

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BESİN KALİTESİNİN *BACILLUS THURINGIENSIS* SUBSP. *KURSTAKI*
TARAFINDAN ENFEKTE EDİLEN *URESIPHITA GILVATA* (FABRİCIUS,
1794) LARVALARININ BAZI BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ENZİMLERİNE
ETKİSİ

GİZEM AYKOL

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SAMSUN
2019

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Gizem AYKOL tarafından hazırlanan “Besin kalitesinin *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* tarafından enfekte edilen *Uresiphita gilvata* (Fabricius, 1794) larvalarının bazı bağışıklık sistemi enzimlerine etkisi” adlı tez çalışması .../.../2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Dr. Öğr. Üyesi Oğuzhan YANAR
Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri

Başkan Doç. Dr. Eylem AKMAN GÜNDÜZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı

Üye Dr. Öğr. Üyesi Önder İDİL
Amasya Üniversitesi
Temel Eğitim Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım. .../.../2019

Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.



Gizem AYKOL

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BESİN KALİTESİNİN *BACILLUS THURINGIENSIS* SUBSP. *KURSTAKI* TARAFINDAN ENFEKTE EDİLEN *URESIPHITA GILVATA* (FABRİCIUS, 1794) LARVALARININ BAZI BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ENZİMLERİNE ETKİSİ

Gizem Aykol

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Oğuzhan Yanar

Bu çalışmanın amacı, farklı miktarlarda protein ve karbohidrat içeren besinlerle beslenen ve *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* ile enfekte edilen *Uresiphita gilvata* larvalarının hücresel ve humoral bağışıklıktaki değişimlerini tespit etmektir. Bu kapsamda besin içeriklerinin ve enfeksiyonun larvaların süperoksit dismutaz (SOD), mangan süperoksit dismutaz (MnSOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), fenoloksidaz (PO) enzim aktivitelerini ve toplam hemosit sayılarını nasıl etkilediği belirlenmiştir. Bunun için yapay besinlerin içeriğinde bulunan protein ve karbohidrat miktarları değiştirilerek 4 farklı besin hazırlanmıştır. Kontrol grupları hariç diğer gruplar bakteri ile enfekte edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler bağımsız iki örneklem t testi yapılarak değerlendirilmiştir. Hem kontrol hem de enfeksiyonlu gruplardaki süperoksit dismutaz ve mangan süperoksit dismutaz enzimleri protein miktarı en fazla olan gruplarda en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Kontrol gruplarına kıyasla katalaz enzimi enfeksiyonlu grupların tümünde inhibisyon göstermiştir. Glutatyon peroksidaz aktivitesi protein ve karbohidrat miktarı yarı yarıya düşürülen besin gruplarında maksimum seviyededir. Kontrol gruplarında protein miktarı arttıkça fenoloksidaz enziminin aktivasyon gösterdiği bulunmuştur. Enfeksiyon ile hemosit sayısının azaldığı bulunmuştur (H hariç). Besin dengesizliği ve enfeksiyona maruz kalan larvalar bu olumsuzluklarla savaşmak için hem hücresel hem de humoral savunma ile kendilerini korumaya çalışırlar.

Mayıs 2019, 57 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Uresiphita gilvata*, *Bacillus thuringiensis*, Protein, Karbohidrat, Enzim, Enfeksiyon

ABSTRACT

Master's Thesis

THE EFFECT OF FOOD QUALITY ON THE SOME IMMUNE SYSTEM
ENZYMES OF *URESIPHITA GILVATA* (FABRICIUS, 1794) LARVAE INFECTED
WITH *BACILLUS THURINGIENSIS* SUBSP. *KURSTAKI*

Gizem Aykol

Ondokuz Mayıs University
Graduate School of Sciences
Department of Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Oğuzhan Yanar

The aim of this study was to determine the changes in cellular and humoral immunity of *Uresiphita gilvata* larvae fed with foods containing different amounts of protein and carbohydrate and infected with *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. In this context, it has been determined how food contents and infection affect superoxide dismutase (SOD), manganese superoxide dismutase (MnSOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), phenoloxidase (PO) enzyme activities and total hemocyte counts of larvae. For this purpose, 4 different foods were prepared by changing the amounts of protein and carbohydrate in artificial foods. Except for the control groups, other groups were infected with bacteria. All statistical analyzes were evaluated by using two independent samples t test. In control and infected groups, superoxide dismutase and manganese superoxide dismutase enzymes showed the highest activity in the groups with the highest amount of protein. The catalase enzyme showed inhibition in all infected groups compared to control groups. Glutathione peroxidase activity is at maximum level in the food groups whose protein and carbohydrate amount is reduced by half. As the amount of protein in the control groups increased, the phenoloxidase enzyme was found to be activated. It was found that the number of hemocytes decreased with infection (except H). Larvae exposed to infection and food imbalance try to protect themselves with both cellular and humoral defense to combat these negativities.

May 2019, 57 pages

Key Words: *Uresiphita gilvata*, *Bacillus thuringiensis*, Protein, Carbohydrate, Enzyme, Infection

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince yardımı ve anlayışıyla her zaman yanımda olan danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Oğuzhan YANAR'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans süresince bana her konuda destek olan, laboratuvar çalışmalarım da daima yanımda olan Dr. Elif Fatma TOPKARA, Dr. Fatma Gönül SOLMAZ ve Öğretim görevlisi Dr. Sevcan MERCAN'ateşekkürlerimi borç bilirim.

Bütün hayatım boyunca her kararım da yanımda olup beni destekleyen ve fedakarlığı ile beni cesaretlendiren biricik annem Ayten DURĞUN'a minnet ile teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca varlıklarıyla bana güç veren ve eğitim hayatımı sürekli destekleyen anneannem Tülay DURĞUN, dedem Mustafa DURĞUN, dayılarım Nihat DURĞUN, Serhat DURĞUN ve Sedat DURĞUN' a emeklerinden ötürü teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs 2019, Samsun

Gizem Aykol

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Böceklerde Beslenmenin Önemi.....	1
1.2. Beslenmede Protein-Karbohidrat İlişkisinin Rolü.....	2
1.3. Böceklerin Bağışıklık Sistemleri.....	3
1.3.1. Böceklerde bir bariyer olarak kütikül.....	4
1.3.2. Böceklerde hücrel bağışıklık.....	5
1.3.2.1. Fagositoz.....	5
1.3.2.2. Nodülasyon.....	6
1.3.2.3. Enkapsülasyon.....	6
1.3.3. Böceklerde humoral bağışıklık.....	6
1.3.3.1. Melanizasyon.....	7
1.3.3.1.1. Fenoloksidaz (PO).....	8
1.3.3.2. Hemolenfin pıhtılaşması.....	9
1.3.3.3. Antimikrobiyal peptidlerin sentezi.....	9
1.4. Böceklerde Antioksidan Sistem.....	10
1.4.1. Süperoksit dismutaz (SOD).....	11
1.4.2. Mangan süperoksit dismutaz (MnSOD).....	11
1.4.3. Katalaz (CAT).....	12
1.4.4. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px).....	12
1.5. <i>Bacillus thuringiensis</i> Hakkında Genel Bilgiler.....	13
1.6. <i>Uresiphita gilvata</i> (Crambidae) Fabricus 1794'ün Karakteristik ve Ekolojik Özellikleri.....	13
1.7. Tezin Amacı.....	15
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
2.1. Beslenme Deneyleri.....	17
2.2. Yapay Besin İçerikleri.....	17
2.3. Bakteri ve Kültür Koşulları ve Larvaların Bakteri ile Enfeksiyonu.....	19
2.4. Hemolenfin Alınması.....	19
2.5. Hemosit Sayımında Kullanılacak Preparatların Giemsa Boyası ile Boyanması.....	19
2.6. Enzim Analizleri.....	19
2.7. İstatistiksel Analizler.....	20
3. BULGULAR.....	21
3.1. Hemosit Sayıları.....	21
3.2. Fenoloksidaz (PO) Enzim Aktiviteleri.....	23
3.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktiviteleri.....	25
3.4. Mangan Süperoksit Dismutaz (MnSOD) Enzim Aktiviteleri.....	27
3.5. Katalaz (CAT) Enzim Aktiviteleri.....	29

3.6. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Enzim Aktiviteleri	31
4. TARTIŞMA	33
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	59



SİMGELER ve KISALTMALAR

SİMGELER

F	Varyans Analizi Test Değeri
g	Gram
β	Ftalosiyanın halkasındaki bir pozisyonun adı
\approx	Yaklaşık eşit
\sim	Yaklaşık
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen
$^3\text{O}_2$	Triplet oksijen
A	Absorbans
B	300-400 nm aralığındaki absorpsiyon bandının simgesi
cm	Santimetre
D _{2h}	Metalsiz ftalosiyanın nokta grubu
D _{4h}	Metalli ftalosiyanın nokta grubu
g	Gram
log ϵ	Molar absorpsiyon katsayısının logaritması
M (C)	Derişim
mL	Mililitre
N ₂	Azot
nm	Nanometre
pH	Asitlik ya da bazlık derecesinin ölçüsü
ppm	Kimyasal kayma
Q	600-800 nm aralığındaki absorpsiyon bandının simgesi
R _f	Sürüklenme Derecesi, Alıkonma Faktörü
α	Ftalosiyanın halkasındaki bir pozisyonun adı
δ	Kimyasal kayma
λ	Dalga boyu
λ_{max}	Maksimum dalga boyu

F	
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
kg	Kilogram
mg	Miligram
ml	Mililitre
μl	Mikrolitre
mm	Milimetre
cm	Santimetre
nm	Nanometre
PProtein	
K	Karbohidrat
-	
O ₂	Süperoksit radikali
OH	Hidroksil radikali

P	Önemlilik Seviyesi
°C	Santigrat
%	Yüzde
Ca	Kalsiyum

KISALTMALAR

¹³ C-NMR	Karbon- nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
¹ H-NMR	Proton-nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
ATR	Zayıflatılmış toplam yansıma
CAS	Kimyasal kayıt numarası
CCl ₄	Karbon tetraklorür
CH ₂ Cl ₂	Diklormetan
CHCl ₃	Kloroform
CoCl ₂	Kobalt klorür
CoPc	Kobalt ftalosiyanın
CTAB	Setil trimetil amonyum bromür
CuCl ₂	Bakır klorür
CuCN	Bakır siyanür
CuPc	Bakır ftalosiyanın
DBU	<u>1,8-Diazabisiklo[5.4.0]undeka-7-en</u>
dk.	Dakika
DMAE	Dimetilaminoetanol
DMF	Dimetilformamit
DMSO	Dimetilsülfoksit
DTA	Diferansiyel termal analiz
EtOH	Etanol
FDA	Gıda ve ilaç kurumu(Amerika)
F-SWCNT	Florlu tek duvarlı karbon nanotüp
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
H ₂ O	Su
H ₂ Pc	Metalsiz ftalosiyanın
H ₂ SO ₄	Sülfürik asit
HCl	Hidroklorik asit
Hz	Hertz

I (TEGMT)	2-(2-(2-(2-hidroksietoksi)etoksi)etoksi)etil 4-metilbensenülfonat
II	4-(2-(2-(2-(2-hidroksietoksi)etoksi)etoksi)etoksi) ftalonitril
III	4-(23-hidroksi-3,6,9,12,15,18,21 heptaoksatrikosioksi)ftalonitril
IV	4-(hekzadesiloksi)ftalonitril
KBr	Potasyum Bromür
KNT(CNT)	Karbon nanotüp
LED	Işık yayan diyot
Ltd.	Limited
max.	Maksimum
MeOH	Metanol
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
MHz	Megahertz
MPc	Metalli ftalosiyanın
mPEG	Metoksi polietilen glikol
Na ₂ SO ₄	Sodyum sülfat
NaH	Sodyum hidrür
NaH	Sodyum hidrür
NaHCO ₃	Sodyum bikarbonat
NaOH	Sodyum hidroksit
NASA	Uzay araştırma kurumu(Amerika)
NH ₃	Amonyak
NiCl ₂	Nikel klorür
NiPc	Nikel ftalosiyanın
Pc	Ftalosiyanın
PDT	Fotodinamik terapi
PEG	Polietilen glikol
PEO	Polietilen oksit
ROS	Reaktif oksijen türleri
SDBS	Sodyum dodesil benzen sülfonat
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SOCl ₂	Tiyonil klorür
SWCNT	Tek duvarlı karbon nanotüp
TEAB	Tri etanol amonyum bromür

TEG	Tetraetilen glikol
TG	Termogravimetri
TGA	Termogravimetrik analiz
THF	Tetrahidrofur
TsCl	Tosil klorür
UV-vis	Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopisi
Zn(OAc) ₂	Çinko asetat
ZnPc	Çinko ftalosiyanın
<i>Bt</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
CAT	Katalaz
KB	Kontrol Besini
GR	Glutasyon redüktaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon S-transferaz
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
AMP	Antimikrobiyal protein
ProPO	Profenoloksidaz
PO	Fenoloksidaz
DOPA	Dihidroksifenilalanin
DNA	Deoksiribonükleik asit
MnSOD	Mangan süperoksit dismutaz
Cu/ZnSOD	Bakır/çinko süperoksit dismutaz
NiSOD	Nikel süperoksit dismutaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Uresiphita gilvata</i> larvası.....	14
Şekil 1.2. <i>Uresiphita gilvata</i> pupası.....	15
Şekil 1.3. <i>Uresiphita gilvata</i> ergini	15
Şekil 3.1. <i>Uresiphita gilvatalar</i> valarının besin gruplarına göre ortalama hemosit sayılarının karşılaştırılması.....	22
Şekil 3.2. <i>Uresiphita gilvatalar</i> valarının besin gruplarına göre fenoloksidaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	24
Şekil 3.3. <i>Uresiphita gilvatalar</i> valarının besin gruplarına göre süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	26
Şekil 3.4. <i>Uresiphita gilvatalar</i> valarının besin gruplarına göre mangan süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	28
Şekil 3.5. <i>Uresiphita gilvatalar</i> valarının besin gruplarına göre katalaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	30
Şekil 3.6. <i>Uresiphita gilvatalar</i> valarının besin gruplarına göre glutatyon peroksidaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.Yamamoto yapay besininin içindeki madde miktarları (1 kg için).....	18
Çizelge 2.2.Besingrupları ve besin içerikleri	18
Çizelge 3.1. <i>Uresiphita gilvata</i> larvalarının ortalama hemosit sayıları	21
Çizelge 3.2. <i>Uresiphita gilvata</i> larvalarının beslenme deneylerinden elde edilen fenoloksidaz aktiviteleri.....	23
Çizelge 3.3. <i>Uresiphita gilvata</i> larvalarının beslenme deneylerinden elde edilen süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri	25
Çizelge 3.4. <i>Uresiphita gilvata</i> larvalarının beslenme deneylerinden elde edilen mangan süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri.....	27
Çizelge 3.5. <i>Uresiphita gilvata</i> larvalarının beslenme deneylerinden elde edilen katalazenzim aktiviteleri	29
Çizelge 3.6. <i>Uresiphita gilvata</i> larvalarının beslenme deneylerinden elde edilen glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri.....	31

1. GİRİŞ

Yeryüzünde yaşamın 3.5 milyar yıllık tarihinde en dikkat çekici soylardan birini oluşturan böcekler, bir milyondan fazla belgelendirilmiş türle çeşitliliğe katkıda bulunurlar (Engel, 2015). Birçok böcek hayatını devam ettirmek için bitkilere bağımlıdır. Bitkiler, sürekli olarak böceklerin ve patojenlerin saldırısına maruz kalırlar. Herbivor böceklerde, beslenme, çiftleşme ve ovipozisyon gibi böceklerin fitnessını etkileyen önemli davranışlar bitkiler ile yakından ilişkilidir (Schoonhoven vd, 2005). Herbivorluk, yalnızca yaprak alanının azaltılması anlamına gelmez, aynı zamanda besin stokları, fotosentetik kapasite (Zangerl vd, 2002), üreme başarısı (Quesada vd, 1995) ya da vejetatif büyümenin (Meyer, 1998) bu durumdan olumsuz etkilenmesi anlamına gelmektedir. Bununla birlikte, bitkiler herbivorların verdikleri zararları azaltmak için bu saldırıların farkına varacakları stratejiler geliştirirler (Ryan, 1990; Xu vd, 1994; Thomma vd, 1998; Walling, 2000; Kessler ve Baldwin, 2002; Bent ve Mackey, 2007; Pieterse vd, 2009).

Bitki-böcek etkileşimleri dinamiktir (Ehrlich ve Raven, 1964; Despres vd, 2007). Bu etkileşimler herbivorluğu azaltmak için bitkilerde karmaşık savunma mekanizmalarının gelişmesi ve bu bitki savunmalarını dengelemek için herbivorlardaki mekanizmaların zararsız hale getirilmesiyle sonuçlanır (Baldwin, 2001; Despres vd, 2007). Bitkilerde ve herbivor böceklerde nesiller boyunca kazanılan uyarlanabilir özellikler filogenetik çeşitliliğe ve birlikte evrimleşmeye neden olur (Thompson, 1994; Chown ve Terblanche, 2006; Futuyma ve Agrawal, 2009).

1.1. Böceklerde Beslenmenin Önemi

Beslenme, herbivor böcekler dâhil tüm hayvanlar için çok önemlidir (Behmer, 2009; Simpson ve Raubenheimer, 2012). Beslenme şekillerine göre böcekler çeşitli kategorilerde sınıflandırılırlar. Polifaj böcekler birbiriyle ilişkisiz bitki familyalarından farklı bitki türleriyle beslenirler. Oligofaj herbivorlar çok sınırlı bitki türleriyle hatta bir familyaya ait birbirine yakın türlerin bir grubuyla veya sadece bir türle beslenirler. Monofaj böcekler ise genellikle yaprak, kök veya üreme organları

gibi bitkilerin belirli kısımlarında beslenmektedirler. Bu gruptaki daha küçük böcekler floem, parankima veya gelişmekte olan tohumlar üzerinde beslenmek için özelleşmiş olabilirler (Bernays, 1998).

Konak bitkilerin kimyasal bileşimi, fitofag böceklerin hayatta kalma, büyüme ve üremesini önemli ölçüde etkiler (Bernays ve Chapman, 1994). Böcek performansı besin kalitesi ile ilişkilidir (Slansky, 1990). Polifag böcekler için, farklı konak bitkilerin mevcudiyeti, popülasyon istilalarını tetiklemede önemli bir rol oynar (Singh ve Parihar, 1988). Böceklerin büyümesi, gelişimi ve üremesi tüketilen besinlerin kalitesine ve miktarına bağlıdır (Scriber ve Slansky, 1981).

Tırtıllar da dâhil olmak üzere bütün herbivor böcekler aynı besin öğelerine ihtiyaç duyarlar (Chapman vd, 2013). Bunlar aminoasitler (çoğunlukla besindeki proteinden elde edilir), karbohidratlar (şekerler ve nişasta), lipitler (yağ asitleri, fosfolipitler ve steroller), vitaminler ve mineralleri içerir. Lipitler, vitaminler ve mineraller mikronütrientler olarak sınıflandırılırlar. Bu mikronütrientler bitkilerde düşük seviyelerde bulunur ve genellikle herbivor böcekler bu besin öğelerine yalnızca küçük miktarlarda ihtiyaç duyar. Beslenmede protein ve karbohidrat gibi makronütrientlere fazla miktarda ihtiyaç duyulur ve bunlar herbivor böcekler için sınırlandırıcı nütrientler olarak düşünülürler. Bunun nedeni, bitkilerde düşük seviyelerde bulduklarında fitnessı olumsuz etkilemeleridir (Bernays ve Chapman, 1994).

1.2. Beslenmede Protein-Karbohidrat İlişkisinin Rolü

Bitki besin içeriğinin, özellikle protein ve karbohidratların, hem mekânsal hem de zamansal olarak değişken olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Güsewell, 2004; Schoonhoven vd, 2005; Lenhart vd, 2015). Bu durum herbivor böceklerin oldukça heterojen bir beslenme ortamında besin aradıkları anlamına gelmektedir. Herbivor böceklerin besinlerindeki protein ve karbohidratların mutlak miktar ve oranlarının büyüme hızı, üreme (Lee vd, 2004; Simpson vd, 2004; Behmer ve Joern, 2008; Behmer, 2009; Le Gall ve Behmer, 2014; Roeder ve Behmer, 2014) ve immünolojik zorluklara (Lee vd, 2006; Povey vd, 2009; Ponton vd, 2011) karşı toleransları da dâhil olmak üzere performanslarını güçlü bir şekilde etkilediğine dair güçlü kanıtlar vardır.

Herbivor böcekler (aslında bütün hayvanlar) aynı anda birden fazla besin bileşenine ihtiyaç duyduklarından, optimum performans ancak besin seviyeleri uygun bir şekilde dengelendiğinde gerçekleşir (Behmer, 2009; Simpson ve Raubenheimer, 2012). Herbivor böcekler için protein ve karbohidratların önemi göz önüne alındığında, pek çok tür bu iki besini dengeleme yeteneğine göre incelenmiştir (Behmer, 2009; Raubenheimer vd, 2015).

Protein-karbohidrat alımının aktif düzenlenmesi böcekler (Raubenheimer ve Simpson, 1993; Lee vd, 2002; Behmer, 2009), memeliler (Felton vd, 2009) gibi canlılar arasında yaygındır. Dengeli bir protein-karbohidrat alımını seçme ve elde etme kabiliyeti fekunditeyi (Lee vd, 2008; Maklakov vd, 2008; Roeder ve Behmer, 2014), ömür uzunluğunu (Fanson vd, 2009; Grandison vd, 2009; Fanson ve Taylor, 2012), bağışıklık tepkilerini (Siva-Jothy ve Thompson, 2002; Lee vd, 2006) ve bitki sekonder bileşiklerinin aksiyon modunu etkilemektedir (Simpson ve Raubenheimer, 2001; Behmer vd, 2002; Pascacio-Villafán vd, 2016).

1.3. Böceklerin Bağışıklık Sistemleri

Hem patojenlerin hem de insektisitlerin böcek popülasyonlarını önemli ölçüde etkilemesi tartışılmaz bir durumdur. Genellikle, patojenler iki yoldan böcekleri istila ederler. Tüketim yoluyla bağırsaklara girebilirler ya da vücut yüzeyindeki yaralar ya da integument veya bağırsak dokularına nüfuz ederek hemolenfe girebilirler (Wu vd, 2016).

Pestisitlerin memeli bağışıklık sistemleri üzerindeki etkileri daha önce çalışılmıştır (Vial vd, 1996; Blakley vd, 1999; Holsapple, 2002; Salazar vd, 2008), fakat bu bileşiklerin böcek bağışıklığı üzerinde etkisi yoktur. Böcekler adaptif bir bağışıklık sisteminden yoksun oldukları veya en azından omurgalılarda bulunan antikor ve T-tipi bellek hücrelerine sahip olmadıkları için memeliler ve böcekler arasındaki ayırım önemlidir (Schmidt vd, 2008). Böcekler genel olarak spesifik olmayan doğuştan gelen bağışıklık tepkilerine güvenirlir. Böcek bağışıklığı temel olarak üç bölümden oluşmaktadır:

- (1) Mikropların dış dünyasına fiziksel ve kimyasal engeller sunan kütikül,
- (2) Hücresel bağışıklık,
- (3) Humoral bağışıklık (James ve Xu, 2012).

1.3.1. Böceklerde bir bariyer olarak kütikül

Böcekler çok çeşitli patojenlerle etkileşirler. Bu patojenlerin çoğu, temas ettikleri böcekleri istila edip kolonize etmeye çalışırlar ve birçok durumda, başarılı kolonizasyon konak için zararlı etkilere yol açar. Patojenik organizmalar olan virüsler, bakteriler, mantarlar, protozoanlar, nematodlar ve hatta diğer böcekler böcekleri enfekte edebilirler (Mahy, 2004; Pennacchio ve Strand, 2006; Vega ve Kaya, 2012). Bu etkileşimlerin bazıları genel, bazıları ise oldukça spesifiktir. Örneğin, *Beauveria bassiana* mantarı, sayısız taksonomik takımdan böcekleri enfekte eden fakültatif bir patojenken, *Plasmodium* sp. ise insanda sıtmaya neden olan patojendir (Manguin vd, 2008; Ortiz-Urquiza vd, 2015).

Enfeksiyon olasılığını azaltmak için, böcekler patojenlerin vücut boşluğuna veya hemosole girmesini engelleyen fiziksel bariyerlere sahiptir. Patojenlerin girişini engelleyen en geniş fiziksel bariyer kütiküldür (Siva-Jothy vd, 2005; Lundgren ve Jurat-Fuentes, 2012). Kütikül yoluyla vücut içine giren patojenler, kütikülde meydana gelen yaralar veya kütikülün enzimatik sindirimi yoluyla enfeksiyona neden olurlar. Patojenler tüketim yoluyla da vücuda girerler. Tüketimi takiben, patojenler sindirim sistemi enzimleri, pH ve endojen mikrobiyota gibi antagonistik engellere hızlı bir şekilde maruz kalırlar (McGreevy vd, 1978; Siva-Jothy vd, 2005; Cirimotich vd, 2011; Lundgren ve Jurat-Fuentes, 2012).

Hemosole girmek zor bir girişim olsa da, birçok organizma bunu etkili bir şekilde gerçekleştirmek için mekanizmalar geliştirmiştir. Örneğin, *Bacillus thuringiensis* bakterisi sindirim sisteminin epitel hücrelerini yok eden Cry toksinleri üretir, sıtmaya neden olan protozoan parazitleri orta bağırsak hücrelerine nüfuz etmek için apikal komplekslerini kullanır ve filarial nematodlar ise bağırsak boşluğunda fiziksel olarak barınırlar (Christensen ve Sutherland, 1984; Vachon vd, 2012; Roberts vd, 2013).

Patojenler bir böceğin vücuduna girdiğinde, orta bağırsak, hemosol veya diğer hücreler ve organlara yerleşirler. Orta bağırsak, hemosol veya iç organlarda yerleşmeye çalışan patojenler, böcek tarafından enfeksiyonların ortadan kaldırılması veya kontrol edilmesi için evrimleşen bağışıklık tepkilerinin ortaya çıkmasına neden olurlar. Bu bağışıklık tepkileri, fagositoz gibi hücresel olaylardan, liziz ve melanizasyonu içeren humoral olaylara kadar değişmektedir (Hillyer, 2016).

1.3.2. Böceklerde hücrenel bağışıklık

Hemositler, böceklerin birincil bağışıklık hücreleridir ve bu hücrelerin üretimi tüm yaşam evreleri boyunca devam eder (Hillyer, 2016). Hemositik reaksiyonlar, konak hemositleri ve yabancı istilacılar arasındaki doğrudan etkileşimler ile karakterizedir (Merchant vd, 2008). Savunma sisteminin hayati bileşenleri olmasının yanı sıra, hemositler optimum büyüme için besin ve hormonların sentezini ve taşınmasını ve bağ dokusunun oluşumuyla yara iyileşmesini içeren çok sayıda fonksiyona sahiptir (Pandey ve Tiwari, 2012). Hemositler ayrıca humoral tepkiye aracılık eder (Lu ve St. Leger, 2016).

Hemositler farklı şekillere sahiptir ancak fonksiyonları ve isimleri farklı böcek taksonlarına göre değişiklik göstermektedir. Jones (1962) böcek kan hücreleri olan hemositleri prohemosit, plazmatosit, granülosit, sistosit, sferülosit, adipohemosit, podosit, önositoid ve vermiform hücreler olmak üzere dokuz tipe ayırmaktadır. Bunlardan, prohemositler hemolenfte yaygın olarak bulunan farklılaşmamış hemositlerdir ve muhtemelen farklılaşmış hemositlerin bir kaynağı olarak hizmet ederler (James ve Xu, 2012). Plazmatositler ise yaraların kapatılmasına ve mikroorganizmaların böcek gövdesi boşluğuna girmesine ve yayılmasına engel olan koagülasyon tepkisi (ya da hemolenf pıhtılaşması) ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (Eleftherianos ve Revenis, 2011; Loof vd, 2011). Ayrıca, plazmatositler fagositik aktivite gösterir ve memeli monositlerinin/makrofajlarının fonksiyonel eşdeğerlerini temsil ederler (Lu ve St. Leger, 2016).

Belirli hücrenel savunma reaksiyonları fagositoz, nodülasyon ve daha büyük istilacılar durumunda enkapsülasyonu içermektedir (Lavine ve Strand, 2002; Stanley ve Miller, 2006). Bu tepkiler çeşitli tiplerde hemositler tarafından gerçekleştirilir ve genellikle bu olayların sonrasında melanizasyon gerçekleşir (James ve Xu, 2012).

1.3.2.1. Fagositoz

Fagositoz, küçük yabancı organizmaların yok edilmesi için hem omurgalı hem de omurgasız hayvanlar tarafından kullanılan evrimsel olarak korunmuş bir hücrenel bağışıklık sürecidir (Hillyer, 2016). Yabancı bir nesne, fagositin plazma membranındaki proteinler tarafından algılandığında ve ona bağlandığında fagositoz başlatılır. Yabancı cisim daha sonra membranla sınırlı bir fagozomda özümser, 5

fagozom bir lizozom ile birleşir ve hidrolitik enzimler partikülü sindirir. Fagositoz patojenlerinin hemositleri Lepidoptera, Hemiptera ve sivrisineklerin granülositleri ve meyve sineklerinin plazmatositleridir (Hillyer vd, 2003a; Hillyer vd, 2003b; Strand, 2008a; Laughton vd, 2011; Hillyer ve Strand, 2014; Honti vd, 2014).

Fagositoz hızlı bir cevaptır. Sivrisineklerde, dolaşan ve sesil hemositler patojenleri konağa girişlerinden saniyeler içerisinde fagosite etmeye başlar (Hillyer vd, 2003b; King ve Hillyer, 2012; Sigle ve Hillyer, 2016). Sivrisineklerde ve tütün tırtıllarında, bazı hemositler yüzlerce bakteriyi fagosite edebilirler (Dean vd, 2004; Hillyer vd, 2005).

1.3.2.2. Nodülasyon

Nodülasyon, hemositlerin büyük bakteri gruplarını kuşatan bir şekilde tutması anlamına gelir ve bu işlemden sonra genellikle melanizasyon gerçekleşir (Ratcliffe ve Gagen, 1977; Satyavathi vd, 2014). Bu bağışıklık sürecinde, granülositler birbirine yapışır ve yoğun bakteri agregatlarını çevreleyen tabakalar oluştururlar. Granülositler içeriklerindeki maddeleri serbest bırakırlar. Plazmatositler daha sonra nodülün yüzeyi etrafında toplanır ve çoğu durumda tüm yapı melanize olur (Hillyer, 2016).

1.3.2.3. Enkapsülasyon

Enkapsülasyon, çok büyük olan patojenleri fagosite edilebilmek için kullanılan hücresel bir bağışıklık tepkisidir. Bu tepki genellikle diptera ve lepidoptera larvaları tarafından parazitoid yaban arılarının yumurtaları ile enfeksiyona tepkide kullanılır. Lepidoptera'da, granülositler bir patojeni çevreleyen bir hücre tabakası oluşturmak için tutunduklarında enkapsülasyon başlatılır (Pech ve Strand, 1995; Pech ve Strand, 1996). Bu tepki nodülasyona benzerdir (Rantala vd, 2003; Strand, 2008b).

1.3.3. Böceklerde humoral bağışıklık

Humoral bağışıklık, hemolenfin pıhtılaşmasını ve melanizasyonunu düzenleyen enzimatik kompleks kaskadların yanı sıra, antimikrobiyal peptitlerin, reaktif oksijen ve azot ara maddelerinin üretimini içerir (Gillespie vd, 1997; Marmaras ve Lampropoulou, 2009). Humoral bağışıklık reaksiyonlarında rol alan hücre içi sinyal

iletim sistemleri geniş ölçüde çalışılmıştır (Hoffmann, 2003; Lemaitre ve Hoffmann, 2007).

Humoral bağışıklık lokalize veya sistemik olabilir. Böceklerdeki bakteriyel patojenlere tepki, özellikle meyve sineği *Drosophila melanogaster*'de iyi çalışılmıştır. Lokalize bir tepki, muhtemelen bakteriyel patojen için en yaygın istila bölgesi olan bağırsakta ortaya çıkabilir. Bağırsaktaki lokal tepki iki mekanizmaya, reaktif oksijen türleri (ROS) ve antimikrobiyal proteinlerin (AMP) üretimine, bağlıdır. ROS sentezi çok hızlı bir yanıttır ve istilaya ilk bariyer olarak hizmet eder. Peptidoglikanlar birçok bakterinin hücre duvarlarında üretilir ve bu bileşikler, ikinci savunma düzeyindeki AMP'lerin sentezini uyarabilir (James ve Xu, 2012).

Humoral bağışıklıkta, AMP'ler, özel bir doku olan yağ doku (fonksiyonel olarak karaciğerin eşdeğeri) tarafından üretilir ve daha sonra hemolenfe salınır. Böcek AMP'leri, hemolenfte biriken, enfeksiyona tepki olarak yüksek konsantrasyonlara ulaşan küçük, katyonik, aktif membran molekülleridir. Farklı patojen sınıflarına karşı geniş bir aktivite yelpazesi sergilerler ve mücadeleden birkaç hafta sonrasına kadar hemolenfte hala tespit edilebilirler (Lemaitre ve Hoffmann, 2007).

Pestisitlerin humoral ve hücrel böcek bağışıklık tepkilerini etkilediği bilinmektedir. Humoral tepkide, örnek (pattern) tanıma proteinleri, istila eden mikropları (veya içsel-olmayan diğer nesnelere) tanımlar ve çeşitli AMP'lerin sentezini başlatır. AMP'ler arasında sekropinler, defensinler, attasinler ve dipterasinler gibi bileşikler bulunur (Hetru vd, 1998).

1.3.3.1. Melanizasyon

Melanizasyon, kütikül sertleşmesi, yara iyileşmesi ve böceklerin bağışıklık için kullandığı enzimatik bir süreçtir (Christensen vd, 2005; Nappi ve Christensen, 2005; Cerenius vd, 2008). Bağışıklık alanında, melanizasyon bakterilerin, mantarların, protozoan parazitlerinin, nematod solucanlarının ve parazitoid yabancıları yumurtalarının öldürülmesinde rol oynayan bir bağışıklık mekanizmasıdır.

Siyah pigment oluşturan melanin, bir serin proteaz kaskadı tarafından aktif forma dönüştürülen fenoloksidaz enzimi tarafından katalize edilir (Ashida ve Brey, 1997). İnaktif proenzim olan profenoloksidaz (ProPO) hemositlerde sentezlenir ve

serbest bırakıldıktan sonra ya aktif olarak kütüküle taşınır (Ashida ve Brey, 1995) ya da yaralar ve kapsüllenmiş parazitlerin etrafında biriktirilir (Bidochka vd, 1997).

Bakteriler gibi melanize olmuş küçük patojenler genellikle fagosite edilirler, daha büyük patojenler ise genellikle hemositler ile kapsüllenir (Pech ve Strand, 1995; Pech ve Strand, 1996; Hillyer vd, 2003a; Hillyer vd, 2003b). Melanizasyona yol açan enzimatik süreç reaktif oksijen türleri (ROS) ürettiğinden, bu reaksiyonlar sıkı bir şekilde düzenlenir.

1.3.3.1.1. Fenoloksidaz (PO)

Enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar, melanogenezde önemli bir rol oynar. Bu süreç, çok hücreli patojenlerin kapsüllenmesinden, dokuların onarılmasından ve bakteriler (gram+ ve gram-), mantarlar ve hatta viral ajanlar gibi diğer patojenlere karşı savunmadan sorumludur (Boman, 1986; Ashida ve Brey, 1997; Nappi ve Christensen, 2005). Melanizasyon reaksiyonlarındaki ana enzim fenoloksidazdır (PO) (Nappi ve Christensen, 2005). Fenoloksidaz birçok patojene karşı kullanılan önemli bir enzimdir (Cerenius ve Söderhäll, 2004).

Fenoloksidaz, temel fonksiyonu fenollerini oksitlemek olan tirozinaz grubunun bir üyesidir. Farklı türlerden elde edilen tirozinaz proteinleri, yapısal özellikleri, dağılımı ve hücre konumu bakımından çeşitlilik gösterir (González-Santoyo ve Córdoba-Aguilar, 2012). Fenoloksidaz tüm böceklerde profenoloksidaz (ProPO) olarak bulunur. Profenoloksidaz tipik olarak patojenler ve yaralar etrafında melanizasyonu başlatmak için fenoloksidaza dönüştürülür ve aktive edilir (Lu vd, 2014).

Bağışıklık sisteminde fenoloksidazın rolü daha önceki çalışmalarla gösterilmiştir (Ashida ve Brey, 1997; Söderhäll ve Cerenius, 1998; Sugumaran, 2002; Cerenius ve Söderhäll, 2004; Kanost ve Gorman, 2008). Fenoloksidazın melanogenezdeki ana rolü, fenollerini kinonlara dönüştürmek ve daha sonra melanin oluşturmak üzere polimerize olmaktır (Söderhäll ve Cerenius, 1998). En geniş ölçüde tanımlanan melanizasyon yolu, meyve sineklerinde parazitoit yumurtalarına karşı melanizasyon işlemidir (Nappi ve Vass, 1993). Melanin, önce fenilalanin hidroksilaz ile tirozine hidroksile edilen fenilalanin aminoasidinden oluşturulur. Tirozin daha

sonra dihidroksifenilalanin (DOPA) üretmek için aktif PO ile hidroksile edilir (González-Santoyo ve Córdoba-Aguilar, 2012).

1.3.3.2. Hemolenfin pıhtılaşması

Omurgalı ve omurgasız hayvanlar arasındaki en temel farklardan biri omurgalıların kan ve lenfatik sıvılarının kapalı damarlar içerisinde dolaştığı kapalı dolaşım sistemine sahip olmaları; bunun aksine, omurgasızların açık bir dolaşım sistemine sahip olmalarıdır. Bu nedenle, patojen bakterilerin böceğin vücut boşluğuna girip yayılmasını engellemek için omurgasızlarda hemolenfin pıhtılaşma mekanizması bulunur (Theopold vd, 2002).

Böceklerde iki tip pıhtılaşma mekanizması tanımlanmıştır. Bunlardan biri, hamamböceği (*Leucophaea maderae*) (Bohn ve Barwig, 1984) ve çekirgede (*Locusta migratoria*) (Brehélin, 1979) tanımlanmıştır. Burada, pıhtılaşabilir proteinlerin polimerizasyonu, hemositlerden salınan Ca^{+2} ye bağlı bir transglütaminaz ile katalize edilir. Pıhtılaşabilir proteinler lipoforin (Barwig, 1985) ve vitellogenin benzeri proteinlerdir (Doolittle ve Riley, 1990). İkincisi, omurgalıların kan pıhtılaşmasına dâhil olan von Willebrand faktörünün 'D' domainlerine homolog bir bölge içermesidir. Bu tip pıhtılaşma en iyi at nalı yengecinde (*Lymulus polyphemus*) çalışılmıştır ve *Drosophila*'da aynı sistemin varlığına yönelik çalışmalar vardır (Gay ve Keith, 1992; Coustau vd, 1996).

1.3.3.3. Antimikrobiyal peptitlerin sentezi

Enfeksiyona karşı üçüncü humoral reaksiyon, antimikrobiyal peptitlerin hızlı de novo sentezidir (Boman, 1996; Hetru vd, 1998). Sentezin ana bölgesi yağ dokudur (Søndergard, 1993), fakat aynı zamanda hemositler (Boman, 1991), kutikular epitel hücreleri (Brey vd, 1993), bağırsak (Daffre vd, 1994), tükürük bezi (Kylsten vd, 1992) ve üreme sistemi (Samakovlis vd, 1991; Rosetto vd, 1996) antimikrobiyal faktörler üretebilir. Her ne kadar bu peptidler yapı bakımından farklı olsa da, tüm peptitler amfipatiktir ve böylece hedef hücreyi nihayetinde liziz ile öldürürler (Cociancich vd, 1993; Lockey ve Ourth, 1996). Bir böceğin hemosolüne enjekte edilen bakteri, hemolenf içine salınan bir dizi antibakteriyel peptit ve proteinin sentezini ortaya çıkarır. Enfeksiyona tepki olarak, böcekler antibakteriyel

peptitlerinin bir kombinasyonunu sentezler ve bakteriyel zarar farklı bileşenlerine saldırarak sinerji içinde hareket ederler (Morishima vd, 1995). Böcek antimikrobiyal proteinleri, yapısal ve sekans benzerliklerine göre gruplandırılır.

1.4. Böceklerde Antioksidan Sistem

Reaktif oksijen türleri (ROS) normal metabolik faaliyetler sırasında veya çeşitli kimyasal veya çevresel kirliliğe neden olan maddelere maruz kalmanın sonucu olarak organizmalarda yan ürünler olarak üretilebilir (Felton ve Summers, 1995).

Reaktif oksijen türleri süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH)'dir. Bu radikaller metabolik işlemleri engeller ve yağ asitleri, proteinler, karbohidratlar, enzimler, nükleik asitler, hormonlar ve nörotransmitterler gibi hücrel bileşenlere zarar vererek organizmalarda oksidatif hasara neden olurlar (Hermes-Lima ve Zenteno-Savin, 2002).

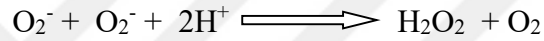
Serbest radikaller dış yörüngesinde paylaşılmamış bir elektron taşıyan kimyasal ürünlerdir. Radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkmasıyla ya da atom veya moleküle bir elektron ilavesiyle oluşurlar. Oluşan radikaller çok reaktiftir (Çaylak, 2011). Serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres normal fonksiyon gösteren hücre ve organizmalardaki moleküllerde enzimatik olmayan oksidatif hasar ile karakterize edilir (Baskin ve Salem, 1997).

Organizmalarda endojen veya ekzojen reaktif kimyasalların yok edilmesinden veya bunlara karşı koymaktan sorumlu bir antioksidan savunma sistemi vardır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR), askorbat peroksidaz, tioredoksin peroksidaz, disülfid redüktaz ve methionin sülfoksit redüktaz böceklerde bulunan antioksidan enzimlerdir (Missirlis vd, 2003). Antioksidan mekanizma böcek dokularında strese tepki olarak aktif hale gelir ve böceklerin kimyasal olarak uygun olmayan çevre koşullarında hayatta kalmalarını sağlar (Hyršl vd, 2007). Bu enzimler serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Ayrıca, bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipitler gibi hücrel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırarak bir hücrel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler (Diplock, 1998).

Antioksidan enzimlerin çoğunun yağ doku, ortabağırsak ve malpigi tüpleri gibi metabolik olarak aktif dokularda yüksek seviyelerde bulunduğu bilinmektedir (Ahmad, 1992).

1.4.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, süperoksit radikallerini (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüştüren enzimdir (Özelçi-Kavas, 1994). Süperoksit anyonu (O_2^-) muhtemelen daha reaktif ve yüksek toksisiteye sahip oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır (Koca ve Karadeniz, 2003). SOD, bu işlemi katalize ederek bu radikallerin etkisini azaltmaktadır. Bu olayda SOD enziminin aktif bölgesini oluşturan çinko önemli bir mineraldir (Koca ve Karadeniz, 2003).



Aerobik tüm hücreler SOD içerir. Hem sitozol, hem de mitokondrielerde bulunan bu enzim süperoksit radikallerini etkisizleştirerek, hücreleri süperoksit radikalının zararlı etkilerinden korur (Oksante Ar-Ge Laboratuvarı, 2012).

SOD herbivor böceklerin oksidasyon ve anti-oksidasyon etkilerinin dengelenmesinde ve çevrenin neden olduğu hasardan böceklerin hücrelerini korumada önemli bir rol oynar (Ahmad ve Pardini, 1990).

1.4.2. Mangan süperoksit dismutaz (MnSOD)

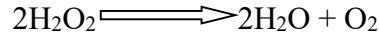
Süperoksit dismutazlar, aktiviteleri için gereken metal iyon kofaktörüne göre sınıflandırılır: bakır/çinko tipi (Cu/ZnSOD), manganlı tip (MnSOD), demir tipi (FeSOD) ve nikel tipi (NiSOD) (Youn vd, 1996). Ökaryotlarda, sitosolde bulunan Cu/ZnSOD, hücre dışında bulunan Cu/ZnSOD ve mitokondride bulunan MnSOD tespit edilmiştir (Fridovich, 1995). Meyve sineği *Drosophila melanogaster*'da Cu/ZnSOD, oksidatif strese ve hayatta kalmaya karşı dirençle ilgilidir (Phillips vd, 1989; Orr ve Sohal, 1994; Sohal vd, 1995; Parkes vd, 1999; Sun ve Tower, 1999).

MnSOD'un, aerobik organizmaların mitokondriyal matriksinde bulunan temel bir antioksidan enzim olduğu bilinmektedir (Cadenas ve Davies, 2000). MnSOD aerobik hücreler için esastır ve biyolojik olarak önemlidir. 1970'lerin başlarında, *Escherichia coli* ve mayayı model organizmalar olarak kullanan çalışmalar, aerobik

ortamlarda hayatta kalmak için MnSOD ekspresyonunun önemine dair kanıtlar sunmaktadır (Gregory ve Fridovich, 1973). MnSOD, insan, maya ve *E. coli* (Barra vd, 1984) arasında % 40'dan fazla dizi homolojisine sahip, yüksek oranda korunmuş bir proteindir (Barra vd, 1984).

1.4.3. Katalaz (CAT)

Katalaz, hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya ve oksijene parçalar. Bir metalloenzim olarak bilinen katalaz enzimi redoks reaksiyonunu teşvik eden en etkili protein katalistlerinden birisidir (Larson, 1988). SOD enzimi faaliyeti sonucunda meydana gelen toksik hidrojen peroksit (H_2O_2) katalaz enzimi etkisiyle su ve oksijene dönüştürülmektedir (Duthie vd, 1989).



Katalaz, yapısında hem içeren bir protein olup peroksizomlarda ve sitozolde bulunmaktadır. Katalaz metil hidroperoksit ve etil hidroperoksit gibi küçük moleküllerin indirgenmesini de sağlar, ancak molekül ağırlığı büyük olan lipid hidroperoksitlere karşı etki göstermez (Oksante Ar-Ge Laboratuvarı, 2012).

1.4.4. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Tiyol grupları, enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak suretiyle görev yapan hücresel antioksidanlardır. Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan glutasyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin substratı olarak görev yapmaktadır (Koca ve Karadeniz, 2003). Suda çözünebilen bir tiyol olan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan glutasyon, membranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Bu koruma, enzimatik olarak gerçekleşmektedir (Di Mascio vd, 1991). Aktivitesi için selenyum mineraline ihtiyaç duyan GSH-Px enzimi, glutasyonun indirgenmiş formunu (GSH), oksitlenmiş hale (GSSG) dönüştürmektedir (Koca ve Karadeniz, 2003).



Bu enzim mitokondri, sitozol ve hücre membranlarında bulunmaktadır (Deaton ve Marlin, 2003). Fagositik hücrelerde önemli bir fonksiyonu vardır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit birikmesine ve hücre hasarına yol açar. GSH-Px, hem lipit peroksidasyonunun başlamasını önler, hem de lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroperoksitlerin metabolizmasını sağlar (Oksante Ar-Ge Laboratuvarı, 2012).

1.5. *Bacillus thuringiensis* Hakkında Genel Bilgiler

1901'de Japon biyolog Shigetane Ishiwatari tarafından ipek böceklerindeki solgunluk hastalığının araştırılması sırasında bakteri izole edilmiş ve *Bacillus sotto* olarak adlandırılmıştır. On yıl sonra, aynı bakteri Ernst Berliner tarafından hastalıklı bir Akdeniz un güvesinden (*Ephestia kuehniella*) izole edilmiş ve *Bacillus thuringiensis* (Bt) olarak adlandırılmıştır (Siegel, 2000).

B. thuringiensis spor oluşumu sırasında insektisidal proteinler (Cry proteinleri ya da δ -endotoksinler olarak adlandırılır) üreten entomopatojenik özelliklere sahip gram-pozitif bir toprak bakterisidir (de Maagd vd, 2001; Bravo vd, 2007; Avisar vd, 2009; Vachon vd, 2012). Bu Cry toksinleri, hedef böceklerine karşı tam bir özgüllük gösterir ve tarımda kimyasal zararlı kontrolü için uygulanabilir bir alternatif sağlayarak daha az pestisit kullanılmasını sağlar (Qaim, 2009; Brookes ve Barfoot, 2013).

Böcek kontrolü için kullanılan en başarılı böcek patojeni *B. thuringiensis*'dir ki bu, total insektisidal piyasanın şimdilik yaklaşık % 2'sini oluşturmaktadır. Bt farklı böcek takımlarının larval evrelerine karşı hemen hemen aktiftir (Bravo vd, 2011). *Bacillus thuringiensis kurstaki* (Btk) suşlarının çoğu lepidopteran böcekler (kelebekler ve güveler) için spesifiktir.

1.6. *Uresiphita gilvata* (Crambidae) Fabricus 1794'ün Karakteristik ve Ekolojik Özellikleri

Uresiphita gilvata Avrupa'da ve Kuzey Afrika'da yaygın olarak bulunmaktadır. Eylül ve Ekim aylarında görülen ve göç eden bir güve türüdür. Larval dönem sonrası pupa döneminde kahverengi olarak gözlemlenir. Pupaların etrafı ise beyaz pamuksu koza ile örtülüdür. Larvalar baş kısmından uca doğru her iki yanda parlak sarı ve

siyah şeritlere, dorsalde ise parlak mavi bir şeride sahiptir. Larvaların boyları 2.5-3 cm uzunluğundadır. Erginlerde kanat genişliği 29-37 mm'dir. Larvalar Genista, Cytisus, Sophora ve Ulex cinslerine ait otsu bitkilerle beslenmektedirler. Arka kanatlar parlak turuncu renkte olup kanatların uçları siyahtır.

U. gilvata'nın sistematik gösterimi aşağıdaki gibidir:

Alem: Animalia

Şube: Arthropoda

Sınıf: Insecta

Takım: Lepidoptera

Familya: Crambidae

Alt Familya: Pyraustinae

Cins: Uresiphita

Tür: *Uresiphita gilvata*



Şekil 1.1. *Uresiphita gilvata* larvası



Şekil 1.2. *Uresiphita gilvata* pupası



Şekil 1.3. *Uresiphita gilvata* ergini

1.7. Tezin Amacı

Bu çalışmada *Uresiphita gilvata* Fabricius 1794 larvalarının hem beslendikleri besin içeriklerinin hem de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* ile gerçekleştirilen enfeksiyonun hücresel ve humoral bağışıklık üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında, beslenmede kritik öneme sahip iki temel besin maddesi olan protein ve karbohidrat miktarları değiştirilerek farklı besinlerin ve enfeksiyonun *U. gilvata* larvalarının süperoksit dismutaz (SOD), mangan süperoksit dismutaz (MnSOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve fenoloksidaz (PO) enzimlerine ve toplam hemosit sayısına olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.



2. MATERYAL ve YÖNTEM

Uresiphita gilvata türüne ait larvalar 2017 Eylül ayında Samsun İlinin Bafra ilçesinde bulunan Kızılırmak Deltası'nda halk arasında acı meyan adı verilen *Sophora alopecuroides* (Fabaceae) türüne ait bitkilerden toplanmıştır.

2.1. Beslenme Deneyleri

Yapılan bu deneyde larvaların hazırlanan besinlerde belirli bir süre beslenmeleri sağlanmıştır. Bu aşamanın ardından kontrol grupları hariç, diğer larvalar *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* bakterisi (erişim no: KX959986) ile enfekte edildikten sonra çeşitli analizler gerçekleştirilmiştir.

Yapılan bu deney 2 aşamada gerçekleştirilmiş olup her aşamaya belirlenen miktarda *U. gilvata* larvaları koyularak toplam 5 grup oluşturulmuştur. Toplam hemosit miktarının belirlenmesi amacıyla birinci aşamada 50 larva, enzim aktivitesinin belirlenmesi amacıyla ikinci aşamada ise 100 larva her bir grup için özel plastik kaplara koyulmuştur. Larvalar yapay besin ile gün aşırı beslenmeye tabi tutulmuştur. 5 gün beslenmenin ardından kontrol larvalarının hemolenfleri alınmıştır. Diğer larvaların besinlerine 1 ml *Btk* bakterisi bulaştırıldıktan üç gün daha larvaların ilgili besinlerde beslenmelerine imkân verilmiş ve daha sonra larvaların hemolenfleri alınarak enzim ve hemosit analizleri yapılmıştır.

2.2. Yapay Besin İçerikleri

Bu çalışmada, *U. gilvata* larvalarının farklı konsantrasyonlarda protein ve karbohidrat kullanılarak hazırlanmış olan yapay besinlerde beslenmeleri sağlanmıştır. Larvaları beslenmek amacıyla Yamamoto (1969) tarafından geliştirilen yapay besin kontrol besini (KB) olarak kullanılmıştır. Bu yapay besinde bulunan maddeler: buğday kepeği, protein olarak kazein; karbohidrat olarak sakkaroz, torula mayası, vitamin karışımı, tuz karışımı, kolesterol, sorbik asit, metil paraben, keten yağı, agar ve sudur (Çizelge 2.1).

Besinde kullanılan ve makronutrient olarak ifade edilen protein (kazein) ve karbohidrat (sükroz) miktarları değiştirilerek biri kontrol besini olmak üzere

toplamda 4 besin hazırlanmış (Çizelge 2.2) ve larvaların bu besinlerle beslenmeleri sağlanmıştır.

Çizelge 2.1. Yamamoto yapay besininin içindeki madde miktarları (1 kg için)

Besin maddesi	Madde miktarı
Buğday Kepeği (Wheatgerm)	80 g/kg
Kazein (Sigma (C-6554))	30 g/kg
Sükroz	30 g/kg
Torula mayası (Sigma (Y-4625))	16 g/kg
Vitamin karışımı (Vanderzant vitamin mixture Sigma (V-1007))	10 g/kg
Tuz karışımı (Wesson salt mixture Sigma (W-1374))	8 g/kg
Kolesterol (Sigma (C-2044))	0.2 g/kg
Sorbik asit (Sigma (S-1626))	
Metil paraben (Sigma (H- 3647))	1 g/kg
Keten yağı (Sigma (L-3026))	1 ml/kg
Agar	20 g/kg
Su	800 ml/kg

Çizelge 2.2. Besin grupları ve besin içerikleri

Besin grupları	Besin içerikleri
A	P:K 30:30 (KB) (Kontrol)
B	P:K 30:30 (Enfeksiyonlu)
C	P:K 50:10 (Kontrol)
D	P:K 50:10 (Enfeksiyonlu)
E	P:K 10:50 (Kontrol)
F	P:K 10:50 (Enfeksiyonlu)
G	P:K 15:15 (Kontrol)
H	P:K 15:15 (Enfeksiyonlu)

2.3. Bakteri ve Kùltür Koşulları ve Larvaların Bakteri ile Enfeksiyonu

Btk nùtrient sıvı besiyerinde 30°C'de gece boyu büyütölmüştür. Büyüyen kùltürün optik yoğunluğu 600 nm dalga boyunda ölçölmüş ve OD₆₀₀=1.89'a ayarlanmıştır. Bu yoğunluktaki 1'er ml bakteri süspansiyonu larvaların beslenmesinde kullanılan yapay besinlere ayrı ayrı bulaştırılmıştır. Bakteri bulaştırılmış yapay besinler plastik kaplara yerleştirilmiştir. Bu kaplara çalışmanın amacına uygun olacak şekilde belirlenen miktarlarda son larva evresindeki *U. gilvata* larvalarından yerleştirilmiştir.

2.4. Hemolenfin Alınması

Kontrol larvalarından 5. günün sonunda, 5 gün bakteri bulaştırılmamış besinlerle ve daha sonra 2 gün bakteri bulaştırılmış besinlerle beslenen larvalardan ise, enfeksiyonun 3. gününde larvaların toraklarında bulunan 3. bacakları kesilerek hemolenfleri alınmıştır. Her grubun hemolenfi ependorf tüplerine konulmuş, hemolenfli tüpler -80°C'de enzim analizi yapıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

2.5. Hemosit Sayımında Kullanılacak Preparatların Giemsa Boyası ile Boyanması

Hemosit sayımında kullanılacak böcek hemolenfleri ependorf tüplerine koyulduktan sonra hemosit yapılarının bozulmaması amacıyla giemsa boyası ile boyanarak tam korunumlu preparatlar elde edilmiştir.

Her bir gruptaki larvalardan hemolenf alınarak ependorf tüplere koyulduktan sonra, her bir lama 10 µl hemolenf yayılmıştır. Lama yayılan hemolenfler kurutulduktan sonra giemsa ile boyama aşamalarına geçilmiştir.

2.6. Enzim Analizleri

Çalışmada protein tayini Lowry vd'nin (1951) yöntemine göre yapılmıştır. Katalaz aktivite tayini Lück (1963) yöntemiyle, süperoksit dismutaz aktivitesi McCord ve Fridovich'in (1969) spektrofotometrik metodu ve Flohé ve Ötting'in (1984) metodu ile belirlenmiştir. Mangan süperoksit dismutaz aktivitesi için Benov ve Fridovich'in (1998) metodu kullanılmıştır. Glutatyon peroksidaz enzim aktivite tayini ise

Lawrence ve Burk'un (1976) yöntemiyle yapılmıştır. Fenoloksidaz aktivite tayini Ashida ve Söderhall'ın (1984) yöntemiyle belirlenmiştir.

2.7. İstatistiksel Analizler

Çalışmada besin içeriğine bağlı olarak hemosit sayısı ve enzim aktivasyonu arasındaki ilişkiyi tespit etmek için bağımsız iki örneklem t testi kullanılmıştır. Bu testler için SPSS 21 versiyonu kullanılmıştır.



3. BULGULAR

Uresiphita gilvata larvalarının farklı besinlerde beslenmeleri ile elde edilen bulgular hemosit sayılarına ve çeşitli enzim aktivitelerine göre incelenmiştir.

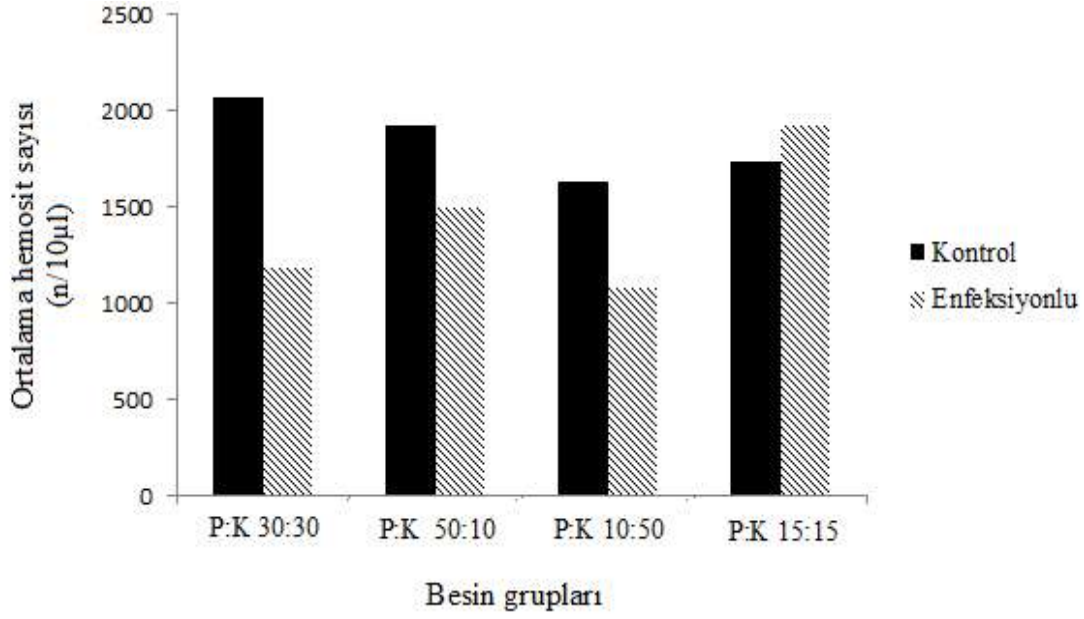
3.1. Hemosit Sayıları

Uresiphita gilvata larvalarının farklı besinlerle beslenme deneyinden elde edilen sonuçlara göre kontrol grubu arasında en düşük ortalama hemosit sayısı protein miktarı en az olan besin grubunda (E), en yüksek ortalama hemosit sayısı ise A besini (P:K 30:30) ile beslenen larvalarda bulunmuştur (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. *Uresiphita gilvata* larvalarının ortalama hemosit sayıları

Besin içerikleri	Besin grupları	Gruplar	Ortalama±standart hata (n/10µl)	t	P
P:K 30:30	A	Kontrol	2072±3.8	-316.2	<0.001
	B	Enfekte edilen	1188±4.1		
P:K 50:10	C	Kontrol	1921±2.7	-594.3	<0.001
	D	Enfekte edilen	1495±5.3		
P:K 10:50	E	Kontrol	1634±6.1	-436.3	<0.001
	F	Enfekte edilen	1085±1.9		
P:K 15:15	G	Kontrol	1742±3.5	-231.3	<0.001
	H	Enfekte edilen	1930±3		

Bakteri ile enfekte edilen tüm grupların ortalama hemosit sayıları kontrol grubuna kıyasla azalmıştır ((P:K 15:15) hariç). Enfeksiyonlu gruplar arasında en az hemosit sayısı, karbohidrat miktarı en fazla olan F grubundadır (P:K 10:50). Protein ve karbohidrat miktarı yarı yarıya düşürülen grupta (H) enfeksiyon ile hemosit sayısında artış kaydedilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *Uresiphita gilvata* larvalarının besin gruplarına göre ortalama hemosit sayılarının karşılaştırılması

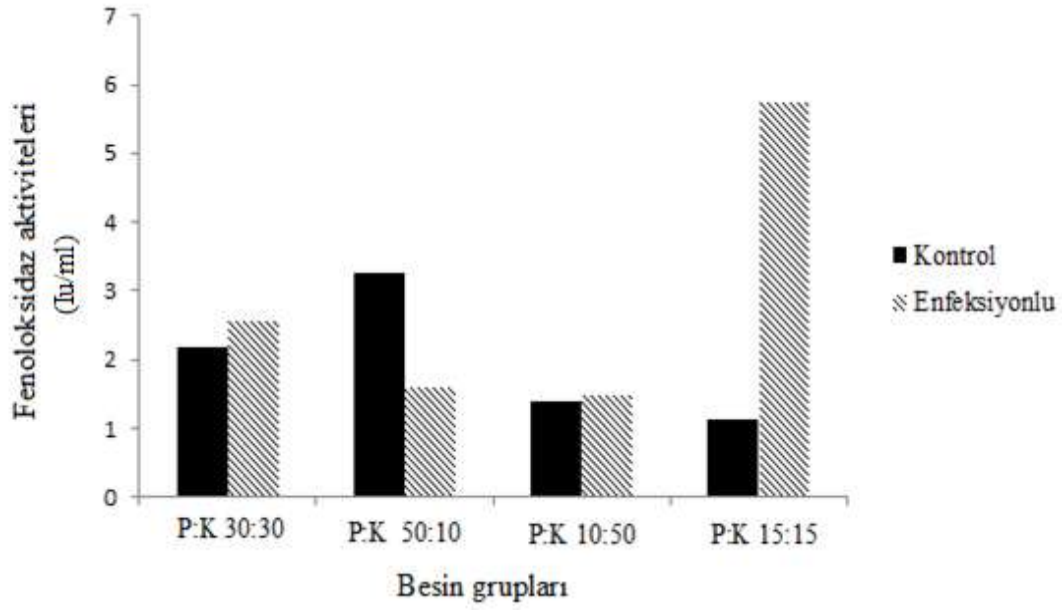
3.2. Fenoloksidaz (PO) Enzim Aktiviteleri

Tüm kontrol grupları içerisinde en düşük fenoloksidaz enzim aktivitesinin protein ve karbohidrat miktarı yarı yarıya düşürülen G grubunda (P:K 15:15), en yüksek fenoloksidaz enzim aktivitesinin ise en yüksek protein miktarına sahip olan C grubunda (P:K 50:10) olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. *Uresiphita gilvata* larvalarının beslenme deneylerinden elde edilen fenoloksidaz aktiviteleri

Besin içerikleri	Besin grupları	Gruplar	Ortalama±Standart hata (Iu/ml)	t	P
P:K 30:30	A	Kontrol	2.2	9.8	<0.001
	B	Enfekte edilen	2.6		
P:K 50:10	C	Kontrol	3.3	-739.2	<0.001
	D	Enfekte edilen	1.6		
P:K 10:50	E	Kontrol	1.4	62.8	<0.001
	F	Enfekte edilen	1.5		
P:K 15:15	G	Kontrol	1.1	2061.6	>0.05
	H	Enfekte edilen	5.8		

Kontrol grubuna kıyasla bakteri enfeksiyonu ile tüm gruplarda (D hariç) aktivasyon görülmüştür. B besini ile beslenen larvaların hemolenflerindeki fenoloksidaz enziminin % 16.4, F besini grubunda (P:K 10:50) % 6.4, protein ve karbohidrat miktarı yarı yarıya düşürülen H besini grubunda (P:K 15:15) ise % 412.5 aktivasyon gösterdiği bulunmuştur. Bu enzimin protein miktarı en fazla olan D besini grubunda (P:K 50:10) ise % 50.7 azalma gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *Uresiphita gilvata* larvalarının besin gruplarına göre fenoloksidaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

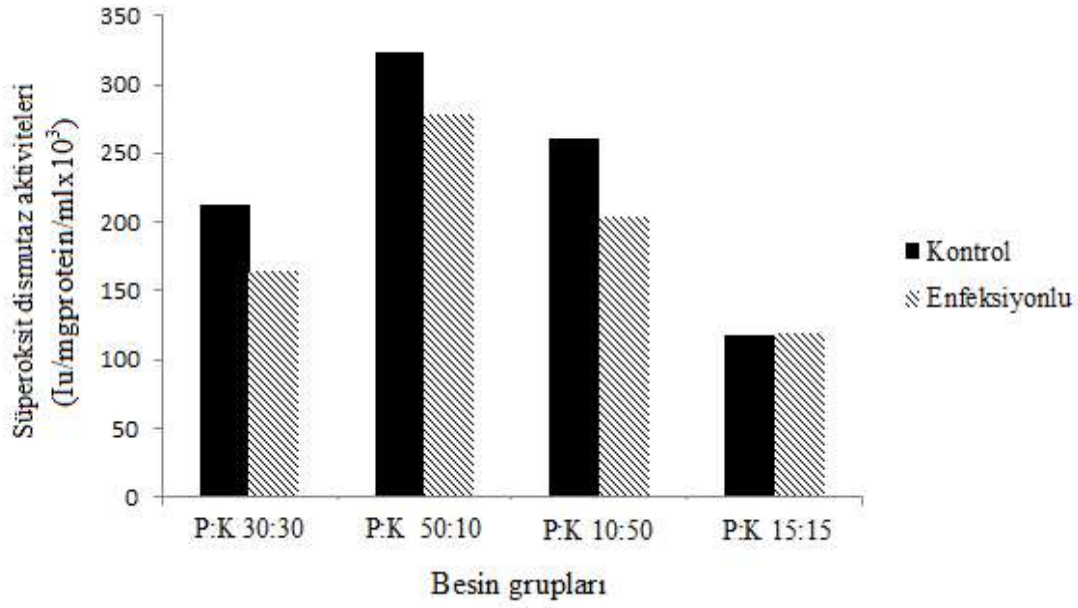
3.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktiviteleri

Kontrol grupları içerisinde en düşük süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin protein ve karbohidrat miktarı yarı yarıya düşürülen G besin grubunda (P:K 15:15), en yüksek enzim aktivitesinin ise protein miktarı en fazla olan C besin grubunda (P:K 50:10) olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. *Uresiphita gilvata* larvalarının beslenme deneylerinden elde edilen süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri

Besin içerikleri	Besin grupları	Gruplar	Ortalama±Standart hata (Iu/mgprotein/mlx10 ³)	t	P
P:K 30:30	A	Kontrol	213±2.0	-17.0	<0.001
	B	Enfekte edilen	164±2.0		
P:K 50:10	C	Kontrol	324±2.2	-16.6	<0.001
	D	Enfekte edilen	279±1.5		
P:K 10:50	E	Kontrol	261±2.4	-17.7	<0.001
	F	Enfekte edilen	204±2.1		
P:K 15:15	G	Kontrol	118±2.7	0.59	>0.05
	H	Enfekte edilen	120±2.2		

Bakteri enfeksiyonu ile tüm grupların (H hariç) enzim aktivitelerinde azalma görülmüştür. Bu gruplar içerisinde azalmanın en fazla olduğu grup B besin grubundadır (% 23). En düşük azalma ise protein miktarı en fazla olan besin grubundadır (D grubu; % 13.8). Enfeksiyonlu gruplar içerisinde aktivasyon (% 1.69) gösteren tek grubun protein ve karbohidrat miktarı yarı yarıya düşürülen besin grubunda (H) olduğu bulunmuştur (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *Uresiphita gilvata* larvalarının besin gruplarına göre süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

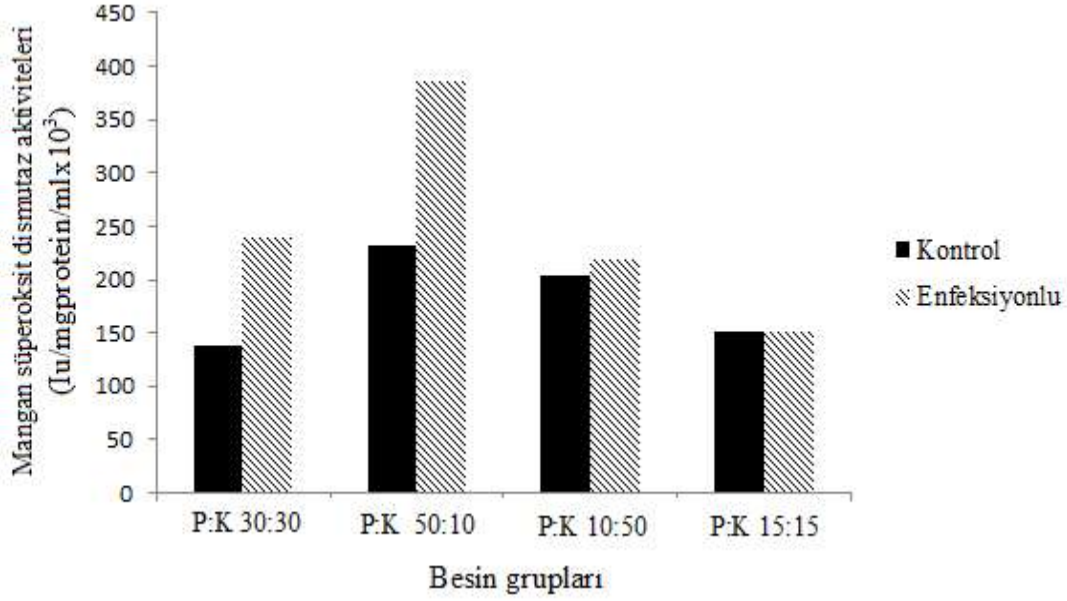
3.4. Mangan Süperoksit Dismutaz (MnSOD) Enzim Aktiviteleri

Tüm kontrol grupları içerisinde en düşük mangan süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin A besin grubunda (P:K 30:30), en yüksek enzim aktivitesinin ise protein miktarı en fazla olan C besin grubunda (P:K 50:10) olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. *Uresiphita gilvata* larvalarının beslenme deneylerinden elde edilen mangan süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri

Besin içerikleri	Besin grupları	Gruplar	Ortalama±Standart hata (Iu/mgprotein/mlx10 ³)	t	P
P:K 30:30	A	Kontrol	138±19.4	5.1	<0.001
	B	Enfekte edilen	239±2.8		
P:K 50:10	C	Kontrol	232±3.0	36.6	<0.001
	D	Enfekte edilen	387±3.0		
P:K 10:50	E	Kontrol	204±2.0	4.4	<0.001
	F	Enfekte edilen	220±3.1		
P:K 15:15	G	Kontrol	151±1.6	0.08	>0.05
	H	Enfekte edilen	151±1.7		

Bakteri enfeksiyonu ile tüm gruplarda (H hariç) aktivasyon görülmüştür. En yüksek enzim aktivasyonunun B besin grubunda olduğu görülmüştür (% 73.1). En düşük aktivasyon ise karbohidrat miktarı en fazla olan besin grubundadır (F; % 7.8). Protein ve karbohidrat miktarı yarı yarıya düşürülen H grubunda (P:K 15:15) herhangi bir azalma ya da aktivasyon görülmemiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. *Uresiphita gilvata* larvalarının besin gruplarına göre mangan süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

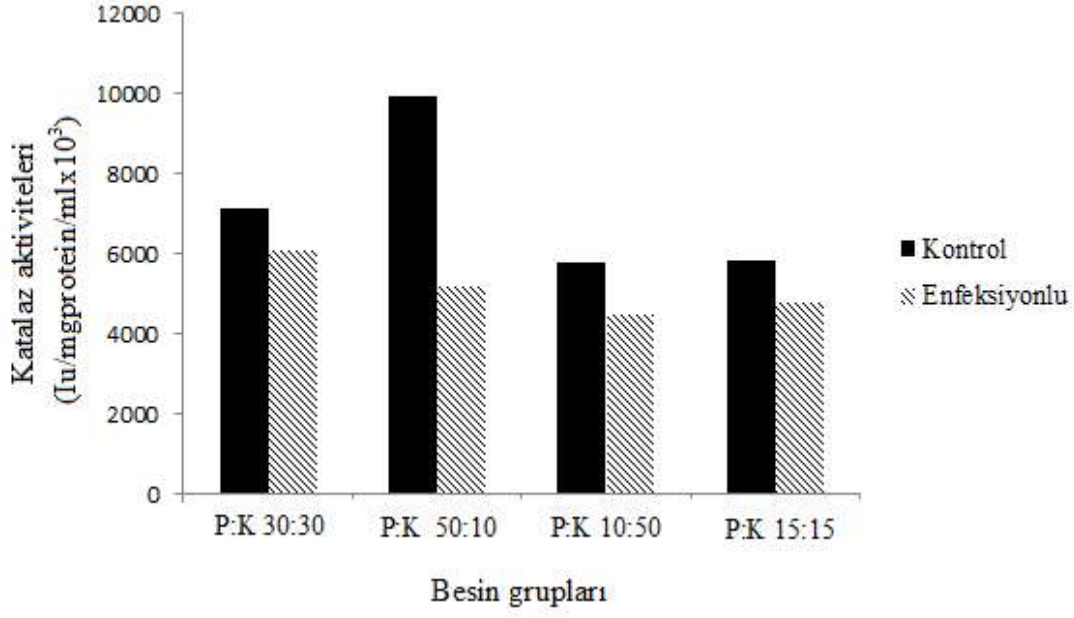
3.5. Katalaz (CAT) Enzim Aktiviteleri

Uresiphita gilvata larvalarının farklı besinlerde beslenme deneyinden elde edilen sonuçlara göre kontrol grupları içerisinde en düşük katalaz enzim aktivitesinin karbohidrat miktarı en fazla olan besin grubunda (E), en yüksek enzim aktivitesinin ise protein miktarı en fazla olan besin grubunda (C) olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. *Uresiphita gilvata* larvalarının beslenme deneylerinden elde edilen katalaz enzim aktiviteleri

Besin içerikleri	Besin grupları	Gruplar	Ortalama±Standart hata (Iu/mgprotein/mlx10 ³)	t	P
P:K 30:30	A	Kontrol	7120±0.9	-596.6	<0.001
	B	Enfekte edilen	6083±1.5		
P:K 50:10	C	Kontrol	9955±3.9	-994.1	<0.001
	D	Enfekte edilen	5203±2.8		
P:K 10:50	E	Kontrol	5766±4.5	-226.7	<0.001
	F	Enfekte edilen	4493±3.4		
P:K 15:15	G	Kontrol	5839±2.6	-251.2	<0.001
	H	Enfekte edilen	4800±3.2		

Bakteri enfeksiyonu ile tüm grupların katalaz enzim aktivitelerinde azalma meydana gelmiştir. En fazla azalma (% 47.7) protein miktarı en fazla olan D besin grubundadır (P:K 50:10). En düşük azalma (% 14.5) ise B besin grubundadır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *Uresiphita gilvata* larvalarının besin gruplarına göre katalaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

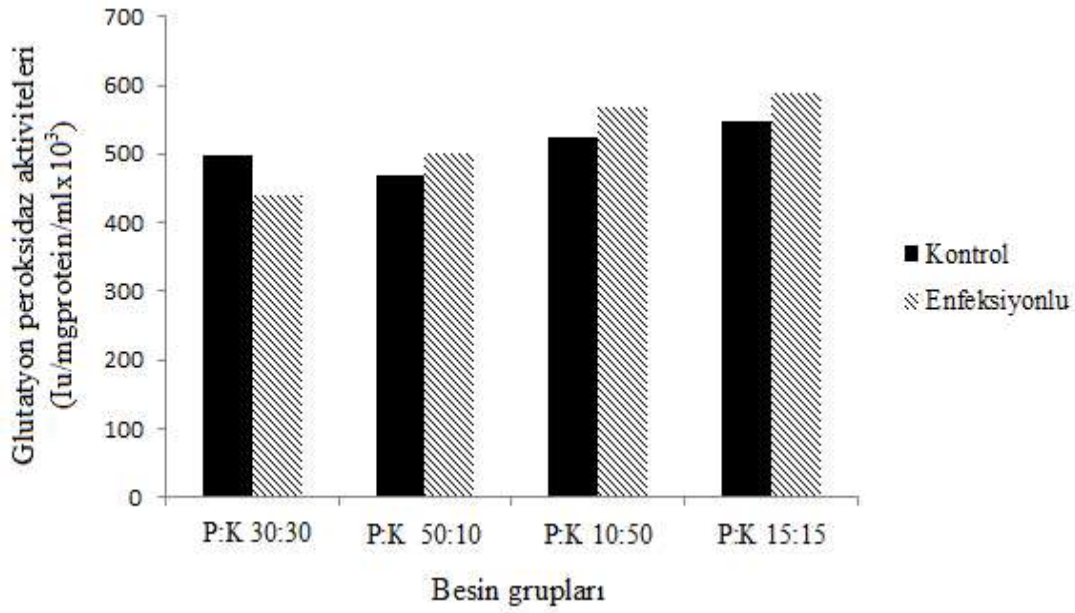
3.6. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Enzim Aktiviteleri

Tüm kontrol grupları içerisinde en düşük glutasyon peroksidaz enzim aktivitesine sahip besin grubu en fazla protein miktarına sahip gruptur (C besini; P:K 50:10). En yüksek glutasyon peroksidaz enzim aktivitesine sahip olan besin grubu ise protein ve karbohidratı yarı yarıya düşürülen G besin grubudur (P:K 15:15). (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6. *Uresiphita gilvata* larvalarının beslenme deneylerinden elde edilen glutasyon peroksidaz enzim aktiviteleri

Besin içerikleri	Besin grupları	Gruplar	Ortalama±Standart hata (Iu/mgprotein/mlx10 ³)	t	P
P:K 30:30	A	Kontrol	497±5.9	-124.2	<0.001
	B	Enfekte edilen	440±1.5		
P:K 50:10	C	Kontrol	468±3.7	-86.6	<0.001
	D	Enfekte edilen	500±2.2		
P:K 10:50	E	Kontrol	524±3.5	-34.4	<0.001
	F	Enfekte edilen	569±2.2		
P:K 15:15	G	Kontrol	549±3.1	-42.1	<0.001
	H	Enfekte edilen	589±3.9		

Kontrol gruplarına kıyasla bakteri enfeksiyonu ile tüm gruplarda aktivasyon görülmüştür (B hariç). D besini (P:K 50:10) ile beslenen larvaların hemolenflerindeki glutatyon peroksidaz enziminin % 6.8, F besin grubunda (P:K 10:50) % 8.5, protein ve karbohidrat miktarı yarı yarıya düşürülen H besin grubunda (P:K 15:15) ise % 7.2 aktivasyon gösterdiği bulunmuştur. Bu enzimin B besin grubunda (P:K 30:30) ise % 11.4 azalma gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. *Uresiphita gilvata* larvalarının besin gruplarına göre glutatyon peroksidaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

4. TARTIŞMA

Kontrol grupları içerisinde en az hemosit sayısı protein miktarı en az olan E besin grubundadır (P:K 10:50). En fazla hemosit sayısının ise A besin grubunda (P:K 30:30) olduğu bulunmuştur. Bu besin, protein ve karbohidrat bakımından yeterli ve dengeli bir besindir. Protein ve karbohidrat dengesi tüm canlılarda olduğu gibi bu tür için de önemlidir.

Hücrel savunmada rol oynayan hemositlerin sayılarının karşılaştırılmasında besin içeriği kadar enfeksiyonun etkisi de önemlidir. Bakteri ile enfekte edilen gruplarda (H hariç) beslenen larvaların hemosit sayılarının kontrol gruplarında beslenenlere kıyasla az olması bunun kanıtıdır. *Trichoplusia ni* ile yapılan bir çalışmada (Ericsson vd, 2009), *B. thuringiensis* ile enfekte edilen larvaların hemosit sayısının kontrol larvalarına kıyasla az olduğu bulunmuştur. Kontrol grubuna kıyasla, *Plodia interpunctella* larvalarının *B. thuringiensis* ile enfeksiyonu sonucunda hemosit sayısında azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Orozco-Flores vd, 2017). Bu çalışmalar, çalışmamızda bulunan sonuçlarla örtüşmektedir.

Enfeksiyonlu gruplarda besine ilave edilen protein miktarı arttıkça hemosit sayısının arttığı tespit edilmiştir. Protein ve karbohidrat miktarları yarı yarıya düşürülen H besin grubunda (P:K 15:15) dikkat çekici bir sonuç bulunmuştur. Bakteri enfeksiyonu ile diğer grupların hemosit sayıları kontrol gruplarına kıyasla azalırken, bu besinde beslenen larvaların hemosit sayılarında artış kaydedilmiştir. Tüm hayvanlar dengeli bir besine ihtiyaç duyarlar (Clissold ve Simpson, 2015). Hem protein hem de karbohidrat bakımından yetersiz besinin yanı sıra enfeksiyon ile de mücadele etmek zorunda kalan larvalar hemosit sayılarını arttırarak enfeksiyona tepki göstermiş olabilir.

Hem kontrol grupları hem de enfeksiyonlu gruplar içerisinde en düşük hemosit sayıları protein miktarları en düşük olan besin gruplarındadır (E ve F besini; P:K 10:50). Bu durum, hücrel savunmada proteinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir.

Kontrol grupları içerisinde (G hariç) besine ilave edilen protein miktarı arttıkça fenoloksidaz enzim aktivitesinde artış kaydedilmiştir. Bu gruplar içerisinde en yüksek fenoloksidaz enzim aktivitesinin protein miktarı en fazla olan C besin grubunda (P:K 50:10) olduğu bulunmuştur.

Fenoloksidaz birçok patojene karşı kullanılan önemli bir enzimdir (Cerenius ve Söderhäll, 2004). Böceklerde, patojen enfeksiyonu sonrasında melanizasyonu başlatmak için profenoloksidazlar (PPO) fenoloksidazlara (PO) dönüştürülür ve aktive edilir (Lu vd, 2014). Melanin üretimi genellikle hücrel tepkilerle tetiklenir (Jiang vd, 1998; Goldsworthy vd, 2003). Melanizasyon yolu, serin proteazların salındığı ve PO kaskadını tetikleyen hemositler tarafından aktive edilir (Kurihara vd, 1992; Gajewski vd, 2007).

Bakteri enfeksiyonu ile fenoloksidaz enzim aktivitelerinin değiştiği kaydedilmiştir. Enfeksiyon ile tüm gruplarda (D hariç) bu enzimin aktivasyon gösterdiği bulunmuştur. En yüksek aktivasyon (% 412) protein ve karbohidrat miktarı yarı yarıya düşürülen besin grubundadır (H). Hemosit sayısının tek artış gösterdiği bu grupta fenoloksidaz enzim aktivitesi maksimum seviyededir. Enfeksiyon, besin içeriğinin yetersizliği (P:K 15:15) ve hücrel savunmanın yanı sıra humoral savunmada da rol oynayan hemositlerin sayısındaki artış kontrol grubuna (G) kıyasla fenoloksidaz enziminde yüksek oranda aktivasyona yol açmıştır.

Enfeksiyonlu gruplar içerisinde en düşük fenoloksidaz enzim aktivitesi protein miktarı en az olan gruptadır (F). Bu grupta enfeksiyon sonucu hemosit sayısının minimum olması fenoloksidaz enzim aktivitesinin de minimum olmasına yol açmıştır. Bu durum, hem fenoloksidaz aktivitesinin hemosit sayısına bağlı olduğunu düşündürmekte hem de proteinin ve enfeksiyonun enzim aktivitesindeki rolünü göstermektedir.

Bakteri enfeksiyonu ile fenoloksidaz enziminde azalma gösteren tek grup karbohidrat miktarı en az olan D besin grubudur (P:K 50:10). Bu grupta hemosit sayısı da enfeksiyon ile azalmıştır. *B. thuringiensis* ile enfekte edilen *T. ni* larvalarının kontrol grubuna kıyasla fenoloksidaz enzim aktivitelerinin azaldığı gösterilmiştir (Ericsson vd, 2009). Kontrol grubuna kıyasla, *P. interpunctella* larvalarının *B. thuringiensis* ile enfekte edilmesi sonucunda fenoloksidaz aktivitesinde azalma meydana geldiği bulunmuştur (Orozco-Flores vd, 2017). Bu çalışmalarda bulunan sonuçlar bizim çalışmamızdaki düşük karbohidrat içeren (P:K 50:10) grubun verileri ile örtüşmektedir.

Hem kontrol hem de enfeksiyonlu gruplar içerisinde en yüksek süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinin protein miktarı en fazla olan besin gruplarında (C ve D) olduğu tespit edilmiştir.

Galleria mellonella ile yapılan bir çalışmada, larvaların orta bağırsağındaki süperoksit dismutaz aktivitesinin *B. thuringiensis* enfeksiyonu ile arttığı bulunmuştur (Dubovskiy vd, 2008). Çalışmamızda, bakteri enfeksiyonu ile tüm grupların (H hariç) süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinde azalma meydana gelmiştir. Çeşitli insektisitlerin, süperoksit dismutaz gibi anahtar enzimlerin aktivitesini baskıladığı bilinmektedir (Adamski vd, 2003; Buyukguzel, 2009). Enfeksiyon ile enzim aktivitesinde meydana gelen azalma bakterinin oksidatif stresi baskıladığı anlamına gelebilir.

Bağışıklık tepkisini etkileyebilecek koşullardan biri de diyetdir (Chambers ve Schneider, 2012). Protein ve karbohidrat miktarı yarı yarıya düşürülen besin grubunda (H) enfeksiyon ile aktivasyon meydana geldiği kaydedilmiştir. Aktivasyona rağmen hem kontrol hem de enfeksiyonlu gruplar içerisinde yetersiz besin (P:K 15:15) gruplarında (G ve H) süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri diğer gruplara kıyasla minimumdur.

Mangan süperoksit dismutaz aerobik organizmaların mitokondriyal matriksinde bulunan bir antioksidan enzimdir (Cadenas ve Davies, 2000). Bu enzim aerobik hücreler için esastır ve biyolojik olarak önemlidir (Candas ve Li, 2014). Hem kontrol hem de enfeksiyonlu gruplar içerisinde en yüksek mangan süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri protein miktarı en fazla olan besin gruplarındadır (C ve D). En yüksek süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri yine bu gruplardadır. Bu durum, protein miktarının hem sitoplazmik hem de mitokondriyal radikal süpürme mekanizmalarını doğrudan etkilediğini göstermektedir.

Mangan süperoksit dismutaz bakterilerin varlığında hayvanın doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinde rol oynar (Cheng vd, 2006; Ni vd, 2007; Bao vd, 2008; Wang vd, 2008). *Hyphantria cunea* ile yapılan bir çalışmada, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* ile enfekte larvalarda mangan süperoksit dismutaz ekspresyonunun kontrollere kıyasla 2 kat daha düşük olduğu bulunmuştur (Kim vd, 2010). Çalışmamızda bakteri enfeksiyonu ile tüm gruplarda (H hariç) aktivasyon meydana gelmiştir. Enfeksiyonlu gruplarda (H hariç) besine ilave edilen karbohidrat miktarı arttıkça enzim aktivitesi azalmıştır. Karbohidrat miktarı en yüksek olan besin

grubunda (F) aktivasyon minimumdur (% 7.8). Bu durum enfeksiyon ve karbohidratın mangan süperoksit dismutaz enziminin aktivasyonunda azalmaya neden olduğunu göstermektedir. Yetersiz besin (P:K 15:15) grubunda (H) kontrol grubuna (G) kıyasla herhangi bir değişim kaydedilmemiştir.

Besin içerisindeki protein ve karbohidrat miktarı, herbivor böceklerin bağışıklık tepkileri gibi streslerin üstesinden gelme yeteneği ile ilişkilendirilmiştir (Deans vd, 2016). Kontrol grupları içerisinde besine ilave edilen protein miktarı arttıkça katalaz enzim aktivitesinde artış kaydedilmiştir. Bu gruplar içerisinde en yüksek katalaz enzim aktivitesinin protein miktarı en yüksek olan C besin grubunda (P:K 50:10) olduğu bulunmuştur. Bu grupta hem süperoksit dismutaz hem de mangan süperoksit dismutaz aktiviteleri maksimumdur. Bu enzimlerin yüksek aktiviteleri katalaz enziminin de yüksek aktivite göstermesine neden olmuştur.

Dubovskiy vd (2008) *B. thuringiensis* ile enfekte edilen *G. mellonella* larvalarının orta bağırsağındaki katalaz enzim aktivitesinin kontrol gruplarına kıyasla azaldığını bulmuşlardır. Farklı bitkilerde beslenen *Lymantria dispar* larvalarının orta bağırsağındaki katalaz aktiviteleriyle ilgili yapılan bir çalışmada, enzim aktivitesinde azalma meydana geldiği bulunmuştur (Peric-Mataruga vd, 1996). Çalışmamızda da bakteri enfeksiyonu ile tüm grupların katalaz enzim aktivitelerinde azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum, ortamdaki serbest radikallerin *B. thuringiensis* tarafından tutulmuş olabileceğini düşündürmektedir.

Hem kontrol hem de enfeksiyonlu gruplar içerisinde en düşük katalaz enzim aktiviteleri karbohidrat miktarı en fazla olan besin gruplarındadır (E ve F). Bu durum yüksek konsantrasyonda bulunan karbohidratın ortamda bulunan hidrojen peroksidin eliminasyonunu olumlu etkilediği şeklinde yorumlanabilir.

Besin içeriğinin bağışıklık tepkilerinde çok çeşitli etkileri olabilir (Koella ve Sorensen, 2002; Brunner vd, 2014; Adamo vd, 2016). Kontrol grupları içerisinde besine ilave edilen karbohidrat miktarı azaldıkça glutatyon peroksidaz enzim aktivitesinde azalma meydana geldiği kaydedilmiştir (G hariç). Bu durum, hidrojen peroksidin ortamdaki uzaklaştırılmasında karbohidratın önemli olduğunu göstermektedir.

Glutatyon peroksidaz, düşük konsantrasyondaki hidrojen peroksidi ortamdaki uzaklaştırır. Ortamdaki yüksek konsantrasyondaki hidrojen peroksidi ise katalaz

enzimi uzaklaştırır (Özcan vd, 2015). Kontrol grupları içerisinde, süperoksit dismutaz ve mangan süperoksit dismutaz enzimlerinin maksimum aktivite gösterdiği en fazla protein içeriğine sahip grupta (C) katalaz aktivitesi maksimumdur. Buna karşın, glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi bu grupta minimum aktivite göstermiştir. Bu durum, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerinin antogonistik bir şekilde çalıştığını göstermektedir.

Bakterilerin, lepidopter herbivorlarda bağışıklık tepkisini indükleyebileceği bilinmektedir (Freitag vd, 2007). Bakteri enfeksiyonu ile tüm gruplarda (B hariç) glutatyon peroksidaz enziminin aktivasyon gösterdiği bulunmuştur. Hem kontrol hem de enfeksiyonlu gruplar içerisinde en yüksek glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri protein ve karbohidrat miktarı yarı yarıya düşürülen besin gruplarındadır (G ve H). Bakteri enfeksiyonu ile B besin grubunun (P:K 30:30) enzim aktivitesinde azalma meydana geldiği belirlenmiştir.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Böcekler, farklı ekolojik alanlarda yaşayan, dünyanın en büyük hayvan grubudur. Olumsuz şartlarda dahi çevresel stresten kurtulup hayatta kalabilirler. Yaşamları süresince, virüsler, bakteriler veya mantarlar gibi entomopatojenlerin yol açtığı enfeksiyonlara maruz kalırlar. Bu durumda, memeli sistemindeki gibi, T-hücreleri, B-hücreleri ya da antikora sahip olmayan böcek bağışıklık sistemi sadece doğuştan sahip olduğu savunmalara güvenir (Płytycz ve Saljelid, 1998; Dzik, 2010).

Böceklerdeki mikrobiyal enfeksiyon senaryoları, konakçı ve patojen arasında dramatik bir etkileşim ile karakterize edilir. Böcekler, enfeksiyon ile savaşmaya çalışan savunma mekanizmalarını aktive ederken, patojenler tüm bu düşmanca engelleri aşmak için virülans faktörlerini salgırlar (Wojda ve Taszłow, 2013).

Tüm canlılarda olduğu gibi böcekler için de beslenme kaçınılmazdır. Böcekler kendileri için en uygun besini tüketmek isterler. Ortamda yeterli miktarda besin yoksa ya mevcut besini daha fazla tüketerek bu eksikliği gidermeye çalışırlar ya da farklı besin kaynakları ararlar.

Çalışmamızda beslenme için en temel makronutrientlerden protein ve karbohidratın *U. gilvata* larvalarına olan etkileri incelenmiştir. Ayrıca, larvaların *B. thuringiensis* ile enfekte edilmesi durumunda, hücresel ve humoral savunma sistemlerinin bu iki değişkenden nasıl etkilendiğini araştırdık.

Normal koşullarda (enfeksiyon hariç) farklı içeriğe sahip besinlerde beslenen larvaların hücresel ve humoral savunmalarında besin içeriğine bağlı olarak farklılıklar meydana gelmiştir. Enfeksiyon da duruma dâhil edildiğinde larvalar enfeksiyona karşı savunma sistemlerini aktive ederler. Bazen enzimlerin bu aktivitesi enfeksiyon ile inhibe edilir.



KAYNAKLAR

- Adamo, S. A., Davies, G., Easy, R., Kovalko, I. and Turnbull, K. F. 2016. Reconfiguration of the immune system network during food limitation in the caterpillar *Manduca sexta*. *Journal of Experimental Biology*, 219: 706-718. doi: 10.1242/jeb.132936
- Adamski, Z., Ziemnicki, K., Fila, K., Žikić, R. and Štajn, A. 2003. Effects of long-term exposure to fenitrothion on *Spodoptera exigua* and *Tenebrio molitor* larval development and antioxidant enzyme activity. *Biological Letters*, 40: 43-52.
- Ahmad, S. 1992. Biochemical defense of pro-oxidant plant allelochemicals by herbivorous insects. *Biochemical Systematics and Ecology*, 20: 4, 269-296. doi: 10.1016/0305-1978(92)90040-K
- Ahmad, S. and Pardini, R. S. 1990. Mechanisms for regulating oxygen toxicity in phytophagous insect. *Free Radical Biology and Medicine*, 8: 4, 401-413. doi: 10.1016/0891-5849(90)90107-T
- Ashida, M. and Brey, P. T. 1995. Role of the integument in insect defense: prophenol oxidase cascade in the cuticular matrix. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92: 23, 10698-10702. doi: 10.1073/pnas.92.23.10698
- Ashida, M. and Brey, P. 1997. *Recent advances in research on the insect prophenoloxidase cascade*. In: Brey, P. and Hultmark, D. (Ed.), *Molecular Mechanisms of Immune Responses in Insects*. Chapman and Hall, 135-171, London, UK.
- Ashida, M. and Söderhall, K. 1984. The prophenoloxidase activating system in crayfish. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B- Biochemistry & Molecular Biology*, 77: 21-26.
- Avisar, D., Eilenberg, H., Keller, M., Reznik, N., Segal, M., Sneh, B. and Zilberstein, A. 2009. The *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin Cry1C as a potential bio insecticide in plants. *Plant Science*, 176: 3, 315-324. doi: 10.1016/j.plantsci.2008.12.010
- Baldwin, I. T. 2001. An ecologically motivated analysis of plant-herbivore interactions in native tobacco. *Plant Physiology*, 127: 4, 1449-1458. doi: 10.1104/pp.010762
- Bao, Y., Li, L. and Zhang, G. 2008. The manganese superoxide dismutase gene in bay scallop *Argopecten irradians*: cloning, 3D modelling and mRNA expression. *Fish & Shellfish Immunology*, 25: 425-432. doi: 10.1016/j.fsi.2008.06.005

- Barra, D., Schinina, M. E., Simmaco, M., Bannister, J. V., Bannister, W. H., Rotilio, G. and Bossa, F. 1984. The primary structure of human liver manganese superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 259: 12595-12601.
- Barwig, B. 1985. Isolation and characterization of plasma coagulogen (PC) of the cockroach *Leucophaea maderae* (Blattaria). *Journal of Comparative Physiology B*, 155: 2, 135-143.
- Baskin, S. I. and Salem, H. 1997. *Oxidants, antioxidants, and free radicals*. Washington DC: Taylor and Francis, 79-120, Washington.
- Behmer, S. T. 2009. Insect herbivore nutrient regulation. *Annual Review of Entomology*, 54: 165-187. doi: 10.1146/annurev.ento.54.110807.090537
- Behmer, S. T. and Joern, A. 2008. Coexisting generalist herbivores occupy unique nutritional feeding niches. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105: 6, 1977-1982. doi: 10.1073/pnas.0711870105
- Behmer, S. T., Simpson, S. J. and Raubenheimer, D. 2002. Herbivore foraging in chemically heterogeneous environments: nutrients and secondary metabolites. *Ecology*, 83: 9, 2489-2501. doi: 10.1890/0012-9658(2002)083[2489:HFICHE]2.0.CO;2
- Benov, L. and Fridovich, I. 1998. Growth in iron-enriched medium partially compensates *E. coli* for the lack of Mn and Fe SOD. *Journal of Biological Chemistry*, 273: 10313-10316.
- Bent, A. F. and Mackey, D. 2007. Elicitors, effectors, and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annual Review of Phytopathology*, 45: 399-436. doi: 10.1146/annurev.phyto.45.062806.094427
- Bernays, E. A. 1998. Evolution of feeding behaviour in insect herbivores. *Bioscience*, 48: 1, 35-44. doi: 10.2307/1313226
- Bernays, E. A. and Chapman, R. F. 1994. *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman and Hall, 312, London.
- Bidochka, M. J., St Leger, R. J. and Roberts, D. W. 1997. Induction of novel proteins in *Manduca sexta* and *Blaberus giganteus* as a response to fungal challenge. *Journal of Invertebrate Pathology*, 70: 3, 184-189. doi: 10.1006/jipa.1997.4688
- Blakley, B., Brousseau, P., Fournier, M. and Voccia, I. 1999. Immunotoxicity of pesticides: a review. *Toxicology and Industrial Health*, 15: 119-132. doi: 10.1177/074823379901500110
- Bohn, H. and Barwig, B. 1984. Hemolymph clotting in the cockroach *Leucophaea maderae* (Blattaria). *Journal of Comparative Physiology B*, 154: 5, 457-467.

- Boman, H. G. 1986. *Antibacterial immune proteins in insects*. In: Lackie, A. M. (Ed.), *Immune Mechanisms in Invertebrate Vectors*. Symposia of the Zoological Society, 45-58, London, UK.
- Boman, H. G. 1991. Antibacterial peptides: key components needed in immunity. *Cell*, 65: 2, 205-207. doi: 10.1016/0092-8674(91)90154-Q
- Boman, H. G. 1996. Peptide antibiotics: holy or heretic grails of innate immunity? *Scandinavian Journal of Immunology*, 43: 5, 475-482. doi: 10.1046/j.1365-3083.1996.d01-76.x
- Bravo, A., Gill, S. S. and Soberon, M. 2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*, 49: 4, 423-435. doi: 10.1016/j.toxicon.2006.11.022
- Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S. S. and Soberón, M. 2011. *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41: 7, 423-431. doi: 10.1016/j.ibmb.2011.02.006
- Brehélin, M. 1979. Hemolymph coagulation in *Locusta migratoria*: evidence for a functional equivalent of fibrinogen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 62: 4, 329-334. doi: 10.1016/0305-0491(79)90098-1
- Brey, P. T., Lee, W. J., Yamakawa, M., Koizumi, Y., Perrot, S., François, M. and Ashida, M. 1993. Role of the integument in insect immunity: epicuticular abrasion and induction of cecropin synthesis in cuticular epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90: 13, 6275-6279.
- Brookes, G. and Barfoot, P. 2013. Key environmental impacts of global genetically modified (GM) crop use 1996-2011. *GM Crops Food*, 4: 2, 109-119. doi: 10.4161/gmcr.24459
- Brunner, F. S., Schmid-Hempel, P. and Barribeau, S. M. 2014. Protein-poor diet reduces host-specific immune gene expression in *Bombus terrestris*. *Proceedings of the Royal Society B*, 281: 20140128. doi: 10.1098/rspb.2014.0128
- Buyukguzel, E. 2009. Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion. *Journal of Economic Entomology*, 102: 152-159. doi: 10.1603/029.102.0122
- Cadenas, E. and Davies, K. J. 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 29: 222-230. doi: 10.1016/S0891-5849(00)00317-8
- Candas, D. and Li, J. J. 2014. MnSOD in oxidative stress response-potential regulation via mitochondrial protein influx. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20: 1599-1617. doi: 10.1089/ars.2013.5305

- Cerenius, L., Lee, B. L. and Söderhäll, K. 2008. The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity. *Trends in Immunology*, 29: 6, 263-271. doi: 10.1016/j.it.2008.02.009
- Cerenius, L. and Söderhäll, K. 2004. The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunological Reviews*, 198: 1, 116-126. doi: 10.1111/j.0105-2896.2004.00116.x
- Chambers, M. C. and Schneider, D. S. 2012. Pioneering immunology: insect style. *Current Opinion in Immunology*, 24: 10-14. doi: 10.1016/j.coi.2011.11.003
- Chapman, R. F., Simpson, S. J. and Douglas, A. E. 2013. *The insects*. Cambridge University Press, 959, England.
- Cheng, W., Tung, Y. H., Liu, C. H. and Chen, J. C. 2006. Molecular cloning and characterization of copper/zinc superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) from the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish & Shellfish Immunology*, 21: 102-112. doi: 10.1016/j.fsi.2005.10.009
- Chown, S. L. and Terblanche, J. S. 2006. Physiological diversity in insects: ecological and evolutionary contexts. *Advances in Insect Physiology*, 33: 50-152. doi: 10.1016/S0065-2806(06)33002-0
- Christensen, B. M., Li, J., Chen, C. C. and Nappi, A. J. 2005. Melanization immune responses in mosquito vectors. *Trends in Parasitology*, 21: 4, 192-199. doi: 10.1016/j.pt.2005.02.007
- Christensen, B. M. and Sutherland, D. R. 1984. *Brugia pahangi*: exsheathment and midgut penetration in *Aedes aegypti*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 103: 4, 423-433. doi: 10.2307/3226478
- Clissold, F. J. and Simpson, S. J. 2015. Temperature, food quality and life history traits of herbivorous insects. *Current Opinion in Insect Science*, 11: 63-70. doi: 10.1016/j.cois.2015.10.011
- Cirimotich, C. M., Dong, Y., Clayton, A. M., Sandiford, S. L., Souza-Neto, J. A., Mulenga, M. and Dimopoulos, G. 2011. Natural microbe-mediated refractoriness to *Plasmodium* infection in *Anopheles gambiae*. *Science*, 332: 6031, 855-858. doi: 10.1126/science.1201618
- Cociancich, S., Ghazi, A., Hetru, C., Hoffmann, J. A. and Letellier, L. 1993. Insect defensin, an inducible antibacterial peptide, forms voltage-dependent channels in *Micrococcus luteus*. *Journal of Biological Chemistry*, 268: 19239-19245.
- Coustau, C., Rocheleau, T., Carton, Y., Nappi, A. J. and ffrench-Constant, R. H. 1996. Induction of a putative serine protease transcript in immune challenged *Drosophila*. *Developmental & Comparative Immunology*, 20: 4, 265-272. doi: 10.1016/0145-305X(96)00016-X
- Çaylak, E. 2011. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tip Araştırmaları Dergisi*, 9: 1, 73-83.

- Daffre, S., Kylsten, P., Samakovlis, C. and Hultmark, D. 1994. The lysozyme locus in *Drosophila melanogaster*: an expanded gene family adapted for expression in the digestive tract. *Molecular and General Genetics MGG*, 242: 2, 152-162.
- Dean, P., Potter, U., Richards, E. H., Edwards, J. P., Charnley, A. K. and Reynolds, S. E. 2004. Hyperphagocytic haemocytes in *Manduca sexta*. *Journal of Insect Physiology*, 50: 11, 1027-1036. doi: 10.1016/j.jinsphys.2004.09.003
- Deans, C. A., Sword, G. A. and Behmer, S. T. 2016. Nutrition as a neglected factor in insect herbivore susceptibility to Bt toxins. *Current Opinion in Insect Science*, 15: 97-103. doi: 10.1016/j.cois.2016.04.005
- Deaton, C. M. and Marlin, D. J. 2003. Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2: 3, 278-291. doi: 10.1053/S1534-7516(03)00070-2
- Despres, L., David, J. P. and Gallet, C. 2007. The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends in Ecology & Evolution*, 22: 6, 298-307. doi: 10.1016/j.tree.2007.02.010
- Di Mascio, P., Murphy, M. E. and Sies, H. 1991. Antioxidant defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53: 1, 194-200. doi: 10.1093/ajcn/53.1.194S
- Diplock, A. 1998. *Healthy lifestyles nutrition and physical activity: antioxidant nutrients*. ILSI Europe Concise Monograph Series, 59, Belgium.
- Doolittle, R. F. and Riley, M. 1990. The ammo-terminal sequence of lobster fibrinogen reveals common ancestry with vitellogenins. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 167: 16-19.
- Dubovskiy, I. M., Martemyanov, V. V., Vorontsova, Y. L., Rantala, M. J., Gryzanova, E. V. and Glupov, V. V. 2008. Effect of bacterial infection on antioxidant activity and lipid peroxidation in the midgut of *Galleria mellonella* L. larvae (Lepidoptera, Pyralidae). *Comparative Biochemistry and Physiology C: Toxicology and Pharmacology*, 148: 1-5. doi: 10.1016/j.cbpc.2008.02.003
- Duthie, G. G., Wahle, K. W. J. and James, W. P. T. 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutrition Research Reviews*, 2: 51-62. doi: 10.1079/NRR19890007
- Dzik, J. M. 2010. The ancestry and cumulative evolution of immune reactions. *Acta Biochimica Polonica*, 57: 443-466.
- Ehrlich, P. R. and Raven, P. H. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*, 18: 4, 586-608. doi: 10.2307/2406212
- Eleftherianos, I. and Revenis, C. 2011. Role and importance of phenoloxidase in insect hemostasis. *Journal of Innate Immunity*, 3: 28-33. doi: 10.1159/000321931

- Engel, M. S. 2015. Insect evolution. *Current Biology*, 25: 19, 868-872. doi: 10.1016/j.cub.2015.07.059
- Ericsson, J. D., Janmaat, A. F., Lowenberger, C. and Myers, J. H. 2009. Is decreased generalized immunity a cost of *Bt* resistance in cabbage loopers *Trichoplusia ni*? *Journal of Invertebrate Pathology*, 100: 61-67. doi: 10.1016/J.JIP.2008.10.007
- Fanson, B. G. and Taylor, P. W. 2012. Protein:carbohydrate ratios explain life span patterns found in Queensland fruit fly on diets varying in yeast:sugar ratios. *Age*, 34: 6, 1361-1368. doi: 10.1007/s11357-011-9308-3
- Fanson, B. G., Weldon, C. W., Pérez-Staples, D., Simpson, S. J. and Taylor, P. W. 2009. Nutrients, not caloric restriction, extend lifespan in Queensland fruit flies (*Bactrocera tryoni*). *Aging Cell*, 8: 5, 514-523. doi: 10.1111/j.1474-9726.2009.00497.x
- Felton, A. M., Felton, A., Wood, J. T., Foley, W. J., Raubenheimer, D., Wallis, I. R. and Lindenmayer, D. B. 2009. Nutritional ecology of *Ateles chamek* in lowland Bolivia: how macronutrient balancing influences food choices. *Intertional Journal of Primatology*, 30: 5, 675-696.
- Felton, G. W. and Summers, C. B. 1995. Antioxidant systems in insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 29: 2, 187-197. doi: 10.1002/arch.940290208
- Flohé, L. and Ötting, F. 1984. Superoxide dismutase assays. *Methods in Enzymology*, 105: 93-104. doi: 10.1016/S0076-6879(84)05013-8
- Freitak, D., Wheat, C. W., Heckel, D. G. and Vogel, H. 2007. Immune system responses and fitness costs associated with consumption of bacteria in larvae of *Trichoplusia ni*. *BMC Biology*, 5: 56. doi: 10.1186/1741-7007-5-56
- Fridovich, I. 1995. Superoxide radical and superoxide dismutase. *Annual Review Biochemistry*, 64: 97-112. doi: 10.1146/annurev.bi.64.070195.000525
- Futuyma, D. J. and Agrawal, A. A. 2009. Macroevolution and the biological diversity of plants and herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106: 43, 18054-18061. doi: 10.1073/pnas.0904106106
- Gajewski, K. M., Sorrentino, R. P., Lee, J. H., Zhang, Q., Russell, M. and Schulz, R. A. 2007. Identification of a crystal cell-specific enhancer of the black cells prophenoloxidase gene in *Drosophila*. *Genesis*, 45: 200-207. doi: 10.1002/dvg.20285
- Gay, N. J. and Keith, F. J. 1992. Regulation of translation and proteolysis during the development of embryonic dorso-ventral polarity in *Drosophila*. Homology of easter proteinase with *Limulus* proclotting enzyme and translational activation of Toll receptor synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1132: 3, 290-296. doi: 10.1016/0167-4781(92)90163-T

- Gillespie, J. P., Kanost, M. R. and Trenczek, T. 1997. Biological mediators of insect immunity. *Annual Review of Entomology*, 42: 611-643. doi: 10.1146/annurev.ento.42.1.611
- Goldsworthy, G., Mullen, L., Opoku-Ware, K. and Chandrakant, S. 2003. Interactions between the endocrine and immune systems in locusts. *Physiological Entomology*, 28: 54-61. doi: 10.1046/j.1365-3032.2003.00314.x
- González-Santoyo, I. and Córdoba-Aguilar, A. 2012. Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 142: 1, 1-16. doi: 10.1111/j.1570-7458.2011.01187.x
- Grandison, R. C., Piper, M. D. W. and Partridge, L. 2009. Amino-acid imbalance explains extension of lifespan by dietary restriction in *Drosophila*. *Nature*, 462: 1061-1064. doi: 10.1038/nature08619
- Gregory, E. M. and Fridovich, I. 1973. Oxygen toxicity and the superoxide dismutase. *Journal of Bacteriology*, 114: 1193-1197.
- Güsewell, S. 2004. N:P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance. *New Phytologist*, 164: 2, 243-266. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01192.x
- Hermes-Lima, M. and Zenteno-Savin, T. 2002. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 133: 4, 537-56. doi: 10.1016/S1532-0456(02)00080-7
- Hetru, C., Hoffmann, D. and Bulet, P. 1998. *Antimicrobial peptides from insects*. In: Brey, P. T. and Hultmark, D. (Ed.), *Molecular Mechanisms of Immune Responses in Insects*. Chapman and Hall, 40-66, New York.
- Hillyer, J. F. 2016. Insect immunology and hematopoiesis. *Developmental and Comparative Immunology*, 58: 102-118. doi: 10.1016/j.dci.2015.12.006
- Hillyer, J. F., Schmidt, S. L. and Christensen, B. M. 2003a. Hemocyte-mediated phagocytosis and melanization in the mosquito *Armigeres subalbatus* following immune challenge by bacteria. *Cell and Tissue Research*, 313: 1, 117-127. doi: 10.1007/s00441-003-0744-y
- Hillyer, J. F., Schmidt, S. L. and Christensen, B. M. 2003b. Rapid phagocytosis and melanization of bacteria and *Plasmodium* sporozoites by hemocytes of the mosquito *Aedes aegypti*. *The Journal of Parasitology*, 89: 1, 62-69. doi: 10.1645/0022-3395(2003)089[0062:RPAMOB]2.0.CO;2
- Hillyer, J. F., Schmidt, S. L., Fuchs, J. F., Boyle, J. P. and Christensen, B. M. 2005. Age-associated mortality in immune challenged mosquitoes (*Aedes aegypti*) correlates with a decrease in haemocyte numbers. *Cellular Microbiology*, 7: 1, 39-51. doi: 10.1111/j.1462-5822.2004.00430.x

- Hillyer, J. F. and Strand, M. R. 2014. Mosquito hemocyte-mediated immune responses. *Current Opinion in Insect Science*, 3: 14-21. doi: 10.1016/j.cois.2014.07.002
- Hoffmann, J. A. 2003. The immune response of *Drosophila*. *Nature*, 426: 33-38. doi: 10.1038/nature02021
- Holsapple, M. P. 2002. Autoimmunity by pesticides: a critical review of the state of the science. *Toxicology Letters*, 127: 101-109. doi: 10.1016/S0378-4274(01)00489-1
- Honti, V., Csordas, G., Kurucz, E., Markus, R. and Ando, I. 2014. The cell-mediated immunity of *Drosophila melanogaster*: hemocyte lineages, immune compartments, microanatomy and regulation. *Developmental & Comparative Immunology*, 42: 1, 47-56. doi: 10.1016/j.dci.2013.06.005
- Hyršl, P., Buyukguzel, E. and Buyukguzel, K. 2007. The effects of boric acid-induced oxidative stress on antioxidant enzymes and survivorship in *Galleria mellonella*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 66: 1, 23-31. doi: 10.1002/arch.20194
- James, R. R. and Xu, J. 2012. Mechanisms by which pesticides affect insect immunity. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109: 2, 175-182. doi: 10.1016/j.jip.2011.12.005
- Jiang, H. B., Wang, Y. and Kanost, M. R. 1998. Pro-phenol oxidase activating proteinase from an insect, *Manduca sexta*, a bacteria-inducible protein similar to *Drosophila easter*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95: 12220-12225. doi: 10.1073/pnas.95.21.12220
- Jones, J. C. 1962. Current concepts concerning insect hemocytes. *American Zoologist*, 2: 209-246.
- Kanost, M. R. and Gorman, M. J. 2008. *Phenoloxidases in insect immunity*. In: Beckage, N. (Ed.), *Insect Immunology*. Academic Press, 69-96, San Diego, USA.
- Kessler, A. and Baldwin, I. T. 2002. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annual Review of Plant Biology*, 53: 299-328. doi: 10.1146/annurev.arplant.53.100301.135207
- Kim, Y. I., Kim, H. J., Kwon, Y. M., Kang, Y. J., Lee, I. H., Jin, B. R., Han, Y. S., Cheon, H. M., Ha, N. G. and Seo, S. J. 2010. Modulation of MnSOD protein in response to different experimental stimulation in *Hyphantria cunea*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 157: 343-350. doi: 10.1016/j.cbpb.2010.08.003
- King, J. G. and Hillyer, J. F. 2012. Infection-induced interaction between the mosquito circulatory and immune systems. *PLOS Pathogens*, 8: 1003058. doi:10.1371/journal.ppat.1003058

- Koca, N. ve Karadeniz, F. 2003. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 32-37.
- Koella, J. C. and Sorensen, F. L. 2002. Effect of adult nutrition on the melanization immune response of the malaria vector *Anopheles stephensi*. *Medical and Veterinary Entomology*, 16: 316-320. doi: 10.1046/j.1365-2915.2002.00381.x
- Kurihara, Y., Shimazu, T. and Wago, H. 1992. Classification of hemocytes in the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) II. Possible roles of granular leucocytes and oenocytoids in the cellular defense reactions. *Applied Entomology and Zoology*, 27: 237-242.
- Kylsten, P., Kimbrell, D. A., Daffre, S., Samakovlis, C. and Hulmark, D. 1992. The lysozyme locus in *Drosophila melanogaster*: different genes are expressed in midgut and salivary glands. *Molecular and General Genetics*, 232: 3, 335-343.
- Larson, R. A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, 27: 4, 969-978. doi: 10.1016/0031-9422(88)80254-1
- Laughton, A. M., Garcia, J. R., Altincicek, B., Strand, M. R. and Gerardo, N. M. 2011. Characterisation of immune responses in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology*, 57: 6, 830-839. doi: 10.1016/j.jinsphys.2011.03.015
- Lavigne, M. D. and Strand, M. R. 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32: 10, 1295-1309. doi: 10.1016/S0965-1748(02)00092-9
- Lawrence, R. A. and Burk, R. F. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 71: 952-958. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.08.016
- Le Gall, M. and Behmer, S. T. 2014. Effects of protein and carbohydrate on an insect herbivore: the vista from a fitness landscape. *Integrative and Comparative Biology*, 54: 5, 942-954. doi: 10.1093/icb/icu102
- Lee, K. P., Behmer, S. T., Simpson, S. J. and Raubenheimer, D. 2002. A geometric analysis of nutrient regulation in the generalist caterpillar *Spodoptera littoralis* (Boisduval). *Journal of Insect Physiology*, 48: 6, 655-665. doi: 10.1016/S0022-1910(02)00088-4
- Lee, K. P., Cory, J. S., Wilson, K., Raubenheimer, D. and Simpson, S. J. 2006. Flexible diet choice offsets protein costs of pathogen resistance in a caterpillar. *Proceedings of the Royal Society B*, 273: 1588, 823-829. doi: 10.1098/rspb.2005.3385
- Lee, K. P., Raubenheimer, D. and Simpson, S. P. 2004. The effects of nutritional imbalance on compensatory feeding for cellulose-mediated dietary dilution in a generalist caterpillar. *Physiological Entomology*, 29: 2, 108-117. doi: 10.1111/j.0307-6962.2004.00371.x

- Lee, K. P., Simpson, S. J., Clissold, F. J., Brooks, R., Ballard, J. W. O., Taylor, P. W., Soran, N. and Raubenheimer, D. 2008. Lifespan and reproduction in *Drosophila*: new insights from nutritional geometry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105: 7, 2498-2503. doi: 10.1073/pnas.0710787105
- Lemaitre, B. and Hoffmann, J. 2007. The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annual Review of Immunology*, 25: 697-743. doi: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141615
- Lenhart, P. A., Eubanks, M. D. and Behmer, S. T. 2015. Water stress in grasslands: dynamic responses of plants and insect herbivores. *Oikos*, 124: 3, 381-390. doi: 10.1111/oik.01370
- Lockey, T. D. and Ourth, D. O. 1996. Formation of pores in *Escherichia coli* cell membranes by a cecropin isolated from hemolymph of *Heliothis virescens* larvae. *European Journal of Biochemistry*, 236: 1, 263-271. doi: 10.1111/j.1432-1033.1996.00263.x
- Loof, T. G., Mörgelin, M., Johansson, L., Oehmcke, S., Olin, A. I., Dickneite, G., Norrby-Teglund, A., Theopold, U. and Herwald, H. 2011. Coagulation, an ancestral serine protease cascade, exerts a novel function in early immune defense. *Blood*, 118: 2589-2598. doi: 10.1182/blood-2011-02-337568
- Lowry, O. H., Rsebrough, N. T., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275.
- Lu, A., Zhang, Q., Zhang, J., Yang, B., Wu, K., Xie, W., Luan, Y. X. and Ling, E. 2014. Insect prophenoloxidase: the view beyond immunity. *Frontiers in Physiology*, 5: 252, 1-15. doi: 10.3389/fphys.2014.00252
- Lu, H. L. and St. Leger, R. J. 2016. Insect immunity to entomopathogenic fungi. *Advances in Genetics*, 94: 251-285. doi: 10.1016/bs.adgen.2015.11.002
- Lundgren, J. G. and Jurat-Fuentes, J. L. 2012. *Physiology and ecology of host defense against microbial invaders*. In: Vega, F. E. and Kaya, H. K. (Ed.), *Insect Pathology*. Academic Press, 461-480, London UK.
- Lüch, H. 1963. Methods of enzymatic analysis. In: Bergmeyer, H. U. (Ed.), *Weinheim and Academic Press*, 885-888, Verlag Chemie, New York.
- de Maagd, R. A., Bravo, A. and Crickmore, N. 2001. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends in Genetics*, 17: 4, 193-199. doi: 10.1016/S0168-9525(01)02237-5
- Mahy, B. W. J. 2004. *Vector-borne diseases*. In: Gillespie, S. H., Smith, G. L. and Osbourn, A. (Ed.), *Microbe-vector Interactions in Vector-borne Diseases*. Cambridge University Press, 1-18, Cambridge, UK.

- Maklakov, A. A., Simpson, S. J., Zajitschek, F., Hall, M. D., Dessmann, J., Clissold, F., Raubenheimer, D., Bonduriansky, R. and Brooks, R. C. 2008. Sex-specific fitness effects of nutrient intake on reproduction and lifespan. *Current Biology*, 18: 14, 1062-1066. doi: 10.1016/j.cub.2008.06.059
- Manguin, S., Carnevale, P. and Mouchet, J. 2008. *Biodiversity of malaria in the world*. John Libbey Eurotext, Esther, 428, United Kingdom.
- Marmaras, V. J. and Lampropoulou, M. 2009. Regulators and signalling in insect haemocyte immunity. *Cellular Signalling*, 21: 2, 186-195. doi: 10.1016/j.cellsig.2008.08.014
- McCord, J. M. and Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *The Journal of Biological Chemistry*, 244: 22, 6049-6055.
- McGreevy, P. B., Bryan, J. H., Oothuman, P. and Kolstrup, N. 1978. The lethal effects of the cibarial and pharyngeal armatures of mosquitoes on microfilariae. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 72: 4, 361-368. doi: 10.1016/0035-9203(78)90128-1
- Merchant, D., Ertl, R. L., Rennard, S. I., Stanley, D. W. and Miller, J. S. 2008. Eicosanoids mediate insect hemocyte migration. *Journal of Insect Physiology*, 54: 1, 215-221. doi: 10.1016/j.jinsphys.2007.09.004
- Meyer, G. 1998. Pattern of defoliation and its effect on photosynthesis and growth of goldenrod. *Functional Ecology*, 12: 2, 270-279. doi: 10.1046/j.1365-2435.1998.00193.x
- Missirlis, F., Rahlfs, S., Dimopoulos, N., Bauer, H., Becker, K., Hilliker, A. and Phillips, J. P. 2003. A putative glutathione peroxidase of *Drosophila* encodes thioredoxin peroxidase that provides resistance against oxidative stress but fails to complement a lack of catalase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 384: 3, 463-472. doi: 10.1515/BC.2003.052
- Morishima, I., Horiba, T., Iketani, M., Nishioka, E. and Yamano, Y. 1995. Parallel induction of cecropin and lysozyme in larvae of the silkworm, *Bombyx mori*. *Developmental & Comparative Immunology*, 19: 5, 357-363. doi: 10.1016/0145-305X(95)00019-P
- Nappi, A. J. and Christensen, B. M. 2005. Melanogenesis and associated cytotoxic reactions: applications to insect innate immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35: 5, 443-459. doi: 10.1016/j.ibmb.2005.01.014
- Nappi, A. J. and Vass, E. 1993. Melanogenesis and the generation of cytotoxic molecules during insect cellular immune reactions. *Pigment Cell Research*, 6: 3, 117-126. doi: 10.1111/j.1600-0749.1993.tb00590.x
- Ni, D., Song, L., Gao, Q., Wu, L., Yu, Y., Zhao, J., Qiu, L., Zhang, H. and Shi, F. 2007. The cDNA cloning and mRNA expression of cytoplasmic Cu, Zn superoxide dismutase (SOD) gene in scallop *Chlamys farreri*. *Fish & Shellfish Immunology*, 23: 1032-1042. doi: 10.1016/j.fsi.2007.04.008

- Oksante Ar-Ge Laboratuvarı, 2012. *Oksidatif stress ve antioksidanlar*. Oksidatif stress analiz parametreleri ve oksantest.
- Orozco-Flores, A. A., Valadez-Lira, J. A., Oppert, B., Gomez-Flores, R., Tamez-Guerra, R., Rodríguez-Padilla, C. and Tamez-Guerra, P. 2017. Regulation by gut bacteria of immune response, *Bacillus thuringiensis* susceptibility and hemolin expression in *Plodia interpunctella*. *Journal of Insect Physiology*, 98: 275-283. doi: 10.1016/j.jinsphys.2017.01.020
- Orr, W. C. and Sohal, R. S. 1994. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science*, 263: 1128-1130. doi: 10.1126/science.8108730
- Ortiz-Urquiza, A., Luo, Z. and Keyhani, N. O. 2015. Improving mycoinsecticides for insect biological control. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99: 3, 1057-1068. doi: 10.1007/s00253-014-6270-x
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. and Yönden, Z. 2015. Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6: 331-336. doi: 10.5799/ahinjs.01.2015.03.0545
- Özelçi-Kavas, G. 1994. Reaktif oksijen metabolitlerine fizyopatolojik yaklaşım. *The Journal of the Faculty of Medicine*, 47: 579-592. doi: 10.1501/Tıpfak_0000000282
- Pandey, J. P. and Tiwari, R. K. 2012. An overview of insect hemocyte science and its future application in applied and biomedical fields. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2: 3, 82-105. doi: 10.3923/ajbmb.2012.82.105
- Parkes, T. L., Hilliker, A. J. and Phillips, J. P. 1999. Motorneurius, reactive oxygen, and life span in *Drosophila*. *Neurobiology of Aging*, 20: 531-535.
- Pascacio-Villafán, C., Williams, T., Birke, A. and Aluja, M. 2016. Nutritional and non-nutritional food components modulate phenotypic variation but not physiological tradeoffs in an insect. *Scientific Reports*, 6: 29413. doi: 10.1038/srep29413
- Pech, L. L. and Strand, M. R. 1995. Encapsulation of foreign targets by hemocytes of the moth *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera, Noctuidae) involves an RGDdependent cell-adhesion mechanism. *Journal of Insect Physiology*, 41: 481-488. doi: 10.1016/0022-1910(94)00136-5
- Pech, L. L. and Strand, M. R. 1996. Granular cells are required for encapsulation of foreign targets by insect haemocytes. *Journal of Cell Science*, 109: 2053-2060.
- Pennacchio, F. and Strand, M. R. 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 51: 233-258. doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151029

- Peric-Mataruga, V., Blagojevic, D., Spasic, M. B., Ivanovic, J. and Jankovic-Hladni, M. 1996. Effect of the host plant on the antioxidative defence in the midgut of *Lymantria dispar* L. caterpillars of population origins. *Journal of Insect Physiology*, 43: 101-106. doi: 10.1016/S0022-1910(96)00018-2
- Phillips, J. P., Cambell, S. D., Michaud, D., Charbonneau, M. and Hilliker, A. J. 1989. Null mutation of copper/zinc superoxide dismutase in *Drosophila* confers hypersensitive to paraquat and reduced longevity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86: 2761-2765. doi: 10.1073/pnas.86.8.2761
- Pieterse, C. M. J., Leon-Reyes, A., Van der Ent, S. and Van Wees, S. C. M. 2009. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature Chemical Biology*, 5: 5, 308-316. doi: 10.1038/nchembio.164
- Plytycz, B. and Saljelijid, R. 1998. MHC molecules and lymphocytes: evolutionary perspective. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 46: 137-142.
- Ponton, F., Wilson, K., Cotter, S. C., Raubenheimer, D. and Simpson, S. J. 2011. Nutritional immunology: a multi-dimensional approach. *PLOS Pathogens*, 7: 1002223. doi: 10.1371/journal.ppat.1002223
- Povey, S., Cotter, S. C., Simpson, S. J., Lee, K. P. and Wilson, K. 2009. Can the protein costs of bacterial resistance be offset by altered feeding behaviour? *Journal of Animal Ecology*, 78: 2, 437-446. doi: 10.1111/j.1365-2656.2008.01499.x
- Qaim, M. 2009. The economics of genetically modified crops. *Annual Review of Resource Economics*, 1: 665-694. doi: 10.1146/annurev.resource.050708.144203
- Quesada, M., Bollman, K. and Stephenson, A. 1995. Leaf damage decreases pollen production and hinders performance in *Cucurbita texana*. *Ecology*, 76: 2, 437-443. doi: 10.2307/1941202
- Rantala, M. J., Vainikka, A. and Kortet, R. 2003. The role of juvenile hormone in immune function and pheromone production trade-offs: a test of the immunocompetence handicap principle. *Proceedings: Biological Sciences*, 270: 1530, 2257-2261. doi: 10.1098/rspb.2003.2472
- Ratcliffe, N. A. and Gagen, S. J. 1977. Studies on the in vivo cellular reactions of insects: an ultrastructural analysis of nodule formation in *Galleria mellonella*. *Tissue Cell*, 9: 1, 73-85. doi: 10.1016/0040-8166(77)90050-7
- Raubenheimer, D., Machovsky-Capuska, G. E., Gosby, A. K. and Simpson, S. 2015. Nutritional ecology of obesity: from humans to companion animals. *British Journal of Nutrition*, 113: 26-39. doi: 10.1017/S0007114514002323
- Raubenheimer, D. and Simpson, S. J. 1993. The geometry of compensatory feeding in the locust. *Animal Behaviour*, 45: 5, 953-964. doi: 10.1006/anbe.1993.1114

- Roberts, L. S., Janovy Jr, J. and Nadler, S. 2013. *Foundations of parasitology*. McGraw-Hill, 701, New York.
- Roeder, K. A. and Behmer, S. T. 2014. Lifetime consequences of food protein-carbohydrate content for an insect herbivore. *Functional Ecology*, 28: 5, 1135-1143. doi: 10.1111/1365-2435.12262
- Rosetto, M., Manetti, A. G., Giordano, P. C., Marri, L., Amons, R., Baldari, C. T., Marchini, D. and Dallai, R. 1996. Molecular characterization of ceratotoxin C, a novel antibacterial female-specific peptide of the ceratotoxin family from the medfly *Ceratitis capitata*. *European Journal of Biochemistry*, 241: 2, 330-337. doi: 10.1111/j.1432-1033.1996.00330.x
- Ryan, C. A. 1990. Protease inhibitors in plants: genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 28: 425-449. doi: 10.1146/annurev.py.28.090190.002233
- Salazar, K. D., Ustyugova, I. V., Brundage, K. M., Barnett, J. B. and Schafer, R. 2008. A review of the immunotoxicity of the pesticide 3,4-dichloropropionanilide. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B*, 11: 8, 630-645. doi: 10.1080/10937400701724386
- Samakovlis, C., Kylsten, P., Kimbrell, D. A., Engström, Y. and Hultmark, D. 1991. The andropin gene and its product, a male-specific antibacterial peptide in *Drosophila melanogaster*. *The Embo Journal*, 10: 1, 163-169. doi: 10.1002/j.1460-2075.1991.tb07932.x
- Satyavathi, V. V., Minz, A. and Nagaraju, J. 2014. Nodulation: an unexplored cellular defense mechanism in insects. *Cellular Signalling*, 26: 8, 1753-1763. doi: 10.1016/j.cellsig.2014.02.024
- Schmidt, O., Theopold, U. and Beckage, N. 2008. *Insect and vertebrate immunity: key similarities versus differences*. In: Beckage, N. (Ed.), *Insect Immunology*. Academic Press, 1-24, San Diego.
- Schoonhoven, L. M., van Loon, J. J. A. and Dicke, M. 2005. *Insect-plant biology*. Oxford University Press, 421, Oxford.
- Scriber, J. M. and Slansky, F. 1981. The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology*, 26: 183-211. doi: 10.1146/annurev.en.26.010181.001151
- Siegel, J. P. 2000. *Bacteria*. In: Lacey, L. L. and Kaya, H. K. (Ed.), *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Kluwer Scientific Publishers, 209-230, Dordrecht, Netherlands.
- Sigle, L. T. and Hillyer, J. F. 2016. Mosquito hemocytes preferentially aggregate and phagocytose pathogens in the periosteal regions of the heart that experience the most hemolymph flow. *Developmental and Comparative Immunology*, 55: 90-101. doi: 10.1016/j.dci.2015.10.018

- Simpson, S. J. and Raubenheimer, D. 2001. The geometric analysis of nutrient-allelochemical interactions: a case study using locusts. *Ecology*, 82: 2, 422-439. doi: 10.1890/0012-9658(2001)082[0422:TGAONA]2.0.CO;2
- Simpson, S. J. and Raubenheimer, D. 2012. *The nature of nutrition: a unifying framework from animal adaptation to human obesity*. Princeton University Press, 256, New Jersey.
- Simpson, S. J., Sibly, R. M., Lee, K. P., Behmer, S. T. and Raubenheimer, D. 2004. Optimal foraging when regulating intake of multiple nutrients. *Animal Behaviour*, 68: 6, 1299-1311. doi: 10.1016/j.anbehav.2004.03.003
- Singh, O. P. and Parihar, S. B. B. 1988. Effect of different hosts on the development of *Heliothis armigera* Hub. *Bulletin of Entomological Research*, 29: 168-172.
- Siva-Jothy, M. T., Moret, Y. and Rolff, J. 2005. Insect immunity: an evolutionary ecology perspective. *Advances in Insect Physiology*, 32: 1-48. doi: 10.1016/S0065-2806(05)32001-7
- Siva-Jothy, M. T. and Thompson, J. J. W. 2002. Short-term nutrient deprivation affects immune function. *Physiological Entomology*, 27: 3, 206-212. doi: 10.1046/j.1365-3032.2002.00286.x
- Slansky, F. 1990. Insect nutritional ecology as a basis for studying host plant resistance. *The Florida Entomologist*, 73: 3, 359-378. doi: 10.2307/3495455
- Sohal, R. S., Agarwal, A., Agarwal, S. and Orr, W. C. 1995. Simultaneous overexpression of copper- and zinc-containing superoxide dismutase and catalase retards age-related oxidative damage and increases metabolic potential in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biological Chemistry*, 270: 15671-15674. doi: 10.1074/jbc.270.26.15671
- Søndergard, L. 1993. Homology between the mammalian liver and the *Drosophila* fat body. *Trends in Genetics*, 9: 6, 193. doi: 10.1016/0168-9525(93)90113-V
- Söderhäll, K. and Cerenius, L. 1998. Role of the prophenoloxidase activating system in invertebrate immunity. *Current Opinion in Immunology*, 10: 1, 23-28. doi: 10.1016/S0952-7915(98)80026-5
- Stanley, D. and Miller, J. S. 2006. Eicosanoid actions in insect cellular immune functions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 119: 1, 1-13. doi: 10.1111/j.1570-7458.2006.00406.x
- Strand, M. R. 2008a. The insect cellular immune response. *Insect Science*, 15: 1, 1-14. doi: 10.1111/j.1744-7917.2008.00183.x
- Strand, M. R. 2008b. *Insect hemocytes and their role in immunity*. In: Beckage, N. (Ed.), *Insect Immunology*. Academic Press, 25-48, San Diego.
- Sugumaran, M. 2002. Comparative biochemistry of eumelanogenesis and the protective roles of phenoloxidase and melanin in insects. *Pigment Cell Research*, 15: 1, 2-9. doi: 10.1034/j.1600-0749.2002.00056.x

- Sun, J. and Tower, J. 1999. FLP recombinase-mediated induction of Cu/Zn-superoxide dismutase transgene expression can extend the life span of adult *Drosophila melanogaster* flies. *Molecular and Cellular Biology*, 19: 216-228.
- Theopold, U., Li, D., Fabbri, M., Scherfer, C. and Schmidt, O. 2002. The coagulation of insect hemolymph. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59: 2, 363-372. doi: 10.1007/s00018-002-8428-4
- Thomma, B., Eggermont, K., Penninckx, I., Mauch-Mani, B., Vogelsang, R., Cammue, B. P. A. and Broekaert, W. F. 1998. Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95: 25, 15107-15111.
- Thompson, J. N. 1994. *The coevolutionary process*. University of Chicago Press, 376, Chicago, United States of America.
- Vachon, V., Laprade, R. and Schwartz, J. L. 2012. Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: a critical review. *Journal of Invertebrate Pathology*, 111: 1, 1-12. doi: 10.1016/j.jip.2012.05.001
- Vega, F. E. and Kaya, H. K. 2012. *Insect pathology*. Academic Press, 508, London.
- Vial, T., Nicolas, B. and Descotes, J. 1996. Clinical immunotoxicity of pesticides. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 48: 3, 215-229. doi: 10.1080/009841096161294
- Walling, L. L. 2000. The myriad plant responses to herbivores. *Journal of Plant Growth Regulation*, 19: 2, 195-216. doi: 10.1007/s003440000026
- Wang, K. J., Ren, H. L., Xu, D. D., Cai, L. and Yang, M. 2008. Identification of the upregulated expression genes in hemocytes of variously colored abalone (*Haliotis diversicolor* Reeve, 1846) challenged with bacteria. *Developmental & Comparative Immunology*, 32: 1326-1347. doi: 10.1016/j.dci.2008.04.007
- Wojda, I. and Tazsłow, P. 2013. Heat shock affects host-pathogen interaction in *Galleria mellonella* infected with *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Insect Physiology* 59: 894-905. doi: 10.1016/j.jinsphys.2013.06.011
- Wu, K., Yang, B., Huang, W., Dobens, L., Song, H. and Ling, E. 2016. Gut immunity in Lepidopteran insects. *Developmental & Comparative Immunology*, 64: 65-74. doi: 10.1016/j.dci.2016.02.010
- Xu, Y., Chang, P. F. L., Liu, D., Narasimhan, M. L., Raghothama, K. G., Hasegawa, P. M. and Bressan, R. A. 1994. Plant defense genes are synergistically induced by ethylene and methyl jasmonate. *Plant Cell*, 6: 1077-1085. doi: 10.1105/tpc.6.8.1077

- Yamamoto, R. T. 1969. Mass rearing of tobacco hornworm. II. Larval rearing and pupation. *Journal of Economic Entomology*, 62: 1427-1431. doi: 10.1093/jee/62.6.1427
- Youn, H. D., Kim, E. J., Roe, J. H., Hah, Y. C. and Kang, S. O. 1996. A novel nickel containing superoxide dismutase from *Streptomyces* spp. *Biochemical Journal*, 318: 889-896. doi: 10.1042/bj3180889
- Zangerl, A., Hamilton, J., Miller, T., Crofts, A., Oxborough, K., Berenbaum, M. and de Lucia, E. 2002. Impact of folivory on photosynthesis is greater than the sum of its holes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99: 2, 1088-1091. doi: 10.1073/pnas.022647099





ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gizem AYKOL

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 03.05.1990

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Cumhuriyet Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi (2008)

Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2014)