

BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GEMİFLOKSASİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER* (MEIGEN) (DIPTERA:
DROSOPHILIDAE)'İN BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NİLAY KONAK

NİSAN 2016

BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GEMİFLOKSASİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER* (MEIGEN) (DIPTERA:
DROSOPHILIDAE)'İN BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nilay KONAK

DANIŞMAN: Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

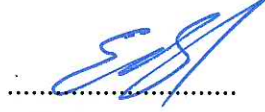
ZONGULDAK

Nisan 2016

KABUL:

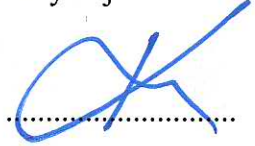
Nilay KONAK tarafından hazırlanan “Gemifloksasinin *Drosophila melanogaster* (Meigen) (Diptera: Drosophilidae)’in Bazı Biyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 25/04/2016

Danışman: Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL



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

Üye: Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL



Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

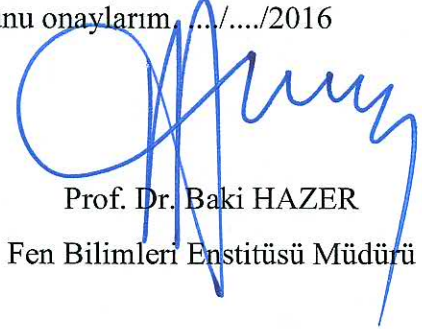
Üye: Yrd. Doç. Dr. Meltem ERDEM



Bülent Ecevit Üniversitesi, Ahmet Erdoğan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu

ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım./..../2016



Prof. Dr. Baki HAZER
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.”



Nilay KONAK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GEMİFLOKSASİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER* (MEIGEN) (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)'İN BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Nilay KONAK

Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

Nisan 2016, 45 sayfa

Zararlı böcekler ile mücadelede, çevreye ve yararlı organizmalara olumsuz etkisi olan sentetik organik insektisitler yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla toksik olmayan veya daha az çevresel zararı olan kimyasalların kullanılması konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmada antibakteriyel bir antibiyotik olan gemifloksasin (mesilat tuzu) *Drosophila melanogaster* (Meigen) larvalarını yetiştirmek için kullanılan yapay besin ortamına eklenerek, böceğin yaşam oranı, gelişim süresi, ergin erkek ve dişi ömür uzunlukları üzerine etkisi laboratuvar koşullarında incelendi. Ayrıca, bu florokinolon sınıfı kimyasal maddenin, *D. melanogaster*'indeki bireylerinden elde edilen yumurtalarda lipid peroksidasyonu ürünü, malondialdehid (MDA) miktarı, protein oksidasyonu ürünü protein karbonil (PCO) miktarı ve glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi üzerine etkisi incelendi. Birinci evre larvaları 150, 300, 600 ve 900 mg/L gemifloksasin içeren besin ortamlarına bırakılarak ergin evreye kadar beslendi. Kontrol besininde 3. evreye ulaşan larva oranı % 88,00 ± 2,00 iken denenen en yüksek konsantrasyon olan 900 mg/L'de bu oran % 7,00 ± 2,17'ye düştü. Benzer etki pup olma oranı üzerinde de elde edildi. Kontrol besininde 3. evreye ulaşma süresi 3,29 ± 0,21 gün iken, en yüksek konsantrasyonda bu süre 5,75 ± 1,70 güne uzadı.

ÖZET (devam ediyor)

Gemifloksasin ergin evreye kadar gelişme süresi ile ergin dişi ve erkek ömür uzunluğu üzerinde önemli bir etki yaptı. Kontrol besininden elde edilen dişilerde ergin ömür uzunluğu süresi $18,31 \pm 3,50$ gün olarak tespit edilirken, 150mg/L besinde bu değer $31,83 \pm 1,37$ güne uzadığı, en yüksek konsantrasyon olan 900 mg/L'de ise $10,82 \pm 3,19$ güne gerilediği belirlendi. Gemifloksasinin en düşük konsantrasyonu böceğin yumurtalarındaki MDA miktarını kontrol besinine göre istatistiki olarak önemli derecede azalttı. Böceğin yumurtalarındaki PCO ve GST aktivitesi incelendiğinde ise, gemifloksasin içermeyen kontrol besinindeki PCO miktarı ile en düşük konsantrasyondaki miktar karşılaştırıldığında önemli bir artış gözlenirken, en yüksek konsantrasyonda bu oksidatif stres parametrelerinin azaldığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, gemifloksasin, yaşama oranı, gelişme süresi.

Bilim Kodu: 401.02.00.

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

THE EFFECT OF GEMIFLOXACIN ON SOME BIOLOGICAL TRAITS OF *DROSOPHILA MELONAGASTER* (MEIGEN) (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)

Nilay KONAK

Bülent Ecevit University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

April 2016, 45 pages

Synthetic organic insecticides that is harmful for environment and beneficial organisms are intensively used in combating with pest insects. For this purpose, studies on the use of chemicals which are nontoxic or have less environmental impairment are being carried out. The effects gemifloxacin (mesylate salt) that is an antibacterial antibiotic on insect's survival rate and developmental time, male and female adult longevity was examined by adding to artificial diets used for cultivate *Drosophila melanogaster* (Meigen) larvae in laboratory condition. The effect of this fluoroquinolone compound on lipid peroxidation product, malondialdehyde (MDA), protein carbonyl (PCO) and glutathione S-transferase (GST) activities in the eggs of *D. melanogaster* were also investigated.

The first-instar larvae were placed onto diets that contain 150, 300, 600 and 900 mg/L of gemifloxacin and were fed until the adult emergence. While the larval survival rate that reached to the 3th. instar in control diet were $88.00 \pm 2.00\%$, this rate in 900 mg/L which is the highest tested concentration decreased to $7.00 \pm 2.17\%$.

ABSTRACT (continued)

Similar effects were obtained on pupation rate. The time to reach to 3th-instar was 3.29 ± 0.21 days in control, this developmental time in the highest concentration extended to 5.75 ± 1.70 days. Gemifloxacin significantly affected adult developmental time, male and female adult longevity. While female adult longevity was increased at the 150 mg/L (31.83 ± 1.37 days) compared with control diet (18.31 ± 3.50 days), this was significantly decreased at the highest concentration of gemifloxacin to (10.82 ± 3.19 days). Compared with control diet, the lowest concentration of gemifloxacin, the amount of MDA in eggs was decreased of statistically important level. Relative to the control, the highest concentration of gemifloxacin reduced the amount of protein carbonyl and GST activity in eggs but the lowest gemifloxacin concentration increased the seoxidative stress parameters levels.

Key Words: *Drosophila melanogaster*, gemifloxacin, developmental time, survival rate.

Science Code: 401.02.00.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada araştırma süresi boyunca ilgi, öneri, bilgilerinden yararlandığım ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL'e ayrıca çalışmamın deneysel ve yazım aşamasında moral desteği ve yardımlarını esirgemeyen, öneri ve bilgilerinden yararlandığım Karadeniz Ereğli Turizm Fakültesi Dekanı ve Biyoloji Bölüm Başkanı, Sayın Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen, Ahmet Erdoğan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Meltem ERDEM'eteşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve desteklerini hiç esirgemeyen anlayışları ve yardımlarından dolayı yüksek lisans arkadaşlarım Cihat ÇELİK ve Gökçe ÜSTÜNDAĞ'a, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Lisans Öğrencileri Çağrı ALKAN ve Çağdaş ÖZDEMİR'e teşekkür ederim.

Bütün eğitim-öğretim hayatım boyunca yanımda olan ve her konuda desteğini esirgemeyen annem Asuman KONAK ve babam Necati KONAK'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (PROJE NO: 2015-50737594-02).



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.....	5
2.1. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in YAŞAM DÖNGÜSÜ.....	5
2.2. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in SİSTEMATİKTEKİ YERİ.....	5
2.3. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in EVRELERİNİN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİ.....	7
2.4. GEMİFLOKSASİNİN FARMAKOLOJİSİ.....	11
BÖLÜM 3 MATERYAL VE METOD.....	13
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN GEMİFLOKSASİN MESİLAT.....	13
3.2. DENEYDE KULLANILAN <i>Drosophila melanogaster</i> LARVALARININ ELDE EDİLMESİ.....	14
3.3. KONSANTRASYON BELİRLEMEK AMACIYLA YAPILAN ÖN DENEMELER.....	14
3.4. GEMİFLOKSASİNİN <i>Drosophila melanogaster</i> ' in YAŞAMA ORANI VE GELİŞİM SÜRESİ İLE İLGİLİ YAPILAN DENEYLER.....	15
3.5. GEMİFLOKSASİNİN <i>Drosophila melanogaster</i> 'in ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ YAPILAN DENEYLERİ.....	15

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3.6. BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	16
3.7. MDA MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ.....	16
3.8. PCO MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ.....	17
3.9. GST AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜLMESİ.....	17
3.10. TOPLAM PROTEİN MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ.....	17
3.11. VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	18
BÖLÜM 4 ARAŞTIRMA BULGULARI.....	19
4.1. GEMİFLOKSASİNİN <i>Drosophila melanogaster</i> LARVALARININ YAŞAMA ORANI VE GELİŞME SÜRESİ ÜZERİNE ETKİSİ.....	19
4.2. GEMİFLOKSASİNİN <i>Drosophila melanogaster</i> ERGİNLERİNİN ÖMÜR UZUNLUĞUNA ETKİSİ.....	24
4.3. GEMİFLOKSASİNİN <i>Drosophila melanogaster</i> YUMURTALARINDAKİ LİPİD PEROKSİDASYON ÜRÜNÜ MDA MİKTARINA ETKİSİ.....	27
4.4. GEMİFLOKSASİNİN <i>Drosophila melanogaster</i> YUMURTALARINDAKİ PROTEİN OKSİDASYONU SONUCU OLUŞAN PCO MİKTARINA ETKİSİ.....	28
4.5. GEMİFLOKSASİNİN <i>Drosophila melanogaster</i> YUMURTALARINDAKİ GST AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ.....	29
BÖLÜM 5 TARTIŞMA.....	31
BÖLÜM 6 SONUÇ.....	37
KAYNAKLAR.....	39
ÖZGEÇMİŞ.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. <i>D. melanogaster</i> yaşam döngüsü	5
Şekil 2.2. <i>D. melanogaster</i> 'in yumurtası.....	7
Şekil 2.3. Yumurta çemberinin gösterimi	8
Şekil 2.4. Yumurta çemberi.....	8
Şekil 2.5. <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larvası	9
Şekil 2.6. <i>D. melanogaster</i> 'in prepup ve pupu.....	10
Şekil 2.7. <i>D. melanogaster</i> 'in erkek ve dişi ergini.....	11
Şekil 4.1. Gemifloksasinin <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larvalarının yaşama oranı üzerine etkisi.....	20
Şekil 4.2. Gemifloksasinin <i>D. melanogaster</i> larvalarının gelişme süresi üzerine etkisi.....	20
Şekil 4.3. Gemifloksasinin <i>D. melanogaster</i> ' in puplarının yaşama oranı üzerine etkisi.....	21
Şekil 4.4. Gemifloksasinin <i>D. melanogaster</i> puplarının gelişme süresi üzerine etkisi.....	21
Şekil 4.5. Gemifloksasinin <i>D. melanogaster</i> 'in eginlerinin yaşama oranı üzerine etkisi.....	22
Şekil 4.6. Gemifloksasinin <i>D. melanogaster</i> erginlerinin gelişme süresi üzerine etkisi.....	22
Şekil 4.7. Gemifloksasinin dişi ömür uzunluğu üzerine etkisi.....	25
Şekil 4.8. Gemifloksasinin erkek ömür uzunluğu üzerine etkisi.....	25
Şekil 4.9. Gemifloksasinin <i>D. melanogaster</i> yumurtalarındaki MDA miktarına etkisi.....	27
Şekil 4.10. Gemifloksasinin <i>D. melanogaster</i> yumurtalarındaki PCO miktarına etkisi.....	28
Şekil 4.11. Gemifloksasinin <i>D. melanogaster</i> yumurtalarındaki GST aktivitesine etkisi.....	29



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. Konsantrasyon belirlemeye yönelik denenen gemifloksasin miktarlarının <i>D. melanogaster</i> 'in yaşama oranına etkisi.....	14
Çizelge 4.1. Gemifloksasinin <i>Drosophila melanogaster</i> larvalarının yaşama oranı ve gelişme süresi üzerine etkisi	23
Çizelge 4.2. Gemifloksasinin <i>Drosophila melanogaster</i> 'in ergin ömür uzunluğuna etkisi.....	26
Çizelge 4.3. Gemifloksasinin <i>Drosophila melanogaster</i> 'in yumurtasında MDA, PCO miktarı ve GST aktivitesine etkisi.....	30



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

$^{\circ}\text{C}$: Santigrad derece
dk	: Dakika
g	: Gram
lt	: Litre
M	: Molar
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
nmol/mg protein	: Nanomol/miligram protein
sn	: Saniye
μl	: Mikrolitre
$\mu\text{mol/mg protein/dk}$: Mikromol/miligram protein/dakika

KISALTMALAR

GEM	: Gemifloksasin mesilat
$^1\text{O}_2$: Singlet (tekli) oksijen
ANOVA	: Analysis of variance
BHT	: Butillenmiş hidroksi toluen
CCl_4	: Karbon tetraklorür
CDNB	: 1-chloro-2,4-dinitrobenzen
CuZn-SOD	: Bakır çinko süperoksit dismutaz
DNP	: 2,4-dinitrofenil
DNPH	: 2,4- dinitrofenilhidrazin
DTT	: Ditiyotreitol
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

GR	: Glutasyon redüktaz
GST	: Glutasyon-S-transferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HO·	: Hidroksil radikali
L·	: Lipid radikali
LOO·	: Lipid peroksil radikali
LOOH	: Lipid hidroperoksit
LSD	: Least Significant Difference
MDA	: Malondialdehid
NADPH	: Nikotinamidadenindinükleotid fosfat
NO·	: Nitrik oksit
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
OP	: Organofosfor
PCO	: Protein karbonil
Px	: Peroksidaz
ROO·	: Peroksit radikali
ROT	: Reaktif oksijen türevleri
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TCA	: Triklorasetik asit
χ^2	: Ki kare (Chi square)

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Gelişim, genel anlamda, döllenmiş bir yumurtanın bölünme ve farklılaşma gibi biyolojik olaylar sonrasında karmaşık ve bağımsız organlar sistemini içine alan bir olgudur. Diğer bir deyişle gelişim, bir organizmanın büyümesi sırasında artan karmaşıklığa yol açan bir değişimdir.

Gelişim uzun yıllardan beri çeşitli organizmalar kullanılarak araştırılmaktadır. *Drosophila melanogaster* (Meigen)' in laboratuvar şartlarında kolay üreyebilmesi, çok sayıda yavru döl verebilmesi, yaşam döngüsünü kısa sürede tamamlaması, ekonomik olmasından dolayı biyolojik çalışmalarda sıkça kullanılmasını sağlamıştır (Lints and Lints 1971a, David et al. 1975, Economos and Lints 1984, Yonemura et al.1991, Foley and Luckinbill 2001). Canlılar memeli *Mus musculus* (Fare), omurgasız *D. melanogaster* (meyve sineği), Nematod *Caenorhabditis elegans* (kurtçuk), protist *Saccharomyces cerevisiae* (Maya), bakteri *Escherischia coli*, bitki *Arabidopsis thaliana*, ve diğer omurgalılar grubundan insana kadar belirli DNA dizilerinde ve proteinleri şifreleyen bazı genlerle benzerlik gösterirler (Yuluğ 2002).

D. melanogaster, insan hastalık genlerinin %75'ini bulundurur. Belli bir hastalığa ait herhangi bir gen *Drosophila*'da gözlemlenebilir ve bu genin ifadesi nöral dokularda ve diğer fenotipik özellikleri üzerinde inceleme yapılabilir. Örneğin, insanda poliglutamin proteinini kodlayan gen *Drosophila*'da da aynı göreve sahiptir ve bu proteinin ifade olması poliglutaminlerin çoğalması yolu ile *Drosophila*'da da insanlardaki gibi geç ortaya çıkan hastalıklara ve ilerlemiş hücre dejenerasyonlarına neden olabilir (Pandeyand Nichols 2011).

D. melanogaster model organizma olarak insektisit, gıda katkı maddeleri, tekstil boyaları, genetiği değiştirilmiş besin maddeleri, klinik öneme sahip antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antihelmintik ilaçların ekotoksik, mutajenik, genotoksik etkilerinin incelenmesinde uygun

kullanıma sahiptir. Diğer taraftan canlılarla ilgili fizyolojik bulgulardan sorumlu biyolojik ritim genleri, ömür uzunluğunu etkileyen genler, yaşlanmadan sorumlu genler ile ilgili araştırmalarda da önemli bir biyolojik organizmadır (Pandey and Nichols 2011). Dördüncü kuşak kinolonlardan olan gemifloksasin bu çalışmada çeşitli konsantrasyonlar da kullanılmıştır. Kinolonlar çok geniş bir antibiyotik grubu içeren sınıflardan biridir. İlk defa 1962 yılında nalidiksik asidin tesadüfen bulunmasıyla kinolonlar yaygın şekilde kullanılmaya başlamıştır. Kinolonlar, canlı mikroorganizmalardan elde edilen birçok antibiyotikden farklı olarak kimyasal yollarla elde edilen sentetik maddelerdir (Ulusoy 2010).

Bu nedenle aslında antibiyotik değil kemoterapötik maddelerdir. Bu özellikleri laboratuvar koşullarında çok sayıda farklı yapı ve mekanizmalara sahip kinolon molekülünün sentezlenebilmesine olanak sağlamaktadır (Andriole 2005).

1962 yılında antimalaryal bir ajan olan klorokinin sentezi sırasında tesadüfen keşfedilen nalidiksik asitle başlayan kinolonların hikayesi, bugün çok sayıda ve yaygın kullanılan üyeleriyle geniş bir aileye dönüşerek devam etmektedir (Andriole 2005). İlk üyeleri 1970'lerin başlarında bulunmuş olup günümüze kadar çok sayıda sentezlenmiş ve 1980'lerde ikinci kuşak kinolonlar sentezlenmiştir (Jacobs 1999). Dördüncü kuşak kinolonlar trovafloksasin, klinafloksasin, gatifloksasin, gemifloksasin, sitafloksasin ve moksifloksasindir. Diğer kuşaklara göre en önemli farklılıkları *Bacteroides fragilis* gibi anaerob bakterilere olan etkileridir. Üçüncü kuşak üyelerine göre *Streptococcus pneumoniae*'ye etkileri daha fazladır. Gemifloksasin ülkemizde en son kullanılan solunum yolu kinolonudur. Toplumsal kökenli pnömoni, akut kronik bronşit ve akut sinüzit tedavilerinde kullanımı 2008 yılında onaylanmıştır (Saravolatz and Leggett 2003). Gemifloksasin bakterilerde DNA giraz (DNA gyrase) ve topoizomerez IV enzimlerinin aktivitelerini önleyerek DNA replikasyonunu inhibe etmektedir (Owens and Ambrose 2005). Gemifloksasin mesilatın kimyasal yapısı, ((R, S)-7-[3-aminometil-4 metoksimino-1-pirolidinil]1-siklopropil-6-floro-1,4- dihidro -4 -okso -1,8-naftridin -3 karboksilik asit olup formülü, $C_{18}H_{20}FN_5O_4 \cdot CH_4O_3S$ 'dür. Molekül ağırlığı 485,49 g/mol'dür. Beyaz açık kahverengi renkte bir toz olan gemifloksasin suda kolaylıkla eriyebilir. Erime derecesi 235-237 °C arasındadır (Brittain 2011).

Canlı organizmalarda önemli zararlara yol açan, serbest radikaller bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektronlar içeren atom ya da moleküller olarak tanımlanır. Atomlarda elektron dağılımı incelendiğinde elektronların kabuklarda olduğu görülür. Kabuklar alt kabuklardan, alt

kabuklar da elektron içeren orbitallerden oluşur. Serbest radikallerin dış orbitalleri, genellikle eşleşmemiş elektron içerir (Halliwell 1994). Radikaller üç farklı mekanizma ile oluşur. Yüksek sıcaklıkla kimyasal bağların kırılması, normal bir molekülün elektron kaybetmesi ve normal bir moleküle elektron transferi şeklinde meydana gelirler. Bu radikallerin başlıcaları; singlet oksijen (O_2), süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil ($\cdot OH$), peroksil ($ROO\cdot$) ve alkoksil ($RO\cdot$) radikalleridir (Kaur and Kapoor 2001). Serbest radikaller, genelde iç ve dış etkenlere bağlı olarak üretimlerindeki artışı takiben başta zar fosfolipitleri olmak üzere hücrenel bileşiklerin tümüne (karbohidrat, lipit, protein, DNA) zarar vermekte, membranlar depolarize olmakta, detoksifikasyonenzimlerin aktivitesi artmakta, hücre zarının geçirgenliği ve elektriksel yük dengesi değişmektedir (Kavas 1989 and Sinclair 1990). Hücrede başlıca mitokondri olmak üzere hücre zarı, lizozomlar, peroksizomlar, çekirdek ve endoplazmik retikulumda lokalize olur (Bendich 1986).

Antioksidan savunma sistemi canlı vücudunda serbest radikallerin yol açtığı hasarı ortadan kaldırmak için çeşitli mekanizmalardır. Vücudun temel ve en önemli savunma mekanizması antioksidan ajanlardır. Antioksidanlar vücutta zararlı etkileri olan serbest radikallere ve oksidatif strese karşı savunma sağlayan suda ya da yağ da çözünebilir hayati biyomoleküllerdir (Nice 1997). Bunlara “antioksidan savunma sistemleri”, bu sistemde kullanılan moleküllere ise “antioksidanlar” denir. Antioksidanlar endojen (doğal) ve eksojen kaynaklı olabilirler. Doğal antioksidanlar, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimatik antioksidanlar ve askorbik asit, glutatyon, α -tokoferol ve β -karoten gibi non-enzimatik antioksidanlardan oluşmuştur (Ferreira et al. 2005). Eksojen antioksidanlar ise folik asit, NADPH oksidaz inhibitörleri ve sitokinler gibi bazımaddelerdir. Antioksidanlar organizmada etkilerini; serbest radikal oluşumunu engelleyerek, reaktifleri uzaklaştırarak, oksijeni uzaklaştırarak, katalitik metal iyonlarını yok ederek, oluşan radikalleri uzaklaştırarak, oluşan radikalleri daha az etkili hale dönüştürerek, oksidanları yok ederek (temizleme), bir hidrojen atarak ve baskılayarak veya serbest radikallerin oluşturdukları hasarı ortadan kaldırarak gösterirler. Böylece serbest radikaller tarafından proteinler ve DNA okside olmaktan korunmuş olur.

Bu çalışmada, insan ve hayvanların çeşitli enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan yeni kuşak kinolon grubu önemli bir antibiyotik etken maddesi olan gemifloksasinin mesilat tuzu *D. melanogaster*' in 150 mg/L, 300 mg/L, 600 mg/L, 900 mg/L dozlarında besi yerine ilave edilerek gelişim evrelerindeki yaşama oranı, bu evrelere gelişim süreleri üzerine etkileri

araştırılmıştır. İkinci deney grubunda ise yine aynı dozlarda 50 ml şişelere çiftleşmemiş dişi ve erkek erginler ayrı ayrı şişelere 15 dişi ve 15 erkek şeklinde ayrı şişelerde ergin ömür uzunluğu parametreleri çalışılmıştır.

Son deney grubunda ise, çiftleşmemiş dişilerden elde edilen yumurtalarda MDA, PCO miktarı ve GST aktivitesi araştırılmıştır.

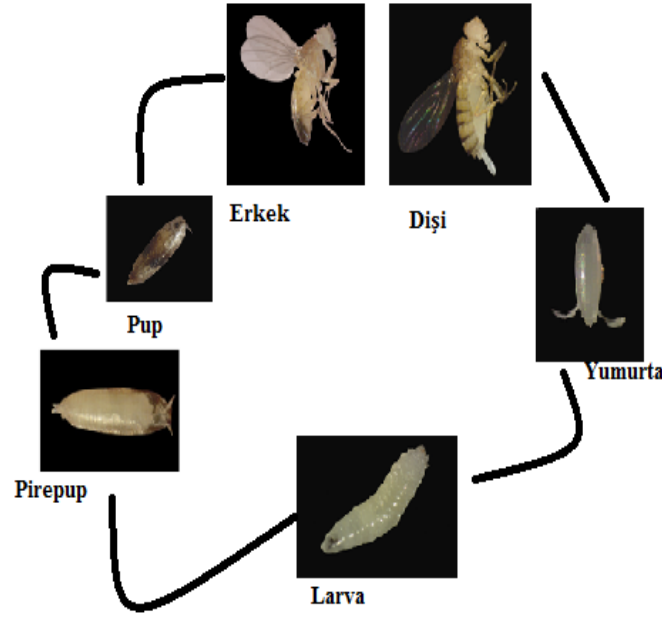


BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. *Drosophila melanogaster*'in YAŞAM DÖNGÜSÜ

D. melanogaster, yaşam döngüsünde yumurta, larva, pup, ergin olmak üzere dört farklı evresi bulunan tam başkalaşım geçiren bir böcektir.



Şekil 2.1. *D. melanogaster* yaşam döngüsü (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir).

2.2. *Drosophila melanogaster*'in SİSTEMATİKTEKİ YERİ

Hayvanlar aleminin böcekler (Insecta) sınıfına dahil olan Diptera takımının Drosophilidae familyası içinde bulunur. Larvaları ekşimiş ve çürümüş meyveler üzerinde bulunduğu için meyve sinekleri de denilen bu böcekler, genetik çalışmalarda deney hayvanı olarak yoğun olarak kullanılır.

Alem: Animalia
Şube: Arthropoda
Altşube: Mandibulata – Antennata
Sınıf: Insecta – Hexapoda
Alt sınıf: Pterygota
Üst takım: Mecopteroidea
Takım: Diptera
Alt takım: Brachycera
Aile: Drosophilidae
Cins: *Drosophila*
Tür: *Drosophila melanogaster*

Kullanılan Canlı Organizma

Bu çalışmada, *Drosophila melanogaster*'in (Diptera: Drosophilidae) yabancıl tipi (WIII8, wild type) Oregon R soyuna ait larva ve erginler kullanılmıştır. Meyve sineği (sirke sineği) *D. melanogaster*, 1990' lardan günümüze kadar genetik çalışmalar için kullanılmaktadır. *D. melanogaster*'in deney hayvanı olarak kullanılmasının nedeni;

- Kültürünün kolay olması,
- Çok sayıda birey vermeleri,
- Yaşam döngülerinin kısa olması,
- Genetik arı döl olarak saklanabilmeleri,
- Küçük yapılı oluşları,
- Az sayıda kromozoma sahip olmaları,
- Üçüncü evre larvalarında dev tükrük bezi kromozomlarının bulunması
- Ekonomik oluşu

şeklinde sıralanabilir (Atlı 2010).

2.3. *Drosophila melanogaster*'in EVRELERİNİN MORFOLOJİKÖZELLİKLERİ

Yumurta ve Oluşumu

Drosophila melanogaster yumurtaları, ventral yüzü yuvarlak, dorsal yüzü ise daha düz olmak üzere yaklaşık 0.5 mm boyunda, 0.2 mm eninde oval şekillidir. Dorsal bölgenin ön ucunda yumurtaların ıslak besine batmasını engelleyen ve yaşamsal öneme sahip oksijenin alınmasından sorumlu iki adet ipliksi uzantı bulunur. Bu uzantılar, tüm yumurtayı çevreleyen koruyucu kabuk, koryonun çıkıntılarıdır. Koryonun içinde, yumurtaya süt beyazı görüntüsünü veren ışık yansımalarına neden olan hava ile dolu süngerimsi bir tabaka vardır (Graf et al. 1992). Çiftleşmeden hemen sonra döllenmiş yumurtalar bırakılır. *D.melanogaster*'de yumurtalar 25°C'de 22 – 24 saat içinde açılır ve larva çıkar (Graf et al. 1992).

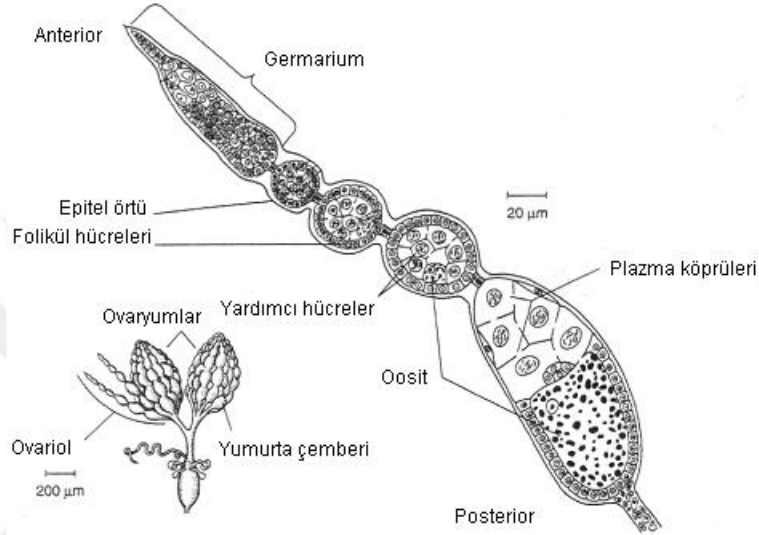
Yumurta oluşumu (oogenez), ovaryumların ovarioollerinde gerçekleşir. Normal bir dişi, toplam 40 ovarioolden oluşan 2 tane ovaryuma sahiptir. Oogenez, diploid bir oogonium ile başlar. Oogonium, 16 hücrelik bir yığın meydana getirecek şekilde mitoz ile bölünür (Şekil 2.3). Yığın içindeki tek hücreler birbirlerine plazma köprüleri ile bağlanmıştır (Graf et al.1992; Kalthoff 1996). Yığın büyürken yumurta çemberi adı verilen yapı oluşur (Şekil 2.4). Yumurta çemberi, bir oosit, 15 yardımcı hücre ve folikül hücre tabakasından oluşur. Yardımcı hücreler, besin sağlayarak oositin büyümesine yardım eder (Browder 1991, Fulga and Rorth 2002). Büyüme fazının sonunda oosit, başlangıç hacminin yaklaşık 100.000 katına ulaşır. Daha sonra yardımcı hücreler bozulmalar meydana gelir ve folikül hücreleri koryonu salgılar (Şekil 2.3).



Şekil 2.2. *D. melanogaster* 'in yumurtası (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir.)

Birkaç gün içinde oosit olgunlaşır. Mayoz başlar fakat metafaz I'de kalır. Mayoz ancak döllenme gerçekleşirse tamamlanır. Döllenme sırasında, dişinin uterusu içine transfer edilen

spermler, reseptakulum seminalis (seminal havuz) ve spermateka (sperm deposu)'ya aktarılarak depolanırlar (Tyler 2000). Yumurta, uterusu ilerlerken döllendir ve dölleniş yumurta hemen besiyerine bırakılır. Dölleniş mayozun devamını sağlar ve yaklaşık 15 dakika içinde mayoz tamamlanır. Mayotik bölünme sonucu meydana gelen dişi pronükleusu, erkeğe ait pronükleus ile birleşerek zigotu oluşturur. Embriyonik gelişim, zigotun arka arkaya mitotik bölünmesi ile yumurtadan larva çıkana kadar sürer (Graf et al. 1992).



Şekil 2.3. Yumurta çemberinin gösterimi (Kalthoff 1996).



Şekil 2.4. Yumurta çemberi (Pokrywka 2008).

Larva

Larvalar, embriyolojik gelişimlerini yaklaşık 22 – 24 saat sonra tamamlayarak yumurtadan çıkarlar ve hemen besin almaya başlarlar. Larva, 1 baş, 3 toraks ve 8 abdomen olmak üzere 12 segmentten oluşur. Larvaların vücut duvarı oldukça yumuşak ve esnektir (Şekil 1.5). Vücut duvarı, dışta ince bir ekzokütikula ve kalın bir endokütikula, içte ise bir epidermis tabakasından oluşur (Graf et al. 1992). Larval gelişim sırasında kütikül tabakası iki kez atılarak yenisi ile değiştirilir. Deri değiştirme olarak bilinen bu olay larval yaşamı üç evreye ayırır. İki deri değiştirme arasındaki dönem bir evre (instar) olarak adlandırılır. Larva gelişiminde, L1 (1. evre), L2 (2. evre) ve L3 (3. evre) olmak üzere üç dönem vardır. Birinci evre 1 gün, 2. evre 1 gün, 3. evre ise 2 gün sürer. Birinci dönemdeki larva, besiyeri yüzeyinde beslenir ve yalnızca 2. evre larva aşamasına geçtikten sonra besin yerinin içine girmeye başlar. Larvalar besin yeri içinde kanallar kazarak beslenirler, bu sırada sadece posterior bölge yüzeydedir.



Şekil 2.5. *D. melanogaster*'in 3. evre larvası (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir.)

D. melanogaster larvaları, normal gelişimleri boyunca, ağırlıklarının yaklaşık 3-5 katı kadar beslenirler. Larvaların pupalaşmaya geçebilmeleri için belirli bir ağırlığa ulaşmaları gerekmektedir. Larvalar beslenmelerini tamamlayıp yaklaşık 0,3 mg'lık ağırlığa ulaştıklarında besin yerini terk ederler ve pupalaşma için kuru bir yere (kültür şişesinin duvarına) göç ederler. *D. melanogaster*'de bu evreden 24 saat sonra (25°C), pupalaşma başlar (Ashburner 1989).

Pupa

Besiyerini terk ederek kültür şişesinin üst kısmına tırmanan üçüncü evre larvaları ağız kısımları besin yerine bakacak şekilde konumlanarak pupalaşmaya başlarlar (Graf et al.1992). Ergin çıkana kadar hareketsiz şekilde duran larvaların etrafını çevreleyen sertleşmiş kütikula tabakasının oluşturduğu gömleğe "puparium" denir (Şekil 2.6). Bu oluşum larval evrenin son

birkaç saatinde meydana gelen ektisteroid hormonun niceliğinin artışıyla başlar. Puparium ilk meydana geldiğinde beyazdır (Ashburner 1989). Bu evreden iki saat sonra kadar kahverengileşmeye başlar. Kahverengileşme devam ederken puparium sertleşir (Graf et al. 1992). Pupalaşma, pupariumun meydana gelmesinden yaklaşık 12 saat, yumurta bırakıldıktan 120 saat sonra oluşur (Ashburner 1989). Sinekler metamorfoz evrelerini pupa içinde geçirirler. Larval doku ve organlar parçalanır, tükrük bezleri, yağ doku, bağırsak ve kaslar tamamen ayrışır. Beyin ve malpigi tüpleri ayrışmaz, fakat yapısal olarak değişikliğe uğrar. Farklılaşmamış hücre grupları (histoblastlar) ve imajinal disklerden ergin vücut yapıları oluşur (Graf et al. 1992).



Şekil 2.6. *D. melanogaster* 'in prepup ve pupu (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir).

Ergin

Pupal evreden ergin evreye geçebilmesi için yaklaşık 4-5 gün gereklidir. Pupadan yeni çıkmış bireylerin kanatları açılmamıştır, uzun, ince ve renksiz bir vücuda sahiptirler. Kanatların açılması bir saat içinde, vücut pigmenti ise yaklaşık iki üç saat içinde gelişir (Şekil 2.7).

D. melanogaster'in dişileri pupadan çıktıklarında eşeyssel olgunluğa erişmemiştir, 5-6 saat sonra eşeyssel olgunluğa erişir ve çiftleşme yeteneğini kazanırlar (Ashburner 1989 and Graf et al. 1992). Dişi ve erkekler, eşey tarağı, abdomen şekli ve rengi gibi morfolojik farklara sahiptir.

Erkek bireylerde, birinci çift bacağın ilk segmenti üzerinde 10 adet kısa kalın kıldan oluşan bir yapı vardır. Bu yapı, çiftleşme sırasında erkeğin dişiyi kavraması için gereklidir ve dişilerde bulunmaz.

Dişiler 7 abdominal segmente sahipken, erkeklerde yalnızca 5 abdominal segment bulunur. Erkeklerde abdomenin posterior kısmı siyah renklidir. Bunun nedeni sondaki segmentlerde pigment miktarının fazla olmasıdır. Diğer yandan, erkeklerde abdomenin posterior sonu yuvarlakken, dişilerde anal plakanın yaptığı çıkıntı nedeniyle sivridir (Graf et al. 1992).



Şekil 2.7. *D. melanogaster* 'in erkek ve dişi ergini (BEÜ, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fizyoloji-Biyokimya Araştırma Laboratuvarında çekilmiştir.).

2.4. GEMİFLOKSASİNİN FARMAKOLOJİSİ

Klinikte kinolonların önemi ve rolü büyük olup çok çeşitli enfeksiyon hastalıklarının tedavilerinde yararlanılmaktadır. Bu ilaç sınıfı, 1960'lı yılların başında naftiridin sınıfı nalidiksik asidin keşfinden beri 3 nesil geçirerek hızla gelişmiştir (Ball 1998). Bu ilaçlar, ilk başlarda uriner sistem enfeksiyonları ve basilli dizanteri (Shigellosis) tedavisinde kullanılmıştır. *In-vitro* aktivitelerinin genişlemesiyle beraber, klinikte kullanım alanları cinsel temasla bulaşan hastalıklara, işgalci Gram-negatif enfeksiyonlar, cilt, yumuşak doku enfeksiyonlarını kapsar hale gelmiştir. Siprofloksasin örneğinden de olduğu gibi florokinolonlar, *Pseudomonas aeruginosa* ya karşı etkin, geniş antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahip, günde iki kez uygulamaya imkan vererek hasta uyumunu arttıran, olumlu bir yan etki profiline sahip ilaç grubudur. Siprofloksasin'in *S. pneumoniae*'ye karşı aktivitesinin zayıflığı, duyarlılık kırılım noktasında yakın minimum inhibitör konsantrasyonlar nedeniyle, en önemli eksikliği olmuştur (Jivcu and Gotfried 2009). Sonrasında, Gram pozitif patojenlere karşı aktivitenin artırılmasını hedefleyen modifikasyonlar ile türetilen yeni solunum yolu hastalıklarına yönelik florokinolon sınıf birçok ilaç geliştirilmiştir (Jivcu and Gotfried 2009). Solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan mevcut florokinolon sınıfından levoflaksasin, moksifloksasin dışında kalan grepafloksasin, sparfloksasin, trovafloksasin, gatifloksasin isimli birçok yeni antisiyatik toksisite nedeniyle pazardan çekilmiştir (Olofsson et al. 2006).



BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

Ergin bireyler Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Böcek Kültür Laboratuvarında 250 ml'lik cam şişelerde yapay besin ortamında yerleştirilerek stok kültür oluşturuldu. Kültürün devamı ergin bireylerin yumurta bırakması, yumurtaların açılarak 3.evre larva oluşması, pupalaşım tekrar ergin bireylerin oluşmasından sonra erginlerin yeni kültür ortamına aktarılmasıyla devam ettirilmiştir. Kültür 25 ± 2 °C ve %60-70 bağıl neme sahip inkübatörde (Nüve ES 252) 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyot şartlarında yürütüldü.

Besin aşağıdaki maddelerden oluşmaktadır;

- 8gr agar –agar,
- 20 gr D-sükroz,
- 11,78 gr 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 7,72ml
- 36gr patates püresi (Knor, Unilever Sanayi ve Ticaret Türk A.Ş Ümraniye, İstanbul).

Besiyerini hazırlamak için; agar- agar, D-sükroz, kuru maya karışımı 600 ml su ile karıştırılıp yarım saat kaynatıldı. Daha sonra 300 ml suda bekletilen 36 gr patates püresi kaynayan besi yerine ilave edilerek 15 dk kaynatıldı ve ocaktan alınarak donmayacak şekilde ılıması beklendi. Ilıyan besiyeri içerisine askorbik asit ve nipajin ilave edilerek maddenin besiyeri içerisinde homojenize olması sağlandı.

3.1 DENEYLERDE KULLANILAN GEMİFLOKSASİN MESİLAT

Bu çalışmada florokinolon türevi olan gemifloksasin mesilat kullanıldı. Ön denemelerde 1000 ml besine 10, 30, 90, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 800, 900 ve 1000mg gemifloksasin miktarları ilave edildi ve elde edilen sonuçlara göre deneylerde kullanılacak gemifloksasin düzeyleri belirlendi.

Gemifloksasin suda çözünebildiğinden suyla çözdürülerek ve belirlenen konsantrasyonlarda besinler içerisine ilave edildi.

3.2. DENEYDE KULLANILAN *Drosophila melanogaster* LARVALARININ ELDE EDİLMESİ

Çalışmada kullanılan *D. melanogaster* larvalarını elde edebilmek için 25 ± 2 °C % 60-70 bağıl nemde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyot şartlarında cam şişe içerisine konulan erginlerin bıraktığı yumurtalardan elde edildi. Bu yumurtaların açılması ile serbest kalan 1. evre larvaları yumuşak uçlu bir fırça yardımıyla 15 ml'lik şişelerde bulunan besinlere konuldu.

3.3. KONSANTRASYON BELİRLEMEK AMACIYLA YAPILAN ÖN DENEMELER

Beslenme deneylerine, gemifloksasinin denenecek konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla ön denemelere başlandı. Kullanacağımız şişelere 5'er ml yapay besini eşit hacimde dağıtıldı. Stok kültürden elde edilen 1. evre larvaları yapay besin üzerine bırakıldı. Ön denemelerde yaşama ve gelişme ile ilgili ön deneylerde 25 adet 1. evre larvası kullanıldı.

Çizelge 3.1. Konsantrasyon belirlemeye yönelik denenen gemifloksasin miktarlarının *D. melanogaster*'in yaşama oranına etkisi

Gemifloksasin miktarı mg/L	3. evre larvası (%)	Pup (%)	Ergin (%)
Kontrol (Gemifloksasin içermeyen)	92	92	84
10 mg/L	76	76	72
30 mg/L	92	92	84
90 mg/L	80	80	76
150 mg/L	100	100	96
200 mg/L	88	88	88
300 mg/L	80	80	76
400 mg/L	80	80	76
500 mg/L	64	64	56
600 mg/L	56	56	20
800 mg/L	52	48	20
900 mg/L	-	-	-
1000 mg/L	-	-	-

Yapılan ön denemelerde 10 mg/L, 30 mg/L, 90 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L, 300 mg/L, 400 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L ve 900 mg/L oranında gemifloksasin mesilat kullanılmıştır. Her tekrarda 25 larva kullanılarak, deneyler dörder defa tekrarlandı. Gemifloksasinin ergin evreye kadar böceğin yaşama oranı üzerine etkisi incelendi. Her bir tekrar 5 ml'lik besin ortamına yumurtadan yeni çıkan birinci evre larvaları bırakıldı. 800 mg/L gemifloksasinden daha yüksek konsantrasyonları içeren besinlerde birinci evre larvaları üçüncü evre larvasına ulaşamadı (Çizelge 3.1). Daha sonraki deneylerde denenecek gemifloksasin konsantrasyonları 150, 300, 600 ve 900 mg/L olarak belirlendi.

3.4. GEMİFLOKSASİNİN *Drosophila melanogaster*' in YAŞAMA ORANI VE GELİŞİM SÜRESİ İLE İLGİLİ YAPILAN DENEYLER

Böceğin yaşama oranı ve gelişme süresi deneyleri için yapay besin ortamı hazırlanarak gemifloksasin denenen konsantrasyonları ilave edildi. Besinler 15 ml'lik küçük cam şişelere dağıtıldı. Yumuşak uçlu fırça yardımı ile sadece 5 ml besin bulunan kontrol grubuna (gemifloksasin içermeyen) ve belirlenmiş olan 150 mg/L, 300 mg/L, 600mg/L ve 900 mg/L gemifloksasin bulunan besin ortamlarına, 25 adet 1.evre larvaları bırakılarak üzerleri hidrofilyk pamuk ile kapatılmıştır. Birinci evreden 3. evreye, pup ve ergin evreye ulaşan bireylerin oranları belirlenerek hesaplandı. 3. evre, pup, ergin evreye ulaşmaları için geçen süre gün olarak belirlendi. Deneyler laboratuarda böceğin kültürünün yapıldığı ortamda gerçekleştirilmiştir. Deneyler 4'er defa tekrarlandı; her tekrarda 25'er adet larva kullanıldı.

3.5. GEMİFLOKSASİNİN *Drosophila melanogaster*'in ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ YAPILAN DENEYLERİ

Kontrol besinive içerisinde gemifloksasinin 150 mg/L, 300 mg/L, 600 mg/L, 900 mg/L'lik konsantrasyonlarını içeren besinler 5' şer ml olarak paylaştırıldı. Stok kültürdeki erginler kontrol besini ve gemifloksasin içeren besiyerlerine dağıtıldı, üç gün sonra yumurtalarını bırakan erginler besi ortamından uzaklaştırıldı. Bu yumurtalardan açılan 1. evre larvaları bu besinde ergin evreye kadar yetiştirildi. Gemifloksasin içeren besinle beslendi. Her bir deney grubunda aynı yaşta, çiftleşmemiş 15'er erkek ve dişi ergin bireyler kullanıldı, erkek ve dişi erginler ayrı ayrı besi yerlerine konuldu ve deneyler dörder defa stok kültürün devam ettiği ortam koşullarında tekrarlandı.

Kontrol ve gemifloksasinin farklı konsantrasyon gruplarındaki erginler her gün belirli saatlerde kontrol edildi. Ölen bireyler varsa veri kağıdına öldüğü tarih not edildi. Erkek ve dişi birey bulunduran deney gruplarının besinleri her gün değiştirildi. En son erginin ölümüne kadar her bir erginin ömür uzunluğu süresi belirlendi. Bu işlem stok böcek kültürünün yetiştirildiği ortam şartlarında gerçekleşti.

3.6. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

D. melanogaster'in çiftleşmemiş 15 dişi ergin birey tarafından belirlenen gemifloksasin konsantrasyonlardaki besin ortamlarına bırakılan yumurtalar alınarak her bir konsantrasyondan yüzer tane yumurta toplanmıştır. Bu işlem dört defa tekrarlanmıştır. MDA, PCO miktarları ve GST aktivitesi, toplanan yumurtalarda belirlenmiştir. Yumurtaların ekstrasyonu homojenizasyon tamponu (% 1,15'lik KCl (Potasyum klorür), 25 mM K₂HPO₄ (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) yapıldı. Elde edilen homojenat, GST tayini için 16000 x g'de 20 dk santrifüjlenerek yapıldı. MDA miktarı deneylerinde yumurtalar % 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 santrifüje edilmesi ile elde edilen üst sıvı kullanıldı. Gemifloksasinin her bir konsantrasyonunda yetiştirilen dişilerden yüz adet yumurta toplandı ve deneyler her tekrarda yüz yumurta ile dört defa tekrarlandı. Araştırmanın bu bölümünde gemifloksasinin 150 mg/L, 300 mg/L, 600 mg/L ve 900 mg/L'lik konsantrasyonları ile yetiştirilen dişilerin yumurtalarından MDA, PCO miktarı ve GST aktivitesi belirlenmiştir.

3.7. MDA MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ

D. melanogaster'in erginlerinden elde edilen yumurtaların parçalama işlemi için % 1,15'lik KCl kullanılarak ultrasonik homojenizatörden geçirildi (15 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany). Homojenize edilen örneklerden 200 µl alınarak üzerine pH 7,4 olan 800 µl fosfat tamponu (18 mM NaCl, 18 mM Na₂HPO₄), 25 µl 0,04 M BHT ve 500 µl % 30' luk TCA ilave edildi ve vortekslendikten sonra 2 saat karanlıkta buzda bekletildi. 2 saatin

sonunda 15 dk + 4 °C, 2000 x g'de santrifüj edildi ve süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 0,1 M'lık EDTA ve % 1'lik tiyobarbitürük asit (TBA) eklenerek 45 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. TBA ile reaksiyona giren lipid peroksidasyonun son ürünü MDA spektrofotometrede 532 nm'deki absorbansı okunarak miktarı hesaplandı. MDA analizi için 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).

3.8. PCO MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ

Protein karbonil tayini Levine et al. (1994)'in metodu temel alınıp bir ölçüde değiştirilerek (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 esasına dayanarak yapıldı. Homojenizasyon tamponu (% 1,15'lik KCl, 25 mM K_2HPO_4 , 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.

3.9. GST AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜLMESİ

Habig et al. (1974) tarafından geliştirilen metod kullanılarak GST (EC 2.5.1.18) aktivitesi ölçüldü. Aktivite ölçümü için 3 ml'lik cam küvetlere 2,5 ml 50 mM fosfat tamponu, 200 µl 20 mM redükte glutatyon ve 150 µl süpernatant konuldu. Bu karışıma 150 µl 25 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ilave edilerek enzimatik reaksiyon başlatıldı ve 2 dakika boyunca yükselen absorbanslar okundu. Yükselen absorbans CDNB'nin redükte glutatyon ile reaksiyona girerek tiyoether yapısının meydana gelişini ifade etmektedir. Enzim aktivitesi 340 nm'de (ϵ_{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 µmol/mg protein/dk'dır.

3.10. TOPLAM PROTEİN MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ

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. Elde edilen 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).

3.11. 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 " χ^2 (Chi square) Testi" kullanıldı (Snedecor and Cochran 1967). Ortalamaların önemi 0,05 olasılık seviyesinde değerlendirildi.

BÖLÜM 4

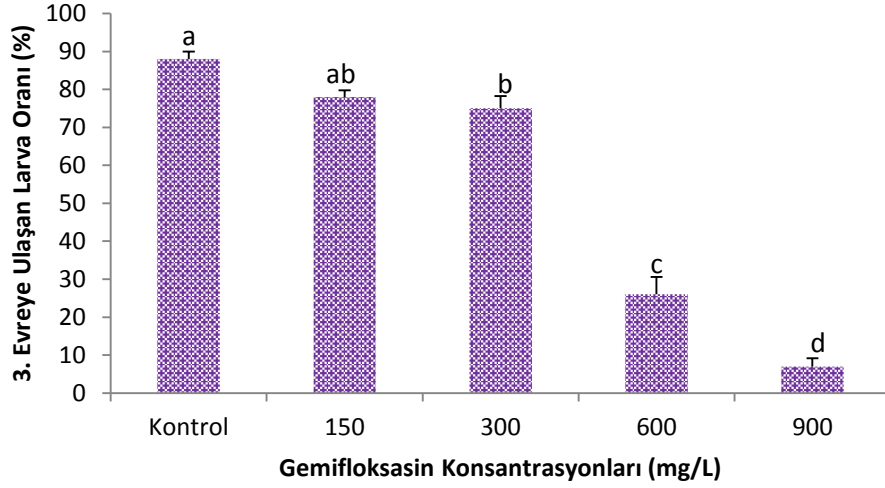
ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. GEMİFLOKSASİNİN *Drosophila melanogaster* LARVALARININ YAŞAMA ORANI VE GELİŞME SÜRESİ ÜZERİNE ETKİSİ

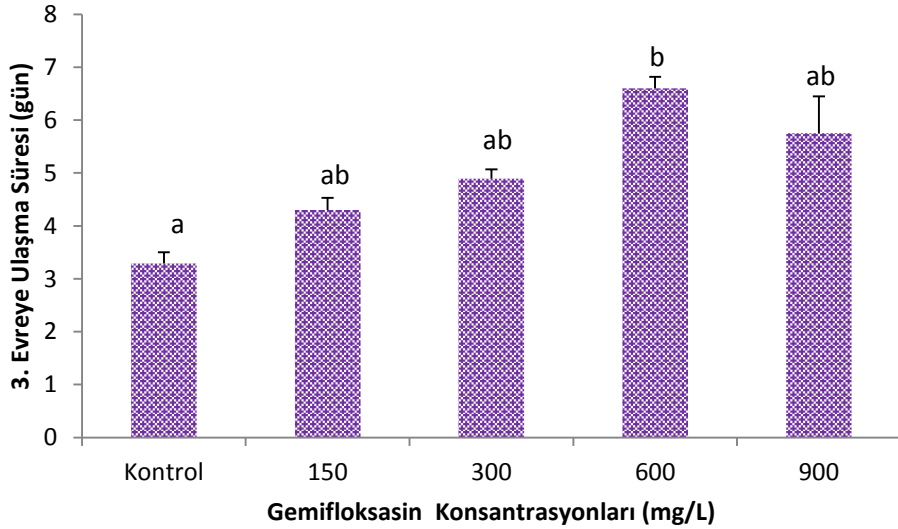
Gemifloksasin *D. melanogaster*' in larvalarının yaşam oranı ve gelişme süresi üzerine etkisi Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Kontrol besinine (gemifloksasin içermeyen) göre gemifloksasinin farklı konsantrasyonlarını içeren besinlerde 3. evreye ulaşan larva oranı, pup ve ergin olma oranları azaldı. Kontrol besininde % $88,00 \pm 2,00$ oranında 3. evre larvası elde edilirken, en yüksek gemifloksasin konsantrasyonu olan 900 mg/L'yi içeren besindeki larvaların yaşama oranı % $7,00 \pm 2,17$ 'ye kadar azaldı. Benzer azalma pup ve ergin olma oranlarında da gözlemlendi. Kontrol besinindeki pup olma oranı % $88,00 \pm 2,00$ 'den en yüksek antibiyotik konsantrasyonunda (900 mg/L) % $7,00 \pm 2,17$ oranına düştü. Gemifloksasin içermeyen kontrol grubunda son evreye ulaşan larvaların tümü pup evresine ulaşmıştır. Ergin evreye ulaşma oranı kontrol grubunda % $74,00 \pm 12,20$ olarak tespit edilirken, bu oran en yüksek gemifloksasin konsantrasyonunda $1,00 \pm 0,87$ 'ye önemli derecede azalmıştır (Şekil 4.1, Şekil 4.3, Şekil 4.5).

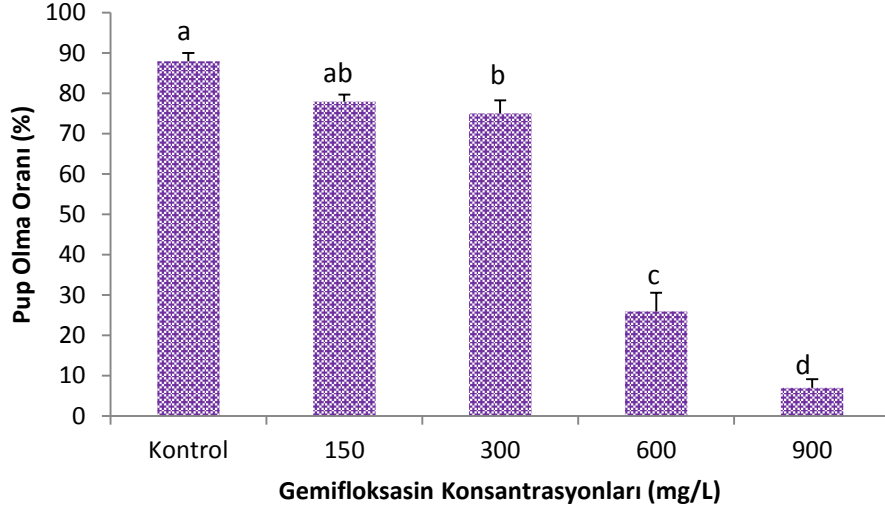
Gemifloksasinin düşük konsantrasyonlarının (150 ve 300 mg/L) 3. Larval evreye ulaşma süresi, pup ve ergin gelişme süresi üzerinde önemli bir etkisi olmadı. Kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda en yüksek antibiyotik konsantrasyonu (900 mg/L) *D. melanogaster* larvalarının 3. evreye ulaşma süresi ve pup olma süresiyaklaşık olarak 2,5 gün uzarken ergin olma süresi ise yaklaşık 3 gün uzatmış olup istatistiksel olarak önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2, Şekil 4.4, Şekil 4.6).



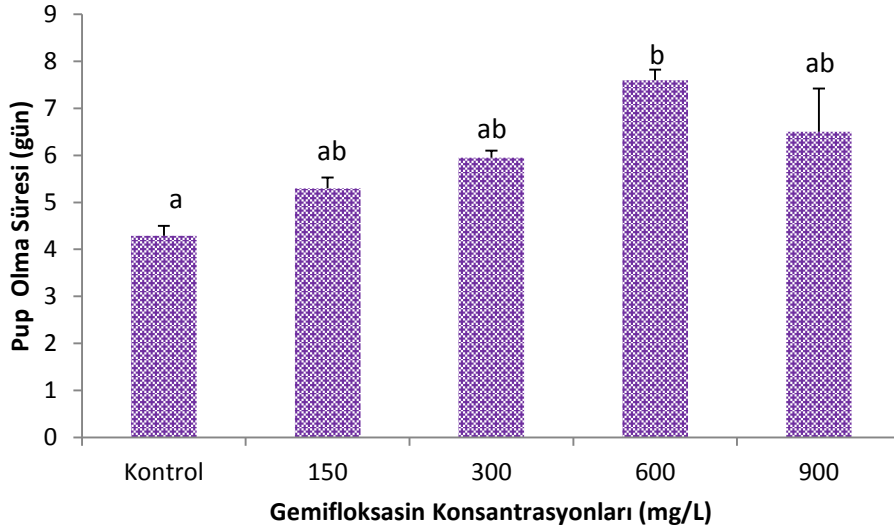
Şekil 4.1. Gemifloksasinin *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarının yaşama oranı üzerine etkisi. Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 larva kullanıldı. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (χ^2 testi). Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen)



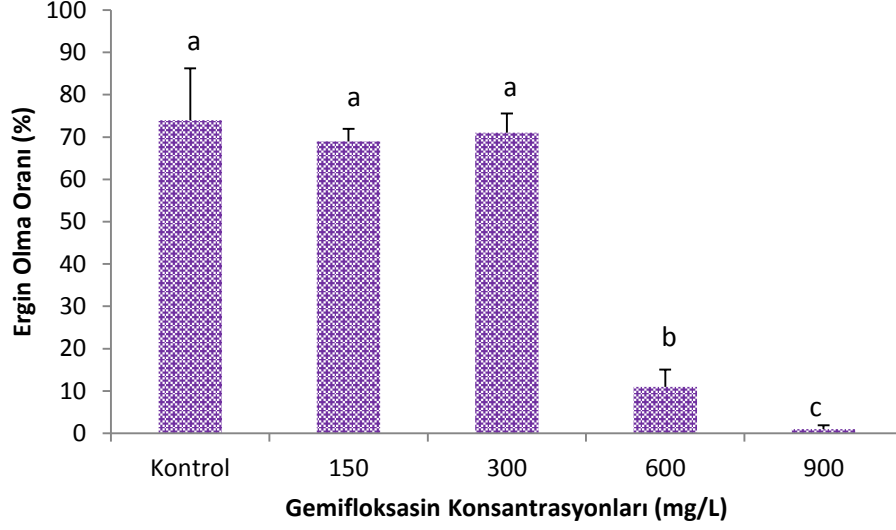
Şekil 4.2. Gemifloksasinin *D. melanogaster* larvalarının gelişme süresi üzerine etkisi. Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 larva kullanıldı. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD Testi). Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen).



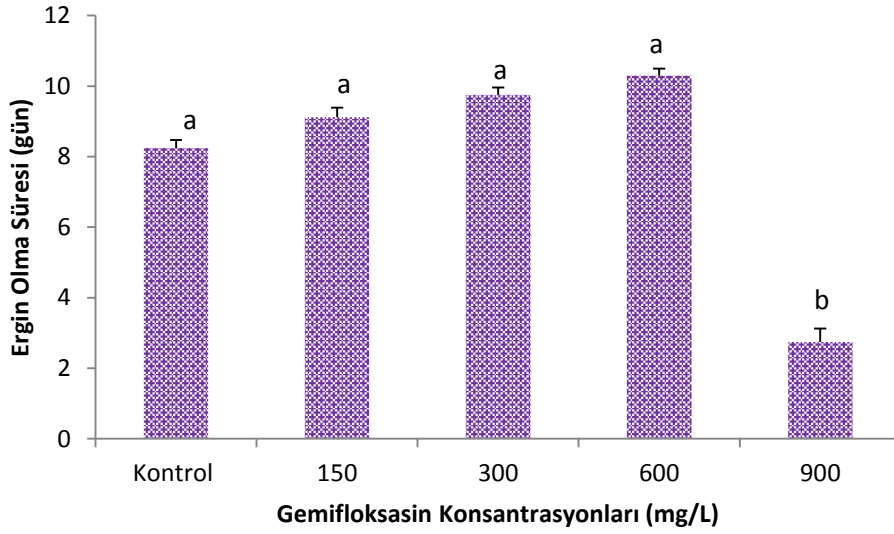
Şekil 4.3. Gemifloksasinin *D. melanogaster*' in puplarının yaşama oranı üzerine etkisi. Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 larva kullanıldı. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (χ^2 testi). Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen)



Şekil 4.4. Gemifloksasinin *D. melanogaster* puplarının gelişme süresi üzerine etkisi. Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 larva kullanıldı. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD Testi). Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen).



Şekil 4.5. Gemifloksasinin *D. melanogaster*'in eginlerinin yaşama oranı üzerine etkisi. Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 larva kullanıldı. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (χ^2 testi). Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen).



Şekil 4.6. Gemifloksasinin *D. melanogaster* erginlerinin gelişme süresi üzerine etkisi. Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 25 larva kullanıldı. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD Testi). Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen).

Çizelge 4.4. Gemifloksasinin *Drosophila melonagaster* larvalarının yaşama oranı ve gelişme süresi üzerine etkisi.

Gemifloksasin (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§	88,00 ± 2,00a	3,29 ± 0,21a	88,00 ± 2,00a	4,29 ± 0,21a	74,00 ± 12,20a	8,25 ± 0,22a
150	78,00 ± 1,73ab	4,30 ± 0,23ab	78,00 ± 1,73ab	5,30 ± 0,23ab	69,00 ± 2,95a	9,12 ± 0,27a
300	75,00 ± 3,27b	4,89 ± 0,18ab	75,00 ± 3,27b	5,95 ± 0,15ab	71,00 ± 4,55a	9,75 ± 0,21a
600	26,00 ± 4,58c	6,60 ± 0,22b	26,00 ± 4,58c	7,60 ± 0,22b	11,00 ± 4,09b	10,34 ± 0,20a
900	7,00 ± 2,17d	5,75 ± 0,70ab	7,00 ± 2,17d	6,50 ± 0,92ab	1,00 ± 0,87c	11,00 ± 0,38b

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

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

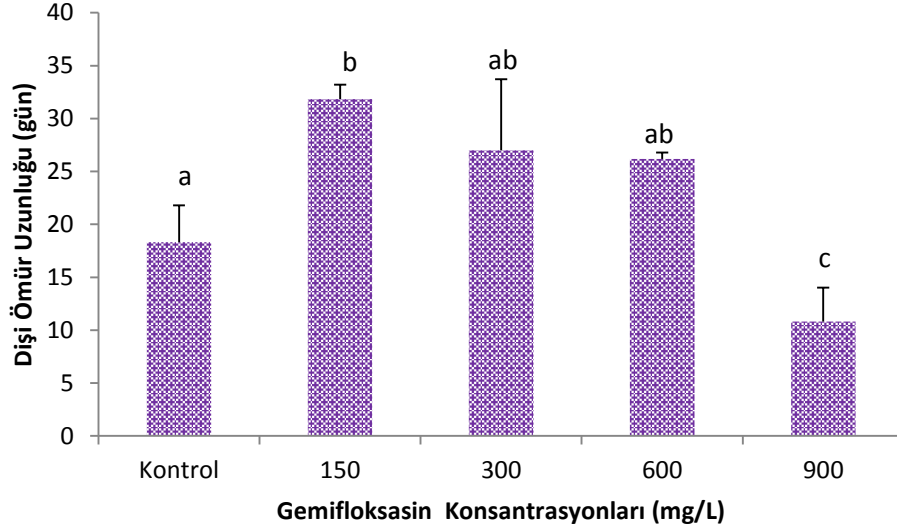
§Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen)

4.2. GEMİFLOKSASİNİN *Drosophila melanogaster* ERGİNLERİNİN ÖMÜR UZUNLUĞUNA ETKİSİ

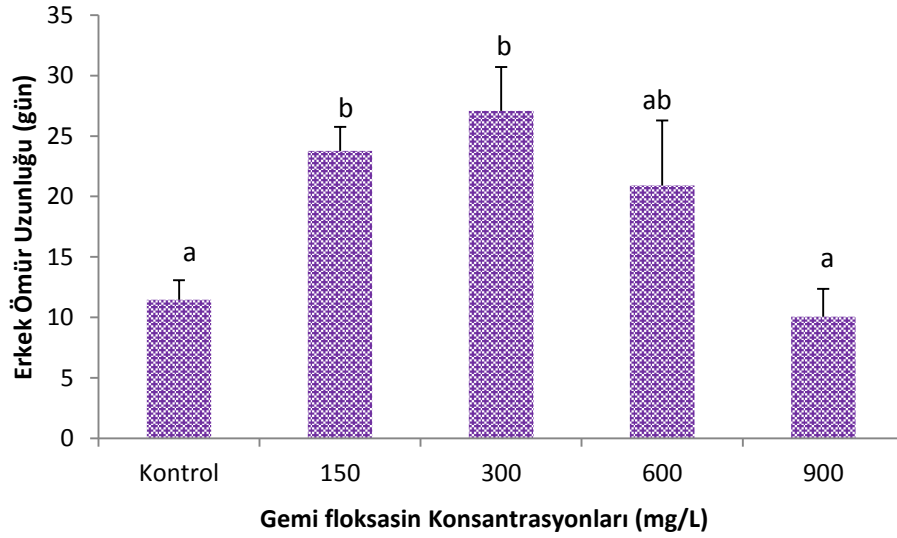
Çizelge 4.2’de gemifloksasinin *D. melanogaster*’ in erginlerinin ömür uzunluğuna etkisi gösterilmiştir.

Diğer konsantrasyonlara göre daha fazla etki gösteren 900 mg/L gemifloksasin içeren besin, kontrol (gemifloksasin içermeyen) ve diğer besin gruplarına göre erkek ve dişi ömür uzunluğunu kısaltmıştır. Ancak kontrol besini ve gemifloksasinin yüksek konsantrasyonları (300 ve 600 mg/L) ile arasında dişi ömür uzunluğunda önemli fark ortaya çıkmazken, erkek ömür uzunluğunda farklılık gözlenmiştir. Kontrol dişinin ömür uzunluğu $18,31 \pm 3,50$ gün iken 150mg/L’inde $31,83 \pm 1,37$ gün, 300 mg/L’inde $27,00 \pm 6,71$ gün, 600mg/L’inde ise $26,19 \pm 0,60$ gün olarak belirlenmiştir. Gemifloksasin en yüksek konsantrasyonu (900mg/L) ile düşük konsantrasyonlar karşılaştırıldığında dişi ömür uzunluğu kısalmıştır. Genel anlamda bakıldığında 150 mg/L, 300 mg/L, 600 mg/L konsantrasyonlardagemifloksasinin dişi ömür uzunluğunu uzattığı görülmüştür. Ancak istatistiksel olarak önemli uzama $31,83 \pm 1,37$ gün ile gemifloksasinin en düşük konsantrasyonu içeren besinde görülmüştür. En yüksek konsantrasyondaki (900 mg/L) dişi ömür uzunluğu $10,82 \pm 3,19$ güne kısalmıştır (Şekil 4.7).

Erkek ömür uzunluğunda da benzer sonuçlar elde edilmiş olup en yüksek gemifloksasin konsantrasyonu olan 900 mg/L’nin kontrol grubu ile arasında fark oluşmamıştır. Diğer gruplar kontrol ile karşılaştırıldığında, kontrol grubunda erkek ömür uzunluğu $11,46 \pm 1,61$ gün iken, 150 mg/L’inde $23,76 \pm 1,99$ gün, 300mg/L’inde $27,10 \pm 3,63$ gün, 600 mg/L $20,91 \pm 5,39$ olarak belirlenmiştir. Gemifloksasinin düşük konsantrasyonlarını (150 ve 300 mg/L) içeren besinlerde yetiştirilen erkekler kontrol grubuna göre iki katından daha fazla bir süre yaşamışlardır. Besindeki 600 mg/L düzeyindeki gemifloksasin erkek ömür uzunluğu ortalama ikikat oranında arttığı halde kontrol ile arasında önemli fark oluşmamıştır. En yüksek konsantrasyondaki erkek ömür uzunluğu $10,05 \pm 2,31$ güne kadar gerilemiş (Şekil 4.8).



Şekil 4.7. Gemifloksasinin dişi ömür uzunluğu üzerine etkisi. Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 15 dişi kullanıldı. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD Testi). Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen)



Şekil 4.8. Gemifloksasinin erkek ömür uzunluğu üzerine etkisi. Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 15 erkek birey kullanıldı. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD Testi). Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen)

Çizelge 4.5. Gemifloksasinin *Drosophila melonagaster*'in ergin ömür uzunluğuna etkisi.

Gemifloksasin (mg/L)	Ergin ömür uzunluğu (gün)	
	Erkek (Ort* ± S.H)†	Dişi (Ort* ± S.H)†
0,000§	11,46 ± 1,61a	18,31 ± 3,50a
150	23,76 ± 1,99b	31,83 ± 1,37b
300	27,10 ± 3,63b	27,00 ± 6,71ab
600	20,91 ± 5,39ab	26,19 ± 0,60ab
900	10,05 ± 2,31a	10,82 ± 3,19c

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 15 ergin kullanıldı.

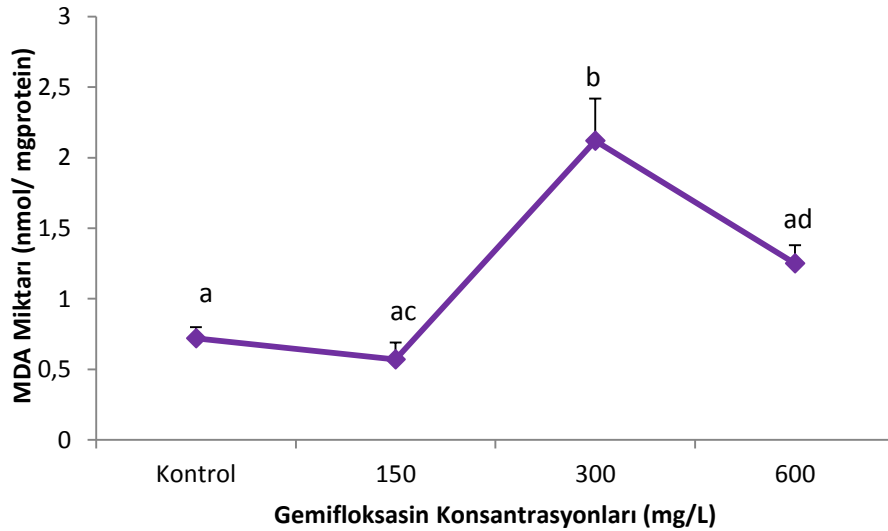
† Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD Testi).

§ Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen).

4.3. GEMİFLOKSASİNİN *Drosophila melanogaster* YUMURTALARINDAKİ LİPİD PEROKSİDASYON ÜRÜNÜ MDA MİKTARINA ETKİSİ

Gemifloksasin *D. melanogaster*'in yumurtalarındaki lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarına etkisi Şekil 4.9' da verilmiştir.

Kontrol grubunda MDA miktarı, $0,72 \pm 0,08$ nmol/mg protein olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en düşük denenen konsantrasyon 150 mg/L gemifloksasin içeren besin, böceğin yumurtasında, MDA miktarını, $0,57 \pm 0,12$ nmol/mg protein'e düşürmesine karşın istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. Kontrol ile 300 mg/L gemifloksasin içeren besin karşılaştırıldığında, MDA miktarını, $0,72 \pm 0,08$ nmol/mg proteinden $2,12 \pm 0,30$ proteine istatistiksel açıdan önemli derecede arttırdığı gösterilmiştir. En yüksek konsantrasyon olan 600 mg/L' yi kontrol ile karşılaştırdığımızda kontrolde $0,72 \pm 0,08$ nmol/mg protein olan MDA miktarı $1,25 \pm 0,13$ nmol/mg proteine istatistiksel açıdan önemli olmayan bir şekilde arttırmıştır. Ancak, en yüksek iki konsantrasyon karşılaştırıldığında gemifloksasinin 300 mg/L'inde $2,12 \pm 0,30$ olarak ölçülen MDA miktarının, 600 mg/L'de $1,25 \pm 0,13$ nmol/mg proteine kadar azaldığı görülmüştür.

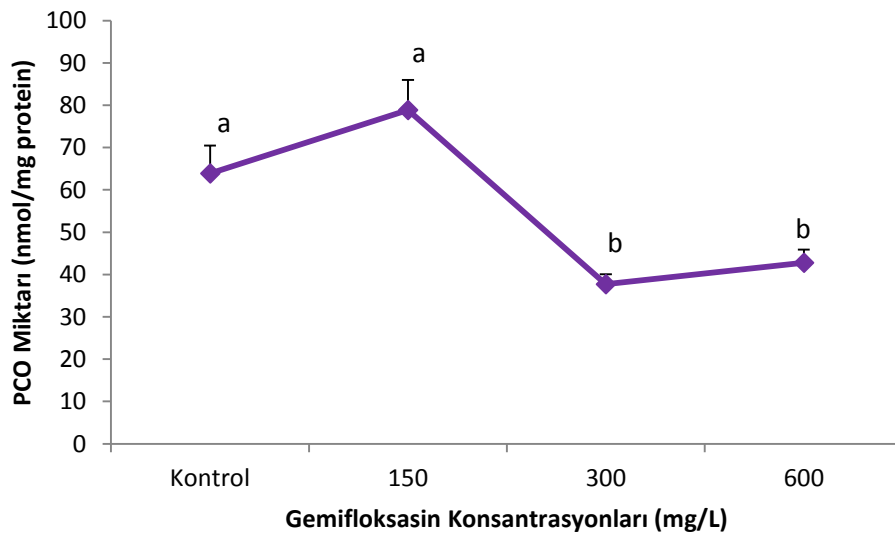


Şekil 4.9. Gemifloksasinin *D. melanogaster* yumurtalarındaki MDA miktarına etkisi. Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 100 yumurta kullanıldı. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD Testi). Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen)

4.4. GEMİFLOKSASİNİN *Drosophila melanogaster* YUMURTALARINDAKİ PROTEİN OKSİDASYONU SONUCU OLUŞAN PCO MİKTARINA ETKİSİ

Şekil 4.10’da gemifloksasinin *D. melanogaster*’in yumurtalarındaki protein oksidasyonu sonucu oluşan PCO miktarı gösterilmiştir.

Gemifloksasinin farklı konsantrasyonlarını (150, 300, 150, 300, 600 mg/L) içeren besinlerden elde edilen *D. melanogaster* dişilerinin yumurtalarındaki protein karbonil miktarları incelenmiştir. Kontrol grubundaki yumurtalarda protein karbonil miktarı $63,87 \pm 6,59$ nmol/mg protein elde edilmiş olup bu değer 150mg/L’lik gemifloksasinde $78,84 \pm 7,12$ nmol/mg proteine yükseldiği tespit edilmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. Düşük gemifloksasin konsantrasyonların da protein karbonil miktarındaki bu artışa zıt olarak 300 ve 600 mg/L’lik gemifloksasin içeren besinlerde sırası ile $37,75 \pm 2,35$ nmol/mg protein ve $42,77 \pm 3,15$ nmol/mg proteine düştüğü görülmüş ve istatistiksel olarak da önemli olduğu ortaya çıkmıştır.

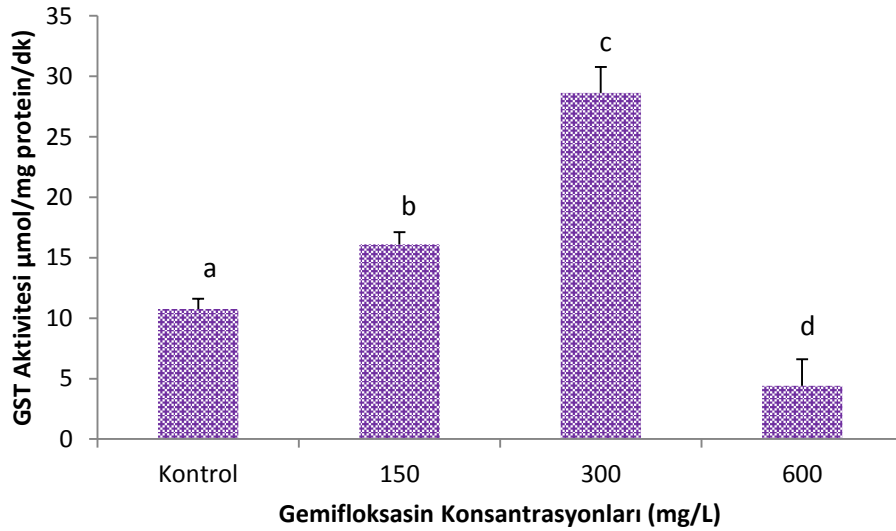


Şekil 4.10. Gemifloksasinin *D. melanogaster* yumurtalarındaki PCO miktarına etkisi. Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 100 yumurta kullanıldı. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD Testi). Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen).

4.5. GEMİFLOKSASİNİN *Drosophila melanogaster* YUMURTALARINDAKİ GST AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Gemifloksasin *D. melanogaster*'in yumurtalarındaki GST aktivitesi üzerine etkisi Şekil 4.11'de verilmiştir.

Kontrol grubu (içinde gemifloksasin bulunmayan) ile içerisinde farklı konsantrasyonlarda (150, 300, 600 mg/L) gemifloksasin bulunduran besinler incelendiğinde, gemifloksasin içeren besinler ile beslenen dişilerden elde edilen yumurtalardaki, GST aktivitesi önemli derecede artış görülmüştür. Kontrol grubunda, GST miktarı $10,77 \pm 0,84$ $\mu\text{mol/mg protein/dk}$ bulunmuş olup bu değer 150 mg/L $16,10 \pm 1,02$ $\mu\text{mol/mg protein/dk}$ artış göstermiştir. Kontrolle 300 mg/L GST miktarı karşılaştırıldığında $10,77 \pm 0,84$ $\mu\text{mol/mg protein/dk}$ $28,62 \pm 2,15$ istatistiksel açıdan önemli artış tespit edilmiştir. Kontrol ve 600 mg/L GST miktarı karşılaştırıldığında $10,77 \pm 0,84$ $\mu\text{mol/mg protein/dk}$ ' dan $4,40 \pm 2,20$ $\mu\text{mol/mg protein/dk}$ istatistiksel açıdan önemli bir düşüş göstermiştir.



Şeki 4.11. Gemifloksasinin *D. melanogaster* yumurtalarındaki GST aktivitesine etkisi. Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 100 yumurta kullanıldı. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD Testi). Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen).

Çizelge 4.6. Gemifloksasinin *Drosophila melonagaster*'in yumurtasında MDA, PCO miktarı ve GST aktivitesine etkisi.

Gemifloksasin (%)	MDA (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)†	Protein Karbonil (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)†	GST aktivitesi (µmol/mg protein/dk) (Ort* ± S.H)†
0,000§	0,72 ± 0,08a	63,87 ± 6,59a	10,77 ± 0,84a
150	0,57 ± 0,12ac	78,84 ± 7,12a	16,10 ± 1,02b
300	2,12 ± 0,30b	37,75 ± 2,35b	28,62 ± 2,15c
600	1,25 ± 0,13ad	42,77 ± 3,15b	4,40 ± 2,20d

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 100 yumurta kullanıldı.

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

§ Kontrol besini (Gemifloksasin içermeyen)

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Enfeksiyon hastalıkları dünyada en yaygın olan bir hastalık grubunu oluşturur. Gemifloksasin, 2003 yılında kullanma izni verilmiş olan flurokinolon sınıfından, toplumdan kazanılmış pnömoni ve kronik bronşitin akut tedavisi için kullanılan bir antibiyotiktir. Biyoyararlanım; biyoesdeğerlik çalışmaları ve toksikolojik analizler de dahil ilacın tüm analizlerinde kullanılabilir yeni analiz yöntemleri hala geliştirilmeye çalışılmaktadır. İnsan hastalıklarının tedavisi üzerinde kullanılan bu antibakteriyel maddenin diğer canlı grupları üzerindeki etkileri de araştırılmaktadır. Bu amaçla konak hücreye doğrudan bakteri üzerinde etkili toksik olmayan veya daha az çevresel zararı olan kimyasalların kullanılması konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmada antibakteriyel bir antibiyotik olan gemifloksasin doğal ortamlarda bozulan veya aşırı olgunlaşmış meyveler ile beslenen meyve sineği *Drosophila melanogaster* larvalarını yetiştirmek için yapay besin ortamına eklenerek böceğin, yaşama oranı, gelişme süresi ve ergin ömür uzunluğuna etkisi laboratuvar koşullarında incelendi. Ayrıca dişi erginlerden elde edilen yumurtalarda lipid peroksidasyonun önemli bir ürünü olan malondialdehid (MDA), protein oksidasyonu ürünü protein karbonil (PCO) miktarları ve detoksifikasyon enzimi glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesinde neden olduğu değişimler araştırıldı. Elde edilen sonuçlar gemifloksasinin *D. melanogaster* larva, pup ve ergin özellikleri üzerinde olumsuz etkisinin olduğunu göstermiştir. Gemifloksasinin yüksek besinsel konsantrasyonu (900 mg/L) böceğin hem yaşama oranını düşürürken hem de gelişme süresini uzatmıştır.

Düşük konsantrasyonlardaki gemifloksasin ise böceğin gelişme evrelerine göre farklı etkiler göstermiştir. Gemifloksasinin besin içerisindeki konsantrasyonlar arttıkça yaşama oranı üzerinde azaltıcı, gelişme süresi üzerinde de geciktirici etki gösterdiği belirlenmiştir. Lepidoptera takımına ait olan *Galleria mellonella*'nın yaşam oranı ve gelişme süresi üzerine etkisi olan konsantrasyonlarda penisilin G, streptomisin sülfat ve genel olarak kullanılan antifungallerinde dahil olduğu birçok antimikrobiyal madde de *Agria affinis* (Fallen)'in

gelişimini geciktirmiş larva ve pupa evrelerinde ölüm oranını arttırdığı tespit edilmiştir (Büyükgüzel and Kalender, 2007, 2008; Singh and House 1970). Büyükgüzel (2001) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise besine farklı konsantrasyonlarda ilave edilen antibakteriyel antibiyotik novabiyosin *Hymanoptera* takımına ait endoparozoid bir tür olan *Pimpla turionellae*'nin yaşama oranını düşürdüğü gelişimini uzattığı gösterilmiştir.

Bu çalışmada gemifloksasinin yaşama ve gelişme parametrelerindeki olumsuz etkisi ile ilişkili olarak MDA ve PCO miktarlarında da önemli değişiklikler gözlemlenmiştir. Benzer bir etkinin de gemifloksasinle yetiştirilen bir başka böcek türü olan *G. mellonella* larvalarının orta bağırsağında MDA ve protein karbonil miktarının önemli derecede arttığı gösterilmiştir (Büyükgüzel and Kalender, 2008). Detoksifikasyon enzimi GST aktivitesinde de konsantrasyonlar arasında değişiklikler olduğu saptandı. Besine ilave edilen gemifloksasin böceğin yumurtalarında protein karbonil miktarını artırırken MDA miktarı ve GST aktivitesi gemifloksasinin yalnızca en yüksek konsantrasyonu tarafından azaltmıştır. MDA miktarında kontrol ve diğer konsantrasyonlar karşılaştırıldığında da 150 mg/L ve 600 mg/L'da önemli bir farklılık görülmezken, 300 mg/L'lik konsantrasyonda istatistiki açıdan farklılık saptandı. Protein karbonilde (PCO) kontrol grubuyla en düşük konsantrasyon arasında fark görülmezken en yüksek iki konsantrasyon olan 300 mg/L ve 600 mg/L'da farklılık görülmektedir. GST aktivitesinde, kontrol grubuyla diğer konsantrasyonlar arasında önem arz edecek farklılık gözlenirken, konsantrasyonların kendi aralarında da farklılıklar saptandı. *G. mellonella* larvalarının besinine ilave edilen antibiyotiklerin böceğin yaşama, gelişme, vücut ağırlığı ve total protein miktarına etkisi böceğin gelişme evreleri (larva, pup ve ergin) ile antibiyotiklerin türü ve dozuna bağlı olduğu bilinmektedir (Büyükgüzel and Kalender 2008). Antibiyotiklerin *G. mellonella* larvalarının orta bağırsak MDA ve antioksidan enzimlerin (SOD, CAT, GST, GPx) aktiviteleri üzerine etkilerinin böceğin larval evreleri (3-7 evreler) ile denenen antibiyotik türü ve konsantrasyonlarına göre değiştiği belirtilmiştir (Büyükgüzel and Kalender 2007, 2008). Bu sonuçlar aynı zamanda meydana gelen olumsuz etkilerin böceğin gelişim evresine göre de değişebildiğini göstermektedir. Çalışmamızdaki gibi benzer sonuçları gösteren araştırmalarda denenen antimikrobiyal ajanların diğer böcek türleri üzerindeki olumsuz etkileri gösterilmiştir. Örneğin, Nistatin, sikloheksiimid ve sodyum benzoat gibi bazı antifungaller bir yumurta endoparazitoidi olan *Trichogramma dendrolimi* Matsumura'de pup ve ergin evredeki yaşama oranını düşürmüştür. Buna karşılık diğer bir antifungal ajan olan metil p-hidroksibenzoat önemli bir etki yapmamıştır (Grenier and Liu 1990, 1991). Antifungal bir madde olan maneb (manganez etilenbisditiyokarbamat)'in 2600 ppm'lik miktarını içeren besin

ile beslenen konaklarda bir parazitik hymenopter olan *Micropilis croceipes* Cresson'un ikinci evreden öteye gelişemediği saptanmıştır (Felton and Dahlman 1984).

Parazitik bir dipter türü olan *Phryxe caudata* (Rond)'yı beslemek amacıyla kullanılan sentetik besine % 0,01, 0,04 ve 0,1 oranında ilave edilen metil p-hidroksibenzoat (nipajin M) larvaların yaşama oranını önemli ölçüde düşürmüştür (Grenier 1977). Bazı geleneksel antibiyotikler endoparazitoid bir hymenopter türü olan *P. turionellae*'nin da yaşama ve gelişimini etkilemiştir (Büyükgüzel ve Yazgan 1996). Parazitik entomofaj bir tür olan *Agria affinis* ile yapılan bir çalışmada genelde bileşik halinde denenen yirmibir farklı antimikrobiyal ajanın besinsel miktarının artışına bağlı olarak böceğin larval gelişiminin uzadığı, pup ve ergin evredeki yaşama oranında azalma görülmüştür (Singh and House 1970). Antimikrobiyal ajanların *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Clark et al. 1961, Ouye 1962), *Trichoplusia ni* (Hübner) (Kishaba et al. 1968), *Graphognathus* spp (Bass and Barnes 1969), *Bemisia argentifolii* Belows & Perring (Costa et al. 1997) gibi önemli tarımsal zararlı böceklerde de yaşama ve gelişim üzerinde olumsuz etkileri olmuştur.

Larval evrede alınan doğal ve yapay besin maddelerinin kalitesi ve besinsel dengesi birçok böceğin erginlerinin üreme ve diğer bazı özellikleri ile ömür uzunluğu (hayatta kalma süresi) üzerinde etkilidir (Slansky and Scriber 1985, Eischen and Dietz 1987, Ridgway and Mahr 1990). Gemifloksasinin düşük konsantrasyonları erkek ve dişi ömür uzunluğunu uzatırken en yüksek gemifloksasin konsantrasyonu bu süreyi kontroldeki süreye göre kısaltmıştır. Zararlı bir diptera türü olan Akdeniz meyve sineği *Ceratitis capitata*'nın larval evrede aldığı besinin ergin oluşumunu, vücut büyüklüğünü, eşeyssel olgunluğu, yumurta bırakma davranışını ve yaşama süresini etkilediği bilinmektedir (Chang et al. 2001). Gemifloksasinin denenen besinsel karışımlarının *D. melanogaster* ergin üremesi ve dişi ve erkek ömür uzunluğu üzerinde önemli etki göstermiştir. Dişi bireylerde yumurta bırakma oranı en düşük konsantrasyon da artmışken, en yüksek konsantrasyon da hiç yumurta bırakmamıştır ve parametrelerini tamamlayamamıştır.

Florokinolon türevi olan gemifloksasinin belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinlerle beslenen birinci evre larvalarının 3. larval evrede ve larva sonrası evrelerinde yaşama ve gelişme olumsuz etkilenmiştir. Eski kuşak DNA giraz inhibitörleri novobiyosin, nalidiksik asit ve oksolinik asitin kimyasal yapısı bilinen bir besin ile yetiştirilen endoparazitoid bir hymenopter türü olan *P. turionellae*'nin yaşama ve gelişimi üzerinde etkileri incelenmiştir (Büyükgüzel 2001 a, b). Bu çalışmada novobiyosinin en düşük miktarını içeren besin pup ve

ergin yüzdesini önemli derecede artırmıştır. Bu miktar aynı zamanda beşinci evreye ulaşmak için gereken süreyi kısaltmış, ancak larvaların ergin evreye kadar gelişmesi üzerinde önemli bir etki yapmamıştır. Oksolinik asitin en düşük miktarı yaşama üzerinde etkili olmazken böceğin gelişmesini geciktirmiştir. Antibiyotiklerin yüksek miktarları genellikle gelişme süresini uzatmış, yaşamayı düşürmüştür. Nalidiksik asitin denenen bütün miktarları ise yaşamayı dikkate değer bir şekilde artırmıştır (Büyükgüzel 2001a,b). Bu DNA giraz inhibitörü antibiyotiklerin bazı üçlü besinsel konsntrasyonları ergin parazitoid böceklerde toplam protein miktarını ve yaş ağırlığı artırmıştır (Büyükgüzel ve İçen 2004).

Yapılan bir başka çalışmada da Kadmiyum *Oncopeltus fasciatus* (Dallas)'un lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA seviyesini yükseltmiş olup bazı antioksidan enzimlerin GST aktivitelerini azaltmıştır (Cervera et al. 2003). *Nilaparvata lugens* (Stal) türünde, GST enziminin pretroid grubu insektisitlere karşı direnç geliştirdiği tespit edilmiştir (Vontas et al. 2001). *Helicoverpa armigera* (Hübner)'nın farklı evrelerindeki çeşitli dokularında (tüm vücut, orta bağırsak, hemolenf, yağ doku, kutikula) endosülfanın GST aktivitesi üzerine etkisi araştırılmış olup yağ dokuda en yüksek, yumurtalarında ise en düşük GST aktivitesi olduğu tespit edilmiştir (Rajurkar et al. 2003). Yapılan bir çalışmada *Apis mellifera* L. işçi arı, erkek arı ve kraliçe arının farklı dokularında (kas, mide, hemolenf, spermetaka ve semen) GST aktiviteleri araştırılmıştır (Weirich et al. 2002).

Antibiyotikle beslenen *G. mellonella* larvalarının orta bağırsağında artan MDA miktrai ile orantılı olarak yükselen GST aktifliği, antibiyotikler tarafından uyarılan oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı bu enzimin koruyucu role sahip olabileceğini gösterir. GST enzimi, substratı olan indirgenmiş glutasyon (GSH) aracılığıyla reaktif oksijen türlerinin lipid peroksitlerin detoksifikasyonu ile oksidatif hasarın yok edilmesinde önemli etkiye sahiptir (Singh and House 1970). Larvaların ortabağırsağında GST aktifliğinin düşmesiyle beraber MDA miktarında artış gözlenmesi, yüksek antibiyotik toksisitesi sırasında GSH miktarının yetersiz kalmasından ileri gelebilir. GST izoformları böceklerde insektisit dirençliliğini sağlayan detoksifikasyon enzimlerinin önemli bir grubudur (Yu 2004). Şiddetli insektisit toksisitesine maruz kalan böceklerde GST aktivitesini önemli dercede artış olduğu gözlenmiştir (Punzo 1993, Vontas et al. 2001). Yapılan bu çalışmada malondialdehid (MDA) miktarında, PCO miktarında ve GST aktivitesinde önemli farklar olduğu gözlenmiştir. Gemifloksasinin *D. melanogaster* üzerindeki olumsuz etkilerinin kesin mekanizmasının anlaşılması için detaylı

araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Elde edilen veriler bu hususda yaptığımız bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar ile mümkün değildir.





BÖLÜM 6

SONUÇ

Bu çalışmada, florokinolon türevlerinden olan gemifloksasinin *D. melanogaster* üzerinde fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri araştırılmıştır. Gemifloksasinin *D. melanogaster*'in birinci evre larvalarından, pup ve ergine kadar olan biyolojik yaşam parametreleri incelenmiş olup 1. evre larvasından ergin evreye kadar geçen süreçte böceğin gelişimi üzerinde önemli etkiler gösterdiği saptanmıştır.

Çalışmada *D. melanogaster*'in yumurtadan yeni çıkmış larvaları kullanılmış olup böcek bu maddeyi içeren besinlerde ergin evreye kadar yetiştirilmiştir. Larval besin ile alınan gemifloksasinin *D. melanogaster*'in erginlerinden elde edilen yumurtalarda protein ve lipid moleküllerine oksidatif etkileri incelenmiştir, ancak en yüksek konsantrasyondaki gemifloksasinin miktarı böceğin yumurta bırakmasını engellediği tespit edilmiştir. Larvalar ergin evreye kadar gemifloksasin eklenen yapay besinler ile beslenerek böceğin ergin ömür uzunluğu incelenmiştir. Ergin ömür uzunluğunun dişi ve erkeklerde uzadığı gözlenmiştir. Gemifloksasinin 300 mg/L'lık konsantrasyonu ergin olma oranını ve süresini etkilemezken erkek ve dişi ömür uzunluğunu uzatmıştır. Ömür uzunluğunu uzatması ile ilişkili olarak bu dişilerden elde edilen yumurtalardaki oksidatif stres göstergesi MDA miktarı ve detoksifikasyon enzimi GST aktivitesi artmıştır. Bu sonuçlar gemifloksasinin lipid moleküllerinde oksidasyona sebep olarak GST aktivitesinin bu oksidatif stresi önlemek için arttığını göstermiştir. En yüksek gemifloksasin konsantrasyonunda GST aktivitesinin oldukça düşük bulunması bu konsantrasyonda meydana gelen oksidatif stresi ortadan kaldırmak için yetersiz kaldığı görülmektedir.

Bu çalışma, gemifloksasinin insektisit olarak kullanılabilirliğinin incelenmesinde önemli kriterler oluşturmuştur. Böylece insan ve hayvan sağlığı açısından önemli olan bu maddenin zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılabilirliği hakkında bilgi sahibi olunmuştur. Bu bilgilerin, tarımsal ürünlerin korunmasıyla ülkemiz ekonomisine katkı sağlayacağı ve doğal ortama yönelik en az zarara sahip bir yöntem olmaya adaydır.



KAYNAKLAR

- Andriole V T** (2005) The quinolones: past, present and future. *Clinical Infect Diseases*; 41(2):119-9.
- Ashburner M** (1989) *Drosophila* a Laboratory Handbook,. *Cold Spring Harbor Laboratorypress*, New York, 689 s.
- Atlı E** (2010) Bazı Çevresel Östrojenlerin *Drosophila Melanogaster*’de Gelişim Biyolojisi ve Ömür Uzunluğu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. *Doktora Tezi*, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 127 s.
- Bass M H and Barnes E E** (1969) Toxicities of antimicrobial agents to white-fringed beetle larvae and the effectiveness of certain of these agents against microbial growth. *Journal of Economic Entomology* 62: 718-719.
- Bendich A, Marchlin L J, Scandurra O, Burton G W and Wayner D D M** (1986) The Antioxidant Role of Vitamin C. *Free Radical Biology & Medicine*, (2): 419–444.
- Ball P** (1998) The quinolones: History and overview. In *The Quinolones*, 2nd Edition, Andriole, V. T (Ed), Academic Press, San Diego, pp. 1–28.
- Brittain H G** (2011) Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology (first edition) (1st ed). Oxford, UK, 151-166.
- 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.
- Büyükgüzel E and Kalender Y** (2007) Penicillin-induced oxidative stress: Effects on antioxidative response of midgut tissues in larval instars of *G. mellonella* *Journal of Economic Entomology*, 100: 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*, s. 43.
- Büyükgüzel K ve Yazgan Ş** (1996) Bazı antibiyotiklerin endoparazitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)’nın yaşama ve gelişimine etkileri. *Turkish Journal of Zoology*, 20: 1-7.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Büyükgüzel K** (2001a) Positive effects of some gyrase inhibitors on survival and development of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvae reared on an artificial diet. *Journal of Economic Entomology*, 94: 21-26.
- Büyükgüzel K** (2001b) DNA gyrase inhibitors: Novobiocin enhances the survival of *Pimpla turionellae* larvae reared on an artificial diet but other antibiotics do not. *Journal of Entomologia Experimentalis et Applicata*, 125: 583-587.
- Büyükgüzel K and İçen E** (2004) Effects of gyrase inhibitors on the total protein content of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvae reared on an artificial diet. *Journal of Entomological Science*, 39 (1): 108-116.
- 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.
- Chang C L, Albrecht C, El-Shall S S A and Kurashima R** (2001) Adult Reproductive capacity of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) on a chemically defined diet. *Annals of the Entomological Society of America*, 94: 702-706.
- Costa H S, Henneberry 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.
- Clark E W, Richmond C A and McGough J M** (1961) Artificial media and rearing techniques for the pink bollworm. *Journal of Economic Entomology*, 54: 4-9.
- David J, Cohet Y and Fouillet P** (1975) The variability between individuals as a measure of senescence: A study of the number of eggs laid and the percentage of hatched eggs in the case of *Drosophila melanogaster*, *Experimental Gerontology*, 10 (1): 17-25.
- Economos A C, 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.
- Eischen F and Dietz A** (1987) Growth and survival of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larva fed diets containing honey bee-collected plant resins. *Annals of the Entomological Society of America*, 80: 74-77.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ferreira M, Moradas-Ferreira P and Reis-Henriques M A** (2005) Oxidative stress biomarkers in two resident species, mullet (*Mugil cephalus*) and flounder (*Platichthys flesus*), from a polluted site in River Douro Estuary. Portugal, *Aquatic Toxicology*, (71);39–48
- Felton G W and Dahlman D L** (1984) Nontarget effect of a fungicide: Toxicity of Maneb to the parasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Economic Entomology*, 77: 847-850.
- 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.
- Graf U, Van Schaik N and Würgler F E** (1992) *Drosophila Genetics: A Practical Course*, Springer – Verlag Press, New York, 239 s.
- Grenier S and Liu W H** (1990) Antifungals: Mold control and safe levels in artificial Media for *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Entomophaga*, 35: 283-291.
- Grenier S and Liu W H** (1991) Mold control and safe levels of antifungals in artificial media for egg parasitoids (Hymenoptera). *Les Colloques de l'INRA*, 56: 141-144.
- Grenier S** (1977) Effects nocif de la nipagine M sur le parasitoide *Phryxe caudata* [Diptera: Tachinidae]. *Entomophaga*, 22(2): 223-236.
- 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.
- Halliwell B** (1994) Free radicals, antioxidant, and human disease: curiosity. *Cause or Consequence Lancet*, 344: 721-724.
- Jacobs M R** (1999) Drug-resistant streptococcus, pneumonia, rational antibiotic choices, *American Journal of Medicine*, 106 (5A): 19.
- 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.
- Jivcu C and Gotfried M** (2009) Gemifloxacin use in the treatment of acute bacterial exacerbation of chronic bronchitis, *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. 4: 291–300.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Kalthoff K** (1996) Analysis of Biological Development, *McGraw –Hill International*, USA,738 p.
- Kaur C and Kapoor H C** (2001) Antioxidants in fruits and vegetables the millennium's health. *International Journal of Food Science & Technology*, (36): 703-725.
- Kavas G Ö** (1989) Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri*, (9): 1-8.
- Kishaba A N, Henneberry T J, Pangaldan R and Tsao P H** (1968) Effects of mold inhibitors in larval diet on the biology of the Cabbage looper. *Journal of Entomological Science*, 61: 1189-1194.
- 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.
- Lints F A and Lints C V** (1971) A, 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, *The Journal of Biological Chemistry*, 19: 265.
- Nice D** (1997) Antioxidant based nutraceuticals. In: Yalpani M. (Ed.), *New Technologies for Healthy Foods and Nutraceuticals*. *Science Publishers*, 105: 23.
- Olofsson S K, Marcusson L L, Komp L P, Hughes D and Cars O** (2006) Selection of ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* in an in vitro kinetic model: relation between drug exposure and mutant prevention concentration. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57: 1116–21.
- Ouye M T** (1962) Effects of antimicrobial agents on microorganisms and pink bollworm development. *Journal of Economic Entomology*, 55: 854-857.
- Owens R C and Ambrose P G** (2005) Antimicrobial safety: focus on fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases* 41 Suppl 2: S144–57.
- Pandey U M and Nichols C D** (2011) Human Disease Models in *Drosophila melanogaster* and the Role of the Fly in Therapeutic Drug Discovery *Pharmacol Rev.* 2011 Jun; 63 (2): 411–436. doi: 10.1124/pr.110.003293.
- Pajot P** (1976) Fluorescence of Proteins in 6-M Guanidine Hydrochloride. *European Journal of Biochemistry*, 63: 263-269.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Punzo F** (1993) Detoxification enzymes and the effects of temperature on the toxicity of pyrethroids to the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 105: 155–158.
- Pokrywka N** (2008) The Flyrm people, On Campus-Vassar College, 26 (7), http://oncampus.vassar.edu/articles/200803_flyrm_people.
- Ridgway N M and Mahr D L** (1990) Reproduction, development, and longevity of *Pholetesor ornigis* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of spotted tentiform leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae), in the laboratory. *Annals of the Entomological Society of America*, 83: 790-794.
- 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 Scienc*, 85: 1355-1360.
- Saravolatz L D and Leggett J** (2003) Gatifloxacin, gemifloxacin, and moxifloxacin: the role of 3 newer fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases* 37: 1210–1215.
- Snedecor G S and Cochran W G** (1989) Statistical methods, 8th edn, *The Journal of Agricultural Science*, Iowa State University Press, Ames, IA.
- Slansky JR F and Scriber J M** (1985) Food consumption and utilization. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, (Eds.), Kerkut G A and Gilbert L I, Pergamon Press, Oxford, 87-163.
- 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.
- SPSS** (1997) User’s manual, version 10. SPSS, Chicago IL.
- Tyler M S** (2000) Developmental Biology: A Guide for Experimental Study, *Sinauer Associates Inc*, ISBN: 0 – 87893 – 843 – 5, Massachusetts, 208 p.
- Ulusoy S** (2010) 1986’ dan 2010’a Kinolonlar. *Ankem Dergisi*, 24 (Ek 2): 96-100
- Vontas J G Small G J and Hemingway J** (2001) Glutathione-s-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochemical Journal*, 357: 65-72.
- Weirich G F, Collins A M and Williams V P** (2002) Antioxidant enzymes in the honey bee, *Apis mellifera* *Apidologie*, 33: 3-14.
- 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.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

Yu S J (2004) Induction of detoxification enzymes by triazine herbicides in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 80: 113-122.

Yuluğ I (2002) Moleküler Biyoloji ve Gen Teknolojileri Özel, Sonbahar, 8 (3): 7-23.



ÖZGEÇMİŞ

Nilay KONAK 1990 yılında Karabük ilinin Safranbolu ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Zonguldak'ta tamamladı. Zonguldak Uzun Mehmet Lisesinden mezun olduktan sonra 2009 yılında Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümüne girdi, 2013 yılında biyoloji bölümünden mezun olduktan sonra 2014 yılında Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans programına girdi ve halen bu alanda yüksek lisans programını sürdürmektedir.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres: Mithat Paşa Mahallesi, Aziziye Caddesi, Aras Kardeşler Apartmanı No: 101/1.
Merkez/Zonguldak

Tel: (+90) 507 548 09 39

E-posta: nilay.konak@hotmail.com