

**SODYUM TETRABORATIN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'İN
BAZI BİYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Meltem ERDEM


**Bülent Ecevit Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalında
Doktora Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

**ZONGULDAK
Haziran 2014**

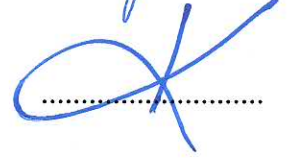
KABUL:

Meltem ERDEM tarafından hazırlanan "SODYUM TETRABORATIN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'İN BAZI BİYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ" başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 23/06/2014

Başkan: Prof. Dr. Nursel GÜL
Ankara Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL
Bülent Ecevit Üniversitesi



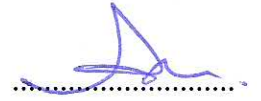
Üye : Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL
Bülent Ecevit Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Ayşe KAPLAN
Bülent Ecevit Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Tolga ACUN
Bülent Ecevit Üniversitesi



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. .../.../2014



Prof. Dr. Şadi ŞEN

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.”


Meltem ERDEM

ÖZET

Doktora Tezi

SODYUM TETRABORATIN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'İN BAZI BİYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Meltem ERDEM

Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL

İkinci Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

Haziran 2014, 67 sayfa

Borun bir türevi olan sodyum tetraboratın *Drosophila melanogaster*'in yapay besin ortamına eklenerek, böceğin yaşama oranı, gelişme süresi, erkek ve dişi ömür uzunluğu, yumurta verimi üzerine etkisi laboratuvar şartlarında incelendi. Bu bor türevi böceğin son evre larvası, pup ve erginlerinde lipid peroksidasyonu ürünü malondialdehid (MDA) ve protein oksidasyonu ürünü protein karbonil miktarları ile antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve detoksifikasyon enzimi glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi üzerine etkisi incelendi. Larvalar; 10, 30, 150, 300 ve 400 mg/L sodyum tetraborat içeren yapay besinler ile beslendi. 3. evreye ulaşan larva oranını, pup ve ergin olma oranını, sodyum tetraboratın denenen tüm konsantrasyonları önemli derecede düşürmüştür. Kontrol besininde % 100,00 ± 0,00 oranında 3. evre larvası elde edilmesine karşın denenen en yüksek konsantrasyon olan 400 mg/L'de bu oran % 59,16 ± 6,49' a düşmüştür. Benzer sonuçlar pup ve ergin olma oranında gözlemlenmiştir. Sodyum tetraborat, ergin evreye kadar gelişme süresi ile ergin dişi ve erkek ömür uzunluğu

ÖZET (devam ediyor)

üzerinde önemli bir etki yapmıştır. Kontrol besininden elde edilen dişilerden $9,46 \pm 0,57$ yumurta elde edilmiş olup bu sayı 300 mg/L' lik sodyum tetraborat konsantrasyonu tarafından $1,92 \pm 0,30$ 'a önemli derecede düşürülmüştür. Ayrıca, sodyum tetraboratın en yüksek konsantrasyonu dişilerin yumurta bırakmasını engellemiştir. Böceğin 3. larva evresinde, sodyum tetraboratın en düşük konsantrasyonunda MDA miktarında kontrol besini ile karşılaştırıldığında istatistiki anlamda azalma olduğu gösterilmiştir. Bunun aksine kontrol besini ile karşılaştırıldığında sodyum tetraboratın en yüksek konsantrasyonu, pup ve erginde MDA miktarını önemli derecede artırmıştır. Sodyum tetraboratın en yüksek konsantrasyonu kontrol besini ile karşılaştırıldığında 3. evre larvası, pup ve erginde, GST ve CAT aktivitesini önemli derecede artırmıştır. Kontrol besini ile sodyum tetraboratın en yüksek konsantrasyonu karşılaştırıldığında böceğin 3. evre larvası ve erginde GPx ve SOD aktivitesinde, istatistiksel olarak önemli bir artış varken, pup evresinde ise bunun tam tersi yani GPx ve SOD aktivitesinde bir azalma gözlemlenmiştir. Sodyum tetraboratın en yüksek konsantrasyonu (400 mg/L) pup ve erginde protein karbonil miktarını artırmış ancak 3. larva evresinde ise protein karbonil miktarında azalma kaydedilmiştir. Bu çalışma böceğin ergin biyolojik özellikleri ile 3. evre larvası, pup ve erginde oksidatif seviye ile antioksidan enzimatik savunma ve detoksifikasyon kapasitesinde sodyum tetraboratın konsantrasyonlarına bağımlı değişimler olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Sodyum tetraborat, *Drosophila melanogaster*, yaşama, yumurta verimi, oksidatif stres, Malondialdehid, antioksidan enzimler

Bilim Kodu: 401.02.01

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

EFFECTS OF SODIUM TETRABORATE ON BIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Meltem ERDEM

Bülent Ecevit University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Thesis Advisor: Prof. Kemal BÜYÜKGÜZEL

Co-Advisor: Assoc. Prof. Ender BÜYÜKGÜZEL

June 2014, 67 pages

The effect of sodium tetraborate (boron compound) on survivorship, development, male and female adult longevity and fecundity of *Drosophila melanogaster* were investigated by rearing the first instar larvae on artificial diets in the laboratory condition. The effect of this boron compound on important oxidative stress indicators; lipid peroxidation product, malondialdehyde (MDA) and protein oxidation products, protein carbonyl (PCO) contents and antioxidant enzymes, glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione S-transferase (GST) activities in the whole body of 3rd larval instars, pupa and adults of the insect were also investigated. The insect was reared from first-instar larvae on an artificial diets containing sodium tetraborate at 10, 30, 150, 300 or 400 mg (mg/L) to adult stage. Relative to the control, the diets containing sodium tetraborate concentrations significantly resulted in decreased survivorship in developmental stages (3rd-instars, pupa and adults) of the insect. Control diet produces 3rd-instar larvae of 100% whereas the highest concentration (400 mg/L) decreased larval survival rate to $59.16 \pm 6.49\%$.

ABSTRACT (continued)

Similar results were recorded at pupal emergence rate. This boron compound significantly affected developmental time and adult longevity. The females from control diet produced 9.46 ± 0.57 eggs but this number of eggs was significantly reduced to 1.92 ± 0.30 by 300 mg/L sodium tetraborate. However, the highest concentration of sodium tetraborate inhibited egg laying of the females. In the 3th-larval instar stage, in the lowest concentration of sodium tetraborate in the MDA concentration, as compared with control diet showed a statistically important reduction. In contrast, compared with control diet, at the highest concentration of sodium tetraborate, the amount of MDA in pupae and adults significantly increased. Compared with control diet, the highest concentration of sodium tetraborate, the GST and CAT activities of 3th-larval instar, pupa and adults were significantly increased. Compared with control diet, the highest concentration of sodium tetraborate significantly increased GPx and SOD activity in larvae and adult stage, while this concentration decreased GPx ve SOD activity in pupal stage. The highest concentration of sodium tetraborate (400 mg / L) increased the amount of protein carbonyl in pupa and adults but protein carbonyl amount in 3th-larval stage was reduced. This study showed a concentration-dependent variation in biological traits in relation to oxidative status and antioxidant enzymatic defence and detoxification capacity in whole body of 3th-larval instar, pupae and adult of *Drosophila melanogaster*.

Keywords: Sodium tetraborate, *Drosophila melanogaster*, survival, fecundity, oxidative stress, Malondialdehyde, antioxidant enzymes

Science Code: 401.02.01

TEŞEKKÜR

Bu Doktora tez çalışması, Sayın Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'in (Doktora Tezi Eş Danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL ile birlikte) yönetiminde gerçekleştirilmiştir. Değerli hocamın her açıdan destek ve yönlendirmeleri olmadan bu çalışmanın başarıya ulaşması mümkün olmayacaktı. Bu çalışmada araştırma süresi boyunca ilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e ayrıca çalışmamın deneysel ve yazma aşamasında moral desteği ve yardımlarını esirgemeyen ve bir araştırmacı olarak basit ve pratik düşünmeyi öğrettiği için değerli hocam Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL'e tüm içtenliğimle teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmam sırasında verdiği destek ve izinler için Ahmet Erdoğan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu müdürü, Sayın Doç. Dr. F. Ebru OFLUOĞLU DEMİR'e teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca, maddi ve manevi açıdan her türlü desteklerini esirgemeyen ve bu destekleri ile bu tez çalışmasının başarıya ulaşmasını sağlayan annem Saniye ERDEM, babam Muammer ERDEM ve kardeşim Kerem ERDEM'e tüm kalbimle teşekkür ediyorum.

Doktora tez çalışmamın her aşamasında yanımda olan, moral desteği ve bilgisini benden esirgemeyen arkadaşım Ceyhun KÜÇÜK'e teşekkürlerimi bir borç bilirim. Bu çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (PROJE NO: 2012-10-06-11).

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL:	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
BÖLÜM 1 GİRİŞ	1
BÖLÜM 2 MATERYAL VE METOD.....	21
2.1 DENEYLERDE KULLANILAN <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI	21
2.2 DENEYLERDE KULLANILAN SODYUM TETRABORAT	22
2.3 DENEYLERDE KULLANILAN D. MELANOGASTER LARVALARININ ELDE EDİLMESİ.....	22
2.4 KONSANTRASYON BELİRLEMEK AMACI İLE YAPILAN ÖN DENEMELER ..	23
2.5 SODYUM TETRABORATIN D. MELANOGASTER'İN YAŞAMA ORANI VE GELİŞME SÜRESİNE ETKİSİ İÇİN YAPILAN DENEYLER	24
2.6 SODYUM TETRABORATIN D. MELANOGASTER'İN ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU VE YUMURTA VERİMİNE ETKİSİ İÇİN YAPILAN DENEYLER... 25	
2.6.1 Ergin ömür uzunluğu	25
2.6.2 Yumurta verimi.....	25

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
2.7 BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	25
2.7.1 Sodyum tetraboratın <i>D. melanogaster</i> 'in MDA ve PCO Miktarları Üzerine Etkisi.....	26
2.7.1.1 MDA Miktarının Ölçülmesi	26
2.7.1.2 PCO Miktarının Ölçülmesi.....	27
2.7.2 Sodyum tetraboratın GST, CAT, GPx ve SOD Aktivitesi Üzerine Etkisi	27
2.7.2.1 GST Aktivitesinin Ölçülmesi	28
2.7.2.2 CAT Aktivitesinin Ölçülmesi.....	28
2.7.2.3 GPx Aktivitesinin Ölçülmesi.....	28
2.7.2.4 SOD Aktivitesinin Ölçülmesi.....	29
2.7.2.5 Total Protein Tayini.....	29
2.8 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	30
BÖLÜM 3 ARAŞTIRMA BULGULARI.....	31
3.1 SODYUM TETRABORATIN <i>D. MELANOGASTER</i> LARVALARININ YAŞAMA ORANI VE GELİŞME SÜRESİNE ETKİSİ.....	31
3.2 SODYUM TETRABORATIN <i>D. MELANOGASTER</i> ERGİNLERİNİN ÖMÜR UZUNLUĞUNA VE YUMURTA VERİMİNE ETKİSİ.....	33
3.3 SODYUM TETRABORATIN <i>D. MELANOGASTER</i> 'İN LARVA, PUP VE ERGİN EVREDEKİ LİPİD PEROKSİDASYON ÜRÜNÜ MDA MİKTARINA ETKİSİ.....	35
3.4 SODYUM TETRABORATIN <i>D. MELANOGASTER</i> 'İN LARVA, PUP VE ERGİN EVRESİNDEKİ PROTEİN OKSİDASYONU SONUCU OLUŞAN PCO MİKTARINA ETKİSİ.....	37
3.5 SODYUM TETRABORATIN <i>D. MELANOGASTER</i> 'İN LARVA, PUP VE ERGİN EVREDEKİ ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ	39

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3.5.1 Sodyum tetraboratın <i>D. melonagaster</i> 'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki GST aktivitesi üzerine etkisi.....	39
3.5.2 Sodyum tetraboratın <i>D. melonagaster</i> 'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki GPx aktivitesi üzerine etkisi	41
3.5.3 Sodyum tetraboratın <i>D. melonagaster</i> 'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki CAT aktivitesi üzerine etkisi	43
3.5.4 Sodyum tetraboratın <i>D. melonagaster</i> 'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki SOD aktivitesi üzerine etkisi	45
BÖLÜM 4 TARTIŞMA	47
BÖLÜM 5 SONUÇ.....	55
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 <i>D. melanogaster</i> 'in yumurtası	7
1.2 <i>D. melanogaster</i> 'in 3. evre larvası.....	7
1.3 <i>D. melanogaster</i> 'in prepup ve pupu	7
1.4 <i>D. melanogaster</i> 'in erkek ve dişi ergini.....	8
1.5 Lipid peroksidasyonunun başlıca aşamaları.	13
1.6 Lipid peroksidasyonun genel kimyasal reaksiyonları.	14
1.7 Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmalarının birlikte genel reaksiyonları.	19
2.1 <i>D. melanogaster</i> 'in yaşama gelişme, ergin ömür uzunluğu ve yumurta verimi deneylerinde 5 ml'lik besin bulunan şişelerdeki beslenme deneyleri.....	23
3.1 Sodyum tetraboratın <i>D. melanogaster</i> 'in ergin ömür uzunluğuna etkisi.....	33
3.2 Sodyum tetraboratın <i>D. melanogaster</i> 'in yumurta verimine etkisi.	34
3.3 Sodyum tetraboratın <i>D. melanogaster</i> 'in larva, pup ve ergin evredeki lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarına etkisi.....	36
3.4 Sodyum tetraboratın <i>D. melanogaster</i> 'in larva, pup ve ergin evredeki protein oksidasyonu sonucu oluşan PCO miktarına etkisi.	38
3.5 Sodyum tetraboratın <i>D. melonagaster</i> 'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki GST aktivitesi üzerine etkisi.	40
3.6 Sodyum tetraboratın <i>D. melonagaster</i> 'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki GPx aktivitesi üzerine etkisi.....	42
3.7 Sodyum tetraboratın <i>D. melonagaster</i> 'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki CAT aktivitesi üzerine etkisi.	44
3.8 Sodyum tetraboratın <i>D. melonagaster</i> 'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki SOD aktivitesi üzerine etkisi.	46

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>		<u>Sayfa</u>
1.1	Bor ve ürünlerinin kullanım alanları	5
1.2	ROT molekülleri ve metabolizmaları	11
1.3	Prokaryot ve ökaryotlardaki GST enzim sınıfları ve biyolojik görevleri	17
2.1	<i>Drosophila melanogaster</i> kültürünün devamı için kullanılan besin bileşimi.....	21
2.2	Konsantrasyon belirlenerek amacıyla yapılan ön deneme sonuçları.	24
3.1	Sodyum tetraboratın <i>D. melanogaster</i> larvalarının yaşama oranı ve gelişme süresi üzerine etkisi.....	32

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: santigrad derece
cm	: santimetre
dk	: dakika
g	: gram
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
APOX	: askorbat peroksidaz
BHT	: butillenmiş hidroksi tolüen
BSA	: sığır serum albumin
CAT	: katalaz
CDNB	: 1-chloro-2,4-dinitrobenzen
DNPH	: 2,4- dinitrofenilhidrazin
DTT	: ditiyotreitöl
EDTA	: etilendiamintetraasetik asit
GPx	: glutatyon peroksidaz
GST	: glutatyon-S-transferaz

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

H ₂ O ₂	: hidrojen peroksit
LSD	: least Significant Difference (En küçük önem farkı)
MDA	: malondialdehid
PCO	: protein karbonil
PMSF	: fenilmetilsülfonil florür
ROT	: reaktif oksijen türevleri
SOD	: süperoksit dismutaz
SPSS	: statistical Package for the Social Sciences
TBA	: tiyobarbitürik asit
TCA	: triklorasetik asit
χ^2	: ki kare (Chi square)

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasal ve biyolojik maddelere pestisit adı verilmektedir. Pestisitler tarımsal mücadelede gerekli olduğu kadar tarımsal alanların temel problemlerinden birini de oluşturmaktadır. Bu alanlardaki kimyasal mücadele çevreye önemli derecede zararlı etkiye sahiptir. Sonuç olarak geleneksel kullanılan pestisitlerin kullanım alanı içerisindeki hedef olmayan diğer organizmalar üzerinde olumsuz etkileri olmaktadır. Bu nedenle kimyasal mücadeledeki pestisit kullanımını günümüzde oldukça öne çıkan konular arasındadır. Kimyasal mücadele yönteminin hedef olmayan diğer canlıların birinci neslin yaşama, gelişmesini etkilediği kadar sonraki nesiller üzerinde de olumsuz sonuçlara neden olmaktadır (Fenske et al. 2002). Pestisitlerin bilinçsizce kullanılması diğer canlıların biyolojisini tehdit etmektedir ve aynı zamanda bu organizmaların üremesi ve fizyolojisi üzerinde önemli değişikliklere de neden olabilmektedirler (Ekebaş et al. 2000). Organik insektisitler zararlı böcekler dışında hedef olmayan diğer canlılara ve çevreye karşı risk oluşturmaktadır. Ayrıca organik insektisitler biyolojik mücadelede kullanılan faydalı böcekleri (parazitoidlerin) ve aynı zamanda insanın da içinde bulunduğu çevredeki organizmaların yaşam süresini ve kalitesini etkilemektedirler (Büyükgüzel 2006). Meyve ve sebzelerin zararlı böceklerden korunmasında kullanılan insektisitler önemli miktarda kalıntı oluşturmaktadır. Bu kalıntılar besin zincirindeki tüm organizmalara toksik etkiye neden olmaktadır. Ekonomik açıdan kayıplara neden olan tarım zararlısı böceklerle karşı kullanılan insektisitler büyük bir canlı grubuna (insanın da dahil olduğu grup) önemli derecede zarar verir. Öncelikli olarak yapılması gereken kimyasal pestisitlerin hedef olmayan canlılar üzerindeki dolaylı etkileri kadar zararlı böcekler üzerindeki doğrudan etkileri ve etki mekanizmaları hakkında da bilgi sahibi olmaktır.

Zararlı böceklerle mücadelede aşırı miktarda ve düzensiz kullanılan kimyasal pestisitlere karşı organizmalarda direnç gelişimi meydana gelmektedir (Barata et al. 2001, Anderson and Zhu 2004). Direnç, kimyasal mücadelede kullanılan insektisitlerin, uygulanan ilk doz

değerlerinden daha az etkilenebilen yeni nesillerin ortaya çıkması olarak açıklanabilir. Bu şekilde büyüyen nesiller doğal seçimle birlikte hassas bireylerin yok olmasını ve devamlı daha dirençli bireylerin ortaya çıkmasını sağlar. Meydana gelen direncin sonunda, kullanılan insektisit artık bu zararlı organizmayı etkileyemez hale gelir. Dirençli nesilleri yok edebilmek için; daha fazla konsantrasyonlarda insektisitlerin kullanılmasına, yeni tür kimyasal maddelerin sentezlenerek değerlendirilmesine veya alternatif yeni kimyasallara gerek duyulmaktadır (Karataş ve Bahçeci 2009, Büyükgüzel 2006).

Bu tez çalışmasında denenen sodyum tetraboratın en önemli özelliği, zararlılarla mücadelede kullanılan diğer kimyasal insektisitlere göre özellikle memelilere karşı düşük toksisiteye sahip olmasıdır. Bor ve türevlerinin ökaryotik canlılara karşı belirli doz aralıklarında toksik özelliği düşüktür. Örneğin borik asitin, daha önce göz damlası olarak kullanılması, hayvan ve bitkilerde besinsel olarak önemli role sahip olması bunu desteklemektedir. Beyaz renkli kristallerden meydana gelen borik asit 1950 yılından sonra ya doğrudan borik asit (H_3BO_3) olarak ya da boraks olarak (Sodyum tetraborat dekahidrat $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$) gıdalarda koruyucu madde olarak kullanılmaya başlanmıştır (Cemeroğlu ve Acar 1986). Borik asitin mikroorganizmalar üzerinde oluşturduğu etki, mikroorganizmaların fosfat metabolizmalarında görev alan enzimleri engellemesine bağlıdır (Cemeroğlu ve Acar 1986). Borik asit ve boraks çok kısa sürede ve hızlı bir şekilde vücuda alınırken çok uzun bir sürede de vücuttan dışarı atılmaktadır. Bu da organizmada depolanma özelliği kazandırır. Borik asitin yüksek miktarı gıdaların besinsel değerinden faydalanmayı engellediği için zayıflama preparatlarında kullanılır. Ayrıca küçük dozlarda koruyucu madde olarak gıdalara ilave edilmeye başlanmıştır. Boraks turuncgillerin yüzeylerinde oluşabilecek küflenmeyi engellemek için kullanılıyor olup bu meyveler % 5 ile % 8 boraks içeren sularda yıkanıp küf zararlılarının oluşması önleniyor (Cemeroğlu ve Acar 1986). Borun hücre zarı yapısı ve hücre fonksiyonlarında doğrudan proton verici olarak görev üstlendiği bilinmekte olup, bitkilerin büyüme ve gelişmesinde de gerekli olan bir elementtir. Hayvan ve insan dokularında ise düşük yoğunluklarda bulunmakta olup (Gregory and Kelly 1997), siyanobakterilerin de azot döngüsünde kullanıldıkları belirtilmiştir (Ho 2000). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada ise borik asitin lipid peroksidasyon seviyesi, nonprotein tiyol grupları ve süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PH) aktiviteleri üzerine etkisi incelenmiştir. Farelerin iki grubu oluşturulmuş olup, ilk gruba A, D, E vitaminlerinin karışımları ile 40 ppm borik asit diğer gruba da aynı vitamin karışımı ile 80 ppm borik asit verilmiştir. İkinci grupta oksidatif stres daha belirgindir. Buna karşın, birinci grupta lipid

peroksidaz enziminde artma, ikinci grupta ise azalma olmuştur. SOD enzim aktivitelerinde her iki grupta da önemli derecede artış gözlenmiştir. Ayrıca her iki grupta G6PH aktiviteleri ve GPx aktiviteleri de artış göstermiştir (Saygıdeğer Demir 2005).

Borun tüm bileşenleri vücuda alındıktan sonra borik asite dönüştürülür. Borik asit vücut sıvılarından pasif difüzyon ile absorbe edildikten sonra yumuşak doku ve kandaki bor konsantrasyonu belirli seviyeye ulaşır. Gıdalarda bulunan borun temel formu borik asite metabolize edilir. İdrardan değişime uğramadan elimine edildikleri bilinmekte olup bu eliminasyona ter, safra ve solunumda katkı vermektedir (Gregory and Kelly 1997). Bor vücuda alındıktan sonra böbrekler tarafından yüksek konsantrasyonlarda vücuttan uzaklaştırılmaktadır. Borun böbrekler tarafından vücuttan uzaklaştırılana kadarda beyin, kemik, böbrek, testis ve karaciğer dokusunda biriktiği bilinmektedir (Jansen et al. 1984, Heindal et al. 1992, Dieter 1994, Moseman 1994). Bunun sonucunda bor böbrekler tarafından vücuttan uzaklaştırılana kadar düşük konsantrasyonlarda tüm organlara dağılmış olup bu miktar 3-20 mg arasındadır (Jansen et al. 1984, Moseman 1994). Bor, bütün organizmalar için toksik olmasına rağmen borun türevleri olan borik asit ve boraks pestisit ve yiyeceklerde koruyucu madde olarak kullanılmaktadır. Günümüzde yiyecek koruyucusu olarak kullanılan borik asit için dünya sağlık örgütü sınırlama getirmiştir. 100 mg üzerinde borik asit alımları toksik etki oluşturmakta olup öldürücü doz yetişkinlerde 15-20 g arasında, çocuklarda ise 3-6 g'dır (Nielsen 1994). Borun kimyasal mekanizması için iki hipotez bulunmaktadır. Bu hipotezlerden birincisi, redoks tepkimelerinde hücre zarı geçiş sinyallerinde ve zar geçiş hareketlerinde düzenleyici iyon görevi görmesidir. İkinci hipotez ise lökositlerin mikroorganizmaları yok etmesinde kullanılan reaktif oksijen parçacıklarının görev aldığı oksidatif patlama olayını düzenlemede görev almasıdır (Saygıdeğer Demir 2005). Borun biyokimyası borik asite bağlı olup borik asit kompleksleri vücutta karbohidratlar, nükleotidler ve vitaminler gibi birçok yapıda bulunmaktadır (Saygıdeğer Demir 2005). Yarı ömür uzunluğu 24 saat olduğu bilinen borik asit sindirim sistemi yoluyla absorbe edilir ve vücut sıvılarıyla dağılıma uğrar. Ayrıca açık yaralar ve mükoz zarlar ile de absorbe edilebilirler (Moseman 1994). Akut alımlarda borik asidin vücuttan uzaklaştırılması % 50 si ilk 12 saat, % 90'ı ise 96 saatken, kronik alımlarda ise bu süre 3 haftayı bulmaktadır (Job 1973, Okudan ve Seçkin 1996).

Sodyum tetraborat elementel borun bir türevidir ve bor minerali oksijenle birlikte boraks halinde bulunur. Borun en önemli bileşikleri borik asit ve borakstır (sodyum tetraborat). Bor türevleri suda kolay erir ve kokusuz, uçucu olmayan, beyaz kristal granüller veya toz halinde

bulunmaktadır. Hamamböceği başta olmak üzere kapalı alanlardaki böceklerin mücadelesinde kullanılmaktadır (Ebeling 1995). Borik asit ve türevleri son zamanlarda inorganik insektisit olarak farklı sulu çözeltiler şeklinde kullanılmış olup bu madde böceğin ön bağırsak ve orta bağırsağına zarar verip, besin alınımını ve alınan besinin sindirilmesini engelleyerek böceğin ölümüne neden olmaktadır (Cochran 1995). Sodyum tetraboratın zararlılarla mücadelede yaygın olarak kullanılmasının bir sebebi de böceğin çoğalmasını engelleyici etkisinin olmasıdır (Zhou and le Patourel 1990). Ayrıca sodyum tetraborat ve borik asit besinsel elementlerin (magnezyum, kalsiyum, bakır ve fosfor vb.) metabolizmasını da etkiler (Xue and Bernard 2003).

Canlılarda besin ile alınan bor miktarının artması tüm dokulardaki bor miktarını artırmaktadır ve dokularda artan borun fazlası belli bir seviyeye kadar tolere edilebilir. Bir canlının günlük alabileceği bor miktarı 0.30-0.41 mg'dır. İnsanlar için bor düşük toksisiteye sahiptir. Ancak yüksek dozları üreme ve gelişme üzerine olumsuz etki yapabilmektedir (Lanoue et al. 1998). Çeşitli deneysel modeller (insan, böcek) kullanılarak yapılan birçok laboratuvar çalışmaları sonucunda borun biyolojik olarak aktif, yararlı bir element olduğu ortaya konulmuştur (Nielsen 2008, Büyükgözel et al. 2010). Nielsen yapmış olduğu beslenme çalışmalarında boru besinden azaltmış ya da tamamen çıkarmıştır ve sonuç olarak bazı yüksek organizasyonlu hayvansal organizmalar ile insanların hayatlarını sürdürebilmeleri için borun gerekli olduğunu belirtmiştir. Gıda koruyucu yani antimikrobiyal madde olarak borik asit (BA) (E284) kullanılmaktadır ve besinlerdeki doz miktarı en fazla 4g/L olması gerekmektedir (Türkiye Tarım Bakanlığı 2004). Bunun yanında bor ve ürünleri tıbbi ve tıbbi olmayan amaçlar için de kullanılmaktadır (Heindel et al. 1997) (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1 Bor ve ürünlerinin kullanım alanları (Özpeker 2001, Absolom 1980, Atalay 2007).

Kalsiyum Sodyum Borat	İzolasyon, Cam, Metalürji, Nükleer, Fiberglas
Sodyum Borat	Rafine boraks pentahidrat ve boraks dekahidrat, Susuz boraks
Boraks Penta ve Dekahidrat, Susuz Boraks	Gübre, Fiberglas, İzolasyon, Metalürji, Cam ağartıcıları, Cam, Yapıştırıcılar, Kozmetik ve ilaç, Tarım, Fotoğraf, Tekstil boyaları, Dericilik, Yün koruyucu
Susuz Borik Asit	Antiseptik, Kozmetik, Yangın söndürücü, Deri, Böcek mücadelesi, Metalürji, Naylon ve Tekstil sanayi, Sabun ve deterjanlar, Fotoğraf
Sodyum perborat	Deterjanlar ve ağartıcılar, Dezenfektan, Tekstil boyaları, Cam ve boyaları
Borik Asit	Cam, Ziraî mücadele, Böcek öldürücü, Böcek mücadelesi, Fotoğraf, Sabun ve deterjan, Naylon, Tekstil boyaları, Balmumu yumuşatıcı, Ağaç koruyucu, Antiseptik, Kozmetik, Yangın söndürücü, Nükleer

Yapılmış olan çalışmalar genellikle borik asit ve türevlerinin böceklerin laboratuvar şartlarında yetiştirilmesinde besin almayı uyarıcılar olarak rol oynadığını göstermiştir. Son zamanlarda bor türevleri ile yapılan çalışmalar, bu maddelerin böceklerin yaşama ve gelişimi üzerindeki etkilerinin belirlenmesine yönelik olmuştur (Hyršl et al. 2007, Durmuş and Büyükgüzel 2008, Güneş 2013). Büyükgüzel ve ark. (2010) tarımsal zararlı bazı böcekler (*Galleria mellonella*, *Ephestia kuehniella*, *Ostrinia nubilalis*) ile yapmış olduğu bir proje çalışmasında borik asitin tek başına ve farklı şeker çözeltileri ile besinsel karışımlarının böceklerin gelişim evrelerine olumsuz etkisini göstermişlerdir.

Bu tez çalışması bir bor türevi olan sodyum tetraboratın zararlı böceklerle mücadele de insektisit olarak kullanılabilirliğinin denenmesi için önemlidir. Bu nedenle yapay besine eklenen sodyum tetraboratın etkisinin belirlenmesinde model organizma olan *Drosophila melanogaster* (Meigen)'in yumurtadan yeni çıkmış larvaları kullanılmış olup böceğin larvaları bu maddeyi içeren besinlerde ergin evreye kadar yetiştirilmiştir.

D. melanogaster beslenmesinin kolay olması ihtiyacı, hızlı üremesi ve kısa sürede yavru vermesi, değişik ekolojik koşullara uyum gösterebilmesi ve küçük yapılı oluşu gibi avantajları sebebiyle biyolojik çalışmalarda çok tercih edilen bir model organizmadır. Bu böcek

olgunlaşmış, olgunlaşmamış ve çürümüş meyvelerin üzerinde beslenip üremektedir. *Drosophila melanogaster*'in taksonomideki yeri aşağıdaki gibidir:

Regnum (Alem)	: Animalia (Hayvanlar)
Phylum (Şube)	: Arthropoda (Eklembacaklılar)
Subphylum (Altşube)	: Mandibulata-Antennata
Clasis (Sınıf)	: Insecta-Hexapoda (Böcekler-Altıbacaklılar)
Subclasis (Alt Sınıf)	: Pterygota (Kanatlılar)
Süperordo (Üst Sınıf)	: Mecopteroidea (Uzun kanatlılar)
Ordo (Takım)	: Diptera (Çift kanatlılar)
Subordo (Alt takım)	: Brachycera (Kısa antenli sinekler)
Familie (Aile)	: Drosophilidae (Sirke sinekleri)
Genus Cins	: <i>Drosophila</i>
Species Tür	: <i>Drosophila melanogaster</i>

D. melanogaster ökaryotik canlı grubuna dahildir. *Drosophila*'da gelişim iki dönemde gerçekleşmektedir. İlki embriyonik dönem yani yumurtanın döllenmesi ile başlar ve genç larvanın yumurtadan çıkmasına kadar devam eden dönemdir ve embriyonik gelişmeler yumurta zarları içinde devam eder. İkincisi post embriyonik dönemdir. Genç larvalarının yumurtadan çıktığı andan itibaren başlar ve ergin hale gelinceye kadar geçirdiği tüm değişikliklerdir (Bownes 1975).

D. melanogaster hayat devri süre olarak ortamın bulunduğu sıcaklıkla değişkenlik göstermektedir. 25 °C de optimum şartlarda yumurtanın ergin hale gelebilmesi için yaklaşık süre 8-10 gün arasında değişmektedir. *D. melanogaster* holometabol (tam metamorfozlu) bir böcektir. Yumurtayı takiben larva, pupa ve ergin dönemleri tüm hayat döngüsünü meydana getirmektedir (Demirsoy 2003).

D. melanogaster 'in yumurtaları 0,5 mm uzunluğunda oval ve beyaz renklidir. Yumurtanın besin içine batmasını önlemek için anterior ucundan dorsalden uzanan bir çift filament bulunmaktadır. Yaklaşık 1-2 gün içinde yumurtadan larvalar çıkmaktadır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 *D. melanogaster* 'in yumurtası (Meltem Erdem tarafından çekilmiştir).

D. melanogaster 'in larvaları beyaz renktedirler ve yumurtanın larvaya dönüşmesi yaklaşık 24 saattir. Ağız parçaları siyahtır ve kolayca görülebilir. Larvalar beslenmeleri sırasında besin içine kanal açar ve hareket ederler. Yumurta açıldıktan sonra 1. evre larvaları, 2. evre larvaları ve son olarak olgun evre 3. evre larvaları meydana gelir ve yaklaşık 2-3 gün sürmektedir. Pupa olana kadar iki kez deri değiştirirler (Demirsoy 2003) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2 *D. melanogaster* 'in 3. evre larvası (Güneş 2013).

Birinci evre larvaları besinden uzaklaşarak şişenin kuru olan yerlerine doğru hareket eder ve burada pupalaşır. Pupa evresi hareketsizdir beslenme gerçekleşmez. Sarı kahverengi bir renktedir. Kanatları, gözleri ve ayakları pupa evresindeyken fark edilebilir. 25 °C' de optimum şartlarda yaklaşık bu evre 4 gün sürmektedir (Demirsoy 2003) (Şekil 1.3).



Şekil 1.3 *D. melanogaster* 'in prepup ve pupu (Meltem Erdem tarafından çekilmiştir).

D. melanogaster erginleri pupa kılıfının anteriörünü delerek çıkarlar. Pupadan yeni çıkan erginler açık renkli ve yumuşaktırlar aynı zamanda kanatları henüz açılmamıştır. Bu durum birkaç saat sonra değişerek kanatlar açılır ergin halini alır. Ömür uzunlukları 25 °C’ de 40-60 gün arasında değişmektedir. Pupadan çıkan dişi bireyler yaklaşık 5 saat sonra çiftleşebilirler ve 2-3 günde yumurtlamaya başlar. Dişiler çiftleşmeye bağlı olmaksızın yumurta bırakırlar fakat döllenenmiş yumurtalar açılmaz. *D. melanogaster*’in erkek ve dişi erginlerinde bir takım değişiklikler vardır. Dişi ve erkek bireylerde genital plaklarında, dişilerde vagina ve anüs, erkeklerde ise penis ve anüs bulunur. *D. melanogaster*’in erginlerinin eşey tayininde erkek bireylerin özelliklerine bakılarak dişilerden kolaylıkla ayırt edilirler. *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. Bunun yanında erkeklerde dişilerden farklı olarak eşey tarağı (sex comb) bulunmaktadır. Eşey tarağı erkeklerde her ön bacağın bazal tarsus segmentinin metatarsusu üzerinde küçük tarak şeklinde bulunmaktadır ve bu eşey tayinindeki en önemli özelliktir (Demirsoy 2003) (Şekil 1.4).



Şekil 1.4 *D. melanogaster* ‘in erkek ve dişi ergini (Güneş 2013).

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 (Çakır ve Sarıkaya 2004, Sarıkaya et al. 2010, Doane 1967). 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).

Borik asitin *Galleria mellonella* larvalarının hemolenfi ve yağ dokusunda protein profilini değiştirdiği ve yüksek konsantrasyonunda böceğin hemolenfinde 45 kDa'luk bir protein sentezlemesine neden olduğu ortaya çıkarılmıştır (Hyršl et al. 2008). Yapılan bir çalışmada *Apis mellifera* (L.) işçi larvalarında iki ayrı miktarda, 2,5 ve 7,5 mg/g (mg/g besin) oranında, borik asit besine ilave edilmiştir. Kontrol grubuna göre işçi larvaların ölüm oranı artmıştır. Borik asitin 2,5 mg'ı 5. ve 6. günde larvaları % 100 oranında öldürürken, 7,5 mg'da 4. günde %100 ölüm oranına neden olmuştur (Cruz et al. 2009). *Drosophila* ssp ile ilgili yapılan bir çalışmada besine ilave edilen borun dokularda birikimi, gelişme evresine göre değiştiği gösterilmektedir. Bor düşük konsantrasyonlarda yaşam süresinde az ama önemli derecede uzamaya neden olmuştur. Normal düzeydeki besinsel bor miktarı biyolojik koruyucu bir etki yapmıştır (Massie et al. 1990). Çam kese böceği *Thaumetopea pityocampa* (Schiff) (Lepidoptera) larvalarına karşı %10'luk boraks ve borik asit çözeltilerinin öldürücü etkiye neden olmadığı tespit edilmiştir (Dayıoğlu 2008). Yapılan bir çalışmada borik asitin Alman hamam böceği *Blatella germanica* (L)'nin sindirim işlemini ve enzimatik antioksidan savunma sistemini olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Bu çalışmada borik asitin orta bağırsak epitel dokusunda hasara neden olduğu ve GST enziminin aktivitesini artırdığı, asetilkolin esteraz (AChE) enzimini inhibe ettiği ortaya çıkarılmıştır (Habes et al. 2006).

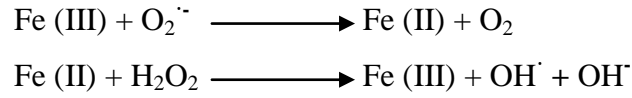
Organik kimyasal insektisitler özellikle organofosfatlı insektisitler hedef ve hedef olmayan canlıların sinir sistemini etkilemektedir (Büyükgüzel 2006). Tarımsal alanlarda kullanılan kimyasal maddelere maruz kalan canlılarda reaktif oksijen türleri (ROT) meydana gelir. Paylaşılmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktif atom veya moleküller olan ROT'lar, hücre zarının doymamış yağ asitlerine aynı zamanda protein bileşimine de zarar vermektedirler (Halliwell 1994, 1999, Heinle and Betz 1994, Gülbahar 2007). Ayrıca serbest radikallerin hücre zarı ile etkileşmesinden dolayı enzimler, hormonlar ve nörotransmitter maddeler de olumsuz yönde etkilenmektedir. Yüksek konsantrasyonlardaki insektisitlere maruz kalan böcekler canlı kalabilmek için, metabolizmalarında ROT'ları meydana getiren toksik maddeleri oksitleyebilme yeteneğine sahiptir (Felton and Summers 1995, Cheseman and Slater 1993).

ROT'lar; başta proteinler, lipidler ve DNA olmak üzere çeşitli biyomoleküllerin bütünlüğünü tehdit eden hücre içi oksijen ara ürünlerini ifade etmektedir (Cnubben et al. 2001). ROT'nin fizyolojik kullanımı arasında hücrelerarası sinyalizasyon ve redoks reaksiyonları yer almaktadır. Nitrik oksitin bir sinyal molekülü olması yanında transkripsiyon faktör

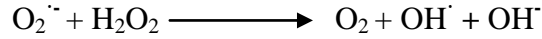
aktivitelerinin ve gen ekspresyonunun düzenleyicisi olduğu da bilinmektedir. Bazı sitokinler, büyüme faktörleri, hormonlar ve nörotransmitter maddeler intraselluler sinyal üretiminde ikinci haberci olarak ROT'yi kullanmaktadırlar (Nordberg ve Arner 2001).

Yaşamları süresince, tüm canlılar farmakolojik ya da besin kökenli olmak üzere ksenobiyotiklere (zararlı madde) maruz kalırlar. Enzimatik reaksiyonlar sonucunda ksenobiyotiklerin uzaklaştırılması olayına detoksifikasyon (zehirsizleştirme) denir. Canlılarda detoksifikasyon sistemleri birbirlerinden farklı olabilir. Hücrelerdeki serbest radikallerin oluşumu endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağılı olarak meydana gelmektedir. Endojen etmenler oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları ile meydana gelmekte ve bu olaylar organizmada normal olarak gelişmektedir. Enfeksiyon, stres, virüsler, kimyasalların etkisi altında kalma, pestisidler, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliğine neden olan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, çözücüler gibi çevresel faktörler, demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom, civa gibi metal iyonları ekzojen kaynaklı etmenler arasında sayılabilir (Halliwell 2000, Ates et al. 2004, Burçak ve Andican 2004).

Biyolojik olaylar için oksijen gereklidir (Erenal et al. 1993, Comporti 1993). Oksijen canlı dokularda iki yolla indirgenir. İlk olarak oksijen 4 elektron alarak suya indirgenir. İkincisi ise oksijen basamak basamak tek değerli formuna indirgenir bu indirgenme olayı daha düşük bir oranda gerçekleşmektedir. Her iki yolla serbest oksijen türleri oluşur. En önemli serbest oksijen türleri süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil (OH^{\cdot}) ve singlet oksijen (1O_2) türleridir (Erenal 1993, Draper 1990). Oksijen molekülü tek elektron alarak serbest oksijen grubunu meydana getirirken iki elektron indirgenmesi ile hidrojen peroksiti oluşturur. Hidrojen peroksit enzimatik ve enzimatik olmayan yol olmak üzere iki şekilde meydana gelir. Süperoksit grubu fizyolojik pH'da kendiliğinden meydana gelen bir dismutasyonla hidrojen peroksiti meydana getirebilir. Bunun yanında bir antioksidan enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) ile katalize edilip hidrojen peroksiti meydana getirebilir. Hidrojen peroksit serbest oksijen türü (radikali) değildir. Bu grupta olmasının sebebi kolayca oksijen türlerini oluşturmasıdır. Demir, bakır gibi geçiş grubundaki metaller ile tepkimeye girerek daha reaktif grupları meydana getirmektedir. Tepkime aşağıda ki gibi gerçekleşmektedir ve demir katalizörlüğünde gerçekleştiğinden dolayı bu olay Fenton reaksiyonu olarak adlandırılmaktadır.



Ayrıca süperoksit grubu hidrojen peroksit ile tepkimeye girer bu olay Haber-Weiss tepkimesidir ve tepkime şu şekildedir;



En reaktif serbest radikal grubu olan OH^{\cdot} , özellikle elektronca zengin olan membranlardaki çok sayıda yağ asitleri, proteinler, DNA, karbohidratlar gibi biyomoleküller ile tepkimeye girer. Tepkimeler elektron transferi, hidrojen koparma ve katılma tepkimeleri ile ayrıca radikalın dış orbitaline elektron alma ilgisinden oluşan tepkimelerdir (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2 ROT molekülleri ve metabolizmaları (Nordberg and Arner 2001).

ROS molekülü	Ana kaynak	Enzimatik savunma Sistemleri	Ürün(ler)
Süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot -}$)	Elektron taşıma sisteminden (ETS) elektron sızıntısı, Fagositoz, Ksantin oksidaz, Flavoenzimler	Süperoksit dismutaz (SOD), Süperoksit reduktaz (bazı bakterilerde)	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ H_2O_2
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	SOD reaksiyonu ile $\text{O}_2^{\cdot -}$ 'den, NADPH, Oksidazdan(notrofiller), Glikoz oksidaz, Ksantin oksidaz	Glutasyon peroksidaz (GPx), Katalaz (CAT), Peroksiredoksinler	$\text{H}_2\text{O} + \text{GSSH}$ $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ H_2O
Hidroksil radikali (OH^{\cdot})	Metal iyonları ile $\text{O}_2^{\cdot -}$ ve H_2O_2 'den		
Nitrik oksit (NO)	Nitrik oksit sentaz'dan	Glutasyon/TrxR	GSNO

Böceklerde ROT'lar, lipid peroksidasyonu, protein ve enzim oksidasyonuna, hücredeki glutasyon miktarının azalmasına ve böylece oksidatif hasar meydana gelmesine neden olur (Ahmad 1995, Krishnan et al. 2009). Hyršl et al. (2007) ekonomik kayıba neden olan Lepidopter takımına ait *Galleria mellonella* L.'nin son evre larvalarından elde edilen

hemolenf ve yağ dokularında borik asitin farklı konsantrasyonlarının oksidatif strese neden olduğunu ve bu dokulardaki antioksidan enzim sistemi üzerinde olumsuz etki gösterdiğini açıkça ortaya koymuşlardır. Ayrıca bir başka çalışmada da Büyükgüzel and Kalender (2007) bir antibakteriyel antibiyotik olan penisilinin farklı konsantrasyonlarını kullanarak, *G. mellonella*'nın tüm larval evrelerinin (3-7. evreler) orta bağırsağında antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi sonucu böceğin bu kimyasal maddeden olumsuz etkilendiği ve lipit peroksidasyon ürünü olan malondialdehid (MDA) miktarının önemli derecede arttığını göstermişlerdir.

Farklı sebeplerle reaktif oksijen türlerinin artması ve antioksidan mekanizmaların yetersiz kalması ile oksidatif stres adı verilen bir dizi patolojik olaylar meydana gelmektedir. Oksidatif stresin, çeşitli mekanizmalar ile DNA'da baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA protein çapraz bağlanması gibi çeşitli lezyonlara sebep olarak hasara neden olduğu bilinmektedir (Williams and Jeffrey 2000, Cooke et al. 2003). Oksidatif stresin önemli göstergeleri, hücrede bulunan yapısal ve işlevsel biyomoleküllerin oksidatif hasar görmesidir. Oksidatif hasar sonucu yapısı bozulan lipit moleküllerinin parçalanması ile MDA ve diğer aldehitler oluşur. Lipit peroksidasyonu seviyesinin en önemli göstergesi MDA miktarının artmasıdır (Manno et al. 1985, Cheesman 1993). MDA, proteinlerin amino grubu, fosfolipitler ve nükleik asitler ile reaksiyona girer.

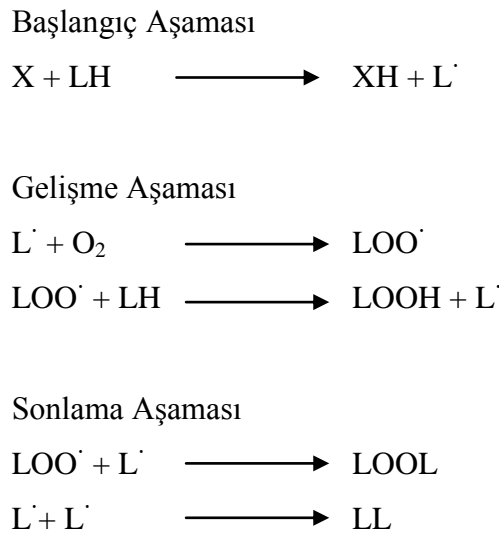
Lipid peroksidasyonu membran lipidlerinin oksidatif hasarı sonucunda hücre zarının yapısının bozulmasıdır. Hücrenin canlılığının devamı için hücre zarının bütünlüğü ve akıcılığı önemlidir. Enzimatik olmayan lipid peroksidasyonu üç yolla gerçekleşmektedir.

Başlangıç aşamasında serbest radikalın zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asidi (LH) zincirindeki bir metilen grubundan H^+ atomunu koparması ile başlar. Yağ asitlerinde çift bağlar bulunur ve C-H bağının zayıflamasına neden olarak H^+ atomunun kopmasını sağlar. OH^{\cdot} , alkoksil, peroksil ve hidroperoksil radikalleri ilk olarak H^+ atomunu koparacak aktivitedeki radikallerdir. H^+ atomunun kopması ile yağ asidi zincirinde karbon merkezli, bir lipid radikali (L^{\cdot}) oluşur.

Gelişme aşamasında oluşan L^{\cdot} moleküler oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksil radikali (LOO^{\cdot}) meydana gelir. LOO^{\cdot} , diğer bir yağ asidi (LH) molekülünden ayrılan bir H atomu ile reaksiyona girerek lipid hidroperokside ($LOOH$), sonuç olarak tekrar hidroperoksidlere ve

yeni lipid radikallerine dönüşür. Bu şekilde zincir kendi kendine katalizlenerek ilerler. Bu nedenle zar bütünlüğünü, akıcılığını ve geçirgenliğini büyük ölçüde zarara uğratar. Lipid hidroperoksidler hidrofilik yapıdadırlar ve oldukça dayanıklı moleküllerdir. Ancak yıkımları metal iyonları ve yüksek sıcaklıkta artar. Bu şekilde lipid peroksidasyon hızlanır.

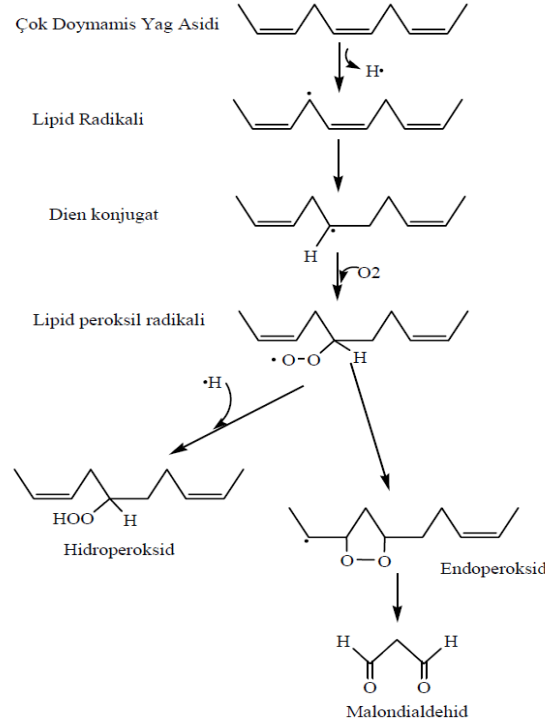
Sonlanma aşamasında meydana gelen radikaller birbiri ile reaksiyona girerek ester, eter, aldehit, keton ve alkol gibi radikal olmayan ürünlere dönüşürler. Ayrıca bu ürünler hücrenin diğer bölgelerine difüz ederek hücre bileşenlerinde hasara yol açar (Porter et. al 1995) (Şekil 1.5).



Şekil 1.5 Lipid peroksidasyonunun başlıca aşamaları.

Lipid peroksidasyon düzeyi lipid peroksidasyon ürünlerinin ölçülmesi ile belirlenmektedir. Lipid hidroperoksidlerin yıkımı sonucunda aldehidler meydana gelir. Aldehidler arasında en önemli olanları 4-hidroksi-2-trans-nonenal (HNE) ve MDA'dır. MDA iki ya da daha fazla çift bağ bulunduran çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif peroksidasyonu sonucu meydana gelmektedir (Şekil 1.6).

MDA'nın başlıca özellikleri, uçucu, düşük molekül ağırlığına sahip (MA=72,07 g/mol), zayıf asid ($pK_a=4,46$) ve kısa zincirli 1,3-dikarbonil bileşiği yapısında olmasıdır. Nötral ve alkali ortamda enolat iyon formunda bulunur. Fizyolojik ortamda orta derecede reaktif olduğundan dolayı elektrofilik ve nükleofilik olmak üzere iki türlü etki göstermektedir. Fizyolojik role sahip moleküller ile reaksiyona girerek bunların yapı ve fonksiyonlarını bozar.



Şekil 1.6 Lipid peroksidasyonun genel kimyasal reaksiyonları (Murray vd. 1996, Altıntaş 2006).

Organizmada oksidatif stres sonucunda protein oksidasyonu da meydana gelebilir. Proteinlerde meydana gelen oksidasyon primer reaksiyon, lipid peroksidasyon ürünlerinin proteinlerle okside ürünler oluşturması ise sekonder reaksiyon ile gerçekleştirilmektedir. Primer ve sekonder oksidasyon reaksiyonları sebebiyle aminoasitlerin yan zincir reaksiyonları meydana gelir. Ayrıca polipeptid yapının parçalanması sonucu daha küçük parçalar meydana gelebilir. En ileri düzeydeki etkisi ise proteolitik enzimlerle parçalanamayan çapraz bağlı agregatlar meydana gelir. *In vitro* olarak yapılan çalışmalarda ROT'nin bazı aminoasitlerle reaksiyona girmesi sonucunda aktivitesi daha düşük enzimler ve denatüre proteinleri meydana getirdiği gösterilmiştir (Stadtman and Levine 2000). Serbest radikallerin proteinleri nasıl etkileyeceği amino asit kompozisyonuna, proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisitesine bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi oldukça fazladır. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin gibi aminoasitlerden meydana gelen proteinler serbest radikallere karşı oldukça duyarlıdır (Kavas 1989). Protein oksidasyonunun belirlenmesinde en önemli metodlardan birisi protein karbonillerin miktarının belirlenmesidir. Özellikle prolin, arjinin ve lizin oksidasyonu sonucunda protein karboniller meydana gelmektedir (Erenal et al. 1993, Comporti 1993).

Marnett (2000) tarafından yapılan bir çalışmada ROT' ların, DNA'nın kimyasal yapısını değiştirmesi nedeni ile mutajenik olabileceği öne sürölmüştür. DNA'nın kopması, DNA-protein çapraz bağ oluşumu ve pürin bazlarının oksidasyonu gibi birçok DNA hasarına ROT neden olmaktadır. Eğer zarar görmüş DNA onarılmaz ise replikasyon süresince hatalı baz eşleşmesi meydana gelmektedir. Bunun sonucunda bir mutasyon gelişebileceği gibi oksidatif strese maruz kalan kişilerde kanser gelişiminin yüksek oranda olması muhtemeldir (Mates et al. 1999).

Hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehidler monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu oluşurlar ve patolojik süreçte rolleri büyüktür. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak amitotik etki meydana getirirler, böylece kanser ve yaşlanma olaylarında görev alırlar (Akkuş 1995).

Vücutta serbest radikallere karşı oluşturulan doğal bir savunma mekanizması mevcuttur. Bu savunma mekanizmasında rol oynayan bileşiklere 'antioksidan' adı verilmektedir. Antioksidanlar hem hücre zarında, hücre içinde hem de hücreler arası alanda bulunabilirler (Ahmad 1995).

Antioksidanlar farklı mekanizmalar ile etki gösterirler, Birincisi antioksidanların ROT'ları enzimsel reaksiyon mekanizması ile veya doğrudan temizlemesidir. İkincisi ROT'nin meydana gelmesini en baştan engellemesidir. Üçüncüsü radikalleri meydana getiren reaksiyonlar, metal iyonlarının bağlanmasını engelleyerek önlemesidir. Sonucu olarak antioksidanlar, ROT ile hasar görmüş biyomoleküller tamir ederek veya temizleyerek etki gösterirler (Yalçın 1992).

Hücrenel antioksidan sistem enzimatik ve nonenzimatik olmak üzere iki kısma ayrılır (Nordberg and Arner 2001, Erel 2004). Enzimatik antioksidanlar; Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon S- transferaz (GST), Glutasyon peroksidaz (GPx), Glutasyon redüktaz (GR)'dir.

SOD, metalloprotein yapısında olan, süperoksit radikalini H₂O₂'e dönüştüren ve hücrenel H₂O₂ kaynağı olarak bilinen, organizmayı serbest radikal hasarına karşı koruyan, fagosite edilmiş bakterilerin öldürölmesinde rol oynayan bir enzimdir (Perez-Campo et al. 1993, Fridovich 1999, Kavas 1989, Akkuş 1995). Endojen bir enzim olup organizmayı oluştur

her hücre için gereklidir. SOD beş farklı şekilde bulunur. Bunlar sırası ile manganez içeren Mn-SOD, Bakır ve çinko içeren CuZn-SOD, Mn ve Demir içeren Fe-SOD, Nikel içeren Ni-SOD ve son olarak bakır içeren Cu-SOD'dur. Bunların içinde en çok bulunan formu sitoplazmadaki Cu/Zn SOD'dur (Çaylak 2011). *D. melanogaster*'de normal SOD aktivitesinin yaklaşık % 50'si güçlü oksidatif strese karşı direnç oluşturmak için gerekli iken normal şartlarda böceğin yaşamını devam ettirebilmesi için çok az SOD aktivitesi yeterlidir (Bourg 2001). Katalaz (CAT) enzimi, organizmada serbest radikal birikimine karşı savunma amaçlı meydana gelen enzimlerden bir tanesidir. Sumner and Dounce (1937) tarafından sığır karaciğerinden elde edilen katalaz enziminin moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 240.000'dir. Peroksizomlarda belirlenmiş olan CAT enzimi yapısında 4 adet 'hem' prostetik grubu bulunan bir hemoproteindir. Karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde aktiviteyi yüksektir. Süperoksit dismutazın (SOD) süperoksit radikallerinden meydana getirdiği H_2O_2 ile metabolik yollardan meydana gelmiş H_2O_2 'i indirgeyerek H_2O 'ya dönüştürür (Schonbaum and Chance 1976). Katalazın işlevi peroksidatik ve katalitik olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir. Katalitik aktivite katalazın temel fonksiyonu olan H_2O_2 'in parçalanmasıdır. Peroksidatik aktivite ise düşük H_2O_2 konsantrasyonunda, metil ya da etil hidroperoksitler, metanol, etanol, fenol gibi küçük moleküllü elektron vericilerini indirgeyebilmesidir. Ancak lipid peroksitleri gibi büyük molekülleri katalaz enzimi indirgeyememektedir. Enzim bir molekül H_2O_2 'den elektron alarak onu oksitler ancak kendisi redüklenir (Petlicki and Van de Ven 1998). Yakın geçmişte keşfedilen enzimlerden biri olan Peroksidaz (Px), H_2O_2 ve farklı alkil hidroperoksitler ile reaksiyona girerek bunları indirger (Chae et al. 1999). Katalazın, *D. melanogaster*'in stres direncinde önemli rolü bulunmaktadır (Bourg 2001).

Glutasyon -S- transferaz (GST) enzimi yabancı maddelerin (ksenobiyotikler) biyotransformasyonunda yer alan önemli bir enzimdir. GST homodimer ve heterodimer olmak üzere iki alt birimden meydana gelmiştir. Lipid peroksitlere karşı selenyumdan bağımsız GPx aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması meydana getirir (Akkuş 1995). Böceklerde ise GPx'in selenyumdan bağımsız tipi mevcuttur (Ahmad and Pardini 1990). Lepidoptera, Diptera, Coleoptera ve Hymenoptera takımlarında GST enzimi saflaştırılmıştır. GST enzimi böceklerde detoksifikasyondan sorumlu olmasına karşın aynı zamanda hücrel membranların oksidatif yıkımlarına karşı da koruma görevi bulunmaktadır (Yu 2008). GST'lerin ortak özelliği tripeptid glutasyon ile birlikte birçok hidrofobik toksik bileşiğin elektrofilik gruplarına saldırarak atılmalarını sağlamalarıdır. Ayrıca bu enzimler çok sayıda

endojen ve ekzojen bileşiğe non-katalitik olarak bağlanarak farklı hücre fonksiyonlarında da görev alırlar. Hem ökaryotlarda hem de prokaryotlarda GST enzimi bulunur. Hücrede sitozolde, mitokondrilerde ve mikrozomal yapılarda GST'ler bulunur (Hayes et al. 2005) (Çizelge 1.3).

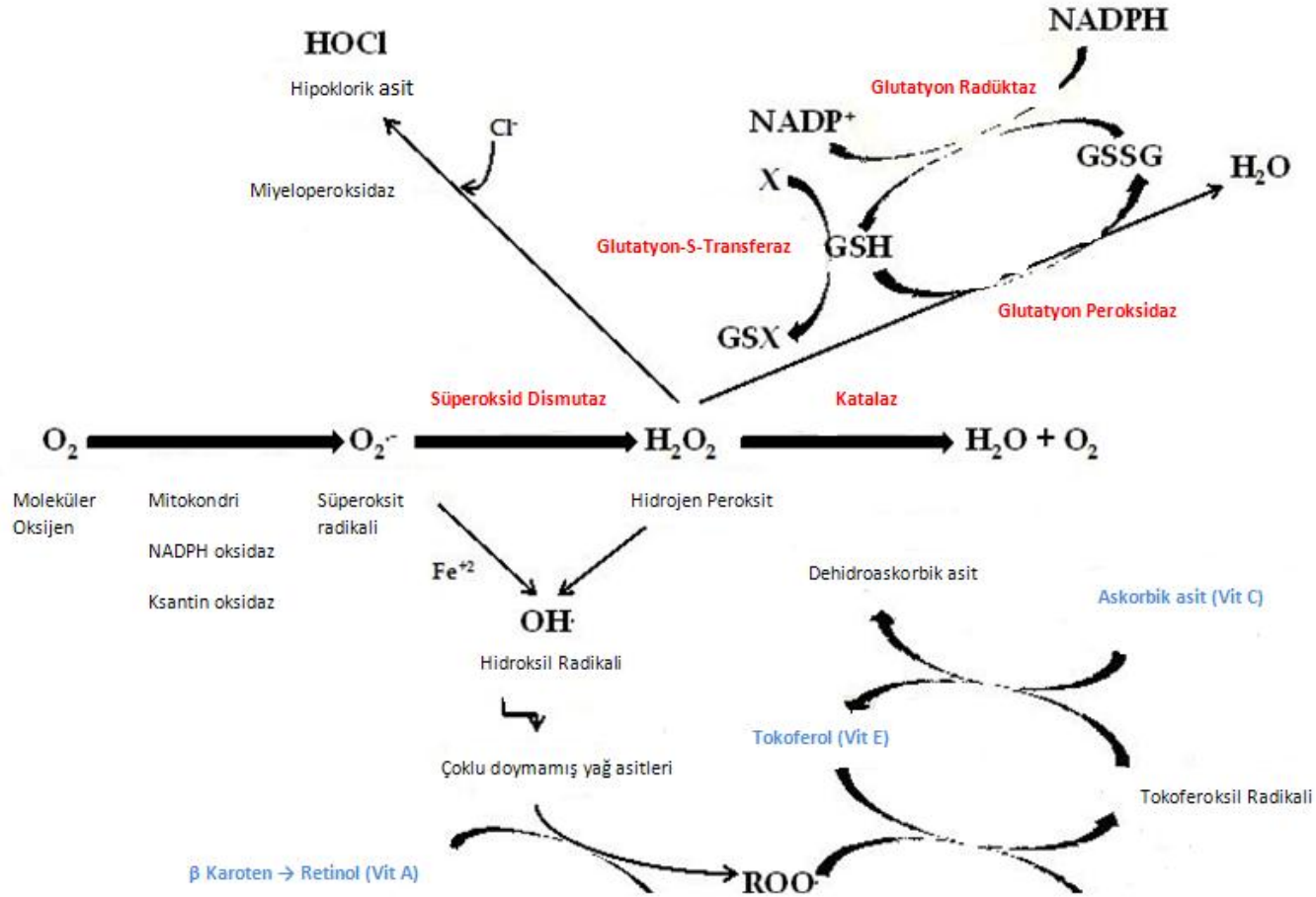
Çizelge 1.3 Prokaryot ve ökaryotlardaki GST enzim sınıfları ve biyolojik görevleri (Chronopoulou and Labrou 2009).

Organizma	Sınıf	Fonksiyon	Aktif Bölge
Memeli	Alfa ^a (α)	Detoksifikasyon, ilaç metabolizması, peroksidaz ve izomeraz aktivitesi,	Tirozin
	Mu ^a (μ)	ilaç metabolizması	Tirozin
	Phi ^a (ϕ)	ilaç metabolizması	Tirozin
	Teta (θ)	Endüstriyel bileşiklerin metabolizması	Serin
	Zeta (ξ)	a-Halosit metabolizmanın katalizlenmesi	Tirozin
	Omega (ω)	Oksidatif stres	Tirozin
	Sigma (σ)	Prostaglandin sentezi	
Bakteri	Beta (Diğer GST'ler de bulunabilir)	Organik bileşiklerin katabolizması	Sistein
	Chi ^a (χ)		Bilinmiyor
Böcek	Delta ^a (δ)	Çevresel ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu	Serin
	Epsilon ^a (ϵ)	İnsektisit detoksifikasyonu, peroksidaz aktivitesi, oksidatif stres	Serin
	Teta (θ)	Bilinmiyor	Serin
	Sigma (σ)	Muhtemelen oksidatif stres ürünlerine karşı, Kas fonksiyonunda görev alabilir	Tirozin
	Zeta (ξ)	Tirozin degradasyon yolağı	Serin
	Omega (ω)	Olasılıkla oksidatif strese karşı	Sistein

Selenyuma bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki tipi bulunan GPx enzimi, substrat olarak glutatyonu (GSH) kullanarak organik hidroperoksitlerin ve hidrojen peroksidin indirgenmesinde görev alır (Perez-Campo et al. 1993, Cnubben et al. 2001). Selenolat aktif bölgesinin selenenik asite oksidasyonu ile hidroperoksitler indirgenir. Bir molekül GSH'ın eklenmesi ile selenenik asit, GSH selenenilsülfite (Se-SG) dönüşür ve ikinci bir GSH molekülünün eklenmesi sonucunda ise aktif haldeki selenolat ve okside glutatyon (GSSG) meydana gelmektedir. Fizyolojik koşullarda GPx son derece yüksek antioksidan özellik gösterirken diğer antioksidan enzimler yalnızca oksidatif stres altında reaksiyon etkisi gösterirler (Epp et al. 1983).

GR, okside olmuş glutatyonun (GSSH), indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüştürülmesinde görev alan enzimdir. Bu sebeple bazen antioksidan enzimler grubunda değerlendirilmeyip antioksidan mekanizmada yardımcı enzim olarak kabul edilir. Ayrıca GPx tarafından GSH da, GSSH'ye yükseltgenir. Bu sebeple GR ve GPx'in dokulardaki dağılımlarının aynı olduğu belirtilmektedir (Perez-Campo et al. 1993).

Nonenzimatik antioksidanlardan birisi olan glutatyon (GSH, γ -glutamil sisteinil glisin) oksijenli solunum yapan tüm hücrelerde bulunmaktadır. Düşük molekül ağırlığında, tripeptid yapıda ve tiyol grubu bulunduran enzimatik olmayan bir antioksidandır (Dringen 2000, Cnubben et al. 2001). Glutatyonun birbirine dönüşen indirgenmiş bir tiyol formu (GSH) ile okside formu (GSSH) bulunmaktadır. Birçok hücrede glutatyonun en yoğun bulunan formu, GSH yani glutatyonun indirgenmiş halidir (Terpstra et al. 2003). GSH'ın izomerizasyon reaksiyonlarının kofaktörü olarak, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda, hücre proliferasyonunda önemli görevleri bulunmaktadır. GSH, içerdiği tiyol grubu vasıtası ile hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam oluşturarak hücreyi oksidatif hasara karşı korur (Dringen 2000). Enzimatik olmayan diğer antioksidanlar Vitamin C ve E, β -karoten, farklı selenyum bileşikleri, lipoik asit, ürik asit, sülfür içeren amino asitler ve yağ asitleridir (Kavas 1989, Nordberg and Arner 2001) (Şekil 1.7).



Şekil 1.7 Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmalarının birlikte genel reaksiyonları.

Oksidatif radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için diğer ökaryotik organizmalar gibi böceklerde de antioksidan enzimatik savunma sistemi vardır (Ahmad 1992). SOD, CAT, GPx, GST ve GR böceklerdeki antioksidan enzimlerdir (Ahmad et al. 1989, Ahmad 1995). Ayrıca *Helicoverpa zea* (Boddie)'nin larval evresinde antioksidan enzim olan askorbat peroksidaz (APX) tespit edilmiştir (Mathewes et al. 1998). Bu antioksidan enzimlerin dışında *Drosophila ssp.* de bir antioksidan enzim olan tiyoredoksin peroksidaz bulunmuştur (Missirlis et al. 2003). Tüm canlılarda antioksidan savunma sistemi bulunmaktadır. Süperoksit ve hidrojen peroksit radikalleri böceklerin sindirim kanalında oksidatif strese neden olmaktadır (Peric-Mataruga et al. 1997, Krishnan and Kodrik 2006). Böceklerde de antioksidan savunma sisteminin başlıca görevi endojen veya ekzojen kaynaklı reaktif kimyasalları yok etmek ya da etkisiz hale dönüştürmektir. Organizmalarda biyolojik değişikliklerin başlıca nedeni çeşitli çevresel stres faktörleridir. Canlılar sahip olduğu detoksifikasyon kapasitelerine bağlı olarak bu faktörlerin zararlı etkisinden korunabilirler (Vasseur and Leguille 2004). Böceklerde GST enzimleri ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda görevlidirler (Krishnan and Kodrik 2006, Büyükgüzel et al. 2007). Böylece GST enzimleri böceklerde insektisit dirençliliğini sağlarlar (Vontas et al. 2001, Enayati et al. 2005, Sumasundarun and Coats 1991). Faz II detoksifikasyon sisteminde önemli rol oynayan GST, ksenobiyotikleri daha az toksik formlara dönüştürerek yani glutatyona konjuge ederek veya elektrofilik maddelerin toksik etkilerini azaltarak daha polar moleküller haline getirmektedir (Grant and Matsumura 1989, Vontas et al. 2001, Yu 1999). Ayrıca GST enzimi SOD, CAT, GPx ve GR enzimleri arasında geniş bir substrat özelliği gösterir (Vontas et al. 2001) ve peroksidaz benzeri aktiviteleri (GSTpx) de bulunmaktadır (Krishnan and Kodrik 2006). Selenyuma bağımlı GPx enziminin aktivitesi böceklerde azdır. Bu nedenle böceklerde düşük olan GPx enziminin aktivitesi CAT enzimi ve GST enziminin GPx benzeri aktivitesi (GSTpx) ile gerçekleştirilir (Krishnan and Kodrik 2006).

Buraya kadar verilen araştırma sonuçlarından ve genel bilgilerden anlaşılacağı üzere sodyum tetraboratın böceklerdeki oksidatif etkisi bilinmemekle beraber enzimatik antioksidan savunma sistemi üzerindeki etkisi hakkında yeterince bilgi bulunmamaktadır. Sodyum tetraboratın etkisini belirlemeye yönelik *D. melanogaster* ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in gelişim evrelerindeki yaşama oranı, gelişme süresi, bazı ergin özellikleri ile lipit peroksidasyonu, protein oksidasyonu düzeyi ve antioksidan enzim aktivitesi (GST, SOD, CAT, GPx) üzerine etkisi araştırılmıştır.

BÖLÜM 2

MATERYAL VE METOD

2.1 DENEYLERDE KULLANILAN *DROSOPHILA MELANOGASTER* KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI

Yapılan bu tez çalışmasında Biyokimya ve Fizyoloji araştırma laboratuvarında mevcut olan yabancı tip *Drosophila melanogaster* (Meigen)'in Oregon R soyu (Diptera: Drosophilidae) (W1118, wild ype) kullanılmıştır. Stok kültür, aseptik olmayan koşullarda *D. melanogaster*'in yumurtadan yeni çıkmış 1. evre larvalarının besiyerinde ergin evreye kadar yetiştirilmesi ile gerçekleştirildi. Tüm deney düzeneği ve stoklar 25 ± 2 °C ve % 60-70 bağıl nemde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyot koşullarında inkübatörde yapıldı. *D. melanogaster* kültürünün devamı için Rogina et al., 2000 ve Lesch et al., 2007 geliştirdikleri yapay besin ortamı kullanıldı (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 *Drosophila melanogaster* kültürünün devamı için kullanılan besin bileşimi

BESİN BİLEŞİMLERİ	MİKTAR
Agar- agar (Ultrapure)	8 g
D-Sükroz (SigmaUltra, $\geq\%99$, Sigma-Aldrich)	20 g
Kuru toz maya (Dr. Oetker Gıda San. ve Tic. A.Ş., Torbalı- İzmir)	11,78 g
L-Askorbik asit (SigmaUltra, $\geq\%99$), etanolde (ACS reagent, $\geq\%99,5$)	0,8 g
%13,5'lik nipajin (<i>p</i> -hidroksibenzoik asit metil ester, kristal) çözeltisinden	7,72 ml
Patates püresi (Knorr, Unilever Sanayi ve Ticaret Türk A.Ş. Ümraniye, İstanbul)	36 g
Saf su	1000 ml

8 g agar, 20 g sükroz ve 11,78 g kuru maya hassas terazide tartılarak bir cam kavanozun içine konuldu ve üzerine 600 ml saf su eklenerek sıcak su banyosuna kaynaması için bırakıldı. Patates püresinden 36 g tartılarak üzerine 400 ml saf su ilave edildi ve kaynamakta olan ilk karışıma eklendi. Sıcak su banyosunda kaynamakta olan karışım belirli aralıklarda spatül

yardımla karıştırıldı. Karışımın içinde bulunan agar ve maya iyice eridiğinde kavanoz bir kenara alınarak karışımın soğuması için bir süre beklendi. Hazırlanmış olduğumuz besin tamamen soğuyarak katılaştıktan önce üzerine 0,8 g askorbik asit ve 7,72 ml nipajin çözeltisi ilave edilerek homojen bir karışım oluşturuldu. Hazırlanan besin cam şişelere (yaklaşık 2-3 cm olacak şekilde) boşaltıldı ve katılaşması için yarım saat beklendi. Bu şişelere 10-15 adet dişi ve erkek birey bırakıldı. Şişelerin ağzı temiz hidrofilyk pamuk yardımla hava alacak bir şekilde kapatıldı.

Şişelerin içindeki besin üzerine dişilerin bıraktığı yumurtalardan sırasıyla 1. evre, 2. evre ve olgun larva evresi olan 3. evre (son larva evre) larvaları, pup ve ergin birey meydana geldi. Bu aşamalarda 1986 yılında Roberts'ın geliştirdiği yöntemler temel alınıp farklılaştırılarak kullanıldı. Pupa oluşmaya başladığında ergin bireyler şişeden alındı ve başka bir besin içeren şişelere aktarıldı (Koç ve Gülel 2006). Bu işlem hafta bir kez gerçekleştirildi. Burada meydana gelen erginlerin bir kısmı *D. melanogaster* kültürünün sürekliliği için diğerk bir kısmı ise sodyum tetraborat ile ilgili beslenme deneylerinde ihtiyaç duyulan yumurtaların elde edilmesinde kullanıldı.

2.2 DENEYLERDE KULLANILAN SODYUM TETRABORAT

Bu çalışmada sodyum tetraborat dekahidrat (boraks; $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ M.A= 381,37) kullanıldı. Sodyum tetraborat 1000 ml besine 10, 30, 150, 300, 400, 500 mg düzeyinde ilave edildi. Kullanmış olduğumuz bu kimyasal madde suda çözünebildiğinden hazırlanmış olduğumuz böcek besinine doğrudan ilave edildi. Kontrol besinine sodyum tetraborat ilave edilmedi. *Drosophila* ve bor türevi olan sodyum tetraborat ile ilgili daha önce yapılan çalışmalar göz önünde bulundurularak bu tezdeki denenen konsantrasyonlar belirlendi (Massi 1994, Espinoza-Navarro et al. 2009, Yang et al. 2000, Cisneros et al. 2002, Gore et al. 2004, Xue et al. 2006, Ali et al. 2006).

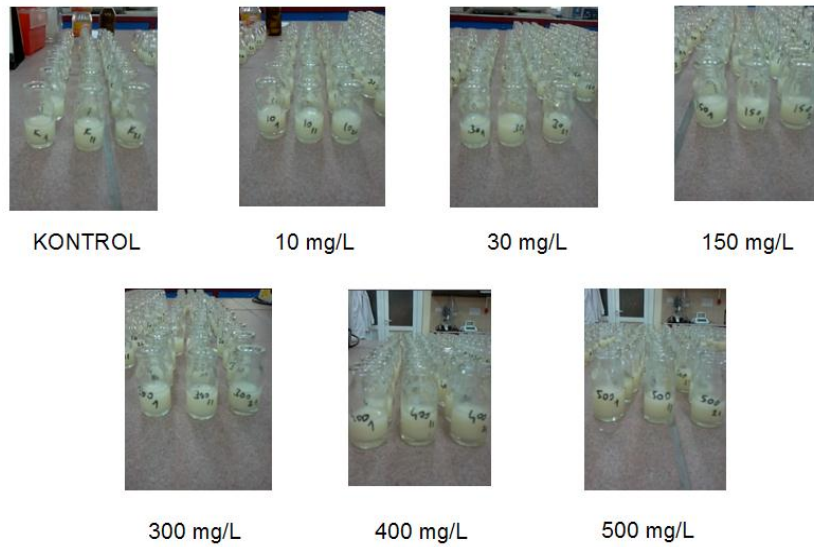
2.3 DENEYLERDE KULLANILAN *D. MELANOGASTER* LARVALARININ ELDE EDİLMESİ

Çalışmada kullanılan *D. melanogaster* larvaları elde etmek için 25 ± 2 °C ve % 60-70 bağıl nemde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyot koşullarında cam şişe içerisindeki yapay

besin üzerine 2-3 dişi ve erkek birey bırakıldı. Dişi bireyler bu besin üzerine yumurtalarını bıraktı ve yumurtaların açılması için beklendi. Açılan yumurtalardan elde edilen larvalar yaşama gelişme, ömür uzunluğu, yumurta verimi deneyleri ile biyokimyasal analizler.

2.4 KONSANTRASYON BELİRLEMEK AMACI İLE YAPILAN ÖN DENEMELER

Beslenme deneylerine başlamadan önce çeşitli ön denemeler yapıldı. İlk olarak kullanacağımız beslenme şişelerinde bulunması gereken besin miktarı ayarlandı. Bunun için 2 ml, 3 ml ve 5 ml 'lik yapay besin ortamı hazırlandı. Cam şişelere bu belirtilen miktarda besinler ilave edildi ve besinlerin üzerine stok kültürden elde edilen 1. evre larvaları konuldu. Gözlemler sonucunda 2 ml ve 3 ml yapay besinin bozulduğu ve larvaların gelişemediği belirlendi. Ancak 5 ml yapay besin bulunduran şişelerdeki besinde herhangi bir bozulma gözlemlenmedi. Bu denemeler sonucu deneylerde kullanacağımız besin miktarı 5 ml olarak tespit edildi ve yaşama gelişme, ergin ömür uzunluğu ve yumurta verimi deneylerinde 5 ml'lik besin bulunan şişelerde beslenme çalışmaları yürütüldü (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 *D. melanogaster*'in yaşama gelişme, ergin ömür uzunluğu ve yumurta verimi deneylerinde 5 ml'lik besin bulunan şişelerdeki beslenme deneyleri.

Ön denemelerde yaşama ve gelişme deneylerinde 30 adet *D. melanogaster* larvası, ömür uzunluğu deneylerinde ise 15 dişi ve 15 erkek ergin kullanıldı:

Çizelge 2.2 Konsantrasyon belirlenerek amacıyla yapılan ön deneme sonuçları.

Sodyum tetraborat miktarı mg/L	3. evre larvası (%)	Pup (%)	Ergin (%)
Kontrol (sodyum tetraborat içermez)	100	92	88
10	100	92	88
30	100	96	80
40	96	80	80
150	100	96	92
200	100	96	88
300	90	76	68
400	60	40	12
500	Olgun larva,pup ve ergin gözlemlenmemiştir.		
600	Olgun larva,pup ve ergin gözlemlenmemiştir.		
1000	Olgun larva,pup ve ergin gözlemlenmemiştir.		

Yapılan ön denemelerde 10, 30, 150, 300, 400, 500, 600 ve 1000 mg/L oranında sodyum tetraborat içeren konsantrasyonlar kullanıldı. Deneyler dörder defa tekrarlanarak yaşama gelişme deneyleri yapıldı. Her bir tekrarda 5 ml besin bulunduran şişelere her bir şişede bir adet olmak koşulu ile 30 adet yumurtadan yeni çıkmış larva konuldu. Sodyum tetraboratın 400 mg/ L besinde ki larvalar ergin evreye ulaşırken sodyum tetraboratın 500 mg/L'sini ve daha yüksek miktarlarını bulunduran besinlerde larvaların 3. evreye ulaşamadığı ve siyahlaşarak öldüğü gözlemlendi (Çizelge 2.2).

2.5 SODYUM TETRABORATIN *D. MELANOGASTER*'İN YAŞAMA ORANI VE GELİŞME SÜRESİNE ETKİSİ İÇİN YAPILAN DENEYLER

Böceğin yaşama oranı ve gelişme süresi deneyleri için patates püresi ve sükröz içeren yapay besin hazırlanarak sodyum tetraboratın denenen konsantrasyonları ilave edildi (Rogina et al. 2000, Lesch et al. 2007). Besinler 15 ml'lik küçük cam şişelere 5'er ml olarak taksim edildi. Yumuşak uçlu bir fırça (No: 0, Goya Toray) yardımı ile 5 ml besin bulunan sodyum tetraborat içermeyen kontrol besinine ve sırasıyla 10, 30, 150, 300, 400 mg/L sodyum tetraborat bulunduran besinlere, 1. evre larvaları bırakıldı ve şişelerin ağızları hidrofil pamuk ile kapatıldı. Birinci evreden 3. larval evreye, pup ve ergin evresine ulaşan bireylerin oranı

hesaplanarak; larvaların 3. evre, pup ve ergin evreye ulaşmaları için geçen süre (gün) kaydedildi. Bu işlemler böceğin yetiştirildiği ortam şartlarında gerçekleştirildi.

2.6 SODYUM TETRABORATIN *D. MELANOGASTER*'İN ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU VE YUMURTA VERİMİNE ETKİSİ İÇİN YAPILAN DENEYLER

2.6.1 Ergin ömür uzunluğu

Yumurtadan yeni çıkmış larvalar ergin evreye ulaşmaya kadar kontrol ve sodyum tetraborat içeren besinlerde beslendi. Erkek ve dişi bireylerin yaşama süresine (ömür uzunluğu) etkisini belirlemek için her bir deney grubunda aynı yaşta, çiftleşmemiş 15'er adet erkek ve dişi ergin kullanıldı ve deneyler dörder defa stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında tekrarlandı. Kontrol ve sodyum tetraboratın farklı konsantrasyon gruplardaki erginler, her gün belirli saatte kontrol edildi. Ölen bireyler belirlenip veri kağıdına öldüğü tarih yazıldı. Erkek ve dişi bulunduran deney gruplarının besinleri her gün değiştirildi. En son erginin ölümüne kadar her erginin ömür uzunluğu süresi belirlendi. Bu işlemler böceğin yetiştirildiği ortam şartlarında gerçekleştirildi.

2.6.2 Yumurta verimi

Yumurtadan yeni çıkan larvalar içerisinde 5 ml'lik kontrol (sodyum tetraborat içermeyen besin) ve sodyum tetraboratın farklı miktarlarını içeren yapay besinler ile ergin evreye kadar yetiştirildi. Her bir deney de aynı yaşta, çiftleşmemiş 15'er adet dişi ergin kullanıldı. Dişilerin bırakmış olduğu yumurtalar her gün aynı saatte olmak koşulu ile mikroskop altında sayıldı. Yumurta sayma işlemi dişiler ölene kadar devam etti. Yumurta verimi, bir günde dişi başına bırakılan yumurta sayısı olarak değerlendirildi. Bu deneyler dörder defa tekrarlandı. Bu işlemler böceğin yetiştirildiği ortam şartlarında gerçekleştirildi.

2.7 BİYOKİMYASAL ANALİZLER

D. melanogaster'in olgun larva (3. evre), pup ve ergin evrelerindeki tüm vücut dokularının 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 10'ar saniyelik süreler ile üçer defa (10 sn, 30 W) yapıldı. Elde edilen homojenattan SOD ve CAT tayini için 1000 x g'de +4 °C'de 10 dk, GST ve GPx tayini için 16000 x g'de +4 °C'de 20 dk santrifüjlenerek yapıldı. MDA miktarı deneylerinde % 1,15'lik KCl kullanılarak ultrasonik homojenizatörden geçirildi (10 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany) ve homojenat +4 °C'de 1000 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. Her bir tekrar için 30 adet 3. evre larvası, pup ve ergin bireyler kullanılarak deneyler dörder defa tekrar edildi.

2.7.1 Sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in MDA ve PCO Miktarları Üzerine Etkisi

D. melanogaster'in yumurtadan yeni çıkmış 1. evre larvaları sodyum tetraborat içermeyen kontrol grubu ve sodyum tetraboratın farklı konsantrasyonlarını içeren 10, 30, 150, 300 ve 400 mg/L'lik besinler ile son evre larvası, pup ve ergin evreye kadar yetiştirildi. Buradan elde edilen 3. evre larvası, pup ve ergin bireylerin MDA ve protein karbonil miktarları belirlendi. Her bir konsantrasyon için 30 adet 3. evre larvası, pup ve ergin toplandı. Besinin hazırlanması, yumurta bırakması için ergin bireylerin besinlere aktarılması hariç beslenme deneylerinin tümü böceklerin stok kültürünün yetiştirildiği şartlarda gerçekleştirildi. Böceğin 3. evre larvaları besin içerisinde veya besinden uzaklaşıp şişenin yüzeyinde hareket etmektedirler. Bu son evre larvaları şişe içinden yumuşak uçlu fırça ile toplanarak analizlerde kullanıldı. Böcek pup evresine ulaştığında besinden uzaklaşarak şişenin yüzeyindeki kuru bölgede hareketsiz bulunur. Bu yüzeylerden puplar son evre larvaları gibi yumuşak uçlu fırça yardımıyla alındı. Puplardan çıkan erginler buz üzerinde hareketsizleştirildikten sonra toplandı. Tüm örnekler ependorf tüplerinin içine konularak -80 °C' de analizlerin yapılacağı zamana kadar bekletildi.

2.7.1.1 MDA Miktarının Ölçülmesi

D. melanogaster'in olgun larva (3. evre), pup ve ergin evrelerindeki tüm vücut dokularını parçalama işlemi için % 1,15'lik KCl kullanılarak ultrasonik homojenizatörden geçirildi (10 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, 5000 x g'de santrifüj edildi ve 1 ml süpernatanttan alınarak üzerine 0,1 M'lık EDTA ve % 1'lik TBA eklenerek 45 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. Tiyobarbitürik asit (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).

2.7.1.2 PCO Miktarının Ölçülmesi

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 absorbanlarının ölçülmesi esasına dayanarak yapıldı. Homojenizasyon tamponu (% 1,15'lik KCl, 25 mM K₂HPO₄, 5 mM EDTA, 2 mM PMSF, 2 mM DTT, pH: 7,4) eklenen örnekler + 4 °C ultrasonik homojenizatörde (10 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 kullanıldı.

2.7.2 Sodyum tetraboratın GST, CAT, GPx ve SOD Aktivitesi Üzerine Etkisi

D. melanogaster'in yumurtadan yeni çıkmış 1. evre larvaları sodyum tetraborat içermeyen kontrol grubu ve sodyum tetraboratın farklı konsantrasyonlarını içeren 10, 30, 150, 300 ve 400 mg/L'lik besinler ile son larval evreye, pup ve ergin evreye kadar yetiştirildi. Buradan elde edilen 3. evre larvası, pup ve ergin bireylerin GST, CAT, GPx ve SOD aktiviteleri belirlendi. Kontrol besini ve sodyum tetraboratın her konsantrasyonundan yapılacak analizler için 30 adet 3. evre larvası, pup ve ergin kullanıldı. Besinin hazırlanması, yumurta bırakması için ergin bireylerin besinlere aktarılması hariç beslenme deneylerinin tümü böceklerin stok kültürünün yapıldığı şartlarda gerçekleştirildi. Analiz için 3. evre larvaları ve puplar yumuşak uçlu fırça ile toplandı. Pupadan erginleşen bireyler buz üzerinde bekletildikten (1-2 dk) sonra analiz için toplandı. Tüm örnekler ependorf tüplerine konularak enzim analizleri yapılincaya kadar -80 °C de bekletildi.

2.7.2.1 GST Aktivitesinin Ölçülmesi

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 tiyoether miktarı olarak ölçüldü. Enzimin spesifik aktivitesi ise $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein/dk'dır.

2.7.2.2 CAT Aktivitesinin Ölçülmesi

Katalaz (EC 1.11.1.6) enziminin aktivite tayini için Aebi tarafından geliştirilen metod kullanılmıştır (Aebi 1984). Süpernatantta bulunan mikrozom ve peroksizomlardaki katalazı açığa çıkarmak için % 1'lik Triton X-100 (h/h) kullanıldı. Daha sonra üzerine 50 mM fosfat tamponu (pH 7) ilave edilerek seyreltme işlemi yapıldı. Kuartz küvete sulandırılmış örnekten 2 ml konularak ml %30'luk hidrojen peroksit ilave edildi. 240 nm'de 60 saniyede H_2O_2 'in parçalanmasını gösteren azalan absorbans ölçüldü. Katalaz aktivitesinin, birim zaman başına absorbansdaki değişimler (ϵ_{240} : 0,0394 mM/cm) olarak ölçüldü. Enzimin spesifik aktivitesi ise mmol/mg protein/dk'dır.

2.7.2.3 GPx Aktivitesinin Ölçülmesi

Glutatyon peroksidaz (EC 1.11.1.9) enziminin aktivite tayini için Paglia ve Valentine tarafından geliştirilen metod kullanılmıştır (Paglia and Valentine 1987). GPx enziminin spesifik aktivitesini ölçmek için 3 ml'lik cam küvetlere 2,525 ml 0,1 M'lık Tris-HCl tamponu, 75 µl 80 mM redükte glutatyon, 100 µl seyreltilmiş süpernatant, 100 µl 2 mM NADPH, 100 µl 0,24 ünite glutatyon redüktaz ilave edilerek bu karışımının üzerine 100 µl 1,5 mM hidrojen peroksit ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Spektrofotometrede 340 nm'de 3 dk boyunca azalan absorbans okundu. Bu metod okside glutatyon (GS-SG) ve NADPH'ı substrat olarak kullanan glutatyon redüktazın 340 nm'de Nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat

(NADPH)'ı okside etmesi ile oluşan azalan absorbansın ölçülmesi esasına dayanmaktadır. NADPH'in azalması, GPx aktivitesi ile doğru orantılıdır çünkü okside glutatyon, glutatyon peroksidaz tarafından meydana getirilmektedir. NADPH'in Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADP)'a yükseltgenmesi 340 nm'de absorbansın azalmasına neden olur ve bu da GPx 'in aktivitesinin tespitinde kullanılmaktadır. GPx enziminin aktivitesi (ϵ_{340} : 6220 M/cm) 1 dakikada 1 mg protein başına kullanılan NADPH miktarı olarak hesaplandı. GPx enziminin spesifik aktivitesi nmol/mg protein/dk olarak gösterildi.

2.7.2.4 SOD Aktivitesinin Ölçülmesi

SOD (EC 1.15.1.1) enzim aktivitesinin ölçülmesinde pyrogallol'un 3 dakikada 440 nm'de alkali ortamda ootoksidasyonu ile yükselen absorbansı tespit edildi (Marklund and Marklund 1974). 3 ml'lik plastik küvete 2,80 ml Tris-EDTA tamponu (50 mM Tris, 10 mM EDTA, ph 8,2) ve 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50 μ l'lik değişen hacimlerde enzim kaynağı olarak süpernatant kaynağı eklendi. Her küvetin son hacmi Tris-EDTA tamponu ile 2,90 ml'ye tamamlandı ve üzerine 100 μ l 15 mM pyrogallol eklenerek ootoksidasyon başlatıldı. Her bir karışımın % inhibisyon miktarları hesaplanarak bir grafik oluşturuldu. Bu grafik ile bir ünite toplam SOD aktivitesi pyrogallol'un ootoksidasyonunun %50 inhibisyonuna neden olan protein miktarı olarak hesaplandı. Homojenattaki 1 mg protein başına toplam SOD aktivitesini bulmak için $1/(\text{mg prot. pyrogallolun ootoksidasyonu \% 50 inhibisyonu})$ eşitliği ile hesaplanarak enzim aktivitesi U/mg protein olarak verildi.

2.7.2.5 Total Protein Tayini

Folin-Lowry et al 1951 metoduna göre lipid peroksidasyon ürünü olan MDA miktarlarını ve antioksidan enzimlerin (GST, CAT, GPx ve SOD) aktivitesini mg protein başına hesaplamak için örnek özütlerden total protein tayini deneyi yapıldı. Örneklerin absorbansları 600 nm'de ölçüldü. Örneklerdeki protein tayini için farklı konsantrasyonlarda BSA çözeltileri hazırlanarak standart grafik elde edildi. Elde edilen bu standart grafikten toplam protein miktarları hesaplandı.

Ayrıca protein oksidasyonu sonucunda meydana gelen PCO miktarının hesaplanması için total protein tayini yapıldı. 6 M guanidin hidroklorür ile çözülen homojen karışımdan alınan 150 μ l'ye 1350 μ l guanidin hidroklorür ilave edilerek 1:10 oranında sulandırıldı. 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).

2.8 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Gelişme süresi, dişi ve ergin ömür uzunluğu, yumurta verimi, MDA ve PCO miktarları, antioksidan enzim aktiviteleri (GST, CAT, GPx ve SOD) ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü "Varyans Analizi" (ANOVA) (SPSS 1997), ortalamalar arasındaki farkın önemini saptamak için "LSD Testi" (SPSS 1997), 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 3

ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1 SODYUM TETRABORATIN *D. MELANOGASTER* LARVALARININ YAŞAMA ORANI VE GELİŞME SÜRESİNE ETKİSİ

Sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in yaşama oranına ve gelişme süresine etkisi Çizelge 3.1' de verilmiştir.

Kontrol besinine (sodyum tetraborat içermeyen) göre sodyum tetraborat konsantrasyonlarını içeren tüm besinler 3. evreye ulaşan larva, pup ve ergin olma oranını önemli derecede azaltmıştır. Kontrol besininde % 100,00 \pm 0,00 oranında 3. evre larvası elde edilmesine karşın denenen en yüksek konsantrasyon olan 400 mg/L'de bu oran % 59,16 \pm 6,49' a düşmüştür. Benzer sonuçlar pup ve ergin olma oranında gözlemlenmiştir. Sodyum tetraboratın denenen en yüksek konsantrasyonu, ergin olma oranını kontrol besin ile karşılaştırıldığında yaklaşık 1/9 kat oranında azaltmıştır.

Sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonları (10, 30, 150 ve 300 mg/L) böceğin 3. evre larvası, pup, ergin gelişme süresi üzerinde önemli bir etki yapmamıştır. Kontrol besini ile en yüksek konsantrasyon 400 mg/L sodyum tetraborat içeren besini karşılaştırdığımızda 3. evre larvasına ulaşma süresi ve pup olma süresini yaklaşık 2 gün, ergin olma süresini ise yaklaşık olarak 1 gün uzatmıştır.

Çizelge 3.1 Sodyum tetraboratın *D. melonagaster* larvalarının yaşama oranı ve gelişme süresi üzerine etkisi.

Sodyum tetraborat (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§	100,00 ± 0,00a	3,87 ± 0,48a	95,00 ± 1,86a	4,31 ± 0,22a	85,83 ± 3,74a	8,42 ± 0,21a
10	86,66 ± 4,24b	3,39 ± 0,19a	85,83 ± 4,46b	4,47 ± 0,18a	84,16 ± 4,91ab	8,51 ± 0,17a
30	88,34 ± 3,63b	3,47 ± 0,21a	88,34 ± 3,63ab	4,53 ± 0,18a	85,00 ± 4,93ab	8,54 ± 0,18a
150	82,50 ± 1,38b	3,60 ± 0,14a	81,66 ± 1,86b	4,56 ± 0,24a	75,83 ± 5,57b	8,86 ± 0,17a
300	93,33 ± 3,33bc	3,44 ± 0,11a	89,16 ± 3,20ab	4,66 ± 0,18a	76,66 ± 9,78ab	8,65 ± 0,12a
400	59,16 ± 6,49c	5,59 ± 0,29b	39,26 ± 6,27c	6,37 ± 0,29b	9,16 ± 4,16c	9,25 ± 0,37b

* Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 30 larva kullanıldı.

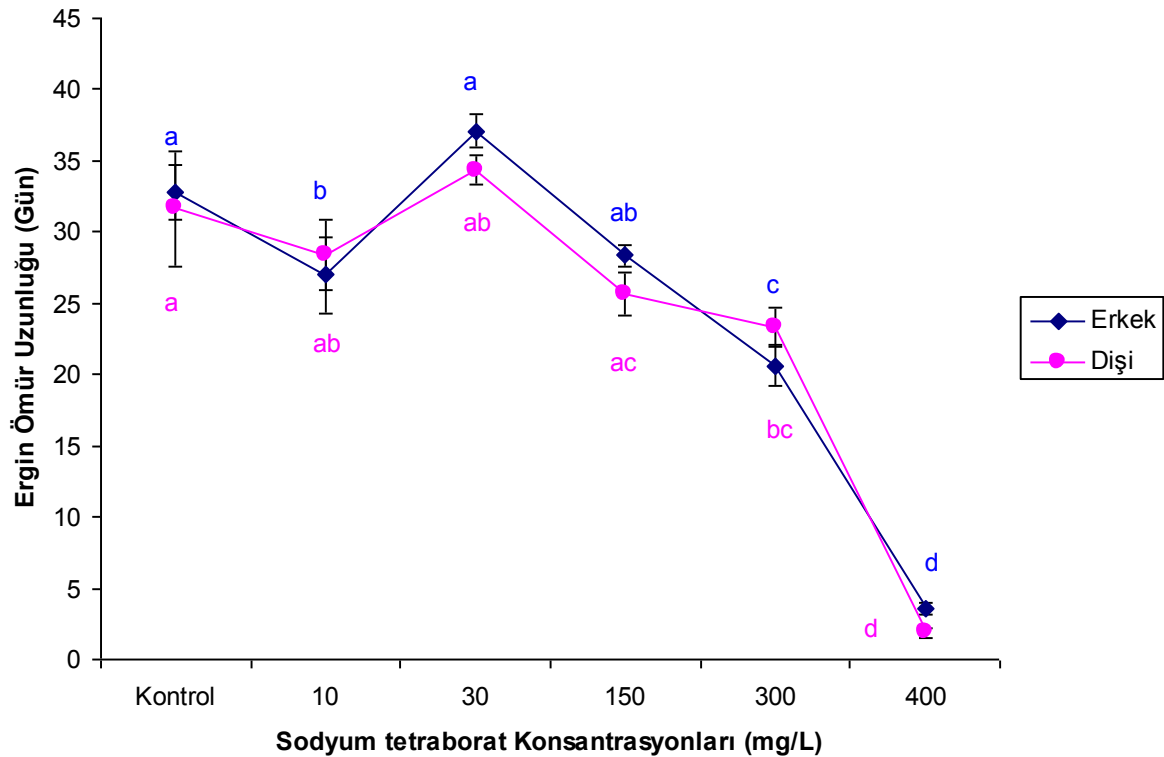
† Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (χ^2 testi, LSD Testi).

§ Kontrol besini (Sodyum tetraborat içermeyen).

3.2 SODYUM TETRABORATIN *D. MELANOGASTER* ERGİNLERİNİN ÖMÜR UZUNLUĞUNA VE YUMURTA VERİMİNE ETKİSİ

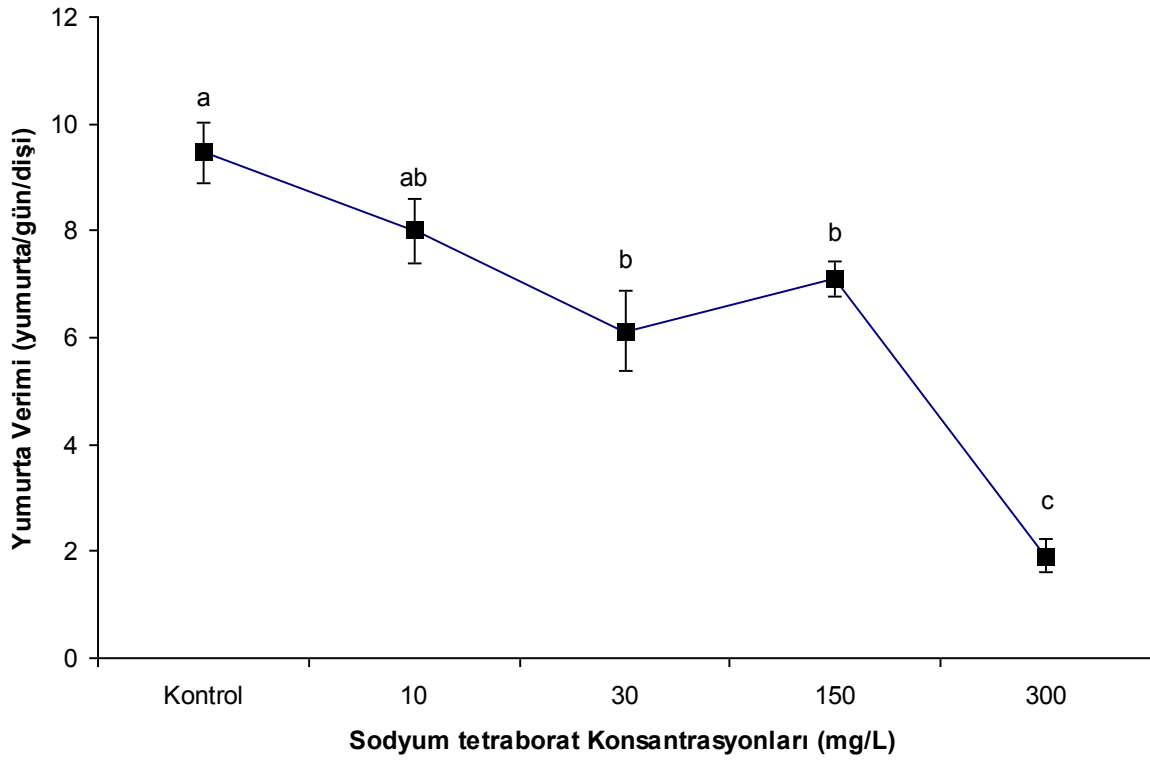
Şekil 3.1 de sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in erginlerinin ömür uzunluğuna etkisi gösterilmiştir.

Diğer konsantrasyonlara göre daha fazla etki gösteren 400 mg/L sodyum tetraborat içeren besin, kontrol (sodyum tetraborat içermeyen besin) ve diğer besin gruplarına göre erkek ve dişi ömür uzunluğunu önemli derecede kısaltmıştır. Kontrol grubunda bir dişinin ortalama ömür uzunluğu $31,65 \pm 4,02$ gün olarak tespit edilmiştir. Sodyum tetraboratın en yüksek iki konsantrasyonu (300 ve 400 mg/L) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında dişi ömür uzunluğunu kısaltmıştır. Sodyum tetraboratın 300 mg/L konsantrasyonunda dişi ömür uzunluğu $23,30 \pm 1,36$ gün olarak belirlenirken en yüksek konsantrasyonda bu değer $1,87 \pm 0,30$ güne kısaltmıştır. Erkek ömür uzunluğunda da benzer sonuçlar elde edilmiş olup en yüksek konsantrasyonla kontrol grubu karşılaştırıldığında kontrolde $32,80 \pm 1,96$ gün olan bu değer $3,57 \pm 0,42$ 'ye düşmüştür.



Şekil 3.1 Sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in ergin ömür uzunluğuna etkisi.

Yumurta verimi deneyinde bir dişinin ömrü boyunca bırakmış olduğu yumurta sayısı incelenmiştir (Şekil 3.2). Kontrolde ortalama bir diş ömrü boyunca $9,46 \pm 0,57$ yumurta bıraktığı belirlenmiştir. Sodyum tetraborat konsantrasyonları arttıkça yumurta verimi düşmüştür. Sodyum tetraboratın 10, 30, 150 ve 300 mg/L konsantrasyonlarındaki yumurta sayıları sırası ile $8,00 \pm 0,61$, $6,12 \pm 0,74$, $7,10 \pm 0,34$ ve $1,92 \pm 0,30$ şeklinde olup en düşük konsantrasyondaki yumurta verimi kontrolden düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. Ancak 300 mg/L sodyum tetraborat içeren besin grubu kontrol besinine oranla yumurta verimini yaklaşık olarak 1/9 oranında azaltmıştır. Sodyum tetraboratın en yüksek konsantrasyonunda ise (400 mg/L) dişilerden yumurta elde edilmemiştir.



Şekil 3.2 Sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in yumurta verimine etkisi.

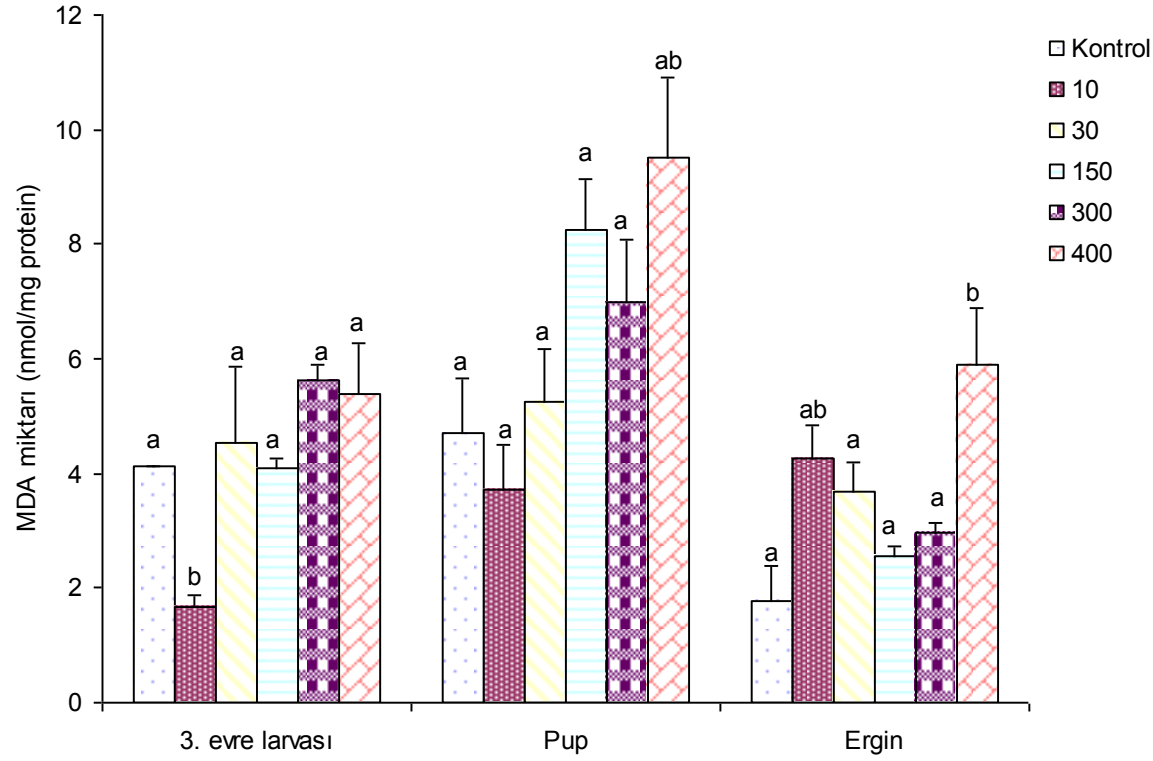
3.3 SODYUM TETRABORATIN *D. MELANOGASTER*'İN LARVA, PUP VE ERGİN EVREDEKİ LİPİD PEROKSİDASYON ÜRÜNÜ MDA MİKTARINA ETKİSİ

Sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in larva, pup ve ergin evredeki lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarına etkisi Şekil 3.3' de verilmiştir.

Kontrol ile karşılaştırıldığında en düşük denenen konsantrasyon olan 10 mg/L sodyum tetraborat içeren besin, böceğin 3. evre larvasında, MDA miktarını $4,11 \pm 0,01$ nmol/mg protein' den $1,66 \pm 0,20$ nmol/mg protein'e istatistiksel olarak önemli derecede düşürmüştür. Sodyum tetraboratın diğer konsantrasyonlarında ise (30, 300 ve 400 mg/L), kontrol besinine göre istatistiksel olarak önemli olmayan bir artış gözlenmiştir.

Sodyum tetraboratın 400 mg/L'lik en yüksek konsantrasyonunda ise pup evresindeki MDA miktarı istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır. En yüksek konsantrasyon olan 400 mg/L sodyum tetraborat içeren besin, MDA miktarını kontrol besine göre yaklaşık olarak 2 katı kadar artırmış olup bu değeri $4,69 \pm 0,97$ nmol/mg protein'den $9,50 \pm 1,40$ nmol/mg protein'e yükseltmiştir.

Sodyum tetraboratın farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinler *D. melanogaster*'in ergin evredeki MDA miktarını önemli derecede değiştirmiştir. Sodyum tetraborat içermeyen kontrol besinde MDA miktarı $1,77 \pm 0,61$ nmol/mg protein'dir. Kontrol ile karşılaştırıldığında sodyum tetraboratın en düşük konsantrasyonunu içeren besin MDA miktarını yaklaşık 3 katı oranında önemli derecede artırmıştır. Kontrol besin ile karşılaştığında sodyum tetraboratın 400 mg/L'sini içeren besin MDA miktarını yaklaşık olarak 4 katı ($1,77 \pm 0,61$ nmol/mg protein'den, $5,90 \pm 1,00$ nmol/mg protein'e) kadar artırmış olup ve istatistiksel açıdan önemli bir artışa neden olmuştur.



Şekil 3.3 Sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in larva, pup ve ergin evredeki lipid peroksidasyon ürünü MDA miktarına etkisi. Gelişim evrelerinin kendi içindeki aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva, pup ve ergin birey kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

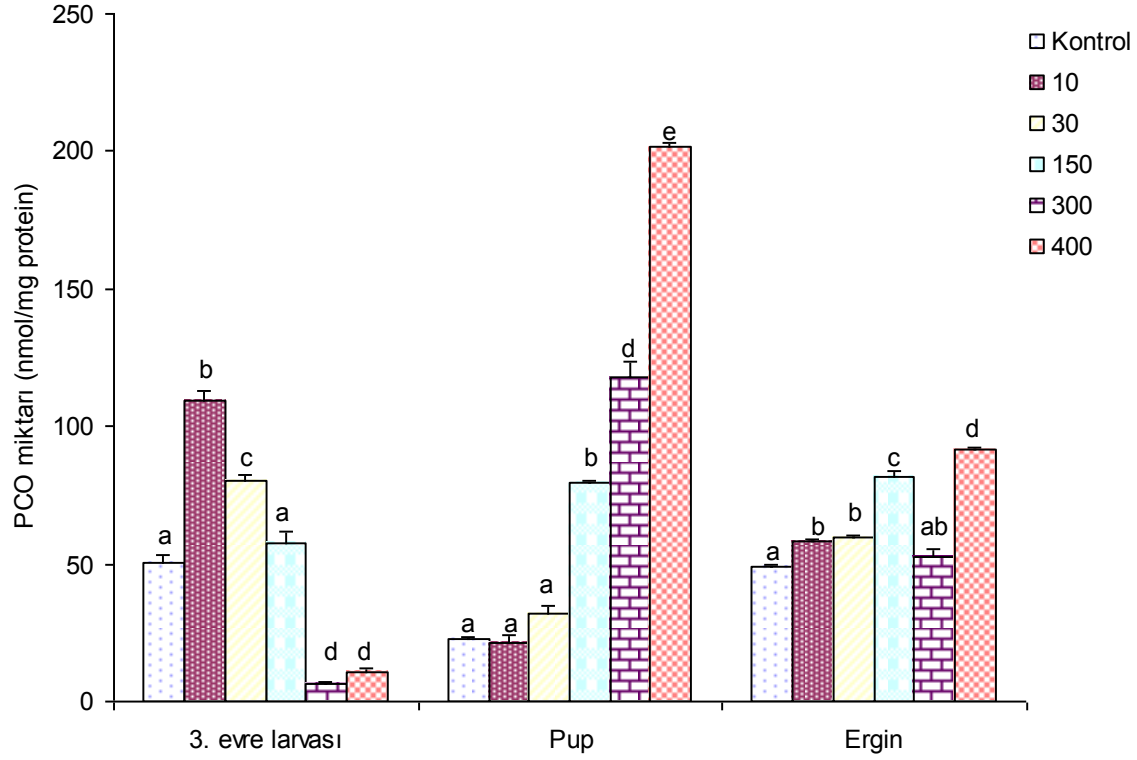
3.4 SODYUM TETRABORATIN *D. MELANOGASTER*'İN LARVA, PUP VE ERGİN EVRESİNDEKİ PROTEİN OKSİDASYONU SONUCU OLUŞAN PCO MİKTARINA ETKİSİ

Şekil 3.4'de sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in larva, pup ve ergin evresindeki protein oksidasyonu sonucu oluşan PCO miktarına etkisi gösterilmiştir.

Sodyum tetraboratın farklı konsantrasyonlarını (10, 30, 150, 300 ve 400 mg/L) içeren besinler ile birinci evre larvaları beslenerek *D. melanogaster*'in 3. larval evresi, pup ve ergin evrelerindeki protein karbonil miktarları incelenmiştir. 3. evre larvalarında kontrol grubunda protein karbonil miktarı $50,49 \pm 2,78$ nmol/mg protein elde edilmiş olup bu değer 10 ve 30 mg/L'lik besinlerde sırası ile $109,15 \pm 4,02$ nmol/mg protein ve $80,20 \pm 2,31$ nmol/mg protein'e yükseldiği tespit edilmiş ve istatistiksel olarak önemli çıkmıştır. Düşük sodyum tetraborat konsantrasyonlarında protein karbonil miktarındaki bu artışa zıt olarak 300 ve 400 mg/L 'lik besinlerde sırası ile $6,72 \pm 0,26$ nmol/mg protein ve $10,56 \pm 1,69$ nmol/mg protein'e düştüğü görülmüş ve istatistiksel olarakta anlamlı olduğu ortaya çıkmıştır.

Düşük sodyum tetraborat konsantrasyonları (10 ve 30 mg/L) pup evresindeki protein karbonil miktarı üzerine önemli bir etki yapmamıştır. Ancak protein karbonil miktarı yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır. Bu maddenin en yüksek besinsel konsantrasyonunda ise protein karbonil miktarı $201,50 \pm 1,73$ nmol/mg protein'e yükselmiştir.

Sodyum tetraboratın farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinler *D. melanogaster*'in ergin evredeki protein karbonil miktarlarında artışa neden olmuştur. Ergin evredeki protein karbonil miktarı en yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonunda (400 mg/L 'lik) istatistiksel olarak önemli bir derecede artarak en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Kontrol grubunda protein karbonil miktarı $49,15 \pm 0,37$ nmol/mg protein iken sodyum tetraboratın en yüksek konsantrasyonu 400 mg/L'de bu değer $91,54 \pm 0,93$ nmol/mg protein'e yükselmiştir.



Şekil 3.4 Sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in larva, pup ve ergin evredeki protein oksidasyonu sonucu oluşan PCO miktarına etkisi. Gelişim evrelerinin kendi içindeki aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva, pup ve ergin birey kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

3.5 SODYUM TETRABORATIN *D. MELANOGASTER*'İN LARVA, PUP VE ERGİN EVREDEKİ ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

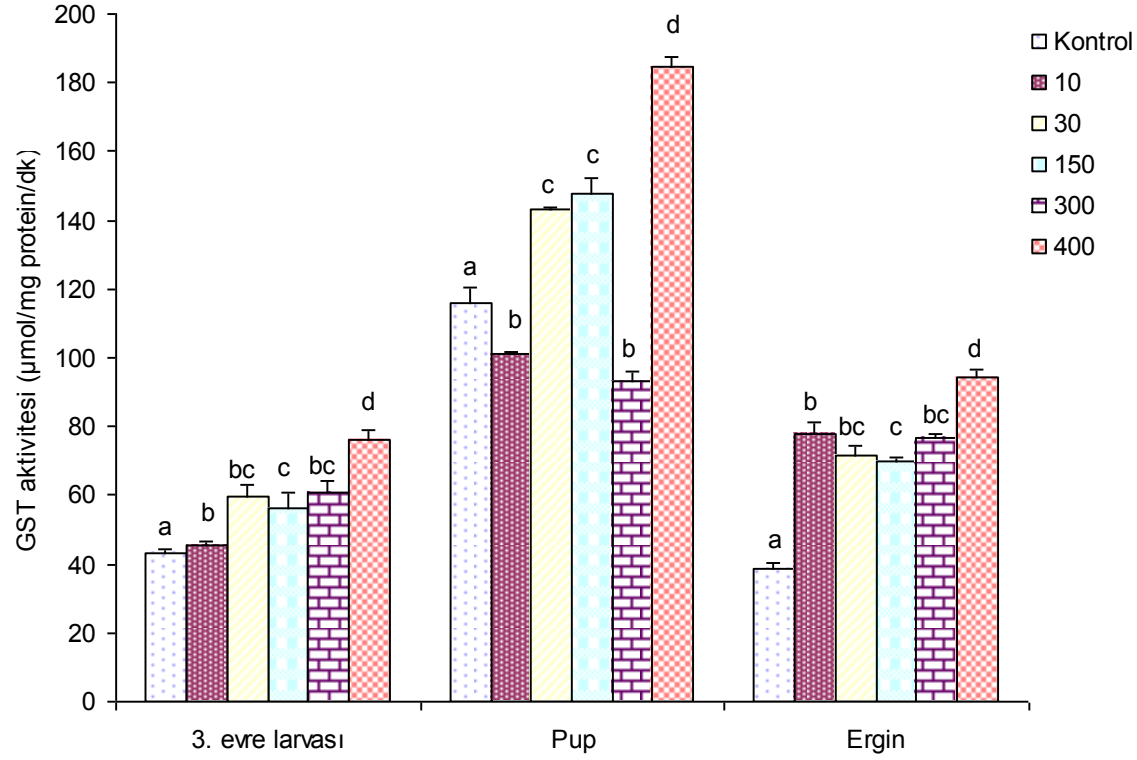
3.5.1 Sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki GST aktivitesi üzerine etkisi

Sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki GST aktivitesi üzerine etkisi Şekil 3.5' de verilmiştir.

Kontrol grubu (içinde sodyum tetraborat bulunmayan) ile içerisinde farklı konsantrasyonlarda (10, 30, 150, 300 ve 400 mg/L) sodyum tetraborat bulunduran besinler incelendiğinde, sodyum tetraboratın son evre larvasındaki, GST aktivitesi üzerinde önemli bir artışa neden olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda, GST miktarı $43,40 \pm 0,80$ $\mu\text{mol/mg}$ protein/dk bulunmuş olup bu değer sırası ile en düşük konsantrasyondan en yüksek konsantrasyona doğru; $45,69 \pm 1,07$, $59,51 \pm 3,43$, $56,48 \pm 4,35$, $60,67 \pm 3,31$ ve $75,89 \pm 3,11$ $\mu\text{mol/mg}$ protein/dk olarak belirlenmiştir.

Sodyum tetraborat, pupların GST aktivitesinde istatistiksel açıdan önemli değişimlere neden olmuştur. Kontrol grubunda GST aktivitesi $115,82 \pm 4,54$ $\mu\text{mol/mg}$ protein/dk olarak tespit edilmiştir. Besinlerdeki 10 ve 300 mg/L sodyum tetraborat konsantrasyonlarında GST aktivitesi sırası ile $100,99 \pm 0,85$ $\mu\text{mol/mg}$ protein/dk ve $93,20 \pm 3,04$ $\mu\text{mol/mg}$ protein/dk olarak tespit edilmiş olup kontrol grubuna göre önemli derecede azalma göstermiştir. Buna karşılık 30, 150 ve 400 mg/L sodyum tetraborat konsantrasyonları ise GST aktivitesini önemli derecede artırmıştır. En yüksek konsantrasyonda (400 mg/L sodyum tetraborat içeren besin) GST aktivitesi $184,80 \pm 2,70$ $\mu\text{mol/mg}$ protein/dk'ya kadar yükselmiştir.

Sodyum tetraboratın, *D. melonagaster*'in ergin evredeki GST aktivitesi üzerine önemli etkisi olmuştur. Kontrol grubunda tespit edilen GST aktivitesi $38,59 \pm 1,98$ $\mu\text{mol/mg}$ protein/dk'dır. İçerisinde 10 mg/L sodyum tetraborat bulunduran yani en düşük konsantrasyona sahip olan besin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, GST aktivitesini yaklaşık olarak 2 katı kadar artırmıştır. Sodyum tetraboratın diğer konsantrasyonlarda (30, 150 ve 300 mg/L) GST aktivitesi, kontrol besinine göre istatistiksel açıdan önemli bir artışa neden olmuştur. GST aktivitesindeki en fazla artış en yüksek konsantrasyonda gerçekleşmiş olup bu değer $94,50 \pm 1,82$ $\mu\text{mol/mg}$ protein/dk'ya ulaşmıştır.



Şekil 3.5 Sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki GST aktivitesi üzerine etkisi. Gelişim evrelerinin kendi içindeki aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva, pup ve ergin birey kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

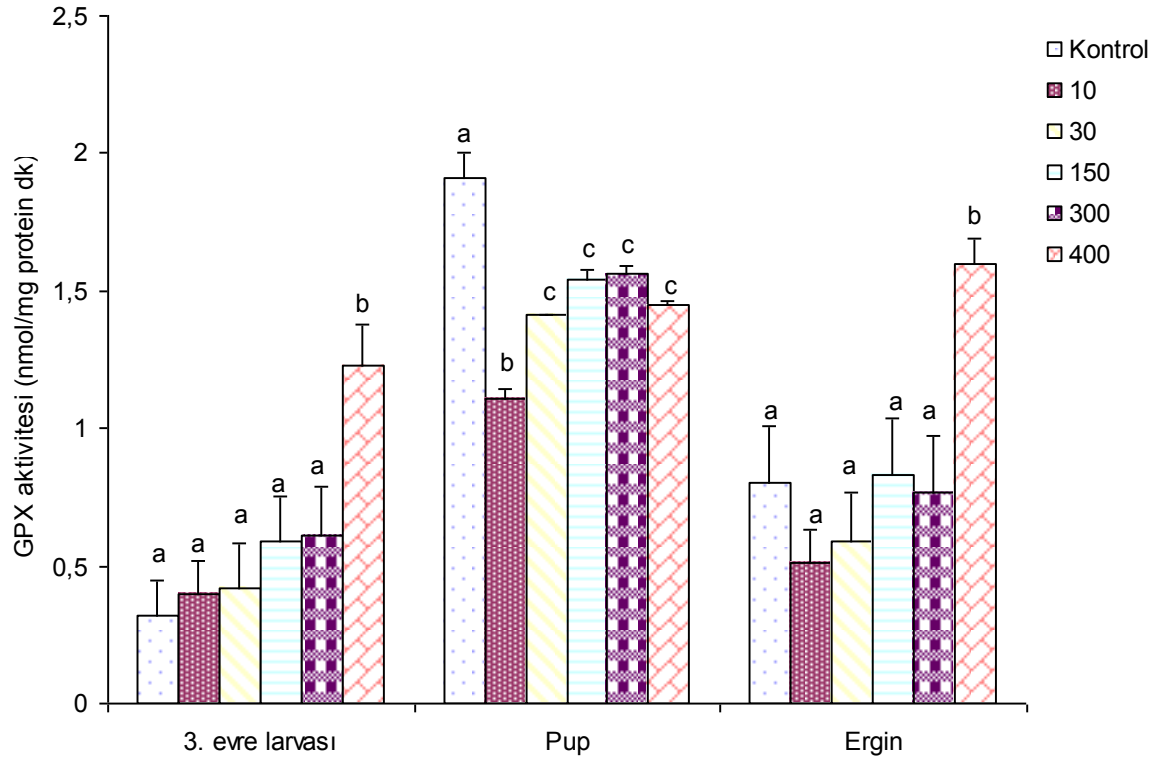
3.5.2 Sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki GPx aktivitesi üzerine etkisi

Şekil 3.6'da sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki antioksidan enzimlerden GPx aktivitesi üzerine etkisi gösterilmiştir.

Sodyum tetraboratın 10, 30, 150 ve 300 mg/L'lık konsantrasyonlarını içeren besinlerde, *D. melonagaster*'in son evre larvasındaki GPx aktivitesi kontrol besinine göre artış göstermesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamıştır. Kontrol grubundaki GPx aktivitesi $0,32 \pm 0,13$ nmol/mg protein/dk olarak bulunmuştur. En yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonunda (400 mg/L) GPx aktivitesi $1,23 \pm 0,15$ nmol/mg protein/dk'dır. En yüksek sodyum tetraborat içeren besin grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, GPx aktivitesinde, önemli derecede artışa neden olmuştur.

Sodyum tetraboratın böceğin larval evredeki GPx aktivitesi üzerine etkisinin aksine, sodyum tetraboratın tüm konsantrasyonlarında pup evresindeki GPx aktivitesi önemli derecede azalmıştır. Kontrol grubunda GPx aktivitesi $1,91 \pm 0,09$ nmol/mg protein/dk'dır. Yapay besindeki sodyum tetraborat konsantrasyonları böceğin pup evresindeki GPx aktivitesini düşürmüştür. En fazla azalma $1,11 \pm 0,03$ nmol/mg protein/dk enzim aktivitesi olarak tespit edilen en düşük sodyum tetraborat konsantrasyonunu (10 mg/L) içeren besinde gerçekleşmiştir ve bu sonuç istatistiki açıdan önemlidir.

Ergin evredeki GPx aktivitesi kontrol grubunda $0,80 \pm 0,21$ nmol/mg protein/dk olarak bulunmuştur. Denenen düşük sodyum tetraborat konsantrasyonlarında (10 ve 30 mg/L) kontrol besinine göre GPx aktivitesi azalmaya neden olmuştur ancak bu azalma istatistiki açıdan önemli bir sonuç değildir. 150 ve 300 mg/L sodyum tetraborat bulunduran yapay besinde GPx aktivitesi kontrol besine göre artış göstermiş olsa da istatistiksel olarak önemli değildir. En yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonunda (400 mg/L) ergin evredeki GPx aktivitesi $1,60 \pm 0,09$ nmol/mg protein/dk'dır. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında GPx aktivitesi en yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonunda istatistiksel olarak önemli bir artışa neden olmuştur.



Şekil 3.6 Sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki GPx aktivitesi üzerine etkisi. Gelişim evrelerinin kendi içindeki aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva, pup ve ergin birey kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

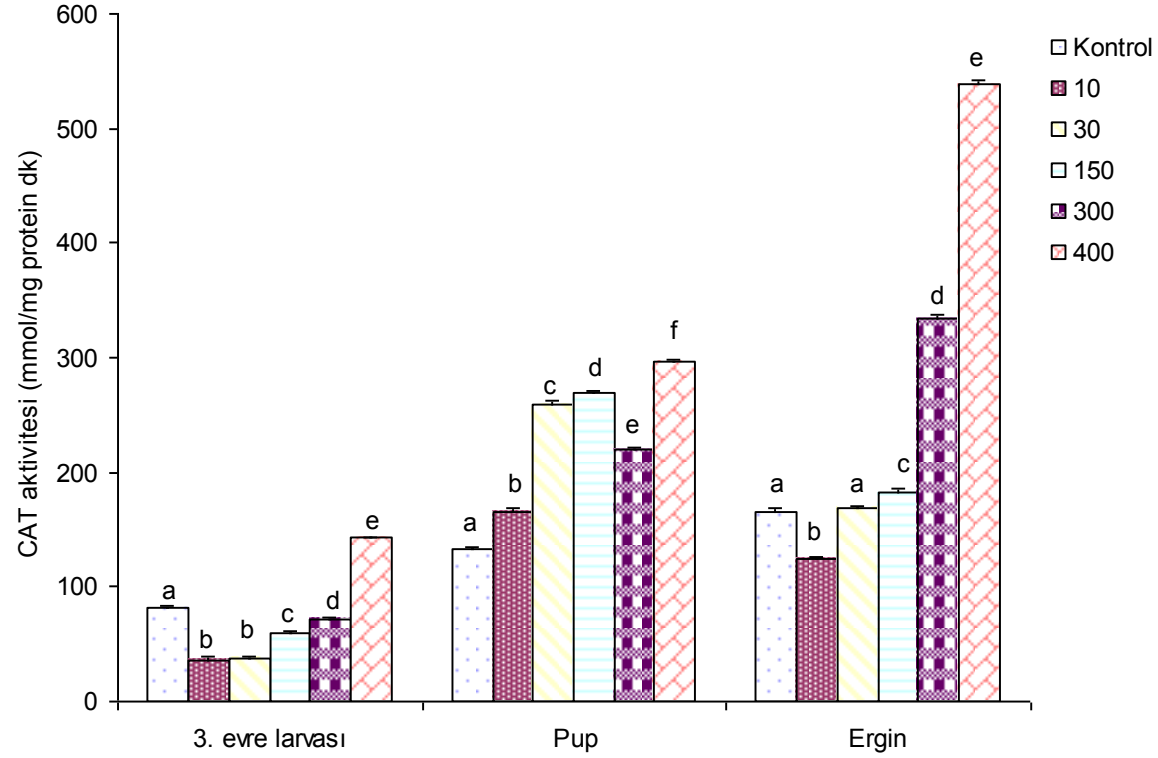
3.5.3 Sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki CAT aktivitesi üzerine etkisi

Sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki antioksidan enzimlerden CAT aktivitesi üzerine etkisi Şekil 3.7'de verilmiştir.

Sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in larval evresindeki CAT aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Sodyum tetraborat içermeyen kontrol grubunda CAT aktivitesi $82,61 \pm 1,73$ mmol/mg protein/dk'dır. 10, 30, 150 ve 300 mg/L sodyum tetraborat içeren besin grubu kontrol besinine göre CAT aktivitesinde, önemli bir azalmaya neden olmuştur. Bu sonucun aksine en yüksek konsantrasyonu (400 mg/L) bulunduran besin grubunda, CAT aktivitesi $142,42 \pm 1,10$ mmol/mg protein/dk olarak tespit edilmiş olup, bu sonuç kontrol ile karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek bulunmuştur.

Sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in pup evresindeki CAT aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Sodyum tetraboratın tüm konsantrasyonları (10, 30, 150, 300 ve 400 mg/L), kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, böceğin pup evresindeki CAT aktivitesinde istatistiki açıdan anlamlı bir artışa sebep olmuştur. Ayrıca tüm sodyum tetraborat konsantrasyonları kendi içinde karşılaştırıldığında sodyum tetraboratın pup evresindeki CAT aktivitesi üzerine artırıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunda CAT aktivitesi $132,75 \pm 1,67$ mmol/mg protein/dk'dır. En yüksek sodyum tetraborat içeren konsantrasyonda (400 mg/L) en yüksek CAT aktivitesi gözlemlenmiş olup kontrole göre yaklaşık olarak 2 katından daha fazla bir artış belirlenmiştir.

Kontrol besininde yetişen *D. melonagaster*'in erginlerinde CAT aktivitesi, $165,83 \pm 3,26$ mmol/mg protein/dk olarak tespit edilmiştir. En düşük konsantrasyon olan 10 mg/L sodyum tetraborat içeren besinde, CAT aktivitesi $124,43 \pm 1,29$ mmol/mg protein/dk'dır ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bir azalma olmuştur. 30 mg/L sodyum tetraborat içeren besin CAT aktivitesinde kontrol besin ile karşılaştırıldığında artışa neden olmuştur ancak istatistiki açıdan anlamlı bir sonuç değildir. 150, 300 ve 400 mg/L sodyum tetraborat içeren besinlerde *D. melonagaster*'in erginlerindeki CAT aktivitesi kontrol besini ile karşılaştırıldığında önemli derecede artmıştır.



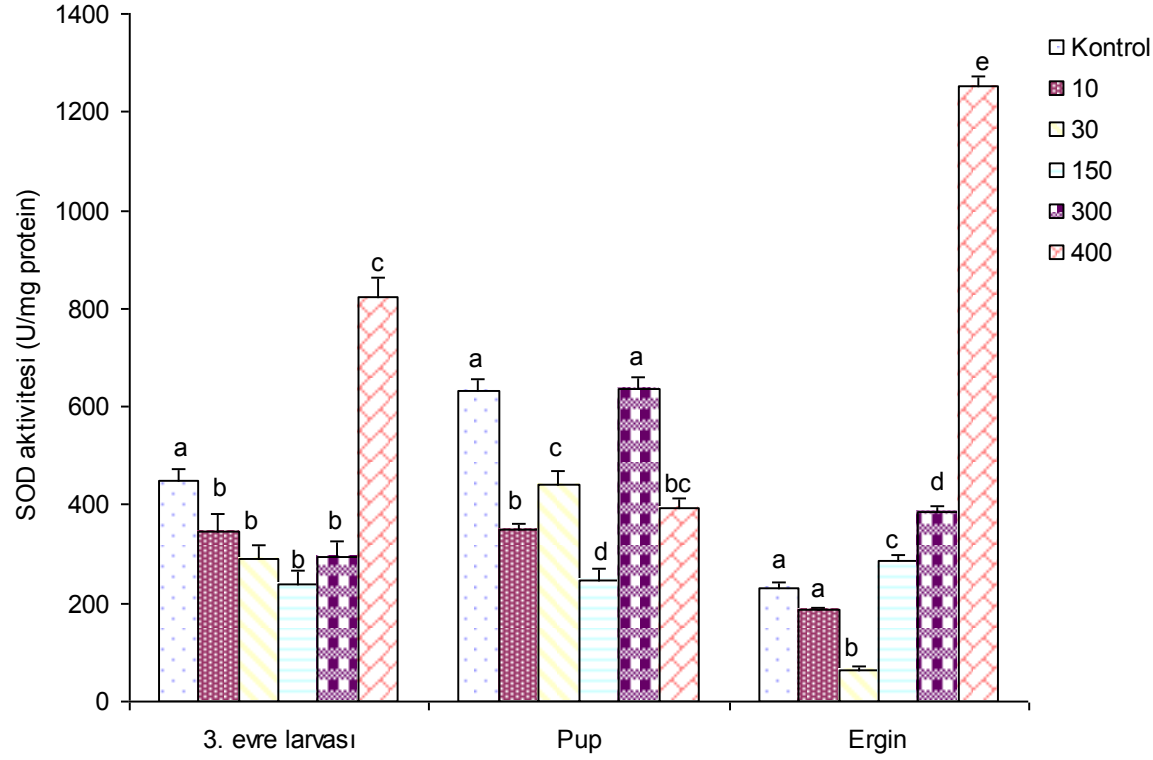
Şekil 3.7 Sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki CAT aktivitesi üzerine etkisi. Gelişim evrelerinin kendi içindeki aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva, pup ve ergin birey kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

3.5.4 Sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki SOD aktivitesi üzerine etkisi

Şekil 3.8'de sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki SOD aktivitesi üzerine etkisi gösterilmiştir. Sodyum tetraboratın *D. melonagaster*'in larval evresindeki SOD aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Son evre larvasındaki SOD aktivitesi kontrol grubunda $450,00 \pm 24,23$ U/mg protein'dir. 10, 30, 150 ve 300 mg/L sodyum tetraborat içeren besin grubu ile kontrol besini karşılaştırıldığında son evre larvasında SOD aktivitesinde istatistiki açıdan önemli bir azalma tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyon olan 400 mg/L'lik sodyum tetraborat içeren besin grubunda ise SOD aktivitesi $822,50 \pm 40,36$ U/mg protein'dir. Kontrol besini ile karşılaştırıldığında bu besinde SOD aktivitesi yaklaşık olarak 1,5 kat kadar artmış olup bu değer istatistiki olarak anlamlı bir sonuçtur.

Pup evresindeki SOD aktivitesi kontrol besin grubunda $634,25 \pm 21,52$ U/mg protein'dir. Sodyum tetraboratın 10, 30, 150 ve 400 mg/L'lik konsantrasyonlarını içeren besin gruplarında yetişen pupların SOD aktivitesi sırası ile; $351,75 \pm 10,35$, $441,25 \pm 27,58$, $245,50 \pm 25,05$ ve $392,00 \pm 22,94$ U/mg protein'dir. Bu üç konsantrasyon (10, 30 ve 150 mg/L) kontrol besini ile karşılaştırıldığında SOD aktivitesinde önemli derecede azalmaya neden olmuştur ve istatistiksel olarak önemli bir sonuçtur. Sodyum tetraboratın 300 mg/L'lik besin grubunda ise SOD aktivitesinde istatistiksel öneme sahip olmayan bir artış gözlemlenmiştir.

Sodyum tetraborat, böceğin ergin evresindeki SOD aktivitesi üzerine istatistiksel açıdan önemli bir etki göstermiştir. Kontrol besininde yetişen erginlerin SOD aktivitesi $230,00 \pm 14,03$ U/mg protein'dir. Sodyum tetraboratın düşük konsantrasyonları olan 10 ve 30 mg/L'lik besin grubundaki erginlerin SOD aktivitesi $187,5 \pm 5,00$ ve $61,75 \pm 8,20$ U/mg protein'dir. Bu değerler kontrol grubunda yetişen erginlerin SOD aktivitesi ile kıyaslandığında; sodyum tetraboratın 10 mg/L'lik besin grubunda istatistiki açıdan önemli olmayan bir azalma gözlemlenmiştir. Benzer bir azalma sodyum tetraboratın 30 mg/L'lik besin grunda tespit edilmiş olup bu sonuç istatistiki açıdan önemlidir. Bu sonuçların aksine 150, 300 ve 400 mg/L'lik sodyum tetraborat içeren besinler ile kontrol gurubu karşılaştırıldığında erginlerin SOD aktivitesinde istatistiki olarak önemli bir artış tespit edilmiştir. En yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonu olan 400 mg/L'lik besin grubunda SOD aktivitesi $1253,5 \pm 19,52$ U/mg protein'e yükselmiş olup kontrol besinine göre yaklaşık olarak 5,5 katı kadar artmıştır.



Şekil 3.8 Sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in son evre larvası, pup ve ergin evresindeki SOD aktivitesi üzerine etkisi. Gelişim evrelerinin kendi içindeki aynı harfi içeren çubukların gösterdiği ortalamalar birbirinden farklı değildir ($P > 0,05$). Deneyler her tekrarda 30 adet 3. evre larva, pup ve ergin birey kullanılarak dört defa tekrar edilmiştir.

BÖLÜM 4

TARTIŞMA

Meyve sineği *Drosophila melanogaster* (Meigen) larvalarını laboratuvarında ergin evreye kadar yetiştirmek için kullanılan yapay besine farklı miktarlarda ilave edilen sodyum tetraboratın böceğin yaşama, gelişimine, ergin ömür uzunluğuna ve üçüncü evre larvaları, pupları ve erginlerinin tüm vücutta lipid peroksidasyonunun önemli bir ürünü olan malondialdehid (MDA), protein oksidasyonu ürünü protein karbonil (PCO) miktarları ve antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve detoksifikasyon enzimi Glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesinde neden olduğu değişimler araştırıldı. Elde edilen sonuçlar sodyum tetraboratın *D. melanogaster* larvalarının yaşam parametreleri ve ergin özelliklerini olumsuz yönde etkilediğini açıkça ortaya koymuştur. Bu bor türevinin, oksidatif stres biyobelirteçleri olan MDA ve PCO miktarlarındaki değişme karşı, önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST ve antioksidan enzimler SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde değişimlere sebep olduğu açıkça görülmüştür. Bu çalışmada belirlenen oksidatif stres biyobelirteçleri ve antioksidan enzimler arasındaki ilişki *D. melanogaster* larvalarının yaşaması, gelişmesi ve ömür uzunluğu üzerindeki olumsuz etkilerin sodyum tetraborat aracılığıyla oluşan oksidatif stres kaynaklı moleküler hasardan ileri gelebileceğini belirtmektedir.

Bor türevi olan sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonlarını içeren besinlerle beslenen birinci evre larvalarının diğer larval evrelerinde ve larva sonrası evrelerinde yaşama ve gelişme olumsuz etkilenmiştir. Sodyum tetraboratın en yüksek besinsel konsantrasyonu (400mg/L) böceğin hem yaşama oranını hem de gelişme süresini olumsuz yönde etkilemiştir. Düşük konsantrasyonlardaki sodyum tetraborat ise böceğin gelişme evrelerine göre farklı etkiler göstermiş olup genellikle yaşama üzerinde düşürücü, gelişmeyi geciktirici etki göstermemiştir. Benzer etki Güneş (2013) tarafından yürütülen bir çalışmada da ortaya çıkarılmış olup bir bor türevi borik asitin en yüksek besinsel konsantrasyonu olan 300 mg/L'lik miktarı *D. melanogaster* larvalarının yaşama oranını düşürmüş gelişme süresini

uzatmıştır. Bu çalışmada ayrıca borik asitin yaşama ve gelişme parametrelerindeki olumsuz etkisi ile ilişkili olarak MDA ve PCO miktarlarının arttığı ve detoksifikasyon enzimi GST aktivitesinin yükseldiği gösterilmiştir. Borik asit ile lepidopter bir tür olan *G. mellonella* üzerinde yapılan bir araştırmada ise 1250 ve 2500 ppm konsantrasyonlarda larval ve pupal ölüm oranının arttığı ve gelişimin geciktiği tespit edilmiştir (Hyršl et al. 2007). Bu çalışmada borik asitin 1250 ve 2500 ppm konsantrasyonlarının *G. mellonella* larvalarının hemolenf SOD aktivitesini düşürdüğü, yağ doku SOD aktivitesini artırırken CAT aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde bu yüksek konsantrasyonlar glutatyon bağımlı enzimlerden hemolenf GST aktivitesini düşürürken, GPx aktivitesini artırmışlardır.

Diğer taraftan *G. mellonella* ile yapılan başka bir çalışmada ise bu tez çalışmasında denenen sodyum tetraboratın en yüksek besinsel konsantrasyonunda (0.3 gr/100 gr besin) böceğin ergin evreye kadar olan yaşama (toplam % 12.5 oranında pup ve ergin elde edilmiştir) ve gelişmesi (kontrole göre 5 gün gecikmiş) olumsuz etkilenmiş olup dişilerin yumurta bırakması tamamen önlenmiştir (Durmuş and Büyükgüzel 2008). Ayrıca sodyum tetraboratın bu besinsel konsantrasyonu (0,3 g/100 gr besin) *G. mellonella* larvalarının hemolenf ve yağ doku MDA miktarını önemli derecede artırırken, hemolenf GST aktivitesinde önemli bir azalmaya sebep olmuş, yağ doku GST aktivitesini yaklaşık 12 kat artırmıştır (Durmuş 2007, basılmamış veriler).

Bu tez çalışmasından ve önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlar bor türevi maddelerin böceklerin yaşama, gelişme ve ergin özellikleri üzerine olan olumsuz etkilerinin kısmen de olsa oksidatif stres ile ilişkili olabileceği anlaşılmaktadır. Bu sonuçlar borik asit ve sodyum tetraboratın özellikle yüksek konsantrasyonlarda böceklerin gelişim evrelerindeki farklı dokularında detoksifikasyon sistemini ve antioksidan savunma sistemini zayıflattığını göstermiştir. Ancak bu etkilerin böcek türüne, gelişim evresine, doku tipine, bor türevi maddenin çeşidine (borik asit ve sodyum tetraborat) göre değiştiği de açıktır. Bu tezde sodyum tetraboratın daha düşük miktarlarına (10-400 mg/L besin) karşı *D. melanogaster* larvaları tolerans gösterebildiği gibi daha önce yapılan bir çalışmada *G. mellonella* larvaları sodyum tetraboratın daha yüksek miktarlarına karşı (0,005-0,3 gr/100 gr besin) tolerans göstermiştir (Durmuş and Büyükgüzel 2008). Benzer bir etki diğer bir bor türevi olan borik asit için *D. melanogaster* (10-300 mg) (Güneş 2013) ve *G. mellonella* (156-2500 ppm) (Hyršl et al. 2007) üzerinde de elde edilmiştir. Bu farklılık böcek türlerinin farklı olmasından ileri gelebildiği gibi böceklerin beslenme şekillerinin ve ortamlarının farklı olmasından da ileri

gelebilmektedir. *D. melanogaster* diptera takımının ait olup bazı olgunlaşmış, olgunlaşmamış meyveler veya çürümüş meyveler ile beslenmektedir (Sarıkaya vd. 2010), *G. mellonella* ise Lepidoptera takımına ait olup bal peteği ve mumla beslenmektedir. Diğer taraftan bu tezde kullanılan bor türevlerinden sodyum tetraboratın daha yüksek miktarlarına *D. melanogaster* larvaları daha fazla tolerans göstermiş olup önceki çalışmada (Güneş 2013) borik asitin daha düşük miktarlarına tolerans göstermiştir. Bu durum kullanılan bor türevinin farklı olmasından ileri gelebilir. Borik asit sodyum tetraborata göre daha az toksik bir madde olup gıda katkı maddesi ve eski dönemlerde ilaç olarak kullanıldığı bilinmektedir. Aynı türün farklı gelişim evrelerinde bile değişik fizyolojik koşullara gereksinim duyulduğu bilinmektedir (Grenier et al. 1986). Bu yüzden denenen sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in yaşama gelişme, ergin özellikleri ile farklı gelişme evrelerindeki oksidan ve antioksidan seviyesine etkisinin bu böceğin farklı gelişim evresine göre değişmesi de beklenen bir sonuçtur.

Son zamanlarda borik asit ve sodyum tetraborat ile yapılan beslenme çalışmaları zararlı böceklerin mücadelesi amacıyla çeşitli besinlere ilave edilen bor türevi çeşitli kimyasalların yüksek konsantrasyonlarda ergin evreye kadar gelişme süresini ve ergin bireylerin yaşama süresini uzattığı, yumurta üretimini ve açılımını azalttığı, larval ve pupal evrede yaşama oranını düşürdüğü gözlenmiştir (Yang et al. 2000, Zurek et al. 2003, Xue and Barnard 2003, Gore and Schal 2004). Her ne kadar oksidatif stres ile ilişkilendirilse de sodyum tetraboratın *D. melanogaster* üzerindeki olumsuz etkilerinin kesin mekanizmasının anlaşılması yaptığımız bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar ile mümkün değildir. Diğer taraftan bizim çalışmamızla uyumlu olarak diğer bir bor türevi olan borik asitin Alman hamam böceği *Blatella germanica* L. erginlerinin orta bağırsak epitel dokusunda oksidatif hasara sebep olduğu ve GST aktivitesini artırdığı ortaya çıkarılmıştır (Habes et al. 2006). Bu sonuçlar ile uyumlu olarak sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonları *D. melanogaster* larvalarının pup ve ergin olma oranını önemli derecede düşürmüş gelişmeyi ise geciktirmiş ve antioksidan savunma sisteminde değişime sebep olmuştur. Besinle alınan sodyum tetraboratın *D. melanogaster* larvaları üzerindeki toksitesinin yüksek olması larvaların besin tüketim oranının artmasına bağlı olarak fazla miktarda sodyum tetraboratı tüketmesine bağlı olabilir. Benzer bir mekanizma, çeşitli besin ortamları ile uygulanan borik asit ve türevlerinin farklı böcekler üzerindeki olumsuz etkisi ile ilgili olarak da ileri sürülmüştür (Appel et al. 2004, Cochran 1995). Daha önce bu konuda yapılan beslenme çalışmaları yapay besinlere ilave edilen ve besinsel değeri bulunmayan bir kimyasalın böcek üzerindeki etkisinin besin maddeleri ile etkileşimine bağlı olarak ortaya çıkabileceğini belirtmiştir. Bu çalışmalarda, fiziksel ve

kimyasal düzeyde ortaya çıkan bu etkileşimlerin larvaların besin tüketim oranını değiştirebileceği ileri sürülmüştür (Büyükgüzel 2001).

Ekonomik kayıba neden olan böceklerin mücadelesinde borik asit ve türevlerinin insektisit olarak kullanılmasına yönelik çalışmalar günümüzde devam etmektedir. Yapılan bir çalışmada sodyum tetraboratın % 0,1'lik konsantrasyonu tropik meyvelerde hasara neden olan *Anastrepha suspensa*'nın ölüm oranını artırmış, ayrıca böceğin üremesini yavaşlatmıştır. Aynı çalışmada % 0,5'lik sodyum tetraborat bulunduran besin yumurta üretimi ve açılımını düşürmüştür (Yang et al. 2000). Yapmış olduğumuz bu tez çalışmasında benzer sonuçlar elde edilmiş olup, kontrol grubunda ortalama bir dişinin ömrü boyunca $9,46 \pm 0,57$ yumurta bıraktığı belirlenmiştir. Sodyum tetraborat konsantrasyonları arttıkça yumurta verimi düşmüş ve 3. evreye ulaşan larva oranı, pup oranı da en yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonunda yaklaşık olarak yarı yarıya azaltmıştır. Ancak bu konsantrasyonda ergin olma oranı kontrol grubuna göre 1/9 oranında düşmüştür. Sodyum tetraboratın en yüksek konsantrasyonunda (400 mg/L) ise dişilerden yumurta elde edilmemiştir. % 10'luk boraks ve borik asit çözeltilerinin Çam keseböceği *Thaumetoea pityocampa* (Schiff) (Lepidoptera) larvalarına karşı öldürücü bir etkisi gözlemlenmemiştir (Dayıoğlu 2008). Doane and Wallis (1964) borik asitin *Bacillus thuringiensis* (Berliner)'in patojenitesine etkisini araştırmışlardır. Yapılan bu çalışmada, borik asit, *B. thuringiensis*'in bir kombinasyonunun kır tırtılı türü *Prothetria dispar* (L.) larvalarının ölüm oranını artırmıştır. Hayalet karınca *Tapinoma melanocephalum* (F.)'nin işçi, kraliçe erginleri ile larva ve puplarını borik asitin % 10'luk şeker çözeltilisinde hazırlanmış karışımın % 0,5'lik besinsel formülasyonu, üç hafta sonunda % 100 oranında öldürmüştür (Ulloa-Chacon and Jaramillo 2003). Daha önce yapılan bazı çalışmalarda, borik asit ve bir bor türevi olan sodyum tetraboratın yüksek konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nin yaşama oranı ve gelişme süresi üzerine önemli olumsuz etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Hyršl et al. 2007, Durmuş and Büyükgüzel 2008). Ayrıca yapılan çalışmalarda denenen bu bor türevleri, böceğin larval ve pupal hemolenf ve yağ dokusunda lipid peroksidasyonu seviyesini ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırmıştır. Bu çalışmamızda da sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in yaşama oranı ve gelişme süresi üzerine olumsuz etkisi olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada sodyum tetraboratın böceğin larva, pup ve ergin evrelerinde lipid peroksidasyonu seviyesi, protein oksidasyonu, antioksidan enzimler üzerine olumsuz yönde etkisinin olduğu açıkça görülmüştür. Massie et al.1990'da borun, dokularda birikimi *Drosophila*'nın gelişme evresine göre farklılık gösterdiğini ortaya çıkarmış olup en fazla bor oranının yumurta evresinde olduğunu larval evrelere doğru bor oranının azaldığını tespit

etmişlerdir. Aynı zamanda borun en düşük konsantrasyonu da ömür uzunluğunda önemli derece artışa neden olmuştur. Yapmış olduğumuz çalışmada da sodyum tetraborat böceğin tüm evrelerinde yaşama oranını düşürmüş gelişme sürelerini uzatmış ve dişi-erkek ergin ömür uzunluklarını kısaltmıştır. Yapılan bir çalışmada, bor ilave edilmiş su ile beslenen *D. melanogaster* erginlerinin birinci nesilden beşinci nesile doğru yaşama oranının azaldığı tespit edilmiştir (Espinoza-Navarro et al. 2009). Ömür uzunluğunu etkileyen iç faktörler anasal yaş, eşleşme durumu, yumurta üretimi, eşey ve genetik yapı olup, dış faktörler ise sıcaklık, beslenme, populasyon yoğunluğu, ışık, nem, kimyasal maruziyet ve radyasyon olarak sıralanmıştır (Lints 1971). Yapılan bir çalışmada *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu farklı türlerde, aynı türün eşeylerinde ve mutantlar arasında farklılık göstermiştir. Ayrıca aynı genotipe sahip populasyonların farklı çevre koşullarında farklı ömür uzunluğuna sahip olabileceği ileri sürülmüştür (Ünlü and Bozcuk 1979). Economus and Lints'in 1986'da yapmış olduğu bir çalışmada ergin evredeki sıcaklık değişimlerinin ömür uzunluğunu etkilediğini ve yüksek sıcaklıklarda ömür uzunluğunun kısaldığını tespit etmiştir. Yüksek sıcaklık metabolik aktiviteyi artırarak solunum hızını ve serbest radikal oluşumunu artırır ve hücrel hasara sebep olur. Böylece ömür uzunluğu kısılır (Sestini et al. 1991). Bu çalışmada da sodyum tetraborat beslenme yolu ile benzer bir etki göstermiş, metabolizması sırasında serbest radikalleri oluşturmuş olabilir. Oksidatif stres parametrelerindeki ve antioksidan enzim aktivitelerinde değişim bu görüşü desteklemektedir.

Üreme ile ömür uzunluğu arasında ters bir ilişki bulunduğu aynı zamanda üremenin dişiler için ömür uzunluğu açısından da olumsuz etkilere neden olduğu bilinmektedir (Masynard Smith 1958). Bu durum *D. melanogaster* gibi kısa hayat devri olan türlerde önemli bir yer tutarken karınca ve bal arıları gibi uzun hayat döngüsüne sahip olan türler için geçerli sayılmamaktadır. *D. melanogaster* ve bir örümcek türü olan *Hygrolycosa rubrofasciata*'nın erkek bireylerinde çiftleşme öncesinde görülen kur davranışları metabolizmalarının hızlanması ile ilişkili olarak bu bireylerin ömür uzunluğunu önemli derecede kısaltmıştır (Cordts and Partridge 1996). Yapmış olduğumuz çalışmada da sodyum tetraboratın 300-400 mg/L konsantrasyonunda dişi ve erkek ergin ömür uzunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir. Buna paralel olarak 300 mg/L'lik sodyum tetraborat konsantrasyonunda yumurta verimi kontrol grubuna göre önemli derecede azalma gösterirken en yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonunda (400mg/L) ise dişilerden hiç yumurta elde edilmemiştir. Bizim çalışmamızda da *D. melanogaster* larvalarının besin ile aldıkları sodyum tetraboratın yüksek

konsantrasyonları detoksifiye etmek için metabolizmaları hızlanmış ve aşırı enerji kaybına bağlı olarak ömür uzunluğu ve yumurta verimi düşmüş olabilir.

Böcekler, ROT meydana getiren zehirli ya da zararlı kimyasal maddelerin bulunduğu ortamda hayatlarını devam ettirebilmek için metabolik faaliyetleri sırasında bu maddeleri oksitleyebilme özelliğine sahiptirler (Felton and Summers 1995, Hyršl et al. 2007, 2008). ROT lipid peroksidasyonu ile protein ve enzim oksidasyonuna ve hücrel glutatyon miktarının azalmasına neden olarak böcek dokularında oksidatif hasar meydana getirir (Ahmad 1995). MDA miktarının yükselmesi lipid peroksidasyonu seviyesinin bir belirteçidir (Manno et al. 1985). Lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA proteinlerin amino grubu, fosfolipidler ve nükleik asitler ile reaksiyona girer. Sonuçta bu moleküllerin yapısının bozulmasına ve oksidatif hasara neden olur (Krishnan et al. 2009). Böceklerin sindirimi sırasında, sindirim kanalında oksidatif hasarın neden olduğu oksidatif stresin önemli sebebi süperoksit ve hidrojen peroksitin meydana gelmesidir (Peric-Mataruga et al. 1997, Krishnan and Kodrik 2006). Sodyum tetraborat ile yapmış olduğumuz çalışmada *D. melanogaster*'in pup ve ergin evrelerinde MDA miktarı önemli derecede artmıştır. Sodyum tetraborat ile beslenen *D. melanogaster*'in larva, pup ve ergin dokusunda MDA miktarının artışı, bu maddenin sindirimi sonucunda oluşan oksidatif stresten kaynaklanabilir. Benzer şekilde protein oksidasyonu sonucunda oluşan protein karbonil miktarındaki artış böcekte meydana gelen oksidatif stresten ileri gelebilir.

Böceklerde de diğer ökaryotik organizmalarda olduğu gibi, oksidatif radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için antioksidan enzim sistemi vardır (Ahmad 1992). SOD, CAT, GPx, GST ve GR böceklerde bulunan başlıca antioksidan enzimlerdir (Ahmad 1995). Bu antioksidan enzimlerin dışında, *Helicoverpa zea* (Boddie)'nin larvasında askorbat peroksidaz (Mathewes et al. 1998) ve *Drosophila*'da ise tiyoredoksin peroksidaz (Missirlis et al. 2003) bulunmaktadır. GST enzimi ksenobiyotiklerin detoksifikasyonundan sorumludur ve geniş bir substrat spesifikliğı göstermektedir (Vontas et al. 2001). Böceklerde selenyuma bağımlı GPx enziminin aktivitesi oldukça düşüktür. Bu aktivite CAT enzimi ve ayrıca GST enziminin GPx benzeri aktivitesi (GSTpx) ile sağlanır (Krishnan and Kodrik 2006). Hidrojen peroksit (H_2O_2) ve lipid peroksitleri, GPx substrat olarak indirgenmiş glutatyonu kullanarak metabolize eder (Ahmad et al. 1989). Besinsel zehirli maddelere karşı böcekler fizyolojik bir adaptasyon gösterirler. Böcekler bu adaptasyonu ise, dokularında GST ve GST enziminin GPx benzeri aktivitesini yükselterek gerçekleştirmişlerdir (Peric-Mataruga et al. 1997). Yapmış olduğumuz

çalışmada sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in tüm evrelerinde GST aktivitesinin özellikle en yüksek konsantrasyonda kontrol grubuna oranla önemli derecede artırmış olması böceklerin sodyum tetraborata karşı oluşturdukları fizyolojik bir adaptasyon sonucu gerçekleşmiş olabilir. SOD, CAT ve GPx enzimleri reaktif oksijen türlerine karşı beraber çalışarak, antioksidan savunma sistemini meydana getirirler. Antioksidan enzimlerden CAT enzimi H_2O_2 'i su ve oksijene dönüştürür ve *Drosophila*'da hücrel olmayan bağışıklığı düzenlemede önemli bir konak savunma sistemine aracılık eder (Ahmad 1992). Bizim çalışmamızda sodyum tetraboratın böceğin tüm evrelerinde artan konsantrasyona bağlı olarak CAT aktivitesindeki artışın nedeni ortamda oluşan H_2O_2 'yi ortadan kaldırmak için olabilir. Kontrol besini ile sodyum tetraboratın en yüksek konsantrasyonu karşılaştırıldığında böceğin 3. evre larvası ve ergininde GPx aktivitesinde, istatistiksel olarak önemli bir artış varken, pup evresinde ise bunun tam tersi olarak GPx aktivitesinde bir azalma gözlemlenmiştir. *D. melanogaster*'in 3. evre larva ve erginlerinde GPx aktivitesindeki artış, artan MDA miktarının işaret ettiği gibi oluşan lipid peroksidasyon ürünlerini metabolize etmek için olabilir. Çünkü *D. melanogaster*'in larva ve erginleri aktif olarak besin almakta, pupları ise beslenmemektedir. GPx aktivitesinin pup evresinde düşük bulunması bu evrede dışarıdan sodyum tetraborat besin ile maruziyetin olmaması ile ilgili olabilir. Prooksidanlara karşı ilk antioksidan tepkiyi oluşturan enzimlerden biri olan SOD, süperoksit radikallerinin H_2O_2 ve moleküler oksijene (O_2) dönüşmesini katalizlerler (Ahmad and Pardini 1990). 3. evre larvası ve ergin evrelerinde en yüksek sodyum tetraborat konsantrasyonu SOD aktivitesini önemli derecede artırmıştır. Bu artış besin ile alınan sodyum tetraboratın prooksidatif etkisine karşı yapılmış bir savunma olabilir. Yapılan bir çalışmada *Lymantria dispar* L. tırtıllarının farklı konak bitkilerle beslenmesi, böceğin orta bağırsağındaki GST, SOD, GSH miktarlarını yükseltmiş, CAT aktivitesinin ise aynı oranda düşürmüştür. Aynı zamanda bu enzim aktivitelerinin farklı larval evrelerde değiştiği de belirtilmiştir (Peric-Mataruga et al. 1997). Yapılan bir başka çalışmada da Kadmiyum *Oncopeltus fasciatus* (Dallas)'un lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA seviyesini yükseltmiş olup bazı antioksidan enzimlerin (CAT, GR, 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) CAT, SOD, GST aktiviteleri araştırılmıştır (Weirich et al. 2002).

Belirtilen bu çalışmalardan da anlaşılacağı gibi böcekleri gerek yapay besin ortamları gerekse doğal besinlerle beslenmeleri sırasında maruz kalabilecekleri kimyasalların prooksidatif etkilerine karşı gelişme evrelerine ve dokuya özgü detoksifikasyon ve antioksidan mekanizma ile kendilerini savunmaktadırlar.

Bu çalışmada, sodyum tetraborat konsantrasyonlarına bağlı olarak, böceğin 3. evre larvası, pup, ergin bireylerinin biyolojik özellikleri ile oksidatif durum ve detoksifikasyon kapasitesinde değişimler olduğu gösterilmiştir. Diğer taraftan böceklerin kimyasallara karşı enzimatik antioksidan mekanizma ile savunma geliştirebileceği ve antioksidan enzimlerin detoksifikasyon enzimleri ile beraber sodyum tetraboratın etkisinin belirlenmesinde önemli indikatörler olabileceği anlaşılmıştır.

BÖLÜM 5

SONUÇ

Bu tez çalışmasında kullanılan sodyum tetraboratın en önemli özelliği, zararlılarla mücadelede kullanılan diğer kimyasal insektisitlere göre özellikle memelilere karşı düşük toksisiteye sahip olmasıdır. Yapmış olduğumuz tez çalışması bor ve türevlerinin zararlı böceklerle mücadelede insektisit olarak denenmesi için bize önemli bir bilgi sağlamaktadır. Bu nedenle yapay besine eklenen inorganik insektisit sodyum tetraboratın etkisinin belirlenmesinde model organizma olan *D. melanogaster*'in yumurtadan yeni çıkmış larvaları kullanılmış olup böceğin larvaları bu maddeyi içeren besinlerde ergin evreye kadar yetiştirilmiştir. Larval besin ile alınan sodyum tetraboratın *D. melanogaster*'in son evre larvaları, pup ve erginlerinde protein ve lipit moleküllerine oksidatif etkileri incelenmiştir. Ayrıca larvalar ergin evreye kadar yapay besin ile beslenerek böceğin yaşama, gelişimi ve ergin ömür uzunluğu incelenmiştir. Aynı zamanda farklı gelişim evrelerindeki (larva, pup ve ergin) lipit peroksidasyon (Malondialdehid miktarı) ve protein oksidasyonu (protein karbonil) seviyesi ile GST, GPx, SOD ve CAT aktiviteleri de incelenmiştir. Elde edilen veriler sodyum tetraboratın tarımsal alanlarda insektisit olarak kullanılabilirliği hakkında bize bilgi vermektedir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda ülkemizdeki bor kaynaklarının işlenerek yeni bir ürünün geliştirilmesi, tarımda verim ve kalitenin artırılmasına yönelik kullanımı, aynı zamanda bu maddenin çevre ve hedef olmayan canlılara toksitesinin az olması nedeniyle ülke ekonomisine yararlı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca laboratuvar ortamında sodyum tetraborat içeren besinlerle beslenen *D. melanogaster*' in yaşama ve gelişme parametreleri ile oksidatif stres indikatörlerindeki değişimler zararlı böceklerin mücadelesinde bu maddenin insektisit olarak kullanılmasına yönelik bilgi elde edilmesine katkıda bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- Absolom T** (1980) Mineral Facts and Problems. USA, Bureau of Mines. Book : National government publication : English, 1-10.
- Aebi H** (1984) Catalase in vitro. *Method Enzymol.*, 105: 121-126.
- Ahmad S** (1992) Biochemical defence of pro-oxidant plant allelochemicals by herbivorous insects. *Biochem. Ecology Syst.*, 20: 269-296.
- Ahmad S** (1995) Oxidative stress from environmental pollutants. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 29: 135-157.
- Ahmad S and Pardini R S** (1990) Mechanisms for regulating oxygen toxicity in phytophagous insects. *Free Radic. Biol. Med.*, 8: 401-413.
- Ahmad S, Beilsen M A and Pardini R S** (1989) Glutathione peroxidase activity in insects: a reassessment. *Arch. Insect Biochem.*, 12: 31-49.
- Akkus İ** (1995) Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınevi, 1-133, Konya.
- Ali A, Xue R D and Barnard D R** (2006) Effects of sublethal exposure to boric acid sugar bait on adult survival, host-seeking, blood feeding behavior, and reproduction of *Stegomyia albopicta*. *Jour. Amer. Mosq. Cont. Assoc.*, 22: 464-468.
- Altıntaş S** (2006) Kahramanmaraş'ta Bazı İş Kollarında Çalışan Boya İşçilerinde Plazma Ve Eritrosit Membranı Sialik Asit, Glutasyon, Plazma Nitrik Oksit Ve Lipid Peroksidasyonu Düzeylerinin Değerlendirilmesi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Anderson T D and Zhu K Y** (2004) Synergistic and antagonistic effects of atrazine on the toxicity of organophosphorodithioate and organophosphorothioate insecticides to *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 80: 54-64.
- Appel A G, Gehret M J and Tanley M J** (2004) Effects of moisture on the toxicity of inorganic and organic insecticidal dust formulations to *German cockroaches* (Blattodea: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, 97: 1009-1016.
- Atalay B** (2007) Japon Bildircinlarında (*Coturnix coturnic japonica*) deneysel olarak oluşturulan aflatoksikozis'te yeme katılan maya glukomannanın bazı biyokimyasal parametreler ve antioksidan enzimler üzerine olan etkileri. Selçuk Üniversitesi , Veteriner Fakültesi, Fizyoloji AD, Doktora Tezi, Konya.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ates I, Suzen H S, Aydin A and Karakaya A** (2004) The oxidative DNA base damage in testes of rats after intraperitoneal cadmium injection. *Biometals*, 17 (4): 371-7.
- Barata C, Baird D J, Soares A M V M and Guilhermino L** (2001) Biochemical factors contributing to response variation among resistant and sensitive clones of *Daphnia magna* straus exposed to ethyl parathion. *Ecotox. Environ. Safe.*, 49: 155-163.
- Bourg E L** (2001) Oxidative stres, aging and longevity in *D. melanogaster*, *FEBS Lett.*, 498: 183-186.
- Bownes M** (1975) A fotografic study of development in the living embryo of *Drosophila melanogaster*. *J. Embryol. Exp. Morph.*, 33: 789-801.
- Burçak G ve Andican G** (2004) Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpasa J. Med*, 35 (4): 159-169
- Büyükgüzel E and Kalender Y** (2007) Penicillin-induced oxidative stress: Effects on antioxidative response of midgut tissues in larval instars of *G. mellonella*. *J. Econ. Entomol.*, 100: 1533-1541.
- Büyükgüzel E, Tunaz H, Stanley D W and Büyükgüzel K** (2007) Eicosanoids mediate *Galleria mellonella* cellular immune response to viral infection. *J. Insect Physiol.*, 53: 99-105.
- Büyükgüzel K** (2001) Positive effects of some gyrase inhibitors on survival and development of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvae reared on an artificial diet, *J. Econ. Entomol.*, 94: 21-26.
- Büyükgüzel K** (2006) Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp: Effect on adult emergence, longevity, fecundity, oxidative and antioxidative response of the *Pimpla turionellae*. *J. Econ. Entomol.*, 99: 1225-1234.
- Büyükgüzel K, Büyükgüzel E, Çoşkunlu K S, Arı B ve Şahin V** (2010) Ülkemiz bor rezervlerinden üretilen borik asitin zararlı böceklerin kimyasal mücadelesinde ucuz ve çevre dostu inorganik insektisit olarak değerlendirilmesi, Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü, No: 2008-Ç0194, 2008-2010.
- Cemeroğlu B ve Acar J** (1986) Meyve ve sebze işletme teknolojisi, *Gıda teknolojisi Derneği*, Ankara, Yayın No: 6: 508.
- Cervera A, Maymo A C, Sendra M, Martínez-Pardo R and M D Garcera** (2004) Cadmium effectsondevelopment and reproduction of *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae). *J. Insect Physiol.*, 50: 737-749.
- Chae H Z, Kang S W and Rhee S G** (1999) Isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in presence of thioredoxin. *Methods Enzymol.*, 300: 219-226.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Cheeseman K H** (1993) Lipid Peroxidation in Biological System. *In* B. Halliwell and O. K. Aruoma [eds.], Ellis Horwood, *DNA and Free Radicals*, London, United Kindom, 201-211.
- Chesemann K H and Slater T F** (1993) An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.*, 49: 481-493.
- Chronopoulou E G and Labrou N E** (2009) Glutathione transferases: emerging multidisciplinary tools in red and green biotechnology. *Recent Pat. Biotechnol.*, 3: 211-223.
- Cisneros J, Perez J A, Penagos D I, Goulson D, Caballero, Cave D R and Wiliams T** (2002) Formlation of a nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* in maize. *Biological Cont.*, 23: 87-95.
- Cnubben N H P, Rietjens I M C M, Wortelboer H, van Zanden J and Van Bladeren PJ** (2001) The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense, *Environ. Toxicol. and Pharmacol.*, 10: 141-152.
- Cochran D G** (1995) Toxic effects of boric acid on the German cockroach, *Experientia*, 51: 561-563.
- Comporti M** (1993) Lipid peroxidation Biopathological significance Molee. *Aspects Med.*, 14:199-207.
- Cooke M S, Evans M D, Dizdaroglu M, Lunec J** (2003) Oxidative DNA damage: Mechanism, mutation and disease. *FASEB J*, 17(10): 1195-214.
- Cords R and Partridge L** (1996) Courtship reduces longevity of male *Drosophila melanogaster*. *Anim. Behav.*, 52: 269-278.
- 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 Biol. Toxicol.*, (in pres).
- Çakır Ş ve Sarıkaya R** (2004) Bazı Organik Fosforlu İnektisitlerin *Drosophila melanogaster*'in Yaşama Yüzdesi Üzerine Etkisi *GÜ, Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 24 (3): 71-80.
- Çaylak E** (2011) Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar, *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9 (1): 73-83.
- Dayıoğlu K** (2008) Bazı Bitki (*Melia Azederach L., Sytrax Officinalis L., Quercus Ssp.*) Tohumlarından Elde Edilen Ekstraktların Çam Keseböceği, *Thaumetopoea Pityocampa* (Schiff.), Larvalarına Karşı Kullanılması. Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Ünivrsitesi, Orman Mühendisliği Anabilim dalı, Kahramanmaraş, Türkiye.
- Demirsoy A** (2003) Yaşamın Temel Kuralları, Omurgasızlar, Cilt 2 Bölüm 2.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Dieter M P** (1994) Toxicity and carcinogenicity studies of boric acid in male and female B6C3F1 mice. *Environmental Health Perspectives* 102: 93-97
- Doane C C and Wallis R C** (1964) Enhancement of the action of *Bacillus thuringiensis* var. *Thuringiensis* Berliner on *Porthetria dispar* (Linnaeus) in laboratory tests. *J. Insect Pathol.*, 6: 423-429.
- Doane W W** (1967) *Drosophila*: Methods in Developmental Biology, Edited by F H Wilt, N K Vessels 214-219.
- Draper H H** (1990) Nutritional modulation of oxygen radical pathology. In: Advances in Nutritional Research Vol:8 Edited by Draper H H Plenum Press. New York. 119-145.
- Dringen R** (2000) Metabolism and functions of glutathione in brain, *Progress in Neurobiology*, 62: 649-671
- Durmuş Y** (2007) Sodyum tetraboratın büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'nın yaşama, gelişimi ve bazı enzimlerinin aktivitesi üzerine etkisi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Durmuş Y and Büyükgüzel K** (2008) Biological and immune response of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) to sodium tetraborate. *J. Econ. Entomol.*, 101: 777-783.
- Ebeling W** (1995) Inorganic insecticides and dusts. Understanding and controlling the German cockroach. edn. M.K Rust, J.M Owens, D.A Reiersen, New York, Oxford University Press, pp. 193-230.
- Economus A C and Lints F A** (1986) Developmental temperature and life span in *Drosophila melanogaster*. *Gerontology*, 32 (1): 18- 27.
- Ekebas S, Cakir S, Ertugrul O and Kence A** (2000) The detection of mutagenic activity of some chemicals (azamethypos, dichlorvos, methyl parathion, aflatoxin B1) by the SMART test in *Drosophila melanogaster*, *Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 24(6): 563-569.
- Enayati A, Ranso H and Hemingway J** (2005) Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Mol. Biol.*, 14: 3-8.
- Epp O, Ladenstein R and Wendel A** (1983) The refined structure of the selenoenzyme glutathione peroxidase at 0.2-nm resolution. *Eur. J. Biochem.*, 133: 51-69.
- Erel O** (2004) A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry*, 37: 112-119.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Erenal G, Erbaş D, Arıcıoğlu A** (1993) Free Radicals and antioksidant systems. *Materia Medica. Polana. Fasc.*, 1(85):37-43.
- Espinoza-Navarro O, Rodriguez H, Rodriguez M, Silva E and Luque A** (2009) Alteraton of the reproductive patternsin *Drosophila melanogaster* by Effect of high concentrations of Boron on in vitro cultured medium. *International Journal of Morphology*, 27(3): 765-770.
- Felton G W and Summers C B** (1995) Antioxidant systems in insects. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, 9: 187-197.
- Fenske R A, Kedan G, Lu C S, Fisker-Andersen J A and Curl C L** (2002) Assessment of organophosphorous pesticide exposures in the diets of preschool children in Washington State. *J. Expo. Anal. Environ. Epidermiol.*, 12: 21-28.
- Fridovich I** (1999) Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen?, *Ann NY. Acad. Sci.*, 893: 13-18.
- 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. *J. Econ. Entomol.*, 97: 715-720.
- Grant D F and Matsumura F** (1989) Glutathione S-transferase 1 and 2 in susceptible and resistant insecticide resistant *Aedes aegypti*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 33: 132-143.
- Gregory S and Kelly N D** (1997) Boron: A review of its nutritional interactions and therapeutic uses. *Alternative Medicine Review*, 2(1): 48-56.
- Grenier S, Delobel B and Bannot G** (1986) Physiological considerations of importance to the success of *in vitro* culture: an overview. *J. Insect Physiol.*, 32: 403-408.
- Gülbahar Ö** (2007) Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi. *Turk. Jour. Geriat.*, 10 (1): 43-48.
- Güneş E** (2013) Borik asitin *Drosophila melanogaster*'in Bazı Biyolojik Özellikleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi, Bülent Ecevit Üniverxitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- Habes D, Morakchi S, Aribi N, Farine J P and Soltani N** (2006) Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: Alterations in midgut structure, and acetylcholinestrase and glutathione-s-transferase activity. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 84: 17-24.
- Habig W H, Pabst M J and Jakoby W B** (1974) Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, 249: 7130-7139.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Halliwell B** (1994) Free radicals, antioxidant, and human disease: curiosity. Cause or consequence? *Lancet.*, 344: 721-724.
- Halliwell B** (1999) Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic. Res.*, 31: 261-272.
- Halliwell B** (2000) Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies? How far have we come?. *Am. J. Clin. Nutr.*, 72 (5): 1082.
- Hayes J D, Flanagan J U and Jowsey I R** (2005) Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol. Toxicol.*, 45: 51-88.
- Heindel J J, Price C J, Fields E A, Marr M C, Myers C B, Morrissey R E and Scwets B A** (1992) Developmental toxicity of boric acid in mice and rats. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 18(2): 266-277.
- Heindel J, Fail P, George J and Grizzle T** (1997) Reproduction toxicology of boric acid. *Environ. Health Perspect.*, 105: 275-276.
- Heinle H and Betz E** (1994) Effects of dietary garlic supplementantation in rat model of atherosclerosis. *Arznei-for*, 44: 614-617.
- Ho S B** (2000) Boron deficiency of crops in Taiwan, Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, 106:1-15.
- Hyršl P, Büyüküznel E and Büyüküznel K** (2007) The effects of boric acid-induced oxidative stress on antioxidant enzymes and survivorship in *Galleria mellonella*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 66: 23-31.
- Hyršl P, E Büyüküznel and K Büyüküznel** (2008) Boric acid-induced effects on protein profiles of *G. mellonella* hemolymph and fat body. *Acta Biologica Hungarica*, 59: 281-288.
- Jain S K and Levine S N** (1995) Elevated lipid Peroxidation and vitamin E-quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radic. Bio. Med.*, 18: 337-341.
- Jansen J A, Andersen J and Schov J S** (1984) Boric acid single dose pharmacokinetics after intravenous administration to man. *Toxicol.*, 55: 64-67.
- Job C** (1973) Resorption and excretion of orally administered boron. *Z Angew B Klimahelik*, 20:137-142.
- Karataş A ve Bahçeci Z** (2009) Cypermethrinin *Drosophila melonagaster'* de ergin bireylerin morfolojileri ve eşey oranına etkisi. *Dumlupınar Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19: 1-14.
- Kavas G E** (1989) Serbest radikaller ve organizma uzerine etkileri, *Turkiye Klinikleri*, 9 (1): 1-7.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Koç Y ve Gülel A** (2006) Fotoperiyot ve besin çeşidinin *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera. Drosophiladae)'un gelişim süresi, ömür uzunluğu, verim ve eşey oranına etkisi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21: 204-212.
- Krishnan N and Kodrik D** (2006) Antioxidant enzymes in *Spodoptera littoralis* (Boisduval): Are they enhanced to protect gut tissues during oxidative stress? *J. Insect Physiol.*, 52: 11-20.
- Krishnan N, Kodrik D, Kludkiewicz B and Sehnal F** (2009) Glutathione-ascorbic Acid Redox Cycle and Thioredoxin Reductase Activity in the Digestive Tract of *Leptinotarsa decemlineata* (Say), *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 39: 180-188.
- Lanoué L, Taubeneck M W, Muniz J, Hanna L A, Strong P L, Murray F J, Nielsen F H, Hunt C D and Keen C L** (1998) Assessing the effects of low boron diets on embryonic and fetal development in rodents using in vitro and in vivo model systems. *Biol. Trace Elem. Res.*, 66(1-3): 271-98.
- Lesch C, Goto A, Lindgren M, Bidla G, Dushay M S and Theopold U** (2007) A role for Hemoelectin in coagulation and immunity in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Com. Immunol.*, 31: 1255-1263.
- 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 L V** (1971) Influence of preimaginal environment on fecundity and ageing in *Drosophila melanogaster* hybrids. III. Developmental speed and life span. *Exp. Geront.*, 6: 427-445.
- Lowry O H, Rosebrough N L, Farr A L and Randall R J** (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 19: 265.
- Manno M, Bertazzon A, Burlina A and Galzigna L** (1985) Interaction of low doses of ionizing radiation and carbon tetrachloride on liver superoxide dismutase and glutathione peroxidase in mice. *Enzyme*, 34: 107-112.
- Marklund S and Marklund G** (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 47: 469-474.
- Marnett L J** (2000) Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 21(3): 361-370.
- Massie H** (1994) Effect of dietary boron on the aging process. *Environ. Health Perspect.*, 102 (7): 45-48.
- Massie H R, Whitney S J, Aiello V R and Sternick S M** (1990) Changes in boron concentration during development and ageing of *Drosophila* and effects of dietary boron on life span. *Mech. Ageing Dev.*, 53(1):1-7.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Mates J M, Perez-Gomez C and Nunez de Castro I** (1999) Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.*, 32: 595-603.
- Mathewes M C, Summers C B and Felton G W** (1998) Ascorbate peroxidase. A novel antioxidant enzyme in insects, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 34: 57-68.
- Maynard Smith J** (1958). *The Theory of Evolution*. London, Penguin Books. ISBN 0-14-020433-4.
- Missirlis F, Rahlfs S, Dimopoulos N, Bauer H, Becker K, Hilliker A and Phillips J P** (2003) A putative glutathione peroxidase of *Drosophila* encodes thioredoxin peroxidase that provides resistance against oxidative stress but fails to complement a lack of catalase activity. *Biol. Chem.*, 384 (3): 463-472.
- Moseman R F** (1994) Chemical disposition of boron in animals and humans. *Environmental Health Perspectives*. 102:113-117.
- Murray R K, Granner D K, Mayes P A, Rodwell V W** (1996) Harper'ın Biyokimyası 24. baskı, (Çev: Dikmen N., Özgünen T.), Barış Kitabevi, İstanbul.
- Nielsen S A** (2008) Is boron nutritionally relevant. *Nutr. Rev.*, 66: 183-191.
- Nielsen F H** (1994) Biochemical and physiologic consequences of boron deprivation in humans. *Environ. Health. Perspect.*, 102: Suppl 7:59-63.
- Nordberg J and Arner E S J** (2001) Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic. Bio. Med.*, 31 (11): 1287-1312.
- Okudan M ve Seçkin C** (1996) İntihar amacıyla boraks alımına bağlı intoksikasyon sonucu meydana gelen bir ölüm olgusu-olgu bildirisi. 2. Adli Bilimler Kongresi. Bursa.
- Özpeker N** (2001) Bor yataklarının değerlendirilmesi Türkiye Borak yatakları, Workshop, İTÜ Maden fakültesi Edt Kmkoğlu S, Budakoğlu M, Çelenli A s 57-68.
- Paglia D E, Valentine W N** (1987) Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathion peroxidase. *J. Lab. Med.* 70: 158-165.
- Pajot P** (1976) Fluorescence of Proteins in 6-M Guanidine Hydrochloride. *Eur. J. Biochem.*, 63: 263-269.
- Perez-Campo R, Lopez-Torres M, Rojas C, Cadenas S and Barja G** (1993) A comparative study of free radicals in vertebrates- I. Antioxidant enzymes, *Comp Biochem. Physiol*, 105, 749-755.
- Peric-Mataruga V, Blagojevic D, Spasic M B, Ivanovic J and Jankovic-Hladni M** (1997) Effect of the host plant on the antioxidative defence in the midgut of *Lymantria dispar* L. caterpillars of different population origins. *J. Insect Physiol.*, 43: 101-106.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Petlicki J and van de ven T G M** (1998) The equilibrium between the oxidation of hydrogen peroxide by oxygen and the dismutation of peroxy or superoxide radicals in aqueous solutions in contact with oxygen. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, 94, 2763-2767.
- Porter N A, Caldwell S E, Mills K A** (1995) Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, 30 (4): 277-290.
- Roberts D B** (1986) in *Drosophila: a practical approach*, ed. D. B. Roberts, pp. 19. IRL Press, Oxford.
- Rogina B, Reenan R A, Nilsen S P and Helfand S L** (2000) Extended life-span conferred by contranporter gene mutations in *Drosophila*. *Biogeront. Sci.*, 290: 2137-2140.
- Sarıkaya R, Selvi M, Akkaya N, Acar M, Erkoç F** (2010) Farklı Konsantrasyonlardaki Gıda Boyalarının *Drosophila melanogaster* (mwh x flr)'de Yaşama Yüzdesi Üzerine Etkisi, SDÜ Fen Dergisi (E-Dergi) 5 (1): 38-46.
- Saygıdeğer Demir B** (2005) Borun insan ve bitki için önemi ve bazı üzüm çeşitlerinde bor. Çukurova Üniversitesi fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. Adana.
- Schoenbaum G R and Chance B** (1976) In *The Enzymes*, Edited by E. D. Boyer. New York, San Francisco & London: Academic Press. 2nd edn, pp. 363-408.
- Sestini E A, Carlson J C, Allsopp R** (1991) The effects of ambient temperature on life span, lipid peroxidation, superoxide dismutase and phospholipase A2 activity in *Drosophila melanogaster*. *Exp. Geront.*, 26: 385-395.
- Snedecor G S and Cochran W G** (1989) *Statistical methods*, 8th edn., Iowa State University Press, Ames, IA.
- SPSS Inc** (1997) *User's manual*, version 10. SPSS Inc., Chicago, IL.
- Stadtman E R and Levine R L** (2000) Protein oxidation, *Ann N Y, Acad Sc*, 899, 191-208
- Sumasundaram L and Coats R J** (1991) *Pesticide Transformation Products in The Environment*, eds. Sumasundaram L, Coats R J, ACS Symposium Series, Washington D.C.
- Summer J B and Dounce A L** (1937) Crystalline catalase: *J. Biol. Chem.*, 12: 417-424.
- Terpstra M, Henry PG and Gruetter R** (2003) Measurement of reduced glutathione (GSH) in human brain using LC model analysis of difference-edited spectra, *Magn. Reson. Medic.*, 50:19-23.
- Türkiye Tarım Bakanlığı** (2004) Türk gıda katkı Kodeksi, renklendiriciler ve tatlandırıcılar dışındaki gıda katkı maddeleri tebliği, 2. değişiklik 13.01.2005-25699 tebliği no 49.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ulloa-Chacón P and Jaramillo G I** (2003) Effects of boric acid, fipronil, hydramethylnon and diflubenzuron baits on colonies of ghost ants Hymenoptera: Formicidae). *J Econ Entomol.*, 96(3):856-62.
- Ünlü H and Bozcuk A N** (1979) Genetics of longevity in *Drosophila* I: The effects of w, m and f mutant genes in various genotype combinations. *Exp. Geront.*, 14: 117-124.
- Vasseur P and Leguille C** (2004) Defense systems of benthic invertebrates in response to environmental stressors. *Environ Toxicol.*, 19: 433-436.
- Vontas J G, Small G J and Hemingway J** (2001) Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochem. J.*, 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.
- Williams GM, Jeffrey AM** (2000) Oxidative DNA damage: Endogenous and chemically induced. *Regul Toxicol Pharmacol*, 32 (3): 283-92.
- Xue R D, Kline D L, Ali A and Branard D R** (2006) Application of boric acid baits to plant foliage for adult mosquito control. *Jour. Amer. Mosq. Cont. Assoc.*, 22: 497-500.
- Xue R D and Barnard D R.** (2003) Boric acid bait kills adult mosquitoes (Diptera: Culicidae), *J. Econ. Entomol.*, 96: 1559-1562.
- Yalcın A S** (1992) Serbest radikaller ve patolojik etkileri, *Sendrom, Ekim*, 40-43.
- Yang L K, Nigg H N, Fraser S, Burns E, Simpson S E** (2000) Midgut proteinase types and sodium tetraborate effects on midgut proteinase activities of female *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 93 (3): 602-609.
- Yu S J** (1999) Induction of new glutathione S-transferase isozymes by allelochemicals in the Fall Armyworm. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 63: 163-171.
- Yu S J** (2008) The toxicology and biochemistry of insecticides, CRC Pres. Taylor-Francis Group, 250 pp.
- Zhou J J and Le Patourel G N J** (1990) Hatching of oothecae from female *Blattella germanica* exposed to hydramethylnon and boric acid baits, *Entomol. Exp. Appl.*, Vol. 54, pp. 131-140.
- 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. *J. Econ. Entomol.*, 96: 1362-1366.

ÖZGEÇMİŞ

Meltem ERDEM 1986'da Zonguldak'da doğdu, İlk ve orta öğrenimini aynı ilde tamamladı. Zonguldak Atatürk Anadolu Lisesi'nden mezun olduktan sonra 2009 yılında Samsun Ondokuzmayıs Üniversitesi (OMÜ) Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 2011 yılında ZKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Programını tamamladı ve aynı yıl girdiği Bülent Ecevit Üniversitesi (BEÜ) Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Doktora programını sürdürmektedir. Bülent Ecevit Üniversitesi Ahmet Erdoğan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümünde Öğretim Görevlisi olarak (2012-) görev yapmaktadır.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres : Bahçelievler Mah. Hacı memiş Sok.

Ihlamur Apt. No: 4 Merkez / ZONGULDAK

Tel : 0 (539) 284 15 94

E-posta : meltemerdem1927@hotmail.com