelge 4.1 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> larvalarının yaşama oranı ve gelişme süresi üzerine etkisi.....	29
Çizelge 4.2 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> ergin ömür uzunluğu üzerine etkisi. ....	30
Çizelge 4.3 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> son evre larvalarındaki MDA, protein karbonil miktarı ve GST aktivitesi üzerine etkisi. ....	40
Çizelge 4.4 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> pup evresindeki MDA, protein karbonil miktarı ve GST aktivitesi üzerine etkisi.....	41
Çizelge 4.5 Niklozamidin <i>D. melanogaster</i> ergin evresindeki MDA, protein karbonil miktarı ve GST aktivitesi üzerine etkisi. ....	42





## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### SİMGELER

°C	: Santigrad Derece
%	: Yüzde
g	: Gram
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
M	: Molar
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
nmol/mg protein	: Nanomol/miligram protein
sn	: Saniye
µl	: Mikrolitre
µmol/mg protein/dk	: Mikromol/miligram protein/dakika

### KISALTMALAR

ANOVA	: Analysis of variance
BHT	: Butillenmiş hidroksi toluen
BSA	: Sığır serum albumin
CAT	: Katalaz
CDNB	: 1-Chloro-2,4-Dinitrobenzen

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

DNPH	: 2,4-Dinitrofenilhidrazin
DTT	: Ditiyotreitol
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen Peroksit
LSD	: Least Significant Difference (En küçük önem farkı)
MDA	: Malondialdehid
PCO	: Protein Karbonil
PMSF	: Fenilmetilsülfonil Florür
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TBA	: Tiyobarbitürik Asit
TCA	: Triklorasetik Asit
$\chi^2$	: Ki Kare (Chi square)

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Günümüzde, besinsel öneme sahip bitkilerin gelişimini ve verimini düşüren tarımsal ilaçlar yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu ilaçlar, tarımsal alanlarda böcek popülasyonlarının kontrol edilmesinde çok etkin bir yöntem olmasına karşın bilinçsizce kullanılmaları sonucu zararlı birçok böcek türünün bu tür ilaçlara karşı direnç oluşturulmasına sebep olmaktadır (Özparlak 2003).

Zirai mücadele araştırma ve uygulamalarında kullanılan kimyasal maddelerin her biri pestisitlerdir. İnsanların besin kaynaklarına zarar veren, hastalık yapan böcekler, bitki patojenleri, mikroorganizmalar ve yabancı otlar gibi zararlı organizmaları engellemek ya da kontrol altına almak için kullanılırlar (Güler ve Çobanoğlu 1997).

Modern tarımın tamamlayıcılardan biri olan pestisitler, toksik ve biyosidal maddeler olarak bilinmektedir. Havada, suda, toprakta, yağmurda ve yüzeysel sularda bulunan pestisitlerden bütün canlılar etkilenmektedir (Güler ve Çobanoğlu 1997).

Pestisitlerin %75'i tarımsal alanlarda kullanılmaktadır. Pestisitler, böceklere karşı kullanılanlar (insektisit), yabancı otlara karşı kullanılanlar (herbisitler), mantarlara karşı kullanılanlar (fungusitler), yumuşakçalara karşı kullanılanlar (mollusitler), kemiricilere karşı kullanılanlar (rodendisitler), uyuz böcekleri ve parazitlere karşı kullanılanlar (akarazitler) şeklinde isimlendirilir (Güler ve Çobanoğlu 1997).

Bu tür pestisitlerin bir kısmı toprakta, bitki veya hayvan bünyesinde ya doğrudan doğruya ya da oluşan daha toksik metabolitler halinde birikerek uzun süre vücutta kalabilmektedir. Kimyasal mücadelede kullanılan maddelerin özellikle insektisit gruplarının ekosistem üzerindeki kötü etkilerinden dolayı zararlılarla mücadelede değişik arayışlara gidilmiş ve bu maddelere karşı koruyucu önlemler alınmaya başlanmıştır (Haynes 1988).

Spesifik olmamalarından dolayı insektisitler sadece hedef organizmaları değil, omurgalı veya omurgasız organizmaları da etkilemektedir (Güler ve Çobanoğlu 1997).

Etki sürelerinin daha uzun olması sebebiyle zirai mücadelede en çok kullanılan kimyasallar insektisitlerdir. Kimyasal insektisitlerin bir kısmı hedef organizmanın sinir sistemleri üzerine toksik etki gösteren nörotoksikanlardır. İsektisitlerin nörotoksik etkilerini sinir sisteminde sodyum, potasyum, klorür iyonlarının membran transportunu interfere ederek veya spesifik enzimleri inhibe ederek gösterir (Güler ve Çobanoğlu 1997).

Böceklerin kimyasal mücadelesinde; Organoklorinler, Pyretroidler, Karbamatlar, Organofosfatlar olarak sınıflandırılan 4 çeşit insektisit grubu vardır (Ishaaya 2000). Bu insektisit grupları arasında organofosforlu insektisit grubu en yaygın olarak kullanılan kimyasal maddedir.

İsektisitler böceklerin metabolik faaliyetlerinde değişikliklere, enzim aktivitelerinde birtakım bozukluklara, davranış bozukluklarına, beslenme alışkanlıklarında değişikliklere, verimli bireyler elde edilmesini engelleyerek üreme bozukluklarına sebep olmaktadır (Haynes 1988).

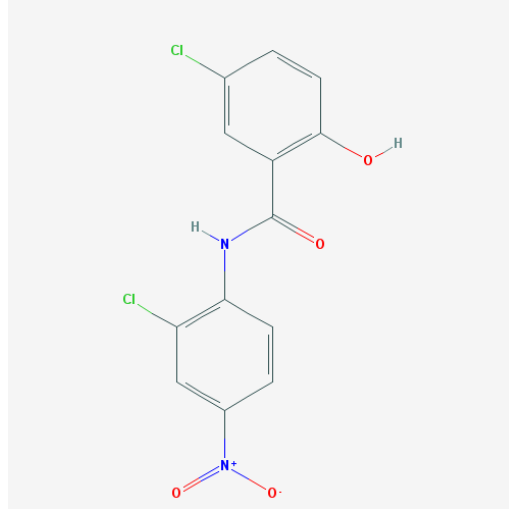
Günümüzde kimyasal maddelerin yerini doğada var olan, zararlıların doğal düşmanları parazitoit, predatör ve entomopatojenler gibi biyolojik mücadele etmenleri almaya başlanmıştır. Bunların dışında çevreye daha az toksik etkisi bulunan maddelerin araştırılması veya farklı mücadele yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik özellikle son yıllarda oldukça fazla çalışma yapılmıştır (Haynes 1988).

Son yıllarda yapılan çalışmalar ile klinik olarak önemli antimikrobiyal antibiyotiklerin zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılmaya başlanmış ve önemli sonuçlar elde edilmiştir. Bu yüzden antibiyotik insektisitlere olan ilgi artmış ve son yıllarda bu konudaki çalışmalar da yoğunluk kazanmıştır. Antibakteriyel, antifungal ve antiviral antibiyotikler böceklerin biyolojisi üzerinde olumsuz etkiler göstermelerine karşın böceklerdeki etki mekanizmaları tam anlamıyla olarak ortaya çıkarılamamış olup, antihelmintik ilaçların böcekler üzerindeki etkisi ise bilinmemektedir.

Bazı antiviral antibiyotiklerin böcek hücreleri üzerinde öldürücü etkiye sahip olduğunun gösterilmesi ilgiyi antibiyotiklerin böceklerdeki etki mekanizmasını ortaya çıkarmaya yönelik çalışmalara yöneltmiştir. Antibiyotikler daha önceki çalışmalarda böceklerin yetiştirildiği yapay besin ortamına ilave edilerek mikrobiyal kontaminasyonları önlemek, besin alımını uyarmak, böcekler üzerindeki etkilerini tespit etmek amacıyla kullanılmıştır (Liles 1958, Ouye 1962, Vail et al. 1968, Singh and House 1970, Xie et al. 1986, Grenier and Liu 1990, Pearson and Raybould 1998, Büyükgüzel 2001, Büyükgüzel and Yazgan 2002, Alverson and Cohen 2002, Inglis and Cohen 2004). Yapılan son çalışmalar bu kullanılan antibiyotiklerin böcekler üzerinde oksidatif etkiye neden olduğu çeşitli biyokimyasal analizler ile gösterilmiştir. Büyükgüzel and Kalender (2007, 2009) tarafından böceklerde transaminazlar ALT ve AST enzimlerinin aktivitelerindeki değişimler antibiyotik toksisitesinin şiddetini gösteren bir belirteçler olduğunu belirtilmiştir. Bir başka çalışmada ise çeşitli antibiyotikleri içeren ve doğal besinler ile beslenen *Philosamia ricini* (Boisd) larvalarında transaminaz enzimlerinin aktifliğindeki artışın, böcek metabolizmasının bozulduğunun bir göstergesi olduğu belirtilmiştir (Eid et al. 1989).

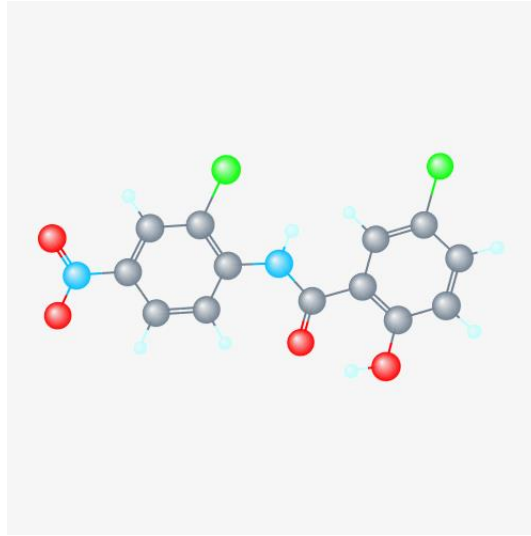
Antihelmintik ilaçlar insan ve hayvanlarda sindirim kanalı, solunum yolları, karaciğer ve benzeri organlardaki parazitler üzerinde etkilidir. Antihelmintikler iç parazitleri ya konakçının vücudunda öldürerek veya sadece vücut dışına atılmalarını sağlayarak hastayı parazitlerden arındırırlar (Bonomo and Salata 1996, Grover et al. 2001, Balcıoğlu 2003).

İlk defa 1959 yılında Schraufstaater ve Gömert tarafından hazırlanan niklozamid, insan ve hayvanda sestodlar tarafından meydana gelen enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ilaçların etken maddeleri arasında yer almaktadır (Öztop 1996).



**Şekil 1.1** Niklozamidin kimyasal yapısı (URL-1 2017).

Kimyasal yapısı şekil 1.1’de, üç boyutlu yapısı şekil 1.2’de verilen niklozamidin kapalı formülü  $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$ , moleküler ağırlığı 327.117 g/mol’dür. Niklozamidin kimyasal formülü ise 5-chloro-N-(2-chloro-4-nitrophenyl)-2-hydroxybenzamide’dir (URL-1 2017).



**Şekil 1.2** Niklozamidin üç boyutlu yapısı (URL-1 2017).

Niklozamid parazitlerin mitokondrisinde oksidatif fosforilasyonu inhibe ederek etkisini gösterirler. Ayrıca birçok helmantik paraziti ilgilendiren anaerobik metabolizmayı da inhibe edebilirler. Antihelmantik ilaçlar parazitlerde başlıca enerji metabolizmasını bozarak nöromusküler iletimi etkiler.

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

Niklozamid hemen hemen zehirsiz bir madde olup tedavi dozunun (50-100 mg / kg) 40 katı miktarda verilen evcil hayvanlarda toksisitesi görülmemiştir (Booth and Mc Donald 1982). Sindirim kanalından son derece sınırlı ölçüde Emilmesinin bu ölçüde güvenli olmasında katkısı vardır (Şanlı ve Kaya 1994).

Parazit bulaşan hayvanlar tarafından dışkı ile dış ortama bırakılan antiparaziter ilaçların dışkının parçalanması ve dağılımı sonucunda besin zinciri aracılığıyla hedef olmayan bazı canlıların gelişimi ve yaşama oranını olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (Schmidt 1983, Halley et al. 1989). Örneğin Macri et al. (1988) bakteriyel ve protozoal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan furazolidonun sivrisinek türü *Culex pipiens molestus* larvalarına oldukça toksik etki yaptığını göstermiştir. Bu bilgilerin ışığında hayvanlarda antihelmintik olarak kullanılan kimyasalların zararlı böceklerin kimyasal mücadelesinde de seçici olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Diğer taraftan *G. mellonella*'nın da dahil olduğu bazı böceklerin klinik kullanıma sahip antiparaziter, antibakteriyel ve antifungal ilaçların etkisini denemede model olarak kullanıldığı ayrıca bilinen bir durumdur. Diğer taraftan, Lepidoptera takımına ait bir böcek türü olan *Spodoptera eridania* bazı antimikrobiyal ajanların antioksidan enzimlerin değişimlerini yansıtan prooksidan etkilerini araştırmak için in vivo bir model olarak kullanılmaktadır (Schmidt 1983, Halley et al. 1989).

Bu tez çalışmasında *Drosophila melanogaster* model organizma olarak kullanılmıştır. Çalışma tarım zararlısı böceklerle mücadelede niklozamidin insektisit olarak kullanılabilirliğinin belirlenebilmesi için önem arz etmektedir. Bu sebeple yapılan çalışmada yapay besine eklenen niklozamid etkisinin belirlenmesinde *Drosophila melanogaster* (Meigen)'in yumurtadan yeni çıkmış larvaları kullanılmış olup böceğin larvaları bu maddeyi içeren besinlerde ergin evreye kadar yetiştirilmiştir.

Niklozamidin böceğin yaşama, gelişme ve ergin biyolojik özellikleri ile 3. evre larva, pup ve ergin evrelerindeki lipit peroksidasyon miktarı, protein oksidasyonu düzeyi ve detoksifikasyon enzimi Glutatyon-S-Transferaz aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır.



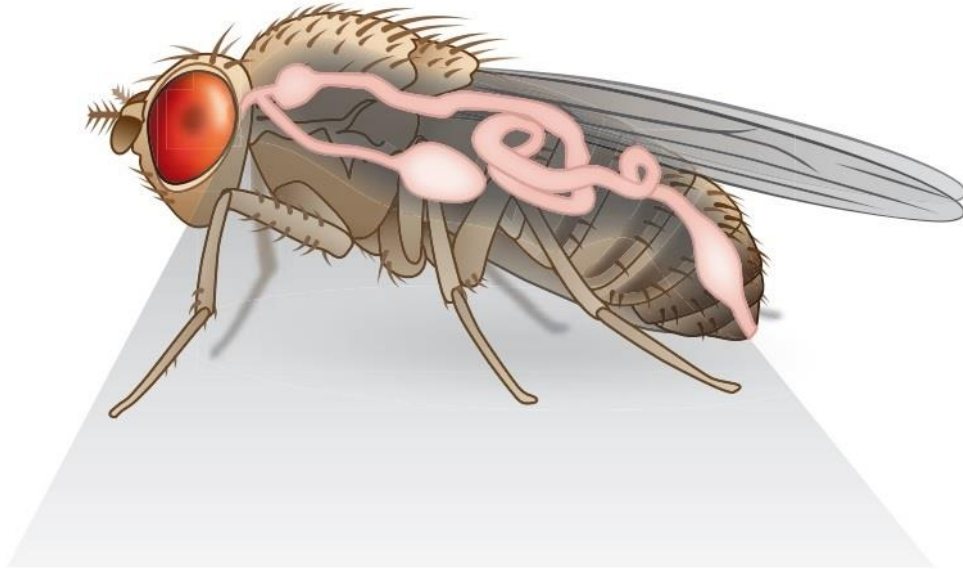


## BÖLÜM 2

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1 *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Meyve sineği olarak da bilinen *Drosophila* (nem seven) adı, ilk olarak İsveçli entomolog Carl Frederick Fallén tarafından 1823 yılında verilmiştir (Roberts 2006). Günümüzde de pek çok genetik çalışmada kullanılan *Drosophila melanogaster* ilk defa 1910 yılında Thomas Morgan tarafından genetik dünyasına tanıtılmıştır (Türel 2013). (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 *Drosophila melanogaster* (Buchon et al. 2013).

Laboratuvar ortamında kolaylıkla kültüre alınması, yaşam döngülerinin kısa olması, bir dölde çok sayıda yavru vermeleri gibi özellikleri nedeniyle *Drosophila* cinsine ait pek çok türü genetik ve biyokimyasal çalışmalarda kullanılan model organizma haline getirmiştir (Ashburner 1989).

*D. melanogaster* ökaryotik bir canlı olup, insan ve diğer ökaryotik organizmalarla korunmuş gen bölgelerine sahiptirler, genel hücre metabolizması bakımından da benzerdirler. Bu sebeple yaygın olarak kullanılan bazı kimyasalların biyolojik etkisini test etmek için uygun bir deney hayvanıdır (Doane 1967, Çakır ve Sarıkaya 2004, Sarıkaya et al. 2010).

Yapılan bir çalışmada bazı organik fosfatlı bileşiklerin (metil paratyon, diklorvos, vb.) ve gıda boyalarının farklı konsantrasyonlarının *D. melanogaster*'in yaşama yüzdesi üzerine etkisi incelenmiş ve bu maddelerin toksik etkileri saptanmıştır (Çakır ve Sarıkaya 2004, Sarıkaya et al. 2010).

Hayvanlar aleminin Insecta sınıfı, Diptera takımı, Drosophilidae familyasına ait olan *D. melanogaster* ekşi meyveler üzerinde geliştiği için meyve sineği olarak da adlandırılır (Özata 2006).

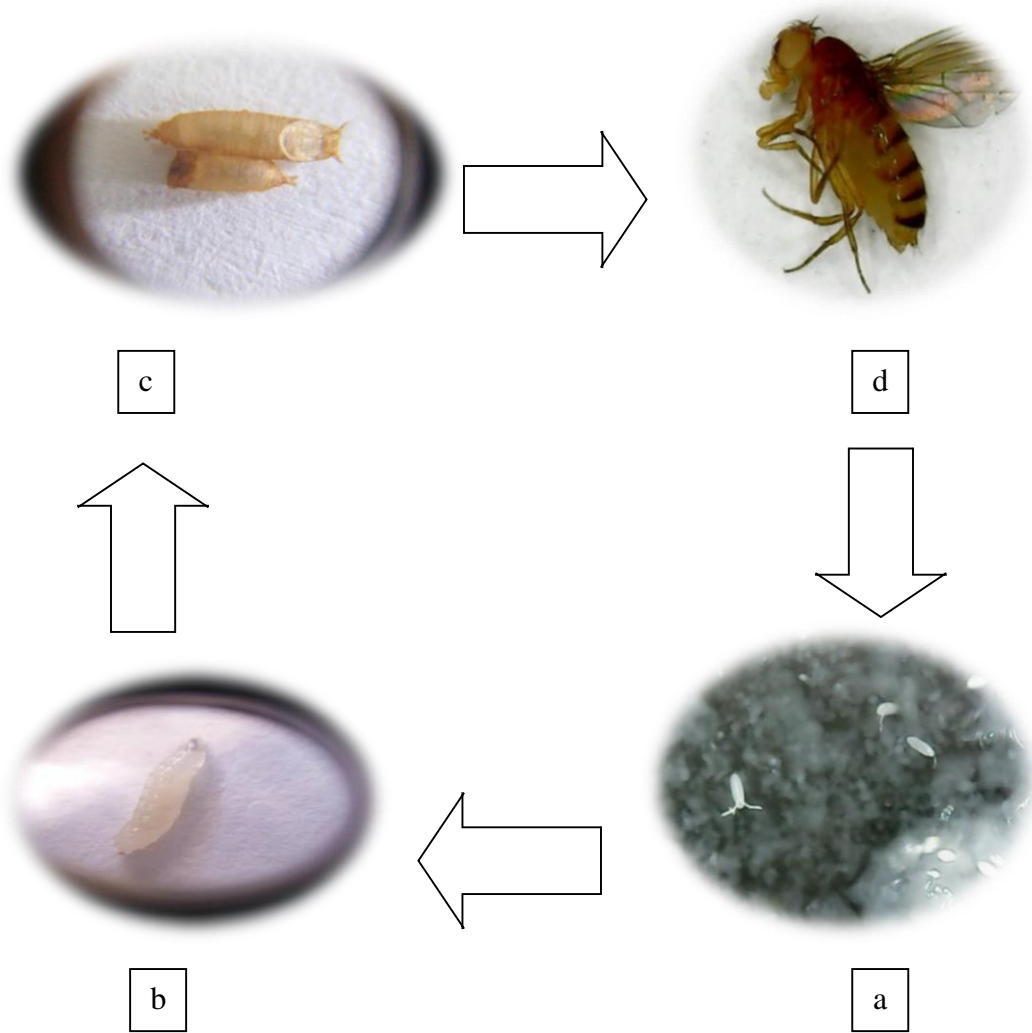
*Drosophila melanogaster*'in taksonomideki yeri aşağıda belirtildiği gibidir:

Regnum	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Subphylum	: Mandibulata-Antennata
Clasis	: Insecta-Hexapoda
Subclasis	: Pterygota
Süperordo	: Mecopteroidea
Ordo	: Diptera
Subordo	: Brachycera
Familie	: Drosophilidae
Genus	: <i>Drosophila</i>
Species	: <i>Drosophila melanogaster</i>

### **2.1.1 *Drosophila Melanogaster*' in Hayat Döngüsü**

*D. melanogaster* ökaryotik canlı grubunun içerisinde yer almaktadır. *Drosophila*'da gelişim iki dönemde meydana gelir. Gelişimin ilk evresi olan embriyonik dönem, yumurtanın döllenmesi ile başlar ve genç larvanın yumurtadan çıkmasına kadar devam eder. Embriyonik gelişmeler

yumurta zarları içinde meydana gelir. Gelişimin ikinci evresi post emriyonik dönemdir. Genç larvalarının yumurtadan çıktığı andan ergin hale gelinceye kadar geçirdiği tüm değişikliklerdir (Bownes 1975). Aşağıdaki şekilde böceğin hayat siklusu gösterilmiştir (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2** *D. melanogaster*'in yaşam döngüsü. a-) yumurta, b-) 3. evre larva, c-) pupa evresi- d-) ergin evre (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Hayvan Fizyolojisi - Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir. Fotoğraf: Feyza YAZICI 2017).

*D. melanogaster* hayat devri bulunduğu ortamdaki sıcaklık değişikliklerine göre farklılık göstermektedir. 25 °C'de optimum şartlarda yumurtanın ergin hale gelebilme süresi 8-10 gün arasında değişmektedir. *D. melanogaster* holometabol (tam metamorfozlu) bir böcek olup hayat döngüsü yumurta, larva, pupa ve ergin dönemlerden meydana gelmektedir (Demirsoy 2003).

### 2.1.1.1 Embriyonik Gelişme

#### 2.1.1.1.1 Yumurta ve Yumurta Oluşumu

*D. melanogaster* dişileri normal şartlarda 2 adet ovaryuma sahiptir. Ovaryum 40 ovariolden meydana gelir ve oogenez bu ovariooller içerisinde meydana gelir. 16 hücrelik bir yığın olacak şekilde bölünen diploit bir oogonium ile oogenez başlar (Graf et al. 1992, Kalthoff 1996). Yığın genişledikçe 1 oosit ve 15 yardımcı hücreden meydana gelen yumurta çemberi oluşur (Browder et al. 1991, Fulga and Rorth 2002). Oositin büyüme aşamasında besin sağlayan yardımcı hücreler büyümenin sonunda tahrip olur. Oosit birkaç gün içinde olgunlaşır ve hemen ardından metafaz 1 evresine kadar devam eden mayoz başlar. Döllenme gerçekleştikten hemen sonra mayoz tamamlanır, yumurta bırakılır (Graf et al. 1992).

*D. melanogaster*'in yumurtaları 0,5 mm uzunluğunda oval ve beyaz renklidir (Şekil 2.3). Yumurtanın besin içine batmasını engelleyen anterior ucundan dorsalden uzanan bir çift filament bulunmaktadır (Demirsoy 2003). Çiftleşmeden hemen sonra bırakılan *D. melanogaster* yumurtaları optimum sıcaklıkta yaklaşık 24 saat içinde açılır ve larva çıkar (Graf et al. 1992).



**Şekil 2.3** *D. melanogaster*'in yumurtası. (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Hayvan Fizyolojisi - Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir. Fotoğraf: Feyza YAZICI 2017).

## 2.1.1.2 Post Embriyonal Gelişme

### 2.1.1.2.1 Larva

*D. melanogaster*'in larvaları beyaz renkli olup ağız parçaları siyahtır ve kolayca gözlemlenebilir (Şekil 2.4). Larvalar beslenmeleri sırasında besin içine kanal açar ve hareket ederler. Pupa olana kadar iki kez deri değiştirirler (Demirsoy 2003).



**Şekil 2.4** *D. melanogaster*'in 3. evre larvası. (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Hayvan Fizyolojisi – Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir. Fotoğraf: Feyza YAZICI 2017).

Larvalarda 12 segmentten bulunurken bunlar 1 baş, 3 toraks, 8 abdomenden oluşur. Vücut duvarları dıştan içe doğru ekzokutikula, endokutikula, epidermis tabakalarından meydana gelir ve oldukça esnektir (Graf et al. 1992). Larvaların puplaşması için 0.3 mg'lik eşik ağırlığı geçmesi gerekir. Eşik ağırlığı geçen larvalar sarı, kahverengi bir renk alarak besiyerini terk ederek kuru bir yere geçer ve pupa halini alırlar (Ashburner 1989).

### 2.1.1.2.2 Pupa Evresi

Pup evresi hareketsizdir (Şekil 2.5). Beslenme gerçekleşmez ve pup sarı kahverengi bir renktedir. Kanatları, gözleri ve ayakları pupa evresindeyken fark edilebilir. 25 °C'de optimum şartlarda bu evre 4 gün sürmektedir (Demirsoy 2003).



**Şekil 2.5** *D. melanogaster*'in pupu. (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Hayvan Fizyolojisi - Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir. Fotoğraf: Feyza YAZICI 2017).

Puparium denilen sertleşmiş kütikuladan oluşan larvalar örtü ile çevrelenmiş haldedir. İlk oluştuğunda yumuşak ve beyaz olan puparium larva gelişiminin son saatinde eksikteroid hormonunun artışı ile meydana gelir (Ashburner 1989).

*D. melanogaster* metamorfozu pupa içerisinde gerçekleştirir. Tükürük bezleri, yağ doku, bağırsak ve kaslar ayrışırken histoblastlar oluşur (Graf et al. 1992).

### **2.1.1.2.3 Ergin Evresi**

Yumurta oluşumundan sonra ergin evreye geçiş yaklaşık 9-11 gün sürer (Şekil 2.6). *D. melanogaster* erginleri pupa kılıfının anteriörünü delerek çıkarlar. Pupadan yeni çıkan erginler açık renkli ve yumuşaktırlar, kanatları ise henüz açılmamıştır. Bu durum birkaç saat sonra değişir ve kanatlar açılarak pup ergin hale geçer. Ömür uzunlukları 25 °C'de 40-60 gün arasında değişmektedir. Pupadan çıkan dişi bireyler yaklaşık 5 saat sonra çiftleşebilirler ve 2-3 günde yumurta bırakmaya başlar. Dişilerin yumurta bırakması çiftleşmeye bağlı değildir fakat döllenen yumurtalar açılmaz (Demirsoy 2003).



**Şekil 2.6** *D. melanogaster*'in ergini. (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Hayvan Fizyolojisi - Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir. Fotoğraf: Feyza YAZICI 2017).

### **2.1.2 *D. Melanogaster*'in Bazı Morfolojik ve Kalıtsal Özellikleri**

*D. melanogaster* ergin bireyleri baş, toraks ve abdomen olmak üzere üç kısımdan oluşur. *D. melanogaster*'in erginlerinin eşey tayininde erkek bireylerin özelliklerine bakılarak dişilerden kolaylıkla ayırt edilebilmektedirler. Abdomen dişi ve erkek bireylerin ayırımında kullanılan önemli bir bölümdür. (Falakalı 1990). *D. melanogaster*'in dişilerinde abdomen 7 segmentli olup uzun ve ucu sivridir. Erkeklerin abdomenleri ise dişilere göre daha kısa, 5 segmentli ve yuvarlağımsıdır. Dişilerde ayrıca abdomen yaşlanma ve sürekli yumurta gelişiminden dolayı genişler. Dişi ve erkeklerde abdomen kısmında koyu ve açık bantlar bulunur. Abdomen üzerindeki bu bantlar dişilerde en alt kısma kadar devam eder. Erkeklerde ise son bantlar birleşik ve koyu bant şeklindedir (Demirsoy 2003).

Yapılan mikroskobik incelemelerde genital yapıda da farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir. (Falakalı 1990). Dişi ve erkek bireylerde genital plaklarında, dişilerde vagina ve anüs, erkeklerde ise penis ve anüs bulunmaktadır. Bunun yanında erkekler dişilerden farklı olarak eşey tarağına (sexcomb) sahiptir. Eşey tarağı erkeklerde her ön bacağın bazal tarsus segmentinin metatarsusu üzerinde küçük tarak şeklinde bulunmaktadır ve bu eşey tayinindeki en önemli özelliktir (Demirsoy 2003) (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1** *D. melanogaster*'in bazı kalıtsal özellikleri.

	<b>MUTANT</b>	<b>WİLD (YABANI TÜR)</b>
<b>GÖZ RENGİ</b>	Beyaz, siyah	Kırmızı, oval
<b>KANATLAR</b>	Kırık kanat	Düz kanat
<b>VÜCUTTAKİ KILLANMA</b>	Kısa ve kalın kıllar	Uzun ve düz kıllar
<b>VÜCUT RENGİ</b>	Siyah, sarı vb renkler	Griye yakın

### **2.1.3 *D. Melanogaster*'in Yaşama Gelişim ve Ömür Uzunluğunu Etkileyen Faktörler**

*D. melanogaster*'in yaşama gelişim ve ömür uzunluğu sıcaklık, beslenme, birey sayısı, genetik faktörler gibi etkenlerden etkilenebilir.

#### **2.1.3.1 Sıcaklık**

İnspektalar poikilothermal canlılar olduklarından metabolik hızları çevresel sıcaklıklardan etkilenir. *D. melanogaster*'in normal gelişim süresi 25 C'de yaklaşık olarak 10 gün iken daha yüksek sıcaklıkta gelişim süresi düşer (Lints and Lints 1971, Economos and Lints 1984, Ashburner 1989). Düşük sıcaklığın biyosentez reaksiyonlarını yavaşlattığı ve gelişim süresini uzattığı bununla beraber besinin etkili bir şekilde kullanılamamasından kaynaklı olarak beslenme periyodunun uzadığı saptanmıştır (Economos and Lints 1984). Benzer şekilde poikilotermik canlılarda çevresel sıcaklığın yükselmesi ile ömür uzunluğu kısalmaktadır (Bagcı vd. 1990, Bağcı ve Bozcuk 1991, Sestini et al. 1991).

#### **2.1.3.2 Birey Sayısı**

Larval yoğunluğun gelişim üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda birey sayısındaki farklılığın rekabeti arttırdığı ve buna bağlı olarak gelişimi yavaşlattığı tespit edilmiştir (Lints and Lints, 1971, Economos and Lints 1984, Yonemura et al. 1991, Foley and Luckinbill 2001).

Larval dönemdeki birey fazlalığı erginlerin geç ve küçük çıkmasına yol açarken, küçük bireylerin daha uzun yaşamasına neden olmaktadır (Ashburner 1989, McIntyre and Gooding 2000).



Bunun aksine yoğun populasyonlu ortamlardaki larvalar puplaşma için gerekli besini depo edemediğinden pupal ölümler meydana gelebilmektedir.

### **2.1.3.3 Nem**

Birçok *drosophila* türü normal gelişim için yüksek neme ihtiyaç duyar (Ashburner 1989). *D. melanogaster* larvalarının beslendiği ortamların nemine bağlı olarak bireylerin gelişim süresi etkilenmektedir (Hodge 2001).



## BÖLÜM 3

### MATERYAL METOD

#### 3.1 D. MELANOGASTER KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI VE DENEY ORTAMI

*D. melanogaster* (Meigen)'in Oregon R soyu (Diptera: Drosophilidae) yabancıl tip (W1118, wild type) ergin bireyleri Çek Cumhuriyeti Masaryk Üniversitesinden RNDr. Pavel Hyršl tarafından laboratuvarımıza getirilerek bölümümüzdeki Biyokimya ve Fizyoloji araştırma laboratuvarında cam şişelerde yapay besin ile yetiştirerek stok kültür oluşturuldu. Kültürün devamlılığı ergin bireylerin yumurta bırakması, yumurtaların 3. larval evresi, pup evresi ve ergin olması bunu takiben ergin bireylerin yeni bir besin hazırlanılarak bu besine aktarılması ile gerçekleştirildi. Deneylede kullanılan stok kültürler ve deney düzeneği % 60-70 bağıl nem, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ve  $25 \pm 2$  °C sıcaklıkta olan laboratuvar ortamında yapıldı.

#### 3.2 BESİYERİNİN HAZIRLANMASI

Laboratuvar şartlarında *D. melanogaster* kültürünün devamını sağlamak için patates ve sükröz içeren yapay besin kullanıldı (Rogina et al. 2000, Lesch et al. 2007). Kültürünün devamı için kullanılan bu besin *D. melanogaster* üzerinde niklozamidin etkisini incelemek amacıyla gerçekleştirilen beslenme deneylerinde de kontrol besini olarak kullanıldı.

Besin;

- 8 g agar- agar (ultrapure),
- 20 g D-Sükroz,
- 11,78 g kuru toz maya (Dr. Oetker Gıda San. ve Tic. A.Ş., Torbalı- İzmir),
- 0,8 g L-Askorbik asit,
- Etanolde % 3.5'lik nipajin (*p*-hidroksibenzoik asit metil ester, kristal) çözeltisinden 7,72 ml,

- 36 g patates püresi (Knorr, Unilever Sanayi ve Ticaret Türk A. Ş. Ümraniye, İstanbul),
- 1000 ml saf sudan oluşmaktadır.

Gerekli miktarda agar (8 g), sükröz (20 g), kurumaya (11,78 g) tartılarak üzerine 600 ml saf su ilave edildi. Elde edilen karışım kaynar su banyosunda aralıklarla karıştırılarak yaklaşık 30 dk kaynatıldı. Diğer yanda patates püresi (36 g) üzerine 400 ml saf su eklenerek patates püresi çözüldü ve kaynamakta olan ilk karışıma eklendi. Yaklaşık 15 dk boyunca aralıklarla karıştırılarak besin kaynatıldı. Homojen hale gelen besin soğumaya alındı. Besin yeterince soğuduktan sonra cam şişelere alınmadan nipajin ( 7,72 g) ve absorbikasit (0,8) gram üzerine eklendi. Hazırlanan besin cam şişelere yaklaşık 1/3'ü dolacak şekilde aktarıldı. Besin katılaşıncaya kadar 30 dk kadar beklendi. Stok kültürden elde edilen dişi ve erkek erginler yeni besin şişelerine aktarılıp şişelerin ağzı temiz bir pamuk ile kapatıldı (Güneş 2013). Bu işlem 7 günde bir tekrarlanılarak kültürün devamlılığı sağlandı. Yapılan bu işlemler bir ölçüde değiştirilerek 1986'da Roberts'in kullandığı yöntemler temel alınarak uygulandı.

### **3.3 NİKLOZAMİDİN DENEYLERDE KULLANILMASI**

Bu çalışmada salisilanilid grubu bir antihelmintik madde olan niklozamid kullanıldı. Denenecek olan konsantrasyonların aralığının belirlenmesi için niklozamid ile ön beslenme deneyleri yapıldı. *D. melanogaster* için ergin evreye gelene kadar gelişim evrelerini tamamlayabileceği konsantrasyon aralığı belirlendi. Niklozamidin besine ilave edilmesi ile yürütülen deneylerde kontrol grubu hariç 1000 ml besine 100, 200, 400 ve 800 mg/ L düzeyinde niklozamid ilave edildi. Niklozamid besin katılaşıncaya hemen önce ilave edildi. Kontrol deneylerinde ise yalnızca niklozamid içermeyen besin kullanıldı. *D. melanogaster* üzerinde niklozamidin konsantrasyonları belirlenerek böceğin yumurtadan ergin evreye kadar yaşama, gelişimi, ergin ömür uzunluğu ve 3. larval evre, pup ve ergin evrelerinde, MDA, PCO miktarı ve antioksidan enzimlerden GST aktivitesine etkisi incelendi.

### **3.4 D. MELANOGASTER'İN YAŞAMA ORANI VE GELİŞİM SÜRESİ İLE İLGİLİ NİKLOZAMİDİN İLE YAPILAN DENEYLER**

*D. melanogaster*'in yaşama oranı ve gelişme süresi için yapılan deneylerde yapay besin ortamı hazırlanarak niklozamidin denenen konsantrasyonları besinlerine ilave edildi. Besinler 15

ml'lik cam şişelere eşit miktarlarda dağıtıldı. Yumuşak uçlu fırça yardımı ile niklozamidin içermeyen kontrol grubuna ve belirlenmiş olan 100 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L ve 800 mg/L niklozamidin bulunan besin ortamlarının her birine 25 adet 1.evre larvaları bırakılarak üzerleri hidrofil pamuk ile kapatıldı. Birinci evreden 3.evreye, pup ve ergin evreye ulaşan bireylerin oranları belirlenerek hesaplandı. 3. evre, pup ve ergin evreye ulaşmaları için geçen süre gün olarak belirlendi. Deneyler 4 tekrar olarak laboratuvarında böceğin kültürünün yapıldığı  $25 \pm 2$  °C % 60-70 bağıl nemde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda gerçekleştirildi.

### **3.5 D. MELANOGASTER'İN ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ YAPILAN DENEYLER**

Niklozamidin içermeyen kontrol grubu ve içerisinde 100 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L ve 800 mg/L niklozamidin bulunan besin ortamlarının her birinden 25 adet 15 ml'lik cam şişelere 5'er ml eşit olarak dağıtıldı. Yumuşak uçlu fırça yardımı ile 1. evre larvaları besin yerlerine bırakıldı. 1. evre larvaları bu besinde ergin evreye kadar yetiştirildi. Ergin evreye kadar bireyler her gün 5'er ml eşit olarak dağıtılmış besin bulunan şişelere aktarıldı. Kontrol grubu ve niklozamidin farklı konsantrasyon gruplarındaki erginler her gün belirli saatlerde kontrol edildi. En son erginin ölümüne kadar her bir erginin ömür uzunluğu süresi belirlendi. Bu işlem stok böcek kültürünün yetiştirildiği ortam şartlarında gerçekleştirildi.

### **3.6 BİYOKİMYASAL ANALİZLER**

*D. melanogaster*'in kontrol grubu ve belirlenen niklozamidin konsantrasyonlardaki besin ortamlarına bırakılan yumurtalardan her bir konsantrasyon için 25'er adet larva, pup ve ergin toplandı. Bu işlem dört kez tekrarlandı. Toplanan larva, pup ve erginlerden MDA, PCO miktarları ve GST aktivitesi belirlendi. Her bir gelişim evresi için toplanan bireylerin ekstrasyonu homojenizasyon tamponu (% 1,15'lik KCl (Potasyum klorür), 25 mM  $K_2HPO_4$  (Potasyum hidrojen fosfat), 5 mM EDTA (Etilendiamin tetra asetik asit), 2 mM PMSF (Fenilmetilsülfonil florid), 2 mM DTT (Ditiyotiretol), pH: 7,4) içerisinde ultrasonik homojenizatör (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany) kullanılarak +4 °C'de 15'er saniyelik süreler ile üçer defa (10 sn, 30 W) tekrarlandı. Elde edilen homojenat, GST tayini için 16000 x g'de 20 dk santrifüjlenerek yapıldı. MDA miktarı deneylerinde örnekler 1,15'lik KCl kullanılarak ultrasonik homojenizatörden geçirildi (10 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany) ve homojenat +4 °C'de 2000 x g'de 15 dk, PCO miktarı tayini için

homojenizasyon tamponu ile homojenize edilen örnekler +4 °C'de 1000 x g'de 10 dk santrifüj edilmesi ile elde edilen üst sıvı kullanıldı. Araştırmanın bu aşamasında niklozamidin 100 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L ve 800 mg/L'lik konsantrasyonları ile yetiştirilen larva, pup ve ergin bireylerinde MDA, PCO miktarı ve GST aktivitesi belirlendi.

### 3.6.1 MDA Miktarının Ölçülmesi

*D. melanogaster* örneklerinin parçalama işleminde ultrasonik homojenizatör kullanıldı (15 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany). Homojen hale gelen örneklerden 200 µl alınarak üzerine pH 7,4 olan 800 µl 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 ilave edildi ve vortekslendikten sonra 2 saat buz içinde karanlıkta bekletildi. Daha sonra örnekler 15 dk + 4 °C, 2000 x g'de santrifüj edildi ve elde edilen süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 0,1 M'lık EDTA ve % 1'lik Tiyobarbitürük asit (TBA) eklenerek 45 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletildi. TBA ile reaksiyona giren lipid peroksidasyonun son ürünü MDA spektrofotometrede 532 nm'deki absorbans değeri okunarak miktarı hesaplandı. MDA analizinde plastik 1,5 cm lik küvetler kullanıldı. MDA miktarı  $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  kat sayısı kullanılarak nmol/mg protein olarak verildi (Jain and Levine 1995).

### 3.6.2 PCO Miktarının Ölçülmesi

Protein karbonil tayini Levine et al. (1994)'in metodu temel alınıp bir miktar değişiklikler yapılarak (Krishnan and Kodrik 2006) kuvvetli asit ortamda (2 M HCl) proteindeki karbonil gruplarının 2,4 dinitrofenil hidrazin (DNPH) ile kararlı bir 2,4 dinitrofenil (DNP) hidrozon oluşturması ve bu ürünlerin 370 nm'de absorbanslarının ölçülmesi temeline dayanarak yapıldı. Homojenizasyon tamponu (% 1,15'lik KCl, 25 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 5 mM EDTA, 2 mM PMSF, 2 mM DTT, pH: 7,4) eklenen örnekler + 4 °C ultrasonik homojenizatörde (15 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany) parçalandı ve +4 °C'de 1000 x g'de 10 dk santrifüj edilmesi ile elde edilen üst sıvı PCO miktarının belirlenmesinde kullanıldı.

### 3.6.3 GST Aktivitesinin Ölçülmesi

Habig et al. (1974) tarafından geliştirilen metod GST (EC 2.5.1.18) aktivitesi ölçülmesinde kullanıldı. GST aktivitesi ölçümü için 3 ml'lik cam küvetlere 2,5 ml 50 mM fosfat tamponu,

200 µl 20 mM redükte glutatyon ve 150 µl süpernatant eklendi. Bu karışıma 150 µl 25 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ilave edilerek enzimatik reaksiyon başlatıldı ve 2 dakika süresince yükselen absorbanslar okundu. Yükselen absorbans CDNB'nin redükte glutatyon ile reaksiyona girerek tiyoether yapısının meydana gelişini ifade etmektedir. Enzim aktivitesi 340 nm'de ( $\epsilon_{340}$ : 0,0096  $\mu\text{M}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) süpernatantta bulunan 1 mg toplam protein başına 1 dakikada oluşturulan tioether miktarı olarak ölçüldü. Enzimin spesifik aktivitesi ise  $\mu\text{mol}/\text{mg}$  protein/dk'dır.

### **3.6.4 Toplam Protein Miktarının Ölçülmesi**

Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA miktarını ve antioksidan enzimlerden GST aktivitesini hesaplamak için örnek özütlerinden total protein tayini deneyi yapıldı. 600 nm'de örneklerin absorbansları ölçüldü. Örneklerdeki protein tayini için farklı konsantrasyonlarda BSA (Bovine serum albumin) çözeltileri hazırlanarak standart grafik elde edildi. Bu standart grafikten toplam protein miktarları hesaplandı (Lowry et al. 1951). Protein oksidasyonu sonucunda meydana gelen PCO miktarının hesaplanması için total protein tayini yapıldı. Örneklerin absorbansları 280 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. 6 M guanidin hidroklorür ile BSA standart çözeltileri hazırlandı. Standart grafik oluşturularak total protein miktarı hesaplandı (Pajot 1976).

### **3.7 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Çalışmada gelişme süresi, dişi ve ergin ömür uzunluğu, MDA, PCO miktarları, GST aktiviteleri ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü "Varyans Analizi" (ANOVA) (SPSS 1997), ortalamalar arasındaki farkın önemini saptamak için "LSD Testi" (SPSS 1977), yaşama oranı ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde ise " $\chi^2$  (Chi square) Testi" kullanıldı (Snedecor and Cochran 1989). Ortalamaların önemi 0,05 olasılık seviyesinde değerlendirildi.



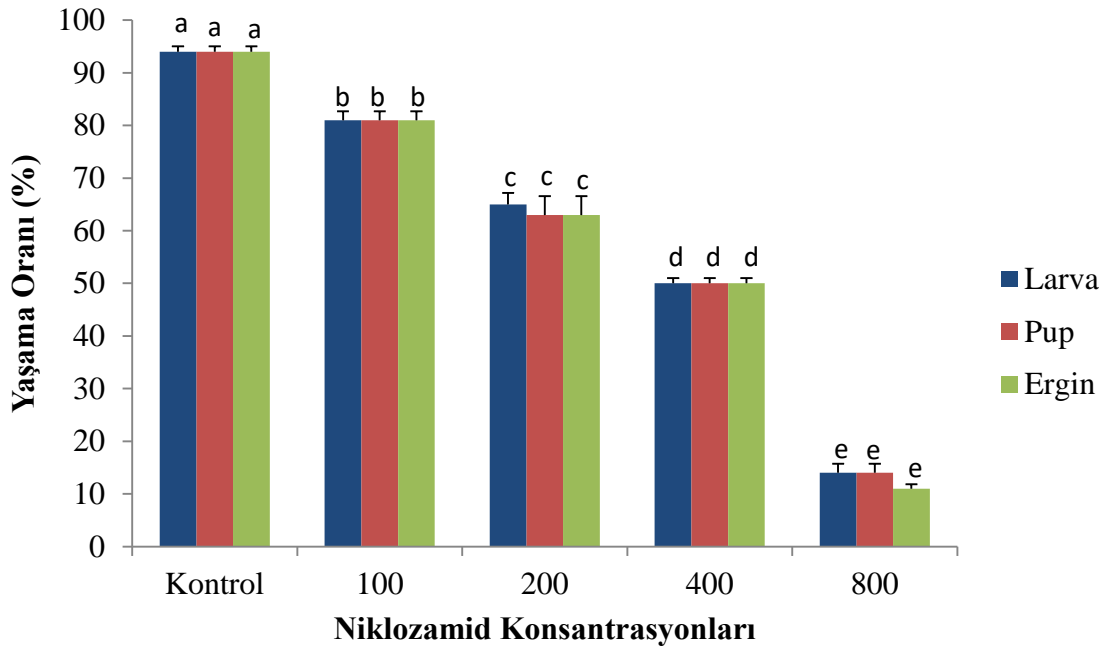


## BÖLÜM 4

### ARAŞTIRMA BULGULARI

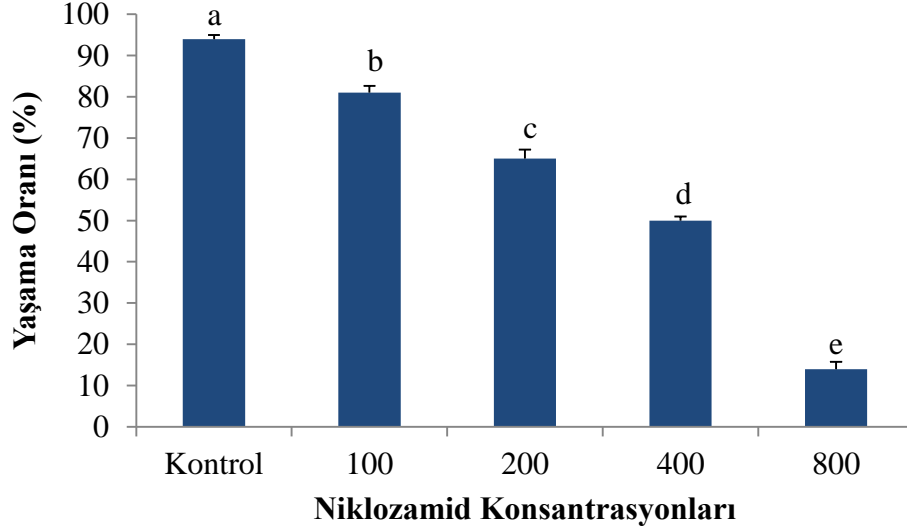
#### 4.1 NİKLOZAMİDİN *D. MELANOGASTER* LARVALARININ YAŞAMA ORANI VE GELİŞME SÜRESİNE ETKİSİ

*D. melanogaster*'in larvalarının yaşama oranı ve gelişme süresine niklozamidin etkisi çizelge 4.1'de verilmiştir. Niklozamid içermeyen kontrol besinine göre denenen tüm niklozamid konsantrasyonları 3. evreye ulaşan larva, pup ve ergin olma oranını önemli derecede azaltmıştır (Şekil 4.1).



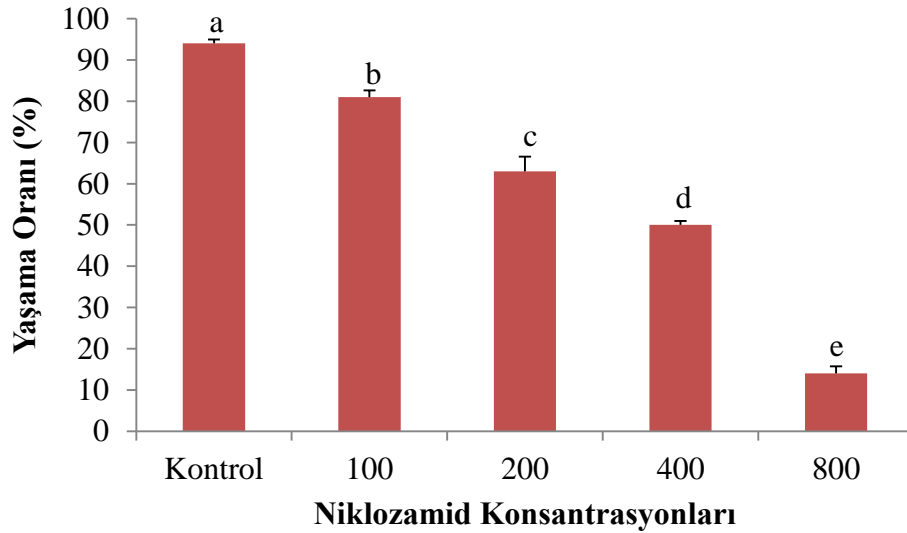
Şekil 4.1 Niklozamidin *D. melanogaster*'in 3. evre larva, pup ve ergin bireylerinin yaşama oranına etkisi.

Kontrol besininde larvaların %  $94,00 \pm 1,00$ 'i 3. evreye ulaşırken denenen en yüksek niklozamid konsantrasyonu olan 800 mg/L'de bu oran %  $14,00 \pm 1,73$ 'e düşmüştür. Benzer şekilde niklozamidin 100, 200, 400 mg/L olan konsantrasyonlarında yaşama oranı sırasıyla  $81,00 \pm 1,65$ ,  $65,00 \pm 2,17$ ,  $50,00 \pm 1,00$ 'e düşmüştür (Çizelge 4.1) (Şekil 4.2).



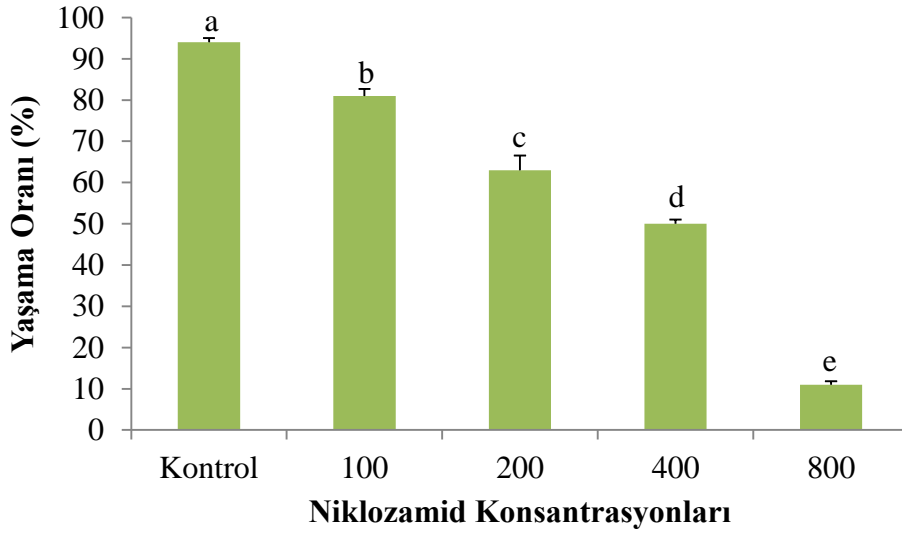
Şekil 4.2 Niklozamidin *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarının yaşama oranına etkisi.

Kontrol besininde pup olma oranı  $94,00 \pm 1,00$  olarak tespit edilmesine karşın niklozamidin belirlenen diğer konsantrasyonlarında (100, 200, 400, 800 mg/L ) böceğin pup olma oranı sırasıyla  $81,00 \pm 1,65$ ,  $63,00 \pm 3,57$ ,  $50,00 \pm 1,00$ ,  $14,00 \pm 1,73$  şeklinde azalmıştır (Çizelge 4.1) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Niklozamidin *D. melanogaster*'in puplarının yaşama oranına etkisi.

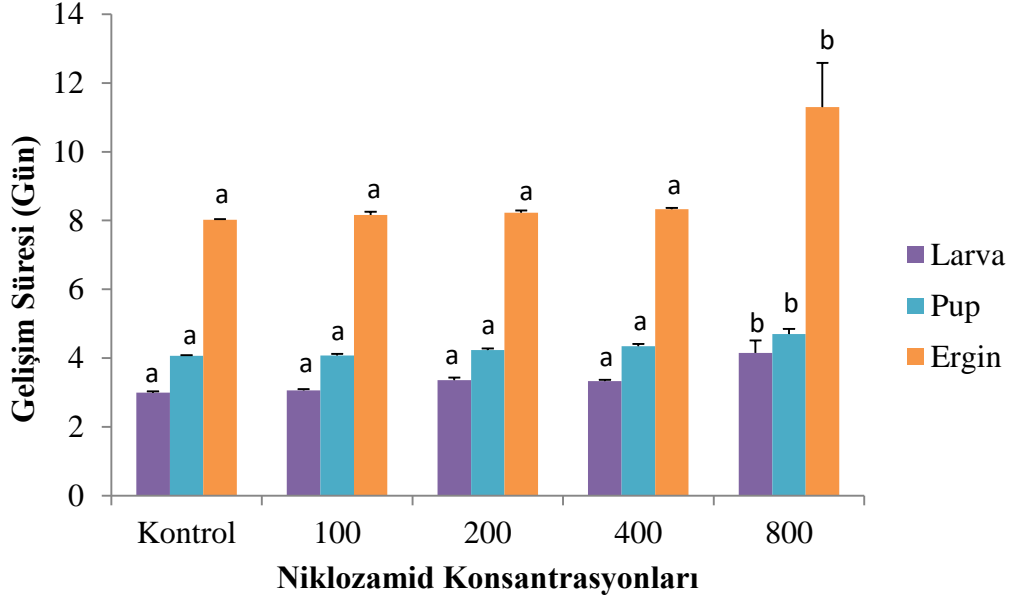
Larval ve pup evrelerinde olduğu gibi ergin evredeki bireylerin yaşama oranı da kontrol besini ile karşılaştırıldığında önemli derecede düştüğü görülmüştür. Niklozamidin denenen en yüksek konsantrasyonu olan 800 mg/L'de ergin olma  $11,00 \pm 0,86$ 'a anlamlı derecede düşüş gözlemlenmiş olup, kontrol besininde bu değer  $94,00 \pm 1,00$  olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1) (Şekil 4.4).



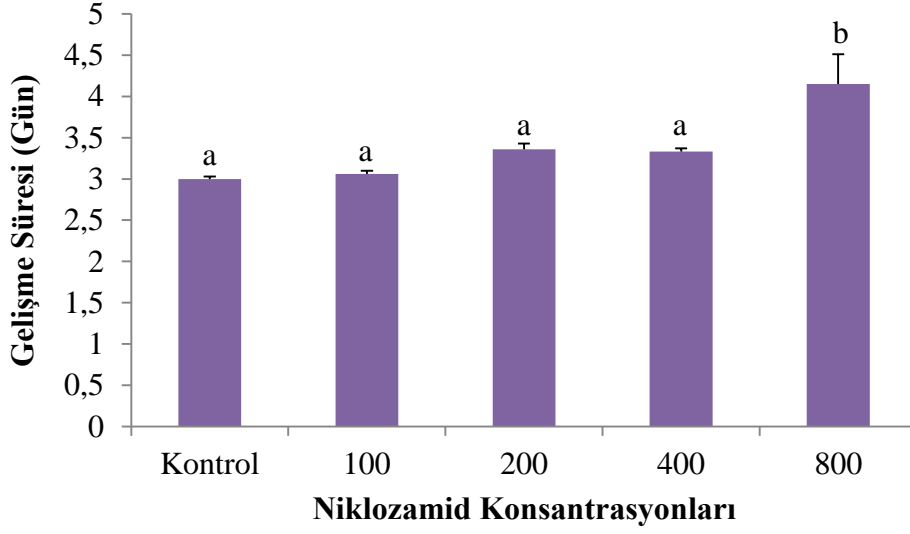
Şekil 4.4 Niklozamidin *D. melanogaster*'in ergin bireylerinin yaşama oranına etkisi.

Niklozamidin denenen tüm besinsel konsantrasyonları (100, 200, 400 ve 800mg/L) böceğin son evreye (3. evre), pup ve ergin evreye ulaşma süresi üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etki yapmamıştır.

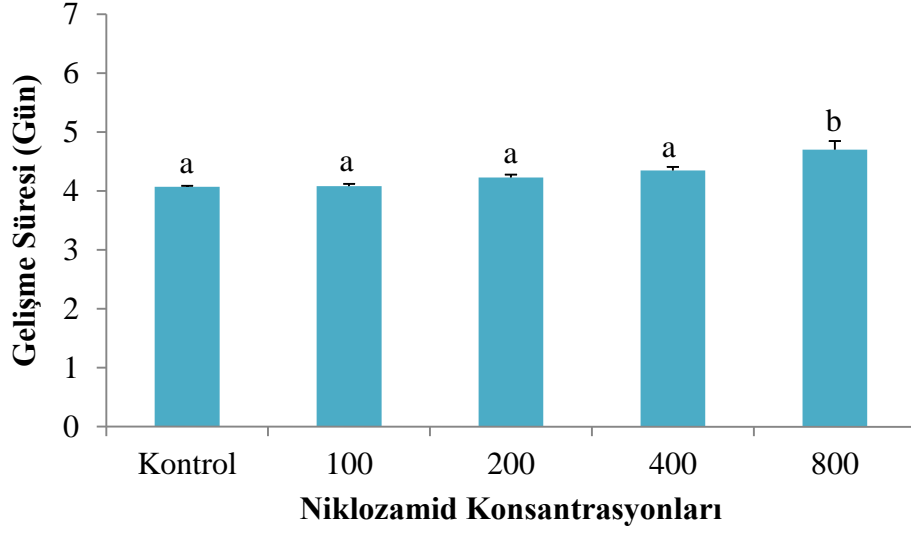
Kontrol besini ile en yüksek konsantrasyon 800 mg/L niklozamid içeren besin ile karşılaştırdığımızda 3. evreye ulaşma süresi, pup olma süresi ve ergin olma süresi üzerine istatistiksel olarak anlamlı etki gözlemlenmediği ortaya çıkarılmıştır. Denenen en yüksek niklozamid miktarının 3. evre larvasına ulaşma süresini ve pup olma süresini yaklaşık 1 gün, ergin olma süresini ise yaklaşık 3 gün olarak uzattığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Niklozamidin *D. melanogaster*'in 3. evre larva, pup ve ergin bireylerinin gelişme süresine etkisi şekil 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8'de gösterilmiştir.



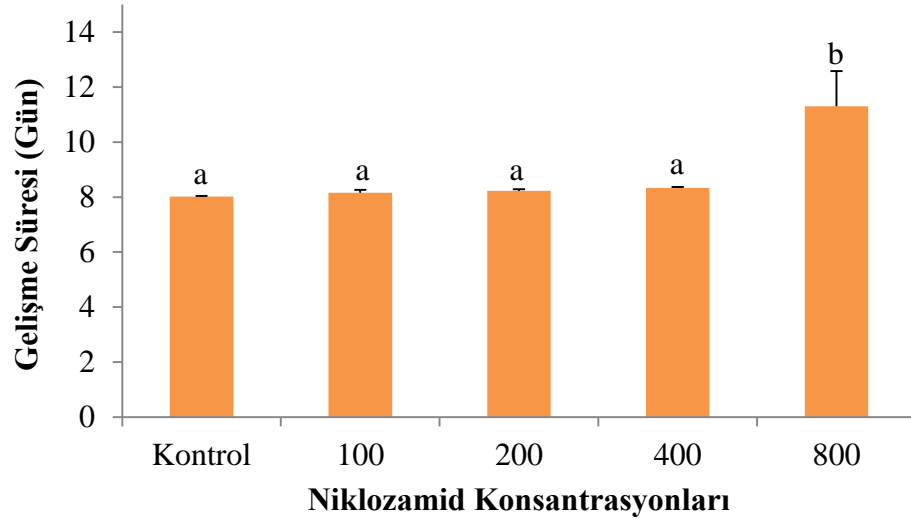
Şekil 4.5 Niklozamidin *D. melanogaster*'in 3. evre larva, pup ve ergin bireylerinin gelişme süresine etkisi.



Şekil 4.6 Niklozamidin *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarının gelişme süresine etkisi.



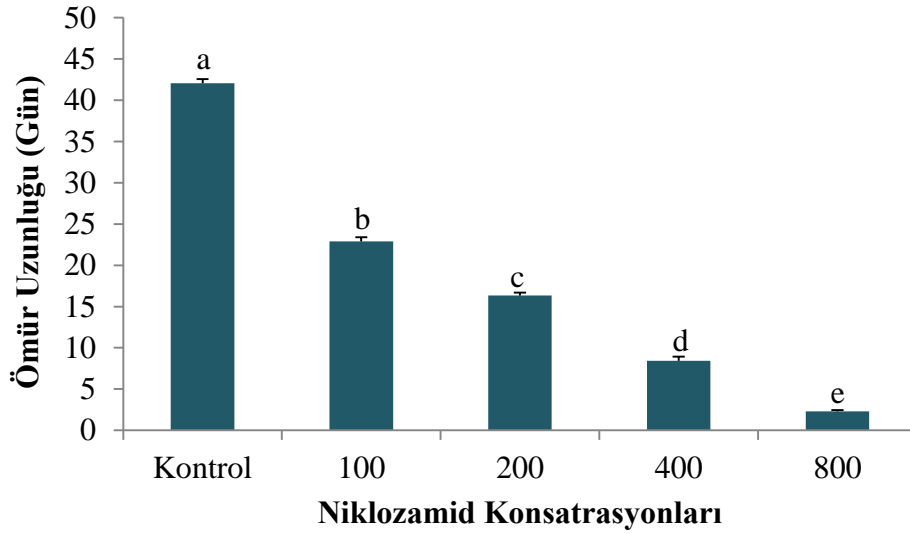
Şekil 4.7 Niklozamidin *D. melanogaster*'in pupalarının gelişme süresine etkisi.



Şekil 4.8 Niklozamidin *D. melanogaster*'in ergin bireylerinin gelişme süresine etkisi.

## 4.2 NİKLOZAMİDİN *D. MELANOGASTER* ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU ÜZERİNE ETKİSİ

*D. melanogaster* erginlerinin ömür uzunluğuna niklozamidin etkisi çizelge 4.2’de verilmiştir. Yapılan deneylerde niklozamidin belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinler içerisinde yetiştirilen erginlerin kontrol grubundaki ergin bireyler ile hayatta kalma süreleri karşılaştırıldı. Kontrol grubuna göre niklozamidin kullanılan tüm konsantrasyonlarında (100, 200, 400 ve 800 mg/L) böceğin ergin ömür uzunluğu önemli derecede kısalmıştır (Şekil 4.9). Kontrol grubunda ortalama ömür uzunluğu  $42,08 \pm 0,50$  gün iken, 100 mg/L antihelmintik konsantrasyonunda  $22,89 \pm 0,52$  gün, 200 mg/L konsantrasyonunda  $16,35 \pm 0,33$  gün, 400 mg/L konsantrasyonunda  $8,41 \pm 0,51$  gün, 800 mg/L konsantrasyonunda  $2,30 \pm 0,15$  güne düşmüştür. Artan besinsel niklozamid konsantrasyonu ile ters orantılı olarak ergin ömür uzunluğunun kısaldığı belirlenmiştir.



Şekil 4.9 Niklozamidin *D. melanogaster*'in ergin bireylerinin ömür uzunluğuna etkisi.

**Çizelge 4.1** Niklozamidin *D. melanogaster* larvalarının yaşama oranı ve gelişme süresi üzerine etkisi.

Niklozamidin (mg/L)	3.evreye ulaşan larva oranı (%) (Ort* ± S.H)†	3.evreye ulaşma süresi (gün) (Ort* ± S.H)†	Pup olma oranı (%) (Ort* ± S.H)†	Pup olma süresi (gün) (Ort* ± S.H)†	Ergin olma oranı (%) (Ort* ± S.H)†	Ergin olma süresi (gün) (Ort* ± S.H)†
0,000§	94,00 ± 1,00a	3,00 ± 0,03a	94,00 ± 1,00a	4,07 ± 0,02a	94,00 ± 1,00a	8,02 ± 0,02a
100	81,00 ± 1,65b	3,06 ± 0,04a	81,00 ± 1,65b	4,08 ± 0,04a	81,00 ± 1,65b	8,16 ± 0,10a
200	65,00 ± 2,17c	3,36 ± 0,07a	63,00 ± 3,57c	4,23 ± 0,05a	63,00 ± 3,57c	8,23 ± 0,06a
400	50,00 ± 1,00d	3,33 ± 0,04a	50,00 ± 1,00d	4,35 ± 0,06a	50,00 ± 1,00d	8,33 ± 0,04a
800	14,00 ± 1,73e	4,15 ± 0,36b	14,00 ± 1,73e	4,70 ± 0,15b	11,00 ± 0,86e	11,13 ± 1,28b

\* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 larva kullanıldı.

† Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir,  $P > 0,05$  ( $\chi^2$  testi, LSD Testi).

§Kontrol besini (Niklozamidin içermeyen).

**Çizelge 4.2** Niklozamidin *D. melanogaster* ergin ömür uzunluğu üzerine etkisi.

Niklozamidin (mg/L)	Ergin ömür uzunluğu (gün)
	(Ort* ± S.H)†
0,000§	42,08 ± 0,50a
100	22,89 ± 0,52b
200	16,35 ± 0,33c
400	8,41 ± 0,51d
800	2,30 ± 0,15e

\*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 ergin kullanıldı.

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

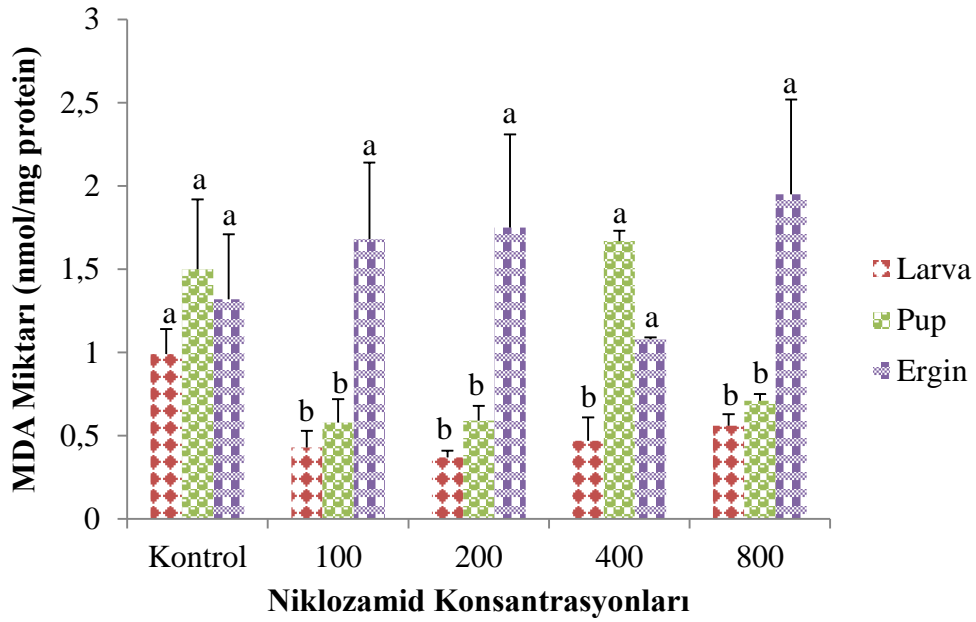
§ Kontrol besini (Niklozamidin içermeyen).



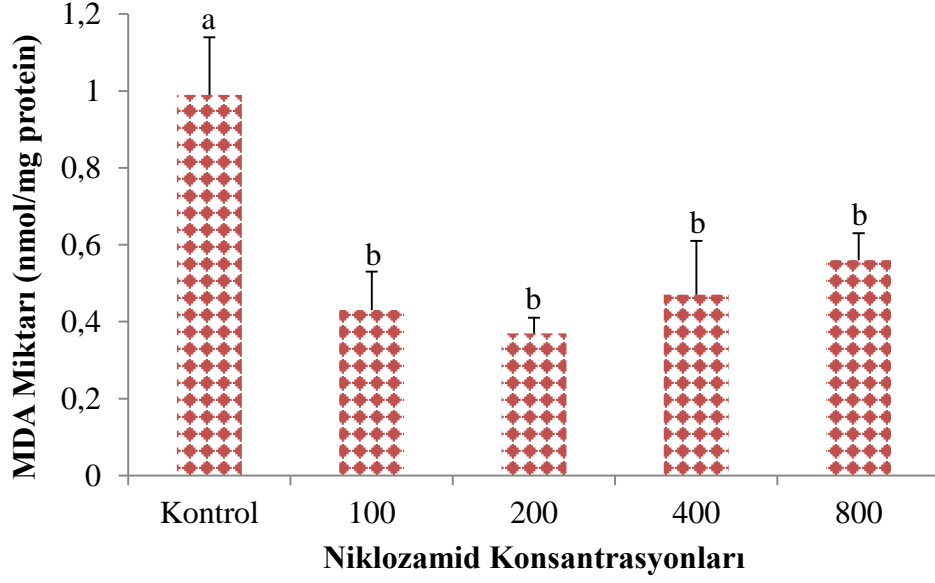
### 4.3 NİKLOZAMİDİN FARKLI KONSANTRASYONLARI İLE YETİŞTİRİLEN *D. MELANOGASTER*'İN FARKLI GELİŞİM EVRELERİNDE MDA, PCO, GST AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

*D. melanogaster*'in yumurtadan yeni çıkmış larvaları antihelmintik bir madde olan niklozamidin belirli konsantrasyonlarını içeren besinler ile ergin evreye kadar yetiştirilmiştir. Böceğin 3. evre larvalarında, pup ve ergin bireylerinde MDA, PCO, GST aktiviteleri belirlenmiştir.

Denen niklozamid konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile beslenen *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarında MDA miktarı kontrol grubuna göre düşüş göstermiştir (Şekil 4.10 ve 4.11). Kontrol grubunda MDA miktarı  $0,99 \pm 0,15$  nmol/mg protein iken niklozamidin denenen tüm konsantrasyonlarında (100, 200, 400, 800 mg/L) MDA miktarları sırasıyla  $0,43 \pm 0,10$ ,  $0,37 \pm 0,04$ ,  $0,47 \pm 0,14$ ,  $0,56 \pm 0,07$  nmol/mg protein olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.3).

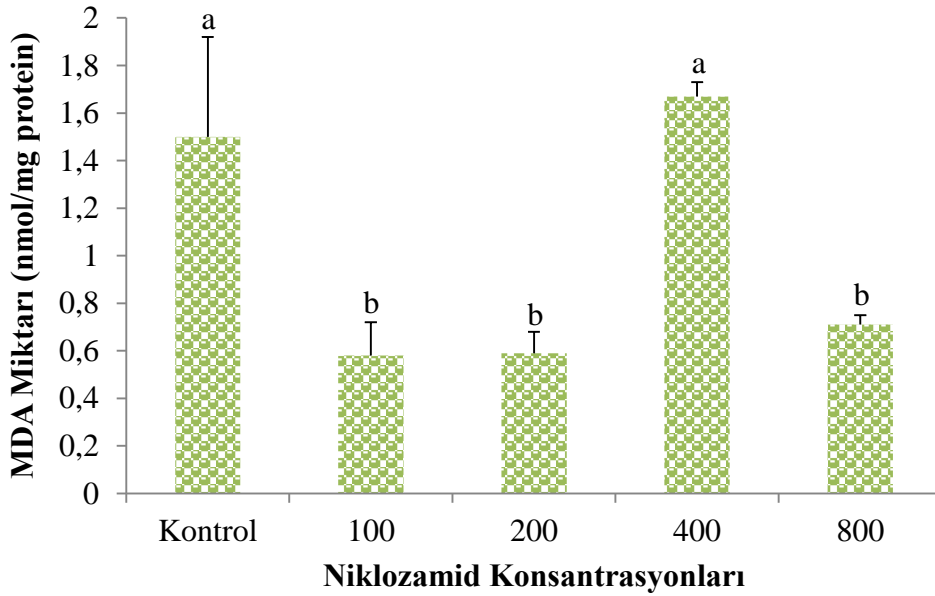


Şekil 4.10 Niklozamidin *D. melanogaster*'in 3. evre larva, pup ve ergin bireylerinin MDA miktarına etkisi.



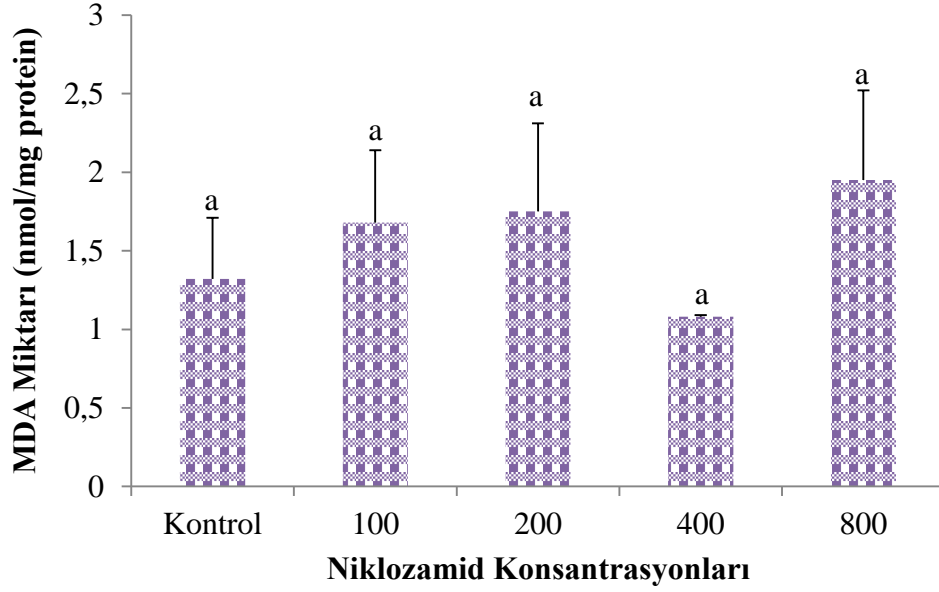
Şekil 4.11 Niklozamidin *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarının MDA miktarına etkisi.

Niklozamidin farklı konsantrasyonları ile yetişen böceğin pup evresindeki MDA miktarında kontrol grubuna göre denenen konsantrasyonlardan 100, 200 ve 800 mg/L'de düşüş görülmüştür (Şekil 4.12). Niklozamidin 400 mg/L'nin pup evresindeki MDA miktarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir artış gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda MDA miktarı  $1,50 \pm 0,42$  nmol/mg protein iken niklozamidin denenen tüm konsantrasyonlarında (100, 200, 400, 800 mg/L) MDA miktarları sırasıyla  $0,58 \pm 0,14$ ,  $0,59 \pm 0,09$ ,  $1,67 \pm 0,06$ ,  $0,71 \pm 0,04$  nmol/mg protein olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).



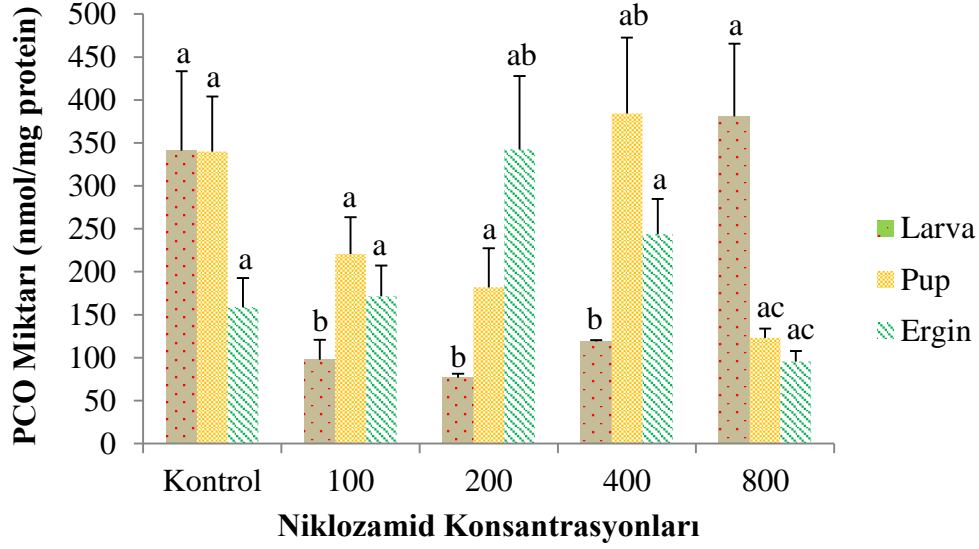
Şekil 4.12 Niklozamidin *D. melanogaster*'in pupalarının MDA miktarına etkisi.

*D. melanogaster*'in ergin bireyler ile yapılan deneylerde kontrol besinine göre denenen tüm niklozamid konsantrasyonlarında MDA miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.13). Kontrol grubunun MDA aktivitesi  $1,32 \pm 0,39$  nmol/mg protein olarak kaydedilmiştir. Niklozamidin denenen konsantrasyonlarında (100, 200, 400 ve 800 mg/L) bu oranlar sırasıyla  $1,68 \pm 0,46$ ,  $1,75 \pm 0,56$ ,  $1,08 \pm 0,01$ ,  $1,95 \pm 0,57$  olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5).



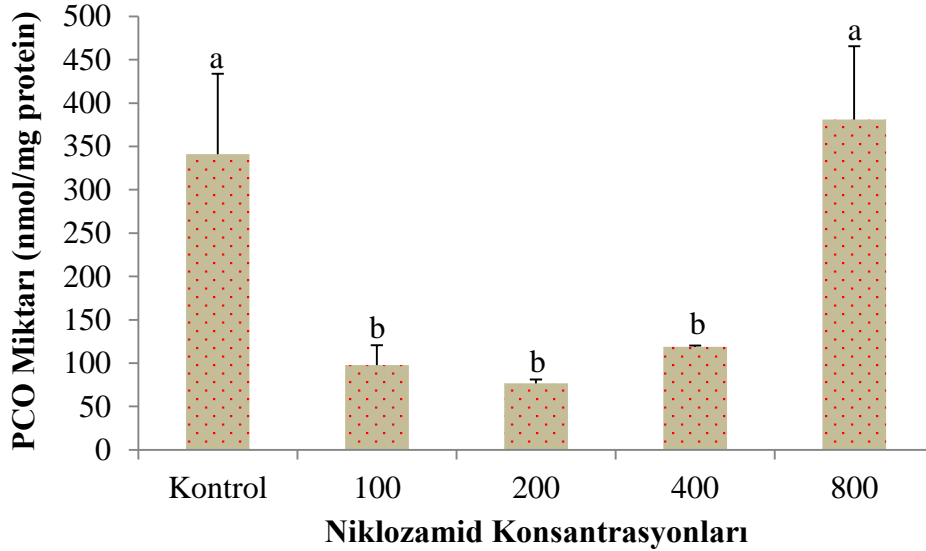
Şekil 4.13 Niklozamidin *D. melanogaster*'in ergin bireylerinin MDA miktarına etkisi.

Antihelmintik ilaç olan niklozamidin denenen konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile beslenen *D. melanogaster*'in 3.evre larvaları, pupları ve erginlerinde belirlenen PCO miktarında önemli sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.14).



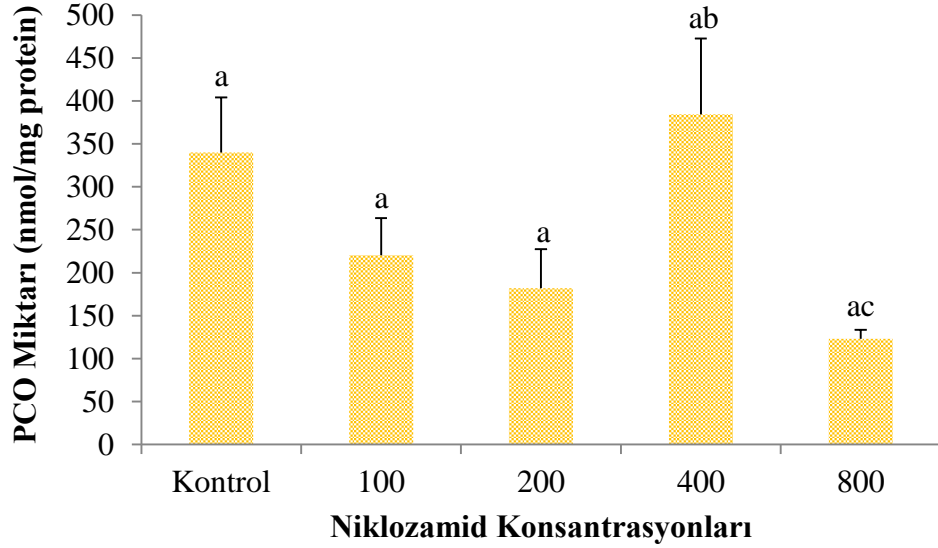
Şekil 4.14 Niklozamidin *D. melanogaster*'in 3. evre larva, pup ve ergin bireylerinin PCO miktarına etkisi.

Niklozamid bulunmayan kontrol grubunda 3. evre larvalarının PCO miktarı  $346,13 \pm 92,5$  nmol/mg protein olarak bulunmuştur. Niklozamidin denenen 100, 200, 400 mg/L konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile beslenen *D. melanogaster*'in 3.evre larvalarında ise PCO miktarı sırasıyla  $97,68 \pm 23,0$ ,  $76,89 \pm 4,2$ ,  $118,87 \pm 1,6$  nmol/mg protein olarak kaydedilmiş ve istatistiksel olarak da anlamlı bir fark çıkmıştır (Çizelge 4.3) (Şekil 4.15).



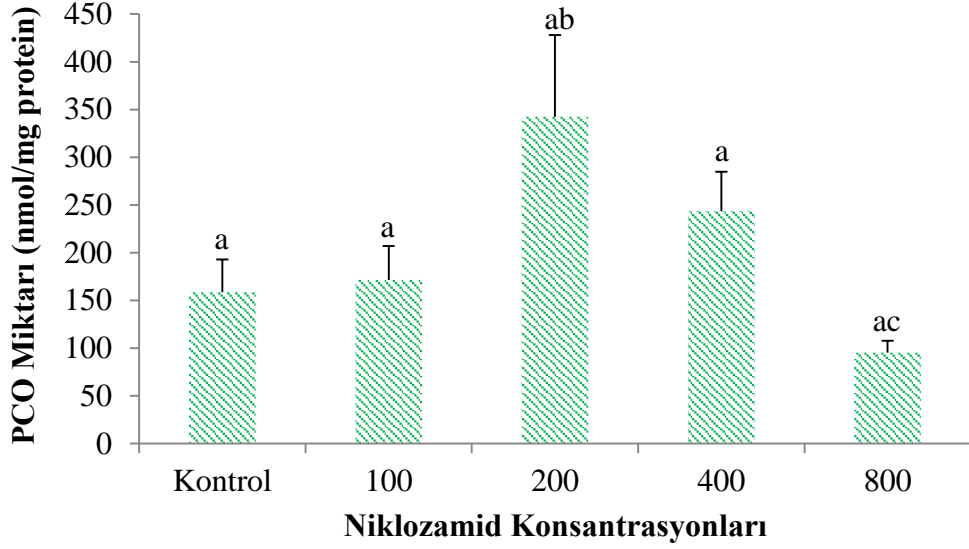
Şekil 4.15 Niklozamidin *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarının PCO miktarına etkisi.

*D. melanogaster*'in pup evresinde kontrol grubunun protein karbonil miktarı  $339,86 \pm 64,3$  nmol/mg protein olarak belirlenmiştir. Niklozamid ile yapılan çalışmada denenen 100, 200, 400, 800 mg/L'lik konsantrasyonlarda bu oranlar sırasıyla  $220,50 \pm 43,0$ ,  $182,02 \pm 45,5$ ,  $384,37 \pm 88,2$ ,  $123,08 \pm 10,6$  nmol/mg protein olarak tespit edilmiş olup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı bulunmuştur (Çizelge 4.4) (Şekil 4.16).



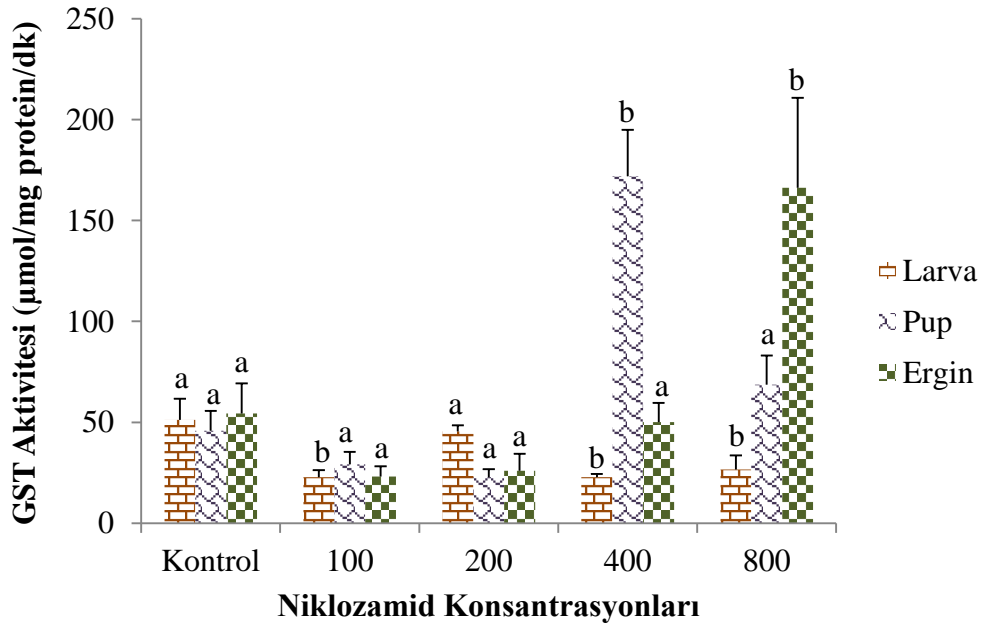
Şekil 4.16 Niklozamidin *D. melanogaster*'in puplarının PCO miktarına etkisi.

Kontrol grubunda *D. melanogaster*'in ergin bireylerinde protein karbonil miktarı  $158,63 \pm 34,1$  nmol/mg protein olarak bulunmuştur. Denenen en yüksek niklozamid konsantrasyonu 800 mg/L'de PCO miktarı  $95,35 \pm 12,4$  nmol/mg protein olarak bulunmasına karşın kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark tespit edilmemiştir. Buna karşın niklozamidin 200 mg/L ile en yüksek konsantrasyon arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.5) (Şekil 4.17).



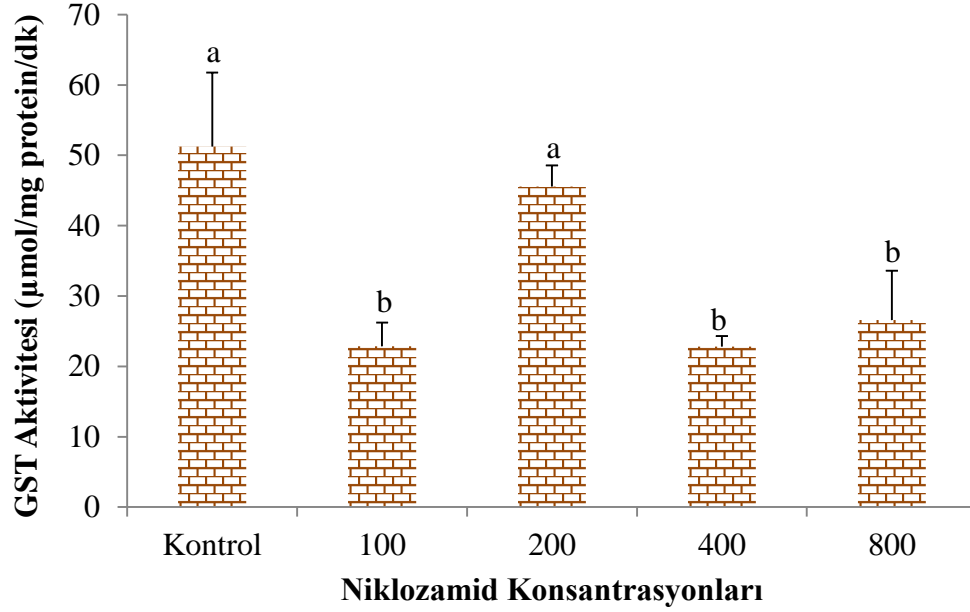
Şekil 4.17 Niklozamidin *D. melanogaster*'in ergin bireylerinin PCO miktarına etkisi.

Antihelmintik bir madde olan niklozamid ile yapılan çalışmada meyve sineği *D. melanogaster*'in 3.evre larva, pup ve ergin evrede GST aktivitesi üzerine etkisi incelenmiş olup kontrol grubuna göre yüksek niklozamid konsantrasyonlarında GST aktivitelerinde düşüş olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.18).



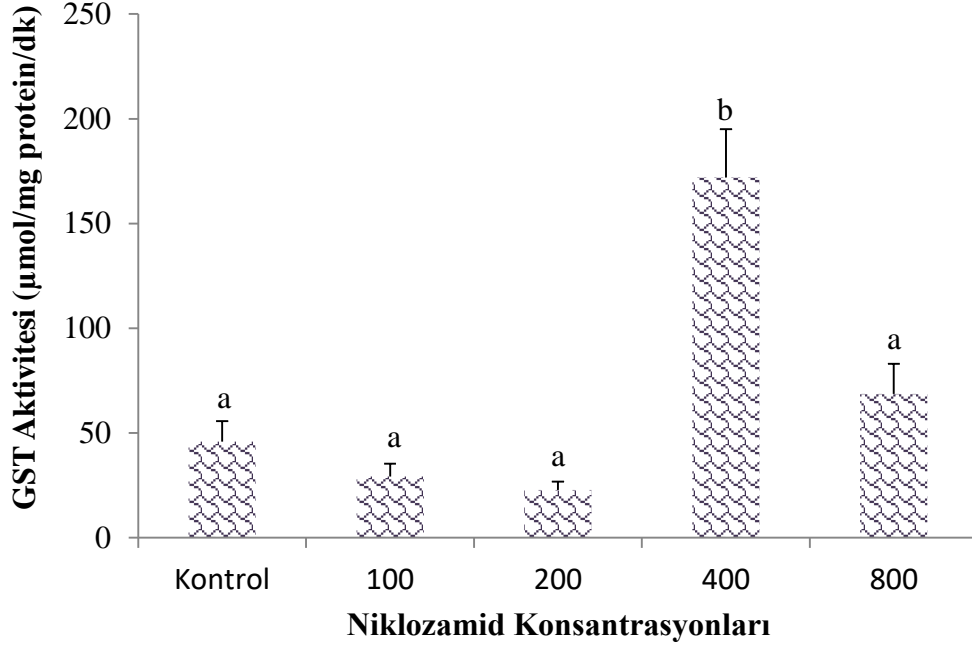
Şekil 4.18 Niklozamidin *D. melanogaster*'in 3. evre larva, pup ve ergin bireylerinin GST aktivitesine etkisi.

*D. melanogaster*'in 3.evre larvalarının GST aktivitesi, kontrol grubu (niklozamid içermeyen besin) ile içerisinde farklı konsantrasyonlarda (100, 200, 400 ve 800 mg/L) niklozamid bulunduran besinler incelendiğinde; kontrol grubunda, GST miktarı  $51,24 \pm 10,5$   $\mu\text{mol/mg}$  protein/dk bulunmuş olup bu değer sırası ile en düşük konsantrasyondan en yüksek konsantrasyona doğru;  $22,84 \pm 3,4$ ,  $45,55 \pm 3,0$ ,  $22,83 \pm 1,5$  ve  $26,59 \pm 7,0$   $\mu\text{mol/mg}$  protein/dk olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3) (Şekil 4.19).



Şekil 4.19 Niklozamidin *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarının GST aktivitesine etkisi.

Niklozamidin *D. melanogaster*'in puplarının GST aktivitesi üzerine etkisine bakıldığında kontrol grubunda GST aktivitesi  $45,82 \pm 9,8$   $\mu\text{mol/mg}$  protein/dk olarak tespit edilmiştir olup; 100 ve 200 mg/L niklozamid konsantrasyonlarında GST aktivitesi sırası ile  $29,15 \pm 6,2$   $\mu\text{mol/mg}$  protein/dk ve  $22,79 \pm 4,0$   $\mu\text{mol/mg}$  protein/dk olarak tespit edilmiştir. Fakat GST aktivitesindeki bu azalma istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır (Çizelge 4.4) (Şekil 4.20). Buna karşılık 400 mg/L niklozamid konsantrasyonunda GST aktivitesi önemli derecede artırmıştır. Bu konsantrasyonda GST aktivitesi  $171,99 \pm 23,0$   $\mu\text{mol/mg}$  protein/dk'ya kadar yükselmiştir.

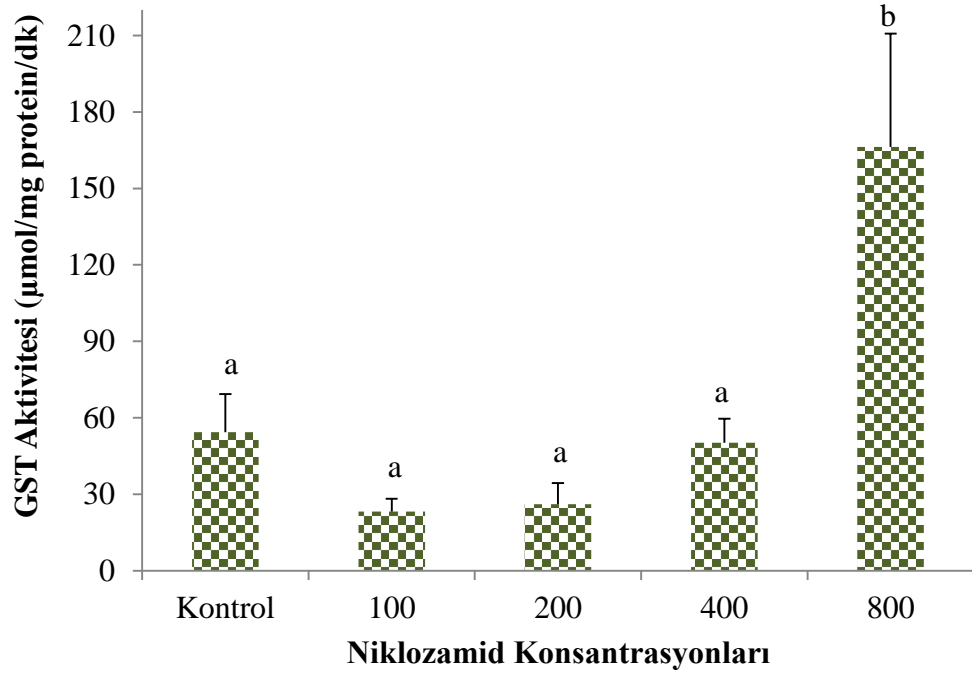


Şekil 4.20 Niklozamidin *D. melanogaster*'in puplarının GST aktivitesine etkisi.

*D. melanogaster*'in ergin evredeki GST aktivitesi üzerindeki etkileri incelendiğinde niklozamidin 100 ve 200 mg/L konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir düşüş gözlemlenmiştir; bu azalma sırasıyla  $23,16 \pm 5,1$ ,  $26,05 \pm 8,3$  µmol/mg protein/dk olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.5) (Şekil 4.21).

En yüksek niklozamid konsantrasyonu (800 mg/L) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, GST aktivitesini yaklaşık olarak 3 katı kadar artırmıştır. Kontrol grubunda tespit edilen GST aktivitesi  $54,31 \pm 15,0$  µmol/mg protein/dk'dır (Çizelge 4.5).





Şekil 4.21 Niklozamidin *D. melanogaster*'in ergin bireylerinin GST aktivitesine etkisi.

**Çizelge 4.3** Niklozamidin *D. melanogaster* son evre larvalarındaki MDA, protein karbonil miktarı ve GST aktivitesi üzerine etkisi.

Niklozamidin (mg/L)	MDA (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)†	Protein Karbonil (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)†	GST aktivitesi (µmol/mg protein/dk) (Ort* ± S.H)†
0§	0,99 ± 0,15a	341,13 ± 92,5a	51,24 ± 10,5a
100	0,43 ± 0,10b	97,68 ± 23,0b	22,84 ± 3,4b
200	0,37 ± 0,04b	76,89 ± 4,2b	45,55 ± 3,0a
400	0,47 ± 0,14b	118,87 ± 1,6b	22,83 ± 1,5b
800	0,56 ± 0,07b	381,02 ± 84,5a	26,59 ± 7,0b

\*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 larva kullanıldı.

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

§Kontrol besini (Niklozamid içermeyen).

**Çizelge 4.4** Niklozamidin *D. melanogaster* pup evresindeki MDA, protein karbonil miktarı ve GST aktivitesi üzerine etkisi.

Niklozamidin (mg/L)	MDA (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)†	Protein Karbonil (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)†	GST aktivitesi (µmol/mg protein/dk) (Ort* ± S.H)†
0§	1,50 ± 0,42a	339,86 ± 64,3a	45,82 ± 9,8a
100	0,58 ± 0,14b	220,50 ± 43,0a	29,15 ± 6,2a
200	0,59 ± 0,09b	182,02 ± 45,5a	22,79 ± 4,0a
400	1,67 ± 0,06a	384,37 ± 88,2ab	171,99 ± 23,0b
800	0,71 ± 0,04b	123,08 ± 10,6ac	68,66 ± 14,4a

\*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 pup kullanıldı.

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

§Kontrol besini (Niklozamid içermeyen).

**Çizelge 4.5** Niklozamidin *D. melanogaster* ergin evresindeki MDA, protein karbonil miktarı ve GST aktivitesi üzerine etkisi.

Niklozamidin (mg/L)	MDA (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)†	Protein Karbonil (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)†	GST aktivitesi (µmol/mg protein/dk) (Ort* ± S.H)†
0§	1,32 ± 0,39a	158,63 ± 34,1a	54,31 ± 15,0a
100	1,68 ± 0,46a	171,55 ± 35,5a	23,16 ± 5,1a
200	1,75 ± 0,56a	342,50 ± 85,5 ab	26,05 ± 8,3a
400	1,08 ± 0,01a	243,63 ± 41,0a	50,14 ± 9,5a
800	1,95 ± 0,57a	95,35 ± 12,4ac	166,23 ± 44,5b

\*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 ergin kullanıldı.

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

§Kontrol besini (Niklozamid içermeyen).

## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA

Bu çalışmada *Drosophila melanogaster* model alınarak, salisilanilid grubu antihelmintik bir madde olan niklozamidin böceğin yaşama parametreleri ile oksidan ve antioksidan düzeyine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada sırasıyla iki sonuç elde edilmiştir. İlk olarak, yarı sentetik besine ilave edilen niklozamidin model organizma *D. melanogaster*'in yumurtadan yeni çıkmış larvalarının ergin evreye kadar yaşama, gelişimine, ergin ömür uzunluğuna etkisi incelenmiş olup, sonraki aşamada ise böceğin farklı gelişim evrelerindeki (larva, pup ve ergin) lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve antioksidan enzimlerden Glutatyon-S-Transferaz (GST) aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir.

Niklozamidin tüm konsantrasyonları 3. evreye ulaşma, pup ve ergin olma oranını önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir. Sak ve Uçkan (2009) tarafından yapılan çalışmada da Cpermethrinin *Galleria mellonella*'nın pupalaşma ve ölüm oranına etkileri araştırılmış, bizim sonuçlarımıza benzer şekilde cpermethrin dozunun arttıkça larval gelişim ve pup olma süresinin geciktirdiğini, pup olma oranının azaldığını ve yaşama oranını arttığını belirtmişlerdir. Bazı çalışmalarda ise zararlı böcekler ile mücadele için çeşitli besinlere ilave edilen borik asit ve sodyum tetraborat gibi bor türevi kimyasalların yüksek konsantrasyonlarda gelişmeyi geciktirdiği, yumurta üretimini ve açılımını azalttığı, larval ve pupal evrede ölüm oranını ve ergin ömür uzunluğunu arttırdığı gözlenmiştir (Zurek et al. 2003, Xue and Barnard 2003, Gore and Schal 2004, Gore et al. 2004, Hyršl et al. 2007). Bir başka çalışmada Cisneros ve arkadaşları (2002) borik asitin % 0,5 ve % 1'lik konsantrasyonları tek başına *Spodoptera frugiperda*'nın yaşama oranı üzerine etkili olmadığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmada niklozamid miktarı arttıkça ergin ömür uzunluğunda istatistiksel olarak önemli bir düşüş olduğu gözlemlenmiştir. Antioksidan bir madde olan sodyum hipofosfit içeren besinle beslenen bir dipter *Zaprionus paravittiger*'de katalaz aktivitesinin arttığı ve ömür uzunluğu ile katalaz aktivitesi arasında olumlu bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Wadhwa and Sharma 1987).

Benzer şekilde antioksidan madde olarak düşük konsantrasyonlarda butillenmiş hidroksi anisol ile beslenen *Z. paravittiger*'in yaşama süresi uzamış, gelişme gecikmiş, yumurta verimi azalmıştır (Wadhwa and Sharma 1987). Bizim sonuçlarımızda da niklozamidin en yüksek konsantrasyonda ergin ömür uzunluğu kontrol besinine göre önemli derecede düşmüş olup aynı konsantrasyonda ergin evredeki antioksidan enzimlerden GST aktivitesi de önemli derecede yükselmiştir.

Niklozamidin en yüksek konsantrasyonu (800 mg/L) tüm gelişim evrelerinde gelişme süresinin önemli derece uzamasına neden olurken denenen diğer niklozamid konsantrasyonlarının gelişme süresi üzerine önemli bir etkisi olmamıştır. Daha önceden Büyükgüzel ve Kayaoğlu 2014 tarafından yapılan bir çalışmada *G. mellonella* larvaları kullanılarak niklozamidin in vivo insektisit etkisi araştırılmış; niklozamid, 7. evre larva, pupa ve ergin evrelerinin yaşama oranını önemli derecede düşürdüğü tespit edilmiş, bizim sonuçlarımıza benzer şekilde denenen en yüksek niklozamid konsantrasyonu (% 1,0) ergin gelişme süresini önemli derecede uzatmıştır. Niklozamidin en yüksek konsantrasyonu böceğin larval gelişimini 5 gün, pupal gelişimini 4 gün, ergin evreye gelişimini ise 6 gün ( $45,4 \pm 1,3$  gün) geciktirmiştir. Yapılan çalışmada ise kontrol besinle karşılaştırıldığında 3. evreye ulaşma süresini 1 gün, ergin olma süresini de 3 gün uzatmıştır. Benzer bir çalışmada da oksidatif hasarın tamirinde rol alan proteinler grubundaki metiyonin içeren peptitlerin (peptid-S-metiyonin sülfoksit redüktaz) *D. melanogaster*'de aşırı üretilmesi maksimum yaşam süresini artırmış, glutamate-cysteine ligase (GCL)'ın aşırı üretilmesi ömür uzunluğunu % 24 artırmış, apolipoprotein D'nin aşırı üretimi hidrojen peroksida ( $H_2O_2$ ) dirençte etkili olup *D. melanogaster*'in ömür uzunluğunu % 26 oranında uzattığı belirtilmiştir (Muller ve ark., 2007). Cruz ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise (2009) *Apis mellifera* (L.)'nın besinine 2,5 ve 7,5 mg/g (mg/g besin) oranında ilave edilen borik asit, kontrol grubuna göre işçi larvaların ölüm oranını ilerleyen günlere göre artırmış olup borik asitin 2,5 mg'ı 5. ve 6. günde larvaları % 100 oranında öldürürken, 7,5 mg'da 4. günde % 100 ölüm oranına ulaşmıştır.

Birçok biyomolekülün çeşitli enzim aktivitelerinin düzenlenmesinde ve hücre membranlarının bütünlüğünün korunmasında rol aldığı bilinmektedir. Bu kapsamda larval dönemde alınan besinin böcek gelişimde oldukça önemli bir yeri bulunmaktadır (Kalyoncu ve Aksoylar 2000). Bu çalışmada niklozamidin böceğin yaşama ve gelişme parametrelerinde olumsuz etkisinin olduğu tespit edilmiş olup, bunun ile ilişkili olarak böceğin tüm gelişim evrelerindeki Malondialdehid (MDA), Protein Karbonil (PCO) miktarlarında ve Glutatyon-S-Transferaz

(GST) aktivitesinde de önemli değişiklikler gözlemlenmiştir. Benzer bir etkinin de streptomisin ile yetiştirilen bir başka böcek türü olan *G. mellonella* larvalarının orta bağırsağında MDA ve PCO miktarının önemli derecede arttığı gösterilmiştir (Büyükgüzel and Kalender, 2008). Besine ilave edilen 100, 200, 400 ve 800 mg/L niklozamid miktarlarında böceğin larval evresindeki MDA, PCO miktarlarının ve bu indikatörlere paralel olarak GST aktivitesinin de kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. Bu düşüşün niklozamidin böceğin yetiştirildiği kültür ortamını sağladığımız besinin yapısında değişiklik yapmadığı hatta mevcut yapay besin bileşenleri üzerinde olumlu yönde bir etkisinin olduğu görülmektedir. Laboratuvar ortamında yapay besin ile yetiştirilen böcek türlerinde en sık karşılaşılan sorun mikrobiyal kontaminasyonlardır (Büyükgüzel and Kalender 2008). Bu amaçla beslenme çalışmalarında yapay besin ortamlarında oluşabilecek kontaminasyonları önlemek ve yüksek kalitede ergin bireyler yetiştirmek amacıyla çeşitli antimikrobiyal ajanlar kullanılmaktadır (Büyükgüzel and Kalender 2008). Elde edilen sonuçlar doğrultusunda denenen niklozamid miktarlarının besin kalitesini artırarak larval evrede MDA, PCO ve GST aktiviteleri üzerinde olumlu etki yaptığı, larval ve pup gelişim evrelerindeki MDA miktarındaki azalmanın böcek tarafından geliştirilen bir adaptasyondan kaynaklanacağı düşünülmektedir. PCO ve MDA miktarlarındaki azalmanın böceğin antioksidan savunma sistemi enzimlerinin iyi çalışması sonucunda da azalmış olabileceği göz önünde bulundurulabilir. Bunun yanı sıra aynı böcek türünün farklı gelişim evrelerinde bile değişik fizyolojik koşullara ve besinsel maddelere gereksinim duyulduğu bilinmektedir (Grenier et al. 1986). Bu yüzden denenen niklozamidin besinsel karışımdaki etkisinin böceğin farklı evrelerinde yaşam parametreleri ve biyokimyasal analizlerdeki değişimler beklenen bir sonuçtur.

Ksenobiyotiklerin dokularda oksidatif strese bağlı olarak, MDA ve PCO düzeyinde artışa neden olduğu bilinmektedir (Büyükgüzel and Kalender 2008). *D. melanogaster*'in pup evresinde 400 mg/L bulunan niklozamid konsantrasyonu ve ergin evrede ise 200 mg/L niklozamid miktarı önemli oksidatif stres belirteçlerinden biri olan PCO miktarını önemli derecede arttırmıştır. Bu sonuçlar niklozamidin böceklerin biyolojik özellikleri üzerindeki etkilerinin oksidatif stres ile ilişkili olduğunu gösterdiği gibi diğer taraftan niklozamid konsantrasyonuna ve böceğin evrelerine göre de değiştiğini göstermektedir. Pup evresinde 400 mg/L niklozamid konsantrasyonu ve ergin evrede en yüksek konsantrasyon 800 mg/L'de GST aktivitesinin önemli derecede yükseldiği tespit edilmiştir. Bu artışın PCO miktarındaki artışla paralel olduğu görülmektedir. Sonuçlar niklozamidin asıl etki mekanizmasının yanında ikincil bir etki mekanizması olarak oluşturduğu oksidatif stres aracılığıyla böceklerin yaşam parametrelerini

ve diğ er biyokimyasal işlevlerini etkileyebileceğ i düşünölmüştür. Benzer bir etki Agianian vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada da gösterilmiştir. *D. melanogaster*'de GST-Delta (GST-1) ve GST 2 olarak GST'nin başlıca iki formu, *Drosophila stimulans*'da ise GST'in üçüncü bir formunun (GST-Epsilon) bulunduğ unu belirtmiştir. Hunaiti vd. (1995) GST-Delta sınıfının üçüncü form ile birlikte *Drosophila*'da insektisitlere direnci arttırdığ ını, GST 2'nin ise daha çok böceğ in uçuş kaslarında bulunduğ unu tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise borik asitin 620 ppm ve daha yüksek konsantrasyonlarının (1250 ve 2500 ppm) *G. mellonella*'nın yaşama oranını düşürdüğ ü, gelişme süresini kısalttığ ı, ergin ömür süresini ise uzattığ ını gösterilmiş; ve bu konsantrasyonların böceğ in son evre larvaları ile yeni pup olmuş bireylerin hemolenf ve yağ dokusundaki MDA miktarını arttırmış, antioksidan enzimler Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), GST ve Glutasyon Peroksidaz (GPx) aktivitelerini ise önemli derecede değ iştirdiğ i gösterilmiştir (Hyrşl et al. 2007). Yapılan bir çalışmada da Endosülfanın *Helicoverpa armigera* (Hübner)'nin farklı evrelerindeki GST aktivitesi üzerine etkisi incelenmiş ve aktivitenin böcek yumurtalarında, pup ve ergin evrelerinde en düşük seviyede olduğ u ortaya çıkarılmış ve bu düşüşün maruz kalınan kimyasala karşı böceğ in direnç göstermesi olarak ileri sürölmüştür (Rajurkar et al. 2003).

Bazı böcek türleri üzerinde yapılan birç ok çalışmada ksenobiyotiklerin böceğ in çeşitli dokularında oksidatif strese neden olduğ u ve bu strese karşı antioksidatif savunma mekanizmalarında değ işiklikler tespit edilmiştir (Slepneva ve ark. 1999, Glupov ve ark. 2001, 2003, Lozinskaya ve ark. 2004, Aucoin ve ark. 2005). Niklozamidin yüksek konsantrasyonlarında (400-800 mg/L) *D. melanogaster*'in pup ve ergin evrelerinde GST aktivitesindeki artışın besin karışımına ilave edilen niklozamidin prooksidan etkisinden kaynaklanabilir. Organofosfat insektisitlerden Diazinonun farklı konsantrasyonlarının *Pimpla turionella*'nın SOD ve CAT enzim aktiviteleri üzerine etkilerinin araştırıldığ ı bir çalışmada, kontrol grubuyla karşılaştırıldığ ında SOD aktivitesi önemli derecede arttığ ı, buna paralel şekilde CAT aktivitesinin de yükseldiğ i gösterilmiştir (Kayış ve ark. 2012). Bir Juvenil hormon analog u olan Priproksifenin *G. mellonella* larvalarındaki SOD ve CAT aktiviteleri üzerine etkisi araştırılmış ve Priproksifenin 0,0001, 0,0005, 0,001 ve 0,005 mg/ml miktarlarının 24, 48 ve 72 saatlik uygulamalar sonucunda antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktivitelerinde yükselmenin olduğ u gösterilmiştir (Sezer ve Ozalp 2015). Bir başka çalışmada ise organofosfat insektisit olan fenitrotiyonun pamuk çizgili yaprak kurdu *Spodoptera exigua* L. ve un zararlısı olan *Tenebrio molitor* L. türlerinin yağ dokusu ağırlığ ında ve antioksidan enzimlerden SOD ve CAT aktiviteleri üzerinde değ işikliğ e sebep olduğ u gösterilmiştir (Adamski et al. 2003).



Kadmiyum bir heteropter tür *Oncopeltus fasciatus* (Dallas) 'un lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA seviyesini arttırmış ve bazı antioksidan enzimlerin (CAT, GR, GST) aktivitelerini düşürmüştür (Cervera et al. 2003).

Bu çalışmada yapay besine ilave edilen salisilanilid grubu bir antihelmintik madde olan niklozamidin *D. melanogaster*'in biyolojik özellikleri üzerine etkisi ve ayrıca 3. evre larvaları, pup ve ergin evrelerindeki lipid peroksidasyon ve protein oksidasyonu düzeyleri ile detoksifikasyon enzimi GST aktivitesine etkisi incelenmiş olup, larval evrede besinle alınan farklı konsantrasyonlardaki niklozamidin böceğin bazı biyolojik özellikleri üzerindeki etki mekanizmasının oksidatif stres ile ilişkisinin biyokimyasal ve fizyolojik temelleri ortaya konmaya çalışılmıştır. Bu konuda farklı etki mekanizmasına ve kimyasal yapıya sahip olan antibiyotiklerle farklı böcek grupları üzerinde çalışmalar yapılmaktadır fakat daha geniş bir böcek grubu ile de detaylı çalışmalara da ihtiyaç bulunmaktadır.



## BÖLÜM 6

### SONUÇ

Antihelmintiklerin parazitlerdeki asıl etki mekanizmalarının yanı sıra, omurgalılarda antioksidan enzim aktivitesinin değişimine sebep olduğu bilinmektedir. Ancak antihelmintiklerin böceklerde, oksidatif stresin önemli bir göstergesi olan lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonuna sebep olduğuna yönelik çok az bilgi bulunmaktadır (Büyükgüzel ve Kayaoğlu 2014). Bu çalışma ile de antihelmintik maddelerin böcekler üzerindeki etki mekanizmasının anlaşılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bunun yanı sıra niklozamidin *D. melanogaster*'in yaşam parametreleri ile ilişkili olarak oksidatif etkileri anlaşılmasına çalışılmıştır. Aynı zamanda bu çalışma ile Diptera takımına ait olan *D. melanogaster* model alınarak genelde diğer zararlı türlerin kimyasal mücadelesinde antifungal, antibakteriyel, antihelmintik antibiyotiklerin besinsel karışımlarının kullanılabilirliğinin laboratuvar şartlarında araştırılması konusunda katkıda bulunacağı görüşündeyiz. Zararlı böcekler ile mücadelede çevre ve hedef olmayan canlılara şu anda kullanımda olan insektisitler kadar zararlı olmayan maddelerin kullanımına yönelik bir stratejiye öncülük edilmiş olmasıdır.



## KAYNAKLAR

- Adamski Z, Emnicki Z K, Fila K, Zikic R V and Stajn A** (2003) Effects of long-term exposure to fenitrothion on Spodoptera exigua and Tenebrio molitor larval development and antioxidant enzyme activity. *Biology Letters*, 40: 43-52.
- Agianian B, Tucker P A, Schouten A, Leonard K, Bullard B and Gros P** (2003) Structure of a *Drosophila* Sigma class Glutathione S-transferase reveals a novel active site topography suited for lipid peroxidation products. *Journal of Molekuler Biology*, 326: 151-65.
- Alverson J and Cohen A C** (2002) Effect of antifungal agents on biological fitness of *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae). *Journal of Economic Entomology*, 95: 256-260.
- Ashburner M** (1989) *Drosophila* a Laboratory Handbook, Cold Spring Harbor Press, New York, 689 p.
- Bagcı G ve Bozcuk A N** (1991) Ergin *Drosophila*'nın ömür uzunluğuna sıcaklık ve ışığın etkisi. *Doğa-Turkish Journal of Biology*, 15: 1-8.
- Bagcı G, Bagcı H ve Bozcuk A N** (1990) Minimum sıcaklık dalgalanmalarının ömür uzunluğuna etkisi. *Doğa-Turkish Journal of Biology*, 14: 1-5.
- Balcıoğlu İ C** (2003) Helmint enfeksiyonlarının ve artropod enfestasyonlarının sağaltımındaki yenilikler. *13. Parazitoloji Kongresi Bildiri Kitabı*, Konya, s. 58-66.
- Benay Sezer and Pinar Ozalp** (2015) Effect of Juvenile Hormone Analogue, Pyriproxyfen on Antioxidant Enzymes of Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae: Galleriinae) Larvae. *Pakistan Journal of Zoology* vol. 47(3): 665-669.
- Bonomo R A and Salata R A** (1996) Antiparasitic drugs for children, *Nelson WE (Sen. ed.), Behrman R E, Kliegman R M, Arvin A M (eds): Nelson Textbook of Pediatrics*, 15. baskı, W.B. Saunders Company, Pennsylvania, pp. 1007-13
- Bownes M** (1975) A photografic study of development in the living embryo of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 33: 789-801.
- Browder L, W Erickson C A and Jeffery W R** (1991) *Developmental Biology*, Saunders College Publishing, ISBN 0-03-013514-1, United States of America, 754 p.
- Buchon N, Osman D, David F P A, Yu Fang H, Boquete J P, Deplancke B and Lemaitre B** (2013) Morphological and molecular characterization of adult midgut compartmentalization in *Drosophila*. *Cell Rep*, 3: 1725-38.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Büyükgüzel E and Kalender Y** (2008) *Galleria mellonella* survivorship, development and protein content in response to dietary antibiotics. *Journal of Entomological Science*, 43: 27-40.
- Büyükgüzel E ve Kayaoğlu S** (2014) Niklozamidin *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'nın Bazı Biyolojik ve Fizyolojik Özelliklerine Etkisi. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 38 (1): 83-99.
- Büyükgüzel K ve Yazgan Ş** (2002) Effects of antimicrobial agents on survival and development of larvae of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) reared on an artificial diet. *Turkish Journal of Zoology*, 26: 111-119.
- Cervera A, Maymo A C, Martinez-Pardo R and Garcera M D** (2003) Antiooxidant enzymes in *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae) exposed to cadmium. *Environ. Entomol.*, 32: 705-710.
- Cisneros J, Perez J A, Penagos D I, Goulson D, Caballero, Cave D R and Williams T** (2002) Formulation of a nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of Spodoptera frugiperda in maize. *Biological Control*, 23: 87-95.
- Cruz S A, Silva Zacarin E C M, Bueno O C and Malaspina O** (2009) Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honey bee (*Apis mellifera*) larvae. *Cell Biology Toxicology*, 26: 165-176.
- Çakır Ş ve Sarıkaya R** (2004) Bazı Organik Fosforlu İnsektisitlerin *Drosophila melanogaster*'in Yaşama Yüzdesi Üzerine Etkisi *GÜ, Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 24 (3): 71-80.
- Demirsoy A** (2003) *Yaşamın Temel Kuralları*, Omurgasızlar Böcekler, Entomoloji, Cilt 2 Bölüm 2., ISBN:978-605-4460-33-5, Hacettepe Yayınevi, Ankara, s.218-230
- Doane W W** (1967) *Drosophila: Methods in Developmental Biology*, Edited by F H Wilt, N K Vessels pp. 214-219.
- Economos A C and Lints F A** (1984) Growth rate and life span in *Drosophila* I. Methods and mechanisms of variation of growth rate, *Mechanisms of Ageing and Development*, 27: 1-13.
- Falakalı B** (1990) *Drosophila Genetiği*, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi Yayınları, İzmir.
- Foley P A and Luckinbill L S** (2001) The effects of larval behavior on adult life history features in *Drosophila melanogaster*, *Evolution*, 55 (12): 2493-2502.
- Fulga T and Rorth P** (2002) What directs the migration of cells?, [www.embl.heidelberg.de/ExternalInfo/oipa/ar2002/ar02\\_35.pdf](http://www.embl.heidelberg.de/ExternalInfo/oipa/ar2002/ar02_35.pdf).
- Gore J C and Schal C** (2004) Laboratory evaluation of boric acid-sugar solutions as baits for management of German cockroach infestation. *Journal of Economic Entomology*, 97: 581-587.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Gore J C, Zurek L, Santangelo R G, Stringham S M, Watson D W and Schal C** (2004) Water solutions of boric acid and sugar for management of German cocroach populations in livestock production system. *Journal of Economic Entomology*, 97: 715-720.
- Graf U, Van Schaik, N and Würgler F E** (1992) *Drosophila* Genetics: A Practical Course, Springer-Verlag Press, New York, 239 p.
- Grenier S and Liu W H** (1990) Antifungals: Mold control and safe levels in artificial Media for *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Entomophaga*, 35: 283-291
- Grover J K, Vats V, Uppal G and Yadav S** (2001) Antihelmintics: a review, *Trop. Gastroenterology*, 22 (4): 180-9.
- Güler Ç ve Çobanoğlu Z** (1997) *Pestisitler*. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52, ISBN 975-8088-69-6, İlköz Matbaası, Ankara, 173 s.
- Habig W H, Pabst M J and Jakoby W B** (1974) Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249: 7130-7139.
- Halley B A, Jacob T A and Lu A Y H** (1989) The environmental impact of the use of ivermectin. Environmental effects and fate. *Chemosphere*, 18: 1543-1563.
- Haynes K F** (1988) Sublethal Effects of Neurotoxic Insecticides on Insect Behavior. *Annual Review Entomology*, (33):149-68.
- Hodge S** (2001) The effect of pH and water content of natural resources on the development of *Drosophila melanogaster* larvae. *Drosophila Information Service*, 84: 38-43.
- Hunaiti A A and Elbettiha A M** (1995) Developmental studies on *Drosophila melanogaster* Glutathione –S-transferase and its induction by oxadiazolone. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 25: 1115-1119.
- 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.
- Inglis G D and Cohen A C** (2004) Influence of antimicrobial agents on the spoilage of a meat-based entomophage diet. *Journal of Economic Entomology*, 97: 235-250.
- Ishaaya I** (2000) Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance, Springer-Verlag .
- 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. Berlin Heidelberg, New York, 342 p.
- Kalthoff K** (1996) Analysis of Biological Development, McGraw – Hill Inc., USA, 738 p.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Krishnan N and Kodrik 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.
- Kayış T, Emre İ and Coşkun M** (2012) Effects of diazinon on antioxidant enzymes and adult emergence of the parasitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) *Türkiye entomoloji dergisi*, 36 (4): 463-471.
- Kalyoncu L ve Aksoylar M Y** (2000) Besinsel Yağ Asitlerinin Farklı Oranlarının *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) Ergin Dişilerinin Yumurta Verimine Etkileri *S.Ü.Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi Araştırma Makalesi*, 100: 99-105.
- 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 & Comparative Immunoloji*, 31: 1255-1263.
- Liles J N** (1958) Some effects of dietary penicillin on the german cockroach, *Blattella germanica* (L.) (Orthoptera: Blattidae). *Ohio Journal of Science*, 58: 84-96.
- Lints F A and Lints C V** (1971) Influence of preimaginal environment on fecundity and aging in *Drosophila melanogaster* hybrids-II. Preimaginal temperature. *Experimental Gerontology*, 6: 417-426.
- Lowry O H, Rosebrough N L, Farr A L and Randall R J** (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 19: 265.
- Macri A, Stazi V and Dojmi di Delupis G** (1988) Acute toxicity of furazolidone on *Artemia salina*, *Daphnia magna* and *Culex pipiens molestus* larvae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*.16: 90-94.
- Mcintyre G S and Gooding R H** (2000) Effects of maternal age on larval competitiveness in house flies. *Heredity*, 85: 480-489.
- Ouye M T** (1962) Effects of antimicrobial agents on microorganisms and pink bollworm development. *Journal of Economic Entomology*, 55: 854-857.
- Özata L** (2006) Bazı tekstil boyaalarının *Drosophila melanogaster* üzerinde toksik ve genotoksik etkilerinin araştırılması, *Doktora Tezi*, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilimdalı, İnönü Üniversitesi, Malatya, 123 s.
- Özparlak H** (2003) Böceklerde Kutikulanın Yapısı, Deri Değişirme ve Diflubenzuron'un (DFB) Etkileri. *S.Ü. Fen-Edb. Fakültesi Fen Dergisi*, Sakarya, 21: 7-19.
- Pajot P** (1976) Fluorescence of Proteins in 6-M Guanidine Hydrochloride. *European Journal of Biochemistry*, 63: 263-269.
- 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.



## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Rajurkar R B, Khan Z H and Gujar G T** (2003) Studies on levels of glutathione-S-transferase, its isolation and purification from *Helicoverpa armigera*. *Current Science*, 85: 1355-1360.
- Roberts D B** (2006) *Drosophila melanogaster*: the model organism. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 121: 93-103.
- Rogina B Reenan R A Nilsen S P and Helfand S L** (2000) Extended life-span conferred by contranporter gene mutations in *Drosophila*. *Biogerontology Science*, 290: 2137-2140.
- Sarıkaya R, Selvi M, Akkaya N, Acar M ve Erkoç F** (2010) Farklı Konsantrasyonlardaki Gıda Boyalarının *Drophosila melanogaster* (mwh x flr)'de Yaşama Yüzdesi Üzerine Etkisi. *SDÜ Fen Dergisi (E-Dergi)*, Isparta, 5 (1): 38-46.
- Sak O and Uçkan F** (2009) Effects of cypermethrin exposed to host on the developmental biology of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 102 (2): 288-294.
- Schmidt C D** (1983) Activity of an Avermectin against selected insects in Aging Manure. *Environmental Entomology*, 12: 455-457.
- Sestini E A, Carlson J C and Allsopp R** (1991) The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase, and phospholipase A2 activity in *Drosophila melanogaster*. *Experimental Gerontology*, 26:385-395.
- Singh P and House H L** (1970) Antimicrobials safe levels in a synthetic diet of an insect, *Agria affinis*. *Journal of Insect Physiology*, 16: 1769-1782.
- Snedecor G S and Cochran W G** (1989) *Statistical methods*, 8<sup>th</sup> edn., Iowa State University Press, Ames, IA.
- Şanlı Y ve Kaya S** (1994) *Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağıtım Seçenekleri Kitabı*, 2.Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, s. 651-669.
- Türel N** (2013) Gıda Katkı Maddesi Ferrolaktat' ın *Drosophila melanogaster*'in Yaşam Döngüsündeki Larva, Pupa ve Ergin Sayıları Üzerindeki Etkileri, Yüksek lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Edirne, 60 s.
- URL-1** (2017) < <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4477#section=Top>>, Ziyaret tarihi: 18.06.2017.
- Vail P V, Hennebery T J, Kishaba A N and Arakawa K Y** (1968) Sodium hypochlorite and formalin as antiviral agents against nuclear polyhedrosis virus in larvae of the *Cabbagelooper*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 10: 84-93.
- Wadhwa R and Sharma S P** (1987) Studies on catalase in ageing *Zaprionus paravittiger* (Diptera) with special reference to an antioxidant feeding. *Mechanisms of Ageing and Devolopment*, 40: 139-147.

## KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Xie Z N, Nettles Jr C W, Morrison R K, Irie K and Vinson S B** (1986) Three methods for the in vitro culture of *Trichogramma pretiosum* Riley. *Journal of Entomological Science*, 21: 133-138
- Xue R D and Barnard D R** (2003) Boric acid bait kills adult mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal Economic Entomology*, 96: 1559-1562.
- Yonemura I, Motoyama T, Hasekura H and Boettcher B** (1991) Relationship between genotypes of longevity genes and developmental speed in *Drosophila melanogaster*. *Heredity*, 66: 143-149.
- Zurek L, Gore J C, Stringham M S, Watson D W, Waldvogel M G and Schal C** (2003) Boric acid dust as a component of an integrated cockroach management program in confined swine production. *Journal Economic Entomology*, 96: 1362-1366.

## ÖZGEÇMİŞ

Gökçe ÜSTÜNDAĞ 1988'de İstanbul'un Fatih ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini İstanbul'da tamamladı. Fatih Ahmet Rasim Lisesinden mezun olduktan sonra 2009 yılında Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdi. 2014 yılında Biyoloji Bölümünden mezun olduktan sonra aynı yıl girdiği, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programındaki araştırmalarına devam etmektedir.

### **ADRES BİLGİLERİ:**

**Adres:** Bülent Ecevit Üniversitesi,  
Fen Edebiyat Fakültesi (Yeni Eğitim Bloğu),  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,  
Böcek Kültür Odası (Oda No: 141)  
İncivez/Zonguldak

**Tel:** 0(531) 887 04 34

**E-posta:** gokce.ustundag1@gmail.com