

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PARAZİTOİT *Pimpla turionellae* (L.) (HYMENOPTERA; ICHNEUMONIDAE)
OMURGALI HORMONLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DENİZ MERAM

Balıkesir, Ağustos 2007

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PARAZİTOİT *Pimpla turionellae* (L.) (HYMENOPTERA; ICHNEUMONIDAE)
OMURGALI HORMONLARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DENİZ MERAM

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. FEVZİ UÇKAN

Sınav Tarihi: 29.08.2007

Jüri Üyeleri: Yrd. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN (KOÜ) 

Yrd. Doç. Dr. Olga SAK (BAÜ) 

Yrd. Doç. Dr. Sema BAĞDAT YAŞAR (BAÜ) 

Balıkesir, Ağustos 2007

ÖZET

PARAZİTOİT *Pimpla turionellae* (L.) (HYMENOPTERA; ICHNEUMONIDAE) OMURGALI HORMONLARI

DENİZ MERAM

**Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Biyoloji Anabilim Dalı**

(Yüksek lisans Tezi / Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. FEVZİ UÇKAN)

Balıkesir, 2007

İdiobiont, soliter ve pup endoparazitoiti *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae), konak tür Büyük Balmumu Güvesi, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) üzerinde, 25 ± 2 °C sıcaklık, % 60 ± 5 bağıl nem ve 12:12 (Aydınlık: Karanlık) fotoperiyot uygulanan laboratuvar şartlarında yetiştirildi. *G. mellonella* erken evre larva, son evre larva ve pupunda, *P. turionellae*'da ise cinsiyete bağlı olarak ergin evrenin erken ve geç dönemlerinde yapılan immünoanalizde omurgalı hormonları tespit edildi

G. mellonella'da erken evre larva, son evre larva ve pupta testosteron, folikül uyarıcı hormon ve progesteron varlığı belirlendi ancak östrojen ve tiroksin hormonları tespit edilemedi. Pup evresinde folikül uyarıcı hormon düzeyinde ortaya çıkan farklılık larval döneme göre istatistiksel olarak önemliydi. Erken evre larvada belirlenen testosteron düzeyinde diğer evrelere göre anlamlı farklılık varken progesteron düzeylerinde önemli bir farklılık görülmedi. Parazitoit tür *P. turionellae* erginlerinin genç ve yaşlı dişi ve erkek bireylerinde testosteron, folikül uyarıcı hormon ve progesteron varlığı tespit edildi ancak östrojen ve tiroksin varlığı gösterilemedi. Parazitlemenin *G. mellonella* pupu omurgalı hormonları üzerine etkilerinin araştırıldığı bizim çalışmalarımızda ise, parazitlemeyi takiben 2, 6 ve 24 saatlik periyotlarda folikül uyarıcı hormon ve testosteron seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir değişim gözlenmedi. Kontrol grubunda progesteron seviyesi 0,71 ng/ml olarak tespit edilirken, parazitlemeyi takiben *G. mellonella* pupunda progesteron bulunmadı. Omurgalı ve omurgasızlar için ortak olan hormonların tanımlanması, bu maddelerin böceklerdeki fizyolojik rolü ve metabolizmasının aydınlatılmasında ve karşılaştırmalı endokrinolojide yarar sağlayacaktır.

ANAHTAR SÖZCÜKLER : *Pimpla turionellae*/ *Galleria mellonella*/ omurgalı hormonları / testosteron / progesteron / Folikül uyarıcı hormon / östrojen / tiroksin (T₄)

ABSTRACT

VERTEBRATE TYPE HORMONES OF PARAZİTOİD *Pimpla turionellae* (L.) (HYMENOPTERA; ICHNEUMONIDAE)

DENİZ MERAM

Balikesir University, Institute of Science, Department of Biology

(M. Sc. Thesis / Supervisor: Asist. Prof. Dr. FEVZİ UÇKAN)

Balikesir-Turkey, 2007

Idiobiont, solitary, and pupal endoparasitoid *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae) were reared on greater wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) under a photoperiod of 12:12h (Light: Dark) at 25±2 °C and % 60±5 relative humidity. Vertebrate type hormone was found in instar, last instar, and pupae of *G. mellonella*, and in younger and older adults of *P. turionellae* depending on sex by immunoanalysis.

In prelarvae, postlarvae and pupae of *G. mellonella*, testosterone hormone, follicle-stimulating hormone (FSH) and progesterone hormone were found, but estradiol and thyroxine (3,5,3',5'-L-tetraiodothyronine, T₄) were not found. The differentiation found in follicle-stimulating hormone (FSH) level in pupae phase was statistically more significant than larvae phase. Testosterone hormone levels found in prelarvae stage were significantly different than other stages, but no significant difference was observed in progesterone hormone levels. Testosterone hormone, follicle-stimulating hormone (FSH) and progesterone hormone were found in both older and younger females and male parasitoids of *P. turionellae* but estradiol and thyroxine weren't found. In our studies that investigated the effects of parasitization on *G. mellonella* pupae vertebrate hormones, following parasitization, no significant difference was observed in follicle-stimulating hormone and testosterone hormone levels as compared with the control group after 2h, 6h and 24h periods. While the progesterone level in the control group was determined as 0.71ng/ml, no progesterone hormone was found in *G. mellonella* pupae following parasitization. The definition of common hormones in vertebrate and invertebrate will be beneficial in determination of physiological roles of these substances on insects and their metabolisms, and in comparative endocrinology.

KEY WORDS: *Pimpla turionellae* / *Galleria mellonella* / vertebrate type hormone / testosterone / progesterone / follicle-stimulating hormone (FSH)/ estradiol / thyroxine (T₄)

İÇİNDEKİLER

Sayfa Numarası

ÖZET, ANAHTAR SÖZCÜKLER	ii
ABSTRACT, KEY WORD	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SEMBOL LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ	viii
ÖNSÖZ	ix
1. GİRİŞ	1 -15
2. MATERYAL METOT	16
2.1 Konak Kültürü	16
2.2 Parazitoit Kültürü	16
2.3 Örnek Alınması	17
2.4 Hormon Analizi	18
2.5 İstatistik	20
3. BULGULAR	21
3.1 <i>G. mellonella</i> Omurgalı Hormon Miktarları	21
3.1.1 <i>G. mellonella</i> Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı	21
3.1.2 <i>G. mellonella</i> Testosteron Miktarı	22
3.1.3 <i>G. mellonella</i> Progesteron Miktarı	23
3.2 <i>P. turionellae</i> Omurgalı Hormon Miktarları	24
3.2.1 <i>P. turionellae</i> Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı	25
3.2.2 <i>P. turionellae</i> Testosteron Miktarı	26
3.2.3 <i>P. turionellae</i> Progesteron Miktarı	27
3.3 Parzitlemenin <i>G. mellonella</i> Omurgalı Hormon Miktarına Etkisi	28
3.3.1 Parzitlemenen <i>G. mellonella</i> da Folikül Uyarıcı Hormon Miktarına Etkisi	29
3.3.2 Parzitlemenen <i>G. mellonella</i> da Testosteron Miktarına Etkisi	30
3.3.3 Parzitlemenen <i>G. mellonella</i> da Progesteron Miktarına Etkisi	30
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	30 – 33
6. KAYNAKÇA	34 – 47

SEMBOL LİSTESİ

Simge Adı Tanımı/Değeri Birimi

PIC: *Pars interserabralis*,
CC: *Korpora kardiyaka*,
CA: *Korpora allata*,
SG: *Subasefajial ganglion*;
PB: *Protorasik bez*
NCC: *Nervi korparis kardiyaki*
PTTH: *Protorasikotropik hormon*
RER: *Endoplazmik retikulum*
nm: nanometre
VG: *Vitellogenin*
JH: *Jüvenil hormon*
ARG: Aktiviteyi düzenleyici gen
MNSC: Merkezi nörosalgı hücreleri
CNS: Merkezi sinir sistemi
OEH: Ovaryum *ekdisteroidogenik hormon*
ETH: Ekdysisi başlatıcı hormon
EH: *Eklosion hormon* ,
CAP: *Kardioaktif peptid*
cAMP: *Siklik adenozin monofosfat*
A:K: Aydınlık : karanlık
°C: santigrat derece
cm: santimetre
dk: dakika
RIA: Radyoimmünoanaliz
SBGH: Seks hormon bağlayıcı globülin
TeBG: Testosteron – estradiol bağlayıcı globülin
CBG: Kortizol – bağlayıcı globülinler
µL: Mikrolitre
FSH: Folikül uyarıcı hormon
TSTO: Testosteron
PRGE: Progesteron
IU/L = her litrede uluslararası birim (international units per liter)
ng/ mL: nanogram/ mililitre
ng/ dL: nanogram/ desilitre

ŞEKİL LİSTESİ

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil Adı	Sayfa Numarası
Şekil 1.1 İpek böceğinde (<i>B. mori</i>) endokrin sistem şeması	3
Şekil 1.2 Böceklerde hormonların etki mekanizmasının şeması	5
Şekil2.2 Testosteronun kimyasal yapısı	18
Şekil 2.3. Progesteronun kimyasal yapısı	19
Şekil 2.4. Estradiol 17 β kimyasal yapısı	20
Şekil 2.5 Tiroksinin kimyasal yapısı	20
Şekil 3.1 <i>G. mellonella</i> Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı	23
Şekil 3.2 <i>G. mellonella</i> Testosteron miktarı	24
Şekil 3.3 <i>G. mellonella</i> Progesteron Miktarı	25
Şekil 3.4 <i>P. turionellae</i> Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı	26
Şekil 3.5 <i>P. turionellae</i> Testosteron Miktarı	27
Şekil 3.6 <i>P. turionellae</i> Progesteron Miktarı	28
Şekil 3.7 Parazitlenen <i>G. mellonella</i> 'da Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı	29
Şekil 3.8 Parazitlenen <i>G. mellonella</i> 'da Testosteron Miktarı	30

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo Adı</u>	<u>Sayfa Numarası</u>
Tablo 1.1 Nöral Olmayan Hormonlar	5
Tablo 1.2 Nöral hormonlar	6
Tablo 3.1 <i>G. mellonela</i> Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı	21
Tablo 3.2 <i>G. mellonela</i> Testosteron miktarı	22
Tablo 3.3 <i>G. mellonela</i> Progesteron Miktarı	23
Tablo 3.4 <i>P. turionellae</i> Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı	24
Tablo 3.5 <i>P. turionellae</i> Testosteron Miktarı	25
Tablo 3.6 <i>P. turionellae</i> Progesteron Miktarı	26
Tablo 3.7 Parazitlenen <i>G. mellonela</i> da Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı	27
Tablo 3.8 Parazitlenen <i>G. mellonela</i> da Testosteron Miktarı	28
Tablo 3.8 Parazitlenen <i>G. mellonela</i> da Progesteron Miktarı	29

ÖNSÖZ

Geçen günler, aylar, yıllar içersinde beni eğitmeye çalışan; her yol ayrımında sağduyusu ve deneyimini kullanıp yönlendiren; "bilim adamlığının bir meslek değil, yaşam biçimi olduğu" fikrini somutlaştıran danışman hocam Yrd. Doç. Dr. FEVZİ UÇKAN' a teşekkür gönül borcumdur.

Sabırlı, dost, tartışmaya açık çalışma arkadaşım AYLİN ER'e de kendisine ait olan zamanı bana bağışladığı için içtenlikle teşekkür ederim. Desteklerinden dolayı Yrd. Doç Dr. OLGA SAK ve Yrd. Doç. Dr. EKREM ERGİN hocama da teşekkür ederim.

Maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen her zaman beni destekleyip cesaretlendiren tecrübelerinden yararlandığım anneme ve babama teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Son olarak benim hep yanımda olan biricik arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Balıkesir, 2007 DENİZ MERAM

1. GİRİŞ

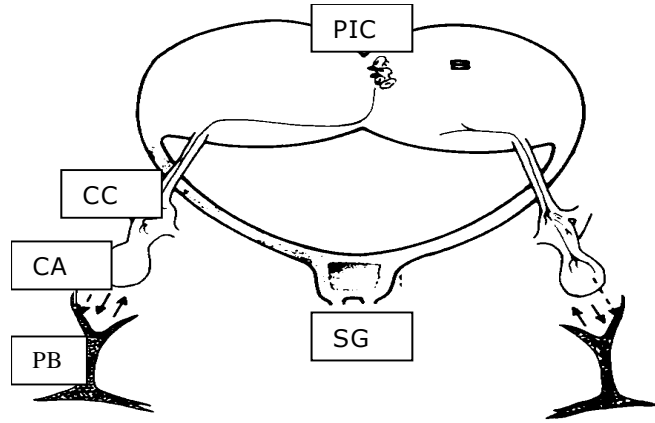
Zararlılarla mücadelede en güvenilir yöntemlerden biri olan biyolojik kontrol çalışmalarında, çevrenin ve doğal kaynakların korunması, bozulan ekolojik dengenin yeniden tesisi, sürdürülebilir tarım, toprağın yaşatılması, çevre direncinin artırılması, biyolojik çeşitliliğin devamı ve kimyasal kirliliğin sonlandırılması temel amaç olmuştur [1]. Biyolojik kontrol, zararlı bir populasyonun başka bir canlı populasyonu ile baskılanması olarak tanımlanmaktadır. Zararlıyı baskılama amacıyla kullanılan türe biyolojik kontrol etmeni denir [2, 3]. Bu amaçla kullanılan organizmalar içinde en uygun, en az risk taşıyan ve en çok spesifik etki gösteren türler ekolojik can sınırları olarak nitelendirilen parazitoitlerdir [4]. Biyolojik kontrol yönteminde kullanılan parazitoitler canlı veya cansız çevreye zararlarının olmaması, çevre kirliliğine yol açmaması ve ekolojik dengenin korunmasında önemli bir grup oluşturmaktadırlar [5]. Bu nedenle, biyolojik kontrol çalışmaları içinde doğal düşman popülasyonlarının ve etkinliklerinin artırılması önemli yer tutar [1]. Doğal düşmanların çevre direnci içindeki etkinliklerinin yeterli düzeye getirilmesi genellikle doğal dengenin kurulmasını sağlar [1]. Ergin öncesi gelişim dönemlerinde konaklarının içinde veya üzerinde gelişerek ölümlerine neden olan parazitoitlerin çoğalması konağa bağlı olduğundan [2], konak sayısındaki artış parazitoit sayısını arttırmakta, konak sayısındaki azalma ise parazitoit sayısını azaltmaktadır. Bu nedenle doğada konak parazitoit arasında bir denge kurulmaktadır [3].

Yapılan araştırmalarda parazitoitlerin Hymenoptera, Lepidoptera, Coleoptera, Homoptera, Diptera, Hemiptera ve Heteroptera böcek ordolarına ait yumurta [3, 6–8], larva [7, 9, 10], prepup [7, 11], pup [7] ve ergin evrelerine yumurtalarını bırakarak onları konak olarak kullandıkları gösterilmiştir. Parazitoit türleri, Hymenoptera, Diptera, Hemiptera ve Coleoptera ordolarında bulunmaktadır [13]. Larvaların beslenme davranışlarına göre parazitoit türler endoparazitoit ve ektoparazitoit olmak üzere ikiye ayrılırlar [7, 13]. Endoparazitoit olanlar konağın içine yumurtalarını bırakır ve larvaları konağın içten yiyerek gelişir [14 – 16]. Ektoparazitoit olanlar yumurtalarını konak dışına bırakırlar ve larvaların vücut yapıları konak dışında, ağız yapıları konağın içinde olacak şekilde beslenirler [11,

17]. Parazitoit türler ovipozisyon sırasında konağı etkileme durumuna göre koinobiont ve idiobiont olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Koibiont; ovipozisyondan sonra konağın gelişimine izin veren parazitoitler, idiobiont ovipozisyondan önce konağı öldüren veya felç eden parazitoitler olarak tanımlanmıştır [7, 13]. Parazitoitler konaktan elde edilen ergin sayısına göre soliter ve gregar olarak da ayrılırlar. Soliter olanlarda, aynı konağa dişi birden fazla yumurta bırakmasına rağmen sadece bir tanesi ergin evreye ulaşır; gregar olanlarda çok sayıda larva ergin evreye ulaşabilmektedir [13].

Endoparazitoitler genellikle diğer konak böceklerin vücut boşluğu içinde gelişirler [18]. Konağın gelişim, davranış ve metabolizmasını düzenleyen hormonlar hemolenf ile taşındığı için, parazitoit larvası sürekli olarak değişen konak hormonlarına maruz kalmaktadır [18]. Birçok endoparazitoit tür konaklarının sadece belirli evrelerinde gelişmeye adapte olmuşlardır ve diğer evrelerde başarılı bir parazitlenme gerçekleştiremezler. Bu nedenle konak böceğin gelişimsel ve hormonal durumu parazitoit tür için konak uygunluğunda oldukça önemli bir faktördür.

Böceklerde sıcaklık ve nem gibi çevresel faktörler gelişim süresini etkilemektedir. Büyüme ve gelişmeyi kontrol eden bir başka mekanizma beyin nörosalgi hücreleri sayesinde sağlanmaktadır. Nörosalgi hücreleri hayvanlar aleminde düzenleme sürecinde ekilidir [19]. Hayvansal hormonlar, büyüme ve gelişmeye yardım etmelerinin yanı sıra, metabolizma düzenlenmesinde ve homeostazisin devamında da rol oynar [20]. Böceklerde metamorfoz olayı nörosalgi hücrelerine bağlı olarak endokrin sisteminin kontrolü altında değişik yollar izleyerek gerçekleşir. Bu yol; beyin – korpora kardiaka – korpora allata’ yı takip ederek protorasik beze ulaşır [21] (Şekil1.1).



ŞEKİL 1.1 İpek böceğinde (*B. mori*) endokrin sistem şeması. PIC: Pars interserabralis, CC: Korpora kardiyaka, CA: Korpora allata, SG: Subasefajial ganglion, PB: Protorasik bez

Korpus kardiyakum nöral yapılardan oluşmuştur. Korpus kardiyakum hem çeşitli beyin hormonları için depo bölgesi hem de kendi iç ürünlerini oluşturan bir üretim bölgesidir [20]. Nervi korparis kardiyaki (NCC I ve NCC II) beyinden korpus kardiyakuma uzanarak nörosalgı ürünlerini korpus kardiyakuma taşır ve burada depolar. Bu yapılar hem depo hem de nörohormon salınım bölgelerini meydana getirirler. Bu kısımlara nörohemal alan denir. Böceklerde korpora kardiyaka ve perisinaptik organlar nörohemal organlardır. Salgı oluşumu için özelleşen sinir hücrelerinden nörosalgı salınımı meydana gelir [22]. Hormonlar nörosalgı hücreleri içinde yoğun olarak bulunurken, istisna olarak ekdizon ve juvenil hormonlar nöral olmayan hücrelerde üretilir [20]. Nörosalgılar, beyinde nörosalgı hücreleri tarafından salgılanan hormonlardır.

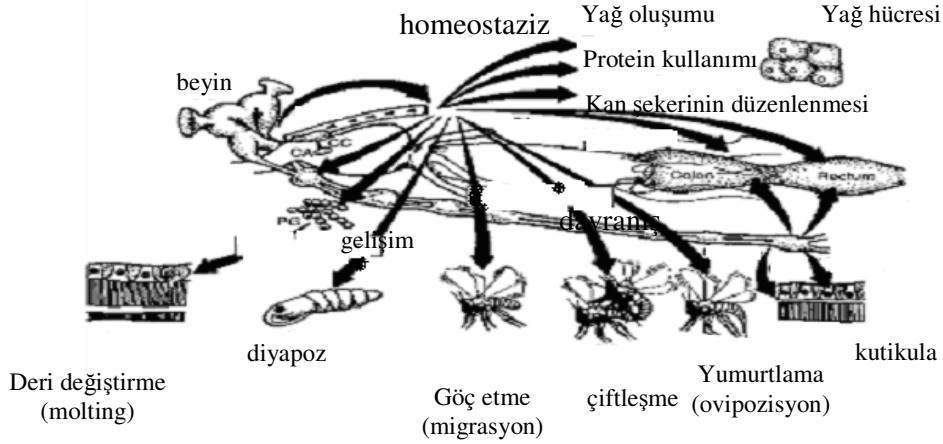
Nörosalgılar dolaşım sistemine salgılanır ve bunlar uzaktaki hedef hücrelerini etkiler. Nörotransmitterlerle karşılaştırıldığında hedef hücrelerindeki etkileri daha yavaş ve uzun sürelidir. Nörohormonlar bu sebeple genel, ısrarcı mesajları taşırlar [20]. Nörosalgı hücreleri çoğunlukla peptidlerden oluşmaktadır ve “peptiderjik nörosalgı hücreleri” olarak adlandırılmaktadır [23]. En son yapılan çalışmalarda da biyogenik aminlerin nörohormonlar gibi etki gösterdiği kabul edilmiştir [24, 25] ve buna örnek olarak kabuklularda *Homarus sp* [26] ve böceklerde *Locusta sp* ve *Schistocerca sp* [27 – 29] hemolenfinde bulunan oktopamin gösterilmektedir.

Nörosalgı hücrelerinin çekirdek yapıları multipolar veya monopolar olabilmektedir. Multipolar nörosalgı hücreleri periferal sistemde daha çok görülürken, monopolar nörosalgı hücreleri merkezi sinir sisteminde tipiktir [20]. Merkezi sinir sisteminde monopolar nörosalgı hücreleri efektör bölgelere uzanan dallı aksonlara sahiptir [20]. Aksonların çok dallara ayrılması hemolenf içinde salınan hormon miktarını artırır [28 – 31].

Nörosalgı hücrelerinin elektron mikroskopunda yapılan incelemelerinde; nörosalgı granüllerinin golgi cisimciğinin içinde ortaya çıktığı birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir [39 – 42]. Granüllü endoplazmik retikulum (RER) tarafından sentezlenen materyaller membrana bağlı granüller içinde paketlenmesi için golgi cisimciğine transfer edilir. Bu temel nörosalgı granülleri golgi keseciğinde tomurcuk şeklinde çıkıntı oluşturur ve depolama ve salınım bölümlerine taşınımı için sitoplazma içine hareket eder [32, 43, 44]. Bu taşınma işleminin proksimal – distal yönde olduğu gözlemlenmiştir [41, 45, 46]. Hücre yapılarından granüllerin taşınımı nörohemal alanlardaki terminallerin geniş konsantrasyonu ile sonuçlanır [47]. Nörosalgı hücrelerinin ekzositoz mekanizması sayesinde granül içeriklerini salgıladığı kabul edilir. Bunun için membran geri alınımı gerekmektedir. Bu işlem mikrovesikülasyon ile sağlanmaktadır [48 – 54].

Böceklerde hormonların temel rollerini (Şekil 1.2);

- metamorfozun yönünü belirlerler,
- polimorfizimi etkilerler,
- gömlek değiştirmeyi,
- diyapozu,
- üremeyi,
- metabolik aktiviteleri ve genel vücut fonksiyonlarını,
- davranışı ,
- programlı hücre ölümlerini düzenlerler şeklinde sıralayabiliriz [22].



Şekil 1.2 Böceklerde hormonların etki mekanizmasının şeması

Böceklerde nöral olmayan hormonlar ve nöral hormonlar tablo 1.1. ve 1.2. de sunulmuştur [22].

Tablo 1.1 Nöral Olmayan Hormonlar

Aktif prensip	Orijin	Hedefi	Rollü/Fonksiyonu
A.Ergin Olmayan Böceklerde			
Ekdizon	Ekdisiyal bez	Epidermis	Gömlek değiştirmeyi başlatır.
Jüvenil Hormon	Korpora allata	Epidermis	Gömlek değiştirmede metamorfoza kadar yönetilmesi veya kontrolü
B. Ergin böceklerde			
Yumurtalık hormonları (ekdisteroidler)	Folikül hücreleri	Yağ doku	Vitellojenin (VG) üretimini başlatmak + düzenlemek
Jüvenil Hormon	Korpora allata	Yağ doku	Vitellojenin işleminin başlaması için yağ yapılarını hazırlanması
Jüvenil Hormon	Korpora allata	ARG's (aktiviteyi düzenleyici gen)	Bez salgılarının gelişimini ve üretimini etkiler
Jüvenil hormon	Korpora allata	Folikül hücreleri	Folikül hücrelerinde VG alınması

Tablo 1.2: Nöral hormonlar

Aktif prensip	Orijin	Hedefi	Rolü/Fonksiyonu
Ekdisiotropin (PTTH) (=protorasikotropik hormon)	Beyin hormonu protoserebrum	Ekdisiyal bezler	Gelişimi düzenler Ürünleri düzenler Ekdizon salgılar
Bursicon	MNSC (median nörosalgı hücreleri) ve thorasik abd. ganglionun salınımı	Epidermis	Epidermin kalınlaşmasını ve melanizasyonun uyarımı
Eklozon hormon	Beyinin preekdisiyası	Abdominal ganglion	Fotoperiyot ile eklozonun eşleşme davranışı
Ecdysisi uyaran hormon	Epitrakel bezler	CNS (merkezi sinir sistemi) (abdominal ganglia)	Eklozonla eş zamanlı davranışı
Allostatinerler	Beyin	Korpora allata	Gelişim, davranış, homeostazis JH ürünlerinin inhibesi
Allatotropinerler	Beyin	Korpora allata	Gelişim, davranış, homeostazis JH ürünlerinin uyarılması
Diüretik hormonlar	Beyin ve torasik ganglia	Malpigi tüpleri	Diüresisi veya sıvı akışının kontrolü Homeostazis
Proktolin	Beyin	Arka bağırsak ve genelde iç organlara ait ganglia	Homeostazis Kas kasılması Yumurta bırakma Kalp atımı
Dromyosuppresin	Beyin	Kas ürünü	Kas hareketini inhibe etmek
Ovarian ektisteroidogenik hormon (OEH)	Beyin	Yumurtalıklar	Ektisteroidlerin üretimi için yumurtalıkların uyarımı
Hipo + hiper glisemik hormonlar	Beyin Korpus kardiyakum	Yağ dokularına	Glikojenin trehalosa çevrimi Kan şekerinin ayarlanması
Üremeyi baskılayıcı hormon	Erkek ARG' si	Dişilerin beynine	Davranış – üremeyi engelleme
Ovipozisyonu başlatıcı hormon	Dişi ARG' si (aktiviteyi düzenleyici gen)	Ovidukt	Davranış – yumurta bırakmayı başlatma
Kardioaccelerator	Beyin Korpus kardiyakum	Myokardiyum	Homeostazis Kas kasılmasını sıklığını artırır.

Jüvenil hormon (JH); böceklerin gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Korpora allatanın allatotropinler tarafından uyarılmasıyla üretilen bu hormon; allatostatinler tarafından inhibe edilmesiyle baskılanır [58]. Metil ester yapısında olup, seskiterpen molekülüne yapısal olarak benzer bileşikler bulundurur [55, 56]. Juvenil hormonun üç türevi bulunmaktadır; JH I, JH II ve JH III. Bu üç birim Lepidoptera ordosunda gözürken, JH III diğer böcek ordolarında asıl bileşik olarak bulunur [59]. JH'un larval dönemde gelişimin devamlılığı, gömlek değiştirme (ecdysisi), dış iskeletin periyodik olarak değişimi, ergin evredeki dişilerin yumurtlaması üzerine etkileri bilinmektedir [57]. Ayrıca metamorfozu engellediği ve larval dönemde aktif olarak rol oynarken pup döneminde inaktif olduğu tespit edilmiştir [57].

Ekdisteroit hormonlar; böceklerde başlıca gömlek değiştirmeyi sağlayan hormonlardır. Protorasik bezlerden salgılanan nöropeptid yapıdaki protorasikotropik hormonu 20-hidroksiiekdizon hormonuna dönüşür. Bu da ekdizon salgılanmasını sağlar. α ekdizon ve β ekdizon olmak üzere iki alt birimden oluşan ekdizon hormonu yapısal olarak steroid yapıdadır [59 – 61]. Ekdizon hormonunun epidermisi etkileyerek büyümeyi ve kabuk formasyonunu uyarma [63 – 65], metamorfoz sırasında evreden evreye geğişi kontrol etme [65], tükrük bezlerinin dejenerasyonu, diyapoz, spermatogenezis, oogenezis etkisi gibi birçok işlevi saptanmış ve tanımlanmıştır [57, 67 – 69].

Bursicon, böceklerin merkezi sinir sisteminden salgılanan, kutikulanın koyulaşması, melanizasyonu ve kalınlaşmasını uyaran bir nörohormondur [74 –76]. Meyve sineğinde yapılan genetik çalışmalarda puptan ergin evreye geçiş sırasında kanat açılışında bursiconun düzenleme rolü açıkça gösterilmiştir [77]. Bursicon hormonu, gömlek değiştirmeyi başlatıcı hormon (ETH), eklozon hormon (EH), ve kabuklularda kardioaktif peptidin (CCAP) dahil olduğu gömlek değiştirme davranışıyla ilgili motor programı düzenler [78]. Sistein protein kümelerinden oluşan heterodimer yapıdaki bursicon hormonu α - bursicon ve β - bursicon yapılarında bulunur [79, 80].

Eklozon hormon, merkezi sinir sisteminden veya böceklerin gelişim safhasında beyine bağlı kısımdan salınan bir nörohormondur. Beyinde ki hücrelerde üretildikten sonra nörohemal alanlara (korpora kardiyaka ve korpora allata) depolanması ve salınması için taşınır [81]. Eklozon hormonu gömlek değiştirmede çok önemli rol oynamaktadır. Aynı zamanda yetişkin böceklerde eklozon hormonunun, gün uzunluğu, sıcaklık ve diğer çevresel uyarıları düzenlediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [82].

Gömlek değiştirmeyi uyaran hormon, epitrekal bezden salınan, larva ve pupta gömlek değiştirmenin oluşumunu başlatan bir nörohormondur. Bu nörohormon, böceklerin solunum deliklerinin yakınında bulunan ve inka hücreleri olarak isimlendirilen hücrelerde üretilir [83]. İnka hücreleri, eklozon hormonları tarafından uyarılarak gömlek değiştirmeyi uyaran hormonun salgılanmasını sağlar ve böceklerde merkezi sinir sisteminin uyarılarak eski derinin atılmasında (ecdysis) en son rolü oynar. Bu hormon abdomendeki ganglionların içine verilerek deri değiştirme zamanını düzenlemektedir ve eski derinin vücuttan atılmasını sağlamaktadır [84].

Allatostatinler, korpora allatadan sentezlenen ve başlıca görevi juvenil hormonu inhibe etmek olan nörohormonlardır. Yapılan çalışmalarda korpus allatumu alınan böceklerde gelişim ve fizyoloji üzerine etkileri test edilmiştir. Yetişkin bireylerin üreme döngüleri boyunca yumurtalıkların bazal metabolizmasının azalmasının, vitellojenin hızının artmasının, juvenil hormon miktarının azalmasının, korpus allatumdaki allatostatin reseptörlerin artmasına bağlı olduğu anlaşılmıştır [85, 86]. Allatostatinlerin, bağırsaktaki kas hareketlerini baskılar [87] ve bunun sonucunda bağırsak kasılmasını sağlamak için proktolin salınımını tetiklemektedirler [88].

Allatotropin, böceklerde juvenil hormonun sentezinde [89] ve kalp atım oranı düzenlemede [90] rol oynamaktadır. Beyinin ve subroesofegal ganglionun (SOG) korpus allatum tarafından uyarılması ile salgılanmaktadır. Allatotropinler, böceklerde juvenil hormona bağlı olarak, vitellojeninde üremeyi başlatıcı önemli bir faktördür. Bu peptid yapıdaki hormon üremeye ilişkisinin yanında diğer yapılarla da ilişkilidirler [100]. Allatotropinler gelişim dönemindeki tüm sinir dokularında ve

bağırsaklarda tanımlanmıştır. Yetişkin lepidopterlerin bağırsaklarında kas aktivitesinde etkili olduğu gösterilmiştir [91, 92].

Diüretik hormon, sıvı alınımını ve malpigi tüplerinde cAMP üretimini düzenler ve kortikotropin salınan hormon/ urtensin/ sauvagine peptid ailesinin bir üyesidir [93]. Korpus kardiyakum da aksonal terminallerle pars interserabraliste nörosalgi hücrelerinde oluşarak [93] hemolenf içine salınır. Diüretik hormon malpigi tüplerinde anyon geçirgenliğini artırmak için hücre içi Ca^{+2} 'nu artırarak malpigi tüplerinde sıvı akışında etkili olmaktadır.

Üremeyi baskılayıcı hormon, doğrudan üremeyi etkilememektedir. Bağırsaklarda proteolitik enzimlerin inhibitörüne ve siklik adenozin monofosfat (cAMP) biyosentezi üzerine etkilidir ve korpus allatumun nöroendokrin aktivitesini kontrol eder. Bu sayede, yumurtalıkların gelişimini ve yumurta oluşumunu inhibe eder, ayrıca bağırsaklarda tripsin ve serin proteaz aktivitesini etkiler [94, 95], ekdisteroitlerin, cAMP' nin ve yumurtalıkların biyosentezini düzenler [96, 97]. Üremeyi baskılayıcı hormonlar polipeptid ve oligopeptid yapıdadırlar. Bu hormon bu özelliği sayesinde doğal insektisit olarak kullanılmaktadır. [99]. Çiftleşme sırasında dişiye transfer edilen bu hormon erkek üreme bezlerinden salınarak dişinin konak arama davranışını engellemede [99] ve yumurtlayabileceği yerde yumurtalarını bırakacak dişinin tekrar bırakma davranışını engellemede etkilidir [100].

Ovipozisyonu başlatıcı hormon, merkezi sinir sisteminin (CNS) nörosalgi hücrelerinden sentezlenmektedir. Dekapeptid yapıdaki bu nörohormon, üreme döngüsünün postvitellojenik fazında etkilidir.

Kardioaccelerator (CAP), arka bağırsağın ve ovidukun kasılmasını düzenler, kalp atım hızını artırır ve korpora kardiyakadan adipokinetik hormon salınımını düzenler. Ayrıca bu hormon gömlek değiştirme davranışını düzenlemede önemli rol oynamaktadır [101, 102]. Ventral sinir kordta iki tip kardioaccelerator peptid tanımlanmıştır; CAP I ve CAP II. Bu CAP yapıları abdomine perivisseral organ,

böceklerde ventral nerve kord alanlarında bölgenirler. Bu yapılar, kalsiyuma bağlı olarak elektriksel uyarımı sağlar ve kalp atımını düzenlerler [103].

Proktolin, beyinin tritoserebrum ve suboesofegal ganglionlarında, ventral sinir korda ganglionlarından ve arka bağırsaktan salınmaktadır. Proktolin, iç organların ve iskelet kasların kasılmasını düzenler. Bu hormon; malpigi tüplerinin kendiliğinden kıvrılma hareketini düzenleyerek homeostaziyi sağlar. Proktolin kalp atımını düzenlemede de önemli bir hormondur. [104].

Dromyosuppresin, FMRFamide peptid grubuna dahildir. İmmünolojik boyamalarda cropun (sindirim alanlarına ait kısım) yüzeyini örten liflerinde gösterilmiştir. Dromyosuppresin, cropda [103], ovidukta, bağırsakda ve kalpte kas aktivitesini engellediği gösterilmiştir. Bu hormon, beyin nörosalgı hücrelerinden korpus kardiyakuma NCC II ile taşınmaktadır. Ayrıca; pars interserablis veya tritoserebrumda retroserebral komplekse NCC I ile de taşındığı gösterilmiştir. [107 - 109].

Ovaryum ekdisteroidogenik hormon (OEH), *Aedes aegypti* sivrisineğin beyininin pars interserablis kısmında tanımlanmıştır. Median nörosalgı hücrelerinden (MNC) korpus kardiyakuma salınmaktadır. Bu hormon, yetişkin sineklerde yağ dokuda üretilen yumurtanın modülasyonunu sağlamaktadır ve ekdisteroid hormonların salınımı için yumurtalıkları uyarmaktadır [110, 111, 113].

Hiperglisemik ve hipoglisemik hormon karbohidratların mobilizasyonunu ve depolanmasını düzenlemektedir. Beyin nörosalgı hücrelerinde ve transvers sinir hücrelerinde tanımlanmıştır. Böcek hemolenfinde karbohidrat olarak bulunan trehaloz, yağ dokularında depolanmakta ve buradan hemolenfe salınmaktadır. Hiperglisemik hormon; en başlıca görevi yağ dokularını uyararak trehaloz salınımını sağlayarak hemolenf glikoz seviyesini arttırmaktır [113]. Yapılan araştırmalarda hiperglisemik hormonun, gömlek değiştirmeyi düzenlemede ve su – pH dengesini ayarlama, elektrolit dengesini sağlamada rol oynadığı belirlenmiştir [114]. Hipoglisemik hormon, hemolenfte bulunan trehalozun, orta bağırsakların

epitelyumundan emilimini sağlayarak yağ dokularına gönderilmesini ve bu sayede hemolenfteki şeker miktarının azaltmasında görev almaktadır.

Omurgalılarda bulunan hormonların bazıları kimyasal olarak ve immünokimyasal olarak böceklerde de tespit edilmiştir. Biyoanaliz, radyoimmünolojik ve histokimyasal teknikler kullanılarak, omurgalı tip peptidlerinin birçoğu omurgasızların nöroendokrin ve/veya gastrointestinal dokularında gösterilmiştir. Hatta bakteri, fungus, maya ve protozoanlar gibi tek hücreli organizmaların da böyle yapılar içerdiği gözlemlenmiştir. Araştırmalarda kullanılan sistemlerde; insan, domuz, sığır veya diğer memelilerin peptidlerine karşı yüklenen antikorlar sayesinde bu yapılar tespit edilmiştir. Omurgalı peptidlerinden insülin, glukagon, gastrin, insan büyüme hormonları, renin, somatostatin, pankreatik polipeptidler, testosteron, progesteron omurgasızlarda tespit edilmiştir [113, 118].

İnsülin, disülfüt bağları ile bağlanmış 6000 moleküler ağırlığına sahip iki zincirli polipeptiddir [114]. Korpus allatum – korpus kardiyakum (CC - CA) dan salınan hipotrehalosemik hormonun insülin benzeri etkisi olduğunu 1975’ te T. Norman; *Calliphora erythrocephala* dekapitasyon işleminden (başın boyundan ayrılması işlemi) sonra oluşan hipertrehalosemi etkisi sonucunda keşfetmiştir [115]. İnsülin benzeri peptidler, immünolojik analizlerde ve immünohistokimyasal analizlerde Hymenoptera, Orthoptera, Diptera’da bulunmuştur [115]. “Böcek insülini” diye adlandırılan yapılar asitte çözünürlüğü, Gine domuzundan üretilen antiinsülin immünoglobulinleri ile reaksiyona girmesi, biyolojik aktivitesi ve aminoasit düzeni ile memeli insülinine benzemektedir[115]. Böceklerde büyümenin düzenlenmesinde, lipit metabolizmasında, şeker alınımında etkili olduğu anlaşılmıştır. *Drosophila sp*’de imaginal disklerin gelişiminde de rol aldığı görülmüştür [115].

Glukagon; yaklaşık 3500 molekül ağırlığında tek zincirli bir polipeptittir [114]. Başta, bağırsakda, hepatopankreasda, beyinde, ganglialarda ve hemolenfte bulunan glukagon, yağ yapılarında glikojenezisi sağlamaktadır [115]. Deneysel işlemler sırasında; korpus kardiyakumu ve diğer endokrin yapıları alınan böceklerin elektriksel ve mekaniksel olarak uyarılan dokularına glukagon ejenkte edilmiştir. Bu

enjeksiyon işleminde sonra, sığır ve domuz glukogonu böceklerde hiperglisemiye ve hipertrehalasemiye yol açmışığı anlaşılmıştır. Glukagon benzeri peptidlerin immünokimyasal ve biyolojik tekniklerle de varlıkları ispatlanmıştır [115].

Somatostatin, omurgalılarda sindirim enzimlerinin ve elektrolit salınımının engellenmesi, su kloroid salınımının engellenmesi ve sodyum kloroid emiliminin artmasını sağlamaktadır. Böceklerde yapılan immünolojik tetkikler sonucunda sinir ve sindirime ait yapılarda bölgelendiği gözlemlenmiştir. Beyinde, pars interserabliste, nörosalgı hücrelerinde, korpus kardiyakumda ve ganglialarda bulunur. Omurgasızlarda ki fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir [115].

Gastrin/ kolesitokinin/ caerulein böceklerde yapılan immünoaktif yöntemler sonucunda, beyin nöronlarında ve protoraksik gangliada gösterilmiştir. Omurgalılarda gastrin asit salgısını düzenlemekte, kolesitokinin safra kesesinin daralmasını sağlamakta ve caerulein kurbağa derisinde bulunmaktadır. Yumuşakçalar ve böceklerde bulunan gastrin, yapısal olarak ve proteolitik enzimlere duyarlılığı yönünden omurgalı gastrine benzemektedir. [116].

Pankreatik peptidlerin, omurgalılarda bazı peptid hormonlarının derişimlerini düzenleme görevi bulunur. İmmünohistokimyasal çalışmalarda omurgasızların sinir dokularında ve bağırsak dokularında bulunmuştur. Bu peptidlerin omurgasızlarda ki fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir [115].

Substans P, omurgalılarda nöral ve ratinal dokuda bulunur ve nörotransmitterler gibi sinir lifleri boyunca ağrı hissini oluşmasında rol oynarlar. Bu yapı iki böcek türünde bulunmuştur (çiçek sineği,tütün sineği). Beyinde korpora pendikuada tespit edilmiştir ve bu yapıların işlevleri tam olarak bilinmemektedir [115].

Vasopressin, omurgalılarda osmotik basıncı düzenleyen antidiüretik hormondur. Böceklerin altı türünde tespit edilmiştir (hamamböceği, cırcır böceği ve çekirge). Böceklerin beyininde, ventral sinir iplerinde, malpigi tüplerinde ve hemolenfide bulunmuştur. Vasopressinin, hem diüretik hem de antidiüretik fonksiyonları gösterilmiştir [115] .

Enkefalin ve endorfin; omurgalılarda beyin ve bağırsaklarda düz kasların kasılmasını inhibe edici, beyin ve bağırsak sinirlerinde ağrı hissini yok edici peptidlerdir. Böceklerde, interserablisde, korpora pendukulatada, karın ganglionlarında, kaliks hücrelerinde, subesofegal gangliada, korpora kardiyakada, Malpigi tüplerinde, ovidukta, mandibular (çene) kasında immünoreaktif çalışmalar sonucunda tespit edilmiştir [115].

Prostaglandinler, siklopentan halkasından ve 20 karbonlu doymamış karboksilik asitten oluşmaktadır. Omurgalıların hemen hemen her dokusunda ve vücut sıvısında bulunmaktadır. Omurgasızlarda PGE₁, PGE₂, PGE_{1α} ve PGE_{2α} türevleri bulunmuştur. Böceklerde de testislerde etkili olduğu saptanmıştır [115].

Testosteron, moleküler ağırlığı 288.4 dalton olana C₁₉ steroid hormonudur. Memelilerin erkek bireylerinde önemli bir androjen hormonu olup testisler üzerine etkisi bulunmakta ve ikincil seks karakterlerini oluşturmaktadır. Dişilerde ise yumurtalıklar üzerine etkilidir. Tavşanlarda, balıklarda, istiridyelerde ve midyelerde 6b-hidroksitestosteron, 16a-hidroksitestosteron, 11b-hidroksitestosteron, 2a-hidroksitestosteron, 2b-hidroksitestosteron ve androstenedion türevleri şeklinde bulunmuştur. Omurgasızlarda bu hormonun enzim olarak rol aldığı varsayılmaktadır [117]

Progesteron, omurgalıların dişi bireylerinde östrojen ile birleşmesiyle üremeyi düzenler ve erkek bireylerde testislere etki etmektedir. Crustacealar üzerinde yapılan çalışmalarda progesteron ve 17α hidroksiprogesteron hemolenfte ve yumurtalıkta gösterilmiştir. Dişi *Marsipenoeus japonikus* hemolenfinde bulunan hormon seviyeleri ile yumurtalıkta gelişimi arasında korelasyon olduğu belirtilmiştir [118].

Folikül uyarıcı hormon, glikoprotein yapıda olup α ve β alt birimlerinden oluşmaktadır. Bu iki alt birimi böcek hücre sisteminde baculovirus vektörü sayesinde kodlanmaktadır. Omurgalı FSH ile yapısal olarak aynı tunicamycin davranışı göstermektedir ancak her alt birimin molekül ağırlığı terminal şeker eksikliğinden dolayı daha azdır. Omurgalılarda, üreme organlarını ve de hipofiz ve

seks steroid hormonlarını düzenlemektedir. Omurgasızlar üzerindeki tam işlevi bilinmemektedir [119].

Östrojen, omurgalıların dişilerinde menstural döngüyü düzenlemektedir. İpek böceği *B. mori*'nin ipek bezlerinde tanımlanmıştır ve metabolik faaliyetlerde önemli rol oynadığı tespit edilmiştir [120]. Yapılan bir başka çalışmada, *B. mori* beşinci evre larvasında estradiol 17 β (E₂)'nin enjektisi sonucunda yağ dokusuna etkisi olduğu anlaşılmıştır [120]. Böceklerde ki yağ dokusu ile omurgalılarda ki karaciğer, işlevsel olarak homolojiye sahiptir. Ovipar omurgalılarda karaciğer estradiol 17 β (E₂) için hedef organdır. Crustacealar üzerine yapılan çalışmalarda estradiol 17 β 'nin, *Macrobrachium rosenbergii* tatlı su kerevitinde iyon taşımında rol aldığı ve metabolik aktivitesi olduğu gözlemlenmiştir [121,122].

3,5,3 triiodothyronine (T₃) ve 3,5,3,5-tetraiodothyronine (T₄), omurgalılarda tiroid bezlerinden salınmaktadır. T₃'ten daha aktif olan T₄ özgül deiodinazlar tarafından T₄'e dönüştürülür. Tiroid hormonlarının varlığı birçok omurgasızda da tespit edilmiştir ve bunların vitaminler gibi işlevi olduğu önerilmektedir [124]. Yapılan bir başka çalışmada ipek böceği larvalarının T₄ beslenmesine bağlı olarak hemolenfteki ekdisteroid ve protein seviyesinde artışa neden olduğu ve ipek ve yumurta üretimini düzenlediği tespit edilmiştir [124].

Çalışmalarımızda kullandığımız *P. turionellae*, Lepidopter türlerinde idiobiont, soliter, pup parazitioti olup [126], önemli bir biyolojik kontrol ajanıdır. Konak tür olarak kullandığımız büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* larvaları, kovan içinde mum ile beslenerek, galeriler açarak peteklerin bozulmasına ve balın akmasına neden olurlar [126]. Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda, Crustacea'ler ve diğer böcek türlerinde de omurgalı hormonlarının varlığı tespit edilmiştir. Biz çalışmalarımızda omurgalılarda biyolojik aktiviteye sahip peptidlerin *P. turionellae* bireylerinde ve *G. mellonella* larva ve puplarında ortaya çıkıp çıkmayacağını inceledik.

Böceklerde omurgalı hormonlarının farmakolojik haberciler olarak fonksiyonlarının olabilecekleri önerilmektedir. Omurgalı ve omurgasızlar için ortak olan hormonların tanımlanması, bu maddelerin böceklerdeki fizyolojik rolü ve

metabolizmasının aydınlatılmasında ve karşılaştırmalı endokrinolojide yarar sağlayacaktır. İlaç sanayisinde omurgalı hayvanlar için ilaçların sentez edilmesinde, peptisit sanayisinde böcek gelişiminin düzenlenmesinde ve zararlılara karşı doğal insektisit geliştirilmesinde yararlanılabilir.

2. MATERYAL – METOD

Konak tür *G. mellonella* ve endoparazitoiti *P. turionellae* kültürleri Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarında üretildi. Laboratuvar da, 25 ± 2 ° C sıcaklık, % 60 ± 5 bağıl nem ve 12 : 12 saat aydınlık : karanlık (A:K) fotoperiyot şartları sağlandı. Odalarda sıcaklık 9000 BTU klima ve termostatlı radyatör kullanılarak, bağıl nem ise radyatörün her iki yanına asılan içi su dolu plastik kaplarla ve gerektiğinde laboratuvarların zeminine su serpilerek sağlandı. Laboratuvarlara ait sıcaklık ve nem değerleri maksimum – minimum termometre ve higrometre ile devamlı olarak takip edildi. Aydınlık – karanlık süresi fotoperiyot cihazlarıyla ayarlandı.

2. 1 Konak Kültürü

G. mellonella kültürü, balsız petekler 1 litrelik cam kavanozlara konulup ve içerlerine dişi ve erkek bireyler konularak oluşturuldu. Kavanozların ağzları hava sirkülasyonunu engellemeyecek şekilde tülbent bez ve delikli kapaklarla kapatıldı. Konak kültürden elde edilen erken evre ve son evre larvalar hormon analiz deneylerinde kullanıldı. Ayrıca kavanozlar içerisinde elde edilen son evre larvalar kültürden alınarak içinde katlanmış kağıtlar bulunan kavanozlara puplaşmaları için konuldu. Elde edilen puplar hormon analizlerinde ve parazitlenmeleri sağlanarak *P. turionellae* kültürü için kullanıldı.

2. 2 Parazitoit Kültürü

Deneylede parazitoit olarak idiobiont, soliter ve pup endoparazitoiti *P. turionellae* kullanıldı. *P. turionellae* stok kültürünün özünü kendi laboratuvarımızda yetiştirilmekte olan *P. turionellae* erginleri oluşturdu. Ergin bireyler 20x23x21 cm boyutlarındaki tel kafeslerde tutuldu. Parazitoit süksesif kültürünü oluşturmak için 10-40 gün yaşlı dişi ve erkek *P. turionellae* erginleri kullanıldı. *P. turionellae*

süksesif kültürünün hazırlanması için konak larvaları son evreye doğru kültürden alınıp içinde katlanmış kağıt bulunan bir litrelik cam kavanozlara bırakıldı ve puplaşmaları sağlandı. Elde edilen pupların her parazitoite beş konak pupu düşecek şekilde parazitoitler tarafından parazitlenmeleri sağlandı. Bu şekilde parazitoit kültürleri oluşturuldu ve deneyler boyunca devam ettirildi. *P. turionellae* erginleri her gün üç saat % 30 bal çözeltisi ile beslendi ve erginlere haftada iki kez parazitlemeyi takiben protein ihtiyaçlarını karşılamak için parazitoit başına bir pup verildi.

2.3 Örneklerinin Alınması

Deney gruplarının oluşturulabilmesi için *G. mellonella* larvaları erken evre larvalar (8 – 12 gr olan larvalar) ve son evre larvalar (15 gr ve üzeri larvalar) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Toplam böcek larvaları parçalanmak suretiyle ependorf içerisine alındı ve belirli oranlarda distile su ile seyreltildi. Örnekler 10000 devir/ dk da 10 dk santrifüj edildi. Çıkan hemolenf miktarları, Bayer Advia Centaur analizatöründe çalışacak kadar yeterli olmadı. Beş böcek 1/5 oranında seyrettilip çalışıldı. Çıkan sonuçlar seretme oranına göre uygu katsayı ile çarpıldı.

Parazitlemenin *G. mellonella* pupal hormon seviyelerine etkilerinin belirlendiği çalışmalarda puplar parazitlenmeleri amacıyla tel kafeslere konuldu ve parazitlendiğinden emin olunan puplar kafeslerden alındı. Parazitlemeyi takiben 2, 6 ve 24 saat sonra puplar – 20 °C de derin dondurucuya bırakıldı. Kontrol grubunda hiç parazitlenmemiş aynı evredeki puplar kullanıldı. Örneklerin hazırlanmasında derin dondurucudan çıkarılan puplar parçalanmak suretiyle ependorf içine alındı ve seyreltildi. Örnekler 10000 devir/ dk da 10 dk santrifüj edildi. Beş böcek 1/5 oranında seyrettilip çalışıldı. Çıkan sonuçlar syretme oranına göre çarpma işlemi uygulanıldı.

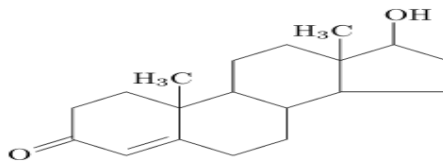
P. turionellae omurgalı hormon miktarlarının belirlendiği çalışmalarda, ergin parazitoit dişi ve erkek bireyleri 20 günlükten genç ve 20 günden yaşlı olmak üzere iki gruba ayrıldı. Erginler parçalanmak ve distile su içinde seyreltilmek suretiyle

örnekler hazırlandı ve 10000 devir/ dk da 10 dk santrifüj edildi. Beş böcek 1/10 oranında seyreltilip çalışıldı. Çıkan sonuçlar seyreltme oranına göre çarpma işlemi uygulandı.

2. 4. Hormon Analizi

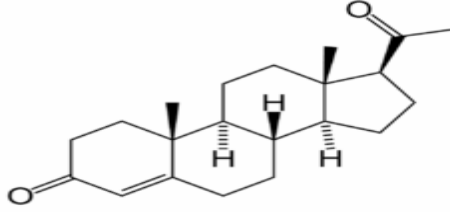
Böceklerde hormon analizi için kemilüminesans yöntemi ile çalışan Bayer'in Advia Centaur immünoanaliz cihazı ve Bayer Centaur reaktifleri kullanıldı. Kemilüminesans ışık biçimde enerji yayan kimyasal reaksiyondur. İmmünoanaliz yöntemiyle birleşince, reaksiyon tarafından oluşan ışık örnekteki analitin miktarını gösterir. Kemilüminesans işaretçisi olarak akrediyum esterleri kullanılır; bu sayede reaksiyonu kolaylaştırır, reaksiyon hızını ve ölçümün hassasiyetini sağlar. Akrediyum esterleri hidrojen peroksidad tarafından oksitlenir ve ışık yayılımı asitten baza doğru değişimle en yüksek seviyeye çıkar. Akrediyum esterleri antikora kovalent olarak bağlanarak reaksiyon gerçekleşir. Cihazda gerçekleşen işlemlerin ilk adımında işaretlenen akrediyum esterleri, numuneye ilave edilir. Numunedeki analit – özgül antijene spesifik olarak bağlanır. İkinci adımda PMP (manyetik alan oluşturan demir oksit kristalleri içerir) ilave edilerek, 37 °C'de tekrar inkübe edilir. PMP, işaretli akrediyum esterlerin bağlandığı antijene bağlanır. Sonraki adımda küvette mıknatıs alanı oluşur ve küvet akrediyum esterlerine bağlı antijen içerir. Son basamakta asit ve baz çözeltileri kemilüminesansı başlatması için eklenir. Üretilen ışık miktarı sayesinde antijenin derişimi ölçülür.

Testosteron hormonu (şekil 2.2) analizinde ilk olarak 15 µL numune ve 50 µL serbestleştirici reaktif (releasing agent) küvet içine konulur. Lite solüsyonundan 50 µL ve solid fazdan 300 µL konulup 37 °C de 5 dk inkübe edilir. Reagent water ile küvetler yıkanır. Asit ve baz çözeltilerinin her birinde 300 µL konulur ve kemilüminesans reaksiyon başlatılır. Analiz işlemlerinde Bayer' in testosteron kiti kullanılmıştır.



Şekil2.2 Testosteronun kimyasal yapısı

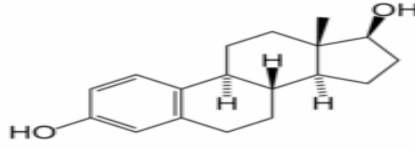
Progesteron hormon (şekil 2.3) analizinde; numunede ki progesteron, lite reagent da akridiyum ester bağlı fare monoklonal anti – progesteron türevlerine bağlanır. Bağlı olmayan antikor progesteron türevleri, solid fazda kovalent olarak pragmatik partiküllere bağlanırlar. Sistem çalışırken takip edilen basamaklarda ilk olarak 20 µL numuneden ve 90 µL serbestleştirici reaktif küvetlere dağıtılır. 100 µL lite reagent konup, 2.5 dk 37 °C’de inkübe edilir. Sonra 200 µL solid faz konup, 37 °C’de 5 dk inkübe edilir. Reagent water ile küvetlere dağıtılıp aspire edilerek yıkanır. Her birinden 300 µL asit ve baz çözeltilerinin konulmasıyla kemilüminesens başlar. Analiz işlemleri sırasında Bayer’in progesteron kiti kullanıldı.



Şekil 2.3. Progesteronun kimyasal yapısı

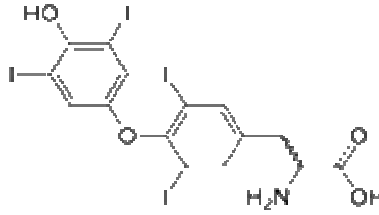
Folikül uyarıcı hormon (FSH) analizinde ilk olarak 100 µL numune küvete konur. 50 µL Lite reagent konulup, 5 dk 37 °C’de inkübe edilir. 225 µL solid faz konulup 2,5 dk 37 °C de inkübe edilir. Reagent water' la küvetler yıkandıktan sonra 300 µL asit ve baz çözeltilerin konulmasıyla kemilüminesens başlar. Analiz işlemleri sırasında Bayer’in FSH kiti kullanıldı.

Östrojen hormonu (şekil 2.4) çalışırken, 50 µL numuneden ve 50 µL antikor solüsyonundan konularak 5,5 dk 37 °C de inkübe edilir. Sonraki basamakta Lite solüsyonundan 50 µL ve solid fazdan 250 µL konularak 5 dk 37 °C’de inkübe edilir. Reagent water’la küvetler yıkandıktan sonra 300 µL asit ve baz çözeltilerinin konulmasıyla kemilüminesens başlar. Analiz işlemleri sırasında Bayer’ in östrojen kiti kullanıldı.



Şekil 2.4. Estradiol 17 β kimyasal yapısı

Tiroksin (3,5,3',5'-L-tetraiodothyronine, T₄) (şekil2.5) analizinde küvetin içine 25 μ L örnekten ve 50 μ L T₃/ T₄/ VB12 yardımcı reaktifi konulduktan sonra, 250 μ L solid faz ve 100 μ L lite reagentı tüplere dağıtıldıktan sonra 7.5 dakika inkübasyon işlemine tabi tutulur. Daha sonra Reagent water' la küvetler yıkanmasını takiben 300 μ L asit ve baz çözeltilerin konulmasıyla kemilüminesens başlar. Analiz işlemleri sırasında Bayer' in T₄ kiti kullanıldı.



Şekil 2.5 Tiroksin kimyasal yapısı

2.5 İstatistik

Deney serilerinden elde edilen veriler kendi aralarında karşılaştırılmak suretiyle değerlendirildi. *G. mellonella* da erken evre larva, son evre larva ve pupta omurgalı hormon miktarları, parazitlenmiş ve parazitlenmemiş pupta hormon miktarları, *P. turionellae* da 1 – 20 günlük erkek ve dişi, 20 günden yaşlı erkek ve dişi erginlerindeki hormon miktarları Tek Yönlü Varyans Analizi (SPSS 1999) ile değerlendirildi. T₄ ve östrojen hormonlarına istatistik yapılmadı. Ortalamalar arası farklılık (Tukey's HSD) testleri ile belirlendi. Değerlendirmelerde anlamlılık düzeyi $\alpha=0.05$ olarak esas alındı.

3. BULGULAR

3.1. *G. mellonella* Omurgalı Hormon Miktarları

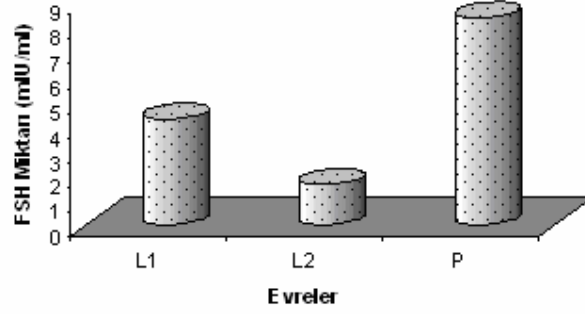
3.1.1. *G. mellonella* Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı

G. mellonella'da FSH (folikül uyarıcı hormon) miktarı Tablo 3.1' de verilmektedir. Erken evre larva, son evre larva ve pupta FSH miktarları sırasıyla 4.28, 1.60 ve 8.33 mIU/mL olarak belirlendi. Erken evre ve son evre larvalarda FSH miktarlarındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, pup evresinde FSH miktarındaki değişim diğer evrelere göre istatistiksel olarak anlamlıydı. ($F = 13.426$, $P < 0.05$)

Tablo 3.1. *G. mellonella*' da Folikül Uyarıcı Hormon Miktarları(mIU/mL)

	Min – Mak	($\bar{x} \pm SH$)*
Erken evre larva	2.64 – 5,96	4. 28 \pm 0.96 a
Son evre larva	0.54 – 2.82	1.60 \pm 0.66 a
Pup	7.20 \pm 10.53	8.33 \pm 1.10 b

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında fark istatistiksel olarak önemsizdir. ($P > 0.05$; Tukey's HSD testi). FSH (folikül uyarıcı hormon)



Şekil 3.1 *G. mellonella* Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı

*L1= Erken evre larva, L2= Son evre larva, P= Pup

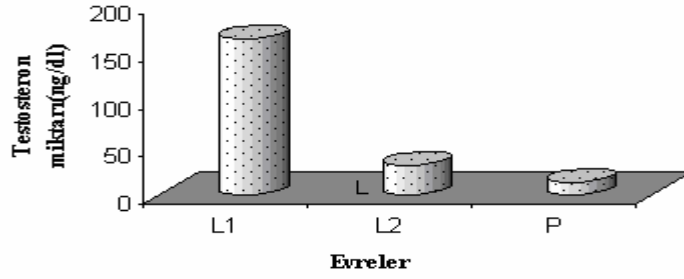
3.1.2 *G. mellonella* Testosteron Miktarı

G. mellonella testosteron (TSTO) miktarı Tablo 3.2' de verilmektedir. Erken evre larva, son dönem larva ve pupta TSTO miktarı 164.51, 30.88 ve 43.11 ng/dL olarak belirlendi. Tablo 3.2 incelendiğinde erken evre larvada testosteron oranının son evre larva ve pup da bulunan testosteron miktarından fazla olduğu görülmektedir. Testosteron miktarının erken evre larvadan pupa doğru geçiş sırasında azaldığı görülmektedir. Deney grupları içinde testosteron miktarında ki bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($F = 8.956$, $P < 0.05$).

Tablo 3.2 *G. mellonella*' da Testosteron Miktarı(ng/dL)

	Min – Mak	($\bar{x} \pm SH$)*
Erken evre larva	112.38 – 229.80	164.51 \pm 34.53 a
Son evre larva	28.35 – 32.53	30.88 \pm 1.08 b
Pup	15.35 – 93.40	43.11 \pm 25.19 b

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında fark istatistiksel olarak önemsizdir. ($P > 0.05$; Tukey's HSD testi). TSTO (testosteron)



Şekil 3.2 *G. mellonella* Testosteron miktarı

*L1= Erken evre larva, L2= Son evre larva, P= Pup

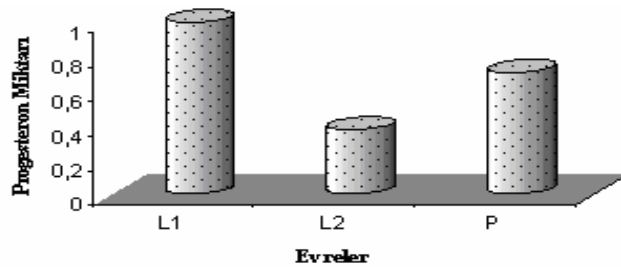
3.1.3 *G. mellonella* Progesteron Miktarı

G. mellonella progesteron (PRGE) miktarları Tablo 3.3' de verilmektedir. Erken evre larva, son dönem larva ve pupta PRGE miktarı 1, 0.38 ve 0.71 ng/mL olarak belirlendi. Fakat farklı dönemlerdeki çıkan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($F = 0.497$, $P > 0.05$).

Tablo 3.3 *G. mellonella*' da Progesteron miktarı (ng/mL)

	Min – Mak	$(\bar{x} \pm SH)^*$
Erken evre larva	0.35 – 1.50	1.00 ± 0.11 a
Son evre larva	0.17 – 0.53	0.38 ± 0.11 a
Pup	0.02 – 2.06	0.71 ± 0.67 a

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında fark istatistiksel olarak önemsizdir. ($P > 0.05$; Tukey's HSD testi). PRGE (progesteron)



Şekil 3.3 *G. mellonella* Progesteron Miktarı

*L1= Erken evre larva, L2= Son evre larva, P= Pup

3.2. *P. turionellae* Omurgalı Hormon Miktarları

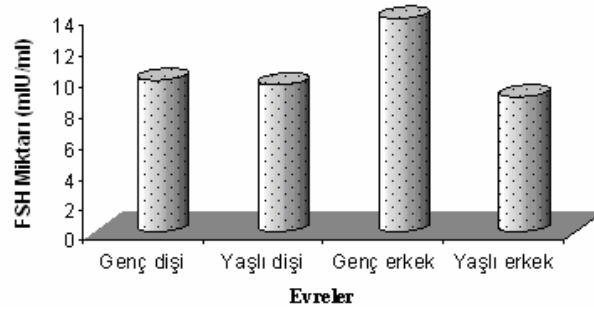
3.2.1 *P. turionellae* Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı

P. turionellae da omurgalı hormonlarından FSH (folikül uyarıcı hormon) miktarı Tablo 3.4’ de verilmektedir. 1 – 20 günlük genç dişi, 20 günden yaşlı dişi, 1 – 20 gün genç erkek ve 20 günden yaşlı erkek de FSH miktarı 9.88, 9.58 ve 13.06 mIU/mL olarak belirlendi. 1- 20 günlük dişilerle 20 günden yaşlı dişiler karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık görülmedi. 1- 20 günlük genç erkekler ile 20 günden yaşlı erkekler arasında FSH miktarlarında farklılık olmasına karşın bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($F = 0.780, P > 0.05$).

Tablo 3.4 *P. turionellae*’ de Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı (mIU/mL)

	Min – Mak	($\bar{x} \pm SH$)*
1 – 20 günlük genç dişi	5.18 – 14.43	9.88 \pm 2.67 a
20 günden yaşlı dişi	1.00 – 14. 76	9.58 \pm 4.29 a
1 – 20 günlük genç erkek	13.06 – 14.8	13.87 \pm 0.51 a
20 günden yaşlı erkek	7.30 – 9.90	8.81 \pm 0.78 a

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında fark istatistiksel olarak önemsizdir. ($P > 0.05$; Tukey’s HSD testi). FSH (folikül uyarıcı hormon)



Şekil 3.4 *P. turionellae* Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı

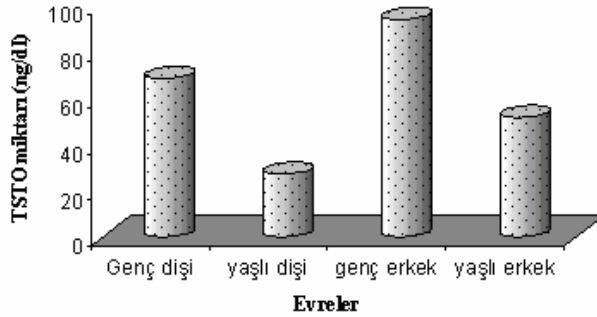
3.2.2 *P. turionellae* Testosteron Miktarı

P. turionellae da TSTO (testosteron) miktarı Tablo 3.5' de verilmektedir. 1 – 20 günlük genç dişi, 20. günden yaşlı dişi, 1 – 20 gün genç erkek ve 20 günden yaşlı erkek de TSTO miktarı 68.57, 27.61 ve 93.85 ng/dL olarak belirlendi. Tablo 3.5. de Testosteron miktarının genç dişiden yaşlı dişiye ve genç erkekten yaşlı erkeğe doğru geçiş sırasında azaldığı görülmektedir. Fakat deney grupları içinde testosteron miktarında ki bu değişim istatistiksel olarak anlamlı değildi. (F = 3.301, P> 0.05)

Tablo 3.5 *P. turionellae*' da Tetosteron Miktarı (ng/dL)

	Min – Mak	($\bar{x} \pm SH$)*
1 – 20 günlük genç dişi	53.06 – 92.64	68.57 \pm 12.20 a
20 günden yaşlı dişi	17.00 – 47.48	27.61 \pm 9.94 a
1 – 20 günlük genç erkek	65.14 – 135.30	93.85 \pm 21.23 a
20 günden yaşlı erkek	30.8 – 82.36	51.82 \pm 15.63 a

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında fark istatistiksel olarak önemsizdir. (P>0.05; Tukey's HSD testi). TSTO (testosteron)



Şekil 3.5 *P. turionellae* Testosteron Miktarı

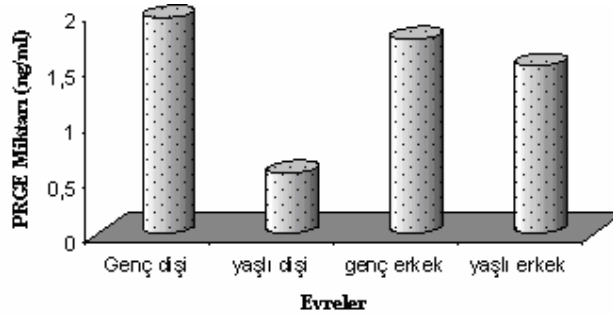
3.2.3 *P. turionellae* Progesteron Miktarı

P. turionellae da omurgalı hormonlarından PRGE (progesteron) miktarı Tablo 3.6' da verilmektedir. 1 – 20 günlük genç dişi, 20 günden yaşlı dişi, 1 – 20 gün genç erkek ve 20 günden yaşlı erkek de PRGE miktarı 1.94, 0.55 ve 1.75 ng/mL olarak belirlendi. Tablo 3.6 incelendiğinde genç bireylerdeki progesteron miktarının yaşlı bireylerdekinden daha fazla olduğu gözlemlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ($F = 2.439$, $P > 0.05$).

Tablo 3. 6 *P. turionellae*' da Progesteron Miktarı (ng/mL)

	Min – Max	($\bar{x} \pm SH$)*
1 – 20 günlük genç dişi	1.50 – 2.30	1.94 \pm 0.23 a
20 günden yaşlı dişi	0.33 – 0.69	0.55 \pm 0.11 a
1 – 20 günlük genç erkek	1.00 – 2.93	1.75 \pm 0.60 a
20 günden yaşlı erkek	0.67 – 2.20	1.51 \pm 0.45 a

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında fark istatistiksel olarak önemsizdir. ($P > 0.05$; Tukey's HSD testi). PRGE (progesteron)



Şekil 3.6 *P. turionellae* Progesteron Miktarı

3.3 Parzitlemenin *G. mellonella* Omurgalı Hormon Etkisi

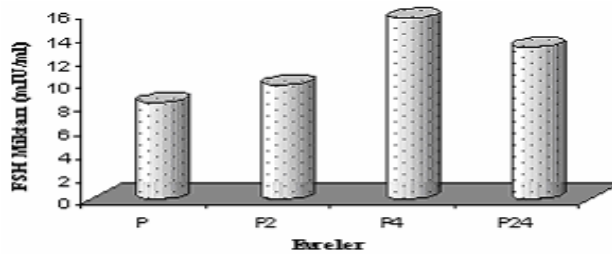
3.3.1 Parzitlemenin *G. mellonella* da Folikül Uyarıcı Hormon Miktarına Etkileri

Parazitlenen *G. mellonella* pupunda; omurgalı hormonlarından FSH (folikül uyarıcı hormon) miktarı Tablo 3.7’ de verilmektedir. Parazitlenmemiş pup, parazitleme işlemi yapıldıktan 2 saat sonra analiz yapılan pup, parazitleme işlemi yapıldıktan 6 saat sonra analiz yapılan pup ve parazitleme işlemi yapıldıktan 24 saat sonra analiz yapılan pupda FSH miktarı 8.33, 9.37 ve 15.55 ng/mL olarak belirlendi. Fakat çıkan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($F = 3.66$, $P > 0.05$)

Tablo 3.7 Parazitlenen *G. mellonella* pupunda Folikül Uyarıcı Hormon miktarı (mIU/mL)

	Min – Mak	($\bar{x} \pm SH$)*
Parazitlenmemiş pup	7.20 – 10.53	8.33 \pm 1.10 a
Parazitlenmiş pup 2 saat sonra	6.47 – 14.27	9.87 \pm 2.31 a
Parazitlenmiş pup 6 saat sonra	13.00 – 18.63	15.55 \pm 1.64 a
Parazitlenmiş pup 24 saat sonra	10.96 – 15.93	13.06 \pm 1.49 a

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında fark istatistiksel olarak önemsizdir. ($P > 0.05$; Tukey’s HSD testi). FSH (folikül uyarıcı hormon)



Şekil 3.7 Parazitlenen *G. mellonella* da Folikül Uyarıcı Hormon Miktarı

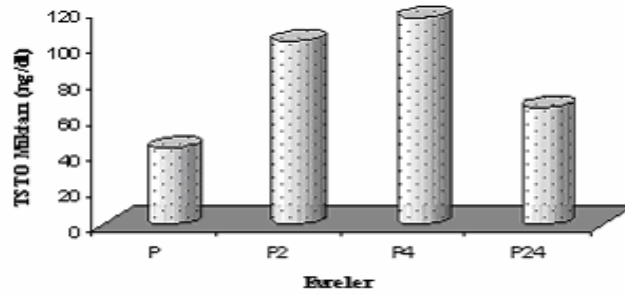
3.3.2 Parazitlenenin *G. mellonella* da Testosteron Miktarına Etkileri

Parazitlenen *G. mellonella* pupunda; omurgalı hormonlarından TSTO (testosteron) miktarı Tablo 3.7' de verilmektedir. Parazitlenmemiş pup, parazitlenme işlemi yapıldıktan 2 saat sonra analiz yapılan pup, parazitlenme işlemi yapıldıktan 6 saat sonra analiz yapılan pup ve parazitlenme işlemi yapıldıktan 24 saat sonra analiz yapılan pup da TSTO miktarı 43.11, 103.04 ve 116.11 ng/dL olarak belirlendi. Kontrol grubu olan parazitlenmemiş pup ile parazitlendikten 2saat ve 6 saat sonra testosteron miktarında önemli bir artış olurken, 24 saat sonra bu miktarın azaldığı gözlemlenmiştir. Buna rağmen çıkan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($F = 2.781, P > 0.05$)

Tablo 3.8 Parazitlenen *G. mellonella* pupunda Testosteron Miktarı (ng/dL)

	Min – Mak	($\bar{x} \pm SH$)*
Parazitlenmemiş pup	15.35 – 93.40	43.11 \pm 25.19 a
Parazitlenmiş pup 2 saat sonra	64.80 – 145.70	103.04 \pm 23.46 a
Parazitlenmiş pup 6 saat sonra	86.13 – 147.56	116.11 \pm 17.75 a
Parazitlenmiş pup 24 saat sonra	47.8 – 85.53	65.91 \pm 10.92 a

* Aynı sütunda aynı harfi taşıyan değerler arasında fark istatistiksel olarak önemsizdir. ($P > 0.05$; Tukey's HSD testi). TSTO (testosteron)



Şekil 3.8 Parazitlenen *G. mellonella* da Testosteron Miktarı

3.3.2 Parazitlemenin *G.mellonella* da Progesteron Miktarına Etkileri

Parazitlenen *G. mellonella* pupunda; omurgalı hormonlarından PRGE (progesteron), kontrol grubu olan parazitlenmemiş pupta sonuç alınmıştır; ancak; Tablo 3.9’da da gösterildiği gibi parazitleme işlemi yapıldıktan 2 saat sonra analiz yapılan pup, parazitleme işlemi yapıldıktan 6 saat sonra analiz yapılan pup ve parazitleme işlemi yapıldıktan 24 saat sonra analiz yapılan pup da PRGE miktarın tayin sınırının altında bulunmuştur.

Tablo 3.9 Parazitlenen *G. mellonella* pupunda Progesteron Miktarı (ng/ml)

	Min – Mak	$(\bar{x} \pm SH)^*$
Parazitlenmemiş pup	0.02 – 2.06	0.71 \pm 0.67 a
Parazitlenmiş pup 2 saat sonra	0.00 – 0.06	0.00 \pm 0.00 a
Parazitlenmiş pup 6 saat sonra	0.00 – 0.00	0.00 \pm 0.00 a
Parazitlenmiş pup 24 saat sonra	0.00 – 0.00	0.00 \pm 0.00 a

3.4 *G. mellonella* ve *P.turionellae*’ da Östrojen ve Tiroksin Hormonları

Erken evre larva, son evre larva, 1 – 20 günlük dişi, 20 günden büyük dişi, 1 – 20 erkek ve 20 günden büyük erkeklerde yapılan analizlerde, Östrojen (17 β estradiol 6) ve T₄ (3, 5, 3¹, 5¹ – L tetraidothyronine) reaktifi ile reaksiyona girmediği gözlenmiştir.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Nöropeptidler böceklerde ayrıntılı bir şekilde tanımlanmıştır. Davranışların başlatılması veya organize edilmesinde, gelişim süreçlerinde, üreme fonksiyonlarında, su – tuz dengesinde, kritik fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynadığı belirtilmiştir [128]. Böcekler üzerinde yapılan, immünohistokimyasal ve radyoimmünoanaliz çalışmalarının sonucunda, omurgalı hormonlarının varlığı da tespit edilmiştir. Bu yapıların, özellikle merkezi sinir sisteminde bölgelediği gözlemlenmiştir [128]. Ancak omurgasızlarda tanımlanan omurgalı hormonlarının fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir. Çünkü çok az biyolojik veriye ulaşılmıştır ve kimyasal olarak veri bulunmamaktadır. İzolasyon, karakterize edilmesi ve moleküler dizilim gibi birçok kimyasal bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır.

Yapılan bir çalışmada; *Sarcophaga bullata* larvalarında testosteron ve progesteron yapılarının varlığı kromatografik analiz ve radyoimmünoanaliz (RIA) sonucunda tespit edilmiştir. RIA ile birlikte Sephadex LH – 20 kolon kromatografisinde *S. bullata* larvasının hem testosterona hem de progesterona karşı antikorlar içerdiği gösterilmiştir. Bu verilerin elde edilmesi farklı analitik yaklaşımlarla sağlandığından, *S. bullata* larvasının testosteron ve progesteron içerdiği kesin olarak söylenmektedir. Yapılmış olan analizlerde östrojen eser miktarda bile ne RIA da ne de NCI/ GC – MS de kimyasal reaksiyon göstermemiştir [118].

Yapılan çeşitli çalışmalarda, estradiol 17 β (E₂) farklı böceklerin vücut sıvılarında tanımlanmıştır [115, 120, 144]. Laboratuvarda yapılan çalışmalarda, ipek böceği ipek bezinde estradiol 17 β , (E₂), ICI – 182780 (anti östrojenik bileşik) ile karşı reaksiyona geçtiği gözlemlenmiştir [123]. İpek böceği *B.mori* üzerinde yapılan bir çalışmada, beşinci dönem larvaya enjekte edilen estradiol 17 β (E₂)’ nın yağ dokusunu etkilediği anlaşılmıştır.

Crustacea üzerinde yapılan bir başka çalışmada; estradiol 17 β , progesteron ve 17 α hidroksiprogesteron gibi omurgalı tipi steroid hormonlarının varlığı, hemolenf ve yumurtalıklarda tespit edilmiştir [129, 130]. Bu steroid tip hormonların, ovipar omurgalılarda oosit gelişimini tetiklediği bilinmektedir [131]. Omurgalı tip steroid hormonlarının fonksiyonlarının, dişi karidede üreme fizyolojisindeki rolü incelenmiştir. *Marspenaeus japonicus* karidesinde omurgalı tip steroid hormonları ile yumurtalık gelişimindeki korelasyon açıklanmıştır. Doğal üreme döngüsü hemolenfte bulunan estradiol 17 β , estriol, testosteron ve 11 ketotesteron yumurtalık gelişiminde kayda değer bir ilişki gözlenmemiştir. Alternatif olarak üremede ki etkilerine ilaveten Crustacea da diğer işlevleri de araştırılmıştır. Progesteron ve kortikosteronun *Procembaeus digueti* kerevetinde fotoreseptörlerin uyarılmasında etkili olduğu [131], estradiol 17 β 'nin, *Macrobrachium rosenbergii* tatlı su kerevetinde iyon taşınımında ve metabolik aktivitesinde etkili olduğu gözlemlenmiştir [124, 125]. *Protonus trituberculatus* yengecinin yumurtalıklarında, progesteron 11 ketosteron, testosteron ve 17 α hidroksiprogesteron dönüşürülmüştür. İğneli ıstakoz *Panulirus japonicus*'a enjekte edilen kolesterol ise progesteron, testosteron ve 17 α hidroksiprogesteron çevrilmiştir [132]. Günümüzdeki çalışmalarda hormon seviyeleri EIA ile (enzim immünoanaliz) ölçülmüştür, bu ölçümler daha önce kullanılan gaz kromatografisi – kütle kromatografisi (GC/MS) gibi analizlerden daha hassastır. Çünkü immünolojik metotta kullanılan antikorlar çok düşük oranları bile okumaktadır. Bu sayede, bugünkü çalışmaların verileri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir [132].

Bayer Advia Centaur kemilimünesans yöntemiyle çalışan cihazda yapılan analizlerde *G. mellonella* erken evre larva, geç evre larva ve hiçbir işleme tabi tutulmamış pup; *P. turionellae* 1 – 20 günlük dişi ve erkek, 20 günden büyük dişi ve erkeklerin testosteron ve progesteron içerdiği tespit edildi. Parazitlemenin, omurgalı hormon seviyelerini etkileyip etkilemediği incelendi. Parazitleme işlemine tabi tutulan puplar 2 saat, 4 saat ve 24 saat sonra analiz edildi. Ancak progesteron miktarı tayin sınırın altında çıktı. Buna karşın parazitleme işlemine tabi tutulmuş kontrol grubu puplarda testosteron tespit edildi. *S. bullata* larvasında olduğu gibi, *G. mellonella* erken ve geç evre larvalarında ve *P. turionellae* genç dişi ve erkek ile yaşlı

dişi ve erkek bireylerinde östrojen tayin sınırının altında olduğundan tespit edilemedi.

Omurgalı hormonlarından folikül uyarıcı hormon (FSH) böcekler üzerinde de çalışmalar yapılmıştır. Glikoprotein yapısında ki α ve β FSH yapılarını kodlayan boculovirus vektör tarafından böceklerde de sentezlendiği anlaşılmıştır. Geniş bir biçimde tanımlanan recFSH, kolon kromatografisinde homojen biçimde ayrılmıştır. Sığır granüloz hücrelerinde ve sığır oositlerin germinal vesikül bozulmasında (GVBD) üretilen progesteron analizi sırasında, böceklerde bulunan tüm recFSH kısımları, hipofiz türevi hormonlarla eşit aktivite sergilemiştir. [118].

G. mellonella da erken ve geç evre larva, hiçbir işleme tabi tutulmamış pup ve parazitleme işlemine tabi olmuş pup ile *P. turionellae*'nn genç dişi ve erkeğinde, yaşlı dişi ve erkeğinde folikül uyarıcı hormon varlığı tespit edilmiştir.

Omurgalılarıdaki tiroid bezlerinden salınan T_3 ve T_4 hormonları, omurgasızlar üzerinde de çalışılmıştır. Bu bileşiklerin omurgasızlarda vitaminler gibi fonksiyonları olabileceği önerilmiştir [135]. Böceklerde ekzojen orjinli T_4 ' ün, etkilerinin gösterildiği birçok çalışma mevcuttur. En son çalışmalardan birinde, *B.mori* ipek böceği larvalarının beslenmesi sonucu T_4 hormonunun, hemolenfte artışa neden olduğu, aynı zamanda ipek ve yumurta gelişimini düzenlediği, en yeni olarak da ekdizon etkisi yorumlanmıştır.[136, 137]. Chaudhuri ve ark. Hindistan'da yaptıkları çalışmalarda ipek böceğine, T_4 ' ün enjeksiyonu sonucunda metabolik etkiye sahip olduğuna değinmişlerdir [138]. In vitro çalışmalarda *Hyalophora cecropia* da trigliserit ve yağ asitlerin salınımını artırdığı gösterilmiştir [138]. Ayrıca *B.mori* de T_4 enjeksiyonunun, ipek bezlerinde ve yumurtalıklarda iyon özgül ATPaz'ın aktivitesini artırdığı da gözlemlenmiştir[140].

Ticari olarak kullanılan radyoimmünoanaliz kitlerinde, T_3 ' ün hemolenfte meydana geldiği gösterilmiştir, fakat diğer dokularda gösterilememiştir. T_3 ün gonadotropik döngü boyunca miktarı değişmiştir. Bu yapıların orjini besindir. İmmünoreaktif T_3 ve T_4 içeren buğday filizi ve kepek ile beslenilmesi sonucu görülmüştür. İmmünoreaktif olmayan T_4 hemolenfte gözlemlenememiştir [140].

Biz yapmış olduğumuz çalışmada besine bağlı olmaksızın toplam vücutta T₄ olup olmadığını araştırdık. *G. mellonella* erken evre larva ve geç evre larvaları ile *P. turionellae* genç birey ve yaşlı bireylerinde yapılan analizler sonucu T₄ bulunamadı.

Yapmış olduğumuz bu tarz çalışmaları böcek endokrinolojisi ile ilişkilendirebiliriz. Böceklerdeki omurgalı hormon benzeri yapıların varlığı farmakolojik yapılar olarak fonksiyon gösterebilmektedir. Allaxon, streptozotocin, chlorpropamide, tobutamide, phenformin ve neutral redin dahil olduğu omurgalı hiperglisemik ve hipoglisemik yapılar böceklerde aktivite göstermiştir [143 – 145]. İlaç sektörüne bağlı kimyacılar, omurgalı hayvanlar için en iyi metabolik aktiviteye sahip ilaçlar sentezlemekte ve pestisit kimyacıları böcek gelişimi için (böcek farmakolajisi) potansiyel kullanılan bileşikler geliştirmektedir. Bu yapılarla ilgilenenler, yeni bileşikler üretebilir veya var olan bileşiklerin aktivitelerini gösterebilirler [115].

KAYNAKLAR

- [1] Öncüer , C., “Tarımsal zararlılarla savaş yöntemleri ve ilaçları”, Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, 13, Aydın, (2000), 379 s.
- [2] Akman, N. E. ve Gülel A., “Ergin yaşı ve konukçu türünün parazitoit *Bracon hebetor* (say) (Hymenoptera : Braconidae)’ un gelişme sürelerine etkisi”, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Dergisi*, 20 (2): (2005) 31 – 36.
- [3] Greathead, D.J. and Waage, J.K., “Opportunities for biological control of agricultural pests in developing countries”, *World Bank Technical Paper*, Number 11, The World Bank, Washington, D.C., U.S.A., (1983).
- [4] Uçkan, F. and Gülel, A., “ Age related fecundity and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Hym.; Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its hyperparasitoid *Dibrachys boarmiae* (Hym.; Pteromalidae)”, *J. Appl. Ent.*,126 (10), (2002) 534 – 537.
- [5] Uçkan, F. ve Gülel, A., “*Apanteles galleriae* Wilkinson (Hym.; Braconidae)’nın verim ve eşey oranına, parazitoit-dişi eşdeğeri konak sayısındaki artışın etkileri”, *BAÜ Fen Bil. Enst. Derg.*, 1(1), (1999) 16-25.
- [6] Bin, F., Vinson, S.B., Strand, M.R., Colazza, S. and Jones, W.A., “Source of an egg kairomone for *Trissolcus basalis*, a parasitoid of *Nezara viridula*”, *Physiological Entomology*, 18, (1993) 7-15.
- [7] Wharton, R.A., “Bionomics of the Braconidae”, *Ann. Rev. Entomol.*, 38, (1993) 121.
- [8] Brower, J.H. and Press, J.W., “Interactions between the egg parasite *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera; Trichogrammatidae) and a predator, *Xyloris flavipes* (Hemiptera; Anthocoridae) of the Almond moth, *Carda cautella* (Lepidoptera; Pyralidae)”, *J. Entomol. Sci.*, 23 (4), (1988) 342.
- [9] Brower, J.H. and Pres, J.W., “Interaction of *Bracon hebetor* (Hymenoptera; Braconidae) and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera; Trichogrammatidae) in supressing stored-product moth populations in small inshell peanut storages”, *J. Eco. Entomol.*, 83 (3), (1990) 1096.

[10] Nealis, V. and Frankenhyzen, K.V., "Interactions between *Bacillus thuringiensis* Berliner and *Apanteles fumiferanae* Vier. (Hymenoptera; Braconidae), a parasitoid of the Spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera; Tortricidae)", *The Canadian Entomologist*, 122 (7/8), (1990) 588.

[11] Gülel, A., "Studies on the biology of the *Dibrachys boarmiae* (Walker) (Hymenoptera; Pteromalidae), parasitic on *Galleriae mellonella* L.", *Z. Ang. Ent.*, 94, (1982).

[12] Obrycki, J.J., Tauber, M.J. and Tauber, C.A., "*Perilitus coccinellae* (Hymenoptera; Braconidae) parasitization and development in relation to host-stage attacked, *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 78(6), (1985) pp 852.

[13] Godfray, H.C.J., "Parasitoids-Behavioral and Evolutionary Ecology", *Princeton University Press*, New Jersey, (1994).

[14] Driesche, R.G., "Field measurement of population recruitment of *Apanteles glomeratus* L. (Hymenoptera; Braconidae), a parasitoid of *Pieris rapae* L. (Lepidoptera; Pieridae) and factors influencing adult parasitoid foraging success in Kale", *Bull. Ent. Res.*, 78, (1988) 199.

[15] Faulds, W., "Spread of *Bracon phylacteophagus*, a biocontrol agent of *Phylacteophaga froggatti*, and impact on host", *New Zealand Journal of Forestry Science*, 21 (2/3), (1991) 185.

[16] Hirashima, Y., Miura, K., Miura, T. and Matsuda, S., "Studies on the biological control of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus), functional responses of the egg-parasitoids *Trichogramma ostriniae* to host densities", *Sci. Bull. Fac. Agr.*, Kyushu Univ., (1990) 89.

[17] Melton, C.W. and Browning, H. W., "Life history and reproductive biology of *Allorhogas pyralophagus* (Hymenoptera; Braconidae), a parasite imported for release against *Eoreuma loftini* (Lepidoptera; Pyralidae)", *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 79 (3), (1986) 402.

[18] Beckage, N., E., "Endocrine Interactions Between Endoparasitic Insects and Their Hosts", *Annual Review of Entomology*, 30 (1985): 371 – 413.

[19] Scharrer, B. "The neurosecretory neuron in neuroendocrine regulatory mechanisms" *Am. Zool.*, 7, (1967) 161 – 169.

[20] Orchard I., Loughton B. G., “Neurosecretion” , York University, Downsview, Ontario, Canada.

[21] Parlak O., Ünal G., “İpekböceği *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) beyin nörosalgı hücrelerinde beşinci larval evre süresince hemolenf ektisteroid değişmelerine bağlı farklılıkların araştırılması” *Tr. J. of Zoology*, 23 (1999) Ek Sayı 2, pp. 733 – 737.

[22] Wigglesworth V.B., Williams C. “Endocrine systeme or neuroendocrine systeme”.

[23] Bern, H. A., and Knowles F. G. W., “Neurosecretion. In neuroendocrinology” , pp. 139 – 186. (1966) Edited by L. Martini and W. F. Ganong. Academic Press, New York.

[24] Silverberg, A. B., Shah, S. D., Haymond, M. W. And Cryer, P. E. “Norepinephrine hormon and neurotransmitter in man”, *Am. J. Physiol.* (1978) 234, 252 – 256.

[25] Orchard, I. “Octopamine in insects. Neurotransmitter, neurohormone and neuromodulator.” *Can. J. Zool.*, 60, (1982) 659 – 669.

[26] Livingstone, M. S., Harris – Warrick, R. M. And Kravatz, E. A., “Serotonin ve octopamine produce opposite postures in lobster.”, *Science*, 208 (1980), 76 – 79.

[27] Goosey, M. W., and Candy, D. J., “The D – octopamine content of the haemolymph of the locust, *Schistocerca americana gregaria* and its elevation during flight”, *Insect Biochem.* 10, (1980) 393 – 397.

[28] David, J. C., and Lafon – Cazal, M. “Octopamine distribution in *Locusta migratoria* nervous and non – nervous systeme”, *Comp. Biochem. Physiol.*, 64C, (1979) 161 – 164.

[29] Orchard, I. “Neurosecretion: morphology and physiology. In insect endocrinology”, Edited by R. G. H. Downer and Laufer, Alan R. Liss, Inc., New York.

[30] Brady, J., and Maddrell, S. H. P., “Neurohaemal organs in the medial nervous system of insects”, *Z. Zellforsch. Mik. Ana.* 76, (1967), 389 – 404.

[31] Maddrell, S. H. P., “Neurosecretion”, *In insect neurobiology*, pp. 307 – 357. (1974) North Holland Publishing, Amsterdam.

[32] Maddrell, S. H. P., and Nordmann, J. J., "Neurosecretion", (1979). Blackie, Glasgow and London.

[33] Finlayson, L. H., and Osborne, M. P. "Peripheral neurosecretory cells in the stick insect (*Carausius morosus*) and the blowfly larva (*Phormia terrae - novae*)", *J. Insect. Physiol.*, 14, (1968) 1793 – 1801.

[34] Raabe, M. "Neurosecretion in the ventral nerve cord of insects", *In insects endocrines*, (1971) pp. 105 – 114, Academia Prague.

[35] Raabe, M., Baudry, N., Grillot J. P. and Provansal, "Les organes perisymphatiques des insectes pterygotes. Distribution. Caracteres generaux", *C.R. Acad. Sci. Paris*. 273, (1971) 2324 – 2327.

[36] Fifield, S. and Finlayson, L. H. "Peripheral neurons and peripheral neurosecretion in the stick insect, *Carausius morosus*", *Proc. R. Soc. Lond. B*. 200, (1978) 63 – 85.

[37] Hinks, C. F. "Peripheral neurosecretory cells in some Lepidoptera", *Cn. J. Zool.* 53, (1975) 1035 – 1038.

[38] Orchard, I. and Finlayson, L. H., "Electrical properties of identified neurosecretory cells in the stick insect", *Comp. Biochem. Physiol.*, 58A, (1977a) 87 – 91.

[39] Basurmanova, O. K., and Panov. A. A., "Structure of the neurosecretory system in Lepidoptera. Light and electron microscopy of type A neurosecretory cells in the brain of normal and starved larvae of the silkworm *Bombyx mori*" , *Gen. Comp. Endocr.* 9, (1967) 245 – 262.

[40] Bettie, T. M., "Histology, histochemistry and ultrastructure of neurosecretory cell in the optic lob of the cockroach, *Periplaneta americana*" , *J. Insect. Physiol.* 17, (1971) 1843 – 1855.

[41] Morris, G. P. and Steel, C. G. H., "Ultrastructure of neurosecretory cells in the pars intercerebralis of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera)", *Tissue Cell*, 7, (1975) 73 – 90.

[42] Normann, T. C., "Neurosecretory system of an adult *Calliphora erythrocephala*. The fine structure of the corpus cardiacum, with some observations on adjacent organs.", *Z. Zellforsch. Mikr. Anat.* 67, (1965) 285 – 287.

[43] Berlind, A., "Cellular dynamics in invertebrate neurosecretory system", *Int. Rev. Cytol.* 49, (1977) 171 – 251.

[44] Finlayson, L. H. and Osborne, M. P. “Secretory activity of neurons and related electrical activity”, *Adv. Comp. Physiol. Biochem.* 6, (1975) 165 – 258.

[45] Thomsen, M., “The neurosecretory system of the adult *Calliphora erythrocephala*. II. Histology of the neurosecretory cells of the brain and some related structures”, *Z. Zellforsch. Mikr. Anat.* 67, (1965) 693 – 717.

[46] Steel, C. G. H. and Harmsen, R., “Dynamics of the neurosecretory system in the brain of an insect, *Rhodnius prolixus*, during growth and molting”, *Gen. Comp. Endocr.* 17, (1971) 125 – 141.

[47] Highnam, K. C., and West, M. W., “The neuropile neurosecretory reservoir of *Locusta migratoria migratorioides*”, *Gen. Comp. Endocrinol.* 16, 574 – 585.

[48] Krogh, I. M., and Normann, T. C., “The corpus cardiacum neurosecretory cells of *Schistocerca gregaria*. Electron microscopy of resting and secreting cells”, *Acta. Zool. (Stockh)*. 58, (1977) 69 – 79.

[49] Normann, T. C., “The mechanism of hormone release from neurosecretory axon endings in the insect *Calliphora erythrocephala*” *In aspects of neuroendocrinology*, (1970) pp. 30 – 42. Berlin, Heidelberg, New York.

[50] Normann, T. C., “Experimentally induced exocytosis of neurosecretory granules”, *Exp. Cell Res.* 55, 285 – 287.

[51] Radermakers, L. H. P. M., “Effects of isolation and transplantation of the corpus cardiacum on hormone release from its glandular cells after flight in *Locusta migratoria*. A quantitative electron microscopical study”, *Cell. Tiss. Res.* 184, (1977a) 213 – 224.

[52] Radermakers, L. H. P. M. And Beenackers, A. M. T., “Changes in the secretory activity of the glandular lobe of the corpus cardiacum of *Locusta migratoria* induced by flight. A quantitative electron microscopical study”, *Cell. Tiss. Res.* 180, (1977) 155 – 171.

[53] Scharrer, B., and Wurzelmann, S., “Neurosecretion. XVIII. Experimentally induced release of neurosecretory material by exocytosis in the insect *Leucophaea maderae*”, *Cell. Tiss. Res.* 190, (1978) 173 – 180.

[54] Smith, A. D., “Summing up: some implications of the neuron as a secreting cell”, *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B.* 261, (1971), 423 – 427.

- [55] Goodman, W. G., "Biosynthesis, titer regulation, and transport of juvenile hormones: in A. P. Gupta (ed.), "Morphogenetic Hormones of Arthropods: Discoveries, Syntheses, Metabolism, Evolution, Modes of Action and Techniques", Rutgers University Press, New Brunswick, NJ, (1990), pp. 83 – 124.
- [56] Gade, G., K. H. Hoffmann & J. H. Spring, "Hormonal redulation in insects: facts, gaps, and future directions", *Physiological Review* 77, (1997) 963 – 1032.
- [57] Elekonich M. M., Robinson G. E., "Organizational and activational effects of hormones on insect behavior", *Journal of Insect Physiology* 46, (2000) 1509 – 1515.
- [58] Gilbert L. L., Granger N. A., Roe R. M., "The juvenile hormones: historical facts and speculations on future research directions", *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30 (2000) 617–644.
- [59] Lafont R., "Understanding insect endocrine systems: molecular approaches", *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97, (2000) 123 – 136.
- [60] Kolman, J., "Ecdysteroids". *Zoological Science* 7: (1990) 563 – 580.
- [61] Grieneisen, M. L., "Recent advances in our knowledge of ecdysteroid biosynthesis in insects and crustaceans", *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 24, (1994) 115 – 132.
- [62] Rees, H. H., "Ecdystreoid biosynthesis and inactivation in relation to function", *European Journal of Entomology* 92, (1995) 9 – 39.
- [63] Gilbert LI, Rybczynski R, Tobe S., "Endocrine cascade in insect metamorphosis" In Gilbert LI, Tata J, Atkison P, editors. *Metamorphosis: post-embryonic reprogramming of gene expression in amphibian and insect cells*, San Diego, CA: Academic Press.,(1996) pp 59-107.
- [64] Gilbert LI, Rybczynski R, Warren JT., "Control and biochemical nature of the ecdysteroidogenic pathway", *Ann Rev Entomol* 47 (2002): 883–916
- [65] Smith SL., "Regulation of ecdysteroid titre:synthesis. Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology", Vol.8.Oxford: Pergamon Press.pp. (1985) 295 – 341.
- [66] Kozlova, T., and Thummel, C.S., "Steroid regulation of postembryonic development and reproduction in *Drosophila*", *Trends Endokrinol.Metab.*11 (2000): 276-280.

[67] Loeb M. J., Brandt E. P., Woods CW, Borkovec A. B., “An ecdysiotropic factor from brains of *Heliothis virescens* induces testes to produce immunodetectable ecdysteroid in vitro”, *J Exp Zool* (1987) 243, 275–282.

[68] Loeb M. J., Brandt E. P., Woods CW, Bell R. A., “Secretion of ecdysteroid by sheaths of testes of the gypsy moth, *Lymantria dispar*, and its regulation by testis ecdysiotropin”, *J Exp Zool* 248: (1998) 94–100.

[69] Meola S. M., Loeb M. J., Kochansky J. P, Wagner R., Beetham P., Wright M. S., Mouneimne Y., Pendleton M. W., “Immunocytochemical localization of testis ecdysiotropin in the pupa of the gypsy moth, *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae)”, *J Mol Neurosci* 9: (1998) 197–210.

[70] Smith, W.A. “Second messengers and the action of prothoracicotropic hormone in *M. sexta*”, *Am. Zool.* 33: (1993) 330-338.

[71] Gu, S.H., Chow, Y.S., Lin, F.J., Wu, J.L., Ho, R.J., “A deficiency in prothoracicotropic hormone transduction pathway during the early last larval instar of *B. mori*”, *Mol. Cell. Endocrinol.* 120: (1996) 99-105.

[72] Nagata, K., Maruyama, K., Kojima, K., Yamamoto, M., Tanaka, M., Hiroshi, H., Nagasawa, H., Isogai, A., Ishizaki, H., Suzuki, A., “Prothoracicotropic activity of SBRPs, the insulin-like peptides of the saturniid silkworm, *Samia cynthia ricini*”, *Biochem. Biophys. Res. Commu.* 266: (1999) 575-578.

[73] Tunaz H., “Böceklerde Soğuklamanın Neden Olduğu Normalden Fazla Deri Değiştirme Mekanizması”, *KTÜ Fen ve Mühendislik Dergisi* 7 (1); (2004) 86 – 91.

[74] Fraenkel, G., Hsiao, C., “Hormonal and nervous control of tanning in the fly” . *Science* 138, (1962) 27–29.

[75] Fraenkel, G., Hsiao, C., Seligman, M., “Properties of bursicon: an insect protein hormone that controls cuticular tanning”, *Science* 151, (1966) 91–93.

[76] Kostron, B., Marquardt, K., Kaltenhauser, U., Honegger, H.W., “Bursicon, the cuticle sclerotizing hormone—comparison of its molecular mass in different insects”, *J. Insect Physiol.* 41, (1995)1045–1053.

[77] Dewey, E.M., McNabb, S.L., Ewer, J., Kuo, G.R., Takanishi, C.L., Truman, J.W., Honegger, H.W., “Identification of the gene encoding bursicon, an insect neuropeptide responsible for cuticle sclerotization and wing spreading”, *Curr. Biol.* 14, (2004) 1208–1213.

[78] Truman, J.W., “Hormonal control of insect ecdysis: endocrine cascades for coordinating behavior with physiology”, *Vitam. Horm.* 73, (2005) 1–30.

[79] Luo, C.W., Dewey, E.M., Sudo, S., Ewer, J., Hsu, S.Y., Honegger, H.W., Hsueh, A.J.W., “Bursicon, the insect cuticle-hardening hormone, is a heterodimeric cystine knot protein that activates G protein-coupled receptor LGR2”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, (2005) 2820–2825.

[80] Mendive, F.M., Van Loy, T., Claeysen, S., Poels, J., Williamson, M., Hauser, F., Grimmelikhuijzen, C.J., Vassart, G., Vanden Broeck, J., “Drosophila molting neurohormone bursicon is a heterodimer and the natural agonist of the orphan receptor”, *DLGR2. FEBS Lett.* 579, (2005) 2171–2176.

[81] Truman, J. W., “Ecdysis hormone: Its role in coordinating ecdysteroid events in insects”, In *Insect Biology in the Future*, MI Locke and D. S. Smith, eds., (1980) pp. 385–401, Academic, New York.

[82] Marshall AG., “The ecology of ectoparasitic insects”, London: Academic Press. (1981).

[83] Zitnan D. Kingan TG. Hertnesman JL & Adams ME., “Identification of ecdysis-triggering hormone from an epitracheal endocrine system”, *Scirncr* 271. (1996) 88-91.

[84] Tunaz H., “Böceklerde Soğuklamanın Neden Olduğu Normalden Fazla Deri Değiştirme Mekanizması”, *KTÜ Fen ve Mühendislik Dergisi* 7(1)-2004.

[85] Pratt GE, Farnsworth DE, “Feyereisen R: Changes in the sensitivity of adult cockroach corpora allata to a brain allatostatin”, *Mol Cell Endocrinol* 70: (1990) 185-195.

[86] Stay B, Joshi S, Woodhead AP., “Sensitivity to allatostatins of corpora allata from larval and adult female *Diploptera punctata*”. *J Insect Physiol* (1991), 3763-70.

[87] Yu, C.G., Hayes, T.K., Strey, A., Bendena, W.G., Tobe, S.S., “Identification and partial characterization of receptors for allatostatins in brain and corpora allata of the cockroach *Diploptera punctata* using a binding assay and photoaffinity labeling”, *Reg. Peptides* 57,(1995) 347–358.

[88] Stay, B., Tobe, S.S., Bendena, W.G., “Allatostatins: Identification, primary structures, functions, and distribution”, *Adv. Insect Physiol.* 25, (1994) 267–337.

[89] Engelmann F., “Die Steuerung der Ovarfunktion bei der ovoviviparen Schabe *Leucophaea maderae*”, (Fabr.). *J Insect Physiol* 1: (1957) 257–278.

[90] Veenstr, J., Lehman, H. K. and Davis, N. T., “Allatotropin is a cardioaccelaratory peptide in *Manduca sexta*”, *J. exp. Biol.* 88, (1994) 347–354.

[91] Kingan, T. G., Shabanowitz, J., Hunt, D. F. AND Witten, J. L., “Characterization of two myotropic neuropeptides in the FMRFamide family from segmental ganglia of the moth *Manduca sexta*: candidate neurohormones and neuromodulators”, *J. exp. Biol.* 199, (1996) 1095–1104.

[92] Fujisawa, Y., Shimoda, M., Kiguchi, K., Ichikawa, T. AND Fujita, N., “The inhibitory effect of a neuropeptide, *Manduca* FLRFamide, on the midgut activity of the sphingid moth, *Agrius convolvuli*”, *Zool. Sci.* 10, (1993) 773–777.

[93] Patel M, Chung J-S, Kay I, Mallet AI, Gibbon CR, Thompson KSJ, Bacon JP, Coast GM., “Localization of *Locusta*-DP in locust CNS and hemolymph satisfies initial hormonal criteria”, *Peptides* 15, (1994) 591–602.

[94] Borovsky D., “Trypsin modulating oostatic factor: a potential new larvicide for mosquito control”, *J. Exp. Biol.* (2003); 206: 3869–3875.

[95] Nauen R, Sorge D, Sterner A, Borovsky D., “TMOF like factor controls the biosynthesis of serine proteases in the larval gut of *Heliothis virescens*”, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* (2001); 47:169–180.

[96] Gelman DB, Borovsky D. *Aedes aegypti* “TMOF modulates ecdysteroid production by prothoracic glands of the gypsy moth, *Lymantria dispar*”, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* (2000); 45: 60–68.

[97] De Loof A, Baggerman G, Breuer M, Claeys I, Cerstiaens A, Clynen E, Janssen T, Schoofs L, Vanden Broeck J., “Gonadotropins in insects: an overview”, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* (2001); 47: 129–138.

[98] Yeh C-C, Klowden MJ., “Effects of male accessory gland substances on the pre-oviposition behaviour of *Aedes aegypti* mosquitoes”, *J Insect Physiol* 36: (1990):799–803.

[99] Fernandez NM, Klowden MJ., “Male accessory gland substances modify the host-seeking behavior of gravid *Aedes aegypti* mosquitoes”, *J Insect Physiol* 41: (1995) 965–970.

[100] Kuczer, M., Rosinski, G., and Konopinska, D., “The anterior stomach of larval mosquitoes (*Aedes aegypti*): effects of neuropeptides on transepithelial ion transport and muscular motility”, *Journal of Peptide Scienc J. Pept. Sci.*(2007); 13: 16–26.

[101] Dircksen H., “Distribution and physiology of crustacean cardioactive peptide in arthropods”, In: Davey KG, Peter RE, Tobe SS, editors. Perspectives in comparative endocrinology. Ottawa: National Research Council of Canada. (1994) 139–148.

[102] Vullings HGB, Diederens JHB, Veelaert D, Van der Horst DJ., “Multifactorial control of the release of hormones from the locust retrocerebral complex”, *Microsc Res Tech* 45: (1999.) 142–153.

[103] Miller, T. A., “Nervous versus neurohormonal control of the insect heartbeat”, *Am.J .ool.* 19, (1979) 77-86.

[104] Rosinski, G.,and Konapinska, D., “Proctolin, an Insect Neuropeptide”, *Journal of Peptide Science J. Peptide Sci.* 5: (1999) 533–546.

[105] Bechtold, D. A., and Luckman S. M., “The role of RFamide peptides in feeding”, Faculty of Life Sciences, University of Manchester, *Journal of Endocrinology* (2007) 192, 3–15.

[106] Lange AB, Orchard I., “The effects of SchistoFLRFamide on contractions of locust midgut. Peptides” , 19: (1998) 459–467.

[107] Robb S, Evans PD., “The modulatory effect of SchistoFLRFamide on heart and skeletal muscle in the locust *Schistocerca gregaria*”, *J Exp Biol* 197: (1994) 437 – 442.

[108] Schoofs L, Vanden Broeck J, De Loof A., “The myotropic peptides of *Locusta migratoria*: structures, distribution, functions and receptors”, *Insect Biochem Mol Biol* 23: (1993a) 859–881.

[109] Starratt AN, Lange AB, Orchard I., “N-terminal modified analogs of HVFLRFamide with inhibitory activity on the locust oviduct”, *Peptides* 21: (2000) 197–203.

[110] Hagedorn HH, Shapiro JP, Hanaoka K., “Ovarian ecdysone secretion is controlled by a brain hormone in an adult mosquito”, *Nature* 282: (1979) 92–94.

[111] Lea AO., “The medial neurosecretory cells and egg maturation in mosquitoes”, *J Insect Physiol* 13: (1967) 419–429.

[112] Harris C.C, Asuncion-Uchi, M, Fuse, M., “Crustacean Hyperglycemic Hormone, a possible endocrine regulator of ecdysis in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*”, San Francisco State University, San Francisco.

[113] Wegener¹, G., Tschiedel¹, V., Schlöder¹ P. and Ando², O., “The toxic and lethal effects of the trehalase inhibitor trehazolin in locusts are caused by hypoglycaemia”, *The Journal of Experimental Biology* 206, (2003) 1233-1240.

[114] Larner, J and Haynes, R. C., “Glucagon”, *In The Pharmacological Basis of Therapeutics*, pp. 1527 – 1529. Edited by Goodman, L., and Gilman, A., (1975b). Macmillan, New York.

[115] Kramer, K. J., “Vertebrate hormones in insects”, U. S. Department of Agriculture and Kansas State University, Manhattan. Kansas, USA.

[116] Orchard I., Loughton B. G. “ A hypolipaeic factor from the corpus cardiacum of locust.”, *Nature*, London 286, 494 – 496.

[117] De Loof, A., “Ecdysteroids: the overlooked sex steroids of insects? Males: the black box”, *Insect Science* (2006) 13, 325-338.

[118] [133] De Clerck, D., Eechaute, W., Leusen, I., Diederik, H., and De Loof, A., “Identification of testosterone and progesterone in hemolymph of larvae of the fleshfly *Sarcophaga bullata*”, *General and Comparative Endocrinology* 52 (1983), 368 – 378.

[119] Fan, O. R, Hendrickson, W, A., “Assembly and structural characterization of an authentic complex between human follicle stimulating hormone and a hormone-binding ectodomain of its receptor”, *Molecular and Cellular Endocrinology* 260–262 (2007) 73–82.

[120] Keshan, B., Ray, A.K., “The presence of estradiol-17 β and its specific binding sites in posterior silk gland of *Bombyx mori*”, *General and Comparative Endocrinology* 123, (2001) 23.

[121] Ghosh D, Ray AK., “Subcellular action of estradiol-17 β in a freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*”, *Gen. Comp. Endocrinol.* (1993); 90: 274–281.

[122] Ghosh D, Ray AK., “Estrogen stimulated lipogenic activity in the ovary of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*”, *Invert. Reprod. Dev.* (1994); 25: 43–47.

[123] Roy, S., Jhuma De, Kundu, S., Biswas, A., Pramanik, M., Ray, A. K, “Estradiol-17 β : Tracing its metabolic significance in female fatbody of fifth instar larvae of silkworm, *Bombyx mori* L (race: Nistari)”, *Life Sciences* 80 (2007) 446–453.

[124] Kim, Y., Davari, E. D., Sevala, V., Davey, K. G., “Functional binding of vertebrate hormone, L-3,5,39-triiodothyronine (T3), on insect follicle cell membranes”, *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 29 (1999) 943–950.

[125] De Clerck D., Eechaute, W., Leusen, I., Diederik, H. and De Loof, A., “Identificaion of testosterone and progestrone in hemolymph of larvae of the freshfly *Sarcophaga bullata*”, *General and Compaative Endocrinology* 52, (1983) 368 – 378.

[126] Kansu, İ.A. ve Uğur, A., “*P. turionellae* L. (Hym., Ichneumonidae) ile konukçusu bazı Lepidopter pupaları arasındaki biyolojik ilişkiler üzerinde araştırmalar”, *Doğa Bilim Dergisi*, D₂, 8(2), (1984) 160-173.

[127] Öncüer, C.ve Benlioğlu, K., “Balarısı zararlıları, hastalıkları ve zehirlenmeleri”, *Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları*, 3, Aydın, (1998).

[128] Nassel, D . R., “Neuropeptides in the nervous system of *Drosophila* and other insects: multiple roles as neuromodulators and neurohormones”, *Progress in Neurobiology* 68 (2002) 1–84.

[129] Fingerman M, Nagabhushanam R, Sarojini R., “Vertebrate-type hormones in crustaceans: localization, identification and functional significance”, *Zool. Sci.* (1993); 10: 13–29.

[130] Subramoniam T., “Crustacean ecdysteroids in reproduction and embryogenesis”, *Comp. Biochem. Physiol. C* (2000); 125: 135–156.

[131] Mommsen TP, Walsh PJ., “Vitellogenesis and oocyte assembly”, In: Hoar WS, Randall DJ (eds). *Fish Physiology*, Vol. XI A. Academic Press, New York. (1988); 347–406.

[132] Hernández-Falcón J, Schneider-Ehrenberg O, Martínez ADLO, Campos-Lozada V, Fuentes-Pardo B., “Steroids modulate the excitability of crayfish (*Procambarus digueti*) photoreceptors: long- and short-term actions”, *Gen. Comp. Endocrinol.* (1997); 105: 255–269.

[133] Teshima S, Kanazawa A., “Production of 11-ketotestosterone and other steroids by the sliced ovaries of crab, *Portunus trituberculatus*”, *Nippon Suisan Gakkaishi* (1970); 36: 246– 249.

[134] Kato, Y., Sato, I., Ihara, T., Tomizawa, K., Mori, J., Geshi, M., Nagai, T., Okuda, K., Kato, T., and S Ueda, S, “Expression and purification of biologically active

porcine follicle-stimulating hormone in insect cells bearing a baculovirus vector” , *Journal of Molecular Endocrinology* (1998) 20, 55–65.

[135] Eales, J.G., “Iodine metabolism and thyroid-related metabolism in organisms lacking thyroid follicles: are thyroid hormones also vitamins?”, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 214, (1997) 302–317.

[136] Thagaraja, B.S., Kelly, T.J., Masler, E.P., Borkovec, A.B., “Thyroxine-induced hemolymph protein and ecdysteroid increases in the silkworm, *Bombyx mori* L”, Effect on larval growth and silk production. *J. Insect Physiol.* 37 (1991), 153–159.

[137] Thagaraja, B.S., Kelly, T.J., Masler, E.P., Borkovec, A.B., “Thyroxine-induced changes in ovarian protein and ecdysteroid increases in the silkworm, *Bombyx mori* L.: Effect on ovarian maturation and egg production”, *Comp. Biochem. Physiol.* 104A (1993), 247–253.

[138] Davey, K.G., “Do thyroid hormones function in insects?” , *Insect Biochemistry and Molecular Biology* ,30 (2000), 877–884.

[139] Bhakthan, N.M.G., Gilbert, L.I., “Effect of some vertebrate hormones on lipid mobilization in the insect fat body”, *General and Comparative Endocrinology* 11 (1968), 186–197.

[140] Reddy, K.D., Chaudhuri, A., Sukumar, K., “Enrichment of ion specific adenosine triphosphate activities by thyroxine in different tissues of the silkworm, *Bombyx mori* L., during insect development”, *Mol. Biol.* 24 (1994.), 243–248.

[141] Kramer, K. J. Childs, C. N. and R. D., “ Effects of neutral red on carbohydrate levels in tobacco hornworm, *Manduca sexta* L. (Lepidoptera: Sphingidae)”, *Comp. Biochem. Physiol.* 64C. (1979), 229 – 230.

[142] Kramer, K.J., Jacobs, R. M., Speirs, R. D. and Hendricks, L. H., “ Effects of vertebrate hypoglycemic β cell cytotoxic agents in insects”, *Comp. Biochem. Physiol.* 61 C, 95 – 97.

[143] De Loof, A., De Clerck, D., “Vertebrate-type steroids in arthropods: identification, concentrations and possible functions”, In: Porchet, M., Andries, J.C., Dhainaut, A. (Eds.), *Advances in Invertebrate Reproduction*, vol. 4. Elsevier, Amsterdam (1986), pp. 117–123.

[144] Denlinger, D.L., Brueggemeier, R.W., Mechoulam, R., Katlic, N., Yocum, L.B., Yocum, G.D., “Estrogens and androgens in insects”, In: Law, J.H. (Ed.), *Molecular Entomology*. Liss, New York (1987), pp. 189–199.

[145] Ogiso, M., Ohnishi, E., “Does estradiol play a role in ovarian maturation or embryonic development of the silkworm?”, *General and Comparative Endocrinology* 61 (1986), 82–86.