

**BORİK ASİTİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'İN BAZI BİYOLOJİK
ÖZELLİKLERİ VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Eda GÜNEŞ

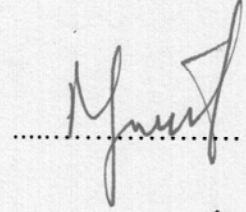
**Bülent Ecevit Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalında
Doktora Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

**ZONGULDAK
Şubat 2013**


KABUL:

Eda GÜNEŞ tarafından hazırlanan “BORİK ASİTİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*’İN BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 27/02/2013

Başkan: Prof. Dr. Nursel GÜL (AÜ)



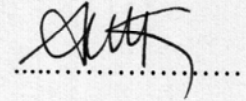
Üye : Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL (BEÜ)



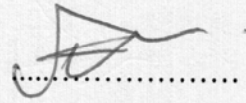
Üye : Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL (BEÜ)



Üye : Doç. Dr. Ayşe KAPLAN (BEÜ)

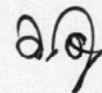


Üye : Yrd. Doç. Dr. Tolga ACUN (BEÜ)



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım./...../2013



Prof. Dr. Özden ÖZEL GÜVEN
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."


Eda GÜNEŞ

ÖZET

Doktora Tezi

BORİK ASİTİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'İN BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Eda GÜNEŞ

Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL

Şubat 2013, 143 sayfa

Tarımsal zararlılar ile mücadelede sentetik organik insektisitler yoğun olarak kullanılmaktadır. Borik asit (BA) organik kimyasal insektisitlere göre hedef olmayan organizmalara karşı daha düşük toksisiteye sahip olması nedeniyle önem taşımaktadır. Bu amaçla, çalışmamızda *Drosophila melanogaster* (Meigen)'in yumurtadan yeni çıkmış larvaları farklı konsantrasyonlarda (10, 100, 200 ve 300 mg/L) BA içeren yarı sentetik besinle ergin evreye kadar yetiştirilmiştir. Denenen BA konsantrasyonlarıyla yetiştirilen böceğin yaşama oranı, gelişme süresi, eşey oranı, ergin ömür uzunluğu, yumurta verimi ve yumurta açılma oranına etkisi belirlenmiştir. Ayrıca *D. melanogaster*'in 3. larva evresi, pup ve ergin evrelerinde ve dişilerin yumurtalarında oksidatif stresin önemli indikatörleri olan lipid peroksidasyonu ürünü malondialdehid (MDA) ve protein oksidasyonu ürünü protein karbonil miktarları (PCO) ile detoksifikasyon enzimi, glutatyon S-transferaz (GST) aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir.

ÖZET (devam ediyor)

Bu çalışma larval besin ile alınan BA'in yüksek besinsel konsantrasyonlarının *D. melanogaster*'in ergin öncesi evrelerdeki yaşama, gelişme ile ergin özelliklerini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. BA'in düşük miktarlarının *D. melanogaster*'in ergin özelliklerinin iyileştirilmesi için ergin besinine katkı maddesi olarak ilave edilebileceği belirtilmektedir. BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile yetiştirilen *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarının MDA miktarı önemli derecede artmıştır. BA ile yetiştirilen erginlerin 10 gün süreyle 300 mg/L BA içeren besin ile beslenilmesi sonucunda dişi ve erkek bireylerde MDA ve PCO miktarları kontrol besinine göre önemli derecede artmıştır. Bu dişilerin yumurtalarındaki MDA, PCO miktarları ve GST aktivitesi önemli derecede artarken, PCO miktarındaki artış yaklaşık 31 katı oranında olmuştur. Sonuçlarımız, BA'in yüksek konsantrasyonlarının *D. melanogaster*'in tüm gelişme evrelerindeki oksidatif stres indikatörleri ve detoksifikasyon enzimi üzerine oldukça etkili olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Drosophila melanogaster*, Oksidatif stres, Borik asit, yaşama, yumurta verimi, Glutasyon S-Transferaz, Protein karbonil, Malondialdehid

Bilim Kodu: 401.02.01

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

THE EFFECTS OF BORIC ACID ON SOME BIOLOGICAL TRAITS AND ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITIES OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Eda GÜNEŞ

**Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

**Thesis Advisor: Assoc. Prof. Ender BÜYÜKGÜZEL
February 2013, 143 pages**

Synthetic organic insecticides are widely used to combat agricultural pests. Boric acid (BA) is a great importance in pest management because it has less toxic effect on non-target organisms according to other organic chemical insecticides. For this purpose, in our study, *Drosophila melanogaster* (Meigen) was reared from first-instar larvae on artificial diets containing BA at 10, 100, 200 or 300 mg/L to adult stage. The effect of BA on survivorship, development, sex ratio, adult longevity, fecundity, hatchability of *D. melanogaster* were investigated. The effect of BA on important oxidative stress indicators; lipid peroxidation product, malondialdehyde (MDA) and protein oxidation products, protein carbonyl (PCO) contents and detoxification enzyme, glutathion-S-transferase (GST) activity in the 3rd larval instars, pupae, adults and eggs of the fruit fly *D. melanogaster* were also investigated.

ABSTRACT (continued)

The findings of this study showed that high nutritional concentrations of BA negatively affected on survival, development and adult properties of *D. melanogaster* in pre-mature stages. Sublethal concentrations of BA are promising to use adult dietary additive compound to ameliorate biological trait of *D. melanogaster* adult. All tested concentrations of BA significantly increased MDA content in the third larval stage. First instar larvae were reared to adult on artificial diet containing high BA concentration and were then fed with high concentration (300 mg/L) during 10 day. MDA and PCO contents of male and female adults were significantly increased relative to control. The highest concentration of BA significantly increased MDA and PCO content in females eggs and also increased GST activity. We were determined PCO content of eggs significantly increased by 31-fold relative to control. Our results indicate that high concentrations of BA are very effective on oxidative stress indicators and detoxification enzyme in all developmental stage of *D. melanogaster*.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, Oxidative stress, Boric acid, survivorship, fecundity, Glutathion-S-Transferase, Protein Carbonyl, Malondialdehyde

Science Code: 401.02.01

TEŞEKKÜR

Bu konuda bana çalışma fırsatı veren, araştırma sırasında ilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Ender BÜYÜKGÜZEL'e, çalışmamın her aşamasında değerli öneri ve bilgilerinden yararlandığım Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e, teşekkürlerimi bir borç bilirim. Borik asiti bu çalışma için hediye eden Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü'ne, çalışmam sırasında verdiği moral desteği ve izinler için Sayın Doç. Dr. F. Ebru OFLUOĞLU DEMİR'e, çalışmamın deneysel ve yazma aşamasında moral desteği ve yardımlarını esirgemeyen Anneme, Babama, Eşime, Oğluma ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (PROJE NO: 2011-10-06-10).

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| KABUL | ii |
| ÖZET | iii |
| ABSTRACT | v |
| TEŞEKKÜR | vii |
| İÇİNDEKİLER | ix |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xiii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xv |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | xvii |
| | |
| BÖLÜM 1 GİRİŞ | 1 |
| | |
| BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER | 11 |
| | |
| 2.1 BOR VE TÜREVLERİNİN ÖNEMİ | 11 |
| 2.2 YAŞLANMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR ÖZETİ | 19 |
| 2.2.1 Yaşlanmanın Mitokondriyal Temeli | 29 |
| 2.2.2 Yaşlanmanın Mekanizması | 31 |
| 2.2.3 Antioksidan Enzimler Hakkında Bilgiler | 45 |
| 2.3 <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> | 48 |
| 2.3.1 <i>D. melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü | 51 |
| | |
| BÖLÜM 3 MATERYAL VE METOT | 59 |
| | |
| 3.1 <i>D. MELANOGASTER</i> KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI | 59 |
| 3.2 BORİK ASİTİN DENEYLERDE KULLANILMASI | 61 |
| 3.3 KULLANILAN KİMYASALLAR | 61 |

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

| | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| 3.4 YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANI İLE İLGİLİ BESLENME DENEYLERİ | 62 |
| 3.5 DİŞİLERİN YUMURTA VERİMİ, AÇILMA ORANI VE ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ DENEYLER | 62 |
| 3.6 ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI VE BİYOKİMYASAL ANALİZLER | 62 |
| 3.6.1 Malondialdehit (MDA) Miktarının Tayini | 65 |
| 3.6.2 Protein Karbonil (PCO) Miktarı Tayini..... | 65 |
| 3.6.3 Glutatyon-S-transferaz (GST) Enzimi | 66 |
| 3.6.4 Total Protein Tayini | 67 |
| 3.7 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ..... | 67 |
| | |
| BÖLÜM 4 ARAŞTIRMA BULGULARI..... | 69 |
| | |
| 4.1 BORİK ASİTİN <i>D. MELANOGASTER</i> LARVALARININ YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANINA ETKİSİ | 69 |
| 4.2 BORİK ASİTİN <i>D. MELANOGASTER</i> 'İN ÖMÜR UZUNLUĞU, YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANINA ETKİSİ | 72 |
| 4.3 BORİK ASİTİN <i>D. MELANOGASTER</i> 'İN MDA, PCO MİKTARLARI VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ | 76 |
| 4.3.1 Borik asitin farklı konsantrasyonları ile yetiştirilen <i>D. melanogaster</i> 'in farklı gelişim evrelerinde MDA, PCO miktarları ve GST aktivitesi | 76 |
| 4.3.2 Borik asitle yetiştirilen erginlerin borik asit içeren besin ile ve borik asit içermeyen yapay besin ile yetiştirilmesine bağlı olarak MDA, PCO miktarları ve GST aktivitesindeki değişimler..... | 83 |
| 4.3.3 Borik asitle yetiştirilen erginlerin borik asit içeren besin ile ve borik asit içermeyen yapay besin ile yetiştirilmesine bağlı olarak yumurtalarında MDA, PCO miktarları ve GST aktivitesindeki değişimler..... | 88 |
| | |
| BÖLÜM 5 TARTIŞMA | 93 |

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

| | <u>Sayfa</u> |
|--------------------|--------------|
| BÖLÜM 6 SONUÇ..... | 107 |
| KAYNAKLAR | 109 |
| ÖZGEÇMİŞ | 143 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>No</u> | | <u>Sayfa</u> |
|-----------|---|--------------|
| 1.1 | Kimyasalların Ekosistedeki Döngüsü | 4 |
| 2.1 | Borik Asitin Kimyasal Yapısı | 11 |
| 2.2 | Oksidatif Stres ve Lipofuksin Oluşumu | 32 |
| 2.3 | Endojen Serbest Radikal Kaynakları..... | 39 |
| 2.4 | Eksojen Serbest Radikal Kaynakları | 39 |
| 2.5 | Merkaptürik asit süreci..... | 47 |
| 2.6 | <i>D. melanogaster</i> erkek ve dişi bireyleri | 49 |
| 2.7 | <i>D. melanogaster</i> 'in gelişim evreleri..... | 51 |
| 2.8 | <i>D. melanogaster</i> 'in larvada imajinal disk yerleşimi ve erginde oluşturduğu yapılar | 52 |
| 2.9 | <i>D. melanogaster</i> 'in a.-b. Pup evresi c. Pup gelişim safhaları | 53 |
| 3.1 | <i>D. melanogaster</i> 'in kültür besini..... | 60 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| <u>No</u> | | <u>Sayfa</u> |
|-----------|---|--------------|
| 2.1 | Oksijen ve nitrik oksitten oluşan başlıca reaktif türler..... | 37 |
| 4.1.1 | Borik asitin <i>D. melanogaster</i> larvalarının yaşama, gelişimi ve eşey oranına etkisi | 70 |
| 4.1.2 | Borik asitin farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile yetiştirilen <i>D. melanogaster</i> 'in farklı gelişim evreleri | 71 |
| 4.2.1 | Borik asitin <i>D. melanogaster</i> larvalarının ergin ömür uzunluğuna etkisi | 73 |
| 4.2.2 | Borik asitin <i>D. melanogaster</i> larvalarının ergin ömür uzunluğuna etkisi | 75 |
| 4.3.1 | Borik asitin farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile yetiştirilen <i>D. melanogaster</i> 'in farklı gelişim evrelerinde MDA miktarı | 78 |
| 4.3.2 | Borik asitin farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile yetiştirilen <i>D. melanogaster</i> 'in farklı gelişim evrelerinde PCO miktarı | 80 |
| 4.3.3 | Borik asitin farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile yetiştirilen <i>D. melanogaster</i> 'in farklı gelişim evrelerinde GST aktivitesi | 82 |
| 4.3.4 | Borik asitle yetiştirilen larvalardan elde edilen ve borik asitle 10 gün süre ile beslenen dişi ve erkek erginlerde MDA ve PCO miktarı ile GST aktivitesi..... | 85 |
| 4.3.5 | Borik asitle yetiştirilen larvalardan elde edilen ve borik asit içermeyen besinle 10 gün süre ile beslenen dişi ve erkek erginlerde MDA ve PCO miktarı ile GST aktivitesi..... | 87 |
| 4.3.6 | Borik asitle yetiştirilen larvalardan elde edilen ve 10 gün süre ile borik asitle beslenen ergin dişilerin yumurtalarında MDA ve PCO miktarı ile GST aktivitesi | 90 |
| 4.3.7 | Borik asitle yetiştirilen larvalardan elde edilen ve 10 gün süre ile borik asit içermeyen besinle beslenen ergin dişilerin yumurtalarında MDA ve PCO miktarı ile GST aktivitesi | 92 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | | |
|--------------------|---|---|
| °C | : | Santigrad derece |
| cm | : | Santimetre |
| dk | : | Dakika |
| g | : | Gram |
| kg | : | Kilogram |
| kJ | : | Kilo Jul |
| L | : | Litre |
| M | : | Molarite |
| mg | : | Miligram |
| ml | : | Mililitre |
| mm | : | Milimetre |
| mM | : | Milimolar |
| ng | : | Nanogram |
| nm | : | Nanometre |
| nmol | : | Nanomol |
| OBs | : | Milimetre kare alana düşen virüs miktarı (Occlusion bodies) |
| pH | : | Hidrojenin gücü (Power of Hydrogen) |
| pmol | : | Pikomol |
| ppm | : | Parts per million |
| sn | : | Saniye |
| µl | : | Mikrolitre |
| µmol/mg protein/dk | : | Mikromol/miligram protein/dakika |
| W | : | Watt |

KISALTMALAR

| | | |
|-----------------------------|---|----------------------------------|
| ¹ O ₂ | : | Tekli (Singlet) oksijen radikali |
| 4-NP | : | 4-nonilfenol |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

| | | |
|-------------------------------|---|--|
| 4-tert-OP | : | 4-tert-oktilfenol |
| AcH | : | Asealdehit |
| AMP | : | Adenin monofosfat |
| ANOVA | : | Varyans analizi |
| APOX | : | Askorbat peroksidaz |
| ASA | : | Asetil salisilik asit |
| B | : | Bor |
| B ₂ O ₂ | : | Bor oksit |
| BA | : | Borik asit |
| BHT | : | Butillenmiş hidroksi toluen |
| BNCT | : | Borla nötron yakalama terapisi |
| BPA | : | Bisfenol A |
| BSA | : | Sığır (Bovin) serum albumin |
| CAT | : | Katalaz |
| CCl ₄ | : | Karbon tetraklorür |
| CcP | : | Sitokrom C peroksidaz |
| CcS1 | : | Bakırlı şaperon |
| CDNB | : | 1-chloro-2,4-dinitrobenzen |
| Cu | : | Bakır |
| Daf-c | : | Dayanıklı larva |
| Daf-2 | : | Uzun ömür geni |
| DDT | : | Klorlandırılmış hidrokarbon insektisit |
| DNA | : | Deoksiribo nükleik asit |
| DNCT | : | Bor nötron yakalama terapisi |
| DNPH | : | Dinitrofenilhidrazin |
| DTT | : | Ditiyotreitol |
| EDTA | : | Etilendiamintetraasetik asit |
| Fe | : | Demir |
| Glo4 | : | Glioksilaz |
| GPx | : | Glutasyon peroksidaz |
| GR | : | Glutasyon redüktaz |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

| | | |
|---------------------------------|---|--|
| Grx | : | Glutaredoksin |
| GS \cdot | : | Tiyil radikali |
| GSH | : | İndirgenmiş glutatyon |
| GSSG | : | Glutatyonun oksitlenmiş formu |
| GST | : | Glutatyon-S-transferaz |
| GSTpx | : | GST enziminin GPx benzeri aktivitesi |
| Hsp | : | Sıcaklık şoku proteinleri |
| H ₂ O ₂ | : | Hidrojen peroksit |
| H ₃ BO ₃ | : | Borik asit |
| IGF | : | İnsülin benzeri büyüme faktörü |
| INDY | : | I am not dead yet, ben henüz ölmedim geni |
| IPM | : | Entegre zararlı mücadelesi (Integrated Pest Mangement) |
| JH | : | Jüvenil hormon |
| K | : | Potasyum |
| KCl | : | Potasyum klorür |
| K ₂ HPO ₄ | : | Dipotasyum hidrojen fosfat |
| L \cdot | : | Lipit radikali |
| LOAEL | : | Toksik etki gözlenen en düşük doz |
| LOO \cdot | : | Lipid peroksil radikali |
| LOOH | : | Lipid hidroperoksidi |
| LPO | : | Lipid peroksidasyonu |
| LSD | : | Ortalamaların karşılaştırılmasında en küçük önemli fark (Least Significant Difference) |
| MDA | : | Malondialdehit |
| MGST | : | Mikrozomal GST |
| mtDNA | : | Mitokondrial DNA |
| mTOR | : | Memelilerde rapamisin hedef proteini |
| MRP | : | Çoklu-ilaç direnç proteini |
| Msr | : | Metionin sülfoksit redüktaz |
| Na | : | Sodyum |
| NaCl | : | Sodium klorür |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

| | | |
|-----------------------------------|---|---|
| NAD | : | Nikotinamid adenin dinükleotid |
| NaDC1 ve NaDC ₃ | : | Dikarboksilaz kotransporterlar |
| NADPH | : | β-nikotinamid adenin dinükleotit fosfat |
| Na ₂ HPO ₄ | : | Sodyum fosfat di bazik |
| NO | : | Nitrik oksit |
| NOAEL | : | Yan etki gözlenen en yüksek doz |
| NPV | : | Nükleopolihedrovirüs |
| NTP | : | Uluslararası Toksikoloji Programı (National Toxicology Program) |
| OH | : | Hidroksil radikali |
| O ₂ ⁻ | : | Süperoksit anyonu |
| PARS | : | Poli-ADP |
| PCO | : | Protein karbonil |
| PG E ₂ -I ₂ | : | Prostaglandin E ₂ -I ₂ |
| PGC-1 | : | Transkripsiyon ko aktivatörü |
| PMSF | : | Fenilmetilsülfonil florür |
| Prx1 | : | Peroksiredoksin |
| PO | : | Protein oksidasyonu |
| POX | : | Peroksidaz |
| PTU | : | Feniltiyöre |
| RAT | : | Reaktif azot türleri |
| RNA | : | Ribonükleik asit |
| ROT | : | Reaktif oksijen türevi |
| sfMNPV | : | Nükleopolihedrovirüs |
| SIRT3 | : | Yaşlanma karşıtı genler |
| SO ₂ | : | Kükürt dioksit |
| SOD | : | Süperoksit dismutaz |
| SOD1 | : | Mn-SOD |
| SOD2 | : | Cu-Zn SOD |
| SPSS | : | Statistical Package for the Social Sciences |
| TBA | : | Tiyobarbitürik asit |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)

| | | |
|----------|---|-----------------------------|
| TBARS | : | Plazma lipid protein düzey |
| TCA | : | Triklorasetik asit |
| TRXP | : | Tiyoredoksin peroksidaz |
| Trx3 | : | Tiyoredoksin |
| Trr2 | : | Tiyoredoksin redüktaz |
| TOR | : | Rapamisin hedef proteini |
| USEPA | : | Amerika Çevre Koruma Ajansı |
| WHO | : | Dünya Sağlık Örgütü |
| χ^2 | : | Kikare (Chi square) |

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Daha çok doğrudan hedef ve hedef olmayan canlıların sinir sistemini etkileyen organik kimyasal insektisitler, zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılmaktadır. Zararlı böceklerin kimyasal mücadelesinde organofosfat bileşikler, Fenitrotiyon, Endosülfan, Malatyon gibi kimyasal insektisitlerin yanında sentetik analoglar, örneğin jüvenil hormon (JH) analogu, priproksifen, sentetik pretroidler, D-fenotrin, Sipermetrin ve karbamat grubu kimyasalların kullanımı da artmaktadır. Bu artış çevreye ve doğal olarak insan dahil hedef olmayan diğer canlılar açısından önemli bir tehdit unsurudur ve canlılar üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır (Bhavan-Saravana and Geraldine 2001, Fenske et al. 2002, He et al. 2002). Yapılan son çalışmalarla alternatif kimyasal mücadele yöntemleri geliştirilmeye çalışılarak; çevreye, hedef olmayan yararlı böcekler, insan ve diğer canlılara karşı daha düşük toksisiteye sahip olan ve canlı üzerinde doğrudan etkisi bulunmayan bor (B) gibi bileşiklerini kullanılması üzerine yoğunlaşmıştır.

Temel mikrobesein kaynaklarından biri olan B, bitkiler (Warington 1923) ve hayvanlar (Ford et al. 1998, Rowe et al. 1998, Park et al. 2004) için yararlı bir elementtir. Ayrıca B hücreler arası bağlantı bölgelerini tahrip eder (Klotz et al. 2000), borat iyonları ise birçok işlevsel organik grup ve şeker alkollerini ile güçlü kompleksler oluştururlar (Williams and Atalla 1981, Hu et al. 1997). Kapalı alanlarda insan ve hayvan sağlığını doğrudan ya da dolaylı olarak tehdit eden hamam böceği gibi böceklerin mücadelesinde B elementinin bir türevi olan borik asit (BA, H_3BO_3) uzun zamandan beri kullanılmaktadır (Lang and Treece 1972, Ebeling 1995). Mide zehri gibi etki gösteren BA, böceğin ön bağırsağına (foregut) ve orta bağırsağına (midgut) zarar vererek besin alınmasını ve alınan besinin sindirilmesini önleyerek böceğin ölmesine sebep olmaktadır (Cochran 1995). Bundan dolayı BA son zamanlarda inorganik insektisit olarak kullanılmaktadır. BA'nın böcek metabolizması üzerindeki etkisi,

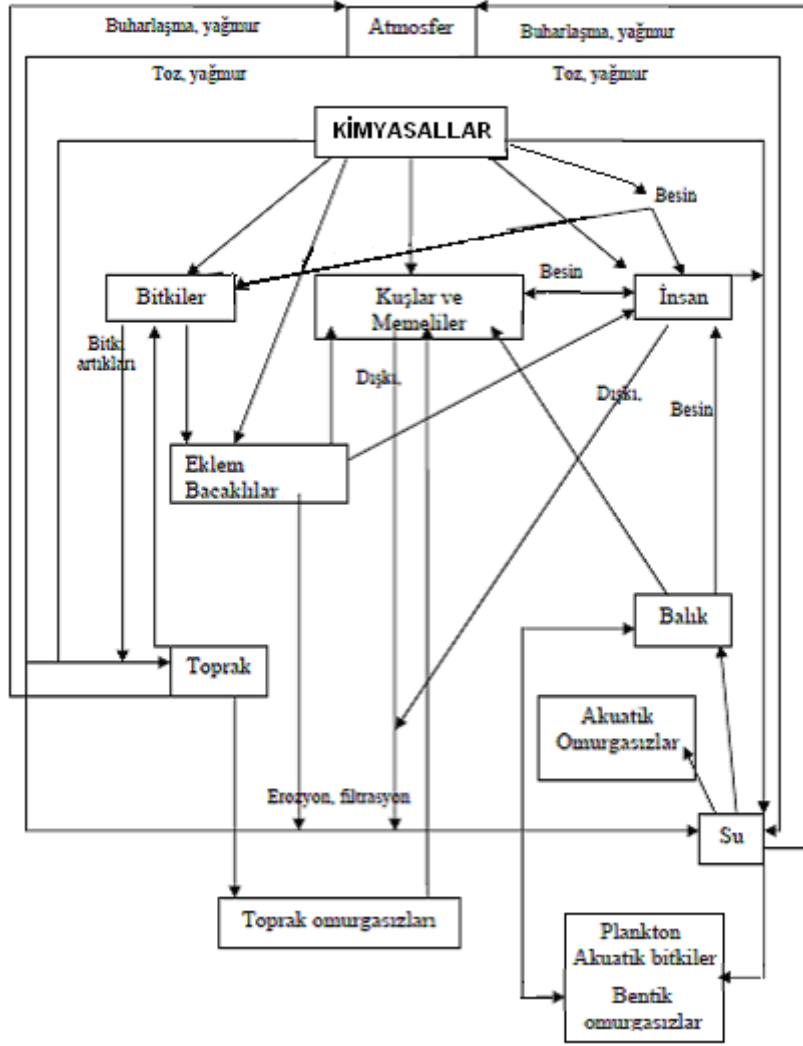
böceğin sindirim işlemini bozarak yaşama ve gelişim için gerekli olan besinsel ihtiyacı karşılayamamasına sebep olamakta ve böceğin ölmesini sağladığı bilinmektedir. Aynı zamanda kısırlaştırıcı etkisiyle böceğin çoğalmasını önlemesinden dolayı BA zararlılarla mücadelede kullanılmaktadır (Borkovec et al. 1969, Settepani et al. 1969, Zhou and le Patourel 1990). Bunun yanısıra BA besinle karıştırıldığında böceklerin besin almasını uyarmakta ve tüketilen BA miktarı artmaktadır.

Düşük miktardaki BA bal arıları, kuş, balık, sucul omurgasızlar, biyolojik kontrol ajanı yararlı böcekler ve memelilerde toksik etkisi çok azdır (Weir and Fisher 1972). Fosfor ve kalsiyum gibi besinsel elementler böceklerin larval evresi için gereklidir. BA ise fosfor, kalsiyum, magnezyum ve bakır gibi elementlerin metabolizmasını etkiler. Besindeki B türevleri hızlı ve tam olarak absorbe edilir ve B alınır alınmaz yada absorpsiyondan sonra BA'e dönüştürülür. Yüksek BA konsantrasyonları karbohidratlar (monosakkarit ve polisakkaritler), nükleotidler (adenozin monofosfat, NAD) ve vitaminler (askorbik asit, pridoksin ve riboflavin) ile kompleks oluşturarak bu besinsel moleküllerin yetersiz alınmasını sağlar (Xue and Barnard 2003).

Amerika'da zararlı böceklerle mücadelede insektisit ve böcek uzaklaştırıcı, tropikal meyvelerde fungusit şeklinde uzun zamandır tescilli olarak BA kullanılmaktadır. Amerika ve Avrupa ülkelerinde BA ve farklı türevleri olan insektisitler [Perma-Dust PT240 (BA), Dragon (% 99 ortofosforik asit ve % 1 etkisiz bileşen), Bora-care ve Timbor veya Bora care (Sodyum borat, disodyum oktaborat tetrahidrat) gibi] emülsifiye edilebilir, sulandırılabilir ve çözünebilir toz ya da mikrokapsül şeklinde ticari olarak satılmaktadır. Ağaçları enfekte eden kın kanatlı böceklerin kontrolünde, ağaçlara termitler tarafından verilebilecek zarar önlemek için bu insektisitler yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda meyve sineği *Anastrepha suspensa* (Loew 1862) gibi ekonomik kayba yol açan tarımsal zararlıların kontrolünde sodyum tetraborat gibi çevre ve hedef olmayan canlılara karşı toksisitesi az olan insektisitler püskürtme (sprey) şeklinde kullanılmaktadır. Diğer taraftan hayvanlara doğrudan zarar veren ya da yemleri aracılığıyla çeşitli hastalıkların bulaşmasına sebep olan vektör böceklerle mücadelede yeni yöntemler uygulanmaktadır (Zurek et al. 2003). Zararlı böceklerin mücadelesinde çevre ve hedef olmayan diğer canlılara karşı düşük toksisiteye sahip uçucu olmayan inorganik insektisitler (BA ve türevleri, sodyum tetraborat, disodyum oktaborat tetrahidrat) şeker çözeltileri ile karıştırılarak da kullanılmaktadır. Örneğin *A. suspensa*'da farklı konsantrasyonlarda sodyum tetraborat (% 0,1-% 0,5) çözeltisi kullanılmış, düşük

konsantrasyonlar ölüm oranını arttırarak üremeyi yavaşlatmış, yüksek konsantrasyonlar ise yumurta üretimini ve açılma oranını azaltmıştır (Yang et al. 2000 b). Bir sivrisinek türü olan *Aedes albopictus* (Skuse 1894) ile yapılan bir çalışmada da BA'in % 1'lik çözeltisinin % 10'luk sükröz çözeltisi ile karıştırıldığında sivrisinek popülasyonunu % 98 oranında azalttığı ortaya çıkartılmıştır (Xue and Barnard 2003). İnorganik insektisit BA'in ticari formülasyonları Türkiye'de de zararlılarla mücadelede geleneksel ve profesyonel olarak kullanılmaktadır. Amerikan askeri tesislerinde BA'in klorpirifos (Dursban ®)'dan daha etkili olduğu bulunmuştur. Hamam böceği ve karınca gibi kapalı alan zararlılarının kontrolünde ve sivrisinek gibi halk sağlığını tehdit eden; bazı virüs, bakteri ve diğer hastalık ajanlarının taşıyıcısı birçok böcek için BA formülasyonları kullanılmaktadır (Hayes and Laws 1991, Klotz et al. 1997 a, b, Xue and Barnard 2003). Hamam böcekleri ile mücadelede BA uygulaması ile birlikte entegre zararlı mücadelesinin (Integrated Pest Management, IPM) kullanılması sonucu Amerika'da okul kafeteryalarındaki böcek miktarını azalttığı tespit edilmiştir. İki yıl boyunca bir defa BA uygulaması bu oranın muhafaza etmesini sağlarken, Dursban ®'dan iki defa uygulamayapılması gerektirdiğinden insektisit mücadelesinde BA'in ekonomik olduğunu da göstermektedir (Daar 1988). BA'in tek başına ya da karışım halinde kullanılması eskilere dayanmaktadır. 1940'lardan beri BA'in besinlerle karıştırılarak karasinek ve hamam böceği gibi zararlı böceklerin mücadelesinde etkili olduğu bilinmektedir (Midgley and Dunklee 1943, Bare 1945). BA formülasyonları sivri sinek gibi halk sağlığını tehdit eden böcekler, bazı virüsler, bakteri ve bazı hastalık ajanlarının taşıyıcısı birçok böcek ile hamam böceği ve karınca gibi kapalı alan zararlılarının kontrolünde kullanılmaktadır (Hayes and Laws 1991, Klotz et al. 1997 a, b, Xue and Barnard 2003).

Yeni kimyasal mücadele çalışmalarında ürün verimini arttırmak amacıyla ekonomik açıdan önemli kayıplara sebep olan tarım zararlısı böceklerin sebep oldukları kayıpları önlemek için insektisit kullanımı artmıştır. Organik insektisit olarak kullanılan bu maddelerin artışı biyolojik mücadelede yararlı böceklerin yani parasitoidlerin kullanımını olumsuz etkilemekle birlikte, böcekler dışındaki hedef olmayan diğer canlılara ve çevreye karşı da tehdit oluşturmaktadır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Kimyasalların Ekosistemdeki Döngüsü.

Önemli miktarda kalıntı oluşturan insektisitlerin meyve ve sebzelerde kullanımı, besin zincirindeki tüm organizmalar etkilenmektedir. Böceklerle mücadelede daha dar bir gruba etkili ve toksik özelliği az olan maddeler ile birlikte yeni yöntemlerin kullanılması, besin zincirindeki büyük bir canlı grubunun etkilenmemesi açısından önemlidir. Eğer kullanılan kimyasalların etkisi hakkında bilgi sahibi olunursa hedef olmayan diğer yararlı böcekler ve özellikle biyolojik kontrol ajanları, çevre ve insan üzerindeki olumsuz etki en aza indirilebilir.

Reaktif oksijen radikalleri, paylaşılmamış elektronlara sahip olan reaktif atom ve moleküllerdir. Canlılarda bu reaktif moleküller ya normal metabolik olayları sırasında ara ürün olarak, ya da çeşitli kimyasal maddeler veya çevre kirliliğine neden olan maddelerin

etkileri altında kalmaları sonucu oluşabilmektedirler. Böylece meydana gelen radikaller hücre zarının doymamış yağ asitleri ve protein bileşimi gibi yapılarına zarar vererek canlıda metabolik olayların bozulmasına neden olurlar (Halliwell 1994, Heinle and Betz 1994). Örneğin serbest radikaller zar ile etkileşerek hormonlar, enzimler ve nörotransmitter maddeler gibi birçok yapıyı olumsuz şekilde etkileyerek oksidatif hasar oluşturmaktadır. Böceklerin sindirim işlemi sırasında sindirim kanalında oksidatif hasardan kaynaklanan oksidatif stresin önemli nedeni süperoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) radikalleri meydana gelmektedir (Peric-Mataruga et al. 1997, Krishnan and Kodrik 2006). Bunun yanı sıra böceklerin metabolizmaları sırasında reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna sebep olan toksik ya da zararlı kimyasal maddeleri oksitleyebilme yetenekleri sayesinde kimyasal açıdan uygun olmayan ortamlarda yaşamlarını sürdürebilmeleri mümkündür (Felton and Summers 1995, Hyršl et al. 2007). Böcek dokularında ROT'lar lipid peroksidasyonu (LPO), protein ve enzim oksidasyonuna ve hücrel glutatyon miktarının azalmasına sebep olarak oksidatif hasar meydana getirirler (Ahmad 1995). Oksidatif hasar gören lipid, protein gibi hücrel biyomoleküller oksidatif stresin önemli bir göstergesidir. Hücre zarı ve diğer hücrel lipid molekülleri oksidatif hasar görek LPO olarak bilinen reaksiyonlar ile son ürün olarak önemli bir aldehid türevi olan malondialdehit (MDA) ve diğer aldehitlere parçalanır (Cheesman 1993). LPO seviyesi, MDA miktarının yükselmesi ile gösterilmektedir (Manno et al. 1985). Proteinlerin amino grubu, fosfolipidler ve nükleik asitler ile reaksiyona giren MDA, bu moleküllerin yapısının bozulmasına dolayısıyla oksidatif hasara sebep olur (Krishnan et al. 2009).

Canlıların tümünde endojen veya eksojen kaynaklı reaktif kimyasalların ortadan kaldırılmasından veya etkisiz hale getirilmesinden sorumlu olan antioksidan savunma sistemi bulunmaktadır. Canlı türler biyolojik değişikliklere neden olan çevresel stres faktörlerinin zararlı etkilerinden detoksifikasyon kapasitelerine bağlı olarak kurtulmaktadırlar (Vasseur and Leguille 2004). Çeşitli prooksidanların oksidatif etkilerine karşı savunma amaçlı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlarla ilgili omurgalı ve omurgasız canlılarla yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. İnsan eritrositlerinde 2,4 diklorafenoksiasetik asit ve 2,4-diklorofenolün yüksek dozları glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesini yükseltirken, Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin ve redükte glutatyon (GSH) seviyesinin düşmesine neden olmuştur (Bukowska 2003). İnci çiklit balığı *Geophagus brasiliensis* (Quoy and Gaimard 1824) ile yapılan çalışmalarda mevsimsel değişim ve kirlenmenin antioksidan savunma sistemini önemli derecede etkilediği tespit edilmiştir (Wilhelm Filho et al. 2001).

Çevresel faktörler ratların antioksidan sistemi üzerinde etki etmektedir (Asha et al. 2005). Başka bir çalışmada kadmiyum ve naftalinin omurgalılarda hidroksil radikallerinin oluşmasını sağlamış ve oluşan oksidatif hasar incelenmiştir (Shi et al. 2005).

Böcekler de diğer ökaryotik organizmalar gibi antioksidan enzim sistemine sahiptir (Ahmad 1992). Böceklerin tüm dokularının yanı sıra özellikle yağ dokusunda bulunan antioksidan enzimler ve maddeler, orta bağırsağında düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar, peritrofik zar ve çeşitli antioksidan enzimlerden oluşan dokuya özgü bir antioksidatif savunma mekanizması bulunmaktadır (Ahmad 1992, Kono and Shishido 1992, Felton and Summers 1995, Barbehenn and Stannard 2004). SOD, katalaz (CAT), GPx, glutatyon S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR) böceklerin başlıca antioksidan enzimlerindedir (Ahmad et al. 1990, Ahmad 1995). Ayrıca antioksidan enzimler arasında *Helicoverpa zea* (Boddie 1850) türünün larva evresinde askorbat peroksidaz (APOX) (Mathewes et al. 1998) ve *Drosophila*'da ise tiyoredoksin peroksidaz (TRXP) (Missirlis et al. 2003) bulunmaktadır. Bunun enzimlerden GST, ksenobiyotiklerin detoksikasyonundan sorumlu olduğu gibi antioksidan özellikleri için peroksidaz (POX) benzeri aktivitesi bulunmaktadır (Vontas et al. 2001, Krishnan and Kodrik 2006). Geniş bir substrat spesifikliğı gösteren GST enzimi böceklerde insektisit dirençliliğini sağlayan detoksifikasyon reaksiyonlarında başlıca rolü bulunmaktadır (Vontas et al. 2001, Enayati et al. 2005). Omurgasız ve omurgalılarda GST enzimleri, mikrozomal oksidasyon ile oluşturulan reaktif metabolitlerin faz II detoksifikasyon sistemi ile elektrofilik maddelerin toksik etkilerini nötrleyen veya ksenobiyotikleri daha az toksik formlarına dönüştürmek üzere glutatyon konjuge eden çok işlevli detoksifikasyon enzimlerinin bir grubudur (Grant and Matsumura 1989, Yu 1999, Vontas et al. 2001). Selenyuma bağımlı GPx enziminin aktivitesi böceklerde oldukça düşük olduğu için CAT ve GST enzimlerinin antioksidan özelliğini ifade eden GPx benzeri aktivitesi (GSTpx) tarafından bu aktivite desteklenir (Krishnan and Kodrik 2006). GPx, H₂O₂ ve zararlı lipid peroksitleri substrat olarak GSH'ı kullanarak metabolize ederken (Ahmad et al. 1989), GSTpx hidroperoksitleri uzaklaştırmada etkili olup H₂O₂'i uzaklaştırmada etkili değildir. Besinsel toksik maddelere fizyolojik bir adaptasyon olarak böcek dokularında GST ve bu enzimin GPx benzeri aktivitesinde yükselme olduğu gözlenmiştir (Peric-Mataruga et al. 1997). ROT'ne karşı birlikte iş gören SOD, CAT ve GPx antioksidan bir savunma grubunu oluştururlar.

Drosophila'da hücreyel olmayan bağışıklığı düzenlemede CAT, konak savunma sistemine aracılık etmesi bakımından önemlidir. Pamuk çizgili yaprak kurdu *Spodoptera exigua*

(Hübner 1808) ve un zararlısı olan *Tenebrio molitor* (Linnaeus 1758) türlerinde organofosfat insektisit olan fenitrotiyon SOD, CAT enzim aktivitelerini ve yağ dokusu ağırlıklarını değiştirmiştir (Adamski et al. 2003). Kadmiyum heteropter bir tür olan *Oncopeltus fasciatus* (Dallas 1852)'un MDA seviyesini arttırmış ve bazı antioksidan enzimlerin (CAT, GR, GST) aktivitelerini düşürmüştür (Cervera et al. 2003). GST enzimi *Nilaparvata lugens* (Stal 1854)'de pretroid grubu insektisitlere karşı direnç kazandırmıştır (Vontas et al. 2001). *Helicoverpa armigera* (Hübner 1805)'nin farklı evrelerinde çeşitli dokularıyla (tüm vücut, orta bağırsak, hemolenf, yağ dokusu, kutikula) yapılan bir çalışmada endosülfanın böceğin GST aktivitesini etkileyerek yağ dokusunda en yüksek olduğu, yumurtalarında ise en düşük olduğu ortaya çıkarılmıştır (Rajurkar et al. 2003). *Apis mellifera* (Linnaeus 1758) ile yapılan bir çalışmada işçi arı, erkek arı ve kraliçe arının farklı dokularında (kas, mide, hemolenf, spermetaka ve semen) CAT, SOD, GST aktiviteleri incelenmiştir (Weirich et al. 2002). Örümcek kurdu *Pardosa prativaga* (L. Koch 1870)'da düşük kalitedeki besinlerin GST miktarı ve GSTPx miktarını önemli derecede düşürerek GST ve GPx aktiviteleri üzerine etkili olduğu belirtilmiştir (Nielsen and Toft 2000). Böceklerde bitkilerden alınan ve allelokimyasalları içeren birçok maddenin detoksifikasyonunda rol oynayan GST, farklı konak bitkilerle beslenen *Lymantria dispar* (Linnaeus 1758) tırtıllarında seviyesi artarken SOD, GSH seviyeleri de artmakta buna karşın CAT aktivitesi aynı oranda azalmaktadır. Ayrıca enzim aktivitelerinin farklı larval evrelerde değiştiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Peric-Mataruga et al. 1997). Ratların böceklerle kontamine olmuş buğday unu ile beslenmesi ratların eritrositlerinde GPx ve GR aktivitesinin düşmesini sağladığı, lipid peroksidasyonu düzeyi (TBARS) ve diğer bazı oksidanların seviyesini arttırdığı bulunmuştur (Elhassaneen and Abd El-Moaty 2003).

Bu araştırmanın sonucunda ortaya çıkacak veriler BA ile temas eden hedef olmayan canlıların bazı biyolojik özelliklerinin ve antioksidan savunma kapasitesinin nasıl etkilendiğini gösterecektir. Doğrudan tarımsal zararlı olmayan ve yaşlanma çalışmalarında önemli bir model organizma olan *Drosophila melanogaster* (Meigen 1830) (Uysal ve Şişman 2003) kullanılarak BA'in farklı konsantrasyonları laboratuvar şartlarında yapay besin ortamlarına ilave edilerek böceğin yaşam parametreleri ve yaşlanma ile ilişkili olarak antioksidan savunma sistemi üzerinde etkili olup olmayacağı değerlendirilmiştir.

Bu amaçla yarı sentetik besine ilave edilen inorganik insektisit BA'in model organizma *D. melanogaster*'in yumurtadan yeni çıkmış larvalarının ergin evreye kadar yaşama, gelişimine,

ergin ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranına etkisi incelenmiştir. Ayrıca larva, pup, ergin evrelerinde, dişilerin yumurtalarında, ergin evre sonrasında erkek ve dişi bireyler ve dişilerin yumurtalarında LPO ürünü MDA miktarı ve protein oksidasyon (PO) ürünü protein karbonil (PCO) seviyesi ile antioksidan enzimlerden, GST aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Oksidatif etkiye karşı böceğin gelişim evrelerinde antioksidan enzimlerin aktiviteleri ile eşey oranı ve erginlerin ömür uzunluğundaki değişimler belirlenmiştir. Denenecek bu BA zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasal insektisitlere göre memelilere karşı düşük toksisiteye sahip olması nedeniyle önem taşımaktadır. BA'nın eski dönemlerde göz damlası olarak kullanılması ve hayvan ve bitkilerde besinsel olarak önemli role sahip olması bunun ökaryotik canlılara karşı belirli doz aralıklarında toksik özelliğinin düşük olduğunu açıkça göstermektedir. Ancak bu tür maddelerin hedef olmayan canlılar üzerindeki oksidatif etkileri ve yaşlanma ile ilişkili olarak antioksidatif savunma sistemine etkisi çalışılmamıştır. Yapılan çalışmalar daha çok böceklerin laboratuvar şartlarında yetiştirilmesi sırasında besin almayı uyarıcı olarak kullanılan BA ve diğer B türevlerinin böceklerin yaşama ve gelişimi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi yönünde olmuştur (Hyršl et al. 2007, Durmuş and Büyükgüzel 2008).

Bu çalışmanın sonucu zararlılar ile mücadelede daha güvenli insektisit kullanımı açısından iyi tarım uygulamaları ile daha sağlıklı bir çevre ve insan yaşamı açısından önem arz etmektedir. Böylece kendi öz kaynaklarımızın işlenerek yeni bir ürünün geliştirilmesi ve bu ürünün tarımda verimin ve kalitesinin artırılmasına yönelik kullanılması ile birlikte çevre ve hedef olmayan canlılara toksitesinin az olması hem ülke ekonomisine hem de toplumsal refaha fayda sağlayacaktır. Diğer taraftan yaşlanma ve insanlığın ömür uzunluğunu uzatmaya yönelik çalışmalarda model olarak kullanılan *D. melanogaster*'de BA'nın ömür uzunluğunda uzamaya sebep olması insan ve diğer hayvanların beslenmesinde bu inorganik maddenin besin desteği olarak kullanılabilirliği tartışılmıştır. Zararlıların kontrolünde etkili olan ekonomik ve çevre dostu bir mücadele için yeni hedefler ve yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. İnsan beslenmesi ile yakından ilişkili ürünlerin korunmasında kimyasal organik pestisitlerin dışında yeni kontrol yöntemlerinin geliştirilmesi birincil hedef olmaktadır. Meyve sineği *D. melanogaster* tüm endojen ve eksojen kaynaklı prooksidanların canlıların yaşam süresi sırasındaki biyomoleküler yaşlanmaya sebep olmalarının etkisini kısa sürede izleyebilme imkanı sağlayan bir model organizmadır (Rogina and Helfand 2000). Bu nedenle, laboratuvar şartlarında yapılacak böyle bir girişim pestisitlere maruz kalan insan

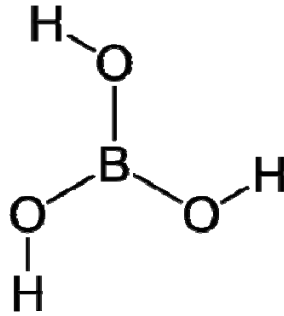
dahil diğer canlıların besinsel kaynaklı oksidatif strese bağımlı yaşlanma mekanizmasının aydınlatılmasında da yönlendirici olacaktır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 BOR VE TÜREVLERİNİN ÖNEMİ

Atom numarası 5 ve atom ağırlığı 10,81 olan B, periyodik cetvelin IIIA grubunun ilk, en hafif üyesidir ve yarı iletken özelliğe sahip olan bir metaloidtir. Doğada yaklaşık olarak 230 çeşit B minerali bulunmakta olup, B basit yapılı olan bor oksit (B_2O_3) ve BA gibi başka elementlerle bileşik halinde bulunur (O'Neil et al. 2001). En önemli B minerali kalsiyum-sodyumla birlikte uleksit, sodyumla bağlı olan boraks ve kalsiyumla birlikte bulunan kolemanittir. B'un insanlar ve hayvanlar için önemi ve rolü hakkında 80'li yıllara kadar çok az bilgi bulunmaktadır. Bu iz mineralin ne kadar önemli olduğunu son otuz yıllık çalışmalar göstermektedir (Yaren 2011).



Şekil 2.1 Borik Asitin Kimyasal Yapısı.

Çeşitli deneysel modeller kullanılarak yapılan birçok çalışmada B'un insanın da dahil olduğu bir çok canlı için biyoaktif yararlı bir element olduğu gösterilmiştir. Bazı yüksek organizasyonlu hayvansal organizmalar ve insanlarla yapılan besinden B'un eksiltme veya tamamen çıkarma çalışmaları sonucunda; düşük B alımının kemik sağlığının, beyin işlevinin ve immün cevabın bozulmasına sebep olmuş böylece canlıların yaşamlarını tamamlayabilmeleri için B'un gerekli olduğunu göstermiştir (Nielsen 2008). Son yıllarda

besinsel B'un metabolik, hormonal ve fizyolojik süreçlerde etkin olduğu; oksidatif stres, immün yanıt, steroid hormon metabolizması, mineral, vitamin D gibi mikrobeyinler ve birçok metabolik enzimi etkilediği bunun yanısıra kemik, artrit, kanser üzerine de etkili olduğuna dair birçok çalışma bulunmaktadır (Yaren 2011). Kalsiyum, fosfor, magnezyum, molibden, alüminyum gibi çeşitli mineral metabolizmasında regülatör bir rol oynayan B'un (Nielsen 2008), yetersizliğinde magnezyum, potasyum, bakır, çinko gibi birçok mineral metabolizması ve dengesi değişmektedir (Nielsen 2004). Örneğin besinlerine B ilave edilen sıçan ve tavukların kemik sağlamlığının arttırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Aynı zamanda plazma lipid profili ve beyin fonksiyonlarının iyileştirilmesi için de B kullanılmaktadır (Devirian and Volpe 2003). Düşük B alımı besinsel yetersizlikle ilgili olduğu durumlarda B bakımından zengin meyve, sebze, fındık gibi besinlerin alınmasıyla önlenir. Günlük besinle alınacak B miktarı besin gruplarının oranlarına bağlı olarak değişmekle birlikte, ülkeler ve bireyler arasında da farklılık göstermekte olup bu miktar yaklaşık 0,30–0,41 mg'dır. İnsanlar gıda haricinde su ile günde 0,2–0,6 mg; hava yoluyla günde 0,44 µg ve kozmetik ürünler ile maksimum 0,47 mg B'a maruz kalınmaktadır (Anonymous 2004). B'un yetişkinler tarafından alınabilecek güvenilir ortalama alım miktarının Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 1–13 mg/gün, üst sınırın 20 mg/gün olduğu bildirilmiştir (Anonymous 2004). Türkiye'deki ilaç piyasasında ek takviyelerde B miktarı 1,5-10 mg arasındadır. B miktarının artması her ne şekilde alınırsa alınsın tüm dokulardaki B miktarını artırmaktadır. B'un fazlası bir dereceye kadar tolere edilebilir. Ancak eksikliği büyümenin baskılanması, kan parametrelerinde özellikle steroid hormon konsantrasyonunda düşme şeklinde kendini gösterir (Naghii and Saman 1993). Kemiricilerin düşük B ile beslenmesi yüksek oranda (% 57) dejenere embriyo oluşmasına neden olmuştur (Lanoue et al. 1999).

B'un düzenleyici anyon ve katyonların transmembranal taşınması, membranlar arası haberleşmede yer alan sinyallerle etkileşmesi ve hormonal aktivitelere duyarlı olması sonucu hücre zarı fonksiyonu, stabilitesi ve yapısındaki önemli görevlerini gerçekleştirebilmektedir (Eren 2004, Nielsen 2008). B'un muhtemel etki mekanizması polisakkaritler, adenin monofosfat (AMP), piridoksin, riboflavin, piridin ve diğer benzer cis-hidroksil grupları içeren biyomoleküllerle reaksiyona girmesiyle gerçekleşmektedir. Bu şekilde B, vücuttaki görevleri ne olursa olsun cis-grupları içeren bileşikleri stabilize edip fonksiyonlarını değiştirmektedir (Bolanos et al. 2004). B'un metabolik yollarda bazı anahtar enzim reaksiyonlarını yarışmalı inhibisyon yoluyla etkileyen negatif bir regülatör olduğunu savunan hipotezler de bulunmaktadır (Hunt et al. 1994).

İnsanlar için düşük toksisiteye sahip olmasına rağmen B'un yüksek dozları üreme ve gelişme üzerine olumsuz etki yapabilmektedir (Lanoue et al. 1998). İnsanlar B mineraline akut olarak maruz kaldığında; kusma, mide bulantısı, ishal, karın ağrısı, kasların istemsiz kasılıp gevşemesi, yüksek ateş, merkezi sinir sisteminde bozukluk, renal tübüllerde hasar, deride kızarıklık, testiküler atrofi, sarılık ve karaciğer fonksiyonunda anormallikler gibi belirtiler görülür. B'a kronik olarak maruz kaldığında; anoreksi, kilo kaybı, halsizlik, anemi, alopesi, sperm kaybı, dermatit, konvülsiyon ve gastrointestinal rahatsızlık gibi semptomlar görülmektedir (Ku et al. 1991, Devirian and Volpe 2003, Anonymous 2004). B'un yüksek veya düşük miktarda alınması hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda gelişim ve üreme üzerine etkili olabileceğini göstermiştir (Ku et al. 1991, Murray 1995). B'un yüksek dozları sıçan, fare ve köpeklerde sperm oluşumunu önlediği, testis hacmini ve ağırlığını düşürdüğü, seminifer tüpçüklerinde yapı bozulmasına neden olarak kısırlığa yol açtığı belirlenmiştir. Yüksek dozlardaki B'un diğer olumsuz etkileri ise tavşan ve farelerde fetal ağırlığı düşürmesi, iskelet yapısının bozulmasıdır (Price et al. 1996, Moorman et al. 2000, Espinoza-Navarro et al. 2007). Fare ve ratlar üzerinde yapılan çalışmalara göre B ve bileşiklerini ABD Çevre Koruma Ajansı (USEPA) karsinojenik etkilerine göre D grubu (insanda karsinojenik olarak sınıflandırılmayan kimyasal maddeler) altında sınıflandırmıştır (Anonymous 2004). B ilaç sektöründe mikrop öldürücü özelliğinden dolayı dezenfektan, diş macunu, göz yıkama solüsyonları, ağız gargaraları, irriyan solüsyonlar ve antiseptiklerin yapımında kullanılmaktadır. Ayrıca, B'la nötron yakalama terapisi (BNCT) olarak bilinen kanser tedavisinde de kullanılmaktadır (Yılmaz 2002). Mevcut kullanım alanları göz önünde bulundurulduğunda B madeninin çok büyük stratejik önem taşıdığı görülmektedir. Türkiye, ABD ve Rusya'da zengin B yataklarının bulunduğu bilinmektedir. Dünya B rezervleri toplam 885 milyon tondur ve Türkiye'nin payı % 64, Amerika'nın ise % 9'dur. (Anonymous 2005).

En çok boraks ve BA olarak; volkanik kayalarda, toprakta, atmosferde, denizlerde ve içme sularında farklı miktarlarda B bileşikleri bulunmaktadır (Samman et al. 1998). BA için yan etki gözlenmeyen en yüksek doz (NOAEL) 55 mg ve toksik etki gözlenen en düşük doz (LOAEL) 78 mg BA/kg/gün (B için 10 ve 13 mg/kg/gün)'dür (Price et al. 1996). Daha yüksek dozlardaki BA'in farelerde, ratlarda ve tavşanlarda gelişimsel toksisiteye neden oldukları bilinmektedir (Heindel et al. 1992, Dourson et al. 1998). B'un etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda çoğunlukla BA yeme katılarak verilmiştir (Heindel et al. 1994, Price et al. 1997, Chapin et al. 1998, Sheng et al. 2001). Ratlarda minimum toksik etki 1000 ppm BA içeren

yemle beslenenlerde (föetal ağırlığında düşüş) gözlenmiş, 1000 ppm altındaki dozlar toksik etkiye sebep olmadan vücuttaki fizyolojik süreçleri etkilemiştir (Chapin et al. 1998).

Tıbbi ve tıbbi olmayan amaçlar için kullanılan BA (Heindel et al. 1997), gıda koruyucu (E284) olarak da kullanılmaktadır (Türkiye Tarım Bakanlığı 2004). BA'nın deri enfeksiyonlarında antiseptik olarak kullanıldığı gibi göz damlası, ağız gargarası, koku giderici kozmetik ürünlerde ve fungistatik olarak tekrarlayan vajinal mantar enfeksiyonlarında aktif madde olarak kullanılmaktadır (Ommaty 2000, Ringdahl 2006, Yaren 2011). Türkiye Tarım Bakanlığı (2004) tarafından BA'nın antimikrobiyal madde olarak gıdalarda en fazla 4 g/L dozunda kullanılabileceği önerilmiştir. Aynı zamanda BA kemiricilerde üreme ve fertilitiyi olumsuz yönde etkilemiş olup (Heindel et al. 1997) hamster yumurta hücresi kültüründe mutajen özellik göstermiştir (Kinashi et al. 1997). Ancak BA fare lenfoma hücrelerinde mutajen özellik göstermemiştir (McGregor et al. 1988). Avrupa gıda koruma otoritelerine (EFSA 2004) göre BA'nın hayvanlar üzerinde olumsuz etki yaptığı uzun süreli toksisite çalışmalarından sonra bildirilmiştir. Hubbard (1998) inorganik boratlar (BA, Na, amonyum, K ve Çinko boratları) genellikle ağızdan, deri yoluyla ve solunum ile alındığında düşük akut toksisite gösterdiklerini belirtmiştir.

Boratlar, B-O₂ arasındaki bağların kırılması ile metabolize edilebilmektedir. Ancak bu bağların koparılabilmesi için aşırı miktarda enerjiye (523 kJ/mol) ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, biyolojik sistemlerde başta BA olmak üzere pek çok B bileşiği (özellikle boratlar) metabolize edilemezler (Emsley 1989). Düşük konsantrasyonlarda inorganik boratların emilimleri esnasında mukozal yüzeylerde ve fizyolojik pH (hidrojen gücü) derecesinde BA'e dönüştürülür. Laboratuvar hayvanları ve insanlarla yapılan çok sayıda araştırma, alınan boratların % 90'dan fazlasının BA formunda organizmadan uzaklaştırıldığını ortaya koymuştur (WHO 1998, USEPA 2004). B'un ve boratların emilim öncesi BA'e dönüşmeleri ve BA'nın değişmemiş olarak % 90'dan fazlasının idrarda görülmesi önceki varsayımın kanıtı olarak kabul edilmektedir (Nielsen 1988, Emsley 1989). B başta idrarla olmak üzere feçes (% 2), safra, terleme ve solunum yoluyla vücuttan atılmaktadır (Samman et al. 1998). BA idrarda belirlenen tek B bileşiği olup, oral yolla alınan B miktarının kantitatif bir göstergesidir (Devirian and Volpe 2003). Vücutta hangi yolla alınırsa alınsın B, 4 gün içinde % 92-% 96 oranında BA olarak idrarla atılırken vücuttan 7 gün içinde tamamen elimine olmaktadır (Çol and Çol 2003).

BA'in hidroksil, amino ve tiyol gruplarına karşı ilgisi olduğu gibi BA'in doza bağlı olarak farklı biyolojik moleküller ile kompleks oluşturabildiği bilinmektedir (Moore 1997, WHO 1998, Türkez 2007).

B'un emilimi sindirim, solunum ve deri ile olmakla birlikte vücuda asıl girişi ağız yoludur. Ağızla alınan anorganik B'un insanlar ve hayvanlar tarafından neredeyse % 100'ü sindirim yoluyla hızlı bir şekilde absorbe edilmektedir. (Hunt 1998). Vücut sıvılarında ve dokularında B; % 98,4 BA olarak, % 1,6 borat anyonu olarak bulunmaktadır. Total B konsantrasyonu kanda 15,3-79,5 ng/g arasında değişmektedir (Devirian and Volpe 2003). Absorbe edilen B, BA olarak pasif difüzyonla vücut sıvılarına dağılmaktadır. Vitamin ve mineraller uzman grubu'nun (2002) yayınladığı rapora göre B'un dokulardaki dağılım sonrası konsantrasyonu 0,05-0,6 mg/kg olarak bulunurken, kemiklerde bu değerlerin bir kaç katına ulaşabilir (Anonymous 2002). İnsan vücudundaki toplam B miktarı 3-20 mg arasında değişirken en yüksek B konsantrasyonları kemikte, tırnaklarda ve saçta bulunmaktadır (Devirian and Volpe 2003). B bileşikleri insan ve hayvan plasentasından geçme özelliğine sahiptir (Anonymous 2002).

Ülkemizde yapılan bir araştırmada toprak ve içme sularının B muhtevalarının birbirlerinden oldukça farklı olduğu iki bölgede yaşayan toplam 4687 bireyde B'un üreme sistemi üzerine etkileri araştırılmış, verimlilik oranları ile diğer bölge insanların verimlilik oranları arasında herhangi bir farklılık bulunmadığı ifade edilmiştir (Şaylı et al 1998). Ayrıca ABD'de B işçileri üzerinde yapılan çalışmada, erkek çocuk doğumunda kız çocuğa oranla azalış olduğu belirlenmiştir (Kocatürk 1998).

Hayvansal organizmalarda B'un mekanizması açık olmamasına rağmen eksikliğinin Afrika pençeli kurbağası *Xenopus laevis* (Daudin 1802)'in sindirim kanalı ve gözlerinde embriyodan larva gelişimine doğru anormal gelişime sebep olduğu gösterilmiştir (Ford et al. 1998). Uluslararası Toksikoloji Programı (NTP 1987)'nin yaptığı toksisite belirleme testlerine göre BA'in Chinese hamster ovaryum hücrelerini olumsuz yönde etkilemediği ve mutajen olmadığını göstermektedir. Diğer taraftan Arslan (2004)'nin çalışmasında BA'in insan periferik lenfositlerinde 24-48 saatlik muamele sonucunda kromozomal anormalliklere sebep olduğunu göstermiştir.

Kurbağalar üzerinde (*Xenopus laevis*) yapılan bir araştırmada B eksikliğine bağlı olarak gamet olgunlaşma, embriyo gelişimi ve larval olgunlaşma süreçlerinin olumsuz etkilendiği belirtilmiştir (Fort et al. 2002). Buna karşın 50 ve 100 mg/L B'un farklı kurbağa türleri (*Ambystoma jeffersonianum* Green 1827, *Rana sylvatica* LeConte 1825, *Ambystoma maculatum* Shaw 1802 ve *Bufo americanus* Holbrook 1836) üzerinde embriyo gelişimlerini olumsuz etkilediği rapor edilmiştir (Laposata and Dunson 1998).

Yumurta tavuklarının yemine 240 mg/kg'a kadar B ilave edilmesi canlı ağırlıkları üzerinde olumlu etki göstermiştir (Rossi et al.1993). Bununla birlikte, yumurta tavuklarının yemine 400 mg/kg'a kadar B ilavesi canlı ağırlığını etkilememektedir (Eren et al. 2002.), B'un Broiler piliçleri üzerinde yapılan çalışmada hematolojik ve biyokimyasal parametreleri etkilediği bu nedenle de mineral metabolizmasında önemli rolünün olduğu tespit edilmiştir (Kurtoğlu et al. 2005). Broiler piliçlerinde 21 gün boyunca 2500 ve 5000 ppm BA uygulamasının hayvanların beyin, böbrek, karaciğer ve kaslarında B'un birikmesine sebep olduğu, 500 veya 1250 ppm'de ise birikimin olmadığı rapor edilmiştir (Sander et al.1991). Diyet yoluyla dört hafta boyunca B verilmiş yeşilbaş ördekler (*Anas platyrhynchos* Linnaeus 1758) üzerinde yürütülen bir çalışmada 1000 ppm B'un embriyo gelişimini olumsuz etkilediği ortaya koyulmuştur (Hoffman et al. 1991).

Cantürk (2007)'ün çalışmasında BA veya sodyum tetraborat (100, 250, 500, 1000 µM) kullanılarak sağlıklı lenfositlerle akut lösemi hücreleri kıyaslanmış, B bileşiklerinin lösemi hücrelerine daha etkili olduğu ve mitokondriler üzerinden toksik etkiyi gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Değişen oranlarda (200-9000 ppm) BA içeren diyetle 12 hafta boyunca beslenmiş ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, doza bağlı olarak kemik B konsantrasyonunun yükseldiği ortaya koyulmuştur (Chapin et al.1997).

Başka bir çalışmada ise BA içeren (2-12,5 ve 25 mg) içme suları ile altı hafta boyunca beslenen ratların, kan ve yumuşak dokularındaki B seviyelerinin birbirlerine yakın değerlerde olduğu görülmüştür (Naghii and Samman 1996). Bu çalışma ile B bileşiklerine ağız yoluyla maruz kalma sonucu genellikle ürogenital sistemin olumsuz etkilendiği ortaya koyulmaktadır. Sıçan, fare ve köpeklerin B bileşiklerine içme suları veya besinler yoluyla maruz kalmaları testiküler lezyonların oluşmasını sağlamıştır (Ku et al. 1993 a). Gavaj yoluyla 350 mg/kg BA verilen Sprague-Dawley sıçanlarının sperm salınımının inhibe edildiği ve sperm morfolojisinin olumsuz etkilendiği gözlenmiştir (Linder et al.1990).

Özkurt (2000)'un baraj göletlerinde yaptığı çalışmada B'un su, dip çamuru ve planktonlarda fazlalaştığı, balık (*Cyprinus carpio* Linnaeus 1758) dokularında (kas, beyin, karaciğer) besin zinciri yoluyla taşınarak birikmekte olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, B kirliliğinin balıklarda kunduzlar'a göre daha fazla olduğu, balık büyümesini engellediği tespit edilmiştir.

İki farklı som balığı türünde (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum 1792 ve *Oncorhynchus kisutch* Walbaum 1792) B'un akut toksisitesini belirlemek üzere yapılan bir çalışmada 100 mg/L hatta daha yüksek konsantrasyonlarda B'un toksik etkilere yol açmadığı görülmüştür (Hamilton and Buhl 1990). Bununla birlikte, düşük B konsantrasyonlarının Gökkuşuğu Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) üzerinde embriyo gelişimini uyardığı ve teratojenik etkilerinin bulunmadığı rapor edilmiştir (Loewengart 2001).

B bileşiklerinin (BA, boraks, kolemanit ve üleksit bileşikleri) insan kanında belirli seviyelerde (20-100 mg/L) MDA değerlerini etkilememekte, düşük dozlarda antioksidan enzim aktivitelerinde belirgin bir artışa neden olmaktadır. Böylece farklı B bileşiklerinin düşük seviyelerdeki desteği ile oksidatif strese yol açmadan antioksidan kapasite yükseltilmektedir (Türkez 2007).

Farelerde, bakteri ve mayalarda okside proteinlerin düzeyinde artışa ve oksidatif strese dirençte kayba neden olan metionin sülfoksit redüktaz (Msr) aktivitesinde azalmanın mutasyonla olduğu gösterilmiştir. Maya ve *Drosophila*'da ise tersine Msr'ın aşırı üretimi ile oksidatif strese direnç artmaktadır (Moskovitz et al. 1997).

BA'in ekonomik kayba yol açan zararlı böceklerin mücadelesinde insektisit olarak deneme çalışmaları gün geçtikçe artmaktadır. B bileşiklerini içeren yemlerin ve aerosollerin kullanılması halinde termitler ve meyve sineklerinin kontrol edilebileceği belirtilmiş, sinek larvalarının BA'e maruz kalmaları % 100'e varan ölüm oranının görülmesini sağlamıştır (Butterwick et al. 1989). Bal arılarında BA'in 50 mg/L'si toksisiteye yol açmaktadır (Ostrovskij 1955).

Çam keseböceği *Thaumetopea pityocampa* (Denis and Schiffermüller 1775) (Lepidoptera) ile yapılan çalışmada 10'luk boraks ve BA çözeltilerinin böceğin larvalarına karşı hiçbir öldürücü etkisinin bulunmadığı bildirilmiştir (Dayıoğlu 2008).

BA ve *Bacillus thuringiensis* (Berliner 1715)'in bir kombinasyonu kır tırtılı türü *Prothetria dispar* (Linnaeus) larvalarının ölüm oranını arttırmaktadır (Doane and Wallis 1964). Bazı termit türleri (*Microcerotermes champion* Snyder, *Odontotermes obesus* Rambur 1842 ve *Bifiditermes beesoni* Gardner 1944) ile yapılan çalışmada % 1'lik BA'in tek başına termit türlerine toksik etki yaptığı belirlenirken, % 1'lik BA ve belirli dozlarda *B. thuringiensis* karışımı ile beslenen böceklerde ölüm oranının önemli derecede arttığı tespit edilmiştir (Khan 2006).

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith 1797) nükleopolihedrovirüs (sfMNPV)'ü ile birlikte bir fagostimülant ya da virüs etkisini artırıcı bir madde olarak BA (% 0,5 ve % 1) konsantrasyonları kullanarak yapılan çalışmada BA tek başına *S. frugiperda*'nın ölüm oranı üzerine etkili olmamıştır. Bu çalışmada % 1'lik BA konsantrasyonu üzerindeki konsantrasyonlarda virüsün 80 OBs/mm² (milimetre alana düşen virüs miktarı) konsantrasyonu ile karıştırıldığında, virüsün böceğin ikinci evre larvaları üzerindeki öldürücü etkisi virüsün tek başına sebep olduğu ölüm oranına göre önemli derecede artmıştır (Cisneros et al. 2002). Aynı çalışmada mısır bitkisine virüs ve % 1'lik BA içeren mısır unu granüllerinin uygulanmasının da virüsün tek başına uygulanmasına göre böceğin ölüm oranının önemli derecede arttırdığı görülmüştür.

Laboratuvar ortamında % 1 ve % 4'lük BA içeren mısır unu granüllerinin kulağakaçan *Doru taeniatum* (Dohrn 1862) (Dermaptera)'a karşı toksik olmadığı, aynı konsantrasyonlardaki BA'in (% 1 ve % 4) mısır bitkilerine arazide püskürtme yöntemi ile uygulanması sentetik insektisitlere (klorpirifos) göre doğal düşmanların (kulağakaçan böcekler, predatör böcekler, predatör nöropterler, kın kanatlılar, örümcekler, avcı sinek larvaları) ya da diğer hedef olmayan böceklerin (lepidopter larvaları, fitofaj kınkanatlılar, tripler ve yaprak biti kolonileri) bulunma oranını önemli derecede azaltmamaktadır (Cisneros et al. 2002).

% 10'luk şeker çözeltisi içinde BA'in % 0,5'lik besin karışımı hayalet karınca *Tapinoma melanocephalum* (Fabricius 1793)'nın işçi, kraliçe erginleri ile larva ve puplarını üç hafta sonunda % 100 oranında öldürmüştür (Ulloa-Chacon and Jaramillo 2003).

BA Alman hamam böceği *Blatella germanica* (Linnaeus 1767)'nin sindirim işlemini ve enzimatik antioksidan savunma sistemini olumsuz etkilemektedir (Habes et al. 2006). Bu çalışmada BA böceğin besinine ilave edilerek kullanılmış, orta bağırsağın yapısında histolojik

değişime sebep olduğu ve GST aktivitesini artırdığı ortaya çıkarılmıştır. Yapılan son çalışmalarda yüksek konsantrasyonlardaki BA ile sodyum tetraboratın *G. mellonella* (Linnaeus 1758)'nin böceğin larval, pupal hemolenf ve yağ dokusunda LPO düzeyini ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı gösterilerek, yaşama ve gelişmesi üzerine önemli olumsuz etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Hyršl et al. 2007, Durmuş and Büyükgüzel 2008). Diğer taraftan bir karınca türü *Atta sexdens rubropilosa* (Forel 1908) (Hymenoptera: Formicidae)'da BA yaşama oranını önemli derecede düşürmekte, orta bağırsakta doza ve zamana bağlı olarak artan bir histopatolojik değişime sebep olmaktadır (Sumida et al. 2010).

Bir çeşit mikotoksin olan zearalenonun farklı konsantrasyonları (25, 75, 125 ve 175 µM) *D. melanogaster*'in yabanıl (Oregon) tiplerinin F1 nesline ait bireylerin gelişimini kontrol grubuna göre geciktirmektedir (Aşkın vd. 2008). *Drosophila*'da besine ilave edilen B ve türevlerinin dokularda birikimi gelişme evresine ve yaşa göre değişmektedir (Massie 1994). B ve sodyum boratın düşük konsantrasyonları yaşam süresinde küçük fakat önemli derecede artışa sebep olmaktadır (Massie et al. 1990).

2.2 YAŞLANMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR ÖZETİ

Bir organizmanın gelişme, olgunlaşma ve yaşlanma olarak yaşama süresi üç evreye ayrılabilir. Yaşlanma işlemine normal metabolizma sırasında üretilen oksijen radikalleri hücrel makromoküller ile etkileşerek katkıda bulunurlar (Garg and Mahajan 1993). Yaşlanmanın en popüler teorisi prooksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengeyi ifade eden oksidatif stres hipotezidir (Harman 1956, Sohal and Weindruch 1996, Beckman and Ames 1998). Bu denge zamanla yavaş yavaş fakat kesin bir şekilde antioksidan enzim ve diğer antioksidan maddelerin prooksidan maddelerin oksidatif etkilerini karşılayamaması yönünde bozulur. Böylece yaşlanma süreci çok çeşitli makromoleküllerin uğradığı hasarın birikmesiyle oluşur. Cutler (1984) yaşama süresinin metabolizma potansiyeli dolayısıyla oksidatif stres ile ters ilişkili olduğunu ifade etmektedir. Yaşlanma gen ifadesindeki değişimler ile karakterize olup oksidan oluşumu ve antioksidan savunma hızına, düzenleyici kontrol mekanizmalarına bağlıdır. Üstelik yaşa bağlı antioksidan enzim aktivitelerindeki değişim, yaşlanan hücrelerde serbest radikal hasarı seviyesinin değişmesine neden olurken beraberinde organizmanın fizyolojik durumunu etkilemektedir.

Oksidatif stres ve yaşlanma arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır. Yaşlanma ile birlikte oksidatif strese bağlı hasar gösteren çok sayıda çalışma vardır (Akbulut et al. 1997, 1999). Yapılan çalışmalarda genellikle yaşlanma ile birlikte dokulardaki serbest radikal düzeylerinin arttığı bildirilmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda LPO ürünlerinin yaşlı sıçanlarda mide ve kan düzeylerinin gençlere oranla arttığı bildirilmiştir (Yüzüak 2008). Sağlıklı insanlarda yapılan çalışmalarda; yaşlanma ile birlikte MDA, NO ve diğer radikal düzeyleri artmış gösterdiği buna karşın GSH düzeyinin ve antioksidan moleküllerin düzeyleri azalmıştır (Kopani et al. 2006).

D. melanogaster üzerinde yaşama süresi ile ilişkili olarak bazı fiziksel, kimyasal etkenlerin doğrudan veya kentsel sanayi atıklarının mutajenik ve karsinojenik etkileri incelenmiştir (Takao et al. 1997, Kaya 2000, Yeşilada 2001, Çakır ve Sarıkaya 2005, Çetin 2005, Kaya vd. 2006, Özata 2006, Aşkın et al. 2007, Aşkın 2009). *D. melanogaster*'in antioksidan savunma sistemi (GSH, SOD, CAT ve GR ile GST) tekstil boyalarının maruziyetine karşı oldukça duyarlıdır. Bu değişiklikler oksidatif stresin varlığını ve *Drosophila* tarafından oksiradikallerin üretiminde bir artışın olduğunu göstermektedir (Özata 2006). Paraguay Irmağı'ndan alınan örneklerdeki *D. melanogaster* erginlerinde deri fabrikalarının atıklarının boşaltıldığı bölgede mevsimsel değişimlere bağlı olarak genotoksik etkilere rastlanmıştır. Bu dış etkiler sonucu oluşan biyolojik değişimler antioksidan sistem ile ilişkili olarak *D. melanogaster*'in yaşam süresini olumsuz yönde etkilemektedir (Pimenta et al. 2008).

Antioksidan enzim etkinliğinin azalması yaşlanma ile ilişkilidir. Antioksidan kapasitenin artırılmasının yaşlanmayı geciktirici rol oynaması büyük bir ilgi alanı oluşturmuştur. Yapılan bir çalışmada; *Drosophila*'da SOD aktivitesi yaşam süresinin değişiminde etkili olmamıştır (Seto et al. 1990). Yaşlı *D. melanogaster* erkeklerinde CAT enzim aktivitesinin azaldığı, diyetle H₂O₂ eklenen gruplarda ise yaşlanan meyve sineklerinde ölüm oranı artmıştır (Nicolosi et al. 2003). Soğuk stresine ve H₂O₂ karşı ömür uzunluğu kısaltmakta ve CAT aktivitesi azalmaktadır (Mockette et al. 2001). Ayrıca yaşlanma sürecinde CAT aktivitesi düşmemiş yavaşlamıştır (Mockette et al. 2003). *D. melanogaster*'de sitozolik Cu/Zn-SOD, Mn-SOD (mikokondriyal SOD), CAT, GSH bulunurken GR bulunmamaktadır. Bunun yerine TRXP bulunmaktadır. Ayrıca selenyumdan bağımsız GPx aktivitesi çok düşük olup bu enzimin TRXP aktivitesi oksidatif strese karşı direnç oluşturmaktadır. Ancak CAT eksikliğinde tek başına TRXP yeterli olamamaktadır (Samis et al. 1971). *D. melanogaster*'de GST-Delta (GST-1) ve GST 2 olarak GST'nin başlıca iki formu, *Drosophila stimulans* (L.f.)

Chew'da ise GST'in üçüncü bir formu (GST-Epsilon) bulunmaktadır (Agianian et al. 2003). GST 2'nin ise daha çok böceğin uçuş kaslarında bulunduğu tespit edilmiştir (Hunaiti et al. 1995).

Antioksidan bir madde olan sodyum hipofosfit içeren besinle beslenen *Zaprionus paravittiger* (Godble and Vaidya) (Diptera)'de CAT aktivitesinin arttığı ve ömür uzunluğu ile CAT aktivitesi arasında olumlu bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Wadhwa and Sharma 1987). Antioksidan enzimler Cu/Zn-SOD ve CAT aktiviteleri *D. melanogaster*'de mutasyonlara bağlı olarak ortadan kaldırılmış ya da transgenik sineklerde sentezleri artırılmıştır (Mackay and Bewley 1989, Phillips et al. 1989, Staveley et al. 1990, Orr et al. 1992, Orr and Sohal 1992, 1993, Griswold et al. 1993, Orr and Sohal 1994, Reveillaud et al. 1994, Humphreys et al. 1996, Parkes et al. 1998 a, b). Ergin ömür uzunluğunda önemli bir kısalmaya bu iki enzimdeki aktiviteyi dramatik olarak düşüren mutasyonlar neden olmaktadır. Cu/Zn-SOD bakımından genetik olarak eksik olan ergin *D. melanogaster*'de oksidatif stresde artış ile birlikte yaşam süresinin kıaldığı görülmüştür (Rogina and Helfand 2000). *D. melanogaster* ile yapılan çalışmalarda CAT ve SOD enzimlerinin tek başlarına aktivitelerinin yüksek olması yaşam süresi üzerinde önemli bir etki yapmamış ancak her iki enzimin birlikte aktivitelerinin artmasının yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir (Orr and Sohal 1994, Sohal et al. 1995). *D. melanogaster*'in SOD genindeki bir mutasyonun detoksifikasyon ya da radikal süpürücü antioksidan enzim SOD aktivitesini azaltması sonucu serbest radikallerin miktarındaki artış olduğu belirlenmiştir. *Z. paravittiger*'in antioksidan madde olarak düşük konsantrasyonlarda butillenmiş hidroksi anisol ile beslenmesi böceğin yaşama süresini uzatmış, gelişme süresini geçiktirmiş, yumurta verimini düşürmüştür (Bains et al. 2007). *D. melanogaster*'in % 5-10 kakao ile beslenmesi SOD aktivitesini artırarak yaşam süresini uzatmıştır (Bahadorani and Hilliker 2008).

Yaşlanma, diğer biyolojik süreçlerde olduğu gibi, evrim süresince korunmuş yollarda yer alan genler tarafından regüle edilen bir durumdur. İnsulin/IGF-1 (İnsülin benzeri büyüme faktörü) yolağı, mTOR (Memelilerde rapamisin hedef proteini) yolağı ve p53 yolağı, kanser gibi yaşlanma ile ilgili hastalıklar ve ömür uzunluğunu etkileyen yollar arasında bulunurlar. İnsulin-benzeri sinyalleşmenin *Caenorhabditis elegans* (Maupas 1900)'da baskılanması ömrün uzamasını ve dayanıklı larva (Daf-c) oluşumu için gereken yapılanmayı etkiler. Bu durum oksidatif strese ve diğer stres uyaranlarına direnç oluştururken, mitokondride ROT'nin yok edilmesini sağlayan Mn-SOD gibi birçok strese karşı savunma ile ilgili enzimin

sentezlenmesini de artırır. İnsan IGF-1 reseptör geni ile kıyaslanabilen bir gen olan Daf-2 (uzun ömür geni) gen mutasyonu *C. elegans*'da, antioksidatif etkili olduğundan ömrün % 30 uzamasını sağlar. *C. elegans*'da Daf-2 geni bir insülin benzeri reseptörü kodlar, sinyal iletiminin azalması memelilerin insülin reseptörü tarafından metabolik kontrol olduğu gibi bu nematotta metabolik ve gelişimsel değişimleri uyarır.

Yaşlanma, bireyler arası genetik değişikliklerle belirlenen ve yaşlanma sürecinin hızını etkileyen farklı mekanizmalarla kontrol edilir. Genlerdeki genetik varyantlar nedeniyle oluşan insülin ve lipid metabolizma hastalıkları, metabolizmada yüksek düzeyde görülen glikolizasyon aracılığıyla doku hasarı nedeniyle ortaya çıkar. *C. elegans*, mayalar ve *Drosophila*'daki Sirtuin genleri (SIRT, antiaging) yaşlanma karşıtı genler olarak işlev yaparlar. Sirtuin proteinleri NAD⁺ bağımlı enzimler olup; diyabeti, kanseri, ömür uzunluğunu ve Parkinson hastalığını etkileyen yolaklar dahil, hücresel süreçlerin çoğunda etkili oldukları bilinmektedir.

Çok hücreli organizmalar genellikle biyolojik işlevlerin sürekli olarak bozulması ile ilişkili olarak hastalıklara hassasiyetin artması ve belirli bir süre içerisinde muhtemelen ölümle sonuçlanan değişimlere maruz kalırlar. Farklı hayvan türleri üzerinde ömür uzunluğuna oksidatif stresin etkisi genetik kanıtlarla gösterilmiştir. *C. elegans*'da *Daf-2* mutasyonu Mn-SOD enziminin aktivitesini artırarak ömür uzunluğu üzerinde etkili olmuştur (Honda and Honda 1999). *C. elegans*'ın *Daf-c* ve *clk-1* (Biyolojik saat ile ilişkili anormal protein- Clock abnormal protein 1) mutantlarında yaşama süresinin uzaması için CAT enzimi gereklidir (Taub et al. 1999).

C. elegans'ın yabanıl tiplerinde SOD ve CAT benzeri aktivite gösteren sentetik bileşikler ortalama yaşam süresini % 44 oranında uzatmaktadır (Melov et al. 2000). Ayrıca *C. elegans*'da süksinat dehidrojenaz sitokrom b enzimini inaktive eden mutasyonların, oksidatif strese *C. elegans*'ı hassaslaştırdığı ve sonuçta olgunlaşma öncesi yaşlanmaya yatkın duruma getirmektedir (Ishii 2000). *Drosophila*'nın methuselah (*mth*) mutanti serbest radikal oluşturuculara karşı direnci yüksek olup önemli derecede uzun yaşam süresine sahiptir (Lin et al. 1998). *Drosophila* ırklarında SOD ve CAT enzimlerini kodlayan genlerin ayrı birer kopyasının bulunması yaşama sürelerinin uzun olmasını sağlar (Orr and Sohal 1994, Parkes et al. 1998 a). Mn-SOD enzimi aktivitesinin *D. melanogaster*'de azalması yaşlanmayı hızlandırmaktadır (Mockett et al. 1999). Bu çalışmada optimal seviyede tutulan Mn-SOD'un

hücrede diğer antioksidan enzimler ve proteinler ile ilişkili olduğu, hücresel homeostasinin sağlanmasının hücresel antioksidanlar arasındaki dengeye bağlı olduğu belirtilmiştir.

Yaşam süresinin uzamasında *C. elegans* ve *D. melanogaster* ile yapılan çalışmalar faz II detoksifikasyon enzimlerinin önemini göstermiştir. Bu uzamada insülin/insülin büyüme faktörü sinyalindeki azalmanın da etkisi vardır. Evrimsel olarak korunan insülin ve TOR (Rapamisin hedef proteini) yolları yaşlanmanın kritik düzenleyicileridir (Kapahi et al. 2004). Besin maddelerinin algılanması ile ilgili insülin aracılığıyla sinyal iletimi yolağındaki genlerde modülasyonların *C. elegans*, *D. melanogaster*, *Saccharomyces cerevisiae* (Meyen ex E.C. Hansen), *Mus musculus* (Linnaeus 1758)'da yaşama süresini uzattığını göstermiştir (Guarente and Kenyon 2000). Dolayısıyla yaşlanmanın mekanizması hakkında omurgasız model organizmalar önemli derecede bilgi sağlamaktadır.

Diğer taraftan yaşlanmanın evrimsel ve genetik temelini belirlenmesine yönelik mutant genler ile çalışmalar sürmektedir. *C. elegans*'de yaklaşık 276 genin işlevini yitirmesi veya bunların protein ürünlerinin işlevinin değişmesi yaşama süresinin uzamasını sağlamaktadır (Partridge 2008). *D. melanogaster*'in ergin yaşamı süresince birçok farklı gen zamana bağlı olarak antioksidan enzimlerin aktivitelerini değiştirmektedir (Helfand et al. 1995, Rogina and Helfand 1996). Bayne ve Sohal (2002) karasinek *Musca domestica* (Linnaeus 1758)'da SOD/CAT mimetiklerinin daha önce *C. elegans*'da gösterildiği gibi hiperoksik durum altında ömür uzunluğunu kısalttığını gözlemlemişlerdir. Hayvanların uzun yaşamı üzerinde SOD/CAT mimetiklerinin etkisinin türe özgü olduğunu ifade etmişlerdir.

D. melanogaster'de ömür uzunluğuna gen kombinasyonlarının ve spesifik mutant genlerin etkisinin olduğunu ilk olarak ortaya koyan Gonzales (1923)'tir. *D. melanogaster*'in ergin bireylerinin çaprazlanması sonucu oluşan bireyler gözlenmiş, beş mutant genin ayrı ayrı bulunduğu bireylerden bu genlerin bir arada bulunduğu bireylerin daha uzun ömürlü oldukları söylenmiştir. *Drosophila*'da P-elementi ilaveleri ile bazı genlerin fonksiyonlarının azalarak ömür uzunluğu artmaktadır (Lin et al. 1998). Bu çalışmada *Drosophila*'nın sıcaklık, açlık, hipergravite ya da oksidatif hasar gibi streslere karşı yüksek tolerans göstererek yaşlanması geciken soylarında bazı genlerin (Cu/Zn- SOD, CAT, Hsp70 genleri gibi) aşırı ifadesi veya bir genin fonksiyonunda azalmaya yol açan mutasyonların bulunduğu belirtilmiştir.

D. melanogaster'in uzun süreli yüksek sıcaklık şoku uygulamalarında ömür uzunluğunun azaldığı, kısa süreli ve düşük seviyede uygulamalarda ise ömür uzunluğunun arttığı tespit edilmiştir (Lints and Lints 1971, Bağcı 1983, Czajka and Lee 1990, Le Bourg et al. 2001). Morrow ve Tanguay (2003) *D. melanogaster*'de ısı şoku proteinlerinden Hsp26'nın aşırı sentezinin ömür uzunluğunda % 15'lik bir artışa yol açtığını göstermişlerdir. *D. melanogaster*'de Hsp22 (mitokondriyal küçük sıcaklık şoku proteini)'nin sentezi önlendiğinde ömür uzunluğu % 40 azalmıştır (Morrow et al. 2004). Toba ve Aigaki (2000) ksenobiyotiklerin oksidatif etkisinden hücreyi korumak için mikrozomal GST-I (MGST-I)'in önemli olduğunu vurgulamışlardır. Araştırmacılar mikrozomal GST olarak belirlenen genin *Drosophila*'da insan MGST-I ile homolog olduğunu belirtmiş olup memeli karaciğerine karşılık böceklerin yağ dokusunda GST aktivitesini yüksek bulmuşlardır. Böylece MGST-I'in yaşlanma sürecinde erginlerin yaşam süresinin belirlenmesinde önemli olduğu düşünülmüştür.

D. melanogaster sahip olduğu 13.601 genden birinin (INDY geni: I am not dead yet- ben henüz ölmedim) mutasyona uğraması ömür uzunluğunun iki misli artmasını sağlar (Rogina et al. 2000). Normal sağlıklı meyve sinekleri 37 gün, iki *Indy* geninden birisi çalışmayan sinekler ortalama 70 gün, bazıları ise 110 gün kadar yaşamaktadır. Her iki *Indy* geni çalışmayan sineklerde 37 günden daha az yaşayanlar bulunmakta, ömürleri yüzde yüz artmış olan sineklerin yaşam kalitelerinde bir düşme olmadığı görülmüştür. Ayrıca bu gen mutasyonunun hücreye alınan kalori miktarını düşürmektedir (Rogina et al. 2000). Benzer şekilde, alınan kalorinin kısıtlanması yoluyla farelerde de ömür uzunluğunun % 50'ye kadar uzatabilmektedir. Sonuçta metabolizmayı yavaşlatarak insan ömrünün 150 yıla kadar çıkarılabileceği ihtimali bulunmaktadır. Memelilerde bulunan iki adet sodyum “dikarboksilaz kotransporter” geni ile *Indy* geni benzerlik göstermektedir. Dikarboksilaz kotransporterlar (NaDC1 ve NaDC3), krebs döngüsü ara bileşiklerinin membrandan geçmeleri ve yeniden kullanılmaları ile ilgilidirler. Bu genlerden birindeki mutasyon dikarboksilatların hücre içine girişini önlediğinden enerji üretimi azalmakta sonuç olarak kalori kısıtlanmaktadır (Inoue et al. 2003). Sıçanlarda ve insan dışındaki diğer primatlarda kalori kısıtlamasının yaşama süresinin uzaması ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Sohal and Weindruch 1996). *D. melanogaster*'de de besin kısıtlaması (şeker, kazein gibi) ömür uzunluğu ve yaşlanma sürecini etkilemektedir (Mair et al. 2005, Min and Tatar 2006, Ristow and Schmeisser 2011).

İleri yaşlara doğru oksidatif stresin dolaylı belirtileri olan LPO, DNA (Deoksiribo nükleik asit) oksidasyonu, PCO ile glutatyon sistein ve albumin gibi tiyol/disülfid redoks düzeylerinde

kesin değişimler olmaktadır (Nohl and Hegner 1978, Ames et al. 1993, Beckman and Ames 1998, Lee et al. 1999,). Yaşlanma sırasında mitokondriyal genomun oksidatif hasara özellikle hassas olduğuna ve mitokondri DNA'sındaki bir DNA delesyonunun iskelet kası kütlesinin azalması ile karakteristik kas lifi atrofisine sebep olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Bacak kasları üzerindeki bir çalışma 5 ile 38 aylık sıçanlarda mitokondriyal delesyonlara sahip kas liflerinin genellikle atrofi gösterdiği ve bu liflerde oksidatif nükleik asit hasarının yüksek olduğunu göstermiştir (Wanagat et al. 2001). Yaşlanma strese tepki olarak farelerde iskelet kası ve beyin dokusunda oluşmaktadır (Lee et al. 1999, 2000).

Yaşlanmanın önemli sebeplerinden biri olarak kabul edilen oksidatif stres ile ilgili insan dahil diğer memeliler üzerinde önemli çalışmalar bulunmaktadır. İnsanlarda SOD aktivitesi ve yaşlılık arasında negatif bağlantı bulunurken; CAT, GPx aktiviteleri ve MDA seviyesi ile yaşlılık arasında pozitif ilişki bulunmaktadır (İnal et al. 2001). Ayrıca eritrositdeki antioksidan enzim aktivitelerinde yaşla ilgili farklılık bulunmuş, yaşlılığa bağlı olarak peroksidatif zararın yükseldiği belirtilmiştir. Devi et al. (2004) farelerde (4 aylık genç yetişkin, 8 aylık yetişkin, 12 aylık orta yaş ve 22 aylık yaşlı) beynin farklı bölgelerinde E vitamini ve antioksidan enzimler (SOD, GPx, CAT) ile LPO ürünleri (MDA) üzerine etkisini araştırmışlardır. CAT aktivitesi, denemeye tabi tutulan farelerde hipokampus içinde önemli bir şekilde artış gösterirken, yaşa bağlı olarak enzimin E vitamin kombinasyonuna maruz kalan gruplarda artış göstermediğini belirlemişlerdir. SOD'un her iki grupta da artış göstermediğini, E vitamininin yetişkinlerde MDA içeren bölgelerde azaldığını belirlemişlerdir. Araştırmalarda, serebral korteks ve hipokampusdaki antioksidan enzimlerin yaşa bağlı olarak azalabileceğini gözlemlemişlerdir. Koyu et al. (2005) farelerde demir ile muamele sonucu eritrositlerde oksidatif değişimler üzerine E vitamininin koruyucu etkisini incelemişlerdir. Birinci gruba (n: 10) karın zarı (intraperitoneal) içine 500 mg/kg demir-dekstran, ikinci gruba 500 mg/kg demir-dekstran ve 100 mg/kg vitamin E vermişler, üçüncü grup ise kontrol grubu olmuştur. Demir-dekstranla çalışılan hayvanlarda kontrol grubuna göre eritrositdeki SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde azalma, MDA seviyesinde artma olduğunu belirlemişlerdir. Demir-dekstran ve vitamin E ile çalışılan grubun kontrol grubuyla karşılaştırılmasında üç antioksidan enzimlerin aktivitelerinde artma ve MDA seviyesinde azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Dalgıç et al. (2002) elektromanyetik radyasyonun *D. melanogaster*' in bazı mutant soylarında ömür uzunluğuna etkisini araştırmış olup dişilerin ömür uzunluğunda azalma, erkeklerin ömür uzunluğunda ise artış tespit etmişlerdir. Ashburner ve Wright (1978) ergin *Drosophila*'da

yüksek dozdaki radyasyonun somatik mutasyon birikimine neden olduğunu, ömür uzunluğunu kısalttığını, düşük dozdaki radyasyonun ise ömrü uzatıcı etkisinin olduğunu bulmuşlardır. Ömür uzunluğundaki bu artışın, muhtemelen bazı enfeksiyonların radyasyon etkisiyle azalması ya da sineğin çevresel direncinin artması sonucu olduğunu ifade etmişlerdir. Ünlü ve Bozcuk (1979) *Drosophila*'nın gelişiminin her evresi ile yaptıkları çalışmada ömür uzunluğunun, farklı türlerde, aynı türün farklı eşeylerinde ve mutantlar arasında farklılık göstereceği gibi, aynı genotipe sahip popülasyonların farklı çevresel koşullarda farklı ömür uzunluklarına sahip olabileceğini ifade etmişlerdir.

Yapılan bir başka çalışmada, farklı düzeylerde CAT aktivitesine sahip mutant soylar kullanılarak, düşük CAT aktivitesinin ve CAT aktivitesi yokluğunun ortalama ve maksimum ömür uzunluğunu etkilemediği ve antioksidan savunmada SOD ve GR aktivitelerinde farklılık olmadığı belirtilmektedir (Orr et al. 1992). Durusoy et al. (1995), *Drosophila* Oregon dişileri ve ebyon erkeklerinin çaprazlanmasıyla yaşa bağlı CAT aktivitesi ve ömür uzunluğunu değiştiğini bildirmektedirler. Ömür uzunluğunda her iki eşey kullanılırken (ebyon 42 gün, Oregon yabanıl tip 54 gün ve hibrid bireyler 66 gün), sadece erkekler kullanılarak yapılan CAT aktivitesinde ilk günlerde artış gösterdiği, sonrasında ise yavaşça azaldığı belirtilmektedir.

Hadim (2008) Adana, Mersin, Mısır ve İsrail'den toplanan pamuk yaprak kurdu *Spodoptera littoralis* (Boisd.) popülasyonlarının klorprifos, karbamat ve deltametrin insektisitlere karşı ilaç tepkilerini belirlemek ve gelişen direnç mekanizmalarının biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi amacı ile; artan direnç oranıyla doğru orantılı olarak karboksilesteraz, sitokrom P450 monooksijenaz ve GST enzim aktivitelerinin arttığını tespit etmiştir. Deltamethrin direncinin *S. littoralis*'te metabolik detoksifikasyon mekanizması sonucu olduğu ve bu mekanizmada monooksijenazlar, esterazlar ve GST'lerin etkili olduğunu düşünmektedir.

Böceklerin gelişim evrelerinde olduğu gibi omurgalı canlıların dokularında kimyasallardan etkilenmektedir. Oksidatif stres oluşturan naftaline (100 mg/kg) karşı farelerde, resveratrolün (10 mg/kg) koruyucu etkisinin zıt yönlü olarak değiştiği yani MDA düzeyi azalırken GSH düzeyinin arttığı rapor edilmiştir. Bu sonuçla ilişkili olarak resveratrolün oksidan ve antioksidan dengeyi sağlamada rolü vardır (Şener et al. 2007). Jayakumar et al. (2006) istiridye mantarlarının (*Pleurotus ostreatus* Jacq. ex Fr., P. Kumm. 1871) antioksidan

aktivitelerini yaşlı farelerin (24 aylık) başlıca organlarındaki LPO ve antioksidan durumunu genç farelerdeki (4 aylık) ile karşılaştırmışlardır. Yaşlı farelerin beyin, kalp, böbrekler ve karaciğerinde yükseltilmiş MDA seviyesi, GSH, vitamin C ve E nin değerlerini genç farelerdeki değerlerle karşılaştırmışlardır. Yaşlı farelerin beyin, kalp, böbrek ve karaciğerinde CAT, SOD ve GPx aktivitelerinde önemli bir azalma gözlemlenmiştir. Bu çalışmada *P. ostreatus* ekstraktının verildiği yaşlı farelerde GSH, vitamin C ve E miktarının yükseldiği; CAT, SOD ve GPx'in aktivitelerinin arttığı bu parametredeki değerlerin genç farelerinkinden farklı olmadığını belirtmişlerdir. Ek olarak yaşlı farelerde MDA seviyesinin azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlar antioksidan özelliğe sahip *P. ostreatus* ekstraktı ile muamele etmenin yaşlılık esnasında antioksidan durumunun düzeltilebileceği, bu yüzden yaşlılığın meydana gelmesinin mümkün olduğu kadar azaltılabileceği şeklindedir.

Jolitha et al. (2006) fare beyininde yer alan hipokampus, beyincik ve beyin zarı korteksindeki PO, LPO ve SOD'un yaşlılıkla ilgili değişimlerine E vitaminin ve egzersizin etkisini araştırmışlardır. Bunun için erkek Wistar albino fareleri (4 aylık-yetişkin fare, 12 aylık-orta yaşlı ve 18 aylık-yaşlı fare) % 3 yoğunlukta E vitamini ile oral yolla beslemiş ve farklı periyotlarla (günde 30 dk, haftada 5 gün ve 30 gün) yüzme alıştırmalarına tabi tutulmuşlardır. Yaşlı farelerdeki hipokampusdaki SOD aktivitesi en yüksek iken beyin zarı korteksinde toplam SOD azalmasının yaşa bağlı olduğunu görmüşlerdir. Yaşlı deneklerde vitamin E'nin SOD'yi arttırdığını gözlemişlerdir. Yaşlı ve orta yaşlı deneklerde Mn-SOD, yetişkin deneklerde ve yapılan denemelerde ise Cu/Zn-SOD arttığını belirtmişlerdir. Hatao et al. (2006) yüksek konsantrasyondaki oksijenin, direkt olarak açığa çıkmasıyla hedef organ olan akciğerde hücresel hasara neden olabileceğini belirtmişlerdir. Bu amaçla genç (4 aylık) ve yaşlı (26 aylık) erkek Wistar farelerin akciğerinde Mn-SOD, Cu/Zn-SOD yaşlılıkla artarken, yaşlılığın GPx, CAT ya da TrxR aktivitesine tesir etmediği belirtilmiştir.

Yargıçoğlu et al. (2007) İsviçre kökenli albino erkek farelerde (3 aylık genç, 12 aylık orta yaş ve 24 aylık yaşlı) TBARS (plazma lipid protein düzeyi), SOD, GPx ve CAT kullanılarak kükürt dioksit (SO₂)'in öğrenmeden kaçınma üzerindeki etkisini araştırmışlardır. SO₂ takviyesi ile genç gruplarda öğrenmeden kaçınmanın önemli bir derecede azaldığı fakat orta yaş ve diğer yaşlı benzer kontrol grupları ile kıyaslandığında bu parametrenin hiçbir etkisinin olmadığını belirlemişlerdir. SO₂ takviyesi sonucu Cu/Zn-SOD aktivitesi tüm deney grupları kontrol gruplarıyla kıyaslandığında arttığı, GPx aktivitesinin azaldığı şeklindedir. SO₂ verilen grupların TBARS oranları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında arttığı belirtilmiştir.

Lambertucci et al. (2007) genç ve yaşlı farelerden alınan kas örneklerinde yaşlanma ile birlikte mRNA oranı ile antioksidan enzimler CAT, GPx, Cu/Zn ve Mn-SOD aktivitesinde belirgin bir artış olduğunu gözlemişlerdir. Yaşlı fareler, genç farelerle kıyaslandığında 8,3 katlık bir fazlalığın ortaya çıktığını ifade etmişlerdir.

Serbes (2011) piretroid insektisit ciflutrin, imidakloprit ve karışım uygulamalarının (1, 7 ve 15 gün süreyle) *C. carpio*'da beyin ve karaciğer dokularında glutatyon, MDA ve PCO düzeylerinde etkilerini gözlemiş, pestisitlerin ayrı ayrı ve karışım uygulamalarının etkisiyle oksidatif stresin indüklenerek PO ve LPO yoluyla oksidatif hasar oluşabileceğini belirtmiştir. *Oreochromis niloticus* (L.)'un diazinonun (0,1-1 ve 2 ppm) subletal derişimlerinin etkisine (1, 7, 15 ve 30 gün boyunca) bırakılması solungaç dokusunda MDA miktarını değiştirmezken, kas ve böbrek dokularında yüksek derişim ve uzun süreli uygulamalarda MDA miktarı artmıştır. Kas ve böbrek dokusunda protein miktarı azalmıştır (Durmaz et al. 2006).

Norveç'in ağır metal kirliliğinin tespit edildiği Visnes bölgesinden yakalanan *Symphodus melops* (L.)'da PCO miktarının plazmada kontrol gruplarına göre (Salvoy bölgesinden yakalanan) önemli derecede arttığı bu artışın oksidatif stresden kaynaklandığı belirlenmiştir (Almroth et al. 2010). 15 gün süre ile 3,4 dikloroanilin etkisine bırakılan *Carassius auratus* (L.)'un karaciğer dokusunda GSH miktarının azaldığı, MDA miktarının arttığı bildirilmiştir (Li et al. 2003).

Piretroid grubu insektisitlerden deltametrin ve kadmiyum Kılıçkuyruk balıklarında (*Xiphophorus hellerii* Heckel 1848) solungaç dokularında oksidatif stres oluşturma potansiyelleri ve antioksidan sistemler üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, Kimyasalların solungaç dokusundaki protein miktarlarında artış olduğu, 0.2 ppm deltametrin grubunda MDA miktarının azaldığı, diğer gruplarda arttığı belirlenmiştir. GSH'da ve CAT aktivitesinde tüm gruplarda belirgin bir azalma meydana gelmiştir (Kaymak 2011). İnsanda belirlenen 300 hastalık geninin yaklaşık % 61'inin *Drosophila* genomunda da bulunduğu bilinmesi (Hodgkin 2000), ayrıca *Drosophila*'nın insanda oksidatif stresle ilişkili olan Parkinson, Alzheimer, Huntington gibi hastalıklar ve nörodejeneratif bozuklukların başarılı bir şekilde araştırılmasında kullanılması (Missirlis 2001); kısa jenerasyon zamanlı olması, yaşlanmanın genetik belirteçlerinin araştırılması ve serbest radikallerin yaşlanma ve ömür uzunluğu üzerine etkilerinin antioksidan sistemlerle engellenmesi ile ilgili araştırmalarda *Drosophila*'yı sıklıkla kullanılır hale getirmektedir (Li et. al 2007).

2.2.1 Yaşlanmanın Mitokondriyal Temeli

Ökaryotlarda mitokondri iç zarındaki solunum zinciri ROT oluşumu için önemli hücre içi kaynaktır. ROT'lar oldukça reaktif ve kısa ömürlü olduğundan mitokondri sürekli olarak bu ROT'lara maruz kalır. Böylece hücrenin diğer organellerine ve bölümlerine göre daha hızlı bir şekilde oksidatif hasara uğrar (Kowaltowski and Vercesi 1999). Bazı koruyucu enzimler ve proteinler mitokondrideki oksidatif stresin zararlı etkisini en aza indirmek, mitokondri ve hücrenin diğer organel ve bölümlerindeki işlevini normal yürütmek için iş görür (Andreoli et al. 2004). Bunların arasında Mn-SOD (SOD2), glutaredoksin 5 (Grx-5), peroksiredoksin (Prx1), tiyoredoksin (Trx3), sitokrom c peroksidaz (CcP), Cu/Zn-SOD (SOD1), gliksilaz-II (Glo4), tiyoredoksin redüktaz (Trr2), Glutaredoksin 2 (Grx2), bakırlı şaperon (Ccs1) (Ünlü and Koç 2007) gibi enzim ve proteinler bulunur. Bu enzimlerin bazıları serbest radikallerin süpürülmesinde doğrudan bir role sahiptir. Örneğin SOD, $O_2^{\cdot-}$ anyonunu H_2O_2 'ye sonra H_2O_2 , CAT ve POX ile detoksifiye edilerek moleküler oksijen ve suya dönüştürülür (Jensen et al. 2000). Antioksidan savunmanın ikinci hattını oksidatif hasara uğrayan bileşenlerin ürünlerini tamir eden enzimler oluşturmaktadır (Moradas-Ferreira et al. 1996). Hastalık, eğer oksidatif strese karşı savunma mekanizması zayıflatılırsa ortaya çıkabilir. Mitokondriyel oksidatif hasar insanlarda nörodejeneratif hastalıklar, kanser ve yaşlanmaya neden olur (Singh 1998). Hücre yaşlanmasında mitokondriyal antioksidan genlerin rolünü anlamak için *S. cerevisiae* iyi bir model organizmadır. *D. melanogaster* de hayat süresinin kısa olması ve genetiğinin iyi bilinmesi sebebiyle kullanılmaktadır. Maya hücrelerinden *SOD1*, *SOD2* gibi bazı antioksidan enzim genleri ve *Ccs1* geni çıkarıldığında hücrelerin yaşam süresi önemli derecede kısalmaktadır. Yaşam süresi *SOD1* geni mutantlarında % 40, *SOD2* mutantlarında % 72 oranında, *Ccs1* mutantlarında ise % 50 oranında kısalmaktadır (Ünlü and Koç 2007). SOD enziminin maya hücrelerinde yaşlanma üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (Barker 1999, Bonawitz et al. 2006).

Bazı çalışmalarda farelerde antioksidan enzimlerin makromoleküllerdeki oksidatif hasarın birikmesini azaltarak oksidatif strese karşı bir koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermesine rağmen, Huang et al. (2000) transgenik farelerde iki veya beş katı sentezlenen SOD2 enziminin yaşama süresinin uzamasında etkili olmadığını belirtmiştir. Buna karşılık, transgenik farelerin mitokondrilerindeki CAT enziminin aktivitesindeki artış yaşama süresini % 21 oranında artırmıştır (Schriner et al. 2005). Farklı memeli türleri ile yapılan çalışmalar sonucunda kısa yaşayan türlerin mitokondrileri uzun yaşayan türlerin mitokondrilerine göre

daha fazla H₂O₂ ürettikleri bulunmuştur (Ku et al. 1993 b). Yaşlanma ile birlikte oksidatif hasardan en fazla etkilenen mitokondriyal DNA ve diğer biyomoleküllerdir. Aşırı üretilen serbest radikallerin sebep olduğu protein hasarının rolü hücre yaşlanmasında oldukça büyüktür. Yaşlanma sırasında PO bağlı olarak bazı enzimlerin katalitik bakımdan daha az aktif ya da inaktif formları oluşabilmektedir. Translasyon sonrası modifikasyonlarla inaktif proteinlerin birikmektedir. Bu modifikasyonların çoğu oksijen radikallerinin aracılık ettiği enzim oksidasyonu ile sonuçlanır. Oksidatif hasar belirli mitokondriyal proteinlerde görülebilir. Örneğin mitokondriyal akonitaz enzimi kara sineğin yaşlanma sürecinde sitrik asit döngüsünün bir enzimidir ve oksidatif hasarın spesifik hedefi olduğu belirtilmiştir (Yan et al. 1997).

Gençlere göre yaşlı hayvan hücrelerinde daha fazla çoklu doymamış yağ asiti bulunur, bu durum hücre zarlarını oksidatif hasara daha hassas duruma getirir (Laganier and Yu 1993). Ayrıca türlerin maksimum yaşama süreleri mitokondriyal lipidlerin oksidatif hasara olan hassaslıklarına da bağlıdır. Sekiz farklı memeli türünde karaciğer mitokondrilerindeki yağ asitlerinin analizi; çift bağ sayısı ve mitokondri zarı lipidlerinin oksidatif peroksidasyona hassaslığının maksimum yaşama süresi ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir (Pamplona et al. 1998). Böylece yağ asitlerinin düşük derecedeki doymamışlığı metabolik hızlarına bakılmaksızın uzun yaşayan hayvanların bir karakteristiğidir (Pamplona et al. 1999). Mitokondriyal lipid bileşiminin en önemli değişimi kardiyolipin bileşimindeki yaşa bağımlı azalmadır ki; kalp, karaciğer ve beyinde sinaps dışındaki mitokondrilerde yaşa bağlı olarak azalmaktadır (Pamplona et al. 1999). Yaşlanma sürecinde mitokondride LPO ve oksidatif olarak modifikasyona uğrayan proteinlerin birlikte artması mitokondriyal DNA da mutasyon ve oksidatif hasarı daha da artırır. Defektli mtDNA tarafından kodlanan proteinleri içeren solunum enzimleri ROT üretimini artırabilir. Mitokondrilerde solunum sırasında üretilen süperoksit radikalleri, daha reaktif olan peroksinitrit oluşturmak üzere nitrik oksit ile reaksiyona da girebilmektedir.

2.2.2 Yaşlanmanın Mekanizması

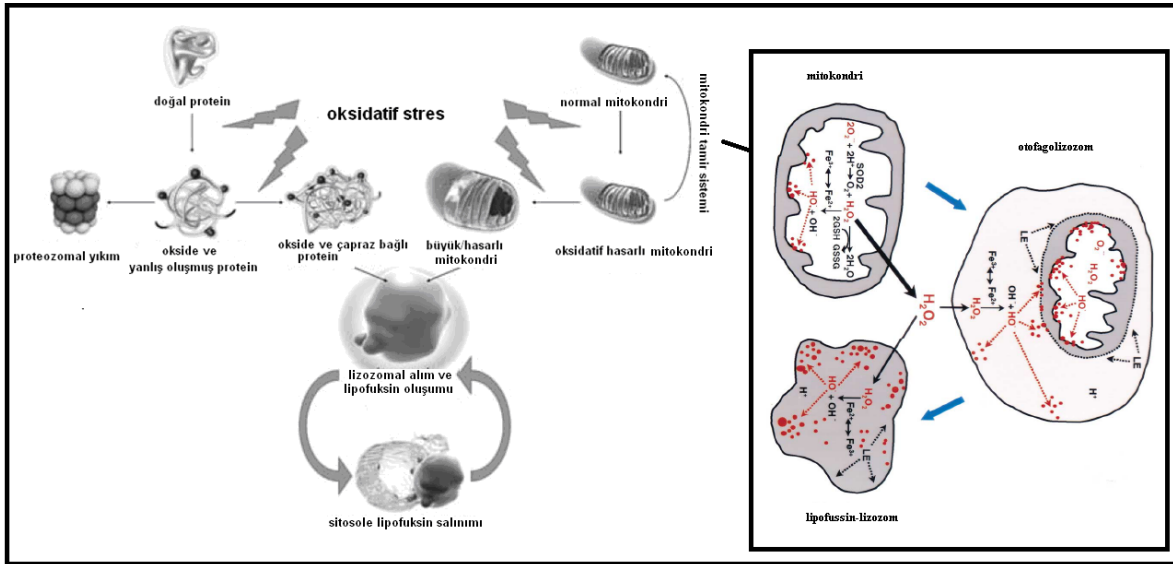
Canlıların yaşama süreleri birbirlerinden oldukça farklıdır. İnsanlar memeliler arasında en uzun ömre sahip olanıdır. Yaşlanmayı tayin eden biyolojik faktörler hakkında çok çeşitli çalışmalar yapılmış ve teoriler ileri sürülmüş olmasının yanında tek başına kabul edilmiş ve ispatlanmış hiçbir teori yoktur. Aksine yaşlanmanın iç ve dış birçok faktörün ortak etkilerinin bir sonucu olduğu sonucuna varılmıştır. İnsan hücrelerinin çoğalma kabiliyeti olan kültür ortamında sürekli çoğalmaları beklenirken yapılan denemelerde normal fibroblastların kültür ortamındaki ikilenme kapasitesinin (hücre sayısının ikiye çıkması) sınırlı olduğu ve çoğalmanın belli bir limitten sonra kendiliğinden durduğu (hayflick olayı) görülmüştür. Ancak, hücrelerin alındığı insanın yaşına bağlı olarak hücrelerin ikilenme kapasitesinin olduğu anlaşılmıştır. Yani, yaşın artması hücrelerin ikilenme kapasitesini azaltmaktadır.

Sonraki çalışmalar, yaşlanmanın iki önemli biyolojik olayın uzun süreli toksik yan etkilerinin bir sonucu olduğu fikrini ortaya çıkarmıştır. Bunlar gelişme ve farklılaşma olayları ile enerji üreten metabolik olaylardır. Dolayısı ile gelişme hızı yavaşlatıldığında yaşlanmanın yavaşlayacağına inanılmaktadır. Metabolizma hızı ile yaşlanmanın ters orantılı olduğu kaydedilmiştir. Hızlı metabolizmada oksijen tüketimi ve bunun neticesinde serbest radikal üretimi artar ve yaşlanmayı hızlandırır. Harman tarafından 1956 yılında ortaya atılan bu teoriye göre "yaşlanma, normal hayat süresince meydana gelen serbest radikallerin sebep olduğu yıkımların bir sonucudur". Buna göre, metabolizması hızlı, fazla oksijen tüketimi olan ve böylece serbest radikal üretimi fazla olan canlılar daha kısa, az olanlar uzun ömürlü olacaklardır. Burada antioksidan savunma sistemleri de önemli rol oynar. Mesela, memeliler arasında en uzun ömre sahip olan insanlarda antioksidan bir enzim olan SOD aktivitesi en yüksek, en kısa ömürlü olan farelerde ise en düşüktür. Hatta insan ömrünün de antioksidan savunma sisteminin zamanla yetersiz kalması sonucu bir yerde sonlandığı ileri sürülmüştür.

Meyve sineği *D. melanogaster* üzerinde yapılan bir çalışmada, genetik değişimler sonucu sineklerin daha uzun ömürlü olmaları sağlanmıştır. Bu sineklerde en önemli değişikliğin SOD'nin daha aktif bir formunun üretilmesi olduğu belirtilmiştir. Yine, antioksidan aktivitenin daha uzun süre yaşamaları sağlanan mutant solucanlarda daha yüksek seviyede olduğu bulunmuştur. İyonize radyasyon Serbest radikal oluşumunu artırır, yaşlanmaya benzer bir tablo meydana getirir ve yaşama süresini kısaltır. Dokuların spontan otooksidasyona karşı olan dirençleri yaşla birlikte azalmaktadır. Doku antioksidan konsantrasyonu ile uzun yaş

arasında ise pozitif bir ilişki vardır. Oksidatif hasardan en fazla zararı mitokondrial DNA görmektedir. Mitokondrial DNA yaşlı insanlarda önemli miktarda hasara uğramaktadır.

Yaşla birlikte lipid peroksidlerinin parçalanma ürünleri de artarlar. Bu ürünlerin klasik örneği "kromolipidler" veya "yaş pigmentleri" adı verilen "lipofuksin" (lipofuscin) ve "ceroid" (doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan oksitlenmiş çoklu doymamış lipid pigmentleri)'dir. LPO ürünlerinin amino asit, protein, fosfolipid ve DNA'daki primer amino grupları ile reaksiyonları sonucu meydana gelirler. Lipofuksin sentezi yaşla birlikte artar ve memelilerde özellikle sinir sistemi, kalp ve kas hücreleri gibi postmitotik (bölünmeyen), hücrelerde birikir. Lipofuksinin normal lipidlerin lizozomlarda metaller tarafından katalizlenen peroksidasyon reaksiyonları sonucunda oluştuğunu gösteren bulgular vardır.



Şekil 2.2 Oksidatif Stres ve Lipofuksin Oluşumu (Brunk and Terman 2002, Jung et al. 2007).

Genç ratlarda düşük lipofuksin miktarının 29. aya doğru arttığı (Jung et al. 2007) ve kolşisin uygulanan fare beyin hücrelerinde toksik etki oluşturarak lipofuksinin farklı dokularda yaşa bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir (Gorenstein et al. 1985). 10 g/kg/d arı poleniyle oral olarak beslenen NIH faresinin kalp kasında lipofuksin azalmaktadır (Liu and Li 1990). Yaşlanma ve ömür uzunlunun etkisiyle lipofuksin; istakoz, yengeç, kerevit ve karides gibi canlılarda sarı-kahverengi kümeler halinde beyinde bulunmaktadır (Vogt 2012). Midyede (*Mytilus edulis* L. ve *Mytilus galloprovincialis* Lamarck 1819) anoksi, hipertermi, paraquat ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi ksenobiyotikler, bakır ve besin yokluğunda lipofuksin miktarında artış oluşturmaktadır. Lipofuksin, Schmorl reaksiyonu kullanılarak boyanmış ve

mikrodansitometre ile hepatopankreatik hücrelerde ölçülmektedir (Moore et al. 2007). Mürekkap balığı *Sepia officinalis* (Linnaeus 1758) ve *Lolliguncula brevis* (Blainville 1823) (Cephalopod)'da; SOD ve GPX aktivitelerinin yaşla arttığı, CAT aktivitesinin düştüğü, kas ve beyin dokusunda MDA ve lipofuksin miktarının arttığı tespit edilmiştir (Zielinski and Pörtner 2000). Besin ortamına şeker kaynağı olarak sukroz yerine galaktoz konulan ergin *D. melanogaster* ve karasinek *M. domestica*'da ömür uzunluğunun kısaldığı ancak MDA ve lipofuksin miktarının arttığı SOD aktivitesinin ise azaldığı gösterilmiştir (Jordens et al. 1999, Cui et al. 2004).

İpekotu böceğinde (*O. fasciatus*, Hemiptera) dokulardaki floresan yaş pigmenti, yüksek sıcaklık, LPO, yaş ve metabolizmayla doğru orantılı olarak hızla artmaktadır (McArthur and Sohal 1982). Afrika göçmen çekirgesinde (*Locusta migratoria* L.) konfokal lazer taraması ile yapılan bir araştırmada nöral lipofuksin konsantrasyonunun yaşlanma sürecinde oksidatif hasardan oluşabileceğini ifade edilmiştir (Fonseca et al. 2005). Erkek evsineği *M. domestica*'nın baş lizozomal enzim aktivitesi ve beyin sinirlerinde lipofuksin birikimi yaşlı ve düşük aktivitedeki sineklerde maksimumdur (Sohal and Donato 1979). Erkek *D. melanogaster*'in oksijen-azot (1:1)'etkisi altında kalmaları oksijen zehirlenmesiyle yapısal değişikliklere yol açmakta; beyin, sinirler ve iç organlarda lipofuksin birikmektedir. Hücre organellerinin peroksidanlar tarafından yaralanmalarıyla lipofuksin birikmektedir (Miquel et al. 1975). *D. melanogaster*'de yaşlanmadaki değişiklikler, elektron mikroskopisi ile malpigi tüplerinde ribozomal kayıplar ve orta barsak hücrelerinde lipofuksin birikimi, 27 ve 29°C'de 21°C'ye göre daha yoğun olarak görülmektedir (Miquel et al. 1976). Ayrıca lipofuksin birikimi ev sineklerinin ölüm oranını arttırmakta ve popülasyonunu azaltmaktadır (Donato et al. 1979). Hayvanlarda ve *D. melanogaster*'de metabolizma hızının artması durumunda, H₂O₂ gibi oksijen türlerinin aktivasyonu ile lipofuksin yükselmektedir (Fleming et al. 1992). Bal arıları ile yapılan bir çalışmada (Hsieh and Hsu 2011), trofosit ve yağ hücrelerinde; konfokal mikroskop ile lipofuksin granüllerinin, LPO'nu (MDA miktarı ölçülerek), PO (PCO miktarı ölçülerek) yaşla birlikte arttığı, telomeraz aktivitesinde ise değişme olmadığı belirtilmiştir. *D. melanogaster* spinter (spin) mutandı pupasında santral sinir yıkımı sırasında (programlanmış hücre ölümünde) transmisyon elektron mikroskobu ile glial hücre yüzeyinde abdominal gangliyonda lipofuksin oluşumu gözlenmiş, lipit ekstraksiyonu gerçekleştirilerek floresan spektrofotometrede spin mutandın başında 30,2 ± 0,17 pmol/mg, yabanil tipte 21,5 ± 0,24 ve 51,0 ± 6,3 pmol/mg olarak hesaplamışlardır (Nakano et al. 2001). Böceklerde yaşa bağlı

olarak oksijen alınımıyla birlikte beyinde mitokondriyal yapı değişmekte ve lipofuksin depolanmaktadır (Kern and Wegener 1984).

Bazı bulgular yaşlanmada serbest radikal teorisi ile çelişkidir. Mesela, serbest oksijen radikallerinin önemli bir kaynağı olan sitokrom P450'nin aktivitesi yaş ile ters orantılıdır. Yaşla birlikte CAT ve GPx aktivitesi artar. Yaşlanma ile birlikte glutatyon miktarı azalmakta, bu azalmanın yaşlanmanın sebebini yoksa sonucumu olduğu belli değildir. Bununla beraber, glutatyon metabolizmasını düzenleyen enzimlerde veya diğer mekanizmalarda yaşlanmaya bağlı olarak herhangi bir biyokimyasal değişikliğin meydana gelmediğinin ispatlanması halinde, bu azalmanın, in vivo oksidatif stresteki artışın önemli bir göstergesi, dolayısı ile yaşlanmanın ciddi bir sebebi olabileceğine inanılmaktadır.

Çoklu doymamış yağ asidi miktarı beyinde fazladır. Bu yağ asitleri serbest radikallerin oluşturduğu LPO'na karşı çok hassastırlar. Dolayısı ile yaşlanmada serbest radikallerin beyin üzerindeki etkileri önemli olmasına rağmen ispatlanamamıştır. Aksine, ratların beyin homojenatları üzerinde yapılan araştırmalarda yaş arttıkça TBARS reaktivitesinin azaldığı görülmüştür. Ayrıca, beynin serebrum, bazal ganglia serebellum, medulla ve servikal kord bölgelerindeki SOD, GPx ve CAT aktivitelerinin değişmediği gösterilmiştir. Sonuç olarak, bütün bulgulara rağmen serbest radikallerin yaşlanmanın sebebini yoksa sonucumu olduğunu söylemek zordur. Ancak, yaşlanma olayını radikaller hızlandırmakta ve yaşlanma ile beraber ortaya çıkan birçok hastalığın patogenezinde önemli rol oynamaktadırlar.

Tüm işlevlerde azalmaya neden olan ve her canlıda görülen yaşlanma, evrensel bir süreç olarak tanımlanabilir. İnsan vücudunun, organ ve sistemlerinde zamanın ilerlemesi ile ortaya çıkan, geriye dönüşü olmayan yapısal ve işlevsel değişikliklerin tümüdür. Doğal ve kademeli bir değişim olarak ifade edilen yaşlanma, organizmanın zaman içinde aşama aşama dış uyarılara yeterince uyum gösterememesidir. Saçların ağarması, hareketlerin yavaşlaması, görmenin zayıflaması şeklinde yaşlanma bedenin bütün yüzeylerinde görülür (Hippkiss 2004, Ferrari 2007).

Yaşlanma olayının ana mekanizmaları moleküler düzeyden organ sistemlerinin fonksiyonel düzeylerine kadar uzanan süreçle meydana gelen spesifik değişiklikleri kapsar. Yaşlanmanın temel prensip ve özelliklerini açıklamaya çalışan biyolojik mekanizmalar genellikle teori seviyesindedir ve hiçbiri tek başına yaşlanmayı açıklamak için yeterli değildir. Oksidatif stres

ve serbest radikaller ile ilişkili olan mitokondriyal hasar, epifiz-melatonin ve telomer kısalması (Hepkiss 2004) teorileri yaşlanmaya neden olan mekanizmalarla ilişkili teorilerdendir.

Serbest oksijen radikallerine ait metabolizma mitokondriyal olarak yürütülmektedir. Yaşın ilerlemesi ile birlikte çizgili kasta, kalp kasında, diyaframda ve beyinde de mitokondriyal DNA hasarı gelişir. Mitokondriyal hasarlar sadece dokularda değil Parkinson, Alzheimer ve diğer yaşla artan hareket bozukluklarında da artmaktadır. Beyinde bulunan nöroendokrin bir organ olan pineal bez, dış çevrenin aydınlık ve karanlık olmasına göre organizmanın başta endokrin sistem olmak üzere birçok sistemin fonksiyonundaki değişiklikleri düzenler. Melatonin, yaşlanma ile birlikte gittikçe azalan güçlü bir antioksidandır. Melatonin sirkadiyen ritimler, uyku, ruhsal durum, üreme, tümör gelişimi ve yaşlanma gibi birçok olayın biyolojik regülasyonunda rolü bulunmaktadır. Hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda melatonin güçlü bir serbest radikal süpürücü ajan olduğu gösterilmiştir. Oldukça toksik olan hidroksil radikalleri başta olmak üzere diğer serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasardan makromolekülleri özellikle DNA'yı koruyabilir. DNA hasarı oluşturan radikaller hücrede nükleer bir enzim olan poli-ADP (PARS) riboz sentazı aktive ederler. Bu enzim, DNA tek zincirinin kırılması ile aktive olur ve hücrelerde şiddetli enerji tüketimine yol açarak hücre ölüme neden olur. Melatonin bunu engeller.

Kromozom uçlarında altı tane bazın tekrarından oluşan DNA dizinlerine telomer adı derilir. Bu altı baz insanlarda TTAGGG şeklindedir ve 5-7 bin kez tekrarlanır. Tekrarları her hücre bölünmesinde kısalan telomerler, kromozomun fiziksel yapısını korurlar. Kritik uzunluğa erişen telomerler hücre bölünmesini durdurur. Telomerler memeli hücrelerinde bilinen tek RNA-revers transkriptaz (ters transkriptaz) olan telomeraz tarafından sentezlenirler. 1990'ların başında Blackburn tarafından bulunmuştur (Shippen-Lentz and Blackburn 1990). Normal DNA sentezi DNA'yı kalıp olarak kullanarak yeni DNA sentezlerken, telomeraz RNA virüslerinde olduğu gibi protein yapısına katılan RNA'yı kalıp olarak kullanarak DNA sentezler. Telomeraz hipotezi 1971 yılında Olevnikow tarafından ortaya atılmıştır. Olevnikov teorik olarak normal DNA sentez mekanizmalarıyla kromozomların uçlarının sentezlenemeyeceğini ileri sürmüştür. Ancak deneysel olarak 1980'lerin sonunda telomerlerin her hücre bölünmesinde kısaldığı gösterilmiştir. Hücrenin ve hücrelerden oluşan organizmaların yaşlanmasını tetikleyen bu dizinler, telomerler tarafında onarılsada tam bir geri dönüşüm yaratmaz ve telomerler belirli bir kısalığa geldiklerinde hücre, bölünme

eylemine tamamen durdurarak yıkım sürecine girer. Genetikçiler hem yaşlanmayı hemde kanseri önleme amaçlı araştırmalarında birincil dayanak noktaları bu küçük DNA dizinleri olmuştur. Ortalıkta telomeraz varsa bölünme sürekli devam eder.

Elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturan serbest radikaller, yaşam için gereklidirler. Oksidasyona neden olan serbest radikaller temel olarak oksijen kaynaklı metabolitler olan; $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , hidroksil radikali (OH^{\cdot}), ve ayrıca hipoklorik asit, kloroaminler, azotdioksit, ozon ve lipit peroksitlerdir. Bunlar organizmalar tarafından hücre içinde mitokondriyal solunum zincirinde ya da hücre dışında özellikle fagositler tarafından oluşturulur. Serbest radikaller kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasara neden olurlar. Bilim adamları serbest radikallerin 1954'lerden beri hücre hasarı, yaşlanma ve dejeneratif hastalıklara neden olduğunu belirtmişlerdir.

Çevrede çeşitli fiziksel ve kimyasal olaylar nedeniyle içinde bulunduğumuz sürekli bir radikal oluşumu vardır. Hücrelerdeki metabolik olaylar sırasında farklı tür ve miktarlarda radikaller (pozitif yüklü veya yüksüz) oluşmaktadır. Radikaller başlıca 3 temel mekanizmayla; kovalent bağların homolitik kırılması, normal bir molekülün elektron kaybetmesi ve normal bir moleküle elektron transferi şeklinde oluşurlar (Cheeseman and Slater 1993). Kimyasal bağların kırılmasına yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar veya yüksek sıcaklık neden olur. Homolitik kırılma, kırılma arasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa olur. Organik moleküllerdeki bağların heterolitik kırılması durumunda zıt yüklü iyon çiftleri oluşur ve bu türler de reaktiflerdir. Radikal form, radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa oluşur. Örneğin askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller (E vitamini) gibi hücrenel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formları oluşur. GSH radikalleri indirgerken, kendisinin tiyil radikali oluşur (GS^{\cdot}). İki tiyil radikalinin birbiriyle tepkimesi sonucu oluşan tür ise glutatyonun oksitlenmiş ($GSSG$) formudur.

Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa, bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan $O_2^{\cdot-}$ oluşumuna neden olur. Bu mekanizma ile radikal yapımı biyolojik sistemlerde yaygın olarak gerçekteşiğinden canlılar için önemlidir. Çok sayıda enzimatik olmayan tepkimelerle

canlılarda $O_2^{\cdot-}$ üretilir. Oksijenin diğer radikal türlerinin ve diğer atom merkezli radikallerinin oluşumu için $O_2^{\cdot-}$ radikalinin yapımındaki artış, etkin rol oynar (Akkuş 1995).

Vücudun savunma mekanizması olan antioksidan sistem ile sağlıklı bireylerde normal metabolizma sonucunda oluşan ROT uzaklaştırılır. Sağlıklı organizmada oksijen radikalleri ile antioksidan savunma mekanizması tam bir denge halinde çalışır. Oksidatif stres, bu dengenin radikallerin lehine bozulması ile ortaya çıkar. Günümüzde yaşlılık ve oksidatif stres arasındaki ilişki bilimsel açıdan tartışılmaktadır. Oksidatif stres biyolojik molekülleri etkilediği için yaşlılık ile ilgili en önemli olgulardan biri olarak düşünülmektedir. Bokov et al. (2004) yaşlılığın oksidatif/serbest radikal teorisinin ve yaşlılık için bir belirleyici olarak alınan oksidatif stresin kritik değerlerini ortaya koymuşlardır. Oksidatif stres ROT'lerinin üretimi ve antioksidan savunma arasındaki dengeyi bozucu olarak tanımlanabilir veya hücrel oksidatif reaksiyonların kontrol dışı olduğu metabolik durum olarak tanımlanabilir. Oksijen metabolizması bir taraftan yaşam için temel iken, diğer taraftan uzun vadede toksik etkiye sahiptir (Kaur et al. 2007).

Çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlerle canlılarda oksijen bulunan bir ortamda oksijen radikalleri oluşabilir. Özellikle oksijenin metabolize edildiği canlılarda önemli derişimlerde radikal üretimi olmaktadır. Hücrelerde oluşabilen oksijen radikalleri ile oksijen içeren reaktif türlerin önemli olanları Çizelge 2.1'de görülmektedir. Oksijen radikalleri dış kaynaklı (ekzojen) ve iç kaynaklı (endojen) olarak oluşmaktadır. Normal metabolik olaylar sırasında ara ürün olarak oluşabilmektedirler. Bu radikaller belirli seviyenin üzerine çıktığı zaman canlı için ciddi tehlikeler oluşturmaktadırlar. Ancak tamamen istenmeyen yapılar değildirler ve fizyolojik işlevlerde aracı olarak bulunmaları gerekmektedir.

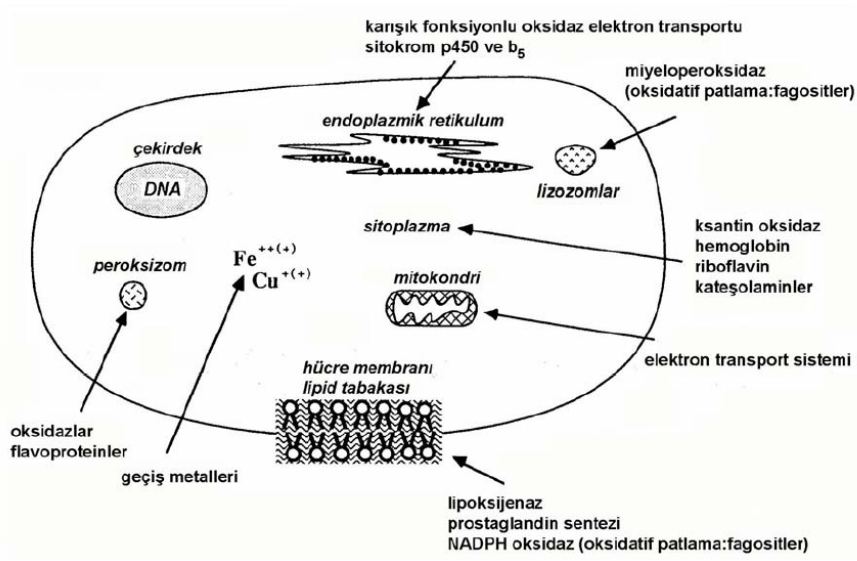
Çizelge 2.1 Oksijen ve Nitrik Oksitten Oluşan Başlıca Reaktif Türler.

| Kısaltma | Tür adı | Kısaltma | Tür adı |
|-----------------|--------------------|----------------|------------------------|
| 1O_2 | Tekli oksijen | HO_2^{\cdot} | Hidroperoksil radikali |
| $O_2^{\cdot-}$ | Süperoksit | NO^{\cdot} | Nitrik oksit |
| H_2O_2 | Hidrojen peroksit | NO_2 | Azot dioksit |
| OH^{\cdot} | Hidroksil radikali | NO_2^+ | Nitril katyonu |
| ROO^{\cdot} | Peroksil radikali | $ONOO^-$ | Peroksinitrit anyonu |
| $ROOOH^{\cdot}$ | Hidroperoksit | $ONOO^{\cdot}$ | Peroksinitrit radikali |
| RO^{\cdot} | Alkoksil radikali | N_2O_3 | Diazot trioksit |

Harman (1956) tarafından biyolojik sistemde serbest radikallerin varlığı in vivo enzimatik reaksiyonların yan ürünleri olarak oksijen radikallerinin oluşabileceğini ileri sürülmesi ile anlaşılmıştır. Serbest radikallerin hücresel hasar, mutasyon, kanser ve biyolojik yaşlanmadan sorumlu olabileceği belirtilmiştir (Harman 1956, 1981). Canlılardaki serbest radikaller McCord ve Fridovich (1969) tarafından SOD enziminin keşfinden sonra önem kazanmış ve sonuç olarak serbest radikallerin biyolojide önemli olduğu anlaşılmıştır. Birçok araştırmacı radikallerin hücredeki DNA, protein, lipid ve diğer biyomoleküller ile etkileşimleri sonucu ortaya çıkabilen oksidatif hasarlar üzerinde çalışmaktadır (Beckman and Ames 1998). Sonra serbest radikallerin yararlı biyolojik etkilerinin de tespit edildiği bir dönem başlamıştır. Yirmi birinci yüzyılın başlarında, canlıların serbest radikallerin zararlı etkilerine yalnızca adapte olmadıkları aynı zamanda bunların yararlı olarak kullanılmaları için mekanizmalar geliştirdiklerine dair çalışmalar yapılmıştır. Serbest radikaller veya bunların türevlerinin sorumlu olduğu önemli fizyolojik işlevler; damar tonusunun düzenlenmesi, oksijen basıncının algılanması ve oksijen konsantrasyonu tarafından kontrol edilen fizyolojik işlevlerin düzenlenmesi, lenfositlerin antijen reseptörlerinin de dâhil olduğu çeşitli zar reseptörlerinden sinyal iletiminin sağlanması ve redoks homeostazisinin sağlanması ve devam ettirilmesidir (Dröge 2002).

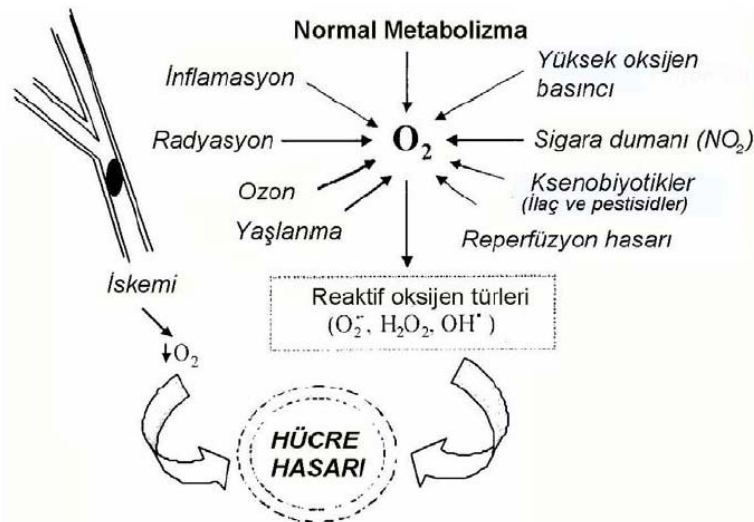
Klinisyenler tarafından da oksidatif stresin birçok hastalık durumunda önemli rol oynadığının tespit edilmesiyle redoks düzenlemesiyle ilgili çalışmalar hızlanmıştır. Serbest radikallerin zararlı ve yararlı etkileri arasındaki hassas denge, yaşamın önemli bir sürecidir. Biyolojik olarak redoks düzenlenmesi fizyoloji, hücre biyolojisi ve klinik tıbbi içine alan çeşitli bilimsel alanlarda gittikçe önem kazanmaktadır. Omurgalılar ve omurgasızlar üzerinde yapılan çalışmalarla belirli ROT ve reaktif azot türlerinin (RAT) (özellikle 1O_2 , H_2O_2 ve NO) yalnızca sitotoksik moleküller olmayıp aynı zamanda fizyolojik işlevlerde önemli sinyal molekülleri olduğu ortaya çıkarılmıştır (Franchini et al. 1995, Baeuerle et al. 1996, Adler et al. 1999, Babior 1999, Stefano and Ottaviani 2002). Anopheles cinsi sivrisinekte Plasmodium enfeksiyonuna karşı (Luckhart et al. 1998, Luckhart and Rosenberg 1999, Dimopoulos et al. 2001, Fritsche et al. 2001, Dimopoulos 2003, Kumar et al. 2003), Drosophila'da immün reaksiyonlarda (Nappi and Vass 2001, Foley and O'farrell 2003), Trypanasoma ile enfekte olmuş *Rodnius prolixus* Stal 1859 (Whitten et al. 2001) ve immün olarak uyarılmış Lepidoptera hemositlerinde (Weiske and Wiesner 1999) bu sinyal moleküllerinin bir ya da bir kaçının miktarının arttığı tespit edilmiştir. Omurgalı bağışıklık sisteminde NO 'in uzun

süreden bu yana hem koruyucu hemde oksidan etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Bogdan et al. 2000, Bogdan 2001).



Şekil 2.3 Endojen Serbest Radikal Kaynakları (Özden 2006).

Canlılarda serbest radikaller endojen kaynaklı olarak; mitokondriyal elektron transport sistemi reaksiyonları, oksijenaz enzimlerinin reaksiyonları, antimikrobiyal aktivite sırasında oluşan solunum patlaması ve otooksidasyon reaksiyonları sonucu üretilebilmektedir. Eksojen kaynaklı olarak; radyoaktivite, ultrason ve ksenobiyotikler (yabancı kimyasallar) (Sies 1991) sonucu da üretilebilmektedir.



Şekil 2.4 Eksojen Serbest Radikal Kaynakları (Özden 2006).

Vücudumuzda oluşabilen radikallerin sayısı yüzlerce farklı tür şeklinde ifade edilebilirse de, bu radikaller arasında $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , NO^{\cdot} ve OH^{\cdot} 'in özel yerleri vardır (Kenneth 1998). Bu radikaller içinde $O_2^{\cdot-}$ ve NO^{\cdot} temel radikaller sayılabilir. Çünkü $O_2^{\cdot-}$ ve NO^{\cdot} enzimatik mekanizmalarla, devamlı olarak ve önemli derişimde üretilen radikallerdir. Ayrıca bu iki radikal, biyolojik sistemlerde tanıdığımız diğer bütün önemli radikaller ile radikal yapıda olmayan reaktif türlerin oluşumunu başlatabilecek özelliktedirler. Normal biyokimyasal tepkimeler sırasında oluşan oksijen radikalleri ile çeşitli biyolojik fonksiyonları yerine getirmek üzere üretilen NO^{\cdot} derişimleri genellikle çok düşüktür. Düşük derişimlerdeki reaktif türler, hücrelerin antioksidan sistemleri tarafından aktif olmayan şekle dönüştürüldüklerinden önemli zararlı etkilere neden olmazlar. Ancak bu radikallerin yapımları çeşitli hastalık durumlarında artabilir. Çoğunlukla da her iki radikal bileşik grubunun oluşumu birbiri ile paraleldir. Örneğin iltihap durumlarında aktifleşen lökositler aynı anda hem oksijen radikallerini hem de NO^{\cdot} 'i yüksek konsantrasyonlarda sentezlerler. NO^{\cdot} , oksijen radikalleri ile tepkimeye girerek veya oksijenli ortamda oksitlenerek, kendisinden çok daha reaktif türlerin oluşumuna neden olur. Canlı organizmalarda farklı mekanizmalar ile çeşitli radikaller üretilmektedir (Çizelge 2.1).

2.2.2.1 Lipid Peroksidasyonu (LPO)

Biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine, proteinlere, nükleik asitlere, karbohidratlara ve diğer birçok biyomoleküle etki ederek bu biyomoleküllerin yapılarının bozulmasına serbest radikaller sebep olur. Oksidatif stres ve biyomoleküllerin oksidatif modifikasyonu; enflamasyon, karsinogenez ve ilaç toksisitesi gibi fizyolojik ve fizyopatolojik durumlarda görülmektedir (Djordjevic 2004). Serbest radikallerin biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine etkisi olan LPO'nun toksik olduğu bilinmektedir. Reaksiyonlar zincirleme gerçekleşir ve dönüşümsüzdür. Toksik etki lipid peroksitlerinin düzeyi ölçülerek belirlenir.

LPO hem kendisi ROT üretimine neden olan hem de ROT aracılıklı tepkimelerle meydana gelen bir olaydır. LPO hücre membranı ve hücrel organellerde fazlaca bulunan çoklu doymamış yağ asitleri ROT'a oldukça duyarlıdır, ayrıca zincir tepkimelerle yürümektedir. LPO'nun başlamasına 1O_2 gibi ROT veya karbon tetraklorür (CCl_4) gibi çeşitli kimyasallar neden olmaktadır. ROT çoklu doymamış yağ asitleri ile etkileştiğinde bu molekülden bir hidrojeni kopartarak bir lipid radikalinin (L^{\cdot}) oluşumuna neden olur, çoklu doymamış yağ

asitleri çift bağ düzenlenmesi ile bir dien konjugatına dönüşür, buna bir oksijenin eklenmesiyle de lipid peroksil radikali (LOO[•]) meydana gelir (Sevgiler 2007). Oldukça reaktif olan peroksil radikali komşu yağ asidinden bir hidrojen alarak lipid hidroperoksidi (LOOH) ve yeni bir L[•] meydana getirir (Halliwell 1996). Böylece LPO ilerlemeye devam eder. Hücre membranlarında LPO'nun ilerleme tepkimeleri ile alkanlar, isoprostanlar ve MDA gibi çok çeşitli yan ürünler açığa çıkmaktadır (Ansari et al. 1989, Djordjevic 2004). LPO membranın akışkanlığını değiştirerek, bir veya iki değerlikli iyonlara geçirgenliği artırır ve membrana bağlı enzimlerin ve reseptörlerin inaktivasyonuna neden olur. Peroksidasyon tüm membran lipidlerinin yıkımına yol açabilir. Proteolitik enzimler içeren lizozomlarda membran yıkımı ile bu enzimler hücre içine salınır ve aktivasyonları ile hücre hasar artmaktadır. Bu nedenlerle membranlarda meydana gelen LPO'nun kontrol edilememesi membranların yapı ve işlevlerinde önemli değişimlere ve giderek hücre ölümüne neden olmaktadır (Djordjevic 2004).

Oksidatif hasar oluşumuna Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, organoklorlu ve organofosforlu pestisidler, poliklorlu bifeniller ve diğer ksenobiyotikler neden olmaktadır. Bu nedenle böyle bileşiklerin oksidatif etkilerinin değerlendirilmesinde LPO'nun ölçülmesi indikatör olarak kullanılmaktadır (Valavanidis et al. 2006). LPO'nun belirlenmesinde kullanılan arakidonik asit endoperoksitlerinin dekompozisyon ürünü olan MDA miktarının belirlenmesi en basit ve en yaygın yöntemdir (Spiteller 2001).

LPO ürünleri olarak açığa çıkan lipid peroksitleri, hidroperoksitleri membran yapısına doğrudan, diğer hücre bileşenlerine ise aldehit üreterek dolaylı olarak zarar verir. Bu da pek çok hastalığın ve doku hasarının oluşmasına neden olur. MDA membran yapısının bozulması sonucu oluşur (Ansari et al. 1989).

2.2.2.2 Protein oksidasyonu (PO)

ROT'lar yaşlanmayla ilgili olarak öne sürülen teorilerden biri olan serbest radikal teorisinde; canlının yaşamı boyunca etkilendiği yaşlanma sürecinde fonksiyonel ve patolojik bozukluklara yol açar (Butterfield et al. 1998). Serbest radikallerin DNA (Liu et al. 1996, De La Cruz et al. 1996), proteinler (Cini and Moretti 1995, Cai et al. 1996, Butterfield et al. 1998, Leeuwenburgh et al. 1999) ve lipidlerde (Reznick and Packer 1994, Cai et al. 1996) hasara yol açmaktadır. Diğer taraftan oksidatif strese bağlı olarak oluşan in vivo DNA ve protein

hasarının, lipidlerdeki hasardan daha önemli olduğu öne sürülmektedir (Reznick and Packer 1994). Proteinlerde *in vivo* olarak meydana gelen oksidatif değişiklikler, proteinlerin rol oynadığı çeşitli hücresel fonksiyonları etkiler. Reseptörlerin, sinyal ileti mekanizmalarının, yapısal proteinlerin, transport sistemlerinin ve enzimlerin rol oynadığı hücresel olaylar oksidatif protein hasarından etkilenir (Hu 1994, Levine et al. 1994, Evans et al. 1999).

Oksidatif protein hasarı, PCO düzeylerindeki artış (Hu 1994, Levine et al. 1994, Evans et al. 1999) ve protein tiol düzeylerindeki azalma (Takenaka et al. 1991, Bourdon et al. 1999) ile karakterize edilir. ROT'nin proteinlerle etkileşimi sonucunda histidin, prolin, arjinin ve lizin gibi çok sayıda amino asit kalıntısında ve/veya peptid omurgasında meydana gelen oksidatif hasar sonucunda PCO ürünleri oluşur (Hu 1994, Levine et al. 1994, Evans et al. 1999). Oksidatif protein hasarını belirlemede PCO düzeylerinin saptanmasının duyarlı bir yöntem olduğu bilinmektedir (Hu 1994, Levine et al. 1994, Evans et al. 1999). Diğer taraftan serbest radikaller proteinlerdeki tiol gruplarının oksidasyonuna yol açarak oksidatif protein hasarına neden olmaktadır (Takenaka et al. 1991, Bourdon et al. 1999). PO, ROT (OH[·], H₂O₂ gibi) ile doğrudan veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile reaksiyonu sonucu dolaylı olarak etkilenen, proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanmaktadır (Gülbahar 2007). Serbest radikallerin oksidan etkisi sonucu meydana gelen oksidatif protein modifikasyonu ve bunun sonucu oksitlenmiş proteinlerin fazla miktarda birikmesi hücre ve doku hasarına bağlı olarak çeşitli patolojik durumlara ve gittikçe yaşlanmaya neden olmaktadır (Stadtman 1992, Dean et al. 1997). Oksidatif olarak mofiyeye olmuş proteinlerin yaşlanma ile birlikte arttığı görülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar PO indikatörü olarak ısı ve proteolitik parçalanmaya daha hassas olan düşük aktifliğe sahip enzimler kadar, PCO miktarının, okside metiyoninin, protein hidrofobisitesinin, çapraz bağlı protein ve glikozillenmiş protein miktarının yaşa bağlı olarak arttığını ortaya koymuşlardır. Buna karşılık, PO'nu yavaşlatan faktörlerin canlıların ömür uzunluğunu uzattıkları bilinmektedir (Stadtman 2001). Meyve sineği *D. melanogaster* yaşlanma çalışmalarında uzun süreden beri yaygın bir şekilde model organizma olarak kullanılmakta olup bu böcekte yaşlanmaya bağlı olarak fazla miktarda lipofuksin birikimi görülmektedir. Sohal ve çalışma arkadaşları tarafından yürütülen önemli araştırmalarda böceğin uçma kası mitokondrilerinde yaşa bağımlı olarak oksidan üretiminin arttığı bununla birlikte PCO ve DNA hasarı ürünlerinin yükseldiği gösterilmiştir (Sohal et al. 1990, Sohal 1991, Sohal and Dubey 1994, Sohal et al. 1994). Proteinlerde *in vivo* olarak meydana gelen oksidatif değişiklikler, proteinlerin rol oynadığı çeşitli hücresel fonksiyonları etkilemektedir. Reseptörlerin, sinyal ileti mekanizmalarının, yapısal proteinlerin, taşıma

sistemlerinin ve enzimlerin rol oynadığı hücrel olaylar oksidatif protein hasarından etkilemektedir (Reznick and Packer 1994).

PO birçok mekanizmayla gerçekleşebildiği ve amino açıl yan zincirlerinin hepsi oksidatif olarak modifiye olabildiği için çok farklı tipte oksidatif protein modifikasyonları bulunmaktadır. Serbest radikal ya da radikal olmayan bir oksidan ile gerçekleşen oksidatif protein modifikasyonlarının biyokimyasal sonuçları; yan zincir gruplarının oksidasyonu, omurganın fragmentasyonu, yeni reaktif türlerin oluşumu, fazla miktarda radikal oluşumu ve zincir reaksiyonu şeklinde devam ettirilmesi, protein yada amino asitlerde dimerleşme, çökelme, proteinin normal katlanmasının bozulması konformasyon değişimi, yapısal bozulmaya bağlı işlevsel kayıp, enzim gibi işlevsel proteinlerin çevirim sayısının değişmesi, gen düzenlenmesinin ve ifadesinin değişimi, hücre sinyal yollarında modifikasyon, apoptoz ve nekrozun uyarılması, çapraz bağlanmalar, yanlış katlanmalar, konformasyon ve hidrofobik yapıda değişiklikler ve proteolitik enzimlerde aktivite kaybı olarak sıralamak mümkündür (Hawkins and Davies 2001).

Serbest radikal saldırılarına proteinler doymamış yağ asitlerinden daha az duyarlıdır. Çok yoğun bir saldırı olmadıkça fazla hasar görmezler (Chesemann and Slater 1993). Protein, geçiş metal iyonunu özel bir bölgeden bağlarsa, geçiş metal iyonu H_2O_2 ile reaksiyona girerek OH^\cdot radikalini meydana getirir. OH^\cdot radikali de hasar verici etkisini metal bağlanma bölgesinde veya ona yakın bölgelerde oluşturur. Proteinlere olan serbest radikal ataklar, peroksitlerin ve karbonillerin oluşumuyla sonuçlanır. Karbonillerin tespiti proteinlerde oluşan oksidatif hasarın ölçülmesi için kullanılır. Son yıllarda katarakta lens kristallerinin oksidatif hasarının, proteinlerin radikallerce hasara uğratılması sonucu geliştiği iddia edilmektedir (Chesemann and Slater 1993). Fazla miktarda ROT üretimi ve/veya ROT üretiminin sürekli yüksek olması sonucu oluşan PO; nörodejeneratif hastalıklar olan Alzheimer ve Parkinson hastalığı, amilodosis, kas distrofisi, solunumsal distress sendromu, iskemi-reperfüzyon hasarı, kalp-damar sistemi hastalıkları, kanser, protein glikozilasyon veya glikoksidasyon son ürünlerinin artmasına bağlı olarak diyabet, protein nitrotirozin hasarının artmasına bağlı olarak aterosklerosis, iltihaplı eklem romatizması, iskemi-reperfüzyon hasarı ve diğer hastalıklar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Stadtman 2001).

Proteinler, radikallerin etkilerine lipidlere oranla daha az hassastır ve amino asit dizilişlerine bağlı olarak etkilenmektedirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenmektedir. Albumin gibi disülfid bağı fazla olan proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulmaktadır (Gutteridge 1995). Eksojen ve endojen kaynaklı oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek mutasyona neden olup hücre ölümüne yol açarlar. Bu zararlı etki kromozom değişikliklerine sebep olur. OH[·] radikali bazlarla kolayca reaksiyona girer. H₂O₂ ise membranlardan kolayca geçip hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre fonksiyonlarının bozulmasına hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA daha kolay zarar görebilen bir moleküldür (Agrawal and Kale 2001). Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek etki ederler. Bu olaylar kanser ve yaşlanmaya neden olabilir (Ceballos et al. 1992).

Çok çeşitli kaynaklarla serbest radikal oluşum meydana gelebilir. Yaşamamız için mutlaka gerekli bir element olan oksijen, canlıların yaşamının sona erdirilmesinde de etkili olan faktörlerin başında gelir. Canlıların yaşlanması, radikallerin neden olduğu kalıcı hasarların bir birikimi olarak düşünülmemelidir. Vücudumuzda üretilen radikaller her zaman tehlikeli ve kötü kimyasal türler olarak değerlendirilmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için, reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin steroid yapıdaki çok sayıda bileşikler, eikosanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi; ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, çok sayıda oksidaz ve hidrolaz enzimlerinin etkileri için ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımı muhakkak olmalıdır. Oksijen radikalleri gibi, nitrik oksit radikalının yapımı da vazgeçilmez bir biyolojik olaydır.

Biyolojik ihtiyacın üzerinde üretilen radikaller gözlenen toksik etkilerden sorumludurlar. Çevresel faktörler (örneğin iyonlaştırıcı radyasyon), vücuda alınan çeşitli kimyasal bileşikler, çeşitli enfeksiyonlar, doku travmaları ve sayılabilecek diğer çok sayıdaki patolojik durumlar vücutta radikal yapımında artışa neden olmaktadır. Düşük derişimdeki radikal yapımının etkileri çok uzun bir süreç sonunda, örneğin yaşlanma şeklinde görülürken; yüksek derişimde ciddi bir patolojik durum olarak karşımıza çıkabilir (Cheeseman and Slater 1993).

2.2.3 Antioksidan Enzimler Hakkında Bilgiler

Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmanın başlıca yolu antioksidan savunma sistemidir. Serbest radikallerin aşırı üretilmesi vücut için tehlike oluşturur. Vücudun işlevlerini yerine getirebilmesi ve hastalıklardan korunabilmesi için antioksidan sistem gereklidir. Serbest radikaller vücutta çok hassas bir dengeyle kontrol edilmektedir. Hücrelerde oksidatif hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Oksidanları inaktif hale getiren maddelere antioksidan adı verilmektedir. Antioksidanlar; topalayıcı, bastırıcı, zincir kırıcı ve onarıcı etki olarak başlıca dört farklı etki şekilleri bulunmaktadır.

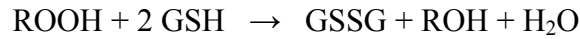
Antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve doğal olmayan (eksojen kaynaklı) olmak üzere iki ana grupta toplanabilir (Halliwell et al. 1992). Eksojen antioksidanlar trolox-c, folik asit, anestezikler, mannitol, barbitüratlar, demir şelatörleri, bütillenmiş hidroksi toluen ve diğer birçok maddeden oluşur. Endojen antioksidanlar enzimsel ve enzim olmayanlar olarak iki gruba ayrılır. Enzimler arasında SOD (EC 1.15.1.1), CAT (EC. 1.11.1.6), GPx (EC 1.11.1.9), GST (EC 2.5.1.8), APOX, GSTpx (Ahmad 1995), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, Hidroperoksidaz ile antioksidan savunma sistemine dolaylı katkısı bulunan GR (EC 1.8.1.7), glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, NADPH oksidaz, TRXP, epoksit hidrolaz, UDP-Glukronil transferaz, sulfonil transferaz'dır. GSH ve GSH bağımlı enzimler bu antioksidan savunma içerisinde önemli bir yer tutmaktadır (Cnubben et al. 2001). Enzim olmayan endojen antioksidanlar; melatonin, seruloplazmin, transferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metiyonin, ürat, laktoferrin albumin (Valavanidis et al. 2006), vitamin C, E, A, flavonoidler, oksipurinol, ubikinon, mannitol, lipoik asit ve hemopeksin'dir.

Glutatyon, bir tiyol grubu taşıyan düşük moleküler ağırlıklı bir tripeptiddir ve ökaryotik hücrelerde bol bulunur. Redükleyici ajan ve antioksidan olan GSH; ROT'nin temizlenmesinde, farklı hücrel moleküllerin ve ksenobiyotiklerin metabolizmasında önemli görevleri vardır. Hücrelerin ksenobiyotiklerin etkisinden korunmasından sorumlu en önemli metabolik süreçlerden biri GSH konjugasyonudur. GSH, içerdiği nükleofilik tiyol grubu ile elektrofilik bileşiklerin ve metabolitlerin detoksifikasyonunu sağlamaktadır. GSH'ın elektrofilik bileşiklerle tepkimesi kimyasal olarak gerçekleşebileceği gibi GST tarafından da katalizlenmektedir (Ioannides 2002). ROT'nin detoksifikasyonu sırasında iki tip tepkime meydana gelmektedir. Bunlardan birincisi GSH'ın, O_2^- ve OH^\cdot gibi ROT'la doğrudan

tepkime vermesidir. İkincisi ise GSH'ın, GPx'in katalizlediği peroksitlerin indirgenmesi tepkimelerinde elektron donörü olarak rol oynamasıdır. Özellikle, GPx tarafından hidroperoksitlerin yıkılması sırasında GSH'ın indirgeme kapasitesi tüketilerek GSSG meydana getirilmektedir. GSSG'de NADPH'ın elektron donörü olarak kullanıldığı tepkimelerde, GR enzimi tarafından yeniden GSH'a indirgenmektedir (Camera and Picardo 2002).

Birbirinden farklı aktivitelere ve tepkime türlerine sahip olan GST izoenzimleri, bakterilerden insana kadar bütün organizmalarda bulunmaktadır. Bu enzimlerin büyük bir kısmı, substratın elektrofilik merkezi ile GSH'ın sülfür atomu arasında bir tiyoeter bağının oluşmasını katalizler. Bu konjugasyon tepkimelerinin yanında GSH-bağımlı tepkimelerde organik hidroperoksitlere de katalitik aktivite gösterirler. Ayrıca bazıları farklı doymamış bileşiklerin izomerizasyonunda da yer almaktadır. GST'lar, hücrel detoksifikasyon ve taşımadan sorumlu iki protein alt birimden oluşan multifonksiyonel protein ailesindedir. Genel olarak üç sitozolik ve bir de mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar. GST ailesi hepatositlerdeki başlıca detoksifiye edici sistemdir. Başta arakidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksitlere karşı GST'ler, selenyumdan bağımsız GPx aktivitesi gösterirler.

GST

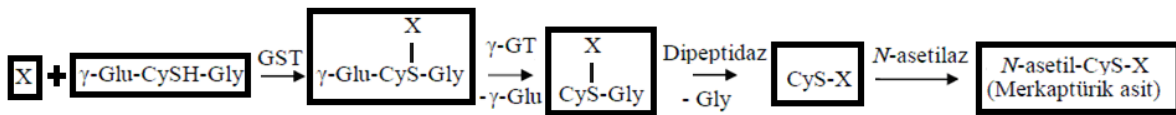


GST, faz II ksenobiyotik metabolizmasında çok önemli bir rol oynamaktadır. Ksenobiyotiklerin metabolizması için faz I ve faz II reaksiyonları olmak üzere iki ayrı reaksiyon kullanılır. Faz I'e katılan temel reaksiyon, monooksijenazlar veya sitokrom P450 olarak adlandırılan enzimlerce katalizlenen hidroksilasyondur. Faz I'in diğer reaksiyonları redüksiyon ve hidrolizdir. Faz I'de oluşan hidroksil bileşikler faz II'de çeşitli polar metabolitlere dönüştürülmektedir. Ksenobiyotik metabolizmasındaki bu iki fazın amacı, ksenobiyotiklerin sudaki çözünürlüklerini (polarite) artırmak ve bu şekilde vücuttan atılmalarını kolaylaştırmaktır (Board et al. 1990). Ksenobiyotikler sitokrom P450 metabolizmasıyla aktifleştikten sonra faz II reaksiyonları olarak bildiğimiz glukoronidasyon, sulfasyon, metilasyon, asetilasyon ve glutatyon ile konjugasyon reaksiyonlarından biriyle metabolize edilmektedir. Böylece aktive maddeler reaktif olmayan ve suda çözünebilir ürünler olarak safra ya da idrarla atılmak üzere organizmadan uzaklaştırılır. Faz I ve faz II enzim aktiviteleri arasındaki denge ksenobiyotiklerin organizma cevabında önemlidir (Sinnert

et al. 2000). Eğer reaktif moleküller faz II detoksifikasyonuna uğramazlarsa proteinlere, RNA ve DNA'ya zarar verebilirler. Faz I sisteminin hızının artması ve faz II'nin konjugasyon hızının azalması, hücre hasarı oluşma riskini artırır (Seidegard et a. 1997).

Genelde GST'nin etkisi, sitokrom P450'nin katalizlediği tepkimeleri takip etmektedir. Bu enzimlerin ürünü olan elektrofilik merkezli metabolitler nükleofilik GSH ile konjugat oluşturmak üzere GST'nin katalizlediği tepkimelere girmektedirler. Bu tepkimeler sonunda GSH ile moleküler olarak işaretlenen bu ksenobiyotik konjugatları hücreden uzaklaştırılmak üzere çoklu ilaç direnç proteini (MRP) gibi ilaç taşıyıcı proteinler aracılığıyla faz III metabolizmasına girerler. Hücre dışına atıldıktan sonra GSH-konjugatının γ -glutamil ve glisin rezidüleri γ -GT etkisi ve aminopeptidaz M veya sisteinilglisin dipeptidaz yardımıyla uzaklaştırılır. Açığa çıkan sisteinil konjugatı N-asetilasyon tepkimeleri sonunda ksenobiyotiğin omurgalılarda boşaltım sıvısından atılma formu olan bir merkaptürük aside dönüştürülür (Şekil 2.5) (Sherratt and Hayes 2002).

GST'm katalizlediği GSH-konjugasyonu aracılığıyla merkaptürük asit oluşum süreci olarak adlandırılan detoksifikasyon tepkimeleri şeklinde tanımlanmaktadır. Fakat GSH-aracılıklı biyoaktivasyonları bilinen bazı bileşikler, omurgalılarda özellikle böbrek dokusunda ana bileşiğe oranla daha toksik etkiler yapmaktadırlar (Dekant 2001). Çok sayıda farklı bileşiğin GSH ile konjugasyonunu, GST enzim ailesi sağlamaktadır. Bunun nedeni non-spesifik hidrofobik substrat bağlanma bölgesinin varlığı ve çok sayıda izoenzimin bulunmasıdır. Böylece GST; karsinojenik bileşikleri, çevresel kirleticileri, ilaçları ve diğer birçok bileşiği substrat olarak kullanmaktadır. GST, elektrofilik substrat için ve GSH için birer bağlanma bölgesi taşıyan iki protein alt birimine sahiptir (Cnubben et al. 2001).



Şekil 2.5 Merkaptürük asit süreci. X, GSH ile konjugasyon yapan ksenobiyotiği göstermektedir (Lu 1999).

GST hidroksialkenaller ve baz propenaller (LPO yıkım ürünleri) veya DNA hidroperoksitler gibi endojen bileşikleri detoksifiye ederek oksidatif strese karşı savunmada da rol oynamaktadır (Cnubben et al. 2001). GST'nin peroksidaz aktivitesi selenyum-bağımlı

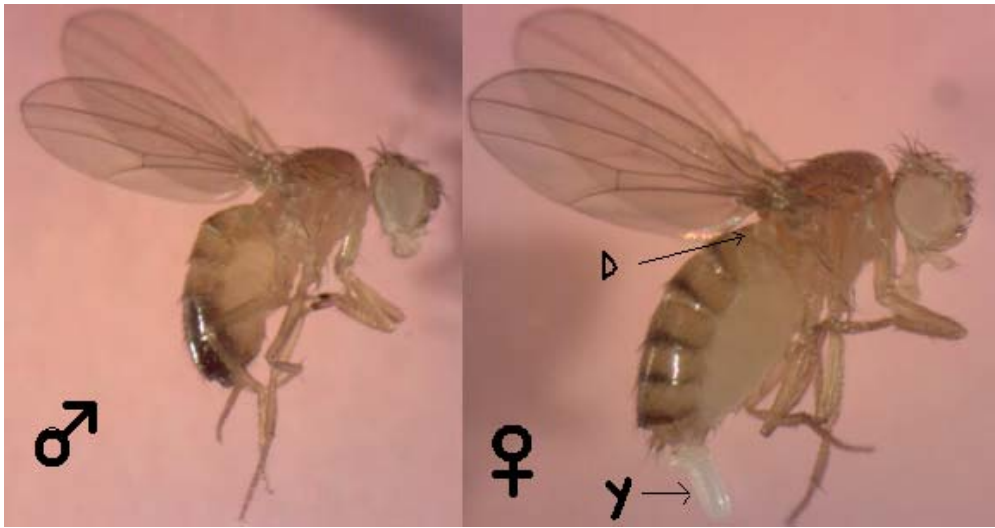
değildir, fakat GSH'a gereksinim duymaktadır. Tepkime iki basamak halinde yürümektedir. Birinci basamakta hidroksillenmiş GSH'ın üretimi ile peroksit alkole enzimatik olarak indirgenir. İkinci basamakta spontan tepkimeyle hidroksillenmiş GSH bir molekül GSH ile GSSG ve su açığa çıkartır (Sherratt and Hayes 2002).

GST'lerin önemi insektisit metabolizmasında ilk kez organik fosforlu bileşiklerin detoksifikasyonunda belirtilmiştir (Soderlund 1997, Krishnan and Kodrik 2006). Daha sonra GST'lerin böceklerde organik klorlu ve siklodien insektisitlere tarafından indüklendiği rapor edilmiştir (Clark 1989, Lagadic et al. 1993, Yu 2004). GST kaynaklı direnç mekanizması *M. domestica*, *Anopheles gambiae* (Giles 1902) ve *Aedes aegypti* (Linnaeus in Hasselquist 1762)'de de çalışılmıştır. GST'ler, organik fosforlu bileşiklerin faz I metabolizmasında önemli olup böceklerde organik fosforulara dirençte çok önemlidir (Yang et al. 2001).

2.3 DROSOPHILA MELANOGASTER

| | | |
|---------------------|---|--|
| Kingdom/ Alem | : | Animalia/ Hayvanlar alemi |
| Phylum/ Şube | : | Arthropoda/ Eklem bacaklılar |
| Class/ Sınıf | : | Insecta/ Böcekler |
| Order/ Takım | : | Diptera/ Çift kanatlılar |
| Suborder/ Alttakım | : | Brachycera/ Karasinekler |
| Family/ Aile | : | Drosophilidae |
| Subfamily/ Alt aile | : | Drosophilinae |
| Genus/ Cins | : | <i>Drosophila</i> |
| Species/ Tür | : | <i>D. melanogaster</i> (Meigen 1830)/ Meyve sineği |

Drosophila larvaları ekşiyen meyveler üzerinde geliştiğinden meyve sinekleri olarak da adlandırılmaktadır. Drosophilidae familyası içerisinde bulunan türlerden biri olan *D. melanogaster*, genetikte deney hayvanı olarak da kullanılmaktadır (Wheeler 1981). *D. melanogaster* 1910 yılında Thomas Morgan tarafından ilk kez genetik çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır (Graf and Singer 1992). *D. melanogaster* dört çift kromozomu (üç çift otozomal, bir çift cinsiyet) bulunan ve tam başkalaşım (holometabol) gösteren bir türdür. Bütün böceklerde olduğu gibi vücut; baş, toraks (göğüs) ve abdomen (karın) olmak üzere, üç kısma ayrılır. Baş ve toraks, duyu organı olarak görev yapan sayı ve şekilleri kalıtsal olarak değişebilen büyük sert kıllar (makroseta) ve ufak yumuşak kıllar (mikroseta) ile örtülüdür.



Şekil 2.6 *D. melanogaster* erkek ve dişi bireyleri, D: Denge Organı, Y: Yumurta.

Baş bölgesinde; tepede üç basit ve yanlarda birer bileşik göz (petek), ağız parçaları ve bir çift anten bulunmaktadır. Torak üç segmentten oluşur, her segmentinde bir çift bacak, ikinci toraks segmentinde bir çift kanat ve 3. toraks segmentinde bir çift halter organı bulunur. Erkek ve dişilerde farklılık gösteren abdomen; dişi bireylerde ucu uzun, sivri ve 7 segmentli olup abdomenin uç kısmına kadar devam eden açık-koyu çizgiler bulunur. Ayrıca yaşlanan dişilerde abdomenin yumurta dolmasına bağlı olarak genişleme görülür. Erkeklerde ise abdomen daha kısa, yuvarlak ve 5 segmentli olup abdomenin arka segmentleri siyahtır (Şekil 2.6). Abdomen segmentinde bulunan koyu renkli çizgiler ve erkeklerin birinci çift bacağın birinci tarsus segmentinde bulunan eşey tarağı (metatarsal tarak) olarak adlandırılan siyah kalın kıl demeti, erkek ve dişilerin ayrımında kullanılan önemli bir kriterdir. Dişilerde eşey tarağına rastlanmaz.

Drosophila'nın, çeşitli mekanizmaların aydınlatılmasında kullanım nedenlerini ve diğer organizmalara göre üstün özelliklerini şöyle sıralayabiliriz:

1) Çok çeşitli doğal ya da yapay varyasyonların gözlenebildiği bir organizmadır. Bu varyasyonları taşıyan mutant bireylerde farklı fenotipik özellikleri görebilmek mümkündür.

2) Hayat devri çok kısadır.

3) Bir defada oldukça fazla sayıda döl elde edilir. Bir nesilde elde edilen birey sayısının fazla olması, onun genetiksel özellikleriyle ilgili bilginin doğru tespit edilmesi ve sonuçların güvenilirliği açısından önemlidir.

4) Popülasyonu laboratuvarında kolayca yetiştirilebilir ve besinleri ucuzdur.

5) Arı döl olarak saklanabildikleri gibi kontrollü çaprazlama yapılabilen en uygun canlılardan biridir.

6) Mitotik kromozomlardan kolayca ayırt edilebilen ve özellikle larvaların tükürük bezi hücrelerinde görülebilen dev kromozomlar (politen kromozom) taşırlar. Bu kromozomlar, sitogenetik olarak, kromozom haritaları ve kromozom fonksiyon analizlerinin yapılmasını sağlar.

7) Özel düzenekler kullanılarak, eterle kolayca bayıltıldıklarından, üzerlerinde çeşitli incelemeler yapılabilmektedir.

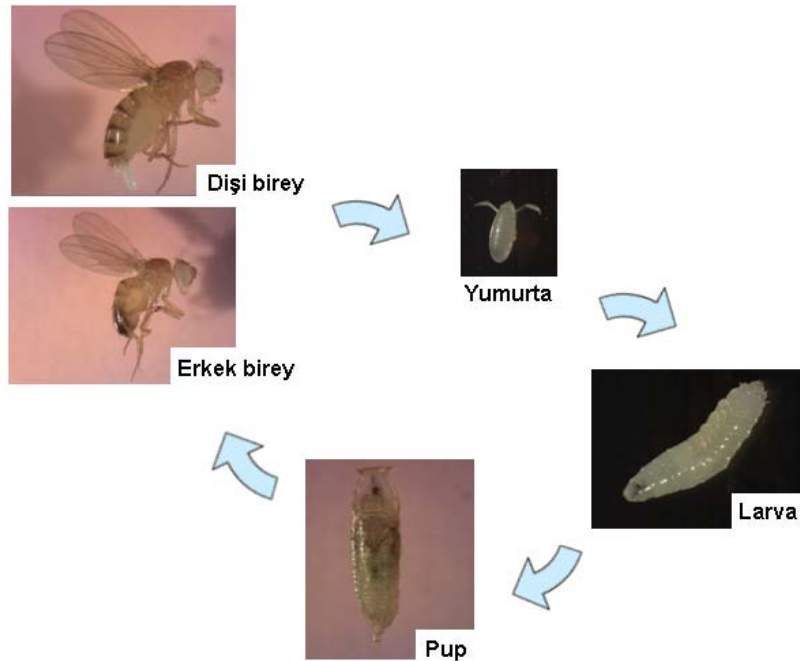
8) Genetik olarak aktif türlerde promutajen ve prokarsinogenlerin geniş bir dizisinin değiştirilmesi için potansiyel enzimatik aktiviteye sahiptir. Ayrıca memelilerinkine benzer bir detoksifikasyon sistemi bulunduğu da gösterilmiştir (Eroğlu Doğan 2008).

9) Genom dizi analizi, insan hastalıklarında belirlenen genlerin % 60'ından fazlasının *Drosophila* ortoloğu olduğunu göstermiştir. Genetik kodları insanlara benzemektedir (Valencia et al. 1989). Kanseri, nöroloji hastalıkları, metabolizma bozuklukları, yapısal bozukluklar ve renal hastalıkları belirleyen genlerin büyük olasılıkla *Drosophila*'da kopyaları mevcuttur (Bernards et al. 2001). *Drosophila* ve insan hücre döngülerinin ve düzenleyici

yollarının benzerliği, tümör genezis esnasında çoğalma süreci çalışmalarında model olarak hizmet eder (Potter et al. 2000).

2.3.1 *D. melanogaster*'in yaşam döngüsü

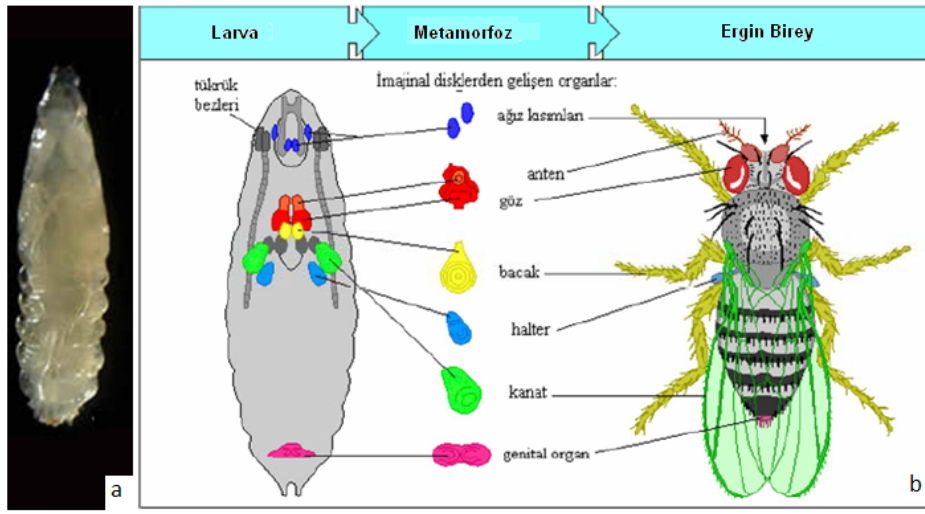
D. melanogaster'in gelişim evreleri; yumurta, larva, pupa ve ergin şeklindedir (Şekil 2.7). *Drosophila* ergin olmadan önce döllenmiş yumurtadan başlayarak embriyo, üç larva evresi ve pupa evrelerini geçirir. Döllenmeden yaklaşık 22-24 saat sonra yumurtadan larva (1. larva evresi) çıkar. İki deri değişiminden sonra (2. ve 3. larva evreleri), önce prepupa (4. larva evresi) ve daha sonra pupa meydana gelir. Yumurtadan ergin bireyin oluşması için geçen süre $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ve % 40- 60 bağıl nemde yaklaşık 9-11 gündür (30°C 'de 11 gün, 18°C 'de 19 gün, 12°C 'de 50 gün yaşar). *D. melanogaster*'in gelişim evreleri ve ömür uzunluğunu sıcaklık, beslenme, populasyon yoğunluğu, radyasyon, nem gibi çeşitli faktörler farklı şekillerde etkilemektedir (Clark and Rockstein 1964, Keser 2010). Yani ektodermik bir canlıdır.



Şekil 2.7 *D. melanogaster*'in gelişim evreleri.

D. melanogaster dişileri pupadan çıktıktan 2-3 gün sonra yumurtlamaya başlar. Dişinin yaşamı boyunca yumurta üretimi sabit değildir, türlere göre 6. ile 10. günler arasında maksimuma çıkar ve geometrik olarak sabit hızla düşer. Yumurtanın döllenmesi uterusu

gerçekleşir. Dişi yumurtalarını ya döllenmeyi takiben hemen besiyerine bırakır ya da embriyo gelişiminin ilk dönemlerini uterusunda geçirir. Yumurtalar türlere göre farklılık gösterse de ortalama 0.5 mm uzunluğunda olup genel olarak oval şekilli ve şeffaf görünümlüdür. Yumurta, folikül epiteli tarafından salgılanan ve yumurtayı koruyan korion ile çevrilidir. Anterior tarafta korion tabakasının uzantıları olan, yumurtanın bırakıldığı yumuşak zemine batmasını önleyen ve oksijen alınımından sorumlu olan türlere göre sayısı ve uzunluğu değişen filamentler bulunmaktadır. Yumurtalar $25 \pm 10^\circ\text{C}$ de 22–24 saat içinde açılarak zigot, embriyonel gelişimini tamamlanmış olur ve ergine hiç benzemeyen larva halini alır (McMillan et al. 1970).

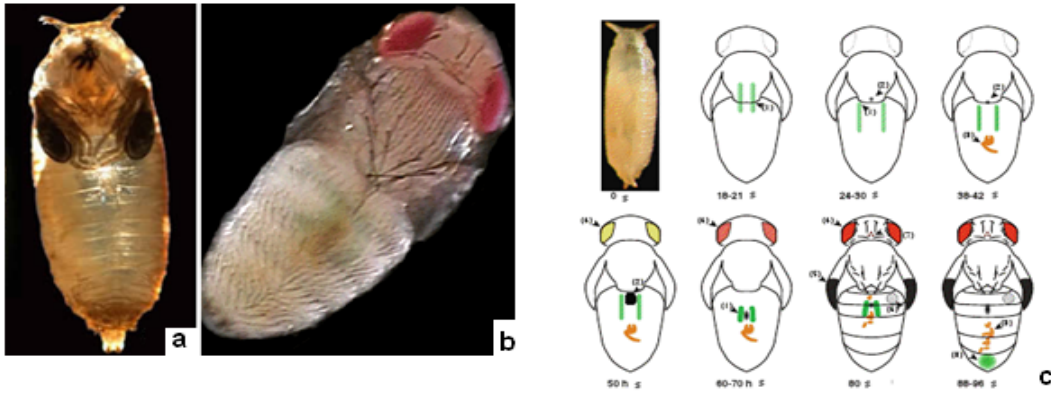


Şekil 2.8 *D. melanogaster*'in **a.** 3. evre larvası **b.** Larvada imajinal disk yerleşimi ve erginde oluşturduğu yapılar (http://www.new-science-press.com/info/illustration_files/nsp-cellcycle-2-4-2_14.jpg).

Genç larva genellikle yumurtanın ön kutbundan iç basıncın yükselmesi ve kasların kontraksiyonu ile korionu patlatarak çıkar (Demirsoy 1982). Beyaz renkli ve segmentli kurtçuk benzeri larvalar sürekli beslenerek besiyerinin içine doğru ilerler ve yaklaşık beş günlük varlıkları süresince kendi ağırlıklarının üç katını tüketerek 0,05 mg'dan 0,20 mg ağırlığına ulaşırlar (Doane 1967). Larval gelişim sırasında gömlek değiştirme olarak adlandırılan, kütikül tabakasının iki kez yenilenmesi larval yaşamı üç evreye ayırır. İki gömlek değiştirme arasındaki periyota "instar" denmektedir. Böylece larval yaşamda yumurtadan çıkma ile ilk gömlek değiştirme 1. instar, ilk gömlek değiştirme ile ikinci gömlek değiştirme arası 2. instar ve ikinci gömlek değiştirmeden sonra pupalaşmaya kadar 3. instar olarak adlandırılmaktadır. Bu instarların süreleri; 1. instar 1gün, 2. instar 1 gün ve 3. instar 2-

3 gündür. Larva 3. instar döneminde yaklaşık 4-4,5 mm uzunluğa erişebilir (Pandey et al. 1995, Ashburner and Thompson 1978).

Embriyo gelişimi sırasında imaginal diskler olarak adlandırılan yapılar gözlenir (Şekil 2.8). Bu imaginal disk hücreleri larva dönemi süresince mitoz bölünme ile pupa evresine kadar çoğalır. Pupa evresinde bu hücre grupları erginin farklı organlarını oluşturur. Örneğin, göz bir göz imaginal diskinden, kanat bir kanat imaginal diskinden meydana gelir. 1. instar sırasında kanat diskinde yaklaşık olarak 50-100 hücre bulunurken, erken pupa evresinde kanat farklılaşması başladığı zaman hücre sayısı yaklaşık 30000 olur (Ashburner and Thompson 1978, Falakalı 1989).



Şekil 2.9 *D. melanogaster*'in a.- b. Pupa evresi c. Pupa gelişim safhaları (1. malpigi tüpleri, 2. siyah vücut, 3. sarı vücut, 4. göz rengi, 5. kanat rengi, 6. kıllar, 7. ocel, 8. mekonyum) (Ashburner 1989).

Drosophila larvasında (Demirsoy 1992, Tepe vd. 2012);

- Solunum sistemi: Larvanın sağ ve solunda iki büyük ana lateral trake boru şeklindedir.
- Sindirim sistemi: Ağızla başlar ve iki kitin halka ve ortalarında H parçaları (H harfine benzediği için) bulunur. H parçalarının ön tarafında ağız çengelleri (mandibuller) vardır. Mandibullerin üzerindeki diş sayıları, larva evrelerinin tayininde kullanılır (1. larva evresinde bir kitin diş, 2. larva evresinde 2-3 diş). Ağızla başlayan sindirim yutak (farinkns, bir çift tükrük bezi bulundurur), yemek borusu (özofagus), ön mide (proventrikulus), orta bağırsak, son bağırsak ve anüsle son bulur.

- Boşaltım sistemi: Orta bağırsakla son bağırsağın birleştiği yere açılan malpighi tüpleriyle olur.
- Dolaşım sistemi: Dorsal damarın ön kısmı aort, arka kısmı kalp görevi gören açık dolaşım sistemi vardır.
- Sinir sistemi: Merkezi sinir sistemi, bir çift baş gangliyon ile kompleks gangliyonlardan oluşur.

Larva üçüncü instarın sonunda iken beslenmesini tamamlayıp bulunduğu besini terk eder ve bulunduğu kabın kuru yerine geçer. Bu evre prepupal dönemdir (4 saat) ve larvalar buldukları kabın duvarına tırmanır. Bu aşamada ektisteroid hormonun artışıyla kendilerini çevreleyen kütikül sertleşir ve buldukları yerde sabitleşerek pupa dönemine geçmiş olurlar. İlk başta beyaz olan pupa iki saat sonra sarı-kahverengi renk alır. Pupa aşamasında bir erginin organları ve vücut formuna sahip bir bireyin gelişmesi için gerekli dönüşümler gerçekleşir (Şekil 2.9). Bu gelişme $25 \pm 10^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve % 40-60 bağıl nemde 4-5 günde tamamlanır. Gelişimin tamamlanması ile pupanın rengi koyulaşır, kıvrılmış durumda olan kanatlar iki koyu eliptik yapı olarak görülebilir ve göz pigmentleri belirginleşir. Pupa kılıfının anteriorunu delerek ergin birey ortaya çıkar (Ashburner 1989, Falakalı 1989).

Drosophila pupalarında (Demirsoy 1992, Tepe vd. 2012);

- Sindirim Sisteminin Metamorfozu: Pupa devresinde larval sindirim sistemi ve tükürük bezleri de histolize uğrayarak yerlerine imajinal sindirim sistemi teşekkül eder. Larva pupa haline geçince ağız ve anüs kapanır. Larvada mevcut olan imajinal halka veya imajinal hücre grupları çoğalarak imajinal bağırsağı meydana getirirler. İmajinal tükürük bezleri, pupalaşmadan 10 saat sonra teşekkül etmeye başlar (Larval tükürük bezi hücreleri politen kromozomu içerdikleri halde, imajinal tükürük bezi hücreleri, hayvanın soma hücrelerinde görülen normal kromozomları taşır).
- Solunum Sisteminin Metamorfozu: Pupalaşmadan bir saat sonra abdominal trake hücreleri abdominal hypoderm ile sert bir şekilde bağlantı kurar. 2 saat sonra bu hat boşalmaya başlar, bu esnada larva anterior ucunu geri çekerek kontraksiyona başlar ve

anterior, posterior spirakller geriye çekilir. Larvadaki posterior trake borusu histolize uğrar. Anterior trake borusunun toraks bölgesine rastlayan kısmı toraks hava kesesini meydana getirir, spirakulumların yerini tutar. Diğer abdomen segmentlerinin spirakulumları ikinci anterior abdomen segmentindeki büyük borulara bağlı ince açık borular halini alırlar.

- Boşaltım ve Dolaşım Sistemlerinin Metamorfozu: Pupa safhasında larva yapılarını devam ettirirler.
- Sinir Sisteminin Metamorfozu: Subözafagial gangliyon ile birinci toraks gangliyonu arasındaki bölge büzülür. Beyin yarımküreleri içinde üç göz gangliyonu meydana gelir. Dış taraftaki göz gangliyonu doğrudan doğruya göze bağlanır. Toraks gangliyonlarında bir değişiklik olmaz. Her segmente bir çift olmak üzere üç çift toraks gangliyonu mevcuttur. Abdominal gangliyonlar ise birleşerek bir tek abdominal gangliyonu oluştururlar.

Pupadan yeni çıkan ergin bireyler açık renkli, pigmentsiz ve uzun vücutludur. Fakat bir kaç saat içinde pigmentasyon gerçekleşir ve koyulaşırlar. Aynı zamanda başlangıçta kırışık olan kanatları açılarak normal ergin görünümünü alırlar. Erkek bireyler bir iki saat içinde eşeyssel olgunluğa ulaşırken, dişi bireyler 6-12 saat (Keser 2010) sonra eşeyssel olgunluğa erişirler ve çiftleşme yani döllenme olmaksızın yumurta bırakabilirler. Ancak döllenmemiş yumurtalar açılmaz (McMillan et al. 1970, Ashburner and Thompson 1978).

Drosophila erginlerinde (Demirsoy 1992, Tepe vd. 2012);

- Sindirim sistemi: Sindirim borusu ve yardımcı organlar (ağız parçaları, tükrük bezleri ve labellar bezler) olmak üzere iki kısma ayrılır. Ağız parçaları, diğer böceklere nazaran biraz değişik olup, bazı parçaları kaybolmuştur. Ağız parçaları, labrum, küçülmüş maksillar ve büyümüş olan labiumdan ibarettir. Mandibuller tamamen kaybolmuştur. Bütün bu ağız parçalarına probosis adı verilir. Labrum ile labium arasında hypofarinks bulunur. Tükrük bezleri ve labellar bezler buraya açılırlar. Probissisin kaidesinde bir emme tulumbası (cibarium) mevcuttur. Bir çift tükrük bezi ortak bir kanalla hypofarinks'e açılır. Tükrük kanalları hypofarinks'e varmadan bir şişkinlik (tükrük pompası) yapar. Ağızla başlayan sindirim borusu (7 mm) baş ve

toraks arasında düz bir boru halinde, abdomende ise biraz kıvrımlı olarak devam ederek son abdomen segmentinde anüsle son bulur. Ön, orta ve son bağırsak olmak üzere 3 kısma ayrılır. Ön bağırsak, baş ve protoraks bölgesinde devam eden yemek borusu, kursak ve kardiaları kapsar. Orta bağırsak mezotorakstan başlayıp dördüncü abdomen segmentine kadar devam eden mide veya ventrikulden ibarettir. Son bağırsak ise 4-5. abdomen segmentlerinde anterior rektion, 5-10. abdomen segmentlerinde ise posterior rektion olmak üzere iki kısma ayrılır.

- Dolaşım sistemi: Bir dorsal damardan oluşan açık dolaşım sistemi bulunur. Bu damarın, baş ve toraks bölgesine isabet eden ön kısmı aort, abdomende bulunan son kısmı ise kalp ödevini görür. Kalp dört odacıklı (1,1 mm) bir tüptür. Birinci odacık en büyük olup, 1-2. abdomen segmentleri boyunca devam eder. İkinci ve üçüncü odacıklar 3-4. segmentlerdedir. Dördüncü odacık ise 5-6. segmentin ortasına kadar olan yeri işgal eder. Her odacığın yan taraflarında bir çift ostium vardır. Vücut boşluklarında dolaşan kan, bu kısımlarından kalbe girer. Kalbin cidarı kaslardan yapılmıştır. Aort (1 mm) sindirim borusunun dorsalinde yer alır. Gangliyon çiftlerinin arkasında vücut boşluğuna açılır. İnce bir kas aortun ön ucunu pulsatil organa bağlar. Kan vücut boşluklarında dolaşır.
- Solunum sistemi: Trakelerle olur. Bu sistemi dış ortama bağlayan stigmalar, trake boruları, kılcak trakeoller ve hava keselerinden oluşur. İki mezo ve metatoraksta, yedisi de 1-7. abdomen segmentlerinde bulunan dokuz çift stigma vardır. Abdomende, her stigma kısa bir spirakular trakeye açılır. Abdomende boydan boya uzanan iki lateral trake vardır. Dorsalde de zikzak uzanan dorsal trake mevcuttur. İlk yedi segmentle, dorsal segmental trake çiftleri, lateral ve dorsal trakeleri birleştirir. Birde lateral ve dorsal segmental trakeden çıkan viseral trake vardır. Toraksta trakelerden bir kısmı hava keselerine dönüşmüştür. Bunlardan üçü, yani propleural, sternopleural ve hypopleural keseler ayakların kaidesi üzerinde bulunurlar. Bunlar ayak trakelerini verirler. Ön toraks stigması birinci keseye, son toraks stigması ise üçüncü keseye açılır. İkinci keselerde trakeleri verirler, ortada bir çift parenterik hava kesesi vardır. Başta bu parenterik keselerden çıkan bir servikal trake çifti vardır. Bunlar üçer lateral trake verir, iki çift postokular hava kesesine açılır ve başın tepesinde dorsal hava kesesi bulunur. Servikal trakeler, frontal ve postgenal keselere açılırlar. Sonuncu kese maksillar ve alt dudağa trake gönderir.

- Sinir sistemi: Baş ve toraks bölgesinde mevcut gangliyonlarla, periferik sinirlerden ibaret olan merkezi sinir sistemi, sempatik (stomodeal) sistemden ibarettir. Merkezi sinir sisteminin gangliyonları, baş ve toraksta toplanmıştır. Abdomende gangliyon bulunmaz. Baştaki gangliyonlar petek gözler arasında bulunur. Yemek borusunun üstündeki subraoesophageal ve altındaki supoesophageal gangliyonlardan ibarettir. Birinci median bir protoserebrum ve lateral bir çift optik lop, önde anten sinirlerinin çıktığı bir deutocerebrum ve körelmiş bir tritoserebrum'u kapsar. Toraks gangliyonları, abdomen ve torasik gangliyonlar olmak üzere iki kısma ayrılır. Toraks gangliyonundan, protoraks kaslarına ve duyu organlarına, kanatlara ve halterlere giden üç çift dorsal sinir, her üç bacak çiftine giden üç çift ventral sinir ve anterior, posterior stigmalara giden üç çift sinir çıkar. Abdomen gangliyonundan da birinci, ikinci abdominal sinirler ve median abdominal sinir çıkar. Sempatik (viseral) veya somatogastrik sinir sistemi ise yemek borusu ile aort arasındaki bir çift stomodeal gangliyonundan ibarettir. Bunun ön kısmından çıkan iki sinirden biri yemek borusuna diğeri de protocerebrum'a gider. Stomodeal gangliyonunun arka tarafından da bir çift sinir çıkar.
- Boşaltım sistemi: Dört tane uçları kapalı malpighi tüpünden (2 mm) oluşurlar. Bir çifti vücudun ön tarafına doğru uzanır (anterior çift), diğer ikisi ise (posterior çift) arka tarafa doğru yönelirler. Anterior ve posterior malpighi tüpleri kendi aralarında birleşerek, iki tüp halinde orta bağırsak ile son bağırsağın birleştiği yerde bağırsağa açılırlar.

BA'in *D. melanogaster*'in yaşama, gelişim, eşey oranı, ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranı yanında, larva, pup, ergin evrelerinde ve dişilerin yumurtalarında, ergin evre sonrasında erkek ve dişi bireyler ve dişilerin yumurtalarında MDA ve PCO miktarı ile antioksidan enzimlerden GST aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Oksidatif etkiye karşı böceğin gelişim evrelerinde antioksidan enzimlerin aktiviteleri ile eşey oranı ve erginlerin ömür uzunluğundaki değişimler belirlenmiştir.

Kullanılan inorganik insektisit BA'in *D. melanogaster*'in bazı biyolojik özellikleri ile enzimatik antioksidan sistemi üzerine oksidatif etkilerinin araştırılması, diğer organizmalar ile ilgili yaşlanma sürecine de bir ışık olacaktır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1. D. MELANOGASTER KÜLTÜRÜNÜN DEVAMI

D. melanogaster (Meigen)'in Oregon R soyu (Diptera: Drosophilidae) yabancı tip (W1118, wild type) ergin bireyleri Çek Cumhuriyeti Masaryk Üniversitesinden RNDr. Pavel Hyršl tarafından laboratuvarımıza getirilerek bölümümüz laboratuvarında 250 ml'lik cam şişelerde yapay besin ile yetiştirilerek stok kültür oluşturuldu. Kültürün devamı böceğin yumurtadan yeni çıkmış 1. evre larvalarının yapay besinde aseptik olmayan şartlarda ergin evreye kadar beslenilmesi ile sağlandı. Kültürün devamı ergin bireylerin besine yumurta bırakması, yumurtaların açılarak larva (3 larva evresi) ve pup evresini geçirdikten sonra tekrar ergin hale gelmesi ve ergin olan bireylerin yeni bir kültür kabına aktarılmasıyla gerçekleştirildi. Kültür 25 ± 2 °C ve % 60-70 bağıl neme ayarlı inkübatörde (Nüve Cooled) 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyot şartlarında yürütüldü. *D. melanogaster* kültürünün laboratuvar şartlarında devamını sağlamak için patates ve sükroz içeren yapay besin kullanıldı (Rogina et al. 2000, Lesch et al. 2007). *D. melanogaster* kültürünün devamı için kullanılan bu besin aynı zamanda BA'in böcek üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yürütülen beslenme deneylerinde de kontrol besini olarak kullanıldı.

Besin;

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

- 1000 ml saf sudan oluşmaktadır.

Agar, sükröz ve kuru mayanın gerekli miktarları tartılarak üzerine 600 ml su ilave edildi ve kaynar su banyosunda kaynatıldı. Patates püresi 400 ml saf suda çözülerek kaynamakta olan ilk karışıma ilave edildi. Karışımın soğuması için beklendi. Besin tam olarak katılaşmadan bir süre önce askorbik asit ve nipajin çözeltisi belirli bir ısıya (30–40 °C) kadar soğuyan besine ilave edildi ve homojen bir karışım oluşturuldu. Hazırlanan besin 150 ml'lik cam şişelere (50 x 100 mm) yaklaşık 1/3'ne kadar dolduruldu ve yarım saat besinin katılaşması için beklendi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 *D. melanogaster*'in kültür besini.

Kavanozun içine konulacak dişilerin bıraktığı yumurtalardan açılan larvaların pup olabilmeleri için 3–4 cm eninde kesilmiş uzun ince filtre kağıtları bırakıldı (Koç ve Gülel 2006). Kavanozların içine 10–15 adet diş ve erkek birey bırakılarak kavanozun ağzı temiz pamukla (hidrofil pamuk) kapatıldı. Gelişimlerini tamamlayan olgunlaşan larvaların (3. evre) pup ve ergin olmaları için beklendi.

Bu şekilde hazırlanan cam besin şişelerinde dişilerin bıraktığı yumurtalardan puplar görülmeye başlandığı zaman, deneme kaplarına başlangıçta konular erginler çıkarılıp bunlar aynı besini içeren yeni bir deneme kabına konuldu (Koç ve Gülel 2006). Kültür şişelerine

konulan besinler yedi günde bir değiştirildi. Bu erginlerin büyük bir çoğunluğu böcek kültürünün devamı, bazı erginler ise BA ile ilgili beslenme çalışmaları için gerekli yumurtaların elde edilmesinde kullanıldı. Bu işlemlerin uygulanmasında Roberts (1986)'ın kullandığı yöntemler temel alınıp, bir ölçüde değiştirilerek uygulandı.

3.2 BORİK ASİTİN DENEYLERDE KULLANILMASI

Bu çalışmada denenen BA (% 99, H₃BO₃) Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi. BA'in besine ilave edilmesi ile yürütülen beslenme deneylerinde 1000 ml besine 10, 100, 200, 300 mg düzeyinde BA ilave edildi. BA suda çözülmesi için bu miktarlar, besinin hazırlanması sırasında besinin katılmasından (30–40 °C) bir süre önce doğrudan besine ilave edildi. *D. melanogaster* için kontrol besini (BA içermeyen) hariç BA'in farklı konsantrasyonları denendi. Kontrol deneylerinde ise yalnızca BA içermeyen besin kullanıldı. Bu çalışmada denenecek BA konsantrasyonlarının belirlenmesinde; Yang et al. (2000 a, b), Cisneros et al. (2002), Gore et al. (2004), Ali et al. (2006) tarafından tarımsal ve halk sağlığı yönünden zararlı bazı böcek türleri ile yapılan önceki çalışmalar, B ve çeşitli B türleri ile *Drosophila* üzerinde yapılan çalışmalar (Massie 1994, Espinoza-Navarro et al. 2009) temel alındı. Bu çalışmaların ışığında denenecek konsantrasyonların aralığını belirlemek amacıyla ayrıca BA ile ön beslenme deneyleri yapıldı. Böceklerin ergin evreye kadar gelişimini tamamlayabileceği konsantrasyon aralıkları belirlendi. BA'in *D. melanogaster* üzerindeki konsantrasyonları belirlenerek böceğin yumurtadan ergin evreye kadar yaşama, gelişimi, eşey oranı, ergin ömür uzunluğu, dişilerin yumurta verimi ve açılma oranı ile ayrıca 3. larval evre, pup, ergin evrelerinde, dişilerin yumurtalarında ve ergin ömür uzunluğunda MDA ve PCO miktarı ve antioksidan enzimlerden GST aktivitesine etkisi incelendi.

3.3 KULLANILAN KİMYASALLAR

Fenilmetilsülfonil fluorür (PMSF), ditiyotreitöl (DTT), β -nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH), butillenmiş hidroksitoluen (BHT), sığır serum albumin (Bovine serum albumin, BSA), Folin-Ciocalteu reaktifi, etilendiamintetraasetik asit (EDTA), tiyobarbitürik asit (TBA), trikloroasetik asit (TCA), guanidine hidroklorür, 2,4 dinitrofenilhidrazin (DNPH), streptomisin sülfat, dipotasyum hidrojen fosfat (K₂HPO₄), Triton X-100, pyrogallol, redukte glutatyon (GSH), 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB), H₂O₂, gliserol, etanol (ACS reagent, \geq % 99,5), sodium klorür (NaCl), potasyum klorür (KCL), feniltiyoüre (PTU), agar-agar

(Ultrapure), D-Sükroz (Sigma Ultra, \geq % 99), L-Askorbik asit (Sigma Ultra, \geq % 99), *p*-hidroksibenzoik asit metal ester Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)'ten satın alındı. BA Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğünden (Ankara, Türkiye) hediye olarak temin edildi.

3.4 YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANI İLE İLGİLİ BESLENME DENEYLERİ

Farklı konsantrasyonlarda BA'in ergin evreye kadar *D. melanogaster*'ın yaşama ve gelişimine etkisini incelemek için patates püresi ve sükroza dayalı yapay besini kullanıldı (Rogina et al. 2000, Lesch et al. 2007). BA'in denenen miktarları mg/L olarak besinlerin hazırlanması sırasında besin katılaşmadan (30–40 °C) bir süre önce ilave edilerek homojen olarak karışması sağlandı. Daha sonra kontrol besini ve BA'i içeren diğer besinler uygun besin kaplarına (150 ml'lik şişeler, 50 x 100 mm) taksim edildi. Her bir besin için 50 larva kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı. Larvalar farklı konsantrasyonlarda BA karışımlarını içeren besinlere bırakıldıktan sonra gelişimlerini tamamlayan olgun *D. melanogaster* larvalarının (3. evre larvalar) pup olmaları için beklendi. Yumurtadan itibaren ergin evreye ulaşan bireylerin oranı, ergin evreye ulaşması için geçen süre (gün) kaydedildi. Denemede kullanılan erginlerin eşey ayrımı, erginlerinin vücut büyüklüğüne ve abdomenlerinin son segmentindeki genital yapıya göre yapıldı. Ayrıca BA'in belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile beslenerek ergin evreye kadar yetiştirilen böceğin 3. larval evresi, pup ve ergin (dişi ve erkek) bireyleri diseksiyon mikroskobu altında morfolojileri incelendi, anormallikler not edildi ve görüntülendi.

3.5 DIŞILARIN YUMURTA VERİMİ, AÇILMA ORANI VE ERGİN ÖMÜR UZUNLUĞU İLE İLGİLİ DENEYLER

BA'in *D. melanogaster*'in ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranına etkisini belirlemede iki farklı deney grubu yürütüldü. Birinci grup deneyde BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinler ve kontrol besini ile yetiştirilen erginler hayatta kalma süreleri boyunca BA içermeyen normal besinler (kontrol besini) ile beslendi. Bu çalışmanın ikinci grubunda BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile yetiştirilen bu erginler hayatta kalma süreleri boyunca denenen BA konsantrasyonlarını içeren besinler ile beslendi. İkinci grupta kontrol besini ile yetiştirilen erginler ise BA içermeyen normal besin ile beslendi.

Birinci grup deneyde farklı konsantrasyonlarda BA karışımlarının yapay besinle yetiştirilen *D. melanogaster* dişilerinin yumurta verimine etkisini incelemek için yumurtadan yeni çıkan larvalar bu inorganik insektisit farklı miktarlarını içeren yapay besinler ile ergin evreye kadar yetiştirildi. Her bir deney için aynı yaşta, çiftleşmemiş 25'er adet dişi ergin kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı. BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinler ve kontrol besini ile yetiştirilen bu erginler hayatta kalma süreleri boyunca BA içermeyen normal besinler ile beslendi. Yumurta verimi ve açılma oranı ile ilgili ikinci bir seri deney yürütüldü. Bu seride BA'in denenen miktarlarını içeren besinler ile yetiştirilen dişiler yaşadıkları süre boyunca yine BA'in denenen miktarlarını içeren besinler ile beslendi. Bu grupta kontrol besini ile yetiştirilen erginler ise deney süresince BA içermeyen normal besin ile beslendi. Dişiler tarafından bırakılan yumurtalar siyah bir zemin üzerine konulan petri kutusu içinde sayıldı. Her iki deney serisinde dişilerin hayatta kaldıkları süre boyunca bıraktıkları yumurtalar sayılarak yumurtaların açılması için stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında bekletildi. Yumurta üretimi, bir günde dişi başına bırakılan yumurta sayısı ele alınarak değerlendirildi ve dişinin verimliliği olarak ifade edildi. Her gün açılan larvalar yine siyah bir zemin üzerinde sayılarak ortalama sayısı kaydedildi ve yumurtaların açılma oranı (fertilite) tespit edildi.

Farklı konsantrasyonlarda BA'in ergin bireylerin ömür uzunluğuna etkisini belirlemek için yumurtadan yeni çıkmış *D. melanogaster* larvaları BA'in miktarlarını içeren yapay besinler ile ergin evreye kadar beslendi. Her bir deney için aynı yaşta, 25'er adet erkek ve dişi ergin kullanıldı ve deneyler dörder defa tekrarlandı. BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinler ve kontrol besini ile yetiştirilen bu erginler hayatta kalma süreleri boyunca BA içermeyen normal besinler ile beslendi. Ergin ömür uzunluğu ile ilgili ikinci bir seri deney daha yürütüldü. Bu seride BA'in denenen miktarlarını içeren besinler ile yetiştirilen erginler yaşadıkları süre boyunca BA'in denenen miktarlarını içeren besinler ile beslendi. Bu grupta kontrol besini ile yetiştirilen erginler ise deney süresince BA içermeyen normal besin ile beslendi. Bu erginler stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında bırakıldı. Kontrol ve uygulama grubundaki erginler, her gün belirli saatte kontrol edilerek ölen bireyler kaydedilerek ortamdaki uzaklaştırıldı. Yaşayan bireyler içinde besin bulunan yeni kaplara aktarıldı. En son erginin ölümüne kadar her erginin ömür uzunluğu süresi belirlendi.

Kontrol ve BA karışımlarının *D. melanogaster* üzerindeki etkisinin araştırıldığı beslenme deneylerinin hepsinde yaşama ve gelişim deneyleri için larvaların beslendiği kaplar, ömür

uzunluğu ve yumurta verimi için erginleri içeren kaplar kısa bir günlük inceleme periyodu hariç sürekli olarak stok kültürün devam ettirildiği ortam şartlarında bekletildi. Besinin hazırlanması, yumurta bırakması için ergin bireylerin besinlere aktarılması hariç beslenme deneylerinin tümü böceklerin yine stok kültürünün yetiştirildiği şartlarda yürütüldü. Besinin hazırlanması, yumurtaların elde edilmesi, bu yumurtalardan çıkan larvaların besine aşılması işlemleri tamamen aseptik olmayan şartlarda yapıldı (Koç ve Gülel 2006, Uysal vd. 2009).

3.6 ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI VE BİYOKİMYASAL ANALİZLER

D. melanogaster'in yumurtadan yeni çıkmış larvaları (1. evre larvaları) BA'in belirlenen konsantrasyonlarını (kontrol, 10, 100, 200, 300 mg/L) içeren besinler ile ergin evreye kadar yetiştirildi. Lipid peroksidasyonu ürünü MDA ve PO ürünü PCO miktarı ile antioksidan savunma sisteminin önemli enzimlerinden olan GST aktivitesi son larva evresi (3.evre), pup ve ergin evrede belirlendi. Ayrıca BA'in *D. melanogaster*'in ergin evre sonrasında MDA, PCO miktarı ve GST aktivitesini belirlemede iki farklı grup deney yürütüldü;

- Birinci grup deneyde BA'in denenen konsantrasyonları ile yetiştirilen larvalardan elde edilen erginler, BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinlerle 10 gün süreyle beslendi. Dişi, erkek erginler ve dişilerin yumurtalarında MDA, PCO miktarları ve GST aktivitesi tespit edildi.
- İkinci grup deneyde ise BA'in denenen konsantrasyonları ile yetiştirilen larvalardan elde edilen erginler, BA içermeyen kontrol besiniyle 10 gün süreyle beslendi. Dişi, erkek erginler ve dişilerin yumurtalarında MDA, PCO miktarı ve GST aktivitesi tespit edildi.

Alınan örnekler, soğuk homojenizasyon tamponu (% 1,15 KCL, 25 mM K₂HPO₄, 5 mM EDTA, 2 mM PMSF, 2 mM DTT, pH: 7,4) bulunan tüpe konuldu ve -80 °C de saklandı. Tüplere fenol oksidaz aktifliğini önlemek için birkaç PTU kristali konuldu. Kullanılmadan önce bu tüpler oda sıcaklığında bekletilerek çözünmesi sağlandı.

D. melanogaster'in larva, pup ve erginlerinin ekstraksiyonu, homojenizasyon tamponu içerisinde ultrasonik homojenizatör (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany)'de + 4 °C 10'ar saniyelik süreler ile üçer defa (30 W, 10 sn) yapıldı. Daha sonra homojenatın bir

kısmı 1000 x g'de 15 dk süre ile + 4 °C'de santrifüj (Hettich Zentrifugen Mikro 200R, Germany) edildi. Süpernatant MDA ve total protein analizleri için kullanıldı. Elde edilen homojenatın diğer kısmı 16000 x g'de 20 dk santrifüjlenerek GST tayini yapıldı. PCO tayini için homojenizasyon tamponu ile homojenize edilen örneklerin + 4 °C'de 1000 x g'de 10 dk santrifüj edilmesi ile elde edilen üst sıvı kullanıldı. MDA ve PCO miktarı ve GST enzim aktivitesi spektroskopik (Shimadzu 1700, UV/VIS Spektrofotometre, Kyoto, Japan) yöntem ile belirlendi. Biyokimyasal analizlerde 20 larva, 20 pup, 20 dişi, 20 erkek ergin ve 200 yumurta kullanılarak dört defa tekrarlandı. Protein miktarı, standart olarak BSA proteini kullanılarak belirlendi (Lowry et al. 1951).

3.6.1 Malondialdehit (MDA) Miktarının Tayini

532 nm'de TBA ile reaksiyona giren LPO son ürünü olan MDA miktarının ölçümü Jain ve Levine'nin kullandığı metod temel alınarak (Jain and Levine 1995) yapıldı. Dokular, üç katı kadar % 1,15'lik KCl ile ultrasonik homojenizatörden geçirilerek (10 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus, HD2070, Berlin, Germany) iyice parçalandı. Homojenize edilen örneklerden 200 µl alınarak 800 µl pH 7,4 olan fosfat tamponu (18 mM NaCl, 18 mM Na₂HPO₄), 25 µl 0,04 M BHT ve 500 µl % 30'luk TCA eklendi. Vortekslelendikten sonra 2 saat karanlıkta buzun içerisinde bekletildi. Sonra 15 dk + 4 °C, 5000 x g'de santrifüj edildi. Tüplerin üst sıvısından 1 ml alınarak üzerine 0,1 M'lik EDTA ve % 1'lik TBA ilave edildi ve kaynar su banyosunda 45 dk bekletildi. Kaynar su banyosundan çıkarılan örnekler oda ısısına gelmesi için bir süre beklendikten sonra spektrofotometrede 532 nm'de absorbansı okundu. Sabit kat sayısı, 1,56 x 10⁵ M⁻¹ cm⁻¹, kullanılarak LPO ürünü olan MDA miktarı nmol/mg protein olarak verildi.

3.6.2 Protein Karbonil (PCO) Miktarı Tayini

Kuvvetli asit ortamda (2 M HCl) proteinlerdeki karbonil gruplarının 2,4 DNPH ile kararlı bileşik olan 2,4-dinitrofenilhidrazon oluşturması ve bu ürünlerin 370 nm'de ölçülmesine dayanan PCO miktarının tayini, Levine et al. (1994)'in metodu temel alınarak yapıldı (Krishnan and Kodrik 2006). Örneklerle homojenizasyon tamponu (% 1,15'lik KCL, 25 mM K₂HPO₄, 5 mM EDTA, 2 mM PMSF, 2 mM DTT, pH: 7,4) eklenerek + 4 °C'de ultrasonik homojenizatörde (10 sn, 30 W) (Bandelin Sonoplus HD2070, Berlin, Germany) iyice parçalandı. Homojenatın kaba parçalarını uzaklaştırmak için + 4 °C'de 1000 x g'de 10 dk santrifüj (Hettich Zentrifugen, Mikro 200 R soğutmalı santrifüj) edildi. Üst sıvıdan 400 µl

alınıp 44,4 µl % 10'luk streptomisin sülfat ilave edilerek 37 °C'de 15 dk benmaride bekletildi. Daha sonra nükleik asitlerin çöktürülmesi için 8000 x g'de + 4 °C'de santrifüj edildi. Tüplerin üst sıvısından 200 µl alınarak üzerine 800 µl 10 mM 2,4 DNPH eklendi ve 37 °C'de 15 dk belirli aralılar ile çalkalamak suretiyle beklendi. Daha sonra buz üzerinde tüplere 700 µl % 20'lik TCA ilave edilerek 10 dk bekletildi. Oluşan 2,4-dinitrofenilhidrazon bileşiklerinin çöktürülmesi için + 4 °C'de 10000 x g'de 10 dk santrifüj edildi. Üst sıvı atılarak çöküntü üzerine 1 ml etanol: etil asetat karışımı (1:1) ilave edildi ve vorteks ile yavaşça homojenize edildikten sonra 10000 x g'de + 4 °C'de santrifüj edilerek üst sıvı tekrar atıldı. Bu işlem 3 defa tekrarlandı. En son santrifüjleme işleminden sonra çöküntünün çözülmesi için örneğin üzerine 2,5 ml 6 M guanidin hidroklorür ilave edilerek 37 °C'de 10 dk karıştırılmak suretiyle çöküntü iyice çözüldü. Toplam protein analizinde kullanılmak için bu homojen çözeltiden 150 µl'si alındı. Karışımın kalan bölümü +4 °C'de 10000 x g'de 10 dk santrifüj edilerek çözünmeyen kaba partiküllerin çökmesi sağlandı. Üst sıvı 370 nm'de spektrofotometrede kör tüpe karşı absorbansı (Shimadzu 1700 UV/Vis, Kyoto, Japan) okunarak PCO miktarı 22,000 M⁻¹ cm⁻¹ kat sayısı kullanılarak nmol/mg protein olarak verildi.

3.6.3 Glutatyon-S-transferaz (GST) Enzimi

Habig ve arkadaşları tarafından geliştirilen metoda göre (Habig et al. 1974); GST (EC 2.5.1.18) enzimi tarafından substrat olarak kullanılan CDNB, GSH ile konjuge edilerek glutatyonun oksidasyonu sonucunda 340 nm'de örneğin absorbansının yükselmesine bağlı olarak GST tayini yapıldı. GST aktivitesinin ölçülmesi için 3 ml'lik cam küvetlere 2,5 ml 50 mM fosfat tamponu, 200 µl 20 mM GSH, 150 µl homojenize edilen örneğin süpernatantı ve 150 µl 25 mM CDNB eklenerek enzimatik reaksiyon başlatıldı. CDNB'nin GSH ile reaksiyona girerek tioether yapısını oluşturması absorbansı yükseltmektedir, bunun için yükselen absorbans spektrofotometrede 340 nm'de 2 dk boyunca okundu. Enzim aktivitesi 340 nm'de (ϵ_{340} : 9,6 mM/cm) 1 dk'da süpernatantta bulunan 1 mg toplam protein başına oluşturulan tioether miktarı olarak hesaplandı ve enzimin spesifik aktivitesi µmol/mg protein/dk olarak verildi.



3.6.4 Total Protein Tayini

Elde edilen süpernatantlardan enzimlerin spesifik aktifliğini (GST), MDA miktarlarını hesaplamak için Folin-Lowry metoduna göre toplam protein tayini yapılmıştır. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede 600 nm’de ölçülerek toplam protein miktarı tespit edildi (Lowry et al. 1951). Farklı konsantrasyonlarda BSA çözeltileri hazırlanarak bir standart grafik oluşturuldu ve toplam protein miktarları bu standart grafiğe göre hesaplandı.

PCO analizi yapılan örneklerin toplam protein tayini 6 M guanidin hidroklorür ile çözülen homojen karışımdan alınan 150 µl’ye 1350 µl guanidin hidroklorür eklenerek 1:10 oranında sulandırıldı. Örneklerin absorbansı kör tüpe karşı 280 nm’de spektrofotometrede ölçüldü. BSA standart çözeltileri (12,5-1600 mg/100ml) 6 M guanidin hidroklorür ile hazırlanarak standart grafik oluşturuldu ve toplam protein miktarı bu grafiğe göre hesaplandı.

3.7 VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Farklı konsantrasyonlarda BA’in *D. melanogaster*’in yaşama oranı ve gelişimi üzerindeki etkileri 3. larval evre, pup ve ergin evreye ulaşan bireylerin yüzdesi ve bu evreye ulaşmak için geçen ortalama süre (gün) dikkate alınarak değerlendirildi. Ergin bireylerin ömür uzunluğuna etkisi erginleşen bireylerin hayatta kaldıkları gün olarak ortalama süre (ömür uzunluğu) belirlenerek değerlendirildi. Farklı konsantrasyonlarda BA’in, böceklerin enzimatik antioksidan kapasitesine, LPO ve PO düzeyi üzerine etkilerinin değerlendirilmesinde ise son larva evresi, pup, ergin evre ve dişilerin yumurtalarındaki GST enzimi ile LPO ürünlerinden MDA miktarındaki ve PO ürünü PCO bileşiklerindeki değişimler dikkate alındı. Gelişme süresi, erginlerin ömür uzunluğu, MDA ve PCO miktarı, GST aktivitesi ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü “Varyans Analizi” (ANOVA) (SPSS 1997), ortalamalar arasındaki farkın önemini saptamak için “LSD Testi” (SPSS 1997), yaşama ve eşey oranı ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde ise “ χ^2 (Chi square) Testi” (Snedecor and Cochran 1967) kullanıldı. Her konsantrasyon için larva-pup-ergin evrelerinin MDA ve PCO miktarı ve GST aktiviteleri arasındaki farkları tespit etmek için “Kruskal-Wallis testi” kullanıldı. Ayrıca, her konsantrasyon için dişi ve erkek ergin evreler arasında meydana gelen değişikliklerin belirlenmesinde “Mann Whitney U testi” kullanıldı. Ortalamaların önemi 0,05 olasılık seviyesinde değerlendirildi.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. BORİK ASİTİN *D. MELANOGASTER* LARVALARININ YAŞAMA, GELİŞME VE EŞEY ORANINA ETKİSİ

BA içermeyen kontrol besinine göre BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinler böceğin 3. evreye ulaşan larva, pup ve ergin olma oranını önemli derecede düşürmüştür. Kontrol besininde % 74,00 ± 1,41 oranında ergin elde edilmesine rağmen BA'in denenen en düşük konsantrasyonu olan 10 mg'ını içeren besin bu oranı % 54,98 ± 6,73'e indirmiştir. Benzer şekilde BA'in 100 ve 200 mg'ını içeren besinler de ergin olma oranını sırasıyla % 41,00 ± 5,94 ve % 37,10 ± 8,62'ye önemli derecede düşürmüştür. BA'in denenen bu düşük konsantrasyonları (10, 100, 200 mg/L) böceğin ergin öncesi gelişme süresi üzerinde önemli bir etki yapmamıştır. Ancak BA'in 200 mg/L'ı ergin olma süresini 8.81 ± 0,49 günden 9,46 ± 0,31 güne önemli derecede uzatmıştır. BA'in denenen en yüksek besinsel konsantrasyonu (300 mg/L) ergin evreye ulaşan birey sayısını kontrole göre yaklaşık üçte bir oranında önemli derecede düşürmüştür. Bu besinden % 22,50 ± 6,83 oranında ergin elde edilebilmiştir (Çizelge 4.1.1). BA'in en yüksek besinsel konsantrasyonu böceğin tüm evrelerinde gelişme süresini ortalama 2 gün önemli derecede uzatmıştır.

BA içermeyen kontrol besininden % 74,00 ± 1,41 oranında ergin elde edilmiş olup bu erginlerin % 37,51 ± 4,61'si erkek, % 62,49 ± 4,61'si dişidir. BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinler erkek olma oranını arttırırken dişi birey oranını önemli derecede düşürmüştür. BA'in 300 mg/L'ını içeren besin de erkek oranı % 61,25 ± 15,04, dişi oranı ise % 38,75 ± 15,04 (Çizelge 4.1.1) olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1.1 Borik asitin *D. melanogaster* larvalarının yaşama, gelişimi ve eşey oranına etkisi.

| Borik asit (mg/L besin) | 3.evreye ulaşan | 3.evreye ulaşma | Pup olma | Pup olma | Ergin olma | Ergin olma | Eşey oranı (%) | |
|----------------------------|-----------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|
| | larva oranı (%) | süresi (gün) | oranı (%) | süresi (gün) | oranı (%) | süresi (gün) | Erkek | Dişi |
| | (Ort* ± S.H)† | (Ort* ± S.H)† | (Ort* ± S.H)† | (Ort* ± S.H)† | (Ort* ± S.H)† | (Ort* ± S.H)† | (Ort* ± S.H)† | (Ort* ± S.H)† |
| 0,00 [§] | 97,00 ± 2,60a | 3,80 ± 0,43a | 90,50 ± 3,11a | 4,80 ± 0,44a | 74,00 ± 1,41a | 8,81 ± 0,49a | 37,51 ± 4,61a | 62,49 ± 4,61a |
| 10 | 70,77 ± 8,73b | 3,94 ± 0,27a | 64,76 ± 7,59b | 4,98 ± 0,29a | 54,98 ± 6,73b | 9,16 ± 0,23a | 39,33 ± 4,01a | 60,67 ± 4,01a |
| 100 | 54,00 ± 6,96c | 4,44 ± 0,28a | 45,50 ± 5,97c | 5,22 ± 0,23a | 41,00 ± 5,94c | 9,32 ± 0,35a | 40,58 ± 3,90ab | 59,42 ± 3,90ab |
| 200 | 50,61 ± 10,70c | 4,57 ± 0,22a | 44,61 ± 9,35c | 5,48 ± 0,19a | 37,10 ± 8,62c | 9,46 ± 0,31ab | 36,65 ± 5,07a | 63,35 ± 5,07a |
| 300 | 58,00 ± 6,20c | 5,82 ± 0,45b | 47,00 ± 5,50c | 6,83 ± 0,42b | 22,50 ± 6,83d | 10,98 ± 0,70b | 61,25 ± 15,04b | 38,75 ± 15,04b |


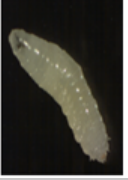























*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 50 larva kullanıldı.

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

§ Kontrol besini (Borik asit içermeyen)

BA içermeyen kontrol besine göre BA'ın denenen konsantrasyonlarını içeren besinler (300 mg/L hariç) 3. evre larvaları, pup ve ergin bireyler üzerinde morfolojik olarak önemli bir etki yapmamıştır. Fakat 300 mg/L BA'le beslenen böceğin 3. evre larvaları ve puplarında kontrol besinine göre morfolojik yönden sindirim kanalında ve deride koyu bir pigmentasyon tespit edilmiştir (Çizelge 4.1.2).

Çizelge 4.1.2 Borik asitin farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile yetiştirilen *D. melanogaster*'in farklı gelişim evreleri (X 500 μ m).

| Borik asit | 0,0 [§] | 10 mg/Litre besin | 100 mg/Litre besin | 200 mg/Litre besin | 300 mg/Litre besin |
|---------------|---|---|---|---|---|
| 3. evre larva |  |  |  |  |  |
| Prepup |  |  |  |  |  |
| Pup |  |  |  |  |  |
| Erkek |  |  |  |  |  |
| Dişi |  |  |  |  |  |

[§]Kontrol besini (borik asit içermeyen)

4.2. BORİK ASİTİN *D. MELANOGASTER*'İN ÖMÜR UZUNLUĞU, YUMURTA VERİMİ VE AÇILMA ORANINA ETKİSİ

Bu çalışmanın birinci grubunda BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinler ve kontrol besini ile yetiştirilen erginler hayatta kalma süreleri boyunca BA içermeyen normal besinler ile beslenerek ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranı belirlendi.

BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinler BA içermeyen kontrol besini ile karşılaştırıldığında erkek erginlerin ömür uzunluğu üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etki olmamıştır. BA içermeyen kontrol besininde erkek erginler $30,06 \pm 1,01$, dişiler $30,33 \pm 4,05$ gün yaşamışlardır. Böylece erkek ve dişiler yaklaşık 30 gün ile aynı süre hayatta kalmışlardır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BA'in 200 mg'ından itibaren dişi ömür uzunluğu önemli derecede kısalmıştır. BA'in 300 mg'ı ile beslenen dişilerin ömür uzunluğu yaklaşık 15 gün kısalarak $14,96 \pm 4,49$ güne inmiştir (Çizelge 4.2.1).

BA içermeyen kontrol besinine göre, BA'in denenen yüksek miktarlarını içeren besinler bir günde dişi başına bırakılan yumurta sayısını düşürmüştür, ancak bu düşme kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Kontrol besininden elde edilen dişilerden $11,67 \pm 1,72$ yumurta elde edilmiş olup, bu sayı BA'in en yüksek konsantrasyonu olan 300 mg'ı ile yetiştirilen dişilerin yumurta verimi istatistiksel açıdan önemli olmayan derecede azalmış olup yumurta sayısı dişi başına bir günde $7,02 \pm 3,68$ 'e düşmüştür. BA içermeyen kontrol besini ile yetiştirilen dişilerin bıraktığı yumurtaların % $91,55 \pm 6,14$ 'i açılmıştır. BA'in düşük konsantrasyonları (10 ve 100 mg/L) kontrol besine göre karşılaştırıldığında yumurta açılımı üzerinde istatistiksel açıdan etkili olmamıştır. BA'in 100 mg'ını içeren besin, yumurtaların % $76,92 \pm 3,75$ 'inin açılmasına neden olmuştur. BA'in 300 mg'ını içeren besinde açılma oranı % $51,35 \pm 15,31$ 'e kadar önemli derecede azalmıştır (Çizelge 4.2.1).

Çizelge 4.2.1 Borik asitin *D. melanogaster* larvalarının ergin ömür uzunluğuna etkisi.

| Borik asit (mg/L besin) | Ergin ömür uzunluğu (gün) [#] | | Yumurta verimi (yumurta sayısı/gün/dişi) (Ort [*] ± S.H) [†] | Açılma oranı (%) (Ort [*] ± S.H) [†] |
|----------------------------|--|---|--|--|
| | Erkek (Ort [*] ± S.H) [†] | Dişi (Ort [*] ± S.H) [†] | | |
| 0,00 [§] | 30,06 ± 1,01a | 30,33 ± 4,05a | 11,67 ± 1,72a | 91,55 ± 6,14a |
| 10 | 28,17 ± 4,58a | 31,05 ± 4,35a | 11,57 ± 3,11a | 90,74 ± 4,82a |
| 100 | 29,88 ± 3,40a | 32,87 ± 2,16a | 10,32 ± 1,83a | 83,90 ± 7,20a |
| 200 | 30,59 ± 2,19a | 26,92 ± 3,39ab | 11,09 ± 2,90a | 76,92 ± 3,75ab |
| 300 | 29,56 ± 2,39a | 14,96 ± 4,49b | 7,02 ± 3,68a | 51,35 ± 15,31b |

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

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

§ Kontrol besini (Borik asit içermeyen).

Erginler normal besin ile beslendi

Bu çalışmanın ikinci grubunda BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile yetiştirilen erginler hayatta kalma süreleri boyunca BA içeren besinlerle kontrol besininden elde edilen erginler ise BA içermeyen normal besin ile beslenerek ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranı belirlendi.

BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinler BA içermeyen kontrol besini ile karşılaştırıldığında dişi erginlerin ömür uzunluğu üzerinde önemli derecede etkili olmamıştır. Her ne kadar BA'in düşük konsantrasyonları (10, 100, 200 mg/L) dişilerin ömür uzunluğunu yaklaşık 2 gün uzatmasına karşın bu uzama istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. BA içermeyen kontrol besininde erkek erginler $28,76 \pm 1,91$, dişiler $21,77 \pm 1,60$ gün yaşamışlardır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BA'in 300 mg'ı erkek ömür uzunluğu önemli derecede kısaltmıştır. BA'in bu konsantrasyonu ile beslenen erkeklerin ömür uzunluğu yaklaşık 9 gün kısaltarak $19,47 \pm 0,42$ güne inmiştir (Çizelge 4.2.2).

BA içermeyen kontrol besinine göre, denenen BA konsantrasyonları dişilerin yumurta verimini istatistiksel açıdan önemli derecede azaltmıştır. BA'in 10 mg'ı yumurta sayısını düşürmesine rağmen bu düşme istatistiksel açıdan önemli olmamıştır. BA'in denenen yüksek miktarlarını içeren (100, 200 ve 300 mg/L) besinler bir günde dişi başına bırakılan yumurta sayısını istatistiksel olarak önemli derecede düşürmüştür. Kontrol besininden elde edilen dişilerden $10,80 \pm 0,29$ yumurta elde edilmiş olup bu sayı BA'in 100 mg'ı ile beslenenlerde $7,73 \pm 0,84$ ve 200 mg/L BA ile beslenenlerde ise $4,36 \pm 1,01$ 'e düşürmüştür. Buna karşılık BA'in en yüksek konsantrasyonu olan 300 mg'ı ile yetiştirilen dişilerin yumurta verimi önemli derecede azalmış olup yumurta sayısı dişi başına bir günde $2,36 \pm 0,42$ 'e azaltmıştır. BA içermeyen kontrol besini ile yetiştirilen dişilerin bıraktığı yumurtaların $95,26 \pm 1,10$ 'sı açılmıştır. BA'in düşük konsantrasyonları (10 ve 100 mg/L) kontrol besine göre karşılaştırıldığında yumurta açılımı üzerinde istatistiksel açıdan etkili olmamıştır. BA'in 200 mg'ını içeren besin kontrole göre yumurtaların açılma oranını % 7 oranında düşürmesine ($87,91 \pm 1,55$) rağmen bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir. BA'in en yüksek konsantrasyonu olan 300 mg'ını içeren besinde açılma oranı $48,80 \pm 12,79$ 'a kadar düşerek önemli derecede azalma tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.2).

Çizelge 4.2.2 Borik asitin *D. melanogaster* larvalarının ergin ömür uzunluğuna etkisi.

| Borik asit (mg/L besin) | Ergin ömür uzunluğu (gün) [‡] | | Yumurta verimi (yumurta sayısı/gün/dişi) (Ort* ± S.H) [†] | Açılma oranı (%) (Ort* ± S.H) [†] |
|----------------------------|--|-----------------------------------|--|--|
| | Erkek (Ort* ± S.H) [†] | Dişi (Ort* ± S.H) [†] | | |
| 0,00 [§] | 28,76 ± 1,91a | 21,77 ± 1,60a | 10,80 ± 0,29a | 95,26 ± 1,10a |
| 10 | 24,54 ± 2,11ab | 24,78 ± 1,92a | 8,51 ± 0,79a | 94,71 ± 2,19a |
| 100 | 25,24 ± 2,27ab | 25,35 ± 2,01a | 7,73 ± 0,84ab | 91,44 ± 2,01a |
| 200 | 24,19 ± 0,81ab | 24,41 ± 1,13a | 4,36 ± 1,01b | 87,91 ± 1,55a |
| 300 | 19,47 ± 0,42b | 20,15 ± 0,44a | 2,36 ± 0,42b | 48,80 ± 12,79b |

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

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

[§]Kontrol besini (Borik asit içermeyen).

[‡]Erginler borik asitin denenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile beslendi

4.3. BORİK ASİTİN *D. MELANOGASTER*'İN MDA, PCO MİKTARLARI VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

4.3.1 Borik asitin farklı konsantrasyonları ile yetiştirilen *D. melanogaster*'in farklı gelişim evrelerinde MDA, PCO miktarları ve GST aktivitesi

D. melanogaster'in yumurtadan yeni çıkmış larvaları (1. evre larvaları) BA'in belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile ergin evreye kadar yetiştirildi. Böceğin son evre larvalarında (3.evre), pup, ergin erkek ve dişilerde MDA ve PCO miktarları ile GST aktiviteleri belirlendi.

BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile yetiştirilen *D. melanogaster*'in 3. larval evresinde MDA miktarı önemli derecede artmıştır. BA'in düşük konsantrasyonları (10 ve 100 mg/L) MDA miktarını $0,13 \pm 0,08$ nmol/mg protein'den sırasıyla $0,29 \pm 0,01$ ve $0,26 \pm 0,02$ nmol/mg proteine arttırmıştır. BA'in 300 mg/L'sini içeren besini ile yetiştirilen 3. evre larvalarında MDA miktarı kontrole göre yaklaşık 4 kat artmıştır. BA'in farklı konsantrasyonları ile yetiştirilen böceğin, pup evresindeki MDA miktarında kontrole göre istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır. BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren besinler BA içermeyen kontrol besinine göre erkek ve dişi erginlerin MDA miktarlarında önemli derecede artışa sebep olmuştur. BA'in en yüksek konsantrasyonu (300 mg/L) ile beslenen erkek erginlerde kontrol besiniyle karşılaştırıldığında MDA miktarı $0,04 \pm 0,01$ nmol/mg protein'den $0,38 \pm 0,14$ nmol/mg proteine yükselerek yaklaşık 9 kat, kontrol grubundaki dişi erginlerde ise $0,04 \pm 0,03$ nmol/mg protein olan MDA miktarı en yüksek BA konsantrasyonunda $0,31 \pm 0,14$ nmol/mg proteine yükselerek yaklaşık 7 kat artmıştır (Çizelge 4.3.1).

Kontrol besiniyle yetiştirilen *D. melanogaster* için MDA miktarı larval evreden ergin evreye doğru azalmıştır. Larval evrede MDA miktarı $0,13 \pm 0,01$ nmol/mg protein iken erkek ve dişi erginlerde ortalama $0,04$ nmol/mg protein'e önemli derecede düşmüştür. BA'in en düşük konsantrasyonunu (10 mg/L) içeren yapay besinle yetiştirilen 3. evre larvalarındaki MDA miktarı ($0,29 \pm 0,01$ nmol/mg protein) dişi erginlerde yaklaşık 2 kat artmıştır. Bu besin ile yetiştirilen pup ve erkek erginlerde ise MDA miktarı dişi erginlere göre yaklaşık 10 kat azalmıştır. BA'i litresinde 100 mg içeren yapay besinle yetiştirilen puplarda en az düzeyde MDA oluşumu ($0,05 \pm 0,02$ nmol/mg protein) görülürken, dişi ergin bireylerde MDA miktarı

7 kat artarak $0,37 \pm 0,07$ nmol/mg protein düzeyine ulaşmıştır. BA'in 200 mg/L konsantrasyonu ile yetiştirilen 3. evre larvalarında $0,34 \pm 0,03$ nmol/mg protein olan MDA miktarı pup evresinde $0,07 \pm 0,02$ nmol/mg protein'e düşerken, erkek ergin bireylerde MDA miktarı $0,30 \pm 0,05$ nmol/mg protein'e önemli derecede yükselmiştir. BA'in 300 mg/L konsantrasyonunu içeren besin ile beslenen puplarda MDA miktarı diğer evrelere göre azalma gösterse de böceğin gelişim evrelerinde MDA miktarı bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4.3.1).

Çizelge 4.3.1 Borik asitin farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile yetiştirilen *D. melanogaster*'in farklı gelişim evrelerinde MDA miktarı.

| Borik asit (mg/Litre besin) | MDA (nmol/mg protein) (Ort [*] ± S.H) ^{†#} | | | |
|--------------------------------|--|-----------------|------------------|------------------|
| | 3. evre larva | Pup | Ergin | |
| | | | Dişi | Erkek |
| 0,0 [§] | 0,13 ± 0,08 aA | 0,06 ± 0,01 aAB | 0,04 ± 0,03 aB | 0,04 ± 0,01 aB |
| 10 | 0,29 ± 0,02 bAB | 0,04 ± 0,01 aA | 0,48 ± 0,12 bB | 0,04 ± 0,01 aA |
| 100 | 0,26 ± 0,56 bAB | 0,05 ± 0,02 aA | 0,37 ± 0,07 bB | 0,12 ± 0,03 abAB |
| 200 | 0,34 ± 0,03 bcAB | 0,07 ± 0,02 aA | 0,16 ± 0,02 abAB | 0,30 ± 0,05 bB |
| 300 | 0,41 ± 0,05 bcA | 0,11 ± 0,03 aA | 0,31 ± 0,10 bA | 0,38 ± 0,14 bA |

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için farklı gelişim evrelerinden 20 böcek kullanıldı

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

Aynı satırda aynı büyük harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (Kruskal-Wallis testi)

§ Kontrol besini (borik asit içermeyen)

BA'in denenen düşük konsantrasyonlarını (10-200 mg/L) içeren yapay besinler *D. melanogaster*'in 3. larval evresinde PCO miktarını arttırmasına rağmen kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. BA'in en yüksek konsantrasyonu (300 mg/L) kontrol besinine göre PCO miktarını $2,96 \pm 0,79$ nmol/mg protein'den $52,50 \pm 17,61$ nmol/mg protein'e yaklaşık 17 kat önemli derecede arttırmıştır. Denenen BA konsantrasyonları pup evresinde PCO miktarını arttırmalarına rağmen kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. BA'in düşük konsantrasyonlarını içeren besinler BA içermeyen kontrol besini karşılaştırıldığında dişi erginlerin PCO miktarlarında artışa sebep olduğu gözlemlendiği halde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmemiştir. Buna karşılık, BA'in denenen en yüksek konsantrasyonu dişi erginlerde PCO miktarını $11,27 \pm 2,56$ nmol/mg proteinden $120,88 \pm 34,15$ nmol/mg proteine yaklaşık 10 kat önemli derecede arttırmıştır. BA'in denenen düşük konsantrasyonları (10-200 mg/L) erkek erginlerin PCO miktarında istatistiksel olarak önemli olmayan düşmeye sebep olmuştur. Ancak BA'in denenen yüksek konsantrasyonu erkek erginlerin PCO miktarını $31,85 \pm 8,63$ nmol/mg protein'den $69,11 \pm 21,47$ nmol/mg protein'e önemli derecede arttırmıştır (Çizelge 4.3.2).

Kontrol besiniyle yetiştirilen *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarında $2,96 \pm 0,79$ nmol/mg protein olan PCO miktarı pup evresinde önemli bir artış göstermezken erkek erginlerde önemli derecede yaklaşık 10 kat, dişilerde 4 kat artmıştır. BA'i 10 mg/L konsantrasyonda içeren yapay besinle yetiştirilen *D. melanogaster*'in gelişim evrelerinde larval evreden itibaren ergine doğru PCO miktarında azalma gözlenirken istatistiksel açıdan önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. BA'in 100 mg/L'sini içeren yapay besinle yetiştirilen 3. evre larvalarındaki PCO miktarı ($25,74 \pm 9,16$ nmol/mg protein) pup evresinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir seviyeye ($9,80 \pm 0,60$ nmol/mg protein) düşmüştür. Bu pupların PCO miktarı dişi erginlerde önemli bir artış ($37,40 \pm 5,32$ nmol/mg protein) göstermiştir. BA'i 200 mg/L içeren yapay besin ile yetiştirilen *D. melanogaster*'in erkek erginlerinde PCO miktarı azalmasına karşın istatistiksel olarak gelişim evreleri arasında fark bulunmamıştır. BA'in en yüksek konsantrasyonu (300 mg/L) böceğin ergin öncesi evrelerine göre ergin erkeklerin PCO miktarında istatistiksel olarak önemli olmayan bir artış gözlenirken dişilerde bu konsantrasyondaki PCO miktarında istatistiksel olarak önemli bir artışa sebep olmuştur (Çizelge 4.3.2).

Çizelge 4.3.2 Borik asitin farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile yetiştirilen *D. melanogaster*'in farklı gelişim evrelerinde PCO miktarı.

| Borik asit (mg/Litre besin) | PCO (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H) ^{†#} | | | | | | | |
|--------------------------------|--|------|---------------|-----|----------------|-----|---------------|------|
| | 3. evre larva | | Pup | | Ergin | | Erkek | |
| | | | | | | | | |
| 0,0 [§] | 2,96 ± 0,79 | aA | 6,35 ± 1,23 | aAB | 11,27 ± 2,56 | aAB | 31,85 ± 8,63 | aB |
| 10 | 27,33 ± 7,00 | abA | 14,45 ± 4,50 | aA | 19,46 ± 3,75 | aA | 10,67 ± 6,34 | abA |
| 100 | 25,74 ± 9,16 | abAB | 9,80 ± 0,60 | aA | 37,40 ± 5,32 | aB | 13,99 ± 1,69 | abAB |
| 200 | 39,11 ± 11,96 | abA | 24,81 ± 12,79 | aA | 28,88 ± 9,10 | aA | 13,37 ± 3,12 | abA |
| 300 | 52,50 ± 17,61 | bA | 19,26 ± 3,44 | aA | 120,88 ± 34,15 | bB | 69,11 ± 21,47 | cA |

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için farklı gelişim evrelerinden 20 böcek kullanıldı

[†]Aynı sütunda aynı küçük harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD testi)

[#]Aynı satırda aynı büyük harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (Kruskal-Wallis testi)

[§]Kontrol besini (borik asit içermeyen)

BA'in farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinler *D. melanogaster*'in 3. larval evresinde GST aktivitesini önemli derecede arttırmıştır. BA'in 200 mg/L'lik konsantrasyonu 3. evre larvalarında GST aktivitesini $0,36 \pm 0,01$ nmol/mg protein/dk'dan $0,64 \pm 0,04$ 'e nmol/mg protein/dk'ya yükseltmiştir. BA'in denenen düşük konsantrasyonları (10 ve 100 mg/L) kontrol besiniyle karşılaştırıldığında pup evresinde GST miktarını istatistiksel açıdan önemli olmayan derecede düşürmüştür, 200 mg BA ise önemli olmayan bir artışa sebep olmuştur. Buna karşılık en yüksek BA konsantrasyonu (300 mg/L) kontrol besinine göre pup evresinde GST miktarını yaklaşık 3 katı oranında önemli derecede arttırmıştır. BA'in 100 mg'ını içeren besin dışında, diğer BA konsantrasyonlarını içeren besinler kontrol besini ile karşılaştırıldığında dişi erginlerin GST aktivitesinde istatistiksel olarak önemli derecede artışa sebep olmuştur. BA'in en yüksek konsantrasyonunda dişilerin GST aktivitesi $0,15 \pm 0,02$ nmol/mg protein/dk'dan $0,75 \pm 0,10$ nmol/mg protein/dk'ya önemli derecede yükselmiştir. BA'in 200 ve 300 mg/L konsantrasyonları sırasıyla kontrol besinine göre erkek erginlerde GST aktivitesini yaklaşık 2,5 ve 4 katı oranında önemli derecede arttırmıştır (Çizelge 4.3.3).

Kontrol besini ile yetiştirilen böceğin ergin öncesi evrelerine göre, ergin evresinde hem erkek hem de dişi bireylerde GST aktivitesi düşmesine rağmen istatistiksel olarak önemli bir azalma kaydedilmemiştir. BA'in 10 mg'ı ergin erkek bireylerde GST aktivitesini, 3. evre larvasına ve dişi erginlere göre önemli derecede azaltmıştır. BA'in 100 ve 200 mg/L'lik konsantrasyonları böceğin gelişim evrelerindeki GST aktivitesi üzerinde önemli bir etki yapmamıştır. BA'in 300 mg'ını içeren besin ise 3. evre larvalarına ($0,50 \pm 0,05$ nmol/mg protein/dk) göre, pup evresindeki GST aktivitesini yaklaşık 3,5 katı oranında önemli derecede artırarak $1,80 \pm 0,74$ nmol/mg protein/dk'ya ulaştırmıştır. Ancak pupların bu GST aktivitesi ergin dişi ve erkeklerinkine göre önemli bir fark oluşturmamıştır (Çizelge 4.3.3).

Çizelge 4.3.3 Borik asitin farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile yetiştirilen *D. melanogaster*'in farklı gelişim evrelerinde GST aktivitesi.

| Borik asit (mg/Litre besin) | GST (nmol/mg protein/dk) (Ort [‡] ± S.H) ^{†#} | | | |
|--------------------------------|---|-----------------|------------------|-----------------|
| | 3. evre larva | Pup | Ergin | |
| | | | Dişi | Erkek |
| 0,0 [§] | 0,36 ± 0,01 aA | 0,52 ± 0,28 aA | 0,15 ± 0,02 aA | 0,21 ± 0,03 aA |
| 10 | 0,54 ± 0,03 bA | 0,44 ± 0,16 aAB | 1,17 ± 0,21 bA | 0,15 ± 0,01 aB |
| 100 | 0,56 ± 0,05 bA | 0,35 ± 0,13 aA | 0,45 ± 0,14 acA | 0,33 ± 0,04 aA |
| 200 | 0,64 ± 0,04 bA | 1,05 ± 0,20 aA | 0,68 ± 0,11 cA | 0,57 ± 0,07 abA |
| 300 | 0,50 ± 0,05 abA | 1,80 ± 0,74 bB | 0,75 ± 0,10 bcAB | 0,87 ± 0,32 bAB |

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için farklı gelişim evrelerinden 20 böcek kullanıldı

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

Aynı satırda aynı büyük harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (Kruskal-Wallis testi)

§ Kontrol besini (borik asit içermeyen)

4.3.2 Borik asitle yetiştirilen erginlerin, borik asit içeren besin ile ve borik asit içermeyen yapay besin ile yetiştirilmesine bağlı olarak MDA, PCO miktarları ve GST aktivitesindeki değişimler

Bu seride iki grup deney yapıldı. Birinci grupta BA'in belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile yetiştirilen larvalardan elde edilen ergin bireyler yine BA'in belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile 10 gün süre ile beslendi. Bu deney grubundan elde edilen dişi ve erkek erginlerde MDA ve PCO miktarları ile GST aktiviteleri belirlendi. İkinci grupta, BA'in belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile yetiştirilen larvalardan elde edilen ergin bireyler BA içermeyen yapay besinle 10 gün süre ile beslendi, dişi ve erkek erginlerde MDA ve PCO miktarları ile GST aktiviteleri belirlendi.

10 gün süreyle 300 mg/L BA içeren besin ile beslenen dişi bireylerin MDA miktarı kontrol besinine göre 4 kat artırdığı Çizelge 4.3.4'de görülmektedir. Buna karşılık yalnızca 100 mg/L BA içeren besinle beslenildiğinde erkek erginlerin kontrol besinine göre MDA miktarı artmış olup bu artış 5 katı oranında olmuştur. Kontrol besini ve BA'in denenen tüm konsantrasyonlarında erkek ve dişiler arasında MDA miktarı açısından önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Dişi erginlerde erginler BA'in 300 mg'ına kadar artan konsantrasyonlarını içeren besinler ile beslenildiğinde PCO miktarları artmış olup bu artışlar istatistiksel olarak önemli olmamıştır. Buna karşılık BA'in 300 mg'ı ile erginler beslenildiğinde PCO miktarı $3,08 \pm 0,88$ nmol/mg proteinden $29,01 \pm 6,86$ nmol/mg proteine yükselen yaklaşık 9 katı bir artış tespit edilmiştir. Buna karşılık, BA'in 200 mg'ı ile erkek erginler beslenildiğinde 10 günlük erginlerde PCO miktarı kontrole göre 3 katı oranında istatistiksel olarak önemli olmayan bir artış görülmüştür. Ancak BA'in 300 mg/L'si ile beslenen ve 10 günlük erkeklerde kontrol besinine göre PCO miktarı önemli derecede 7 katı artmıştır. BA'in düşük konsantrasyonları (10 ve 100 mg/L) ile 10 gün boyunca beslenen dişilerdeki PCO miktarı erkek bireylere göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. BA'in 100 mg/L'si ile 10 gün boyunca beslenen dişilerde PCO miktarı 4 katı artmıştır. Denenen BA konsantrasyonlarından en düşük (10 mg/L) ve yüksek konsantrasyonlar (200 ve 300 mg/L) ile ergin evrede beslenen dişi bireylerde kontrole göre GST aktivitesi önemli derecede yüksek bulunmuştur. BA'in 100 mg/L konsantrasyonu ile ergin evrede beslenen erkek bireylerde GST aktivitesi $1,00 \pm 0,39$ 'den $5,78 \pm 1,26$ nmol/mg protein/dk'ya önemli derecede artmıştır. BA'in diğer konsantrasyonlarında kontrole göre 10 günlük erkeklerin GST aktivitesinde artış olmasına karşın bu artış istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. BA'in 100 mg/L konsantrasyonu ile

ergin evrede beslenen erkek bireylerdeki GST aktivitesi ($5,78 \pm 1,26$ nmol/mg protein/dk) dişi bireylere ($1,18 \pm 0,12$ nmol/mg protein/dk) göre önemli derecede yüksektir (Çizelge 4.3.4).

Çizelge 4.3.4 Borik asitle yetiştirilen larvalardan elde edilen ve borik asitle 10 gün süre ile beslenen dişi ve erkek erginlerde MDA ve PCO miktarı ile GST aktivitesi.

| Borik asit (mg/Litre besin) | MDA (nmol/mg protein) (Ort [*] ± S.H) ^{†#} | | PCO (nmol/mg protein) (Ort [*] ± S.H) ^{†#} | | GST (nmol/mg protein/dk) (Ort [*] ± S.H) ^{†#} | |
|--------------------------------|--|--------------------|--|--------------------|---|--------------------|
| | Dişi [‡] | Erkek [‡] | Dişi [‡] | Erkek [‡] | Dişi [‡] | Erkek [‡] |
| 0,0[§] | 0,03 ± 0,01 aA | 0,05 ± 0,02 aA | 3,08 ± 0,88 aA | 2,89 ± 1,04 aA | 0,67 ± 0,26 aA | 1,00 ± 0,39 aA |
| 10 | 0,08 ± 0,03 abA | 0,07 ± 0,02 abA | 4,47 ± 0,47 aA | 2,14 ± 0,16 aB | 2,14 ± 0,42 bA | 1,83 ± 0,39 aA |
| 100 | 0,04 ± 0,02 aA | 0,26 ± 0,11 bA | 8,97 ± 2,85 aA | 2,22 ± 0,22 aB | 1,18 ± 0,12 abA | 5,78 ± 1,26 bB |
| 200 | 0,07 ± 0,02 abA | 0,17 ± 0,05 abA | 8,85 ± 2,56 aA | 8,67 ± 2,13 aA | 1,90 ± 0,11 bA | 2,41 ± 0,40 aA |
| 300 | 0,12 ± 0,01 bA | 0,08 ± 0,02 abA | 29,01 ± 6,86 bA | 20,91 ± 5,10 bA | 1,65 ± 0,15 bA | 1,75 ± 0,26 aA |

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 ergin kullanıldı

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

#Her bir parametre için aynı satırda aynı büyük harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (Mann-Whitney testi)

§Kontrol besini (borik asit içermeyen)

‡Borik asitle yetiştirilen ve erginleştikten sonra 10 gün boyunca borik asit içeren besinler ile beslenen erginler

Çizelge 4.3.5'ten anlaşılacağı gibi BA'nın farklı konsantrasyonları ile yetiştirilen ve ergin evreye ulaşan bireyler 10 gün süreyle BA içermeyen kontrol besini ile beslenen dişi ve erkek bireylerin MDA miktarı kontrol besinine göre artmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir. Benzer şekilde BA ile yetiştirildikten sonra erginlerin BA içermeyen besin ile beslenilmesi dişi ve erkek bireylerin MDA miktarı bakımından aralarında önemli bir fark ortaya çıkarmamıştır. BA'nın 300 mg'ı ile ergin evreye kadar yetiştirilen ve erginleştikten sonra BA içermeyen kontrol besini ile 10 gün süre ile beslenen erkek ve dişi erginlerde kontrol grubuna göre (hem ergin evreye kadar hemde ergin evrede BA içermeyen kontrol besini ile beslenenler) PCO miktarı önemli derecede yüksek bulunmuştur. PCO miktarı dişilerde 2,5 katı oranında erkeklerde ise 4,5 katı oranında artmıştır. BA'nın 10 mg/L konsantrasyonu ile yetiştirilen ve ergin evrede kontrol besini ile beslenen erkeklerdeki PCO miktarı ($2,28 \pm 0,48$ nmol/mg protein/dk) dişilere ($4,31 \pm 0,32$ nmol/mg protein/dk) göre önemli derecede düşük bulunmuştur. BA'nın farklı konsantrasyonları ile yetiştirilen ve erginleştikten sonra 10 gün süreyle BA içermeyen kontrol besini ile beslenen dişi bireylerin GST aktivitesi kontrol besinine göre artmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bir artış 100 mg/L'lik BA konsantrasyonunda görülmüştür. Buna karşılık BA'nın 100 ve 300 mg'ı ile yetiştirilen ve erginleştikten sonra kontrol besini ile beslenen erkeklerde ise GST aktivitesi kontrol grubuna göre önemli derecede yükselmiştir. BA'nın 300 mg/L ile yetiştirilen erkek erginler 10 gün süreyle kontrol besini ile beslendiğinde GST aktivitesi $4,12 \pm 0,89$ nmol/mg protein/dk'ya önemli derecede yükselmiştir. BA ile yetiştirildikten sonra erginlerin BA içermeyen besin ile beslenilmesi dişi ve erkeklerin GST aktivitesi bakımından aralarında istatistiksel açıdan önemli bir fark ortaya çıkarmamıştır (Çizelge 4.3.5).

Çizelge 4.3.5 Borik asitle yetiştirilen larvalardan elde edilen ve borik asit içermeyen besinle 10 gün süre ile beslenen dişi ve erkek erginlerde MDA ve PCO miktarı ile GST aktivitesi.

| Borik asit (mg/Litre besin) | MDA (nmol/mg protein) (Ort [*] ± S.H) ^{† #} | | PCO (nmol/mg protein) (Ort [*] ± S.H) ^{† #} | | GST (nmol/mg protein/dk) (Ort [*] ± S.H) ^{† #} | |
|--------------------------------|---|--------------------|---|--------------------|--|--------------------|
| | Dişi [‡] | Erkek [‡] | Dişi [‡] | Erkek [‡] | Dişi [‡] | Erkek [‡] |
| 0,0[§] | 0,03 ± 0,01 aA | 0,05 ± 0,01 aA | 3,08 ± 0,88 aA | 2,89 ± 1,04 aA | 0,67 ± 0,26 aA | 1,00 ± 0,39 aA |
| 10 | 0,10 ± 0,02 aA | 0,04 ± 0,01 aA | 4,31 ± 0,32 abA | 2,28 ± 0,48 aB | 1,41 ± 0,16 abA | 1,92 ± 0,61 abA |
| 100 | 0,10 ± 0,02 aA | 0,11 ± 0,03 aA | 2,92 ± 0,51 aA | 2,54 ± 0,54 aA | 3,35 ± 1,24 bA | 3,62 ± 1,03 bA |
| 200 | 0,10 ± 0,02 aA | 0,09 ± 0,03 aA | 4,82 ± 1,31 abA | 4,64 ± 0,54 aA | 2,79 ± 0,71 abA | 1,50 ± 0,36 abA |
| 300 | 0,07 ± 0,02 aA | 0,22 ± 0,12 aA | 7,75 ± 2,36 bA | 13,16 ± 4,07 bA | 2,28 ± 0,41 abA | 4,12 ± 0,89 bA |

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 ergin kullanıldı

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

Her bir parametre için aynı satırda aynı büyük harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (Mann-Whitney testi)

§ Kontrol besini (borik asit içermeyen)

‡ Borik asitle yetiştirilen ve erginleştikten sonra 10 gün boyunca borik asit içermeyen kontrol besini ile beslenen erginler

4.3.3. Borik asitle yetiştirilen erginlerin, borik asit içeren besin ile ve borik asit içermeyen yapay besin ile yetiştirilmesine bağlı olarak yumurtalarında MDA, PCO miktarları ve antioksidan enzim aktivitelerindeki değişimler

Bu seride iki grup deney yapıldı. Birinci grupta BA'in belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile yetiştirilen larvalardan elde edilen ve ergin bireyler yine BA'in belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile 10 gün boyunca beslenen ergin dişilerin yumurtalarında MDA ve PCO miktarları ile GST aktiviteleri belirlendi. İkinci grupta, BA'in belirlenen konsantrasyonlarını içeren besinler ile yetiştirilen larvalardan elde edilen ve ergin bireyler BA içermeyen yapay besinle 10 gün süre ile beslenen dişilerin yumurtalarında MDA ve PCO miktarları ile GST aktiviteleri belirlendi.

BA'in düşük konsantrasyonları ile yetiştirilen larvalardan elde edilen erginlerin BA'in yine düşük konsantrasyonlarını içeren besinler ile 10 gün süreyle beslenilmesi bu dişilerin yumurtalarındaki MDA miktarını kontrol grubuna (ergin öncesi ve ergin evrede kontrol besini ile beslenen erginlerin yumurtaları) göre istatistiksel olarak önemli olmayan bir düzeyde artırdığı Çizelge 4.3.6'da görülmektedir. Buna karşılık, BA'in 200 mg'ı yumurtaların MDA miktarını kontrole göre önemli olmayan bir düzeyde düşürmüştür. BA'in en yüksek konsantrasyonu (300 mg/L) ile hem larval evrede hem de ergin evrede beslenilmesi dişilerin bıraktığı yumurtalardaki MDA miktarını yaklaşık 5 katı artırmıştır.

BA'in denenen konsantrasyonları ile beslenen larvalardan erginleşen dişi erginlerin 10 gün süreyle BA'in aynı konsantrasyonları ile beslenilmeye devam edilmesi bırakılan yumurtaların PCO miktarını kontrol grubuna göre artırmıştır. Ancak, BA'in en yüksek konsantrasyonu PCO miktarını yaklaşık 31 katı önemli derecede artırarak $0,76 \pm 0,11$ nmol/mg protein'den $23,74 \pm 6,34$ nmol/mg protein'e ulaştırmıştır (Çizelge 4.3.6).

BA'in denenen konsantrasyonları ile beslenen larvalardan erginleşen dişi erginlerin 10 gün süreyle BA'in denenen konsantrasyonları ile beslenilmeye devam edilmesi bırakılan yumurtaların GST aktivitesini kontrol grubuna göre artırmıştır. Ancak, BA'in en yüksek konsantrasyonu (300 mg/L) GST aktivitesini yaklaşık 7 katı önemli derecede artırarak $1,87 \pm 0,17$ nmol/mg protein/dk'dan $13,64 \pm 3,48$ nmol/mg protein/dk'ya ulaştırmıştır (Çizelge 4.3.6).

Çizelge 4.3.6 Borik asitle yetiştirilen larvalardan elde edilen ve 10 gün süre ile borik asitle beslenen ergin dişilerin yumurtalarında MDA ve PCO miktarı ile GST aktivitesi.

| Borik asit (mg/Litre besin) | MDA (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)^{†‡} | PCO (nmol/mg protein) (Ort* ± S.H)^{†‡} | GST (nmol/mg protein/dk) (Ort* ± S.H)^{†‡} |
|--|--|--|---|
| 0,0[§] | 1,16 ± 0,14 a | 0,76 ± 0,11 a | 1,87 ± 0,17 a |
| 10 | 2,31 ± 0,48 ab | 3,37 ± 1,15 a | 7,19 ± 3,02 ab |
| 100 | 1,43 ± 0,72 a | 3,14 ± 0,51 a | 9,66 ± 4,32 ab |
| 200 | 0,96 ± 0,46 a | 6,26 ± 0,70 a | 8,55 ± 2,33 ab |
| 300 | 6,05 ± 2,45 b | 23,74 ± 6,34 b | 13,64 ± 3,48 b |

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 200 yumurta kullanıldı

[†]Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, $P > 0,05$ (LSD testi)

[§]Kontrol besini (borik asit içermeyen)

[‡]Borik asitle yetiştirilen ve erginleştikten sonra 10 gün boyunca borik asit içeren besinler ile beslenen dişilerin yumurtalarının verileri

Çizelge 4.3.7’de gösterildiği gibi BA’in denenen tüm konsantrasyonları ile yetiştirilen larvalardan elde edilen erginlerin BA içermeyen besinle (kontrol besini) 10 gün süreyle beslenilmesi dişilerin yumurtalarındaki MDA miktarını kontrol grubuna (ergin öncesi ve ergin evrede kontrol besini ile beslenen erginlerin yumurtaları) göre önemli derecede düşürmüştür. Kontrol besiniyle beslenen dişilerin yumurtalarında MDA miktarı $1,16 \pm 0,14$ nmol/mg protein iken en yüksek BA konsantrasyonu ile ergin öncesinde beslenen ve ergin dönemde BA içermeyen besinle beslenen dişilerin yumurtalarında $0,33 \pm 0,05$ nmol/mg protein’e azalmıştır.

BA’in düşük konsantrasyonları (10-200 mg/L) ile yetiştirilen larvalardan erginleşen erginlerin BA içermeyen kontrol besini ile beslenilmesi PCO miktarını istatistiksel olarak önemli olmayan derecede artırmıştır. BA’in en yüksek konsantrasyonu (300 mg/L) ile yetiştirilen erginlerin kontrol besini ile 10 gün boyunca beslenilmesi PCO miktarını kontrol grubuna göre yaklaşık 10 katı artırmıştır. Bu BA konsantrasyonu PCO miktarını $0,76 \pm 0,11$ nmol/mg protein’den $7,64 \pm 1,86$ nmol/mg protein’e artırmıştır (Çizelge 4.3.7).

BA’in denenen konsantrasyonları ile beslenen larvalardan erginleşen dişilerin 10 gün süreyle BA içermeyen kontrol besini ile beslenilmesi dişilerin yumurtalarında GST aktivitesini artırmıştır. Ancak bu artışın kontrol grubu değeri ile aralarında önemli bir istatistiksel fark ortaya çıkmamıştır. Larval evrede 200 mg/L BA ile beslenilmesi ve bu larvalardan erginleşen dişilerin BA içermeyen kontrol besini ile beslenilmesi bırakılan yumurtalarda GST aktivitesini $1,87 \pm 0,17$ ’den $7,27 \pm 3,99$ nmol/mg protein/dk’ya artırmış ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Benzer sonuç BA’in en yüksek konsantrasyonu ile de elde edilmiştir (Çizelge 4.3.7).

Çizelge 4.3.7 Borik asitle yetiştirilen larvalardan elde edilen ve 10 gün süre ile borik asit içermeyen besinle beslenen ergin dişilerin yumurtalarında MDA ve PCO miktarı ile GST aktivitesi.

| Borik asit (mg/Litre besin) | MDA (nmol/mg protein) (Ort[*] ± S.H)^{†‡} | PCO (nmol/mg protein) (Ort[*] ± S.H)^{†‡} | GST (nmol/mg protein/dk) (Ort[*] ± S.H)^{†‡} |
|--|---|---|--|
| 0,0[§] | 1,16 ± 0,14 a | 0,76 ± 0,11 a | 1,87 ± 0,17 a |
| 10 | 0,31 ± 0,04 b | 1,65 ± 0,13 a | 2,83 ± 1,27 a |
| 100 | 0,55 ± 0,05 b | 1,99 ± 0,31 a | 3,48 ± 1,09 a |
| 200 | 0,28 ± 0,05 b | 3,13 ± 0,46 a | 7,27 ± 3,99 a |
| 300 | 0,33 ± 0,05 b | 7,64 ± 1,86 b | 5,49 ± 0,85 a |

*Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 200 yumurta kullanıldı

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

§ Kontrol besini (borik asit içermeyen)

‡ Borik asitle yetiştirilen ve erginleştikten sonra 10 gün boyunca borik asit içermeyen kontrol besini ile beslenen dişilerin yumurtalarının verileri

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Bu çalışmada *D. melanogaster* model alınarak ülkemiz doğal bor rezervlerinden üretilen BA'in böceğin yaşama parametreleri üzerine etkilerini belirlemek suretiyle besinsel katkı maddesi olarak kullanılabilirliğinin laboratuvar şartlarında araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla yarı sentetik besine ilave edilen inorganik insektisit BA'in yaşlanma çalışmalarında önemli bir model organizma olan *D. melanogaster*'in yumurtadan yeni çıkmış larvalarının ergin evreye kadar yaşama, gelişimine, ergin ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranına etkisi incelenmiştir. BA'in, böceğin son larva evresi, pup ve ergin evrede LPO'nun önemli bir ürünü olan MDA miktarı, PO ürünü PCO miktarı ve detoksifikasyon enzimi olan GST aktivitesi de belirlenmiştir. Ayrıca BA'le yetiştirilen larvalardan elde edilen bireyler erginleştikten sonra aynı konsantrasyonları içeren BA'le 10 gün süre ile beslenen ve BA'siz besinle 10 gün süre ile beslenen dişi, erkek bireyler ve dişilerin yumurtalarında MDA ve PCO miktarı ve GST aktivitesi incelenmiştir. Kullanılan BA konsantrasyonları tarımsal ve halk sağlığı yönünden zararlı bazı böcek türleri üzerinde yapılan birçok çalışma (Yang et al. 2000 a, Cisneros et al. 2002, Gore et al. 2004, Ali et al. 2006, Xue et al. 2006), B ve çeşitli B türevleri ile *Drosophila* üzerinde (Massie 1994, Espinoza-Navarro et al. 2009) yapılan çalışmalar dikkate alınarak ön beslenme deneyleri yapılmış ve böceğin ergin evreye kadar gelişimini tamamlayabileceği en etkili BA konsantrasyonu 300 mg/L olarak belirlenmiştir.

Zararlıların mücadelesinde geniş etkili kimyasal insektisitler, dünyada ve ülkemizde yoğun olarak kullanılmaktadır. Çevredeki tüm canlıların yaşam kalitesini arttırmak için ekonomik ve çevre dostu yöntemlerin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Farklı böcek türleri ve beslenme teknikleri kullanılarak tarım zararlısı böcekler ile mücadele edilmektedir. Yeni pestisitlerin geliştirilmesi ve keşfedilmesinde yapay ortamlarda yetiştirilme çalışmaları sürdürülmektedir.

Tek başına veya fruktoz gibi bazı karbohidratlarla birlikte BA ve sodyum tetraboratın besinsel karışımları *G. mellonella* üzerinde denenmiş, sinerjistik ve antagonistik etkileri belirlenmiştir (Durmuş and Büyükgüzel 2008, Hyršl et al. 2007, Aslan 2011, Cengiz 2011). BA'in özellikle tarımsal açıdan doğrudan hedef olmayan diğer yararlı böcekler, biyolojik kontrol ajanları, çevre ve insan üzerindeki etkisinin anlaşılması için model organizma olan *D. melanogaster*'de yaşam parametrelerine, biyokimyasal parametrelerine oksidatif etkisi ile detoksifikasyon kapasitesine etkisi belirlenerek pestisitlere maruz kalan canlıların besinsel kaynaklı oksidatif strese bağımlı yaşlanma mekanizması çalışılmamıştır.

Besinlere ilave edilen BA ve sodyum tetraborat gibi B türevi çeşitli kimyasalların zararlı böceklerin mücadelesi amacıyla kullanılarak yüksek konsantrasyonlarda gelişmeyi geciktirdiği, yumurta üretimini ve açılma oranını azalttığı, larval ve pupal evrede ölüm oranını ve ergin ömür uzunluğunu artırdığı gözlenmiştir (Zurek et al. 2003, Xue and Barnard 2003, Gore and Schal 2004, Gore et al. 2004, Hyršl et al. 2007). *A. albopictus*'a % 1'lik BA konsantrasyonu uygulandığında populasyonun % 98'i ölmüştür (Xue and Barnard 2003). Ev sineği *M. domestica* ve *Fannia canicularis* (L.) (Diptera: Muscidae)'le yapılan çalışmada disodyum oktaborat tetrahidratın % 1 ve 2'lik konsantrasyonu böceklerin yaşama oranını önemli derecede düşürmüştür (Mullens and Rodriguez 1992). *A. mellifera*'nın besinine ilave edilen BA (2,5 ve 7,5 mg/g besin), kontrol grubuna göre işçi larvaların ölüm oranını ilerleyen günlere göre artırmış olup BA'in 2,5 mg'ı 5. ve 6. günlerde, 7,5 mg'ı ise 4. günde larvaları % 100 oranında öldürmüştür (Cruz et al. 2009). Alman hamam böceği *B. germanica* üzerinde yapılan çalışmada % 1 ve 2'lik BA çözeltisi yüksek konsantrasyonlarda (0,1-0,5 M) sükröz çözeltisi ile birlikte kullanılmış, yüksek BA ve şeker konsantrasyonunda kullanılan BA böceğin besin almasını önlemiş böylece böcek üzerinde olumsuz etki yapmamıştır. *B. germanica*'a uygulanan 0,5 M sükröz ile BA'in % 1'lik çözeltisi böcek populasyonunu önemli derecede düşürmüştür (Gore and Schal 2004, Gore et al. 2004). Tropik meyvelere zarar veren *A. suspensa* ile yapılan çalışmada sodyum tetraboratın farklı konsantrasyonları (% 0,1-% 0,5) kullanılmış; % 0,1'lik çözelti böceğin ölüm oranını artırmış, üremesini yavaşlatmış, % 0,5'lik çözeltisi yumurta üretimi ve açılımını azaltmıştır (Yang et al. 2000 b). BA'in % 1'lik çözeltisi % 10'luk sükröz çözeltisi ile karıştırılarak bir sivrisinek türü olan *A. albopictus* populasyonunu % 98 oranında azaltmıştır (Xue and Barnard 2003). Bu sonuçlar, çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. *D. melanogaster*'in hayat devri boyunca B ile bulaşmış su alması üremesi üzerine etkili olmuş ve yaşama oranı

düşmüştür (Espinoza-Navarro et al. 2009). Çalışmamızda BA'in denenen besinsel karışımları *D. melanogaster*'in ölüm oranını artırmış, yaşama ve gelişimini olumsuz yönde etkilemiştir.

Çeşitli böceklerin mücadelesinde kullanılan insektisitlerin (fipronil, hidrametilon, diflubenzuron gibi) besinsel karışımları ile bazı pretroid ve organofosfat insektisitlerin öldürücü olmayan dozları kullanıldığında BA'e göre hem hedef böceğe hemde çevreye ve hedef olmayan organizmalara karşı daha zararlı oldukları tespit edilmiştir (Zhang et al. 1990, Ulloa-Chacón and Jaramillo 2003). Hayalet karınca *T. melanocephalum*'a BA'in % 10'luk şeker çözeltisi içinde % 0,5'lik besinsel karışımının uygulanması işçi, kraliçe erginler, larva ve pupların üç hafta sonunda % 100 oranında öldürmesini sağlamış, fipronilin % 0,05 konsantrasyonu ilk hafta içinde tüm kolonilerini öldürmüştür. Buna karşın, hidrametilonun % 2'lik konsantrasyonu ise kolonilerin % 83'ünü ancak dördüncü haftanın sonunda öldürmüştür (Ulloa-Chacón and Jaramillo 2003). Larval evrede alınan doğal ve yapay besin maddelerinin kalitesi ve besinsel dengesi çoğu böceğin üremesi gibi diğer bazı özellikleri ile ergin ömür uzunluğu üzerinde etkili olmaktadır (Slansky and Scriber 1985, Eischen and Dietz 1987, Ridgway and Mahr 1990). *D. melanogaster*'de yapılan çalışmalara bakıldığında, asetaldehitin enjeksiyon ile uygulanması resesif mutasyonları uyardığı, beslenme ile uygulandığında bireylerin etkilenmediği görülmüştür (Woodruff et al. 1985). Larval evrede alınan besinin zararlı bir Dipter tür olan Akdeniz meyve sineği *Ceratitis capitata* (Mesnil 1957)'nin vücut büyüklüğünü, ergin oluşumunu, eşeyssel olgunluğu, yumurta bırakma davranışını ve yaşama süresini etkilediği bilinmektedir (Chang et al. 2001). Bu sonuçlar ile uyumlu olarak BA'in yüksek konsantrasyonları *D. melanogaster*'in ergin olma oranı ile dişilerin yumurta verimini ve açılma oranını önemli derecede düşürmüştür.

Elektromanyetik radyasyonun *D. melanogaster*'in dişilerinin ömür uzunluğunda azalmaya, erkeklerin ömür uzunluğunda ise artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Dalgıç et al. 2002). Gelegen ve Yeşilada (2000) kadmiyum nitrat ile beslenen *D. melanogaster* erginlerinin ortalama ömür uzunluğunun kısaldığını ve genç populasyonların kadmiyumlu besiyerinde yaşlılara göre daha uzun yaşadığını tespit etmişlerdir. Atlı (2010) *D. melanogaster*'de 1 ve 10 mg/L bisfenol A (BPA) uygulaması dişilerin, 1 mg/L uygulaması erkeklerin ömür uzunluğunu kontrole göre kısaltırken, 0,1 mg/L BPA uygulaması erkeklerin ömür uzunluğunu uzattığını belirtmiştir. 10 mg/L 4-nonilfenol (4-NP) uygulaması dişilerin ömrünü kısaltırken, uygulanan tüm dozlarda erkeklerin ömür uzunluğunda anlamlı bir değişim görülmemiştir. Bu sonuçlar, çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda BA'in

denenen besinsel karışımları *D. melanogaster* erginlerinin ömür uzunluğu üzerinde etkili olmuştur. BA'in 300 mg/L'sini içeren besinle yetiştirilen ve yine aynı konsantrasyonda BA içeren besin ile yaşamları süresince beslenen erkek erginlerin ömür uzunluğu önemli derecede kısalırken dişi erginlerin ömür uzunluğu etkilenmemiştir. Buna karşılık, 300 mg/L BA ile yetiştirilen ve BA içermeyen besin ile beslenen dişi erginlerin ömür uzunluğu önemli derecede kısalırken erkek ömür uzunluğu etkilenmemiştir. BA'in 300 mg'ında dişilerin erkeklere göre daha kısa yaşaması larval besin ile alınan yüksek konsantrasyonlarda BA'in dişilerin ergin sonrası yaşamında da etkili olduğunu göstermektedir. Bu görüş BA'in 300 mg/L'si ile yetiştirilen dişilerin ömür uzunluğu yanında yumurta verimi ve açılımı oranının önemli derecede azaldığının tespit edilmesi ile destek bulmaktadır. Buna karşılık, BA ile yetiştirilen erginlerin BA ile beslenmeye devam edilmesi dişilerin ömür uzunluğundaki kısalmayı ortadan kaldırmıştır. Ancak yumurta verimi ve açılma oranı üzerindeki olumsuz etki daha da artmıştır.

D. melanogaster'de porfirazin, kadmiyum gibi maddelerin uygulanması anormal bireylerin oluşmasını sağlamakta, kadmiyum (Ertan 2009) ve malatyon (Bahçeci 2000) uygulaması erkek birey sayısını azaltmaktadır. Ayrıca *G. mellonella* ile yapılan benzer çalışmalar sonucu erkek ve dişi oranları önemli derecede azaldığı belirtilmiştir (Aslan 2011, Cengiz 2011). Bu sonuçlar dişi birey sayısının az olmasının bırakılan yumurta sayısının azalması sebebiyle zararlı böceklerin tarımsal alanlarda çoğalmasının sınırlanması anlamına gelmektedir (Aslan 2011).

Bazı çalışmalar çeşitli B türlerinin Lepidoptera ve diğer takımlara ait zararlı türlerin yumurta üretimini çoğunlukla olumsuz yönde etkilediğini ortaya çıkarmıştır. *G. mellonella* besine ilave edilen sodyum tetraborat dişilerin yumurta verimini ve bırakılan yumurtaların açılma oranını düşürmüştür. Aynı çalışmada % 0,3'lük sodyum tetraborat konsantrasyonunda dişilerin hiçbiri yumurta bırakmadıkları, % 0,2'lik besinsel konsantrasyonunda ise yumurta sayısını $57,2 \pm 3,0$ 'den $33,2 \pm 2,7$ 'ye, açılma oranını ise % $83,4 \pm 3,3$ 'den $38,8 \pm 2,9$ 'e düşürmüştür (Durmuş and Büyükgüzel 2008). Bu çalışmada BA'in *D. melanogaster* dişilerinin yumurta verimi ve açılımı üzerine etkisi ile ilgili elde edilen sonuçlar Yang et al. (2000 b) tarafından aynı takıma ait bir tür olan *A. suspensa*'da sodyum tetraborat için elde edilen sonuçlar ile uygunluk göstermektedir. *A. suspensa*'da % 0,1'lik sodyum tetraborat yumurta verimini ve açılma oranını önemli derecede düşürmüş daha yüksek konsantrasyonlarda ise yumurta üretimini tamamen önlemiştir. Mullens ve Rodriguez (1992) % 1 ve 2'lik disodyum oktaborat tetrahidratın *M.*

domestica ve *F. canicularis* dişilerinin yumurta açılımını % 10'un altına düşürdüğünü belirtmişlerdir. Bezelye tohumu ile karıştırılan sodyum tetraborat depolanmış ürün zararlısı *Callosobruchus analis* (Fabricius 1781) (Coleoptera: Bruchidae)'in yaşama oranını % 7,5'e indirmiş, dişilerinin yumurta sayısını % 24 oranında düşürmüştür (Khan et al. 1996). Çalışmamızda *D. melanogaster*'in erginleştikten sonra da 300 mg/L BA içeren besin ile beslenmeye devam edilmesi dişilerinin yumurta verimini % 10,80'den % 2,36'ya düşürerek yumurta verimini olumsuz yönde etkilemiştir.

Alman hamam böceği *B. germanica*'da BA'in toksik özelliği; yumurtaların olgunlaşmadan folikül ile birlikte atılması ile normal bırakılan yumurtaların açılma oranını düşürmesi şeklinde olup, inorganik insektisit her iki ovaryumda da oosit sayısını ve oositlerin boyutunu azalttığı tespit edilmiştir (Zhou and le Patourel 1990, Kilani-Morakchi et al. 2005). Ayrıca BA'in yumurtalıkların protein, lipit ve karbohidrat bileşenlerini önemli derecede azalttığını göstermiştir. Bazı nükleozit türevi sentetik insektisitlerin *Pyrrhocoris apterus* (L. 1758)'un hemolenf, yağ dokusu ve ovaryumundaki protein içeriğinde önemli değişikliğe sebep olduğu, yumurta oluşumunu tamamen önlediğine dair çalışmalar bulunmaktadır (Gelbič and Šula 1990). Pestisit baskısı altında kalan böcek popülasyonlarının yaşam döngülerinin geç tamamlandığı, daha az yumurta bıraktıkları ve bu yumurtaların açılma oranlarının azalarak pestisitlere direnç geliştirdikleri bildirilmektedir (Lee et al. 1998). Düşük konsantrasyonlarda butillenmiş hidroksi anisol ile beslenen *Z. paravittiger* (Diptera)'in yaşama süresi uzamış, gelişmesi gecikmiş, yumurta verimi azalmıştır (Bains et al. 2007). Ovaryumu çıkarılmış ve döllenmemiş *Drosophila subobscura* (Collin in Gordon 1936) dişileri döllenmiş dişilere göre daha uzun yaşamaktadır (Maynard Smith 1958). Bu çalışma, diğer deneysel sonuçlar ile birleştirildiğinde yumurta üretiminin dişilerin yaşlanma sürecini hızlandırdığını ortaya koymuştur. Bu sebepten dolayı üreme ile yaşlanma ve ömür uzunluğu arasında ters bir ilişki bulunduğu söylenebilir. Üremenin dişiler için ömür uzunluğu yönünden olumsuz etkilere sebep olduğu kabul edilmiştir. Özellikle yumurta üretimi ve dişilerin erkekler tarafından çiftleşmeye yönelik eşeyssel saldırısı dişilerin ömür uzunluğunu düşürmektedir. Bu durum *Drosophila* gibi kısa hayat devrine sahip türlerde geçerli olup karınca ve bal arıları gibi uzun hayat devrine sahip olan türler için geçerli değildir.

Yaşlanmaya karşı; her türün, bireyin, organın, dokunun, hücrenin farklı cevap verebileceği bildirilmiştir (Linnane et al. 2007). Yapılan bir çalışmada besine ilave edilen B'un dokularda birikimi *Drosophila*'nın gelişme evresine ve yaşa göre değiştiğini göstermiştir. En yüksek B

miktarı yumurta evresinde görülürken larval evreye doğru azalmaktadır. Yeni erginleşmiş meyve sineği 35,5 ppm B içermektedir. Ergin evreye doğru B miktarı 9 haftalık yaşa göre % 52 oranında artmıştır. Ergin evrede besine aşırı miktarda B ilave edilmesi (0,01 M sodyum borat ortalama % 69,2 oranında, 0,001 M sodyum borat % 21,2 oranında) ömür uzunluğunu kısaltmaktadır (Massie 1994). Daha düşük konsantrasyonlarda B ile beslenildiğinde ömür uzunluğunda küçük fakat önemli derecede artışa sebep olmaktadır. 0,00025 M sodyum borat şeklinde çok düşük konsantrasyonda besine B ilave edilmesi yaşam süresini % 9,5 oranında uzatmaktadır. Bu çalışmalar orta seviyedeki besinsel B miktarının biyolojik sistemlerde genel bir koruyucu etki yapabileceğini göstermiştir (Massie et al. 1990). Bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlar için de benzer yorum yapabiliriz. B ve B türevi maddelerin insan dahil diğer memeli gruplarında önemli biyolojik etkilere sahip olduğu, eksikliği ve fazlalığında önemli fizyolojik aksaklıkların oluşması sonucu yaşam kalitesi ve süresi üzerinde olumsuz etkilerin ortaya çıktığı bilinmektedir. Buna göre çalışmamızın sonuçları da BA'in düşük miktarlarının *D. melanogaster*'in ergin özelliklerinin iyileştirilmesi için ergin besinine katkı maddesi olarak ilave edilebileceğini belirtmektedir.

Bu çalışmada denenen BA'in yüksek konsantrasyonları böcek larvalarının besin almalarını hızlandırmış olabilir. *Coptotermes formosanus* (Shiraki 1909)'ın B türevi olan disodyum oktaborat tetrahidrat ile beslenmesi, B ve B türevi maddelerin besinsel uzaklaştırıcı etkisinin olmadığını ancak besinle alındığında toksik etkiye sahip olduğunu (Maistrello et al. 2002) ve diğer böceklerin BA gibi B türevi farklı besinsel formülasyonların benzer mekanizmalarının olduğunu göstermiştir (Cochran 1995, Appel et al. 2004). Larvaların besin tüketim oranının değişmesine bağlı olarak, herhangi bir besinsel değeri olmayan bir katkı maddesinin öldürücü olmayan etkileri besinle bu bileşenler arasındaki etkileşime dayanmaktadır (Büyükgüzel and İçen 2004, Büyükgüzel and Kalender 2007). Bir antibiyotik olan novobiyosin endoparasitoid bir Hymenopter tür *Pimpla turionellae* (L. 1758)'de insektisit olarak kullanılmış, novobiyosinin yüksek miktarları *P. turionellae* larvalarının yaşama ve gelişimini olumsuz yönde etkilemiş en düşük miktarı ise böceğin yaşama oranını önemli derecede artırmıştır (Büyükgüzel 2001). Ayrıca antimikrobiyal maddelerin besinde meydana getirdiği koku ve tat değişikliğinin larvaların besin alma işlevinde etkili olduğu bilinmektedir (Singh and House 1970 a,b). Termit türleri olan *Trinervitermes trinervius* (Rambur 1842) ve *Odontotermes smeathmani* (Fuller), *Amitermes evuncifer* (Silvestri)'e karşı nikotin benzeri bir insektisit olan tiyometoksam'ın besin almayı önleyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Delgarde and Rouland-Lefevre 2002). Yapılan çalışmalarda fruktozun yüksek konsantrasyonları ile BA

birlikte alındığında yaşama oranının azalmasının şekerin fagostimulant etkisi sebebiyle BA'in besinle alınan miktarının arttığı belirtilmiştir (Aslan 2011).

Kimyasal maddeler veya çevre kirliliğine neden olan maddeler bütün canlıları etkileyerek serbest oksijen radikallerinin oluşumuna ve dolayısıyla da metabolik olayların bozulmasına neden olur (Halliwell 1994, Heinle and Betz 1994). Patofizyolojik durumlarda üretilen serbest oksijen radikalleri ve organik hidroperoksitler, detoksifikasyon ve antioksidan sistemler tarafından uzaklaştırılır. Ayrıca oluşan serbest radikaller sonucu hücre zarının ve diğer hücresel lipid ve proteinlerin yapısının bozulmasıyla LPO olarak tanımlanan bir dizi reaksiyon gerçekleşir ve sonuçta aldehit türevleri özellikle MDA ürünleri oluşur. MDA miktarının yükselmesi LPO seviyesinin önemli bir göstergesidir (Mano et al. 1995). Yüksek derişim ve uzun süreli diazinon uygulanan *O. niloticus*'un kas ve böbrek dokularında MDA miktarı artmıştır (Durmaz et al. 2006). *C. carpio*'da beyin ve karaciğer dokularında piretroid insektisit cyfluthrin, imidacloprid'in ayrı ayrı uygulanması PCO ve MDA miktarını arttırmıştır (Serbes 2011). 15 gün süre ile dichloroaniline maruz kalan *C. auratus*'un karaciğer dokusunda MDA miktarı artmıştır (Li et al. 2003). Böcekler serbest radikallerden ve genel oksidatif stresten etkilenmektedir (Timmermann et al. 1999). Ayrıca böceklerin beslendiği besin bileşenleri kendi aralarında ve besine ilave edilen maddelerle etkileşerek ROT oluşmasına sebep olurlar. Besinlerde oluşan bu ROT'ler, böcek larvalarının besin tüketimini toksitenin artmasına bağlı olarak değiştirmektedir (Cohen and Crittenden 2004). Bazı böceklerin hücre kültürü hatlarında çeşitli kimyasal ve biyolojik ajanların LOOH ve PCO miktarlarını artırdığı, oksidan strese sebep olduğu belirtilmektedir (Wang et al. 2001). Bu çalışmada *D. melanogaster* üzerinde BA'in denenen konsantrasyonlarını içeren yapay besinler ile yetiştirilen *D. melanogaster*'in 3. larval evresinde MDA miktarı ve GST aktivitesi önemli derecede artarken, PCO miktarı artmasına rağmen kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. BA'in 300 mg/L'sini içeren besini ile yetiştirilen 3. evre larvalarında MDA miktarı kontrole göre yaklaşık 4 kat, PCO miktarını yaklaşık 17 kat artmıştır.

Diğer taraftan BA'in *B. germanica* erginlerinin orta bağırsak epitelyum dokusunda oksidatif hasar oluşturduğu ve GST aktivitesini artırdığı bilinmektedir (Habes et al. 2006). *S. littoralis*'te sentetik piretroitlere karşı gözlenen yüksek dirençte GST aktivitesinin yüksekliğiyle ilişki olduğu tespit edilmiştir (Lagadic et al. 1993). *S. littoralis* popülasyonlarının klorprifos, karbamat, deltametrin gibi insektisitlere karşı artan direnç

oranıyla doğru orantılı olarak GST enzim aktivitelerinin de arttığı bulunmuştur (Hadim 2008). Yu (1989), *S. frugiperda* larvalarının besinlerine ksantotoksin eklenmesiyle GST aktivitesinin yükseldiğini rapor etmiştir. Çalışmamızda kullanılan insektisit BA'in böceğin besin almasını uyarması sonucu fazla miktarda kimyasal tüketmesine bağlı olarak beslenme fizyolojisinde değişikliklere ve dokularında oksidatif hasara sebep olabileceği düşünülmektedir.

Böceklerde yaygın olan ve canlının çevreye adaptasyonunu sağlayan temel mekanizma detoksifikasyon enzimlerinin indüksiyonudur (Wu and Miyata 2005). *M. domestica*'da ekzojen antioksidanlarla (sükrozda % 0,5-2 askorbat, betakaroten, alfa tokoferol) yapılan bir çalışmada yüksek konsantrasyonlardaki antioksidanların; ömür uzunluğunu azalttığı, SOD aktivitesi düşürdüğü, CAT aktivitesi etkilemediği, glutatyon konsantrasyonunu düşürdüğü, inorganik peroksitlerin (H_2O_2 gibi) arttığı ve lipofuksin seviyesini azalttığı bildirilmiştir (Sohal et al. 1985). 1 mM paraquat ev sineklerinin hayatlarını kısaltmakta, konsantrasyonun azalması glutatyon ve inorganik peroksitleri azaltmaktadır. Paraquatın CAT aktivitesini uyardığı, SOD ve GR aktivitesini, GSSG seviyesini ve floresan lipofuksin oranını etkilemediği, ayrıca paraquat toksisitesinin LPO'nuna karşı etkisiz olduğu tespit edilmiştir (Allen et al. 1984). Tekstil boyalarına karşı *D. melanogaster*'in GSH, SOD, CAT ve GR ile GST aktiviteleri artarak antioksidan savunma sisteminin oldukça duyarlı olduğu görülmüştür (Özata 2006). Bunun yanısıra *D. melanogaster* gibi model organizmalarla yapılan çalışmalar yaşam süresinin uzamasında faz II detoksifikasyon enzimlerinin önemini göstermiştir (Kapahi et al. 2004). Çalışmamızda BA'in, oksidatif stresin göstergeleri olan LPO ürünü MDA ve PO ürünü PCO miktarlarının değişimine karşı, önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST aktivitesinde değişime sebep olduğu açıkça görülmüştür. Bu sonuçlar *D. melanogaster*'in farklı gelişim evrelerinde yaşama, gelişme, ömür uzunluğu, yumurta verimi ve açılma oranı üzerindeki olumsuz etkilerin BA ile uyarılan oksidatif stresten kaynaklanabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada ayrıca BA'in *D. melanogaster* üzerinde fizyolojik ve biyokimyasal etkisinin araştırılmasında, BA konsantrasyonları ile ergin hale gelen böceğin ergin sonrasında da BA'le beslenip beslenmemesine bağlı olarak LPO ve PO seviyesi ile önemli bir detoksifikasyon enzimi olan GST aktivitesindeki değişimlerin tespit edilmesi ve bu değişimler ile birlikte, böceğin yaşam parametrelerini (yaşama oranı, gelişme süresi, yumurta verimi, yumurtaların açılma oranı, ergin ömür uzunluğu ve eşey oranı) olumsuz yönde etkileyen konsantrasyonların belirlenmesi BA'in inorganik insektisit olarak kullanılabilirliğinin incelenmesinde önemli bir kriter olmuştur. Böylece ülkemizin kendi öz kaynaklarının işlenmesi ile geliştirilen bir ürünün doğrudan ya da dolaylı olarak kullanımı ile

ilgili bu yeni yaklaşım; tarımsal ürünlerin, insan gibi diğer hedef olmayan canlıların korunmasında çevreye duyarlı bir yöntem olmaya adaydır. Bu çalışma çevre dostu ve ucuz inorganik insektisitler olarak B türevlerinin de tarımsal zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılma ve denemelerini teşvik edebilecektir.

Diyetsel yağlar *Drosophila*'da yaşlanma sürecini hızlandırır ve LOOH birikimiyle yüksek oranda ölüme neden olur. *Drosophila* Oregon-R-C soyunun erkeklerine, yağların indüklediği ölümleri engellemek ve yaşam sürelerini uzatmak amacıyla brokoli ekstraktları ve yeşil çay kateşinleri (% 1-25 g) besiyerine eklenmesiyle yapılan çalışmada böceğin ömür uzunluğunun ve % 50'sinin yaşadığı zamanın arttığı rapor edilmiştir. Bu durum yağ asitleri ile birlikte verilen besinlerin sineklerde LOOH seviyesinin önemli düzeyde azalması ve antioksidan enzim (CAT, SOD) aktivitelerinin de sadece yağ asitleriyle beslenen sineklerle karşılaştırıldığında önemli düzeyde artmasıyla oluştuğunu belirtilmiştir (Li et. al 2008). Çalışmamızda BA'in en yüksek konsantrasyonu ile beslenen dişilerde kontrol besiniyle karşılaştırıldığında MDA miktarı yaklaşık 7 kat, PCO miktarını 10 kat artırmıştır. Erkeklerde ise BA'in yüksek konsantrasyonları PCO miktarını önemli derecede arttırırken MDA miktarını yaklaşık 9 kat artırmış, BA'in düşük konsantrasyonları PCO miktarını istatistiksel olarak önemli olmayan düşmeye sebep olmuştur. BA'in 200 ve 300 mg/L konsantrasyonları sırasıyla kontrol besinine göre erkek erginlerde GST aktivitesini yaklaşık 2,5 ve 4 katı oranında önemli derecede artırmıştır. *Drosophila* erkeklerinde böceklerde yer alan direnç mekanizması ile normalden dirençli bireyler gelişmiş olabilir. Bu da önceki çalışmalarla benzerlik göstererek birey sayısının artışına neden olmuş olabilir. Nitekim pestisitlere karşı böceklerde direnç mekanizması ile normalden daha dirençli bireylerin geliştiği yönünde çalışmalar bulunmaktadır (Ecevit 1988, Çelik 1996). Biotin (0-6 pmol/100 mg) eksikliğinin *D. melanogaster*'de ömür uzunluğu ve üretkenliği azalttığı, strese direnci arttırdığı tespit edilmiştir (Landenberger et al. 2004). Aslında her ne kadar yaşlanma ve ömür uzunluğunun temel mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılmamış olsa da, bu sürecin ertelenebileceği savunulmaktadır (Uysal vd. 2009). Bu kullanılan inorganik insektisit BA'in böceğin metabolik faaliyetleri üzerine etkilerinin araştırılması, diğer böceklerle mücadelede kullanılan maddeler için de bir ışık olacaktır.

Kimyasal maddeler çeşitli amaçlarla böcek besinlerine ilave edilerek böceğin belirli evrelerinde biyokimyasal analizlerinin yapılması ve fizyolojik değişimlerin ortaya konulmasıyla kimyasalın böcekler üzerindeki etkileri belirlenir (Ferkovich et al. 1999, Wang

et al. 2002, Zapata et al. 2005). Besin kalitesinin düşük olması fizyolojik ve davranışsal değişim sebeplerin arasındadır (Slansky and Scriber 1985). GST enziminin aktivitesi, çeşitli toksinlere maruz kalarak besinsel değeri azalmış doğal besin ile beslenen predatör bir örümcek türü olan *P. prativaga*'da oldukça düşüktür (Nielsen and Toft 2002). Hamam böcekleri, ev sinekleri ve birçok tarımsal zararlı böceklerle yapılan çalışmalarda artan GST enzim aktivitesinin insektisit direnci ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Özellikle klorlandırılmış hidrokarbon insektisit olan DDT ile yapılan çalışmalarda sivrisineklerde GST aktivitesinin arttığı belirtilmiştir (Vontas et al. 2000, Rakotondravelo et al.2006). *D. melanogaster*'in 3. evre larvasının orta barsağında oksidatif stresin giderilmesinden sorumlu farklı GST sınıfları (Delta, epsilon, sigma, teta, omega, zeta) bulunmuştur, orta barsakta bulunan GST'lerin çoğunluğu delta ve epsilon sınıfındadır (Li et al. 2008). Herbisit olarak kullanılan oksadiyazon ile 1-kloro-2,4-dinitrobenzenin oksidatif etkisine karşı *D. melanogaster*'in pupa ve ergin evrelerine doğru GST aktivitesinin arttığı gözlenmiştir (Scott et al. 1990). Çalışmamızda *D. melanogaster* üzerinde BA'in denenen düşük konsantrasyonları kontrol besiniyle karşılaştırıldığında pup evresinde GST aktivitesi istatistiksel açıdan önemli olmayan derecede düşmüş, 200 mg/L BA ise önemli olmayan bir artışa sebep olmuştur. Buna karşılık en yüksek BA konsantrasyonu kontrol besinine göre pup evresinde GST aktivitesi önemli derecede (3 katı) artırmıştır. Her ne kadar detaylı çalışmalara gereksinim duyulsa da GSH miktarının düşmesi ile paralel olarak bu enzimin aktivitesi artmış olabilir. GSH bu enzimin kofaktörü olup bazı organik ve inorganik peroksitlerin ve diğer serbest radikallerin konjuge edilerek zararlı etkisinin ortadan kaldırılmasında kullanılır (Dandapat et al. 2003). Bu enzimin aktivitesindeki artış BA'in veya metabolizma ürünlerinin bir oksidan gibi davranarak serbest radikal oluşumunu hızlandırması ve buna bağlı olarak larvalarda oksidatif stresi meydana getirmeleri sonucu olabilir.

Böcekler üzerinde BA gibi bazı B türevi kimyasalların patofizyolojik etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen moleküler oksijene elektron transfer ederek O_2^- radikallerinin oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir (Jolly 1991). Ay ve Yorulmaz (2008), 21,84 kat bifenthrin dirençli *Tetranychus urticae* (C. L. Koch 1836) popülasyonunda esteraz ve GST enzim seviyelerinin başlangıç popülasyonuna göre arttığını belirlemişlerdir. Tek başına 620, 1250 ve 2500 ppm konsantrasyonlarda kullanılan BA *G. mellonella*'nın yaşama oranını düşürmekte, gelişme süresini kısaltmakta, ergin ömür uzunluğunu ise artırmaktadır. Aynı çalışmada BA konsantrasyonları böceğin son evre larvaları ile yeni pup olmuş bireylerin hemolenf ve yağ dokusundaki MDA miktarını artırmış, antioksidan enzimler SOD, CAT,

GST ve GPx aktivitelerini ise önemli derecede değiştirmiştir (Hyrřl et al. 2007). Çalışmamızda *D. melanogaster* için BA'in en dūřuk konsantrasyonunu içeren yapay besinle yetiştirilen 3. evre larvalarındaki MDA miktarı diři erginlerde yaklaşık 2 kat artmıştır. Larval evreden itibaren ergine doğru PCO miktarında azalma gōzlenirken istatistiksel açıdan önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Oksidatif stres dūzeyi enzimin karşi koyamayacağı seviyeye ulaşırsa enzimin kendisi de hasara uğrayabilir. Erkek bireylerde GST aktivitesini, 3. evre larvasına ve diři erginlere gōre önemli derecede azaltmıştır. Bu besin ile yetiştirilen pup ve erkek erginlerde ise MDA miktarı diři erginlere gōre yaklaşık 10 kat azalmaya sebep olması bu dūřünceyi kuvvetlendirmektedir.

Yařla birlikte dokuların spontan otooksidasyona karşi olan dirençlerinin azaldığı, yaşlı dokuların normal dokulardan daha fazla peroksidasyona maruz kaldıkları, antioksidanların bunu azaltabildikleri ancak yaşlanmayı geciktirmedikleri kaydedilmiştir. Bunun yanında yaşlanma ile birlikte oksidan hasara karşi savunma elemanı olarak gōrev yapan endojen antioksidan dūzeylerinin değişmediği, azaldığı ya da arttığı bulunmuştur (Yüzüak 2008). *D. melanogaster*'de yüksek yerçekiminin (hypergravity) (3 ve 5 g) yaşlanma davranışlarını geciktirdiği, erkek sineklerde ömür uzunluğunu ve her iki eşeyde de sıcağa karşi direnci artırdığını ortaya çıkarmak için yapılan çalışmada iki, dōrt ve altı haftalık sineklerdeki enzim aktiviteleri (SOD ve CAT) üzerine yüksek yerçekiminin etkisinin olmadığı rapor edilmiştir (Le Bourg et. al 2000). Çalışmamızda erginleşme sonrası BA konsantrasyonlarıyla yapılan beslenme deneylerinde kontrol besini ve BA'in denenen tüm konsantrasyonlarında erkek ve dişiler arasında MDA miktarı açısından önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. BA'in 300 mg/L'si ile beslenildiğinde PCO miktarı 9 katı kadar bir artış gōrölmüřtür. Buna karşılık BA'in 200 mg'ı ile erkek erginler beslenildiğinde 10 gūnlük erginlerde PCO miktarı kontrole gōre 3 katı oranında artış gōrölmüřtür. Dięer bir çalışmada yařa bağlı olarak *Drosophila* Oregon yabanıl tip (85 gūn) erkeklerinin kōrelmiř kanatlı (56 gūn) erkeklerden daha uzun ömürlü oldukları, yařa bağlı CAT aktivitesinde değişimlerin benzer olduğu değişimler ve yaşlanma sūrecinde ise azalma gōsterdięini, GR aktivitesinin (10. ve 40. gūnler arasında) ve total glutasyon miktarının arttığı sonra aniden azaldığı belirtilmektedir (Fışkın et al. 1994). Ancak alışmamızda BA'in 300 mg/L'si ile beslenen ve 10 gūnlük erkeklerde kontrol besinine gōre PCO miktarı önemli derecede (7 kat) artmıştır. BA'in dūřuk konsantrasyonları ile 10 gūn boyunca beslenen dişilerdeki PCO miktarı erkeklere gōre önemli derecede yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar oksidatif stresten dolayı yüksek BA konsantrasyonlarında erkek birey oranına gōre daha dūřük oranda diři birey meydana getirmesiyle destek bulmaktadır.

100 mg/L BA içeren besin hariç BA'in diğer konsantrasyonlarında kontrole göre 10 günlük erkeklerin GST aktivitesinde artış olmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır.

D. melanogaster'in farklı besin tipiyle beslenmesine bağlı olarak yumurta sayısını ayarladığı ifade edilmiştir. Bu durum böceğin neslini tehlikeye sokmamak için gerçekleştiği düşünülmektedir (Partridge et al. 1987). Porfirazin, kadmiyum gibi maddelerle 10 gün süreyle beslenen *D. melanogaster*'in yumurta verimi araştırılmış, günlük ortalama yumurta sayısı 74-288 olarak bulunmuştur (Ertan 2009). Böceklerde üreme potansiyeli, sinir ve endokrin sisteminin etkisi altında kalmaktadır. Nöro-endokrin sistemi uyaran insektisitler ile JH normalden fazla ya da az salgılanması yumurta veriminde artışın yada azalmanın gözlenmesine sebep olur. *D. melanogaster* ile yapılan bir çalışmada ergin bireylerin kadmiyum klorürle beslenmeleri yumurta verimini azaltmıştır (Ertan 2009). Metallerin enzim inhibisyonuna neden olduğu ve proteinlerin enzimatik ve yapısal fonksiyonlarını değiştirerek onları inhibe ettiği bildirilmiştir (Gelegen 2000). Bununla beraber *Drosophila*'da yumurta sarısı proteinleri olan vitellojeninlerin inhibisyonunun yumurta verimini etkilediği görülmüştür (De Man et al. 1981). Hyršl et al. (2007) 156 ppm BA'in *G. mellonella*'nın 7. evre larvaları ve pupalarında yaşama oranını arttırdığı, ergin ömür süresini de yaklaşık 3 gün uzattığını göstermiştir. Aynı çalışmada son evre larvalarının hemolenfinde SOD, GST ve GPx aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. *D. melanogaster* ile yaptığımız çalışmada BA'in düşük konsantrasyonları ile yetiştirilen larvalardan elde edilen erginlerin BA'in yine düşük konsantrasyonlarını içeren besinler ile 10 gün süreyle beslenilmesi bu dişilerin yumurtalarındaki MDA ve PCO miktarını, GST aktivitesini kontrol grubuna göre artırdığı, BA'in 200 mg/L'si ise MDA miktarını kontrole göre önemli olmayan bir düzeyde düşürmüştür. *Drosophila*'nın yaşamında yumurta üretimini gösteren en iyi dönem ilk on günlük periyottur (McMillan et al. 1970, Yeşilada and Bozcuk 1995). Çalışmamızda BA'in en yüksek konsantrasyonu ile hem larval evrede hem de ergin evrede beslenilmesi dişilerin bıraktığı yumurtalardaki MDA miktarını yaklaşık 5 katı, PCO miktarını yaklaşık 31 katı ve GST aktivitesini yaklaşık 7 katı artırmıştır. Kadmiyumla yapılan çalışmada (Ertan 2009) olduğu gibi BA uygulaması ile yumurta verimindeki azalmanın çalışmamızı desteklemek ve vitellojenin sentezinin engellemesi ile olabileceği düşünülmektedir. Bu çeşit etkilerin böceklerde prooksidan ve antioksidan sistem ile ilişkili olduğu gösterilmektedir (Büyükgüzel 2006).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre BA'in böceğin gerek biyolojik özellikleri gerekse oksidan ve antioksidan tepkisi üzerindeki etkilerinin BA konsantrasyonlarına göre değiştiğini açıkça göstermiştir. Oksidatif hasara bağlı olarak detoksifikasyon ve antioksidan savunma mekanizmasını bozması sonucu böceğin yaşama ve gelişimi, yumurta verimi ve açılma oranı üzerinde olumsuz etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Oksidatif strese karşı antioksidan enzimlerin sentezinin aşırı artması durumunda, serbest radikaller, zarar vermek üzere hedef moleküllere saldırma fırsatı bulamayarak antioksidan enzimler ile karşılaşma ihtimalleri artabilir. Böylece oksidatif stresin olumsuz etkileri ortadan kalktığında böceğin yaşama oranı ve ömür uzunluğu artabilir.

BÖLÜM 6

SONUÇ

Bu çalışma BA'in böceklerin biyolojik etkinlik parametreleri üzerindeki olumsuz etkisinde oksidatif stresin önemli rol oynayabileceğini açıkça göstermiştir. BA'in *D. melanogaster* üzerinde biyolojik yaşam özellikleri, fizyolojisi, biyokimyası üzerinde gösterdiği toksik etki mekanizmasının tüm yönleriyle anlaşılması zararlı böceklerle mücadelede, hedef olmayan canlılara ve çevreye daha az olumsuz etkisi olan yeni kimyasal yöntemlerin geliştirilmesine olanak sağlayabilir.

Bu çalışmada sırasıyla şu sonuçlar elde edilmiştir. Bunlardan ilki *D. melanogaster* üzerinde en etkili olan BA konsantrasyonunun belirlenmesidir. İkincisi ise BA'in *D. melanogaster* üzerindeki etkilerinin biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmalarını anlayabilmek amacıyla, BA ile beslenen böceklerin GST enzimi temel alınarak detoksifikasyon kapasitelerindeki değişim gösterilmiştir. Sonuç olarak *D. melanogaster* üzerinde en olumsuz etki yapan BA konsantrasyonu 300 mg/L'dir. Belirlenen en yüksek BA konsantrasyonu böceğin yaşama oranı, gelişme süresi, yumurta verimi ve açılma oranını düşürmüştür. Belirtilen konsantrasyonlardaki BA böceğin son evre larvalarının, pup, dişi ve erkek bireylerde ve dişilerin yumurtalarında MDA ve PCO miktarı ile GST aktivitesinde önemli derecede artırmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar larval evreden itibaren BA'in yüksek konsantrasyonları ile beslenmesi böceğe olumsuz etki yaptığını detoksifikasyon kapasitesinin de etkilendiğini açıkça göstermiştir. BA'in düşük konsantrasyonlarının ergin besini olarak kullanılması böceğin MDA, PCO miktarını ve GST aktivitesinin artmasına neden olarak antioksidan savunmanın çalıştığını göstermektedir. Çalışmamız yaşlanmayı açıklayan yardımcı teorilerden biri olan serbest radikal teorisini desteklemektedir. *D. melanogaster* üzerinde denene BA'le MDA ve PCO miktarlarının artması serbest oksijen radikalleri hücrelerde oksidatif stres oluşturduğunu göstermektedir. Oluşan stres, hücrelerin yapı ve işlevlerini

bozarak hücrelerin yaşlanma sürecine girmelerine neden olmaktadır. Hücrelerde güçlü bir detoksifikasyon enzimi olan GST aktivitesinin artması, oksidatif strese bağlı hücre yaşlanmasını yavaşlatabilir. Ancak hücre yaşlanmasını tetikleyen birçok faktör olduğundan yaşlanma sürecinin tam olarak anlaşılabilmesi ve yavaşlatılabilmesi için ileri çalışmalara gerek duyulmaktadır. BA'in düşük konsantrasyonlarının kullanımı böcekte hızlı tolere edilmiş ve antioksidan savunma mekanizması daha kısa sürede devreye girerek oksidatif stresi önlemeye çalışmış, yüksek konsantrasyonlarda ise oksidatif stresi önlemeye yeterli olmamıştır.

Bu sonuçlara göre BA'in düşük miktarlarının *D. melanogaster*'in ergin özelliklerinin iyileştirilmesi için ergin besinine katkı maddesi olarak ilave edilebileceğini ancak oksidatif strese bağlı olarak gelişmesi muhtemel olan hücre hasarlarının da dikkate alınması gerekmektedir. Bu sonuç düşük miktardaki kimyasal insektisit ile çevreye ve hedef olmayan canlılara zarar vermeden hedef böcek ile mücadele bakımından önemlidir. Ayrıca *Drosophila*'yı etkileyecek bir maddenin memeliler ve insanada benzer etki gösterebileceği bilinmektedir. Bu çalışmadan elde edilen en önemli sonuç zararlı böcekler ile mücadelede çevre ve hedef olmayan canlılara şu anda kullanımda olan insektisitler kadar zararlı olmayan inorganik insektisit olan BA'in kullanımına yönelik bir stratejiye öncülük edilmiş olmasıdır.

KAYNAKLAR

- Adamski Z, Emnicki Z K, Fila K, Zikic R V and Stajn A** (2003) Effects of long-term exposure to fenitrothion on *Spodoptera exigua* and *Tenebrio molitor* larval development and antioxidant enzyme activity. *Biol. Lett.*, 40: 43-52.
- Adler V, Yin Z M, Tew K D and Ronai Z** (1999). Role of redox potential and reactive oxygen species in stress signaling. *Oncogene*, 18: 6104-6111.
- Agianian B, Tucker P A, Schouten A, Leonard K, Bullard B and Gros P** (2003) Structure of a *Drosophila* Sigma class Glutathione S-transferase reveals a novel active site topography suited for lipid peroxidation products. *J. Mol. Biol.*, 326: 151-65.
- Agrawal A and Kale R K** (2001) Radiation Induced Peroxidative Damage Mechanism and Significance. *IJEB*, 39: 291-309.
- 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, Beilsen M A and Pardini R S** (1989) Glutathione peroxidase activity in insects: A reassessment. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 12: 31-49.
- Ahmad S, Pritsos C A and Pardini R S** (1990) Antioxidant enzyme activities in subcellular fractions of larvae of the black swallowtail butterfly, *Papilio polyxenes*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 15: 101-109.
- Akbulut H, Akbulut K G and Gönül B** (1997) Age-related changes in malondialdehyde and glutathione levels of gastric mucosa of the rats and effects of exogenous melatonin. *Digest. Dis. Sci.*, 42: 1381-1382.
- Akbulut K G, Gönül B and Akbulut H** (1999) Differential effects of pharmacological doses of melatonin on MDA and GSH levels in young and old rats. *Gerontology*, 45: 67-71
- Akkuş İ** (1995) *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Mimoza Yayınları, Konya, 1. Baskı, 1-17 s.
- 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*. *J. Am. Mosquito Contr.*, 22: 464-468.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Allen R G, Farmer K J, Newton R K and Sohal R S** (1984) Effects of paraquat administration on longevity, oxygen consumption, lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, inorganic peroxides and glutathione in the adult housefly. *Comp. Biochem. Physiol. C.*, 78 (2): 283-288.
- Almroth B C, Sturve J, Stephensen E, Holth T F and Forlin L** (2010) Protein Carbonyls and Antioxidant Defenses in Corkwing Wrasse (*Symphodus melops*) from a Heavy Metal Polluted and a PAH Polluted Site. *Mar. Environ. Res.*, 66: 271-277.
- Ames B N, Shigenaga M K and Hagen T M** (1993) Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 7915-7922.
- Andreoli C, Prokisch H, Hortnagel K, Mueller J C, Münsterkötter M, Scharfe C and Meitinger T** (2004) MitoP2, an integrated database on mitochondrial proteins in yeast and man. *Nucleic Acids Res.*, 32: 459-462.
- Anonymous** (2002). EGVM (Expert Group on Vitamins and Minerals), Revised review of boron, <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/boron.pdf>.
- Anonymous** (2004) *Avrupa Perakendecileri Ürün Çalışma Grubu'nun İyi Tarım Teknikleri uygulamaları* (EUREPGAP). Akdeniz Yaş Meyve Sebze İhracatçıları Birliği, ARGE Dış İlişkileri Şube Müdürlüğü, 1-36 s.
- Anonymous** (2005). Forum on the geology of industrial minerals. <http://www.imf2005.itu.edu.tr/field.php>.
- Ansari K A, Kaplan E and Shoeman D** (1989) Age Related Changes in Lipid Peroxidation and Protective Enzymes in The Central Nervous System. *Growth Develop Aging*, 53: 117.
- 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.
- Arslan M** (2004) Borik Asit'in İnsan Periferik Lenfositlerinde in Vitro Kromozomal Aberasyonlar ve Kardeş Kromatid Değişimi Üzerindeki Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, 1-63 s.
- Asha D S, Subramanyam M V V, Vani R and Jeevaratnam K** (2005) Adaptations of the antioxidant system in erythrocytes of trained adult rats: Impact of intermittent hypobaric-hypoxia at two altitudes. *Comp. Biochem. Physiol. C.*, 140 (1): 59-67.
- Ashburner M** (1989) *Drosophila: A Laboratory Handbook and Manual*. The Handbook, 1: pp 1331 Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ashburner M and Thompson J R** (1978) *The Laboratory Culture of Drosophila, In The Genetics and Biology of Drosophila*, M. Ashburner, T. R. F. Wright, Academic Press Inc. Ltd., London, 2a: 2-81 pp.
- Ashburner M and Wright T R F** (1978) (eds.) *The Genetics and Biology of Drosophila* (Vol. 2c). London, New York, San Francisco, Academic Press, 617 pp.
- Aslan S** (2011) Borik asitin *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'nin yaşama oranı, yumurta verimi ve yumurtalarındaki oksidatif stres üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, 1-71 s.
- Aşkın H** (2009) Bazı Bitkisel Östrojenlerin *Drosophila Melanogaster*'de Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi Ve Folik Asit Kullanılarak Bu Etkilerin İyileştirilmesi Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, 1-115 s.
- Aşkın H, Uysal H and Altun D** (2007) Preventive role of folic acid on the developmental toxicity of phenol in *Drosophila melanogaster*. *Toxicol. Ind. Health.*, 23: 591-598.
- Aşkın H, Uysal H ve Altun D** (2008) Zearalenonenin Toksik Etkilerine Karşı *Drosophila melanogaster*' de Folik Asidin iyileştirici Etkileri Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Ay R and Yorulmaz S** (2008) The Evaluation of the Esterase and Glutathion S-Transferase Enzymes in Two-Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) Selected with Bifenthrin. Integrative Acarology Proceedings on the 6th European Association of Acarologists Congress, 419-424, 21-25 July, Fransa.
- Atlı E** (2010) Bazı çevresel östrojenlerin *Drosophila melanogaster*'de gelişim biyolojisi ve ömür uzunluğu üzerine etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 1-96 s.
- Babior B M** (1999) The production and use of reactive oxidants by phagocytes. In: Gilbert, D.L., Colton, C.A. (Eds.), *Reactive Oxygen Species in Biological System: an Interdisciplinary Approach*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Baeuerle P A, Rupec R A and Pahl H L** (1996) Reactive oxygen intermediates as second messengers of a general pathogen response. *Pathol. Biol.*, 44: 29-35.
- Bağcı G** (1983) *Drosophila*'da ömür uzunluğu-sıcaklık etkileşiminin araştırılması. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bahadorani S and Hilliker A J** (2008) Cocoa confers life span extension in *Drosophila melanogaster*. *Nutr. Res.*, 28: 377-382.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Bahçeci D** (2000) Malathionun *Drosophila melanogaster*'in gelişimi üzerine etkileri. Yüksek Lisans tezi, Gazi Üniversitesi Biyoloji Eğitimi, Ankara, 5, 53-58 s.
- Barbehenn R V and Stannard J** (2004) Antioxidant defense of the midgut epithelium by the peritrophic envelope in caterpillars. *J. Insect. Physiol.*, 50: 783-790.
- Bare O S** (1945) Boric acid as a stomach poison for the German cockroach. *J. Econ. Entomol.*, 38: 407.
- Barker M G, Brimage L J and Smart K A** (1999) Effect of Cu, Zn superoxide dismutase disruption mutation on replicative senescence in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 177: 199–204.
- Bayne A V and Sohal R S** (2002) Effects of Superoxide Dismutase/Catalase Mimetics on Life Span and Oxidative Stress Resistance in The Housefly, *Musca Domestica*. *Free Radical Bio. Med.*, 32: 1229-1234.
- Beckman K B and Ames B N** (1998) The Free Radical Theory of Aging Matures. *Physiol. Rev.*, 78: 547-581.
- Bernards A and Hariharan I K** (2001) Of flies and men-studying human disease in *Drosophila*. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 11: 274-278.
- Bhavan-Saravana P and Geraldine P** (2001) Biochemical reponses in tissues of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* on exposure to endosulfan. *Pestic. Biochem. Phys.*, 2531: 1-15.
- Board P, Coggan M, Johnston P, Ross V, Suzuki T and Webb G** (1990) Genetic Heterogeneity Of The Human Glutathione Transferases: A Complex of Gene Families. *Pharm. Ther.*, 48: 357-369.
- Bogdan C** (2001) Nitric oxide and the immune response. *Nat. Immunol.*, 2: 907–916.
- Bogdan C T, Rollinghoff M and Diefenbach A** (2000) The role of nitric oxide in innate immunity. *Immunol. Rev.*, 173: 17-26.
- Bokov A, Chaudhuri A and Richardson A** (2004) The Role of Oxidative Damage and Stress in Ageing. *Mech. Ageing Dev.*, 125: 811-826.
- Bolanos L, Lukaszewski K, Bonilla I and Blevins D** (2004) Why boron? *Plant Physiol. Biochem.*, 42: 907-912.
- Bonawitz N D, Rodeheffer M S and Shadel G S** (2006) Defective mitochondrial gene expression results in reactive oxygen species-mediated inhibition of respiration and reduction of yeast life span. *Mol. Cell Biol.*, 26: 4818-4829.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Borkovec A B, Settepani J A, La Brecque G C and Fye R L** (1969) Boron compounds as chemosterilants for house flies. *J. Econ. Entomol.*, 62: 1472-1480.
- Bourdon E, Loreau N and Blache D** (1999) Glucose and free radicals impair the antioxidant properties of serum albumin. *FASEB*, 13: 233-244.
- Bukowska B** (2003) Effect of 2,4-D and its metabolite 2,4-dichlorophenol on antioksidant enzymes and level of glutathione in human erythrocytes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 135: 435-441.
- Brunk U T and Terman A** (2002) Lipofuscin: mechanisms of age-related accumulation and influence on cell function. *Free Radical Bio. Med.*, 33 (5): 611-619.
- Butterfield DA, Koppal T, Howard B, Subramaniam R, Hall N, Hensley K, Yatin S, Allen K, Aksenov M, Aksenova M and Carney J** (1998) Structural and functional changes in proteins induced by free radical-mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl-alpha-phenylnitron and vitamin E. *Ann. N Y Acad. Sci.*, 854: 448-462.
- Butterwick L, De Oude N and Raymond K** (1989) Safety assessment of boron in aquatic and terrestrial environments. *Ecotoxicol Environ Saf.*, 17: 339-371.
- 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 K** (2001) DNA gyrase inhibitors: Novobiocin enhances the survival of *Pimpla turionellae* larvae reared on an artificial diet but other antibiotics do not. *J. Appl. Entomol.*, 125: 583-587.
- 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 and İçen E** (2004) Effects of gyrase inhibitors on the total protein content of *Pimpla turionellae* L. reared on an artificial diet. *J. Entomol. Sci.*, 39 (1): 108-116.
- Cai Q, Tian L and Wei H** (1996) Age dependent increase of indigenous DNA adducts in rat brain is associated with lipid peroxidation product. *Exp. Gerontol*, 31: 373-385.
- Camera E and Picardo M** (2002) Analytical methods to investigate glutathione and related compounds in biological and pathological processes. *J. Chromatogr. B.*, 781: 181-206.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Cantürk Z** (2007) Bor Bileşiklerinin Lösemi Hücrelerine Ve Normal Lenfositlere Olan Etkisinin Hücre Kültüründe Ve Transmission (Geçirimli) Elektron Mikroskopunda İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı İmmüno-Hematoloji Bilim Dalı, Eskişehir, 1-69 s.
- Ceballos P I, Trivier J M and Nicole A** (1992) Age-Related Modification Of Copper – Zinc Superoxide Dismutase and Glutathione Related Enzyme Activities in Human Erythrocytes. *Clin. Chem.*, 38-66.
- Cengiz S** (2011) Besinsel borik asit ve fruktoz karışımlarının *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) üzerine biyolojik ve oksidatif etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, 1-79 s.
- Cervera A, Maymo A C, Martinez-Pardo R and Garcera M D** (2003) Antioxidant enzymes in *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae) exposed to cadmium. *Environ. Entomol.*, 32: 705-710.
- Chang C L, Albrecht C, El-Shall S S A and Kurashima R** (2001) Adult reproductive capacity of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) on a chemically defined diet. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 94: 702-706.
- Chapin R E, Ku W W, Kenney M A and McCoy H** (1998) The effects of dietary boric acid on bone strength in rats. *Biol. Trace. Elem. Res.*, 66 (1-3): 395-399.
- Chapin R E, Ku W W, Kenney M A, McCoy H, Gladen B, Wine R N, Wilson R and Elwell M R** (1997) The effects of dietary boron on bone strength in rats. *Fundam Appl. Toxicol.*, 35: 205-215.
- 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. Bulletin*, 49: 481-493.
- Cini M and Moretti A** (1995) Studies on lipid peroxidation and protein oxidation in the aging brain. *Neurobiol. Aging*, 16: 53-57.
- Cisneros J, Perez J A, Penagos D I, Goulson D, Caballero, Cave D R and Williams T** (2002) Formulation of a nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* in maize. *Biological Cont.*, 23: 87-95.
- Clark A G** (1989) The comparative enzymology of the glutathione S-transferases from non-vertebrate organisms. *Comp. Biochem. Phys.*, 92 B: 419-446.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Clark A M and Rockstein M** (1964) Aging in insect. *Physiology of insecta*, 1: 227-281.
- Cnubben N H P, Rietjens I M C M, Wortelboer H, Van Zanden J and Van Bladeren P J** (2001) The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environ. Toxicol. Phar.*, 10: 141-152.
- Cochran D G** (1995) Toxic effects of boric acid on the German cockroach. *Experientia*, 51: 561-563.
- Cohen A C and Crittenden P** (2004) Deliberately added and “cryptic” antioxidants in three artificial diets for insects. *J. Econ. Entomol.*, 97: 265- 272.
- 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.*, 26: 165-176.
- Cui X, Wang L, Zuo P, Han Z, Fang Z, Li W and Liu J** (2004) D-Galactose-caused life shortening in *Drosophila melanogaster* and *Musca domestica* is associated with oxidative stress. *Biogerontology*, 5: 317-326.
- Cutler R G** (1984) *Antioxidants, aging and longevity, in Free Radical in Biology*. Edited by Pryor, W.A., Academic Pres, New York, 6: 371-428.
- Czajka M C and Lee R E** (1990) A rapid cold-hardening response protecting against cold shock injury in *Drosophila melanogaster*. *J. of Exp. Biol.*, 148: 245-254.
- Çakır Ş and Sarıkaya R** (2005) Genotoxicity testing of some organophosphate insecticides in the *Drosophila* wing spot test. *Food Chem. Toxicol.*, 43: 443-450.
- Çelik T** (1996) Bazı insektisitlerin (Basudin, Agromethrin) ve fungusitlerin (Korsikol, Derosal) buğday (*Triticum aestivum* cv. Gerek 79) da oluşturduğu sitogenetik değişimler ve bu değişmelerin verim ve kalite ilişkileri. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 102-117 s.
- Çetin N D** (2005) X-bandındaki elektromanyetik alanın *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon oluşumuna etkilerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara, 1-37 s.
- Çol M and Çol C** (2003) Environmental boron contamination in waters of Hisarcik area in the Kütahya Province of Turkey. *Food Chem. Toxicol.*, 41 (10): 1417-1420.
- Dalgıç B, Koçak B, Özsoy-Emecen G, Bozcuk A N, Ünlü H ve Saka B** (2002) Elektromanyetik radyasyonun ergin *Drosophila melanogaster* mutantlarında ömür uzunluğuna etkisi. XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi, Özetler, Malatya.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Dandapat J, Chainy G B N and Rao K J** (2003) Improved post-larval production in giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii* through modulation of antioxidant defence system by dietary vitamin-E. *Indian J. Biotechnol.*, 2 (2): 195-202.
- Daar S** (1988) *Boric Acid Outperforms Dursban® In School District IPM Program for Cockroaches*. The IPM Practitioner, Bio-Integral Research Center, Berkeley, CA, 5 pp.
- Dayioğlu 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, Kahraman Maraş, 1-37 s.
- De La Cruz C P, Revilla E, Venero J L, Ayala A, Cano J and Machado A** (1996) Oxidative inactivation of tyrosine hydroxylase in substantia nigra of aged rat. *Free Radic Biol. Med.*, 20: 53-61.
- De Man W, De Loof A, Bries T and Huybrechts R** (1981) Effect of abscisic acid on vitellogenesis in *Sarcophoga bulata*. *Entomol. Exp. Appl.*, 29: 259-267.
- Dean R T, Fu S, Stocker R and Davies M J** (1997) Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem. J.*, 324: 1-18
- Dekant W** (2001) Chemical-induced nephrotoxicity mediated by glutathione S-conjugate formation. *Toxicol. Lett.*, 124: 21-36.
- Delgarde S and Rouland-Lefevre C** (2002) Evaluation of the effects of thiamethoxam on three species of African termite (Isoptera: Termitidae) crop pests. *J. Econ. Entomol.*, 95 (3): 531-536.
- Demirsoy A** (1982) *Yaşamin Temel Kuralları: Omurgasızlar, Cilt II*. Hacettepe Üniversitesi Yayını, Ankara, 1-41 s.
- Demirsoy A** (1992) *Yaşamin Temel Kuralları* (Entomoloji), 2 (2): 1-941, Ankara.
- Devi S A and Kiran T R** (2004) Regional Responses in Antioxidant System to Exercise Training and Disetary Vitamin E in Aging Rat Brain. *Neurobiol. Aging*, 25: 501-508.
- Devirian T A and Volpe S L** (2003) The physiological effects of dietary boron. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, 43: 219-231.
- Dimopoulos G** (2003) Insect immunity and its implication in mosquito–malaria interactions. *Cell Microbiol.*, 5: 3-14.
- Dimopoulos G, Muller H M, Levashina E A and Kafatos F C** (2001) Innate immune defense against malaria infection in the mosquito. *Curr. Opin. Immunol.*, 13: 79-88.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Djordjevic V B** (2004) Free radicals in cell biology. *Int. Rev. Cytol.*, 237: 57-89.
- 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.
- Donato H Jr, Hoselton M A and Sohal R S** (1979) Lipofuscin accumulation: Effects of individual variation and selective mortality on population averages. *Exp. Gerontol.*, 14 (3): 141-147.
- Dourson M, Maier A, Meek B, Renwick A, Ohanian E and Poirier K** (1998) Boron tolerable intake, Re-evaluation of toxicokinetics for data-derived uncertainty factors. *Biol. Trace Elem. Res.*, 66: 453-463.
- Dröge W** (2002) Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol. Rev.*, 82: 47-95.
- Durmaz H, Sevgiler Y and Üner N** (2006) Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in *Oreochromis niloticus*. *Pestic. Biochem. Phys.*, 84: 215-226.
- 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.
- Durusoy M, Diril N and Bozcuk A N** (1995) Age-related activity of catalase in different genotypes of *Drosophila melanogaster*. *Exp. Gerontol.*, 30 (1): 77-86.
- Ebeling W** (1995) Inorganic insecticides and dusts. *Understanding and Controlling the German cockroach*, eds. Rust M K, Owens J M and Reiersen D A, Oxford University Press, New York, pp. 193-226.
- Ecevit O** (1988) Ziraî Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayınları*, Samsun, 27: 5-46.
- EFSA** (2004) Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the commission related to the tolerable upper intake level of boron (sodium borate and boric acid) (Request N_ EFSAQ- 2003-018). *EFSA J* 80, 1-22.
- Eischen F and Dietz A** (1987) Growth and survival of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larva fed diets containing honey bee-collected plant resins. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 80: 74-77.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Elhassaneen Y A and Abd El-Moaty A A** (2003) Blood oxidant and antioxidant status in rats feeding with insect-infested wheat flour. *Pakistan J. Biol. Sci.*, 6 (15): 1354-1360.
- Emsley J** (1989). *The elements*. Clarendon Press, Oxford, p 32.
- Enayati A, Ranso H and Hemingway J** (2005) Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Mol. Biol.*, 14: 3-8.
- Eren M** (2004) Borun biyolojik önemi ve metabolizma üzerine etkileri. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 1 (1): 55-59.
- Eren M, Uyanık F ve Küçükersan S** (2002) Yumurta tavuğu yemlerine bor ilavesinin yumurta kalitesi ile serum Ca, P ve Mg düzeylerine etkisi. 1. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi-Ankara, 21-22 Haziran, P 16.
- Eroğlu Doğan E** (2008). Bazı flavonoidlerin *Drosophila melanogaster*'de antigenotoksik aktivitesi ve antioksidan etkilerinin araştırılması. Doktora tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Malatya, 1-115 s.
- Ertan F** (2009) Simetrik Ftalosiyenin sentezi ve porfirazin molekülünün *Drosophila melanogaster* üzerine toksik etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Kocaeli, 1-58 s.
- Espinoza-Navarro O, Rodriguez H, Rodriguez M, Silva E and Luque A** (2009) Alteration of the reproductive patterns in *Drosophila melanogaster* by Effect of high concentrations of Boron on in vitro cultured medium. *Int. J. Morphol.*, 27 (3): 765-770.
- Espinoza-Navarro O, Vilaxa A, Granifo L, Rojas S and Rodríguez H** (2007) Histological study on the male reproductive organs of Mouse CF1, treated with boron. *Int. J. Morphol.*, 25 (2): 341-46.
- Evans P, Lyras L and Halliwell B** (1999) Measurement of protein carbonyls in human brain tissue. *Methods Enzymol.*, 300: 145-156.
- Falaklı B** (1989) *Drosophila* Genetiği. *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları*, 134: 1-10.
- 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. Env. Epid.*, 12: 21-28.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ferkovich S M, Morales-Ramos J A, Rojas M G, Oberlander H, Carpenter J E and Greany P** (1999) Rearing of ectoparasitoid *Diapetimorpha introita* on an artificial diet: supplementation with insect cell line-derived factors. *BioControl*, 44: 29-45.
- Ferrari C K B** (2007) Function Foods And Physical Activities in Health Promotion of Aging People. *Maturitas*, 58: 327-339.
- FıŖkın K, Kandemir S, Hamamcı D, YeŖilada E and Bozcuk A N** (1994) Age-related changes in catalase, glutathione reductase activities, the amount of glutathione in total body of Oregon and vestigial *Drosophila melanogaster*. *Arch. Gerontol. Geriat.*, 4: 85-90.
- Fleming J E, Reveillad I and Niedzwiecki A** (1992) Role of oxidativ stres in Drosopila aging. *Mutat. Res.*, 275: 961-965.
- Foley E and O'farrell P H** (2003) Nitric oxide contributes to induction of innate immune responses to Gram-negative bacteria in *Drosophila*. *Genes Dev.*, 17: 115-125.
- Ford D J, Propst T L, Stover E L, Strong P L and Murray F J** (1998) Adverse reproductive and developmental effects in xenopus from insufficient boron. *Biol. Trace. Element Res.*, 66: 237-259.
- Fort D J, Rogers R L, McLaughlin D W, Sellers C M and Schlekot C L** (2002) Impact of boron deficiency on *Xenopus laevis*: a summary of biological effects and potential biochemical roles. *Biol. Trace. Element Res.*, 90 (1-3): 117-142.
- Fonseca D B, Sheehy M R J, Blackman N, Shelton P M J and Prior A E** (2005) Reversal of a hallmark of brain ageing: lipofuscin accumulation. *Neurobiol. Aging*, 26: 69-76.
- Franchini A, Conte A and Ottaviani E** (1995) Nitric oxide: an ancestral immunocyte effector molecule. *Adv. Neuroimmunol.*, 5: 463-478.
- Fritsche G, Larcher C, Schennach H and Weiss G** (2001) Regulatory interactions between iron and nitric oxide metabolism for immune defense against *Plasmodium falciparum* infection. *J. Infect. Dis.*, 183: 1388-1394.
- Garg S K and Mahajan S** (1993) Effect of ascorbic acid on longevity, catalase and lipid peroxidation in *Callosobruchus maculatus* F. *Age*, 16: 87-92.
- Gelbić I and Ŗula J** (1990) Ovicidal and biochemical effects of hempa and a nucleoside analogue on *Pyrrhocoris apterus* (L.) (Het., Pyrrhocoridae). *J. Appl. Entomol.*, 109: 401-409.
- Gelegen L ve YeŖilada E** (2000) *Drosophila melanogaster*'in Bazı GeliŖimsel Özellikleri Üzerine Kadmiyum Nitratın Etkisi. *Turk. J. Biol.*, 24: 585-591.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Gonzales B M** (1923) Experimental studies on the duration of life. VIII. The influence upon duration of life of certain mutant genes of *Drosophila melanogaster*. *Am. Natur.*, 57: 289-325.
- Gore J C and Schal C** (2004) Laboratory evaluation of boric acid-sugar solutions as baits for management of German cockroach infestation. *J. Econ. Entomol.*, 97: 581-587.
- 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.
- Gorenstein C, Bundman M C and Lew P J** (1985) Dendritic transport. I. Colchicine stimulates the transport of lysosomal enzymes from cell bodies to dendrites. *J. Neurosci.*, 5: 2009-2017.
- Graf U and Singer D** (1992) Genotoxicity testing of promutagens in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 8: 15-27
- 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.
- Griswold C M, Matthews A L, Bewley K E and Mahaffey J W** (1993) Molecular characterization and rescue of acatalasemic mutants of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 134: 781-788.
- Guarente L and Kenyon C** (2000) Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature*, 408: 255-262.
- Gutteridge JMC** (1995) Lipid Peroxidation and Antioxidants As Biomarkers of Tissue Damage. *Clin. Chem.*, 42: 819.
- Gülbahar Ö** (2007) Protein oksidasyonun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilgisi. *Turk. J. Geriatrics*, 10: 43-48.
- 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.
- Hadim N** (2008) Pamuk Yaprak Kurdu *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae)'te İnsektisitlere Karşı Oluşan Direncin Biyokimyasal Ve Moleküler Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara, 1-146 s.
- Halliwell B** (1994) Free radicals, antioxidant, and human disease: curiosity. Cause or consequence? *Lancet.*, 344: 721-724.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Halliwell B** (1996) Antioxidants in Human Health and Disease. *Ann Rev Nutr.*, 16: 33.
- Halliwell B, Gutteridge J M C and Cross C E** (1992) Free Radicals Antioxidants and Human Disease: Where are We Now? *J. La. Clin. Med.*, 119 (6): 598-620.
- Hamilton S J and Buhl K J** (1990) Acute toxicity of boron, molybdenum and selenium to fry of chinook salmon and coho salmon. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19 (3): 366-373.
- Harman D** (1956) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.*, 11: 298-300.
- Harman D** (1981) The aging process. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78: 7124-7128.
- Hatao H, Oh-ishi S, Itoh M, Leeuwenburgh C, Ohno H, Ookawara T, Kishi K, Yagyu H, Nakamura H and Matsuoka T** (2006) Effects of Acute Exercise on Lung Antioxidant Enzymes in Young and Old Rats. *Mech. Ageing Dev.*, 127: 384-90
- Hawkins C L and Davies M J** (2001) Generation and propagation of radical reactions on proteins. *Biochim Biophys Acta.*, 1504: 196-219.
- Hayes W J and Jr Laws E R** (1991) *Handbook of Pesticide Toxicology*. Academic Press, San Diego, pp. 107-167.
- He F S, Chen S Y, Tang X Y, Gan W Q, Tao B G and Wen B Y** (2002) Biological monitoring of combined exposure to organophosphates and pyrethroids. *Toxicol. Lett.*, 134: 119-124.
- Heindel J J, Price C J and Schwetz B A** (1994) The developmental toxicity of boric acid in mice, rats and rabbits. *Environ. Health Persp.*, 107-112.
- Heindel J J, Price C J, Field E A, Marr M C, Myers C B, Morrissey R E and Schwetz B A** (1992) Developmental toxicity of boric acid in mice and rats. *Fundam Appl. Toxicol.*, 18: 266-277.
- Heindel J, Fail P, George J and Grizzle T** (1997) Reproduction toxicology of boric acid. *Environ. Health Persp.*, 105: 275-276.
- Heinle H and Betz E** (1994) Effects of dietary garlic supplementation in rat model of atherosclerosis. *Arznei-for*, 44: 614-617.
- Helfand S L, Blake K J, Rogina B, Stracks M D, Centurion A and Naprta B** (1995) Temporal patterns of gene expression in the antenna of the adult *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 140: 549-555.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Hipkiss A R** (2004) Biological Aspects of Ageing. The Medicine Publishing C. Ltd., *Psychiatry*, 3 (12): 2-4.
- Hodgkin J** (2000) A view of Mount *Drosophila*. *Nature*, 404 (6777): 442-443.
- Hoffman D J, Sanderson C J, LeCaptain L J, Cromartie E and Pendleton G W** (1991) Interactive effects of boron, selenium, and dietary protein on survival, growth, and physiology in mallard ducklings. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 20 (2): 288-294.
- Honda Y and Honda S** (1999) The daf-2 gene network for longevity regulates oxidative stress resistance and Mn-superoxide dismutase gene expression in *Caenorhabditis elegans*. *FASEB J.*, 13: 1385-1393.
- Hsieh Y S and Hsu C Y** (2011) Honeybee trophocytes and fat cells as target cells for cellular senescence studies. *Exp. Gerontol.*, 46: 233-240.
- http://www.new-science-press.com/info/illustration_files/nsp-cellcycle-2-4-2_14.jpg
- Hu H, Penn S G, Lebrilla C B and Brown P H** (1997) Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants. *Plant Physiol.*, 113: 649-655.
- Hu M L** (1994) Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods Enzymol.*, 233: 381-385.
- Huang T T, Carlson E J, Gillespie A M, Shi Y and Epstein C J** (2000) Ubiquitous overexpression of Cu/Zn superoxide dismutase does not extend life span in mice. *J Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, 55: B5-9.
- Hubbard S A** (1998) Comparative toxicology of borates. *Biol. Trace Elem. Res.*, 66: 343-357.
- Humphreys J M, Duyf B, Joiner M L, Phillips J P and Hilliker A J** (1996) Genetic analysis of oxygen defense mechanisms in *Drosophila melanogaster* and identification of a novel behavioural mutant with a Shaker phenotype. *Genome*, 39: 749-757.
- Hunaiti A A and Elbettiha A M** (1995) Developmental studies on *Drosophila melanogaster* Glutathione -S-transferase and its induction by oxadiazolone. *Insect Biochem. Molec.*, 25: 1115-1119.
- Hunt C D** (1998). One possible rol of dietary boron in higher animals and humans. *Biol. Trace Elem. Res.*, 66: 205-225.
- Hunt C D, Herbel J L and Idso J P** (1994) Dietary boron modifies the effects of vitamin D3 nutriture on indices of energy substrate utilization and mineral metabolism in the chick. *J. Bone Min. Res.*, 9: 171-182.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Hyršl P, Büyükgüzel E and Büyükgüzel 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.
- Inoue K, Zhuang L, Maddox D M, Smith S B and Ganapathy V** (2003) Human sodium-coupled citrate transporter, the orthologue of *Drosophila* Indy, as a novel target for lithium action. *Biochem. J.*, 374: 21-26
- Ioannides C** (2002) Xenobiotic metabolism: An overview (C. Ioannides, Editor), *Enzyme Systems That Metabolise Drugs and Other Xenobiotics*. John Wiley and Sons, Ltd., West Sussex, UK, 1-32 pp.
- Ishii N** (2000) Oxidative stress and aging in *Caenorhabditis elegans*. *Free Radical Res.*, 33: 857-864.
- İnal M E, Kanbak G and Sunal E** (2001) Antioxidant Enzyme Activities and Malondialdehyde Levels Related to Aging. *Clin. Chim. Acta*, 305: 75-8
- Jain S K and Levine S N** (1995) Elevated lipid peroxidation and Vitamin E quinine levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radic. Biol. Med.*, 18: 337-341.
- Jayakumar T, Thomas P A and Geraldine P** (2006) Protective Effect of An Extract of The Oyster Mushroom, *Pleurotus Ostreatus*, on Antioxidants of Major Organs of Aged Rats. *Exp. Gerontol.*, 42: 183-191.
- Jensen R E, Hobbs A E, Cervený K L and Sesaki H** (2000) Yeast mitochondrial dynamics: fusion, division, segregation, and shape. *Microsc. Res. Tech.*, 51: 573-583.
- Jolitha A B, Subramanyam M V V and Devi S A** (2006) Modification by Vitamin E and Exercise of Oxidative Stress in Regions of Aging Rat Brain: Studies on Superoxide Dismutase Isoenzymes and Protein Oxidation Status. *Exp. Gerontol.*, 41: 753-763.
- Jolly W L** (1991) *Modern Inorganic Chemistry*. 2nd Ed. McGraw-Hill, New York.
- Jordens R G, Berry M D, Gillott C and Boulton A A** (1999) Prolongation of life in an experimental model of ageing in *Drosophila melanogaster*. *Neurochem. Res.*, 24 (2): 227-233.
- Jung T, Bader N and Grune T** (2007) *Lipofuscin Formation, Distribution and Metabolic Consequences*. Institute for Biological Chemistry and Nutrition, University of Hohenheim, 70593 Stuttgart, Germany Ann. N.Y. Acad. Sci. 1119: 97-111 (2007). New York Academy of Sciences. doi: 10.1196/annals.1404.008
- Kapahi P, Zid B M, Harper T, Koslover D, Sapin V and Benzer S** (2004) Regulation of Lifespan in *Drosophila* by Modulation of Genes in the TOR Signaling Pathway. *Curr. Biol.*, 14: 885-890.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Kapahi P, Zid B M, Harper T, Koslover D, Sapin V and Benzer S** (2004) Regulation of Life span in *Drosophila* by Modulation of Genes in the TOR Signaling Pathway. *Curr. Biol.*, 14: 885-890.
- Karataş A ve Bahçeci Z** (2009) Cypermethrin'in *Drosophila melanogaster*'de ergin bireylerin morfolojisi ve eşey oranına etkisi. *Dumlupınar Üni. Fen Bilim. Derg.*, 19: 1-14
- Kaur I P, Kapıla M and Agrawal R** (2007) Role of Novel Delivery Systems in Developing Topical Antioxidants as Therapeutics to Combat Photoageing. *Ageing Research Reviews*, 6: 271-288.
- Kaya B** (2000) Bazı pestisitlerin *Drosophila melanogaster* hatlarında mutajenik ve rekombinojenik etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Kaya B, Kocaoğlu S ve Demir E** (2006) *Drosophila melanogaster*'de UV'ye karşı in vivo adaptif tepkinin araştırılması. TÜBİTAK TBAG Proje 2185 102T059, 1-32 s.
- Kaymak G** (2011) Farklı Dozlarda Deltametrin Ve Kadmiyum Uygulanan Kılıçkuyruk (*Xiphophorus Herrerii*) Balıklarında Oluşan Oksidatif Stres Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Bilimleri Anabilim Dalı, İstanbul, 66 s.
- Kenneth B B and Bruce N A** (1998) The Free Radical Theory of Aging Matures. *Physiol. Rev.*, 78 (2): 547-581.
- Kern M and Wegener G** (1984) Age affects the metabolic rate of insect brain. *Mech. Ageing Dev.*, 28 (2-3): 237-242.
- Keser D** (2010) Aspirin ve asetaldehitin *Drosophila melanogaster*'in bazı gelişimsel özellikleri üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli, 1-68 s.
- Khan K I** (2006) Enhancement of virulence of *Bacillus Thuringiensis* and *Serratia Marcescens* by chemicals. *J. Res. (Science)*, Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan, 17: 35-43.
- Khan M Z, Tabassum R, Naqvi S N H M, Azmi A and Khan M F** (1996) Effect of sodium tetraborate and boric acid on the mortality and fecundity of a stored grain pest, *Callosobruchus analis*. *Proc. Pak. Congr. Zool.*, 16: 27-31.
- Kilani-Morakchi S, Aribi N, Farine J P, Everaerts C and Soltani N** (2005) Effets de l'acide borique sur les profils d'hydrocarbures cuticulaires chez un insecte à intérêt médical, *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Soc. Alger. Chim.*, 15 (2): 225-231.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Kinashi Y, Masunaga S, Takagaki M and Ono K** (1997) Mutagenic effects at HPGRT locus induced in Chinese hamster ovary cells by thermal neutrons with or without boron compound. *Mutat Res.*, 377: 211-215.
- Klotz J H, Greenberg L, Amrhein C and Rust M K** (2000) Toxicity and repellency of borate sucrose water baits to Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 93: 1256-1258.
- Klotz J H, Vail K M and Williams D F** (1997a) Liquid boric acid baits for control of structural infestations of Pharaoh ants (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 90: 523-526.
- Klotz J H, Vail K M and Williams D F** (1997b) Toxicity of a boric acid-sucrose water bait to *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.*, 90: 488-491.
- Kocatürk P A** (1998) Rat Testis Dokusu Üzerine Akut Borik Asit Uygulamasının Fiziopatolojik ve Histopatolojik Etkileri. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.
- 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. *OMÜ Zir. Fak. Derg.*, 21: 204-212.
- Kono Y and Shishido T** (1992) Distribution of Glutathione S-Transferase Activity in Insect Tissues. *Appl. Entomol. Zool.*, 27: 391-397.
- Kopani M, Celec P, Danisovic L, Michalka P and Biró C** (2006) Oxidative stres and electron spin resonance. *Clin. Chim. Acta*, 364: 61-66.
- Kowaltowski A J and Vercesi A E** (1999). Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, 26: 463-471.
- Koyu A, Özgüner F, Çalışkan S and Karaca H** (2005) Preventive Effect of Vitamin E on Iron-Induced Oxidative Damage in Rabbit. *SAGE Journals*, 21: 239.
- Krishnan N and Kodrík 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, Kodrík D, Kludkiewicz B and Sehnaľ 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.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ku W W, Chapin R E, Moseman R F, Brink R E, Pierce K D and Adams K Y** (1991) Tissue disposition of boron in male Fischer rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 111 (1): 145-151.
- Ku W W, Chapin R E, Wine R N and Gladen B C** (1993a) Testicular toxicity of boric acid (BA): Relationship of dose to lesion development and recovery in the F344 rat. *Reprod. Toxicol.*, 7: 305-319.
- Ku W W, Shih L M and Chapin R E** (1993) The effects of boric acid (BA) on testicular cells in culture. *Reprod. Toxicol.*, 7: 321-331.
- Kumar S, Christophides G K, Cantera R, Charles B, Han Y S, Meister S, Dimopoulos G, Kafatos F C and Barillas-Mury C** (2003) The role of reactive oxygen species on Plasmodium melanotic encapsulation in *Anopheles gambiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 100: 14139-14144.
- Kurtoğlu F, Kurtoğlu V, Çelik I, Keçeci T and Nizamlioğlu M** (2005) Effects of dietary boron supplementation on some biochemical parameters, peripheral blood lymphocytes, splenic plasma cells and bone characteristics of broiler chicks given diets with adequate or inadequate cholecalciferol (vitamin D3) content. *Br. Poult. Sci.*, 46 (1): 87-96.
- Lagadic L, Cuany A, Bergé J-B and Echaubard M** (1993) Purification and Partial Characterization of Glutathione S-transferase from insecticide-resistant and lindane-induced susceptible *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae. *Insect Biochem. Molec.*, 23 (4): 467-474.
- Laganiere S and Yu B P** (1993) Modulation of membrane phospholipid fatty acid composition by age and food restriction. *Gerontology*, 39: 7-18.
- Lambertucci R H, Levada-Pires A C, Rossonil V, Curi R and Pithon-Curi T C** (2007) Effects of Aerobic Exercise Training on Antioxidant Enzyme Activities and mRNA Levels in Soleus Muscle from Young and Aged Rats. *Mech. Ageing Dev.*, 128: 267-275.
- Landenberger A, Kabilb H, Harshmanb L G and Zemplenia J** (2004) Biotin deficiency decreases life span and fertility but increases stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *J. Nutr. Biochem.*, 15: 591-600.
- Lang J T and Treece R E** (1972) Boric acid effects on face fly fecundity. *J. Econ. Entomol.*, 65: 740-741.
- Lanoue L, Strong P L and Keen C L** (1999) Adverse effects of a low boron environment on the preimplantation development of Mouse embryos in vitro. *J. Trace Elem. Exp. Med.*, 12: 235-250.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Lanoue 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.
- Laposata M M and Dunson W A** (1998). Effects of boron and nitrate on hatching success of amphibian eggs. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 35 (4): 615-619.
- Le Bourg E, Valenti P, Lucchetta P and Payre** (2001) Effects of mild heat shock at young age on ageing and longevity in *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology*, 2: 155-164.
- Le Bourg E, Minois N, Bullens P and Baret P** (2000) A mild stress due to hypergravity exposure at young age increases longevity in *Drosophila melanogaster* males. *Biogerontology*, 1 (2): 145-155.
- Lee C K, Weindruch R and Prolla T A** (2000) Gene expression profile of the aging brain in mice. *Nature Genet.*, 25: 294-297.
- Lee C K, Klopp R G, Weindruch R and Prolla T A** (1999) Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction. *Science*, 285: 1390-1393.
- Lee C Y, Yap H H and Chong N L** (1998) Sublethal effects of deltamethrin and propoxur on longevity and reproduction of German cockroaches, *Blattella germanica*. *Entomol. Exp. Appl.*, 89: 137-145.
- Leeuwenburgh C, Hansen P A, Holloszy J O and Heinecke J W** (1999) Oxidized amino acids in the urine of aging rats: Potential markers for assessing oxidative stress in vivo. *Am. J. Physiol.*, 276: 128-135.
- 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. *Method Enzymol.*, 233: 346-357.
- Li X, Liu Y, Song L and Liu J** (2003) Responses of Antioxidant Systems in the Hepatocytes of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) to the of Microcystin-LR. *Toxicon*, 42: 85-89.
- Li Y M, Chan H Y E, Huang Y and Chen Z Y** (2007) Green tea catechins upregulate superoxide dismutase and catalase in fruit flies. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51 (5): 546-554.
- Lin Y J, Seroude L, and Benzer S** (1998) Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant methuselah. *Science*, 282: 943-946.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Linder R E, Strader L F and Rehnberg G L** (1990) Effect of acute exposure to boric acid on the male reproductive system of the rat. *J. Toxicol. Environ. Health.*, 31: 133-146.
- Linnane A W, Kios M and Vitetta L** (2007) The essential requirement for superoxide radical and nitric oxide formation for normal physiological function and healthy aging. *Mitochondrion*, 7: 1-5.
- 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.
- Liu X L and Li L M** (1990) Morphological observation of effect of bee pollen on intercellular lipofuscin in NIH mice. *J. Chin. Mater. Med. Zhongguo Zhongyao Zazhi*, 15: 561-563.
- Liu J, Wang X, Shigenaga M K, Yeo HC and Mori A** (1996) Immobilization stress causes oxidative damage to lipid, protein, and DNA in the brain of the rats. *FASEB J.*, 10: 1532-1538.
- Loewengart G** (2001) Toxicity of boron to rainbow trout: a weight-of-the-evidence assessment. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20 (4): 796-803.
- Lowry O H, Rosebroug N I, Farr A L and Randall R J** (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 19: 265.
- Lu S C** (1999) Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. *FASEB Journal*, 13: 1169-1183.
- Luckhart S and Rosenberg R** (1999) Gene structure and polymorphism. Of an invertebrate nitric oxide synthase gene. *Gene.*, 232: 25-34.
- Luckhart S, Vodovotz Y, Cui L W and Rosenberg R** (1998) The mosquito *Anopheles stephensi* limits malaria parasite development with inducible synthesis of nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95 (10): 5700-5705.
- Mackay W J and Bewley G C** (1989) The genetics of catalase in *Drosophila melanogaster*: isolation and characterization of acatalasemic mutants. *Genetics*, 122: 643-652.
- Mair W, Piper M D and Partridge L** (2005) Calories do not explain extension of life span by dietary restriction in *Drosophila*. *PLoS Biol.* 3: e 223.
- Maistrello L, Henderson G and Laine R A** (2002) Comparative effects of vetiver oil, nootkatone and disodium octaborate tetrahydrate on *Coptotermes formosanus* and its symbiotic fauna. *Pest. Manag. Sci.*, 59: 58-68.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Manno M, Bertazon 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.
- Mano T, Sinohara R, Sawai Y, Oda N, Nishida Y, Mokuno T, Kotake M, Hamada M, Masanuga R, Nakai A and Nagasaka A** (1995) Effects of thyroid hormone on coenzyme Q and other free radical scavengers in rat heart muscle. *J. Endocrinol.*, 145: 131-136.
- 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.
- Mathews P L and Stephen F M** (1997) Effect of artificial diet on longevity of adult parasitoids of *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Scolytidae). *Environ. Entomol.*, 26: 961-965.
- Mathews 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 effects of temperature and of egg-laying on the longevity of *Drosophila subobscura*. *J. Exp. Biol.*, 35: 832-842.
- McArthur M C and Sohal R S** (1982) Relationship between metabolic rate, aging, lipid peroxidation, and fluorescent age pigment in milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera). *J. Gerontol.*, 37 (3): 268-274.
- McCord J M and Fridovich I** (1969) Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemoglobin. *J. Biol. Chem.*, 244: 6049-6055.
- McGregor D B, Brown A, Cattanaeh P, Edwards I, McBride D, Riach C and Caspary W J** (1988) Response of the L5178Y tk+/tk- mouse lymphoma cell forward mutation assay: III. 72 coded chemicals. *Environ. Mol. Mutagen.*, 12: 85-154.
- McMillan I, Fitz-Earl M and Rabson D S** (1970) Quantitative genetics of fertility I. Life time egg production of *Drosophila melanogaster*. *Theor. Genetics*, 65: 349-53.
- Melov S, Ravenscroft J, Malik S, Gill M S, Walker D W, Clayton P E, Wallace D C, Malfroy B, Doctrow S R and Lithgow G J** (2000) Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science*, 289: 1567-1569.
- Midgley A R and Dunklee D E** (1943) Using borax and boric acid to control house flies in manure. *Vermont. Agric. Expr. Sta. Pamphlet*, 5: 1-7.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Min K J and Tatar M** (2006) Restriction of amino acids extends lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Mech. Ageing Dev.*, 127: 643-646.
- Missirlis F** (2001) Functional characterization of novel thioredoxin reductase and thioredoxin peroxidase in *Drosophila*. PhD Thesis, University Guelph, p. 7
- 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.
- Miquel J, Oro J, Bensch K G and Johnson J E** (1975) Lipofuscin: fine-structural and biochemical studies. In: *Free Radicals in Biology* (Pryor, W. A., Å©d.), pp. 133-182, Academic Press, New York.
- Mockett R J, Bayne A E V and Kwong L K** (2003) Ectopic expression of catalase in *Drosophila* mitochondria increases stress resistance but not longevity. *Free Radical Bio. Med.*, 34 (2): 207-217.
- Mockett R J, Orr W J, Rahmandar J J, Benes J J, Radyuk S N, Klichko V I and Sohal R S** (1999) Overexpression of Mn-containing superoxide dismutase in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 371: 260-269.
- Mockette R J, Orr W C, Rajmandar J J, Sohal B H and Sohal R S** (2001) Antioxidant status and stress resistance in long- and short- lived lines of *Drosophila melanogaster*. *Exp. Gerontol.*, 36: 441-463.
- Moore J A** (1997) An assessment of boric acid and borax using the IEHR evaluative process for assessing human developmental and reproductive toxicity of agents. Expert Scientific Committee. *Reprod. Toxicol.*, 11: 123-160.
- Moore M N, Viarengo A, Donkin P and Hawkins A J S** (2007) Autophagic and lysosomal reactions to stress in the hepatopancreas of blue mussels. *Aquat. Toxicol.*, 84, 80-91.
- Moorman W J, Ahlers H W, Chapin R E, Daston G P, Foster P M, Kavlock R J, Morawetz J S, Schnorr T M and Schrader S M** (2000) Prioritization of NTP reproductive toxicants for field studies. *Reprod. Toxicol.*, 14 (4): 293-301.
- Moradas-Ferreira P, Costa V, Piper P and Mager W** (1996) The molecular defences against reactive oxygen species in yeast. *Mol. Microbiol.*, 19: 651-658.
- Morrow G and Tanguay R M** (2003) Developmental expression of heat shock proteins and aging in *Drosophila*. *Seminars Cell Dev. Biol.*, 14: 291-299.
- Morrow G, Battistini S, Zhang P and Tanguay R M** (2004) Decreased lifespan in absence of expression of the mitochondrial small heat shock protein Hsp22 in *Drosophila*. *J. Biol. Chem.*, 279 : 43382-43385.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Moskovitz J, Berlett B S, Poston J M and Stadtman E R** (1997) The yeast peptidomethionine sulfoxide reductase functions as an antioxidant in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 94: 9585-9589.
- Mullens B A and Rodriguez J L** (1992) Effects of disodium octaborate tetrahydrate on survival, behavior, and egg viability of adult muscoid flies (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.*, 85: 137-143.
- Murray W** (1995) Lessons from 35 years of private preserve management in the USA: the preserve system of The Nature Conservancy. In: McNeely, J. (Ed.), *Expanding Partnerships in Conservation*. Island Press, Washington DC, pp. 197-205.
- Naghii M R and Saman S** (1993) The role of boron in nutrition and metabolism. *Prog. Food. Nutr. Sci.*, 17: 331-349.
- Naghii M R and Saman S** (1996) The effect of boron supplementation on the distribution of boron in selected tissues and on testosterone synthesis in rats. *J. Nutr. Biochem.*, 7: 507-512.
- Nakano Y, Fujitani K, Kurihara J, Ragan J, Usui-Aoki K, Shimoda L, Lukacsovich T, Suzuki K, Sezaki M, Sano Y, Ueda R, Awano W, Kaneda M, Umeda M and Yamamoto D** (2001) Mutations in the novel membrane protein spinster interfere with programmed cell death and cause neural degeneration in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Cell. Biol.*, 21 (11): 3775-3788.
- Nappi A J and Vass E** (2001) Cytotoxic reactions associated with insect immunity. In: Beck, G., Sugumaran, M., Cooper, E.L. (Eds.), *Phylogenetic Perspectives on the Vertebrate Immune System*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, 329-348.
- National Toxicology Program** (1987) Toxicology and carcinogenesis studies of Boric Acid. *Natl. Toxicol. Program Tech. Rep. Ser.*, 324: 1-126.
- Nicolosi R J, Baird M B, Massie H R and Samis H V** (2003) Senescence in *Drosophila*-II. Renewal of catalase activity in flies of different ages. *Exp. Gerontol.*, 8 (2): 101-108.
- Nielsen F H** (1988). *The ultratrace elements*. In: Smith KT (ed) Trace minerals in foods. Marcel Dekker, New York, 357-428.
- Nielsen F H** (2004) Dietary fat composition modifies the effect of boron on bone characteristics and plasma lipids in rats. *Bio-Factors*, 20: 161-171.
- Nielsen S A** (2008) Is boron nutritionally relevant. *Nutr. Rev.*, 66: 183-191.
- Nielsen S A and Toft S** (2000) Responses of a detoxification enzyme to diet quality in the wolf spider, *Pardosa prativaga*, European Arachnology 2000 (S. Toft & N. Scharff eds.), Aarhus University Press, Aarhus, 65-70 pp.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Nohl H and Hegner D** (1978) Do mitochondria produce oxygen free radicals in vivo? *Eur. J. Biochem.*, 82: 563-567.
- O'Neill M A, Warrenfeltz D W, Kates K, Pellerin P, Doco T, Darvill A G and Albersheim P** (1996) Rhamnogalacturonan-II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cell, forms a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester. *J. Biol. Chem.*, 271: 22923-22930.
- Ommaty R** (2000) *Vademacum modern handbook of medical drugs*. 18th edn. Hacettepe, Turkey.
- Orr W C and Sohal R S** (1992) The effects of catalase gene overexpression on life span and resistance to oxidative stress in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 297: 35-41.
- Orr W C and Sohal R S** (1993) Effects of Cu-Zn superoxide dismutase overexpression on life span and resistance to oxidative stress in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 301: 34-40.
- Orr W C and Sohal R S** (1994) Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science*, 263: 1128-1130.
- Orr W C, Arnold L A and Sohal R S** (1992) Relationship between catalase activity, life span and some parameters associated with antioxidant defenses in *Drosophila melanogaster*. *Mech. Ageing Dev.*, 63: 287-296.
- Ostrovskij N I** (1955) Toxic effect on honey bees by contact with herbicides and foliar fertilizer. *Dokl Vses Akad Skh Nauk im V I Lenina.*, 20: 32-34.
- Özata L** (2006) Bazı tekstil boyalarının *Drosophila melanogaster* üzerine toksik ve genotoksik etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Malatya, 1-87 s.
- Özden S** (2006) Bazı Pestisitlerin Oksidatif Stres Oluşturma Potansiyellerinin ve Antioksidan Sistemler Üzerine Etkilerinin Sıçanlarda Araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji A.B.D., İstanbul.
- Özkurt Ş** (2000) Çatören ve Kunduzlar Baraj Göletlerindeki Sazanların Dokularında Bor Birikimi. *Turk. J. Biol. Tübitak*, 24: 663-676.
- Pamplona R, Porterao-Otin M, Riba D, Ruiz C, Prat J, Bellmunt M J and Barja G** (1998) Mitochondrial membrane peroxidizability index is inversely related to maximum life span in mammals. *J. Lipid Res.*, 39: 1189-1994.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Pamplona R, Porterao-Otin M, Ruiz C, Gredilla R, Herrero A and Barja G (1999)** Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals. *Mech. Ageing Dev.*, 112: 169-183.
- Pandey P, McGowen R M, Vogel E W and Butterworth F M (1995)** “Genotoxicity of polychlorinated biphenyl (PCB) and polynuclear aromatic hydrocarbon (PAH) mixtures in the white/white+ eye mosaic assay” in *Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change*. Plenum Press, New York, 184 p.
- Park M, Li Q, Shcheynikov N, Zeng W and Muallern S (2004)** NaBC1 is a ubiquitous electrogenic Na⁺-coupled borate transporter essential for cellular boron homeostasis and cell growth and proliferation. *Mol. Cell*, 16: 331-341.
- Parkes T L, Elia A J, Dickinson D, Hilliker A J, Phillips J P and Boulianne G L (1998 a)** Extension of *Drosophila* lifespan by overexpression of human SOD1 in motoneurons. *Nat. Genet.*, 19: 171-174.
- Parkes T L, Kirby K, Phillips J P and Hilliker A J (1998 b)** Transgenic analysis of the cSOD-null phenotypic syndrome in *Drosophila*. *Genome*, 41: 642-651.
- Partridge L, Hoffman A and Jones S (1987)** Male size and mating success in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila pseudoobscura* under field conditions. *Anim. Behav.*, 35: 468-476.
- Partridge L (2008)** Some highlights of research on aging with invertebrates. *Aging Cell*, 7: 605-608.
- 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.
- Phillips J P, Campbell S D, Michaud D, Charbonneau M and Hilliker A J (1989)** Null mutation of copper/zinc superoxide dismutase in *Drosophila* confers hypersensitivity to paraquat and reduced longevity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86: 2761-2765.
- Pimenta V M S D, Nepomuceno J C and Pavanin L A (2008)** Genotoxicity of water from the Paraguay River near Caceres-MT, Brazil in the *Drosophila* wing spot test. *Environ. Mol. Mutagen.*, 49: 458-466.
- Potter C J, Turenchalk G S and Xu T (2000)** *Drosophila*’in cancer research. *TIG.*, 16 (1): 33-39.
- Price C J, Strong P L Murray F J and Goldberg M M (1997)** Blood boron concentrations in pregnant rats fed boric acid through gestation. *Reprod. Toxicol.*, 11 (6): 833-842.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Price C, Strong P, Marr M, Myers C and Murray F** (1996) Developmental toxicity NOAEL and postnatal recovery in rats fed boric during gestation. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 32: 179-93.
- Rajurkar R B, Khan Z H and Gujar G T** (2003) Studies on levels of glutathione-S-transferase, its isolation and purification from *Helicoverpa armigera*. *Curr. Sci.*, 85: 1355-1360.
- Rakotondravelo M L, Anderson T D, Charlton R E and Zhu K Y** (2006) Sublethal Effects of Three Pesticides on Activities of Selected Target and Detoxification Enzymes in the Aquatic Midge, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Arch. Environ. Con. Tox.*, 51: 360-366.
- Reveillaud I, Phillips J, Duyf B, Hilliker A, Kongpachith A and Fleming J E** (1994) Phenotypic rescue by a bovine transgene in a Cu/Zn superoxide dismutase-null mutant of *Drosophila melanogaster*. *Mol. Cell Biol.*, 14: 1302–1307.
- Reznick A Z and Packer L** (1994) Oxidative damage to proteins: Spectrophotometric method for carbonyl assay. *Method. Enzymol.*, 233:357-363.
- Ridgway N M and Mahr D L** (1990) Reproduction, development, and longevity of *Pholetesor ornigis* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of spotted tentiform leafminer (Lepidoptera: Gracillaridae), in the laboratory. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 83: 790-794.
- Ringdahl E N** (2006) Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Mo. Med.*, 103 (2): 165-168.
- Ristow M and Schmeisser S** (2011) Extending life span by increasing oxidative stres. *Free Radical Bio. Med.*, 51: 327-336.
- Roberts D B** (1986) *In Drosophila: a practical approach*. Eds. D. B. Roberts, pp. 19. IRL Press, Oxford.
- Rogina B and Helfand S L** (1996) Timing of expression of a gene in the adult *Drosophila* is regulated by mechanisms independent of temperature and metabolic rate. *Genetics*, 143: 1643-1651.
- Rogina B and Helfand S L** (2000) Cu, Zn superoxide dismutase deficiency accelerates the time course of an age-related marker in *Drosophila melanogaster*. *Biogerontology*, 1: 163-169.
- Rogina B, Reenan R A, Nilsen S P and Helfand S L** (2000) Extended life-span conferred by cotransporter gene mutations in *Drosophila*. *Biogerontology Science*, 290: 2137-2140.
- Rossi A F, Miles R D, Damron B L and Flunker L K** (1993) Effects of dietary boron supplementation on broilers. *Poultry. Sci.*, 72 (11): 2124-2130.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Rowe R I, Bouzan C, Nabili S and Eckart C D** (1998) The response of trout and zebrafish embryos to low and high boron concentrations is u-shaped. *Biol. Trace. Element Res.*, 66: 261-270.
- Samis H V, Erk F C and Baird M B** (1971) Senescence in *Drosophila*. *Exp. Gerontol.*, 6: 9-18.
- Samman S, Naghii M R, Lyons Wall P M and Verus A P** (1998) The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. *Biol. Trace Elem. Res.*, 66 (1-3): 227-235.
- Sander J E, Dufour L, Wyatt R D, Bush P B and Page R K** (1991) Acute toxicity of boric acid and boron tissue residues after chronic exposure in broiler chickens. *Avian Dis.*, 35 (4): 745-749.
- Schriner S E, Linford N J, Martin G M, Treuting P, Ogburn C E, Emond M, Coşkun P E, Ladiges W, Wolf N, Van Remmen H, Wallace D C and Rabinovitch P S** (2005) Extension of Murine Life Span by Overexpression of Catalase Targeted to Mitochondria. *Science.*, 308: 1909-1911.
- Scott J G, Cochran D G and Siegfried B D** (1990) Insecticide toxicity, synergism and resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, 83: 1698-1703.
- Seidegard J and Ekström G** (1997) The Role of human glutathione-S-transferases and epoxide hydrolases in the metabolism of xenobiotics. *Environ. Health Persp.*, 105: 791-9.
- Serbes D** (2011) Piretroid insektisit cyfluthrin, imidacloprid ve karışım uygulamalarının *Cyprinus carpio*'da beyin ve karaciğer dokularında glutatyon, malondialdehit ve protein karbonil düzeylerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, 1-75 s.
- Seto N O L, Hayashi S and Tener G M** (1990) Overexpression of Cu-Zn Superoxide dismutase in *Drosophila* does not affect life-span. *Nat. Aca. Sciences*, 87: 4270-4274.
- Settepani J A, Crystal M M and Borkovec A B** (1969) Boron chemosterilants against screw-worm flies: structure-activity relationship. *J. Econ. Entomol.*, 62: 375-383.
- Sevgiler Y** (2007) *Oreochromis niloticus*'da karaciğer ve böbrek dokularında Fenthionun NAC ve BSO modülatörlüğünde glutatyon metabolizmasına oksidatif etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Sheng M H, Taper L J, Veit H, Thomas E A, Ritchey S J and Lau K H** (2001). Dietary boron supplementation enhances the effects of estrogen on bone mineral balance in ovariectomized rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 81 (1): 29-45.
- Sherratt P J and Hayes J D** (2002) Glutathione *S*-transferases (C. Ionnides, Editor), *Enzyme Systems That Metabolise Drugs and Other Xenobiotics*. John Wiley and Sons, Ltd., West Sussex, UK, 319-352 pp.
- Shi H, Sui Y, Wang X, Luo Y and Ji L** (2005) Hydroxyl radical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus*. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 140 (1): 115-21.
- Shippen-Lentz D and Blackburn E H** (1990) Functional evidence for an RNA template in telomerase. *Science*, 247: 546-552.
- Sies H** (1991) Role of Reactive Oxygen Species in Biological Processes. *Klin Wochenscht.*, 69: 965-968.
- Singh K K** (1998) Mitochondrial DNA Mutations in Aging, Disease and Cancer. Springer. New York, NY.
- Singh P and House H L** (1970a) Antimicrobial agents: their detrimental effects on size of an insect. *Agria Affinis. Can. Entomol.*, 102: 1340-1344.
- Singh P and House H L** (1970b) Antimicrobials “safe” levels in a synthetic diet of an insect. *Agria Affinis. J. Insect Physiol.*, 16: 1769-1782.
- Sinnet D, Krajinovic M and Labuda D** (2000) Genetic Susceptibility to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Leuk. Lym.*, 38: 447-62.
- Slansky F J and Scriber J M** (1985) Food consumption and utilization. *Compr. Insect Phys., Biochem. Pharmacol. IV.*, eds. Kerkut G A and Gilbert L I, Pergamon, Press, Oxford, pp. 87-163.
- Snedecor G W and Cochran W G** (1967) Statistical methods 6th ed. Ames. Iowa, USA, Iowa State Univ. Press.
- Soderlund D M** (1997) *Molecular mechanisms of insecticide resistance*. In: Molecular Mechanisms of Resistance to Agrochemicals (ed. Sjut, V.). Springer, 21-56, Germany.
- Sohal R S** (1991) Hydrogen peroxide production by mitochondria may be a biomarker of aging. *Mech. Ageing Dev.*, 60: 189-198.
- Sohal R S and Donato H J** (1979) Effect of experimental prolongation of life span on lipofuscin content and lysosomal enzyme activity in the brain of the housefly, *Musca domestica*. *J. Gerontol.*, 34 (4): 489-96.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Sohal R S and Dubey A** (1994) Mitochondrial oxidative damage, hydrogen peroxide release, and aging. *Free Radical Biol. Med.*, 16: 621-626.
- Sohal R S and Weindruch R** (1996) Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science*, 273: 59-63.
- Sohal R S, Agarwal S, Candas M, Forster M J and Lal H** (1994) Effect of age and caloric restriction of DNA oxidative damage in different tissues of C57BL/6 mice. *Mech. Ageing Dev.*, 76: 215-224.
- Sohal R S, Agarwal S, Sohal B H** (1995) Oxidative stress and aging in the Mongolian Gerbil. *Mech. Ageing Dev.*, 81: 15-25.
- Sohal R S, Allen R G, Farmer K J, Newton R K and Toy P L** (1985) Effects of exogenous antioxidants on the levels of endogenous antioxidants, lipid-soluble fluorescent material and life span in the housefly, *Musca domestica*. *Mech. Ageing Dev.*, 31 (3): 329-336.
- Sohal R S, Arnold L A and Sohal B H** (1990) Age-related changes in antioxidant enzymes and prooxidant generation in tissues of the rat with special reference to parameters in two insect species. *Free Radical Biol. Med.*, 9: 495-500.
- Spiteller G** (2001) Peroxidation of linoleic acid and its relation to aging and age dependent diseases. *Mech. Ageing Dev.*, 122: 617-657.
- SPSS Inc** (1997) User's manual, version 10. SPSS Inc., Chicago, IL.
- Stadtman E R** (1992) Protein oxidation and aging. *Science*, 257: 1220-1224.
- Stadtman E R** (2001) Protein oxidation in aging and age-related diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 928: 22-38.
- Staveley B E, Phillips J P and Hilliker A J** (1990) Phenotypic consequences of copper-zinc superoxide dismutase overexpression in *Drosophila melanogaster*. *Genome*, 33: 867-872.
- Stefano G B and Ottaviani E** (2002) The biochemical substrate of nitric oxide signaling is present in primitive non-cognitive organisms. *Brain Res.*, 924: 82-89.
- Sumida S, Da Silva-Zacarin E C M, Decio P, Malaspina O, Bueno F C and Bueno O C** (2010) Toxicological and Histopathological Effects of Boric Acid on *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) Workers. *J. Econ. Entomol.*, 103 (3): 676-690.
- Şaylı B S, Tüccar E and Elhan A H** (1998) An assessment of fertility in Boron-exposed Turkish subpopulations. *Reprod. Toxicol.*, 12: 297-304.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Şener G, Sehirli Ö, Tozan A, Veliöglu-Övunç A, Gedik N and Omurtag G Z (2007)** *Ginkgo biloba* extract protects against mercury(II)-induced oxidative tissue damage in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 45 (4): 543-550.
- Takao K, Okada M O, Ikehata M and Nakagawa M (1997)** Increase in the mitotic recombination frequency in *Drosophila melanogaster* by magnetic field exposure and its suppression by vitamin E supplement. *Mutat. Res.*, 373: 55-60.
- Takenaka Y, Miki M, Yasuda H and Mino M (1991)** The effect of a-tocopherol as an antioxidant on the oxidation of membrane protein thiols induced by free radicals generated in different sites. *Arch. Biochem. Biophys.*, 285: 344-350.
- Taub J, Lau J F, Ma C, Hahn J H, Hoque R, Rothblatt J and Chalfie M (1999)** A cytosolic catalase is needed to extend adult lifespan in *C. elegans* *darf-C* and *clk-1* mutants. *Nature*, 399: 162-166.
- Tepe P, Berk Ş, Özbilum N ve Çetinkaya S (2012)** Moleküler Biyoloji ve Genetiğe Giriş I ve II Laboratuvar Föyü. Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Sivas.
- Timmermann S E, Zangerl A R and Berenbaum M R (1999)** Ascorbic and uric acid responses to xanthotoxin ingestion in a generalist and a specialist caterpillar. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 42: 26-36.
- Toba G and Aigaki T (2000)** Disruption of the microsomal Glutathione S-transferase-like gene reduces life span of *Drosophila melanogaster*. *Gene*, 253: 179-187.
- Türkez H (2007)** Bazı Bor Bileşiklerinin İn Vitro Şartlarda Periferik İnsan Kanı Üzerine Genetik Ve Biyokimyasal Etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, 1-193 s.
- Türkiye Tarım Bakanlığı (2004)** Türk gıda katkı Kodeksi, renklendiriciler ve tatlandırıcılar dışındaki gıda katkı maddeleri tebliği, 2. değişiklik 13.01.2005-25699 tebliğ no 49.
- 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: 856-862.
- USEPA (1994)** Integrated risk informationsystem- on line. Cincinnati, Ohio, US Environmental Protection Agency, Environmental Criteria and Assessment Office.
- Uysal H ve Şişman T (2003)** Genetik Laboratuvar Kılavuzu. Atatürk Üniv. Fen Fak. Biyoloji Bölümü Yayını, Erzurum.
- Uysal H, Altun D ve Aslan A (2009)** *Drosophila melanogaster*'de *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. likeninin ömür uzunluğu üzerine etkisi. *TUBAV Bilim Dergisi*, 2: 271-276.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Ünlü E S and Koç A** (2007) Effects of Deleting Mitochondrial Antioxidant Genes on Life Span. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1100: 505-509
- Ünlü H and Bozcuk A N** (1979) Genetics of longevity in *Drosophila*. II. The effects of three autosomal genes on the life span of *Drosophila*. *Hac. Bul. Nat. Sci. Eng.*, 8: 13-19.
- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M and Scoullou M** (2006) Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotox. Environ. Safe.*, 64: 178-189.
- Valencia R, Mason J M and Zimmering S** (1989) Chemical mutagenesis testing in *Drosophila*. VI. Interlaboratory comparison of mutagenicity tests after treatment of larvae. *Environ. Mol. Mutagen.*, 14: 238-244.
- Vasseur P and Leguille C** (2004) Defense systems of benthic invertebrates in response to environmental stressors. *Environ. Toxicol.*, 19: 433-436.
- Vogt G** (2012) Ageing and longevity in the Decapoda (Crustacea): A review *Zoologischer Anzeiger. J. Comp. Zoology*, 251: 1-25.
- Vontas J G, Enayati A A, Small G J and Hemingway J** (2000) A Simple Biochemical Assay for Glutathione S-Transferase Activity and Its Possible Field Application for Screening Glutathione S-Transferase- Based Insecticide Resistance. *Pestic. Biochem. Phys.*, 68: 184-192.
- 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.
- Wadhwa R and Sharma S P** (1987) Studies on catalase in ageing *Zaprionus paravittiger* (Diptera) with special reference to an antioxidant feeding. *Mech. Ageing Dev.*, 40: 139-147.
- Wanagat J, Cao Z, Pathare P and Aiken J M** (2001) Mitochondrial DNA deletion mutations colocalize with segmental electron transport system abnormalities, muscle fiber atrophy, fiber splitting, and oxidative damage in sarcopenia. *FASEB J.*, 15: 322-332.
- Wang Q, Shi G, Song D, Rogers D J, Davis L K and Chen X** (2002) Development, survival, body weight, longevity, and reproductive potential of *Oemona hirta* (Coleoptera: Cerambycidae) under different rearing conditions. *J. Econ. Entomol.*, 95: 563-569.
- Wang Y, Oberley L W and Murhammer D W** (2001). Evidence of oxidative stress following the viral infection of two lepidopteran insect cell lines. *Free Radic. Biol. Med.*, 31: 1448-1455.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Warrington K** (1923) The effect of boric acid and borax on the broad bean and certain other plants. *Ann. Bot.*, 37: 629-672
- Weir R J J and Fisher R S** (1972) Toxicologic studies on borax and boric acid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 23: 351-364.
- Weirich G F, Collins A M and Williams V P** (2002) Antioxidant enzymes in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie.*, 33: 3-14.
- Weiske J and Wiesner A** (1999) Stimulation of NO synthase activity in the immune-competent lepidopteran *Estigmene acraea* hemocyte line Nitric Oxide. *Biol. Chem.*, 3: 123-131.
- Wheeler M R** (1981) *The Drosophilidae: A Taxonomic overview. In: The Genetics and Biology of Drosophila.* M. Ashburner, H. L. Carsen, J. Thompson, J. N. Academic Press INC. Ltd. London, 3a: 1-84.
- Whitten M M A, Mello C B, Gomes S A O, Nigam Y, Azambuja P and Garcia E S** (2001) Role of superoxide and reactive nitrogen intermediates in *Rhodnius prolixus* (Reduviidae)/ *Trypanosoma rangeli* interactions. *Exp. Parasitol.*, 98: 44-57.
- Wilhelm Filho D, Torres M A, Tribess T B, Pedrosa R C and Soares C H L** (2001) Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the ciclid fish acara (*Geophagus brasiliensis*). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 34 (6): 719-726.
- Woodruff R C, Mason J M, Valencia R and Zimmerng S** (1985) Chemical mutagenesis testing in *Drosophila*. V. Results of 53 coded compounds tested fort he National Toxicology Program. *Environ. Mutag.*, 7: 77-702.
- World Health Organisation (WHO)** (1998) International Programme On Chemical Safety (I.P.C.S), Environmental Health Criteria, Boron, 204.
- Wu G and Miyata T** (2005) Susceptibilities to methamidophos and enzymatic characteristics in 18 species of pest insects and their natural enemies in crucifer vegetable crops. *Pestic. Biochem. Phys.*, 82: 79-93.
- Xue R D and Barnard D R** (2003) Boric acid bait kills adult mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Econ. Entomol.*, 96: 1559-1562.
- 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. *J. Am. Mosquito Contr.*, 22: 497-500.
- Yan L J, Levine R L and Sohal R S** (1997) Oxidative damage during aging targets mitochondrial aconitase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 94: 11168-11172.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Yang L K, Nigg H N, Fraser S, Burns E and Simpson S E** (2000 a) Midgut proteinase types and sodium tetraborate effects on midgut proteinase activities of female *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 93: 602-609.
- Yang L K, Nigg H N, Simpson S E, Ramos L E, Cuyler N W, Barnes J I and Gren C G** (2000 b). Sodium tetraborate effects on mortality and reproduction of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.*, 93: 1485-1492.
- Yang X, Margolies D C, Zhu K Y and Buschman L L** (2001) Host Plant-Induced Changes in Detoxification Enzymes and Susceptibility to Pesticides in the Twospotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.*, 94 (2): 381-387.
- Yaren B** (2011) Borik asit uygulanan ratlarda diyetteki borun öğrenme ve davranış üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dahili Tıp Bilimleri Farmakoloji Anabilim Dalı, Van, 1-57 s.
- Yargıçoğlu P, Şahin E, Gümüşlü S and Ağar A** (2007) The Effect of Sulfur Dioxide Inhalation on Active Learning Antioxidant Status and Lipid Peroxidation During Aging. *Neurotoxicol. Teratol.*, 29: 211-218.
- Yeşilada E** (2001) Genotoxicity Testing of some Metals in the *Drosophila* Wing Somatic Mutation and Recombination Test. *B. Environ. Contam. Tox.*, 66: 464-469.
- Yeşilada E and Bozcuk A N** (1995) The effects of ABA and kinetin on the fecundity of *Drosophila melanogaster*. *Tr. J. Biol.*, 19: 37-44.
- Yılmaz A** (2002). Her derde deva hazinemiz bor. *Tübitak Bilim ve Teknik Dergisi*, 38-48.
- Yu S J** (1989) Purification and characterization of glutathione transferases from five phytophagous lepidoptera. *Pestic. Biochem. Phys.*, 35: 97-105.
- 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** (2004) Induction of detoxification enzymes by triazine herbicides in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 80: 113-122.
- Yüzüak H** (2008) Yaşlanma Sürecinde Pankreas Dokusunda NOX, MDA, GSH Düzeyleri Ve Melatoninin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fiziyojji Anabilim Dalı, Ankara, 1-95 s.
- Zapata R, Specky O, Grenier S, Febvay G, Pageaux J F, Delobel B and Castane C** (2005) Carcass analysis to improve a meat, based diet for the artificial rearing of the predatory mirid bug *Dicyphus tamaninii*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 60: 84-92.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Zhang B M, Xue R D, Zeng F, Xu R M and Lu B L** (1990) Effect of low dosage of alphacypermethrin on larval development and oviposition of *Culex pipiens pallens*, *Chin. J. Parasit Dis. Control.*, 3: 286-289.
- 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.*, 54: 131-140.
- Zielinski S and Pörtner H O** (2000) Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods: a function of metabolic rate or age? *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 125 (2): 147-60.
- 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

Eda GÜNEŞ 1983 yılında Mersin’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İstanbul ve Konya’da tamamladı. 2005 yılında Selçuk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun olduktan sonra 2008 yılında Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Programından mezun oldu. 2008–2009 bahar döneminde girdiği Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Doktora Programını sürdürmektedir. Bülent Ecevit Üniversitesi Ahmet Erdoğan Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Hizmetler ve Teknikleri Bölümü Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programında Öğretim Görevlisi (2008-) olarak görev yapmaktadır.

ADRES BİLGİLERİ:

Adres : Merkez Mah. Eski Ereğli Yolu Üzeri
Son Durak 291/4
Kozlu/ ZONGULDAK

Tel : (372) 261 33 97

E-posta : eozelgunes@gmail.com