

**T.C.  
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İMİDAKLOPRİD'İN *Galleria mellonella*'nın BAZI BİYOKİMYASAL  
PARAMETRELERİNE VE HEMOSİTLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**MEHMET SAİT YÜCEL**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**2017**

**T.C.**  
**ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İMİDAKLOPRİD'İN *Galleria mellonella*'nın BAZI BİYOKİMYASAL  
PARAMETRELERİNE VE HEMOSİTLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Mehmet Sait YÜCEL**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

Bu tez 26/07/2017 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından  
oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

**Doç. Dr. Tamer KAYIŞ**  
**BAŞKAN (DANIŞMAN)**

**Yrd. Doç. Dr. Mehmet ARSLAN**  
**ÜYE**

**Doç. Dr. Yusuf SEVGİLER**  
**ÜYE**

**Prof. Dr. Ramazan GÜRBÜZ**  
**Enstitü Müdür V.**

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi  
tarafından desteklenmiştir.

**Proje No: FEFYL/2016-0006**

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak  
gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

# İMİDAKLOPRİD'İN *Galleria mellonella*'nın BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİNE VE HEMOSİTLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehmet Sait YÜCEL

Adıyaman Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Tamer KAYIŞ

Yıl: 2017, Sayfa sayısı: 70

Jüri : Doç. Dr. Yusuf SEVGİLER

: Yard.Doç.Dr. Mehmet ARSLAN

Sunulan çalışmada imidaklopridin subletal konsantrasyonlarının *Galleria mellonella*'da antioksidan enzimler (süperoksit dismutaz ve katalaz), lipid peroksidasyon düzeyi (malondialdehid miktarı), bazı biyokimyasal parametreler (toplam protein, toplam lipit ve toplam karbohidrat) ve hücrel bağışıklık sisteminin önemli bir bileşeni olan hemositler (toplam hemosit sayısı) üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

İmidaklopridin subletal dozları (0.25, 0.50, 0.75 and 1.00 µg) *G. mellonella* larvalarına enjekte edilmiş ve 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlarda etkileri araştırılmıştır.

Larvalara 0.75 ve 1.00 µg imidakloprid enjekte edilmesi protein miktarının 96. saatte önemli ölçüde azalmasına neden olmuştur. Lipit ve karbohidrat miktarları ise tüm periyotlarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalmıştır. Antioksidan enzim aktiviteleri ve malondialdehid düzeyi imidakloprid enjeksiyonu sonrasında önemli ölçüde artış göstermiştir. Deney grubundaki larvaların toplam hemosit sayıları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde azalmıştır.

Sonuç olarak imidakloprid *G. mellonella*'da muhtemelen hemostazı ve oksidatif dengeyi bozarak, hücrel bağışıklık sisteminde, antioksidan enzim sisteminde ve enerji metabolizmasında değişikliklere neden olmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Galleria mellonella*, İmidakloprid, Antioksidan enzimler, biyokimyasal parametreler, hemosit

**ABSTRACT**  
**MSc THESIS**

**EFFECTS OF IMIDACLOPRID ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS  
AND HEMOCYTES OF *Galleria mellonella***

Mehmet Sait YÜCEL

Adiyaman University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor : Doç. Dr. Tamer KAYIŞ

Year: 2017, Number of pages: 70

Jury : Assoc.Prof. Dr. Yusuf SEVGİLER

: Asst. Prof. Dr. Mehmet ARSLAN

In this study, effects of sublethal concentrations of imidacloprid on antioxidant enzyme activities (superoxide dismutase and catalase), lipid peroxidation levels (malondialdehyde content), some biochemical parameters (total protein, total lipid, and total carbohydrate), and hemocytes (total hemocyte count), which is important component of cellular immune defense system of *Galleria mellonella* were investigated.

Sublethal doses of imidacloprid (0.25, 0.50, 0.75 and 1.00 µg) were injected to *G. mellonella* larvae and the effects were investigated at 24, 48, 72 and 96 hour periods.

Injection of larvae to 0.75 and 1.00 µg imidacloprid caused a significant decrease in protein content at 96 h. Lipid and carbohydrate contents were significantly reduced at all periods when compared to the control. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde content increased after the imidacloprid injection. Total hemocyte counts in experimental larvae were significantly decreased compared to the control.

Consequently, imidacloprid caused the changes of cellular immune and antioxidant enzyme system, and energy metabolism of *G. mellonella*, possibly by leading to damage of oxidative balance and homeostasis.

**Key Words:** *Galleria mellonella*, Imidacloprid, Antioxidant enzymes, biochemical parameters, hemocyte

## TEŞEKKÜR

Bu alıőmanın yűrűtűlmesi sırasında desteklerini esirgemeyen danıőman hocam Do. Dr. Tamer KAYIŐ'a, alıőmanın deney aőamasında ve verilerin deęerlendirilmesinde yardımcı olan Adıyaman Ŭniversitesi Fen Edebiyat Fakűltesi Biyoloji Bűlűmű Őđretim Ŭyesi Sayın Doç. Dr. Mustafa COŐKUN'a, laboratuvar çalıőmaları sırasında arkadaőlarım Emre GŬLSU, Murat ALTUN ve Ahmet GŬNAY'a teőekkűr ederim

Çalıőmam sűresince beni koőulsuz ve sabırla destekleyen aileme sonsuz teőekkűrler.

Adıyaman Ŭniversitesi Bilimsel Araőtırma Projeleri Biriminin FEFYL-2016-0006 sayılı projesi olarak destekleyen Adıyaman Ŭniversitesi'ne teőekkűrler.

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
SİMGE VE KISALTMALAR .....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. İnsektisitler .....	2
1.1.1. İmidakloprid .....	3
1.2. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....	4
1.3. Antioksidan Savunma Sistemleri .....	6
1.3.1. Enzimatik antioksidanlar .....	6
1.3.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar .....	8
1.4. Böceklerde İmmün Savunma Sistemi .....	9
1.4.1. Böceklerde hemosit tipleri .....	9
1.4.2. Hemosit aracılı bağışıklık tepkileri.....	11
1.5. <i>Galleria mellonella</i> (L.) (Büyük Balmumu Güvesi).....	12
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	19
3.1. Materyal.....	19
3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler .....	19
3.1.2. Kullanılan cihazlar.....	20
3.1.3. Stok kültürünün oluşturulması ve deney böceklerinin elde edilmesi .....	21
3.1.4. Kontrol ve deney gruplarının oluşturulması .....	22
3.2. Yöntem .....	23
3.2.1. Toplam hemosit sayısının belirlenmesi .....	23
3.2.2. Böceklerin homojenizasyonu .....	24
3.2.2. Toplam protein miktarının tayini.....	24
3.2.3. Toplam karbohidrat miktarının tayini.....	24

3.2.4. Toplam lipid miktarını tayini.....	25
3.2.5. SOD enzim aktivitesinin tayini.....	25
3.2.6. CAT enzim aktivitesinin tayini.....	26
3.2.7. MDA miktarının tayini .....	26
3.2.8. Verilerin değerlendirilmesi.....	26
4. BULGULAR .....	27
4.1. İmidaklopridin <i>G. mellonella</i> 'nın Toplam Protein Miktarına Etkileri .....	27
4.2. İmidaklopridin <i>G. mellonella</i> 'nın Toplam Lipit Miktarına Etkileri .....	28
4.3. İmidaklopridin <i>G. mellonella</i> 'nın Toplam Karbonhidrat Miktarına Etkileri .....	30
4.4. İmidaklopridin <i>G. mellonella</i> 'nın SOD Enzim Aktivitesine Etkileri.....	32
4.5. İmidaklopridin <i>G. mellonella</i> 'nın CAT Aktivitesine Etkileri .....	34
4.6. İmidaklopridin <i>G. mellonella</i> 'nın MDA Miktarına Etkileri.....	36
4.7. İmidaklopridin <i>G. mellonella</i> 'nın Toplam Hemosit Sayısına Etkileri .....	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	41
KAYNAKLAR .....	49
ÖZGEÇMİŞ .....	70

## ÇİZELGELER DİZİNİ

## SAYFA

Çizelge 4.1. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın toplam protein miktarına etkileri .....	27
Çizelge 4.2. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın toplam protein miktarına zamana bağlı etkileri .....	28
Çizelge 4.3. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın toplam lipid miktarına etkileri .....	29
Çizelge 4.4. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın toplam lipid miktarına zamana bağlı etkileri.....	30
Çizelge 4.5. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın toplam karbohidrat miktarına etkileri.....	31
Çizelge 4.6. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın toplam karbohidrat miktarına zamana bağlı etkileri .....	32
Çizelge 4.7. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın SOD enzim aktivitesine etkileri .....	33
Çizelge 4.8. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın SOD enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri.....	34
Çizelge 4.9. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın CAT enzim aktivitesine etkileri .....	35
Çizelge 4.10. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın CAT enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri.....	36
Çizelge 4.11. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın MDA düzeyine etkileri.....	37
Çizelge 4.12. Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının <i>G. mellonella</i> 'nın MDA düzeyine zamana bağlı etkileri .....	38



## ŞEKİLLER DİZİNİ

## SAYFA

Şekil 3.1. <i>G. mellonella</i> stok kültür laboratuvarı .....	21
Şekil 3.2. Solda <i>G. mellonella</i> larva, pupa ve ergin evresi, sağda son evre larvalar .....	22
Şekil 3.3. <i>G. mellonella</i> larvalarına imidaklopid enjeksiyonu.....	23
Şekil 4.1. İmidaklopidin <i>G. mellonella</i> larvalarının toplam hemosit sayısına etkileri .....	39
Şekil 4.2. İmidaklopidin <i>G. mellonella</i> larvalarının toplam hemosit sayısına zamana bağlı etkileri.....	40

## SİMGELER VE KISALTMALAR

AChE	: Asetilkolinesteraz
ACP	: Asit fosfataz
ALP	: Alkalın fosfataz
ALT	: Alanin aminotrasferaz
APOX	: Askorbat peroksidaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
BSA	: Sığır serum albumin
CAT	: Katalaz
DDT	: Difeniltrikloretan
DHA	: Dehidroaskorbat
DHAR	: Dehidroksiaskorbat peroksidaz
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
G6PD	: Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
GABA	: Gama aminobutirikasit
GPx	: Glutasyon peroksiadaz
GR	: Glutasyon redüktaz
g	: Gram
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon proksidaz
GSH-Rd	: Glutasyon redüktaz
GST	: Glutasyon <i>S</i> transferaz
L	: Litre
LC <sub>50</sub>	: Letal Konsantrasyon % 50
LD <sub>50</sub>	: Letal Doz % 50
MDA	: Malondialdehit
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
nAChR	: Nikotirik asetilkolin reseptörleri
NBT	: Nitroblue Tetrazolium

NOS	: Nitrik oksit sentaz
ppm	: Milyonda bir birim
RNA	: Ribonükleik asit
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiyobarbiturik asit
TCA	: Trikloroasetik asit
µg	: mikrogram
µL	: mikrolitre

## 1. GİRİŞ

İnsanlığın varoluşundan bu yana insanoğlunun birinci amacı beslenme olmuştur. Bu nedenle tarımsal üretimin en verimli şekilde yapılması ve ürünlerin korunması için pestisitlerin kullanılması insanlık tarihi kadar eski bir konudur. Çok genel bir tanım olarak, zararlıları uzaklaştıran, gelişimlerini engelleyen, sayılarını azaltan veya onları tamamen ortadan kaldıran doğal veya kimyasal madde ve madde karışımları olarak tanımlanan pestisitlerin (Abdollahi vd. 2004), kullanımlarının çok eski tarihlere kadar dayandığı, M.Ö. 1500 yıllarından kalma bit, pire ve eşek arılarına karşı hazırlanan insektisit formülasyonlarından anlaşılmaktadır (Kumargal 2007). Özellikle 19. yüzyıldan sonra, kimya endüstrisindeki gelişmelere paralel olarak yeni bileşenlere ve farklı etki mekanizmalarına sahip birçok pestisit formülasyonunun dâhil edilmesiyle dünya çapında pestisitlerin kullanımı önemli ölçüde artmıştır (Zhang vd. 2011).

Günümüzde halen yoğun olarak kullanılan bu pestisitlerin uygulanma yöntemleri ve miktarlarının belirli bir standarta sahip olmaması, uygulamayı yapan kişilerin yeterli bilgi ve donanımına sahip olmaması nedeniyle, yalnızca mücadele edilecek olan zararlı değil aynı zamanda hedef olmayan birçok canlının da olumsuz yönde etkilenmesi söz konusudur.

Pestisitler zararlılarla mücadele edilmek istenilen bölgelerde farklı şekillerde uygulandıkları halde, uygulanma şekline, pestisit fiziksel özelliklerine ve formülasyonlarına bağlı olarak ekosistem içerisinde sürekli olarak hareket ederler. Rüzgârlar, yağmur suları ve akarsular vasıtasıyla karasal ve sucul ekosistemlere yayılarak hedef dışı birçok organizmanın etkilenmesine neden olurlar (Kumargal 2007).

Zararlılarla mücadelede pestisit kullanımı ile ilgili en büyük sorun aşırı ve bilinçsiz kullanım sonucu yararlı türlerin yok olması ve zararlılarda gelişen direnç sorunudur (Çakır ve Yamanel 2005). Asıl amacı zararlı popülasyonunu kontrol altına almak olan bu uygulama çoğunlukla sorunun daha da büyümesine neden olabilmektedir. Bu nedenle pestisit kullanımı ile ilgili göz önünde bulundurulması gereken en önemli noktalardan biri de doğru zamanda, doğru miktarda ve doğru pestisit kullanımı olmalıdır.

Direnç gelişimi ve hedef olmayan organizmaların yok olmasının yanı sıra pestisitlerin subletal dozlarının da hedef olmayan organizmalar üzerine olan etkileri

üzerinde durulması gereken bir konudur. Çeşitli pestisitlerin insanların da dâhil olduğu birçok hedef dışı organizmada enzim aktivitelerinde değişikliklere neden olduğu, üreme, beslenme ve algılamada anormalliklere yol açtığı, genotoksik hasarlara neden olduğu gösterilmiştir (Feng vd. 2005, Karabay ve Oğuz 2005, Abou-Donia vd. 2008, Emre vd. 2013, Kayis vd. 2015).

Pestisitler fiziksel özelliklerine, yapısını oluşturan aktif maddeye, toksisite derecesine, kullanım biçimi ve zamanına bağlı olarak sınıflandırılmakla birlikte, en çok kullanılan sınıflandırma şekli etki ettiği canlı grubuna göre yapılan sınıflandırmadır (Güler ve Çobanoğlu 1997). Bu sınıflandırmaya göre pestisitler hedefindeki canlı grubu zararlı böceklerse insektisit, akarlar ise akarisit, yumuşakçalar ise mollusit, mantarlar ise fungusit veya zararlı otlar ise herbisit olarak sınıflandırılırlar.

Böcekler tüm canlılar içinde sayı ve tür bakımından en fazla dağılım gösteren canlı grubudur (Baillie vd. 2004). Bu nedenle insektisitler pestisitler içerisinde önemli bir yere sahiptir. Zararlı böceklerle mücadelede kullanılan insektisitler, kullanım kolaylığı, hızlı etkisi ve nispeten ucuz olması nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir. İnsektisit kullanımı sonrası zararlılarla mücadelede önemli başarılar elde edilmekle birlikte yararlı birçok türün de bundan olumsuz etkilendiği görülmüştür (Bhavan-Saravana ve Geraldine 2001).

## **1.1. İnsektisitler**

İnsektisitler genel olarak tarımsal ürünlerin zararlı böceklerden korunmasında kullanılmakla birlikte insan ve hayvanların da zararlı böceklerle mücadelesinde kullanılan pestisit formudur (Kanbur vd. 2008). Etken maddelerine göre beş gruba ayrılan insektisitler, en yaygın olarak organoklorlular, organofosfat grubu insektisitler, karbamat grubu insektisitler, piretroidler ve neonikotinoidler olarak sınıflandırılırlar. Organoklorlu insektisitler, sinir hücresinin membranında katyon hareketlerini engelleyerek nöronların uyarılmalarına karşı aşırı duyarlı hale gelmesine ve merkezi sinir sisteminde aşırı uyarılmalara neden olur. Organoklorlu insektisitlerin en iyi bilineni dikloro difenil trikloroethan (DDT) olmakla birlikte, aldrin, dieldrin, klordan vb. insektisitler bu grubun üyeleridir. Organofosfat grubu insektisitler ise post sinaptik alanlarda asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesini engelleyerek, sinir uçlarında asetilkolin

birikimine neden olurlar. Sonuçta sinir-sinir ve sinir-kas sinapslarında impuls iletimi gerçekleşmez. Malation, paration ve diazinon gibi bileşikler organofosforlu insektisitlere örnek olarak verilebilir. Karbamat grubu insektisitlerde organofosforlu insektisitlere benzer şekilde etki gösteren insektisit grubudur. Asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek merkezi sinir sisteminin aşırı uyarılmasına yol açar. Karbamil bu grubun en önemli temsilcilerindendir (Simpson ve Schuman 2002, Smulders vd. 2003, Weiss vd. 2004).

Piretroidler, krizantem (*Chrysanthemum cinerariifolium*) adı verilen bitkiden elde edilen ve piretrum adı verilen doğal insektisidal aktiviteye sahip maddelere benzeyen sentetik kimyasallardır. Piretroidler merkezi sinir sisteminde membran geçirgenliğini artırarak voltaj bağımlı sodyum kanallarının aktivasyonunu ve inaktivasyonunu inhibe ederler. Böylece kontrolsüz sodyum iyonu geçişine ve aşırı depolarizasyona neden olurlar (Ray and Fry 2006, Shafer vd. 2008). Deltametrin, permetrin gibi insektisitler bu grubun yaygın kullanılan temsilcileridir.

Neonikotinoid grubu insektisitler diğer insektisit gruplarına göre daha yeni bir insektisit grubu olup, organofosfat ve karbamat grubu insektisitlerin kullanımının gelişmiş ülkelerde sınırlandırılması, hedef olmayan canlılara düşük toksisitesi ve hedef canlıya selektif etkisinden dolayı günümüzde geniş bir alanda kullanılmaktadır (Nauen 1995, Tomizawa ve Casida 2005, Ihara vd. 2006).

Özellikle böceklerde nikotinik asetilkolin reseptörlerine (nAChR) karşı yüksek afinitesinden dolayı nikotin ve asetilkolinin ile kompetatif etki gösterir ve bu bölgeye bağlanarak postsinaptik hücre zarında iyon kanallarının açık kalmasına ve uzun süren depolarizasyona neden olur. (Tomizawa ve Casida 2005). Thiacloprid, acetamiprid ve imidacloprid neonikotinoid grubu insektisitlerin önde gelen temsilcileridir (Costa vd. 2009).

### **1.1.1. İmidakloprid**

İmidakloprid, 2000'li yıllarda yeni nesil bir insektisit grubu olan neonikotinoidlerden ilk üretilen önemli ve yaygın kullanılan bir insektisittir. Nikotine yapısal benzerliği dolayısıyla aynı etkiyi gösteren bir bileşiktir. Böceklerde nikotinik asetilkolin reseptörlerine (nAChR) bağlanarak post sinaptik hücre zarında iyon

kanallarını depolarize eder ve repolarizasyonu engelleyerek iyon kanallarının uzun süre açık kalmasına neden olur (Yamamoto ve Casida 1999, Matsuda vd. 2001, Tomizawa ve Casida 2005). Bu şekilde sinir iletimi bloke olur ve felç olan böceğin ölümüne neden olur (Tomizawa ve Casida 2005, Costa vd. 2009).

Nikotinik asetilkolin reseptörleri başlıca sinir-kas bağlantılarında bulunmakla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalarda yağ hücrelerinde, makrofajlar ve lenfositlerde, karaciğerin, akciğerin ve barsağın epitel hücrelerinde de varlığı gösterilmiş ve imidaklopridin insan kan hücrelerinde DNA hasarlarına neden olduğu, nörotoksik etkisinin yanında genotoksik ve sitotoksik hasarlara yol açtığı ve yavru gelişimini olumsuz yönde etkilediği gibi merkezi sinir sistemi dışında da etki gösterebildiği belirtilmiştir (Gahring ve Rogers 2006, Kalamida vd. 2007, Abou-Donia vd. 2008).

İmidakloprid tarımsal alandaki ilaçlamalarda, ayrıca veterinerlikte ev hayvanlarının çeşitli parazitlere karşı mücadelesinde yaygın olarak kullanılan bir insektisittir (Schulz-Jander ve Casida 2002, Yue vd. 2003).

Çalışmalar insektisitlerin neden olduğu toksik etkinin gösterilmesinde oksidatif stres oluşumunun önemli bir parametre olduğunu açığa çıkarmıştır. İnsektisitler serbest radikal oluşumuna yol açmaları ve antioksidan maddelerin veya reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleyen enzimlerin yapılarında neden oldukları değişimler sonucunda oksidatif strese neden olabilmektedirler (Milatovic vd. 2006, Kayis vd. 2015).

## **1.2. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller**

Canlı sistemler iç ortamlarının belirli sınırlar içerisinde tutulması zorunluluğu olan bir homeostatik denge üzerine kurulmuştur. Bu sistemde serbest radikallerin oluşması ve antioksidan savunma sistemi tarafından ortadan kaldırılması devamlı ve düzenli bir şekilde gerçekleşir ki buna oksidatif denge adı verilir. Organizmalar bu denge korunduğu sürece serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmuş olur. Serbest radikal oluşumunu artıran veya bunların ortadan kaldırılmasında rol oynayan antioksidan savunma sistemini bozan ksenobiyotikler (pestisitler ve ağır metaller gibi) oksidatif strese neden olurlar (Serafini ve Del Rio 2004).

Serbest radikaller fagositoz gibi hücrel tepkimeler, bazı kanser tedavi ilaçları, alkol, uyuşturucu maddeler, ağır metaller ve pestisitler gibi çevresel kirleticilerin neden

olduğu eşleşmemiş elektrona sahip kararsız moleküllerdir (Mercan 2004, Mohammad vd. 2004, Oruc Ozcan vd. 2004). Serbest radikaller oksijenden kaynaklananlar yani ROS ve nitrojenden kaynaklananlar yani reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak ayrılırlar (Halliwell ve Gutteridge 1999, Valko vd. 2007). Canlı organizmalarda oksijen süperoksit radikali, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hidroksil ve peroksil gibi serbest radikallerin en önemli kaynağını oluşturur (Mates 2000).

Serbest radikallerin etkileri hedef hücre tipine, maruz kalma süresine ve şiddetine bağlı olarak değişmekle birlikte, serbest radikallerden öncelikle etkilenen yapı genelde membran lipidleridir, bunun yanında proteinler, karbonhidratlar ve DNA da serbest radikallerden önemli ölçüde zarar görürler (Nordberg ve Arner 2001).

Serbest radikaller sahip olduğu eşleşmemiş elektronlar nedeniyle oldukça aktif oldukları için membrandaki kolesterol ve doymamış yağ asitlerinin bağlarıyla reaksiyona girerek lipidlerin peroksidasyonuna neden olarak membran akışkanlığının bozulmasına ve membran geçirgenliğinin değişmesine neden olurlar (Halliwell ve Gutteridge 1999, Valko vd. 2007, Sarma vd. 2010).

Serbest radikaller proteinler üzerine olan etkilerini proteinlerin agregasyonuna, çapraz bağ oluşumuna ve aminoasitlerin yapısında değişikliklere neden olarak gösterirler (Erenel vd. 1992). Sonuçta proteinlerin rol aldığı enzim aktivitelerinde, hücre zarındaki taşıma işlemlerinde ve kasılma fonksiyonlarında bozulmalara neden olurlar (Shacter 2000, Sarma vd. 2010 ).

Serbest radikaller karbohidratlar üzerine olan etkilerini ise monosakkaritlerin otooksidasyonuna neden olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, peroksit ve okzoaldehid türü son ürünlerin oluşumuna neden olarak gösterirler. Bu şekilde meydana gelen okzoaldehidler, DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak çapraz bağ oluştururlar ve antimitotik etki gösterirler (Thornaley ve Vasak 1985, Devasagayam vd. 2004).

Özellikle hidroksil radikalleri DNA'da mutasyona, yarılmalara, proteinlerle oluşturdukları bağlarda çapraz bağ oluşumuna, pürin bazlarında oksidasyona neden olurlar (Halliwell 1994, Sarma vd. 2010, Gümrükçüoğlu 2017).



### 1.3. Antioksidan Savunma Sistemleri

Böcekler ROS'un neden olduğu zararlı etkilerden korunmak için enzimatik ve enzimatik olmayan bazı savunma mekanizmalarına sahiptir (Enayati vd. 2005, Barbehenn vd. 2008). Antioksidan savunma mekanizması bileşenleri canlıları serbest radikal oluşumunu engelleyerek veya oluşan serbest radikalleri ortadan kaldırarak korurlar. Serbest radikallerin oluşumunun engellenmesi, potansiyel oksidatif hasar etkeni olabilecek reaktif türevlerinin ortamdaki uzaklaştırılması, ortamdaki oksijenin uzaklaştırılması/konsantrasyonunun azaltılması ve Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonunu engellemek için ortamda bulunan metal iyonlarının uzaklaştırılması şeklinde yapılabilir. Oluşan serbest radikallerin ortamdaki kaldırılması ise, reaktif özelliğe sahip oksijen türevlerini daha az reaktif özellik gösteren başka moleküllere çevirerek, ROS'lara pozitif yük ekleyerek aktivite kaybına neden olabilirler ve oluşan reaktif türlerini veya ara ürünleri bağlarlar ve bir sonraki zincir reaksiyonu engelleyerek gösterirler (Hermes-Lima vd. 2001).

#### 1.3.1. Enzimatik antioksidanlar

Böceklerin sahip olduğu süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S transferaz (GST) ve askorbat geri dönüşüm sistemi enzimleri olan askorbat peroksidaz (APOX) ve dehidroksiaskorbat peroksidaz (DHAR) gibi enzimler reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı böcekleri korurlar (Summers ve Felton 1993, Barbehenn vd. 2001)

Tüm aerobik hücrelerin mitokondri ve sitozollerinde bulunan süperoksit dismutaz enzimi hücreleri ROS' ların etkilerine karşı koruyan ilk savunma hattını oluşturur (Sen vd. 2010, Sen ve Chakraborty 2011). Aktif merkezinde bulunan metal iyonuna göre Cu/ZnSOD, MnSOD ve FeSOD olarak 3 farklı tipi olan bu enzim, süperoksit radikallerini potansiyel toksik bir madde olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve moleküler oksijene parçalayarak hücreleri korur. (Fridovich 1995, Young ve Woodside 2001, Sen ve Chakraborty 2011)

Katalaz enzimi süperoksit radikallerinin SOD tarafından ortadan kaldırılması sırasında meydana gelen hidrojen peroksidin ortadan kaldırılmasında rol oynayan diğer

bir enzimdir. Hidrojen peroksit bir radikal olmamakla birlikte geçiş metalleri adı verilen bakır ve demir iyonlarıyla reaksiyona girerek hidroksil radikalinin oluşmasında rol oynadığı için önemlidir (Cheung vd. 2001, Limon-Pacheco ve Gonsebatt 2009). Katalaz enzimi yüksek Km değerinden dolayı düşük konsantrasyondaki  $H_2O_2$ 'ye karşı etkisizdir. Böceklerde düşük konsantrasyonlardaki hidrojen peroksidin ortadan kaldırılmasında rol oynayan başka enzim sistemleri de bulunur. Askorbat geri dönüşüm sistemi adı verilen bu sistemde yer alan Askorbat peroksidaz (APOX) ve dehidraskorbat reduktaz (DHAR) enzimleri  $H_2O_2$ 'yi ortadan kaldırarak böcekleri hücrel hasarlardan korurlar. Bu sistemde ( $H_2O_2$ ) ile askorbat APOX katalizörlüğünde dehidroaskorbat (DHA) ve iki molekül su ( $H_2O$ ) oluşturur. Daha sonra dehidroaskorbat (DHA) ile glutation (GSH) DHAR katalizörlüğünde askorbat ve okside glutation (GSSG) meydana gelir (Barbehenn vd. 2001).

Glutasyon peroksiadazlar (GPx), omurgalılarda önemli bir antioksidan enzim olup  $H_2O_2$  ve diğer lipid peroksitlere karşı hücreleri korurlar (Sen vd. 2011, Manduzio vd. 2005, Halliwell ve Gutteridge 1999). GPx dört alt birimden oluşan ve 4 adet selenyum atomu içeren bir enzimdir. Fakat böceklerde GPx in selenyum içermeyen formu bulunmaktadır (Ahmad ve Pardini 1990). Selenyuma bağımlı olmayan GPx'in  $H_2O_2$ 'ye karşı önemli bir etki gösterememekle birlikte organik hidroperoksitlere karşı önemli bir koruma sağlar (Halliwell ve Gutteridge 1999, Cnubben vd. 2001).

Glutasyon S transferaz (GST), hücelere alınan ksenobiyotiklerin biyotrasformasyonunda Faz II reaksiyonlarında ve lipid peroksidasyon ürünlerinin detoksifikasyonunda rol oynayan bir enzimdir (Sheenan vd. 2001, Singh vd. 2001). Üç alt birimden oluşan bu enzim böceklerde insektisitlere karşı geliştirilen dirençten birinci derecede sorumludur (Yu 2004). Böceklerde düşük olan GPx aktivitesinin GST nin peroksidaz aktivitesiyle desteklendiği ileri sürülmektedir (Ahmad vd. 2005, Krishnan ve Sehna 2006).

Glutasyon redüktaz (GR) ise  $H_2O_2$ 'nin detoksifikasyonu sırasında meydana gelen okside glutatyondaki (GSSG) disülfid bağlarını indirgenmiş glutasyonu (GSH) oluşmasını sağlar. Bu sayede daha sonraki konjugasyon reaksiyonunda kullanılmak için glutasyon hazır hala getirilir (Hermes-Lima vd. 2001).

### 1.3.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında ise askorbik asit, glutatyon, vitamin E, ürik asit, bilüribin, melatonin ve albümin gibi küçük organik moleküller sayılabilir (Waring 2002, Reiter vd. 2006, Krishnan vd. 2009, Kumar vd. 2015)

Glutatyon hücrede sitozolde, mitokondride ve çekirdekte bol miktarda bulunan ve glutamik asit, sistein ve glisin gibi aminoasitlerden oluşan bir tripeptittir (Halliwell ve Gutteridge 1999, Dickinson ve Forman 2002, Mytilineou vd. 2002). Hidroksil ve singlet oksijen gibi çok tehlikeli ROS'ların ortadan kaldırılmasında önemli role sahip olmasının yanında peroksitlerle de reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasarlardan korurlar (Murray vd. 1993, Burton 1994).

Vitamin E yağda çözünebilen önemli bir antioksidandır.  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ -tokoferol olarak adlandırılan vitaminlerin genel adı olmakla birlikte biyolojik aktivite olarak en yüksek aktiviteye sahip grubu  $\alpha$ -tokoferoldür (Halliwell ve Gutteridge 1999, Packer vd. 2001). Lipofilik özelliğinden dolayı hücre membranından kolaylıkla girer hidroksil radikalinin OH grubundaki hidrojen atomuyla reaksiyona girerek membran lipidlerinin peroksidasyonunun engellenmesinde önemli rol oynar. (Rigotti 2007).

Askorbik asit yani daha bilinen adıyla vitamin C, meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunan ve suda çözünebilme yeteneğindeki bir antioksidandır (Baskin ve Salem 1997, Aydın vd. 2001). Ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu sırasında oluşan radikallerin ve ROS'lerin ortadan kaldırılmasında önemli rol oynar. Askorbat, süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolaylıkla reaksiyona girerek bu radikallerin temizlenmesinde görev yapar ve oluşan dehidroaskorbik asit vitamin C kaynağı olarak kullanılır (Murray vd. 1993, Aydın vd. 2001, Iqbal vd. 2004).

Melatonin bir pineal bez hormonu olup, doğrudan doğruya hidroksil,  $H_2O_2$  ve singlet oksijen gibi reaktif türlerini süpürücü olarak görev yapmasının yanı sıra SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini de uyararak antioksidan savunmada önemli bir rol oynar (Tan vd. 2002, Reiter vd. 2007, 2009).

Bilirubin eritrositlerin yıkımı sırasında hemoglobin moleküllerinin parçalanması ile ortaya çıkan son ürün olup önemli bir antioksidandır. Peroksil radikallerine karşı zincir kırıcı etki göstererek lipid peroksidasyonunu önlemede yardımcı olur (Gutteridge 1995).

Albumin vücut sıvılarının dağılımında ve osmotik basıncın sağlanmasında önemli bir protein olup aynı zamanda taşıdığı sisteinin sülfidril grupları nedeniyle zincir kırıcı antioksidan etki de göstererek hidroksil radikallerinin ortadan kaldırılmasında önemli rol oynar (Roche vd. 2008). Aynı zamanda bakır ve demiri bağlayarak Haber-Weiss reaksiyonu sonucu oluşan radikallerin etkisiz hale getirilmesinde rol oynar (Halliwell ve Gutteridge 1990, Anraku vd. 2013).

Vücutta protein metabolizmasının artık ürünü olan ürik asit, hidrofilik özellikte olup oksijen radikallerini ve geçiş metallerini temizleyen önemli bir antioksidandır (Cereser vd. 2001). İçerisinde e vitamini, askorbik asit, beta karoten ve bazı antioksidan enzimleri bulundurduğu için vücut sıvılarının antioksidan kapasitesinin yarısından fazlasını barındırır (Watanabe vd. 2002, Glantzounis vd. 2005, Parmar 2009). Ürik asit ROS'lerin büyük kısmını etkisizleştirmesinin yanında demir ve bakır gibi metal iyonlarının şelatlanmasını sağlayarak hücreleri korurlar (Waring 2002, Kumar vd. 2015).

#### **1.4. Böceklerde İmmün Savunma Sistemi**

Böceklerde antimikrobiyal peptidlerin rol oynadığı humoral bağışıklığın yanı sıra hemositlerin morfolojik ve yapısal değişiklikleri sonucu hemosit aracılı gerçekleştirilen hücresel bağışıklık tepkileri de ortaya çıkmaktadır (Gupta 1985, Lavine ve Strand 2002, Strand 2008,). Hemositler aracılığı ile yürütülen hücresel bağışıklık tepkileri fagositoz, kapsül oluşumu (enkapsülasyon) ve nodül oluşumudur (nodülasyon) (Gupta 1985, Lavine ve Strand 2002,).

##### **1.4.1. Böceklerde hemosit tipleri**

Morfolojik özelliklere, çeşitli boyama yöntemleriyle boyanma özelliklerine ve fonksiyonlarına göre Lepidoptera, Diptera, Orthoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Hemiptera, Collembola gibi çeşitli böcek takımlarda tanımlanan temel hemosit tipleri prohemositler, granülositler, plazmatositler, sferülositler ve önositoidler olarak belirlenmiştir (Lavine ve Strand 2002, Ribeiro ve Brehelin 2006, Kurt ve Kayis 2015).

Prohemositler hemolenfte bulunan en küçük hücreler olup, sentrioller ve mikrotübül bulunduran, yüksek derecede mitotik aktiviteye sahip olan ve diğer hemosit tiplerinin oluşumundan sorumlu öncül hücrelerdir (Gupta 1985, Levin 2007, Er 2011).

Plazmatositler hemolenf içerisinde sayı olarak en fazla ve en değişik şekillerde bulunabilen hücrelerdir. Hemolenfteki sayıları toplam hemositlerin yaklaşık %30-60'ını oluştururlar. Plazmatositler fagositoz için büyük olan yabancı cisimlerin, bakterilerin ve nekroz sonucu melanize olmuş materyallerin etrafında kapsül ve nodül oluştururlar (Gupta 1985, Lavine ve Strand 2002, Er 2011).

Granülositler adından da anlaşıldığı gibi stoplazmalarında çok sayıda granül bulunduran küçük çekirdekli hücrelerdir. Granülositlerin, plazmatositler gibi yabancı yüzeylere yapışarak yara iyileştirme ile bağışıklık tepkilerinde önemli rolleri olan fagositoz yapma yeteneğindeki hücrelerdir (Rowley ve Ratcliffe, 1981, Gupta 1985, Chapman 1998). Bunun yanında nodul ve kapsül oluşumunda yabancı maddelerle ilk olarak temas kurarlar ve granüllerini dışarıya vererek plazmatositlerin reaksiyonuna yardımcı olurlar (Pech ve Strand 1996, Ribeiro ve Brehelin 2006).

Önositoidler yaklaşık olarak 54µm'yi bulan çapları ile en büyük hemosit hücreleridir (Gupta 1985, Sak ve Uçkan 2009). Lepidopterler türlerinde bağışıklıkta ve yaraların iyileştirilmesinde rol oynayan melanizasyonun meydana gelmesinde rol oynayan fenoloksidaz enzimini bulundurur (Ribeiro vd. 1996, Kanost vd. 2004, Er 2011).

Sferül hücreler (Sferülositler) yuvarlak veya oval şekilli, hareketsiz, içerisinde küresel yapılar bulunduran hücrelerdir. Sitoplazmaları aynı zamanda ribozom, golgi aygıtı, lizozom, mitokondri ve endoplazmik retikulum içermektedir (Levin 2007). İpek üretimi, melanizasyon, fagositoz ve pıhtılaşmanın düzenlenmesinde görev alırlar (Gupta 1985, Chapman 1998, Er 2011).

Böcek fizyolojisi çalışmalarında hematolojik parametrelerin önemli bir yeri vardır. Böceklerde hemolenf adı verilen dolaşım sıvısı içerisinde serbest halde dolaşan kan hücreleri hemosit olarak adlandırılır ve böceklerde önemli bazı fonksiyonları yerine getirirler. Bu fonksiyonlar arasında besin maddelerinin, hormonların, detoksifikasyon ürünlerinin taşınması ve immün sistemde vücuda giren yabancı organizmalara ve toksik maddelere karşı gerçekleştirdikleri savunma görevleri sayılabilir (Patton 1983).

### 1.4.2. Hemosit aracılı bağışıklık tepkileri

Böceklerde hemositler fagositoz, nodül oluşumu ve enkapsülasyon gibi bağışıklık tepkilerinde rol alırlar (Lavine ve Strand 2002).

Memelilerdeki makrofaj ve nötrofiller tarafından gerçekleştirilen fagositoz, böceklerde başlıca dolaşımda serbest halde bulunan ve yüksek miktarda lizozim enzimi içeren plazmatositler tarafından gerçekleştirilmekle birlikte granüositlerinde fagositozda rol oynadığı birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (Tojo vd. 2000, Lavine ve Strand 2002, Ben-Ami 2011). Fagositoz, küçük biyotik veya abiyotik partiküllerin ve ölü hücrelerin tek bir fagositoz yeteneğindeki hücre tarafından yutulması olarak tanımlanan temel bağışıklık tepkimesidir (Lavine ve Strand 2002, Borges vd. 2008, Brivio vd. 2010). Fagositoz organizmaya dışardan yabancı bir organizmanın girmesiyle başlatılır (Gupta 1985, Gillespie vd. 1997, Marmaras ve Lampropoulou 2009) ve fagosite edilecek organizmanın yüzeyinde bulunan yüzey tanıtıcı moleküller veya opsoninler gibi fagosite edilecek partikülü işaretleyen proteinler aracılığı ile yabancı organizma tanınır ve fagositoz için işaretlenir. Fagositlerin yabancı ayakları ile hücre içinde alınan yabancı organizma fagozom içerisine alınır ve burada lizozom enzimleri ve NADPH oksidazlar aracılığı ile oluşturulan süperoksit radikalleri tarafından parçalanarak ortadan kaldırılırlar (Tojo vd. 2000, Lavine ve Strand 2002).

Nodüller, organizmaya giren çok sayıda yabancı partikülün etrafını kuşatmış halde bulunan, melanize olmuş veya bazı durumlarda melanize olmamış çok sayıda hemositin kümeleşerek meydana getirdiği yapılardır (Rowley ve Ratcliffe 1981, Tunaz 2004). Böceklerde nodülasyon yüksek konsantrasyonda abiyotik madde veya çok sayıdaki bakteri, mantar ve protozoaya karşı oluşturulan ve esas olarak çok sayıdaki granüosit ve plazmatositlerin rol oynadığı savunma mekanizmasıdır. Nodül oluşumunda şişerek granüositlerden hemolenfe çıkan granüller yapışkan bir yapı oluşturarak nodül oluşturulacak hedefi tutarlar ve daha sonra plazmatositler bu yapıya tutunarak yassılaştırmış bir hücre tabakası meydana getirir. Fenoloksidaz aktivitesi nedeniyle yapı melaninleşerek koyu bir renk alır ve nodül oluşumu bu şekilde tamamlanır. (Ratcliffe ve Gagen 1977, Lavine ve Strand 2002, Tunaz 2004).

Başlıca granüositler ve plazmatositlerin rol aldığı enkapsülasyon olayı hemositlerinin kendilerinden daha büyük boyuttaki yabancı maddelere karşı

oluşturdukları bir immün tepkidir (Gupta 1985, Richards ve Edwards 2002). Hemositler hemolenf dolaşımı sırasında rastgele veya kemotaksis sonucu yabancı maddeye temas eder. Sonrasında nodülasyonda olduğu gibi granülositler tarafında tutularak plazmatositler bölgeye çekilir, etrafında yassılaştırmış çok yoğun hücre tabakası oluşan kapsülün etrafında oluşturulan melanizasyonla kapsül oluşumu son bulur ve patojen ortadan kaldırılmış olur (Schmidt vd. 2001, Lavine ve Strand 2002).

### **1.5. *Galleria mellonella* (L.) (Büyük Balmumu Güvesi)**

Lepidoptera ordosuna ait böcekler tarımda zararlara neden olan böcekler arasında önemli bir gruptur. *Galleria mellonella* (L.) Lepidoptera ordosuna ait özellikle larval evrede bal arıları kolonilerine zarar veren bir türdür (Ellis vd. 2013). Arı kovanlarında petekleri yiyerek bal ve polen oluşumunu engelledikleri gibi arı neslinin devamlılığını da engellerler (Desalegne 2001). Dişi *G. mellonella* bireyleri arı kovanlarına girdikten sonra kovanın ulaşılması zor bölgelerine yumurtalarını bırakırlar ve yumurtalar karanlık ortamda 3 gün içinde açılarak peteklere en fazla zarar veren larva formunu oluştururlar. Larvalar petekleri besin olarak kullanırlar ve kovanda oyuklar açarak kullanılamaz hale getirirler. Altı evreden oluşan larva evresini pupa ve yaklaşık 1-2 haftalık pupa evresini ise ergin evreleri takip eder (Ramarao vd. 2012, Ellis vd. 2013).

*G. mellonella* birçok parazitoid böceğin laboratuvar ortamında kitle halinde üretilmesi için son derece uygun bir konak olmakla birlikte (Buyukguzel 2001), ekonomik zararlarından dolayı birçok araştırmacı tarafında yaşam döngüsü, biyolojisi, davranışı, fizyolojisi, moleküler biyolojisi ve mücadelesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (Sharma vd. 2011). Bunun yanında çeşitli fizyolojik, genomik ve proteomik çalışmalarında model organizma olarak kullanımı oldukça yaygındır (Ellis vd. 2013, Neumann vd. 2013, Dietemann vd. 2013, Kayis vd. 2015).

Son yıllarda çeşitli insan enfeksiyonları ve patojenlerine karşı yapılan çalışmalarda memeli model organizmaların (fare ve sıçanlar) kullanımındaki etik problemler, yüksek altyapı ve teçhizat ihtiyacı, tecrübeli teknik eleman desteği gerektirmesi ve yüksek maliyet gibi bazı sorunlar alternatif model organizma arama ihtiyacı doğurmuştur (Mylonakis vd. 2007, Vilcinskis 2011).

*G. mellonella* larvalarının özellikle mikrobiyal enfeksiyon çalışmalarında alternatif model organizma olarak kullanımını son yıllarda çok yaygın hale gelmiştir. Tsai vd. (2016), veritabanlarında yaptıkları araştırmalarında *G. mellonella*'nın model organizma olarak kullanıldığı binden fazla araştırma olduğunu ve bunun iki yüzden fazlasının 2014-2015 yılları arasında yapıldığını belirtmişlerdir. Geleneksel memeli model organizmalarla karşılaştırıldığında *G. mellonella* larvalarının model organizma olarak kullanılması daha ekonomik olması, bakımının kolay olması, yetiştirilmesinde özel laboratuvar ve teçhizatlara gereksinim duyulmaması, yaşam döngüsünün kısa olması, diğer böcek modellerine göre larva boyutunun büyüklüğü (2-4 cm) ve hemolenf sıvısının miktarının (20-50 µL) tekrarlayan uygulamalar için yeterli olması, insanlardaki patojen çalışmaları için son derece uygun olan 37°C' de yaşayabilmesi ve etik problemlere neden olmaması bakımından büyük avantaj sağlamaktadır (Kavanagh ve Fallon 2010, Junqueira 2012, Fallon vd. 2012, Mylonakis vd. 2012, Ramarao vd. 2012, Banville vd. 2012, Kayis vd. 2015,).

Diğer omurgasızlar gibi *G. mellonella* larvaları da kazanılmış bağışıklık sisteminden yoksun olup, yapılan çalışmaları sahip olduğu doğal immün sisteminin yapı ve işleyiş bakımından memelilerle önemli ölçüde benzerlik gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (Fallon vd. 2011, Krautz vd. 2014).

Memelilerde ve böceklerde mikroorganizmaların vücuda girmesinde ilk savunma hattı memelilerde epidermis iken böceklerde kütikül tabakasıdır. Böceklerin barsaklarında bulunan mikrovilluslar memelilerdekine benzer şekilde mikrobiyal toksinlere karşı reseptörlere sahiptir. Patojenlere karşı antimikrobiyal peptidlerle oluşturdukları humoral bağışıklık yanıtı ve plazmatosit ve granülosit adı verilen hemositlerle gerçekleştirilen fagositoz yetenekleri memelilerdeki kazanılmış bağışıklık ve makrofajlarla yapılan fagositoz ile büyük benzerlik taşımaktadır (Hoffmann 1995, Scully ve Biodochka 2006, Kavanagh ve Reeves 2007, Krautz vd. 2014). Bunların yanında böceklerde kazanılmış bağışıklık sistemindeki gibi hücre adezyonu, antimikrobiyal direnç, doku degradasyonu ve oksidatif strese karşı adaptasyon gibi yangı süreci için temel komponentler larva ve memelilerde benzerlik göstermektedir (Kavanagh ve Reeves 2004, Lemaitre ve Hoffmann 2007).

Yukarıdaki bilgiler doğrultusunda bu tez çalışmasının amacı yeni nesil bir insektisit olan imidaklopridin model organizma olarak sıklıkla kullanılan *G.*



*mellonella*'da enzimatik antioksidan savunma sistemine ait bazı enzimler (SOD, CAT) immün sisteme ait hücrel savunma sistemi (toplam hemosit sayısı), lipid peroksidasyon düzeyi (MDA) ve bazı biyokimyasal parametrelere (protein, karbohidrat ve lipid) etkilerini ortaya çıkarmaktır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Nath (2000), *Bombyx mori*' de karbohidrat metabolizması üzerine organofosforlu insektisitlerin etkilerini araştırmıştır. Yaptığı çalışmada beğin yağ doku ve hemolenfinde insektisitlerin toksik etkisinin oluşturduğu stres koşullarında karbohidrat metabolizmasının önemli ölçüde etkilendiğini göstermiştir.

Buyukguzel (2006), *Pimpla turionellae* ve onun parazitoidi olan *G. mellonella*'da organofosforlu bir insektisit olan malathionun bazı biyokimyasal ve gelişimsel etkilerini araştırdığı çalışmasında malathionun *G. mellonella*'da pupa oluşumunu, *P. turionellae*' da ise ergin birey oluşumunu azalttığını belirtmiş, aynı zamanda insektisit her iki beekte de MDA oluşumunun dolayısıyla lipid peroksidasyonunu arttırdığını rapor etmiştir.

Sak vd. (2006), sipermetrinin *P. turionellae*'nin erginlerinde total protein, total lipid ve total glikojen seviyelerinin önemli ölçüde azalmasına neden olduğunu, bu etkinin beğin cinsiyetine göre değişiklik gösterdiğini ve dişilerin erkeklere oranla daha fazla etkilendiğini belirtmiştir.

Suhail vd. (2007). *Coccinella septempunctata* larvalarında abamektinin granülosit ve sferl kan hücrelerinin sayılarında artışlara neden olduğunu, bunun yanında prohemositler ve plazmatositlerin sayılarında ise azalmalara neden olduğunu belirtmiş, bu artış ve azalmaların toplam hemosit sayısına azalma şeklinde yansıdığını göstermiştir.

Kissoum ve Soltani, (2016), *Drosophila melanogaster*'de sfiromesifenin karbohidrat ve glikojen miktarlarında önemli ölçüde azalmaya neden olduğunu belirtmişlerdir.

Kapoor vd. (2010), İmidaklopridin dişi ratlarda antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, günde 5 ve 10 mg imidakloprid ile beslenen ratlarda SOD, CAT, GPx enzimleri ve GSH ile lipid peroksidasyon düzeylerine önemli bir etkide bulunmadığını, bununla birlikte 20 mg/kg/gün imidakloprid uygulanan böceklerde karaciğerde SOD, CAT, GPx, GSH ve lipid peroksidasyon düzeylerinin, beyinde SOD, CAT ve GPx'in ve böbrekte ise lipid peroksidasyon düzeylerinin önemli ölçüde değiştiğini belirtmiştir.

Santos vd. (2016), İmidaklopridin subletal dozlarının *Euschistus heros*'un yaşam süresi ve verimliliği üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında imidaklopridin yüksek seviyede hücre hasarlarına neden olduğunu, ömür uzunluğunu önemli ölçüde azalttığını fakat üreme performansını kontrol grubuna göre önemli ölçüde artırdığını göstermişlerdir.

Kapoor vd. (2011), dişi ratlarda imidaklopridin ovaryum morfolojisi, hormonlar ve antioksidan enzimler üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, insektisit uygulanan ratlarda ovaryum ağırlığının önemli ölçüde azaldığını, patolojik değişikliklere neden olduğunu, hormon ve antioksidan enzimler (SOD, CAT, GPx) üzerine önemli etkileri olduğunu GSH ve lipid peroksidasyonunu önemli ölçüde değiştirdiğini göstermişlerdir.

Vohra ve Khera (2015), imidaklopridin ratlarda bazı hayatsal organlarda mikromorfoloji ve bazı anahtar enzimler üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. F1 dölünde alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), asit fosfataz (ACP) ve alkalın fosfataz (ALP) enzim aktivitelerinin yüksek dozlarda önemli ölçüde arttığını, asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesinin ise plazma ve beyinde önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir.

Al Hariri ve Anjum (2001), Deltametrin ve lambda siyalotrinin çöl çekirgesinde toplam hemosit sayısına etkilerini araştırdıkları çalışmalarında insektisit uygulamasını takip eden 30 dakikada toplam hemosit sayısında önemli bir artış gözleendiğini, bir saat sonunda ise toplam hemosit sayısında azalma gerçekleştiğini belirtmişler, çalışmadan genel sonuç olarak insektisitın toplam hemosit sayısını azalttığı sonucunu çıkarmışlardır.

George ve Ambrose (2004), *Rynocoris kumarii*'de monokrotofos, dimetoat, metilparation ve quinalfosun toplam hemosit sayısında artışa neden olduğunu göstermişlerdir.

Halawa vd. (2007), *Schistocera gregaria*'da Klorozanın %50 oranında, deltametrinin %18.3 ve spinosadın %8.3 oranında toplam hemosit sayısında azalmaya neden olduğunu göstermiştir.

Ribeiro ve Brehelin (2006), böcek kan hücrelerinin sayı ve tiplerinin türe ve böceğin gelişim evrelerine göre önemli değişiklikler gösterdiğini belirlemişlerdir.

Teleb (2011), *S. gregaria*'da çeşitli insektisit dozlarının toplam hemosit sayıları ve farklı hemosit sayıları üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında dişi ve erkek bireylerde toplam hemosit sayılarının insektisit etkisiyle azaldığını belirtmiştir.

Zhu ve arkadaşları (2012) *Spodoptera litura*'da 0.1, 0.5, ve 1.2 µg/mL hekzafloranın konsantrasyonlarının farklı larval evrelerde etkilerini araştırmışlar, 5. evre larvalarında 24 saatlik verilerde toplam hemosit sayısının önemli ölçüde arttırdığı saptamışlardır. 96 saatlik verilerde ise subletal konsantrasyonların hemositlerde normal hücre çoğalmasının 24 saatlik uygulama ile aynı düzeyde olduğu tespit edilmiştir.

Kurt ve Kayış (2015), deltametrinin *G. mellonella* larvalarının hemositleri üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında beş tip hemosit gözlemlemişler, toplam hemosit sayılarının deltametriden önemli ölçüde etkilendiğini göstermişlerdir. Deney periyodunun 72. saatinde yüksek deltametrin konsantrasyonlarında (50, 100 ve 150 µg) toplam hemosit sayısının kontrol grubuna göre önemli ölçüde azaldığını, 96. saatte ise 100 ve 150 µg deltametrin konsantrasyonlarında toplam hemosit sayısının önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir. Ayrıca yüksek dozlarda hemositlerde mikronükleus oluşumunun indüklendiğini belirtmişlerdir.

Gessa vd. (2006), *Macrobrachium rosenbergii*' de karbosülfanın hematolojik parametrelere etkilerini inceledikleri çalışmalarında toplam hemosit sayısının önemli ölçüde azaldığını, kan hücrelerinde morfolojik deformasyonların meydana geldiğini, ayrıca hemolenf glukoz seviyesinin 72. saatte artıp 96. saatte önemli ölçüde azaldığını, hemolenf protein düzeyinin ise kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir.

Brandt vd. (2016), neonikotinoid insektisitler thiacloprid, imidacloprid ve clothianidin immun bileşenlere etkilerini bal arısı *Apis mellifera*'da araştırmışlardır. Thiacloprid ve imidaclopridin hemosit yoğunluğunu, enkapsülasyon oluşumunu ve antimikrobiyal aktiviteyi önemli ölçüde azalttığını, clothianidin ise yalnızca yüksek dozlarda etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Fatima vd. (2016), thiacloprid ve imidaclopridin *Helicoverpa armigera*'da hemositler üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, toplam hemosit sayısının 3. evre larvalarında uygulamanın hemen sonrasında arttığını, yarım saat sonra azaldığını ve bir saatlik süre sonunda tekrardan artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Piri vd. (2014), spinosadın *Glyphodes pyloalis* (Walker)' de bazı biyokimyasal parametrelere etkilerini araştırdıkları çalışmalarında 5. Evre larvalarında spinosadın LC<sub>10</sub>, LC<sub>20</sub>, LC<sub>30</sub> ve LC<sub>40</sub> dozlarının artan konsantrasyona paralel olarak karbohidrat miktarını önemli ölçüde azalttığını, LC<sub>10</sub> konsantrasyonunun lipid miktarını arttırdığını ve LC<sub>20</sub>, LC<sub>30</sub> ve LC<sub>40</sub> dozlarının ise lipid miktarında artışa neden olduğunu, protein miktarının ise LC<sub>30</sub> ve LC<sub>40</sub> dozlarında önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir.

Mirhaghparast vd. (2015), *Chilo suppressalis* (Walker) da hexaflumuronun immün sistem ve metabolizma üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında toplam hemosit sayısının, nodül oluşumunun ve fenoloksidaz aktivitesinin önemli ölçüde arttığını, bunun yanında trigliserit, protein ve glikojen miktarlarının zamana bağlı olarak önemli değişiklikler gösterdiğini belirtmişlerdir.

Choi vd. (2001) yılında dördüncü evre *Chironomus riparius* Mg. larvalarında fenitrothionun hipoksiya, hiperoksiya ve potasyumun enerji metabolizması üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, fenitrothionun elektron taşıma sisteminin aktivitesinde önemli değişikliklere neden olduğunu bunun yanında lipid ve glikojen miktarında önemli azalmalara yol açtığını olduğunu göstermiştir.

Parakash vd. (2007) yılında yaptıkları çalışmalarında Penfluronun *Dysdercus koenigii* dişi ve erkeklerinde uygulamadan 72 ve 96 saat sonra toplam hemosit sayılarında önemli ölçüde azalmalara neden olduğunu göstermişlerdir.

Champion vd. (2016), *G. mellonella*'nın mikrobiyolojik ve toksin çalışmalarında model organizma olarak kullanılabilceğini belirtmiştir.

Tsai vd. (2016), bakteri kaynaklı hastalıklar ve antimikrobiyal ilaç çalışmaları için *G. mellonella*'nın enfeksiyon modeli olarak kullanılabilceğini belirtmişlerdir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

İmidacloprid (N-{1-[(6-Chloro-3-pyridyl)methyl]-4,5-dihydroimidazol-2-yl}nitramide)	: Bayer
Sodyum karbonat (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	: Sigma
Sodyum Hidroksit (NaOH)	: Sigma
Bakır Sülfat (CuSO <sub>4</sub> )	: Merck
Sülfürik Asit (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	: Merck
Sodyum Sülfat (Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	: Merck
Kloroform (CHCl <sub>3</sub> )	: Merck
Metanol (CH <sub>3</sub> OH)	: Merck
Vanilin (C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> )	: Merck
Fosforik Asit (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	: Merck
Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)	: Sigma
Nitroblue Tetrazolium (NBT)	: Sigma
Sığır Serum Albümin (BSA)	: Sigma
Bakır Klorür (CuCl <sub>2</sub> )	: Sigma
Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	: Sigma
Fenilthiourea kristali (C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> S)	: Sigma
Ksantin, (C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> )	: Sigma
Ksantin Oksidaz; (EC): 1.17.3.2.	: Sigma
Potasyum dihidrojen fosfat (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	: Merck
Sodyum dihidrojen fosfat (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O)	: Merck
Trikloroasetik asit (TCA)	: Sigma
Tiyobarbiturik asit (TBA)	: Sigma
Sodyum Potasyum Tartarat (KNaC <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> ·4H <sub>2</sub> O)	: Merck
Folin Ciocalteu's Ayıracı	: Sigma
Antron	: Sigma

Mısır Yağı	: Sigma
Giems (Giems Azure Eosine Methylene Blue)	: Merck
Asetik asit (CH <sub>3</sub> COOH)	: Merck
Potasyum klorür (KCl)	: Merck
Kalsiyum klorür (CaCl <sub>2</sub> )	: Merck
Sodyum klorür (NaCl)	: Merck
Tauber-Yeager Solüsyonu (0.005 g kristal viole, 0.12 mL : asetik asit, 0.11 g CaCl <sub>2</sub> , 0.15 g KCl, ve 4.65 g NaCl)	
Kristal viole	: Merck

### 3.1.2. Kullanılan cihazlar

Analitik terazi	: Ohaus
Spektrofotometre	: Shimadzu UV-1800
-80°C Derin Dondurucu	: New Brunswick U570
Su banyosu	: Daihan Wisd WB22
Soğutmalı Masaüstü Santrifüj	: Hettich Universal 320 R
Genel Amaçlı Santrifüj	: Hettich Eba 21
Otomatik Pipetler	: Gilson
Mikroskop	: Olimpus CX21
Isıtıcılı manyetik karıştırıcı	: Daihan Wisd MSH-20A
Homojenizatör	: Daihan
Buz makinası	: Scotsman AF-80
Saf su cihazı	: Millipore Rios 8
pH Metre	: Thermo Orion 2 Star
Buzdolabı	: Vestel BZP-XL3442W
Analitik Terazi	: Ohaus
Vortex	: Labart MSV-1
Ependorf tüpleri	: İsolab
Neubauer Lamı	: Isotherm
Deney tüpleri	: İsolab

### 3.1.3. Stok kültürünün hazırlanması ve deney böceklerinin elde edilmesi

Farklı konsantrasyonlara sahip imidakloprid'in *G. mellonella* larvaları üzerindeki antioksidan enzim parametreleri, lipid peroksidasyonu, protein, lipid, karbohidrat düzeyleri ve hemositlere olan etkisinin araştırıldığı bu çalışmada *G. mellonella* larvaları  $30\pm 2$  °C sıcaklık ve  $65\pm 5$  neme sahip, 24 saat karanlık ortam koşullarda Bronskill (1961) tarafından geliştirilen yarı sentetik besin ile yetiştirilen ergin bireylerden elde edilmiştir. Deneylere başlamadan önce imidakloprid'in *G. mellonella* larvaları için 96 saatlik LD<sub>50</sub> değerleri belirlenmiştir.



şekil 3.1 *G. mellonella* stok kültür laboratuvarı



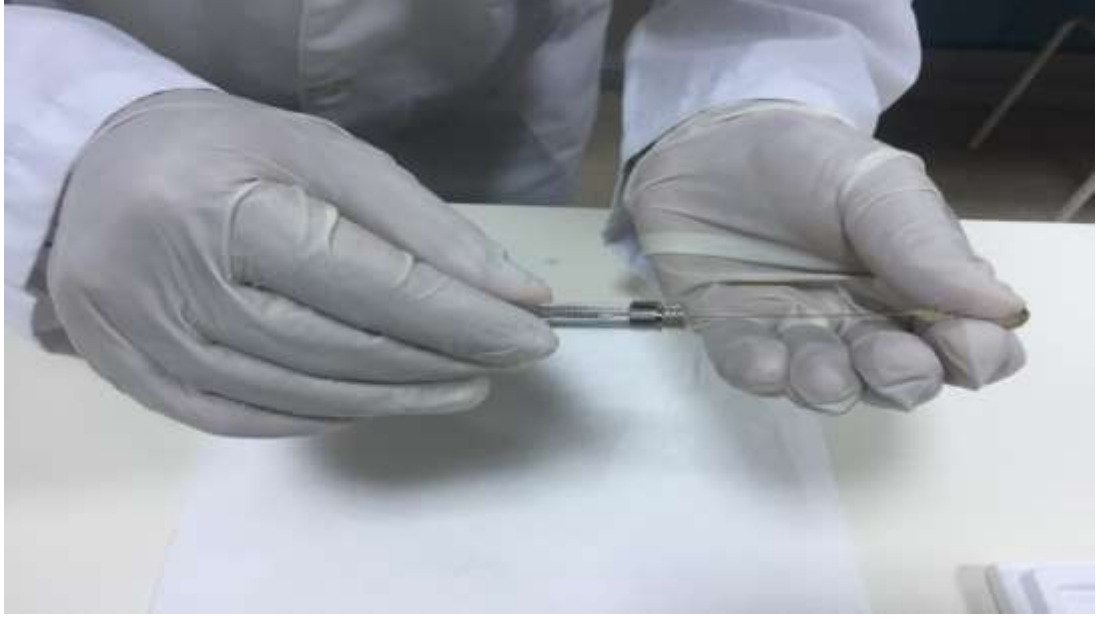


Şekil 3.2 Solda *G. mellonella* larva, pupa ve ergin evresi, sağda son evre larvalar

#### 3.1.4. Kontrol ve deney gruplarının oluşturulması

*G. mellonella* larvalarının beslenmesi için kepek, bal, saf su, gliserin ve petekten oluşan besin bileşenleri bir kap içerisinde karıştırıldı. Hazırlanan besin kapakları tel ile çevrilmiş 5Lt' lik cam kavanozlara alınarak üzerlerine *G. mellonella* ergin bireyleri bırakıldı ve yumurta bırakmaları sağlandı. Yumurtadan çıkan larvalar son larval evreye (250-350 mg) geldiklerinde buradan alınarak imidaklopid enjeksiyonu (Hamilton mikro enjektör) yapıldı ve petri kaplarına alınarak 24, 48, 72 ve 96 saatlik gruplara ayrıldı. Biyokimyasal analizler için kullanılacak larvalar bu süreler sonunda tartılarak -80°C de analizler yapılincaya kadar saklandı. Toplam hemosit sayımı için kullanılacak larvalar ise yukarıda bahsedilen sürelerin bitiminde hemen alınarak toplam hemosit miktarları sayıldı.

LD<sub>50</sub> konsantrasyonları belirlendikten sonra larvalara 0.25, 0.50, 0.75 ve 1 µL/larva imidaklopid dozlarının uygulanmasına karar verildi. Kontrol grubu için Bronskill (1961) tarafından geliştirilen besinde yetiştirilen ve saf su enjeksiyonu yapılan böcekler kullanıldı.



Şekil 3.3 *G. mellonella* larvalarına imidakloprid enjeksiyonu

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Toplam hemosit sayısının belirlenmesi

Hemolenf elde etme işlemi için larvalar  $-20^{\circ}\text{C}$  de birkaç dakika bekletildikten sonra %95' lik etanol ile silindi. Larvalar arka bacak üstünden ince uçlu diseksiyon iğnesi ile delinip  $5\ \mu\text{L}$  hemolenf elde edildi. Hemolenf 1/10 oranında Tauber-Yeager çözeltisi (0.005 g kristal viole, 0.12 mL asetik asit, 0.11 g  $\text{CaCl}_2$ , 0.15 g KCl, ve 4.65 g NaCl) ile seyreltilerek ependorf tüplerine aktarıldı. Seyreltilmiş hücre süspansiyonu mikropipet yardımıyla birkaç kez çekilip bırakılmak suretiyle homojen hale getirildi ve hücre süspansiyonundan  $10\ \mu\text{L}$  mikropipet ile çekilerek Neubauer hemositometresine (Improved Neubauer Hemocytometer; Superior, Germany) yüklendi ve lam üzerindeki  $1\ \text{mm}^2$  lik büyük karenin içerisindeki hemositler Olympus CX21 marka ışık mikroskopunda sayıldı ve kaydedildi. Aşağıdaki formül kullanılarak mililitredeki hemosit sayısı belirlendi (Jones 1967).

$$\text{Hücre sayısı / mL} = 1 \text{ Büyük karedeki hücre sayısı} \times \text{Sulandırma oranı} \times 10^4$$

### **3.2.2. Böceklerin homojenizasyonu**

Protein miktarı, antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA miktarı tayini için -80°C de saklanan larvalar buz üzerine alınarak üzerlerine melaninleşmeyi önlemek için birkaç fenilthioure kristali eklendi. 1/10 oranında 50mM fosfat tamponu (pH 7,4) eklendikten sonra 24000 devir/dk da homojenize edildi. Homojenizasyondan sonra tüpler +4 C° de, 10000 devir/dk da 30 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant deneylerde kullanıldı.

Toplam karbohidrat ve lipid miktarlarının belirlenmesi için daha önceden alınan ve -80°C' de saklanan larvalar buz üzerine alınarak üzerlerine melaninleşmeyi önlemek için birkaç fenilthioure kristali eklendi. Daha sonra üzerlerine 2 mL sodyum sülfat ilave edilen örnekler homojenizatör ile dakikada 24000 devirde homojenize edildi. Elde edilen homojenat üzerine 8 ml kloroform/metanol (1/2) çözeltisi eklendi ve +4 C° de, 10000 devir/dk da 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrasında elde edilen süpernatant toplam karbohidrat ve toplam lipid miktarlarının belirlenmesinde kullanıldı.

### **3.2.3. Toplam protein miktarının tayini**

Protein miktarının analiz edilmesinde Lowry vd. (1951) tarafından gösterilen yöntem kullanılmıştır. Analiz için gerekli çözeltilerin hazırlanması ve spektrofotometrik okuma işlemleri Kayış (2010)' da açıklandığı şekilde yapılmıştır.

Protein miktarının mg/mL cinsinden ifade edilmesi için %1' lik BSA (Sigma; A-2153) protein standart çözeltileri hazırlanmış ve spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800) 750 nm' deki absorpsiyon değerleri ölçülerek protein standart grafiği elde edilmiştir. Deneylerden elde edilen veriler standart ölçümünden elde edilen regresyon denkleminde yerleştirilerek böceklerin protein miktarları elde edilmiştir. Bu değer böcek ağırlıklarına bölünerek mg/100mg protein olarak ifade edilmiştir.

### **3.2.4. Toplam karbohidrat miktarının tayini**

Karbohidrat miktarının tayininde Van Handel (1985a)' in geliştirmiş olduğu yöntem kullanılmıştır. Standart grafiği elde etmek için önce saf haldeki glikojenden

(Sigma G-8751) hazırlanan çözelti seri sulandırma ile seyreltilerek farklı konsantrasyonlarda glikojen içeren çözeltiler elde edilmiştir. Bu standart çözeltilerin absorbanları spektrofotometrede (Shimadzu UV 1800) 625 nm dalga boyunda okunmuş ve çözeltilere ait bir regresyon denklemi elde edilmiştir. Örneklerden 200 µL alınarak Van Handel (1985a) metoduna göre okunmuş, elde edilen absorbanlar regresyon denkleminde yerine konularak böceklerin karbohidrat miktarları hesaplanmış ve mg/100mg olarak ifade edilmiştir.

### **3.2.5. Toplam lipid miktarının tayini**

Örneklerdeki total lipid miktarının belirlenmesinde Van Handel (1985b)' in geliştirmiş olduğu yöntem esas alınmıştır.

Lipid değerlerinin hesaplanması için önce % 0.1' lik mısır yağından stok çözelti hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden kloroform/metanol (1/2) karışımı kullanılarak seri seyreltmeler yapılmış ve farklı konsantrasyonlarda lipid içeren çözelti serisi hazırlanmıştır. Elde edilen çözeltilerin absorbanları Van Handel (1985b)'in gösterdiği yöntemle göre spektrofotometrede (Shimadzu UV 1800) 525 nm dalga boyunda okunarak bir lipid standart grafiği elde edilmiştir. Örneklerin lipid miktarlarının belirlenmesinde 200 µL örnek alınarak Van Handel (1985b) metoduna göre okunmuş, elde edilen absorban değerleri regresyon denkleminde yerine konulmuş ve total lipid miktarı mg/100mg olarak ifade edilmiştir.

### **3.2.6. SOD enzim aktivitesinin tayini**

Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin tayininde Sun vd. (1988) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Yöntemde kullanılan reaktif çözeltisinin hazırlanması, spektrofotometrik okuma işlemi ve SOD enzim aktivitesinin hesaplanması Kayış (2010) da açıklandığı şekilde yapılmıştır. Örneklerin SOD aktiviteleri U/mg protein cinsinden ifade edilmiştir.

### 3.2.7. CAT enzim aktivitesinin tayini

Katalaz enzim aktivitesinin ölçülmesinde Aebi (1984) tarafından gösterilen metod uygulanmıştır. Spektrofotometrik okuma işlemi, çözeltilerin hazırlanması ve CAT enzim aktivitesinin hesaplanması Kayış (2010)'da gösterildiği şekilde yapılmıştır. CAT enzim aktivitesi U/mg protein şeklinde ifade edilmiştir.

### 3.2.8. MDA miktarının tayini

Malondialdehid miktarının tayini Bar-Or vd. (2001) tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır. Buna göre süpernatanttan 250 µl alınarak üzerine 125 µL %20 lik TCA ilave edilmiş ve 15000 devirde +4 °C de 30dk santrifüj edilmiştir. Daha sonra 200 µL %0,8 TBA ilave edilen örnekler karıştırılarak 90 °C deki sıcak su banyosunda 60dk bekletilmiştir. Bu süre sonunda soğutulan örnekler 525nm de spektrofoteometrik yöntemle köre karşı (250 µL saf su, 125 µL TCA ve 200 µL TBA) okunmuştur. Absorbans değerleri aşağıdaki formülde yerine konularak MDA düzeyleri nmol/mg protein cinsinden verilmiştir.

Hesaplama:

$$A = K \text{ (Konsantrasyon)} \times l \text{ (Işık yolu)} \times \epsilon \text{ (Ekstinksiyon katsayısı)}$$

$$K = A \text{ (Okunan absorbans)} / l \times \epsilon \text{ (1,56. 10}^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}) = \text{nmol / mg protein}$$

### 3.2.9. Verilerin değerlendirilmesi

Antioksidan enzim aktiviteleri, protein, karbohidrat ve lipid miktarları ile MDA düzeylerinin belirlenmesi için yapılan deneyler farklı zamanlarda beşer kez, toplam hemosit sayısının belirlenmesi için yapılan sayma işlemi 10 kez tekrarlanmış, her serinin her tekrarından elde edilen veriler SPSS 20.00 istatistik analiz programı kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler için Student-Newman Keul's (SNK) testi uygulanmıştır. Ortalamalar arasındaki fark 0.05 olasılık seviyesinde P değerinden büyük olduğu zaman önemli kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. İmidaklopridin *G. mellonella*'nın Toplam Protein Miktarına Etkileri

İmidaklopridin farklı konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam protein miktarına etkileri Çizelge 4.1' de gösterilmiştir. 24. ve 48. saatlerde *G. mellonella* larvalarında protein miktarları imidaklopride bağlı olarak önemli bir değişiklik göstermezken, 72. saatten itibaren özellikle yüksek dozlarda larvaların protein miktarlarının azalmasına neden olmuştur. 72. saatte kontrol grubunda 3.501 mg/100 mg olan protein miktarı 1.00 µg imidakloprid enjekte edilmiş larvalarda yaklaşık %20 oranında azalarak 2.797 mg/100mg olarak hesaplanmıştır. 96. saatte ise kontrol grubunda 4.601mg/100mg olan protein miktarı 0.75 µg ve 1.00 µg imidakloprid enjekte edilmiş larvalarda önemli ölçüde azalarak sırasıyla 3.812 mg/100mg ve 2.496 mg/100mg olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam protein miktarına etkileri

Konsantrasyon	PROTEİN (mg/100mg)			
	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	3.279±0.176a	3.888±0.271a	3.501±0.212a	4.601±0.133a
0.25 µg	3.288±0.129a	3.467±0.222a	3.699±0.050a	4.406±0.157a
0.50 µg	3.055±0.225a	3.735±0.160a	3.640±0.173a	4.995±0.291a
0.75 µg	3.103±0.231a	3.205±0.049a	3.553±0.127a	3.812±0.065b
1.00 µg	3.114±0.280a	3.572±0.052a	2.797±0.034b	2.496±0.131c

\*: a, b, c harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı sütundaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )  
(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam protein miktarına zamana bağlı etkileri Çizelge 4.2' de gösterilmiştir. Kontrol grubunda, 0.25 ve 0.50 µg imidakloprid uygulanan gruplarda total protein miktarları yalnızca deney periyodunun son günü olan 96. saatte önemli ölçüde artış göstermiştir. Diğer günler arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır. 0.75 µg imidakloprid enjekte edilen

larvalarda 24, 48 ve 72. saatler arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamakla birlikte 96. saatteki verilere göre protein miktarı 24 ve 48. saatlere göre önemli ölçüde artmıştır. Larvalara en yüksek konsantrasyon olan 1.00 µg imidakloprid enjekte edilmesi durumunda ise 24, 48 ve 72. saatler arasında bir fark gözlenmezken, 96. saatte toplam protein miktarı 24 ve 48. saatlere göre önemli ölçüde azalmıştır.

Çizelge 4.2 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam protein miktarına zamana bağlı etkileri

Konsantrasyon	PROTEİN (mg/100mg)			
	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	3.279±0.176y	3.888±0.271y	3.501±0.212y	4.601±0.133x
0.25 µg	3.288±0.129y	3.467±0.222y	3.699±0.050y	4.406±0.157x
0.50 µg	3.055±0.225y	3.735±0.160y	3.640±0.173y	4.995±0.291x
0.75 µg	3.103±0.231y	3.205±0.049y	3.553±0.127xy	3.812±0.065x
1.00 µg	3.114±0.280xy	3.572±0.052x	2.797±0.034yz	2.496±0.131z

\*: x, y, z harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı satırdaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )  
(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

#### 4.2. İmidaklopridin *G. mellonella*'nın Lipid Miktarına Etkileri

*G. mellonella* larvalarında imidaklopridin toplam lipid miktarına konsantrasyona bağlı etkileri Çizelge 4.3' de gösterilmiştir. Total lipid miktarları deney periyodunun ilk gününden itibaren imidaklopridden önemli ölçüde etkilenmiştir. 24. saatte 0.75 ve 1.00 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda toplam lipid miktarı kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlara göre önemli ölçüde azalırken, bahsi geçen konsantrasyonlar arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Kontrol grubunda 48. saatte 4.524 mg/100mg olan lipid miktarı konsantrasyona bağlı olarak önemli ölçüde azalmalar göstermiştir. 0.25 ve 0.50 µg imidakloprid konsantrasyonlarında yaklaşık %10 azalarak sırasıyla 4.098 mg/100 mg ve 4.089 mg/100 mg değerlerine düşmüştür. Yüksek konsantrasyonlarda ise (0.75 ve 1.00 µg) lipid miktarlarındaki azalma sırasıyla %42 (2.614mg/100 mg) ve %48 (2.337 mg/100 mg) olarak gerçekleşmiştir. Deney periyodunun 72. saatindeki veriler

incelendiğinde tüm imidakloprid konsantrasyonlarında toplam lipid miktarları kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalmıştır. Yüksek imidakloprid konsantrasyonları olan 0.75 µg ve 1.00 µg konsantrasyonlarda total lipid miktarlarındaki azalma 0.25 µg ve 0.50 µg imidakloprid konsantrasyonlarına göre yaklaşık olarak %34 bulunmuştur. 96. saatte kontrol grubunda 6.438 mg/100mg olan toplam lipid miktarı denenen tüm imidakloprid konsantrasyonlarında önemli ölçüde azalmış ve sırasıyla 4.654 mg/100mg; 4.513 mg/100 mg; 3.343 mg/100 mg ve 2.015 mg/100 mg olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam lipid miktarına etkileri

Konsantrasyon	LİPİD (mg/100mg)			
	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	4.659±0.052a	4.524±0.087a	5.582±0.080a	6.438±0.094a
0.25 µg	4.663±0.066a	4.098±0.072b	3.580±0.073b	4.654±0.045b
0.50 µg	4.431±0.103a	4.089±0.077b	3.519±0.046b	4.513±0.135b
0.75 µg	3.202±0.193b	2.614±0.144c	2.339±0.097c	3.343±0.026c
1.00 µg	2.933±0.153b	2.337±0.029d	2.329±0.064c	2.015±0.028d

\*: a, b, c, d harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı sütundaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )

(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam lipid miktarına zamana bağlı etkileri Çizelge 4.4' de gösterilmiştir. Kontrol grubunda 24. saatte 4.659 mg/100mg olan lipid miktarı 48. saatte önemli bir değişiklik göstermezken, 72 ve 96. saatlerde kontrol ve 24. saate göre önemli ölçüde artarak 5.582 mg/100 mg ve 6.438 mg/100 mg değerlerine yükselmiştir. 0.25 µg, 0.50 µg ve 0.75 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda 48 ve 72. saattelerde lipid miktarları benzer şekilde 24. saate göre önemli ölçüde azalmış, 96. saatte ise tekrar artarak 24. saatteki değerlere yükselmiştir. Verilerde 24 ve 96. saatler arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. En yüksek konsantrasyon olan 1.00 µg imidakloprid enjekte edilen larvaların toplam lipid miktarları incelendiğinde 24. Saatte 2.933 mg/100 mg olan toplam lipid miktarı 48,



72 ve 96. saattlerde önemli ölçüde azalarak sırasıyla 2.337 mg/100mg; 2.329 mg/100 mg; ve 2.015 mg/100 mg olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.4 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam lipid miktarına zamana bağlı etkileri

Konsantrasyon	LİPİD (mg/100mg)			
	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	4.659±0.052z	4.524±0.087z	5.582±0.080y	6.438±0.094x
0.25 µg	4.663±0.066x	4.098±0.072y	3.580±0.073z	4.654±0.045x
0.50 µg	4.431±0.103x	4.089±0.077y	3.519±0.046z	4.513±0.135x
0.75 µg	3.202±0.193x	2.614±0.144y	2.339±0.097z	3.343±0.026x
1.00 µg	2.933±0.153x	2.337±0.029y	2.329±0.064y	2.015±0.028y

\*: x, y, z harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı satırdaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )  
(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

### 4.3. İmidaklopridin *G. mellonella*'nın Toplam Karbohidrat Miktarına Etkileri

İmidakloprid farklı konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam protein miktarına etkileri Çizelge 4.5' de gösterilmiştir. Deney periyodunun 24. Saatinde kontrol grubunda 4.139 mg/100 mg olan karbohidrat miktarı 0.25 µg ve 0.50 µg imidakloprid konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik göstermezken, yüksek konsantrasyonlar olan 0.75 µg ve 1.00 µg imidakloprid konsantrasyonlarında önemli ölçüde azalarak 2.917 mg/100 mg ve 2.996 mg/100 mg olarak hesaplanmıştır. 48 ve 72. saatlere en düşük konsantrasyon (0.25 µg) dışındaki tüm imidakloprid konsantrasyonlarında toplam karbohidrat miktarı kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalırken, 0.25 µg imidakloprid konsantrasyonunda kontrol grubuna göre önemli bir fark gözlenmemiştir. Deney periyodunun son günü olan 96. Saatte toplam karbohidrat miktarı denenen tüm imidakloprid konsantrasyonlarına önemli ölçüde azalmıştır. Bahsi geçen periyotta kontrol grubunda 5.015 mg/100 mg olan toplam karbohidrat miktarı en yüksek konsantrasyon olan 1.00 µg imidakloprid enjekte edilen larlavarda yaklaşık olarak %63 azalarak 1.824 mg/100 mg değerine düşmüştür.

Çizelge 4.5 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam karbohidrat miktarına etkileri

KARBOHİDRAT				
(mg/100mg)				
Konsantrasyon	24 Saat	48 Saat	72 Saat	96 Saat
	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)
Kontrol	4.139±0.047a	4.171±0.045a	4.338±0.145a	5.015±0.099a
0.25 µg	4.110±0.040a	4.200±0.037a	4.178±0.108a	4.489±0.058b
0.50 µg	4.084±0.075a	3.137±0.112b	3.008±0.044b	2.940±0.103c
0.75 µg	2.917±0.056b	3.077±0.073b	2.758±0.118b	2.750±0.137c
1.00 µg	2.996±0.013b	2.330±0.065c	1.895±0.047c	1.824±0.025d

\*: a, b, c, d harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı sütundaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )  
(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam karbohidrat miktarına zamana bağlı etkileri Çizelge 4.6' da gösterilmiştir. Kontrol ve 0.25 µg imidakloprid konsantrasyonunda toplam karbohidrat miktarı yalnızca 96. saate diğer periyotlara göre önemli artışlar göstermiştir. 0.50 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda 48, 72 ve 96. saatlerde toplam karbohidrat miktarı 24. saate göre önemli ölçüde azalırken, 0.75 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda toplam karbohidrat miktarı zamana bağlı olarak önemli bir istatistiksel farklılık göstermemiştir. En yüksek konsantrasyon olan 1.00 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda 24. saatte 2.996 mg/100mg olan karbohidrat miktarı ilerleyen günlerde önemli ölçüde azalarak sırasıyla 2.330 mg/100 mg; 1.895 mg/100 mg ve 1.824 mg/100 mg olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.6 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam karbohidrat miktarına zamana bağlı etkileri

KARBOHİDRAT				
(mg/100mg)				
Konsantrasyon	24 Saat	48 Saat	72 Saat	96 Saat
	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)
Kontrol	4.139±0.047y	4.171±0.045y	4.338±0.145y	5.015±0.099x
0.25 µg	4.110±0.040y	4.200±0.037y	4.178±0.108y	4.489±0.058x
0.50 µg	4.084±0.075x	3.137±0.112y	3.008±0.044y	2.940±0.103y
0.75 µg	2.917±0.056x	3.077±0.073x	2.758±0.118x	2.750±0.137x
1.00 µg	2.996±0.013x	2.330±0.065y	1.895±0.047z	1.824±0.025z

\*: x, y, z harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı satırdaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )

(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

#### 4.4. İmidaklopridin *G. mellonella*'nın SOD Enzim Aktivitesine Etkileri

İmidakloprid farklı konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD enzimi aktivitesine etkileri Çizelge 4.7' de gösterilmiştir. Deney periyodunun 24 ve 48. saatlerinde *G. mellonella* larvalarının SOD aktivitelerinde yalnızca yüksek imidakloprid konsantrasyonları olan 0.75 µg ve 1.00 µg imidakloprid enjekte edilen larvalardaki SOD aktivitesinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığı gözlenmektedir. 72. saatte elde edilen veriler incelendiğinde tüm imidakloprid konsantrasyonlarında SOD aktivitesinin kontrol grubuna oranla önemli ölçüde arttığı, kontrol grubunda 5.498 U/mg pr olan SOD aktivitesinin sırasıyla 6.883 U/mg pr.; 6.898 U/mg pr.; 11.647 U/mg pr. ve 15.995 U/mg pr. şeklinde artış gösterdiği gözlenmiştir. Deney periyodunun son günü olan 96. saatte ise 0.25 µg imidakloprid konsantrasyonu dışındaki tüm konsantrasyonlarda SOD aktivitesinin kontrole ve 0.25 µg imidakloprid konsantrasyonuna göre önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.7 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD enzim aktivitesine etkileri

Konsantrasyon	SOD (U/mg protein)			
	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	4.262±0.072c	5.115±0.033c	5.498±0.080d	6.464±0.046d
0.25 µg	4.339±0.050c	5.130±0.014c	6.883±0.060c	6.577±0.212d
0.50 µg	4.732±0.162bc	5.184±0.116c	6.898±0.081c	9.275±0.344c
0.75 µg	5.037±0.288b	6.234±0.167b	11.647±0.190b	12.507±0.113b
1.00 µg	9.475±0.063a	8.967±0.084a	15.995±0.290a	17.752±0.521a

\*: a, b, c, d harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı sütundaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )  
(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri Çizelge 4.8' de gösterilmiştir. Kontrol grubunda 24. saatte 4.262 U/mg pr. Olan SOD aktivitesi zamana bağlı olarak önemli ölçüde artmış ve sırasıyla 5.115 U/mg pr.; 5.498 U/mg pr. ve 6.464 U/mg pr. olarak hesaplanmıştır. 0.25 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda 24. saatte 4.339 U/mg pr. olan SOD aktivitesi ilk 72 saatlik periyotta önemli ölçüde artmış, 96. saatte ise 72. saatteki verilere göre önemli bir artış meydana gelmemiştir. 0.50 µg imidakloprid konsantrasyonunda 24 ile 48. saatler arasında SOD aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir fark olmamakla birlikte 72. ve 96. saatlerde enzim aktivitesinde önemli artışlar meydana gelmiştir. 0.75 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda SOD aktivitesi zamana bağlı olarak önemli ölçüde artmış, 24. saatte 5.037 U/mg pr. olan aktivite diğer periyotlarda 6.234 U/mg pr.; 11.647 U/mg pr ve 12.507 U/mg pr. olarak ölçülmüştür. En yüksek konsantrasyon olan 1.00 µg imidakloprid konsantrasyonunda 24 ve 48. saatler arasında istatistiksel bir fark olmamakla beraber 72. ve 96. saatlerde SOD aktivitesi önemli ölçüde artarak sırasıyla 12.507 U/mg pr. ve 17.752 U/mg pr. değerlerine ulaşmıştır.

Çizelge 4.8 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın SOD enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri

Konsantrasyon	SOD (U/mg protein)			
	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	4.262±0.072t	5.115±0.033z	5.498±0.080y	6.464±0.046x
0.25 µg	4.339±0.050z	5.130±0.014y	6.883±0.060x	6.577±0.212x
0.50 µg	4.732±0.162z	5.184±0.116z	6.898±0.081y	9.275±0.344x
0.75 µg	5.037±0.288t	6.234±0.167z	11.647±0.190y	12.507±0.113x
1.00 µg	9.475±0.063z	8.967±0.084z	15.995±0.290y	17.752±0.521x

\*: x, y, z, t harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı satırdaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )  
(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

#### 4.5. İmidaklopridin *G. mellonella*'nın CAT Aktivitesine Etkileri

İmidakloprid farklı konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın CAT enzimi aktivitesine etkileri Çizelge 4.9' da gösterilmiştir. Deney periyodunun 24. saatinde kontrol grubunda 0.054 U/mg pr. olan CAT enzim aktivitesi 0.50 µg ve daha yüksek imidakloprid konsantrasyonlarında konsantrasyon artışına paralel olarak önemli ölçüde artmış ve sırasıyla 0.058 U/mg pr.; 0.074 U/mg pr. ve 0.089 U/mg pr. olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde 48. saatteki verilen incelendiğinde 0.25 µg imidakloprid enjekte edilen larvalar ile kontrol grubu larvaları arasında CAT aktivitesi bakımından istatistiksel bir fark olmamakla birlikte daha yüksek dozlarda katalaz aktivitesi önemli ölçüde artmıştır. 72 ve 96. saatlerde ise denenen tüm imidakloprid konsantrasyonlarında CAT aktiviteleri kontrol grubuna göre önemli ölçüde artışlar göstermiştir.

Çizelge 4.9 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın CAT enzim aktivitesine etkileri

CAT (U/mg protein)				
Konsantrasyo	24 Saat	48 Saat	72 Saat	96 Saat
n	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)
Kontrol	0.054±0.0008d	0.059±0.0010c	0.065±0.0010d	0.065±0.0008d
0.25 µg	0.056±0.0007d	0.057±0.0010c	0.069±0.0010c	0.070±0.0013c
0.50 µg	0.058±0.0008c	0.064±0.0008b	0.071±0.0012c	0.082±0.0005b
0.75 µg	0.074±0.0007b	0.064±0.0007b	0.085±0.0009b	0.085±0.0006b
1.00 µg	0.089±0.0008a	0.082±0.0011a	0.095±0.0011a	0.097±0.0010a

\*: a, b, c, d harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı sütundaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )

(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın CAT enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri Çizelge 4.10' de gösterilmiştir. Kontrol grubunda 24. Saatte 0.054 U/mg pr. olan katalaz aktivitesi zamana bağlı olarak artmakla birlikte 72 ve 96. saatler arasında elde edilen verilerde istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Bahsi geçen günlerdeki katalaz aktiviteleri 48. saate göre yine artış göstermiştir. Larvalara 0.25 µg imidakloprid enjekte edilmesi durumunda 24 ve 48. saatler arasında CAT aktivitesi bakımından önemli bir fark bulunmamakla birlikte deney periyodunun ilerleyen günlerinde (72 ve 96 saat) CAT aktiviteleri önemli ölçüde artarak sırasıyla 0.069 U/mg pr. ve 0.070U/mg pr. olarak ölçülmüştür. 0.50 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda 24. saatte 0.058 U/mg pr. olan CAT aktivitesi zamana paralel olarak önemli ölçüde artmış ve sırasıyla 0.064 U/mg pr.; 0.071 U/mg pr. ve 0.082 U/mg pr. olarak ölçülmüştür. Yüksek imidakloprid derişimleri olan 0.75 µg ve 1.00 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda ise 72. ve 96. saatler arasında önemli bir fark bulunamamakla birlikte her iki konsantrasyonda da bahsi geçen günlerdeki CAT aktivitelerinin 24 ve 48. saatlere göre önemli ölçüde arttığı görülmektedir. Bahsi geçen konsantrasyonlardan (0.75 µg ve 1.00 µg) elde edilen verilerde 48. saatteki CAT aktivitesinin 24. saate oranla önemli ölçüde azaldığı görülmüştür.

Çizelge 4.10 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın CAT enzim aktivitesine zamana bağlı etkileri

Konsantrasyon	CAT (U/mg protein)			
	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	0.054±0.0008z	0.059±0.0010y	0.065±0.0010x	0.065±0.0008x
0.25 µg	0.056±0.0007y	0.057±0.0010y	0.069±0.0010x	0.070±0.0013x
0.50 µg	0.058±0.0008t	0.064±0.0008z	0.071±0.0012y	0.082±0.0005x
0.75 µg	0.074±0.0007y	0.064±0.0007z	0.085±0.0009x	0.085±0.0006x
1.00 µg	0.089±0.0008y	0.082±0.0011z	0.095±0.0011x	0.097±0.0010x

\*: x, y, z, t harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı satırdaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )

(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

#### 4.6. İmidaklopridin *G. mellonella*'nın MDA Miktarına Etkileri

İmidakloprid farklı konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın MDA düzeylerine etkileri Çizelge 4.11' de gösterilmiştir. Deney periyodunun 24. saatinde kontrol grubunda 18.30 nmol/mg protein olan MDA düzeyi 0.25 µg imidakloprid konsantrasyonundan başlayarak kontrol grubuna göre önemli ölçüde artmıştır. Bu artış konsantrasyon artışına paralel olarak 48. saatte de gözlenmiştir. 72. saatte 0.25 µg ve 0.50 µg imidakloprid enjekte edilen larvalar arasında MDA düzeyleri bakımından önemli bir fark gözlenmezken, tüm imidakloprid uygulanan larvaların MDA düzeyleri kontrol grubuna göre önemli artışlar göstermiştir. Deney periyodunun son günü olan 96. saatte kontrol grubunda 17.86 nmol/mg protein olan MDA düzeyi konsantrasyon artışına paralel olarak önemli ölçüde artmış ve sırasıyla 21.90 nmol/mg pr.; 25.70 nmol/mg pr., 35.68 nmol/mg pr. ve 38.17 nmol/mg protein olarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.11 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın MDA düzeyine etkileri

Konsantrasyon	MDA (nmol/mg protein)			
	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	18.30±0.481d	17.85±0.346e	19.52±0.282d	17.86±0.267e
0.25 µg	20.10±0.211c	20.13±0.727d	23.28±0.309c	21.90±0.330d
0.50 µg	20.53±0.376c	22.83±0.614c	24.25±0.309c	25.70±0.212c
0.75 µg	24.35±0.241b	23.40±0.757b	28.51±0.343b	35.68±0.410b
1.00 µg	30.50±0.497a	32.81±0.159a	35.22±0.487a	38.17±1.087a

\*: a, b, c, d, e harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı sütündeki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )  
(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın MDA düzeylerine zamana bağlı etkileri Çizelge 4.12' de gösterilmiştir. Kontrol grubunda 24, 48 ve 96. saatler arasında MDA düzeyleri bakımından önemli bir fark olmamakla birlikte 72. saatteki MDA düzeyi diğer periyotlara göre önemli ölçüde artış göstermiştir. 0.25 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda 24 ve 48. Saatlerde elde edilen verilerde MDA düzeyleri arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. 72. saatte artarak 23.28 nmol/mg protein olan MDA seviyesi, 96. saatte 72. saate göre azalmakla birlikte 72. ve 96. saatlerdeki MDA düzeyleri 24 ve 48. saatlere göre önemli ölçüde artmıştır. 0.50 ve 1.00 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda MDA düzeyleri zamana paralel olarak önemli ölçüde artmıştır. 0.75 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda ise bu artış 72. saatte başlamış ve 96. saatte daha da artarak 35.68 nmol/mg protein değerine ulaşmıştır.



Çizelge 4.12 Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın MDA düzeyine zamana bağlı etkileri

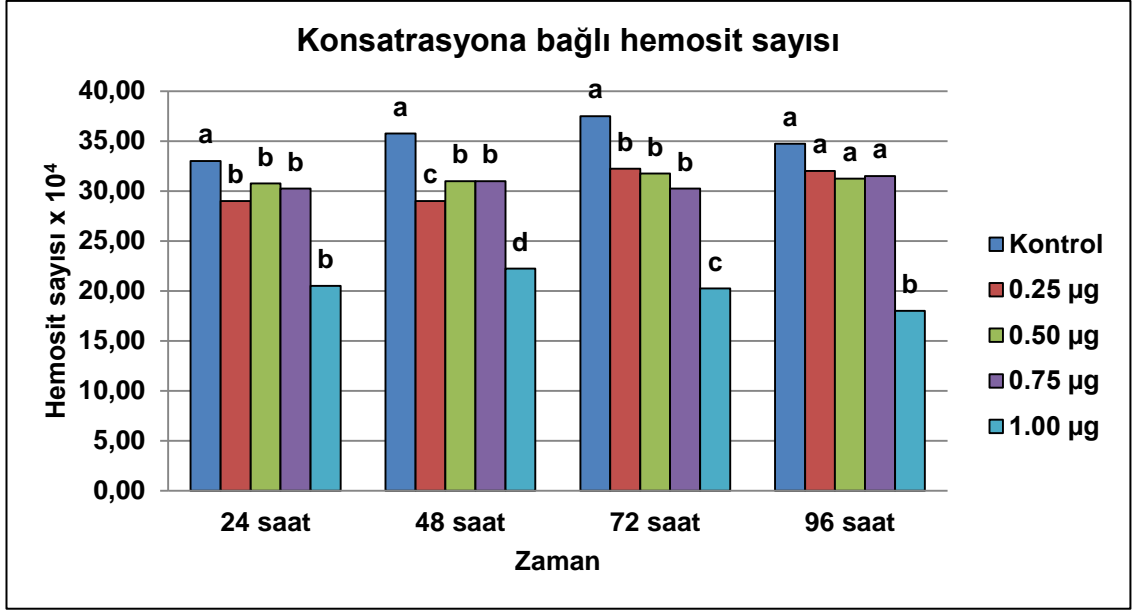
Konsantrasyon	MDA (nmol/mg protein)			
	24 Saat (Ort±Std)	48 Saat (Ort±Std)	72 Saat (Ort±Std)	96 Saat (Ort±Std)
Kontrol	18.30±0.481y	17.85±0.346y	19.52±0.282x	17.86±0.267y
0.25 µg	20.10±0.211z	20.13±0.727z	23.28±0.309x	21.90±0.330y
0.50 µg	20.53±0.376t	22.83±0.614z	24.25±0.309y	25.70±0.212x
0.75 µg	24.35±0.241z	23.40±0.757z	28.51±0.343y	35.68±0.410x
1.00 µg	30.50±0.497t	32.81±0.159z	35.22±0.487y	38.17±1.087x

\*: x, y, z, t harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı satırdaki aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )

(Ort±Std): Beş tekrarın ortalaması±standart hata

#### 4.7. İmidaklopridin *G. mellonella*'nın Toplam Hemosit Sayısına Etkileri

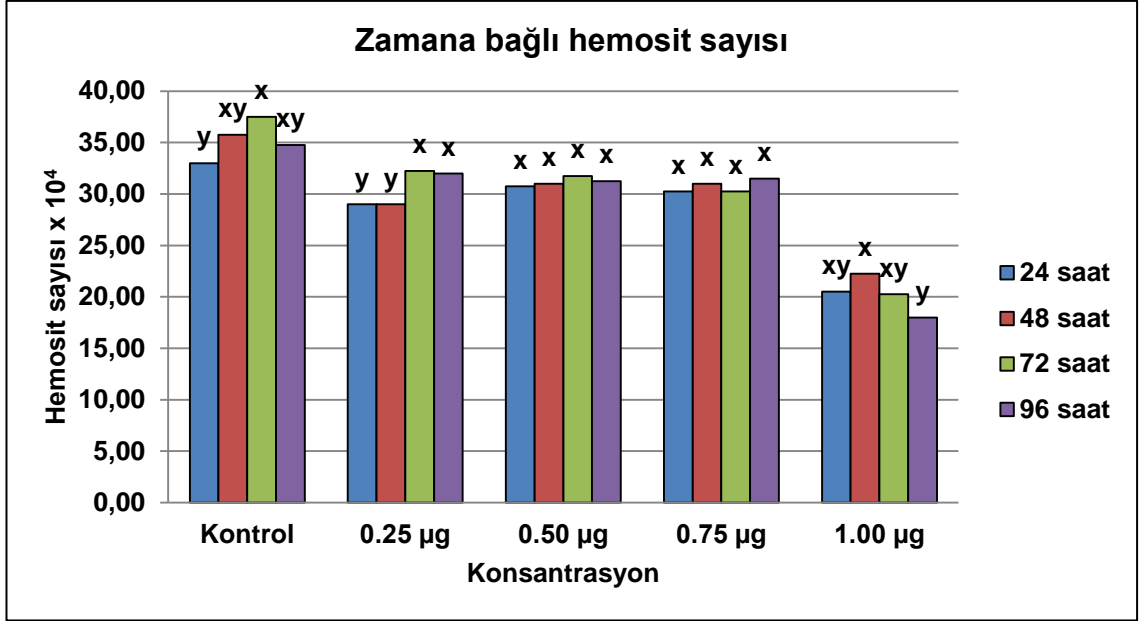
İmidakloprid farklı konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam hemosit sayısına etkileri Şekil 4.1' de gösterilmiştir. 24. saatte kontrol grubunda  $33 \times 10^4$  olan toplam hemosit sayısı tüm imidakloprid konsantrasyonlarında önemli ölçüde azalmakla birlikte denenen konsantrasyonlar arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. 48. saatte tüm imidakloprid konsantrasyonlarında toplam hemosit sayısı önemli ölçüde azalmış, kontrol grubunda  $35.75 \times 10^4$  olan hemosit sayısı sırasıyla  $29.00 \times 10^4$ ,  $31.00 \times 10^4$ ,  $31.00 \times 10^4$  ve  $22.25 \times 10^4$  olarak gerçekleşmiştir. 72. saatteki veriler incelendiğinde yine tüm imidakloprid enjekte edilen larvaların hemosit sayılarının kontrol grubuna göre azaldığı, bunun yanında 0.25, 0.50 ve 1.00 µg imidakloprid konsantrasyonları arasında istatistiksel bir fark olmadığı görülmüştür. Deney periyodunun son günü olan 96. saate toplam hemosit miktarı yalnızca en yüksek konsantrasyon olan 1.00 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda kontrole ve diğer konsantrasyonlara göre önemli ölçüde azalmıştır.



Şekil 4.1 İmidaklopridin *G. mellonella* larvalarının toplam hemosit sayısına etkileri

\*: a, b, c harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı periyotta aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )  
(Ort±Std): Dört tekrarın ortalaması±standart hata

Farklı imidakloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın toplam hemosit miktarına zamana bağlı etkileri Şekil 4.2' de gösterilmiştir. Kontrol grubunda 24. saatte  $33 \times 10^4$  olan toplam hemosit miktarı yalnızca 72. saatte önemli bir artış göstermiştir. Kontrol grubunda diğer günlerin kendi aralarında karşılaştırılması sonucunda istatistiksel bir fark bulunamamıştır. 0.25 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda 24 ve 48. saatler arasında istatistiksel bir fark gözlenmezken ilerleyen günlerde hemosit sayıları bahsi geçen günlere oranla önemli ölçüde artmış ve sırasıyla  $32.25 \times 10^4$  ve  $32 \times 10^4$  olarak hesaplanmıştır. 0.50 ve 0.75 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda toplam hemosit sayıları bakımından zamana bağlı olarak istatistiksel bir fark gözlenmemiştir. En yüksek konsantrasyon olan 1.00 µg imidakloprid enjekte edilen larvalarda 24. saatte  $20.50 \times 10^4$  olan hemosit sayısı 48. saatte  $22.25 \times 10^4$ ; 72. saatte  $20.25 \times 10^4$  ve 96. saatte ise  $18 \times 10^4$  olarak hesaplanmış, istatistiksel olarak yalnızca 48 ve 96. Saatlerde elde edilen veriler arasında fark bulunmuştur.



Şekil 4.2 İmidaklopridin *G. mellonella* larvalarının toplam hemosit sayısına zamana bağlı etkileri

\*:x, y harfleri ortalamalar arasındaki farkları göstermektedir. Aynı konsantrasyonda aynı harfi içeren veriler arasında istatistiksel ayırım yoktur ( $P>0.05$ )  
(Ort±Std): Dört tekrarın ortalaması±standart hata

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Antioksidan enzimler serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek, oluşan radikalleri ortadan kaldırarak veya daha az zararlı reaktif türlerine dönüşümünü sağlayarak canlıları korurlar. Protein, lipid ve karbohidrat gibi biyomoleküller canlının yaşamı için mutlaka gerekli olan ve stres altındaki canlıda miktarlarındaki değişimlerden dolayı biyolojik indikatör olarak kullanılan moleküllerdir. Hemositler ise immün sistemin önemli bir bileşeni olup enkapsülasyon ve nodülasyon gibi reaksiyonlar ile böceklerde vücuda giren zararlı maddelere karşı savunmasında önemli rol oynarlar.

Sunulan çalışmada imidaklopridin subletal konsantrasyonlarının *G. mellonella*'nın antioksidan savunma sistemine ait bazı enzim aktiviteleri, lipid peroksidasyon düzeyleri, toplam protein, lipid ve karbohidrat miktarları gibi bazı biyokimyasal parametreleri ile hücrel savunma sisteminin önemli bileşeni toplam hemosit sayısına olan etkileri araştırılmıştır.

Canlılarda bir miktar serbest radikal normal metabolizmanın bir parçası olarak sürekli olarak üretilir. Oluşan serbest radikaller, canlının sahip olduğu savunma mekanizmaları tarafından ortadan kaldırıldığı müddetçe canlının yaşamı üzerine herhangi bir olumsuz etki göstermez. Ksenobiyotik formunda vücuda alınan maddeler bu serbest radikallerin oluşumunda artışa ve antioksidan savunma sisteminde aksaklıklara neden olarak oksidatif strese yol açmaktadır (Serafini ve Del Rio 2004).

Ksenobiyotikler vücuda girdikten sonra monooksijenazlar (P450), hidrolazlar veya glutatyon transferaz (GST) enzimlerince biyotransformasyona uğrarlar. Biyotransformasyonda amaç bu bileşiklerin daha az zararlı formlara dönüştürülmesi olup bu maddeler biyotransformasyon sonucunda daha da toksik formlara dönüşebilmektedirler (bioaktivasyon) (Öncüer 2000, Vural 2005, Tsagkarakou vd. 2009).

Bu tür ksenobiyotik ve onların aktive edilmiş formlarının serbest radikal oluşumunu artırarak oksidatif hasarlara neden olduğu bilinmektedir. Mercan (2004), yaygın bir ksenobiyotik grubu olan pestisitlerin toksik etkilerinin gösterilmesinde serbest radikal oluşumunun önemli bir gösterge olduğunu belirtmiştir.

*Oxya chinensis* (Li vd. 2005), *Musca domestica* (Zaman vd. 1994), *Oreochromis mossambicus* (Venkateswara Rao 2006), *G. mellonella* (Dubovskiy vd. 2008) gibi

canlılarda ağır metaller, insektisitler ve bakterilerle deneysel olarak oluşturulan stres altında antioksidan enzim aktivitelerindeki değişimler gösterilmiştir.

Sunulan çalışmada *G. mellonella* larvalarında SOD aktivitesi, ilk 48 saatte özellikle yüksek 0.75 µg ve 1.00 µg imidaklopid konsantrasyonlarında artarken, maruz kalma süresinin artmasıyla 72 ve 96. saatlerde 0.50 µg imidaklopid konsantrasyonunda da artış gerçekleşmiştir. Araştırmacılar pestisit toksisitesi altındaki oksidatif stres koşullarında süperoksitdismutaz enzim aktivitesindeki artışın önemli bir reaksiyon olduğunu belirtmişlerdir (Adamski vd. 2003, Buyukgüzel 2009, Kayis vd. 2012). Süperoksit anyon radikali ( $O_2^-$ ) moleküler oksijene bir elektron eklenmesiyle ilk olarak oluşan ve SOD enzimi tarafından ortadan kaldırılan bir reaktif oksijen türevidir (Wickens 2001). Çalışmamızda SOD enzim aktivitesindeki bu artış, imidaklopidin neden olduğu oksidatif stres sonucu, aşırı miktarda artan süperoksit radikallerinin ortadan kaldırılabilmesi için enzimin aktivitesindeki bir artış şeklinde değerlendirilmiştir. SOD aktivitesindeki bu artış farklı böcek türlerinde ve farklı insektisitlerle yapılan çalışmalarda da benzer şekilde gerçekleşmiştir. Örneğin Adamski vd. (2003) yılında *S. exigua*'da, Kayış vd. (2012, 2015) *G. mellonella*'da, Aslanturk vd. (2011) *Lymantria dispar*'da ve Al-Barty (2014) *Sitophilus oryzae*'de, Muthusamy ve Rajakumar (2016) *B. mori*'de insektisit toksisitesinin SOD enzim aktivitesini artırdığını göstermişlerdir.

Çalışmamızda imidaklopid konsantrasyonlarının düşük olduğu durumlarda SOD enzim aktivitesinin kontrol grubuyla istatistiksel olarak önemli bir fark göstermediği görülmektedir. Özellikle ilk 48 saatte 0.25 µg ve 0.50 µg imidaklopid dozlarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında SOD enzim aktivitesi bakımından önemli bir fark bulunamamıştır. Bu durum düşük dozdaki insektisite kısa süre maruz kalan böceklerde insektisite karşı gözlenen direnç şeklinde yorumlanabileceği gibi, düşük konsantrasyonlardaki insektisit zararlı etkilerinin enzimlerin bazal aktivitesi ile ortadan kaldırılabilmesi şeklinde de yorumlanabilir (Mitchelmore vd. 1996, Baffi vd. 2005).

Katalaz enzimi, SOD enzimi ile süperoksit radikallerinin reaksiyonunun ürünü olan ve yine bir serbest radikal olan  $H_2O_2$ 'nin su ve moleküler oksijene indirgenmesini sağlayan ve bu şekilde hücreleri oksidatif hasarlara karşı koruyan bir enzimdir (Aebi 1984, Nordberg ve Arner 2001). Katalaz enzim aktivitesi direkt olarak  $H_2O_2$ 'nin

hücrel konsantrasyonuna bağlıdır (Fornazier vd. 2002) ve enzimin Km değerinin yüksek olması, düşük hücrel H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonlarında substrata karşı düşük affinite gösterememesine neden olur (Ahmad vd. 1991, Felton ve Duffey 1992, Ahmad 1992).

Çalışmamızda katalaz aktivitesinin 24 ve 48 saatlik periyotlarda en düşük doz dışındaki dozlarda, 72. saatten itibaren ise tüm imidakloprid konsantrasyonlarında CAT aktivitesinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı görülmektedir. Konsantrasyon ve maruz kalma süresindeki artışa paralel olarak gözlenen bu katalaz enzim aktivitesindeki artışın oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin ortadan kaldırılması için meydana geldiği düşünülmektedir. SOD enzim aktivitesindeki artış da göz önüne alındığında, SOD ve süperoksit radikali reaksiyonunun son ürünü olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin oluşumunun artmasına bağlı olarak CAT aktivitesini artırdığı söylenebilir. Fakat bu durum için kesin bir kanıya varmak ancak oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunun doğrudan ölçülmesi ile mümkün olacaktır.

Deneylerde uygulanan en düşük doz olan 0.25 µg imidakloprid konsantrasyonunda deney periyodunun ilk 48 saatinde katalaz aktivitesinde kontrol grubuna göre önemli bir fark olmaması ve benzer şekilde veriler zaman bağılı olarak incelendiğinde yüksek imidakloprid konsantrasyonlarında (0.75 µg ve 1.00 µg) 24. saate göre olan verilerde belirlenen CAT enziminin aktivitesindeki azalmalar ilgi çekici bir durum oluşturmaktadır. Bahsi geçen dozlarda ve periyotlarda oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin in ortadan kaldırılmasında başka mekanizmaların kullanıldığı düşünülmektedir. Yukarıda bahsedildiği gibi katalaz enziminin sahip olduğu yüksek Km değeri nedeniyle düşük substrat konsantrasyonlarında etkisiz olduğu bilinmektedir. Felton ve Summers (1995), *G. mellonella*'nın da dahil olduğu Lepidoptera ordosunda düşük düzeydeki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin ortadan kaldırılmasında dehidro askorbik asit redüktaz ve askorbat peroksidaz gibi enzimlerin önemli rol oynadığını belirtmişlerdir. Deney periyodunun erken evrelerinde (24-48 saat) ve düşük imidakloprid konsantrasyonunda (0.25 µg) görülen CAT aktivitelerindeki stabil durum ve azalmaların, oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin yukarıda bahsedilen APOX ve DHAR enzimleri tarafından ortadan kaldırılması sonucu gerçekleştiği düşünülmektedir. Konu hakkında daha kesin bir kanıya varmak için yukarıda bahsedilen her üç enzimin aktivitesinin ve oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunun da ölçülebileceği ayrıntılı bir çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

Farklı insektisitlere maruz bırakılan böceklerde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Aslanturk vd. (2011) methidation uyguladıkları *L. dispar* larvalarında, Kayis

vd. (2015) DDVP' ye maruz bırakılmış *G. mellonella* larvalarında, Sohal vd. (2008) 2,4 diklorofenoksasetik asit uygulanmış *Lipaphis erysimi* nimflerinde ve Boulahbel vd. (2015) azadiraktin uygulanmış *D. melanogaster*'de katalaz aktivitesinin benzer şekilde değiştiğini göstermişlerdir.

Lipid peroksidasyon düzeyleri sıklıkla çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyesinin ölçülmesiyle belirlenen ve ksenobiyotiklerin hücrelerde zararlı etkilerinin gösterilmesinde kullanılan önemli bir parametredir (Buyükguzel 2006, Emre vd. 2013, Kayis vd. 2015). Yapılan çalışmalarda *G. mellonella*' da DDVP (Kayis vd. 2015) ve metil parathion ve malathion uygulanmasından sonra (Icen vd. 2005, Buyükguzel 2009), bunun yanında farklı böceklerde *L. dispar*'da methidation uygulamasından sonra (Aslanturk vd. 2011) ve *S. oryzae*'de metil avermektin uygulamasından sonra (Hamza vd. 2014) MDA seviyelerinde önemli artışlar gözlemlendiği belirlenmiştir. Çalışmamızda imidakloprid uygulanan larvalarda tüm periyotlarda MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı ve bu artışın uygulanan imidakloprid konsantrasyonu ile genel olarak paralellik gösterdiği görülmektedir. Elde edilen sonuçlar yukarıda belirtilen farklı insektisit ve böcek türlerinde elde edilen çalışmalarla büyük ölçüde paralellik göstermektedir.

Serbest radikallerin hücrede proteinler, lipitler, karbonhidratlar üzerine önemli etkileri olduğu bilinmektedir (Damien vd. 2004, Song 2004). Sipermetrin uygulanmış *P. turionellae* (Sak vd. 2006) ve fenitrothion ve ethion uygulanmış *B. mori*' de (Nath vd. 1997) protein miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Ribeiro vd. (2001), böceklerde protein miktarlarının pestisitlerin yol açtığı oksidatif stres altında, fizyolojik bir adaptasyon sonucu protein katabolizmasının uyarılması nedeniyle azaldığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Rashwan (2013), Abdel-Aal (2006), *Spodoptera littoralis*'te subletal dozlardaki spinetoram ve chlorfluazuronun, Shaurub ve Abd-El Aziz (2015) lambda cyalothrin ve lefunuronun *Culex pipiens*'te, Ali vd. (2014) *Rhyzopertha dominica*'da deltametrinin total protein miktarını önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada imidakloprid uygulanan *G. mellonella* larvalarında yalnızca yüksek konsantrasyonlarda ve maruz kalma süresinin artmasıyla (72. saatte 1.00 µg ve 96. saatte 0.75 µg ve 1.00 µg imidakloprid) protein miktarında azalmalar

gerçekleşmiştir. Elde edilen veriler toksik etkinin ortaya çıkmasında önemli bir unsur olan doz-maruz kalma süresi arasındaki ilişkiyi yansıtmaktadır.

Böcekler yaşamları için gereksinim duydukları enerjinin büyük bir kısmını öncelikli olarak karbohidratlardan sağlarlar (Lee vd. 2004, Chen ve Fadamiro 2006). Çalışmamızda elde edilen verilerde imidaklopridin dozundaki artışa paralel olarak total karbohidrat miktarının önemli ölçüde azaldığı görülmektedir. Zamana bağlı olarak veriler incelendiğinde ise kontrol grubu ve en düşük doz olan 0.25 µg imidakloprid konsantrasyonunda 96. saatte artan olan karbohidrat miktarı en yüksek doz olan 1.00 µg imidakloprid konsantrasyonunda zamana bağlı olarak azalma eğilimine girmiştir. Daha önceki yapılan çalışmalar da elde edilen sonuçlarımızı desteklemektedir. Kissoum ve Soltani (2016), *D. melanogaster*' de spiromesifen uygulaması sonucu, Elbarky vd. (2008) ve Rashwan (2013), *S. littoralis*'te spinetoram uygulaması sonucu, Abdel-Aal (2006) ve Elbarky vd. (2008) *S. littoralis*'te chlorfluazuron ve spinosyn maruziyeti sonucu ve toplam karbohidrat miktarlarının benzer şekilde azaldığını göstermişlerdir. Nath (2000, 2002), *B. mori*'de fenitrothion ve ethionun karbohidrat metabolizmasında önemli değişikliklere neden olduğunu, glikojen miktarının önemli ölçüde azaldığını göstermiştir. Benzer şekilde Fotouhi vd. (2015) *Leptinotarsa decemlinata*'da priproksifenin glikojen miktarını önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir. Nath (2002) azalan glikojen miktarının insektisitlerin toksik etkilerinden dolayı enerji ihtiyacındaki artışın karşılanması için fosforilaz ve trehalaz aktivitelerindeki artıştan kaynaklandığını öne sürmüştür. Çalışmamızda gözlenen karbohidrat miktarındaki azalma imidaklopridin neden olduğu toksik stres sonucu artan enerji ihtiyacının karşılanmasında karbohidratları önemli ölçüde kullandığı fikrini uyandırmaktadır.

Lipidler, böceklerde besin olarak önemli bir enerji kaynağı olmasının yanı sıra, hormonların biyosentezinde, eşeyssel olgunluğa ulaşmada, yumurta ve sperm üretiminde rol oynamakla birlikte aynı zamanda yapısal bileşen olması nedeniyle önemlidir (Giron ve Casas 2003, Mentel vd. 2003). Böcekler gereksinim duydukları lipidleri büyük oranda besinlerinden sağlamakla birlikte, larval dönemde depoladıkları lipidleri ergin dönemde kullanabilirler veya protein ve karbohidratlardan da sentezleyebilirler (Werren 1987). Çalışmada imidakloprid uygulanmasından sonra *G. mellonella* larvalarında görülen lipid miktarındaki azalma sipermetrin uygulanmış *P. turionellae* bireylerinde de gözlemlenmiştir (Sak vd. 2006). Benzer şekilde *B. mori* larvalarında priproksifenin



etkisiyle (Etebari vd. 2007), *L. decemlinata*'da priproksifen uygulanmasıyla (Fotouhi vd. 2015), *C. riparus*'ta fenitrothion uygulanmasıyla ve *Spodoptera littoralis*'te farklı insektisitlere maruziyet sonucunda lipid miktarlarının önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (Elbarky vd. 2008, Rashwan 2013). Sak vd. (2006) insektisitlerin neden olduğu toksik etkinin enerji metabolizmasında değişikliğe neden olduğunu bununda artan enerji ihtiyacını karşılamak için lipid miktarında azalma şeklinde ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Daha önce yapılan çalışmalar verilerimizi destekler nitelikte olup, lipid miktarındaki azalmanın böcekte toksik stres altında homeostazi sağlamada ve bunun için gerekli olan enerji ihtiyacı için kullanıldığını düşünmekteyiz.

İnsektisitler canlılarda protein, karbohidrat ve lipid gibi enerji kaynaklarının sentezini, kullanımını ve depolanmasını etkileyebilirler (Saleem vd. 1998). İnsektisitler gibi toksik maddeler vücuda alınımını takiben detoksifikasyon mekanizmalarının harekete geçmesiyle biyotransformasyona uğrayarak detoksifiye edilirler. Bu işlemlerde görev alan detoksifikasyon enzimlerinin ve ısı şok proteinlerinin üretilmesi ve toksik maddelerin aktif olarak uzaklaştırılması için enerji gereksinimi oldukça fazladır (Choi vd. 2001, Maryanski vd. 2002, Sak vd. 2006). Çalışmamızda gözlenen toplam karbohidrat ve lipid miktarlarındaki azalmanın toksik stres oluşumuna neden olan imidaklopridin detoksifiye edilmesi için gerekli olan enerji ihtiyacının karşılanmasında kullanıldığı sonucuna varılmıştır.

Böcek fizyolojisi ile ilgili çalışmalarda hematolojik çalışmalar önemli bir yer tutmaktadır (Sabri ve Tariq 2004). Hemositler fagositoz, enkapsülasyon, nodül oluşumu gibi immün sistem ile ilgili görevlerinin yanı sıra metabolitlerin detoksifikasyonunda, besin maddelerinin ve hormonların taşınmasında da önemli rol oynarlar (Patton 1983).

Böceklerde farklı hemosit tipleri tanımlanmış olup, hemosit sayıları böcek ordolarına, böceğin gelişme evresine göre farklılıklar göstermektedir (Riberio ve Brehelin 2006, Giglio vd. 2008). Daha önce yapılan çalışmalarda hemositlerin sayılarının ve hemosit tiplerinin pestisitler, ağır metaller ve bakteriyel infeksiyonlar gibi ekzojen faktörler ve uçuş, koşma gibi fiziksel stres faktörlerinden etkilendiği gösterilmiştir (Dubovskiy 2008, Ittoop vd. 2009, Adamo 2010, Mello vd. 2011, Kurt ve Kayis 2015). Kurt ve Kayis (2015), *Galleria mellonella* ile daha önce yaptıkları çalışmalarında böceğin prohemositler, plazmatositler, granülositler, sferulositler ve oenositler gibi hemosit tiplerine sahip olduğunu göstermişlerdir.

Sunulan çalışmada *G. mellonella*'nın toplam hemosit sayısı (THS) imidakloprid enjeksiyonundan önemli ölçüde etkilenmiş, ilk 72 saatlik periyotta tüm imidakloprid konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre azalmıştır. 96. saatte ise yalnızca en yüksek doz olan 1.00 µg imidakloprid konsantrasyonunda hemosit sayısı bakımından önemli bir azalma söz konusudur. Zamana bağlı veriler incelendiğinde ise 0.50 ve 0.75 µg imidakloprid konsantrasyonu dışındaki dozlarda hemosit miktarlarında önemli değişimler gözlenmiştir.

Hemositlerde, böcek vücuduna giren patojenlerle veya toksik maddelere karşı savunma işlevini yerine getirirken nekroz ve apoptoz gibi mekanizmalarla ölümlerinin gerçekleşebildiği ve toksik maddelerin hemositlerin mitotik indekslerini değiştirebildiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Pech ve Strand 2000, Teramoto ve Tanaka 2004). Çalışmamızda elde edilen veriler daha önce farklı insektisit ve böcek türleriyle yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir. *L. vannedi*'de permetrinin toplam hemosit sayısını önemli ölçüde etkilemediği fakat pyrazosulfuron-ethyl içerikli insektisit olan Talcord'un toplam hemosit sayısını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Mello vd. 2011). Halawa vd. (2007), *S. gregaria*'da klorozan, deltametrin ve spinozatın, Parakash vd. (2007), *D. koenigii*' de penfluronun, Abd-El Aziz ve Awad (2010) *Agrotis ipsilon* larvalarında dimilinin toplam hemosit sayılarını kontrole göre önemli oranlarda azalttığını belirtmişlerdir. Brandt vd. (2016), bal arılarında yaptıkları çalışmalarında neonikotinoid grubu insektisitler olan thiacloprid ve imidaklopridin hemosit yoğunluğunu, enkapsülasyon reaksiyonunu ve antimikrobiyal aktiviteyi önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir. Bunun yanında insektistlerin hemositler üzerine olan etkileri sayılarındaki değişimlerle sınırlı değildir. Sendi ve Salehi (2011), methopren uyguladıkları *Papilio demoleus*'ta ve Sabri ve Tariq (2004), farklı insektisitler uyguladıkları *Aulacophora foveicollis*'te hemositlerde meydana gelen patolojik değişikliklere değinmişler, hücre membranında ve sitoplazmada morfolojik bozukluklar ve nükleuslarında anormalliklerin gözlediğini belirtmişlerdir. Kurt ve Kayis (2015) *G. mellonella*' da deltametrinin hemositlerde mikronükleus oluşumunu indüklediğini, Tripathi vd. (2007), insektisitlerin apoptotik hücre sayısını artırdığını göstermişlerdir. Rajak vd. (2015) hedef dışı organizma *D. melanogaster*' de plazmatosit ve lamellosit sayısının acephate maruziyeti sonucu azaldığını, bu azalmanın oksidatif stres altında apoptozun indüklenmesinden veya mitoz bölünmede görülen başarısızlıktan

kaynaklanabileceğini belirtmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda göz önüne alındığında insektisit uygulamasından sonra toplam hemosit sayısındaki azalmanın insektisit genotoksik etkisine bağlı olarak artan apoptosiz oranıyla veya azalan mitotik indeksle bağlantılı olduğunu düşünmekteyiz. Fakat bu konuda kesin bir kanıya varmak için enkapsülasyon ve nodül oluşumu gibi immünolojik parametrelerin, elektron mikroskobu ve floresan mikroskobu gibi ileri görüntüleme tekniklerine sahip mikroskoplarla yapılacak apoptoz ve mitotik indeksin gözlemlenebileceği ayrıntılı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Sonuç olarak imidakloprid *G. mellonella*'da toksik etki oluşturarak enzimatik antioksidan sistem ve hücrel bağışıklık sisteminin önemli bir bileşeni olan hemositler üzerine önemli etkilerde bulunmuştur. Antioksidan enzimlerin aktivitesinde artışlara neden olmakla birlikte, artan MDA düzeyleri artış göz önüne alındığında membran lipidlerinde oksidatif hasarlara neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca böceğin enerji metabolizması üzerine etki ederek özellikle karbohidrat ve lipidlerin sentezini ve kullanımını önemli ölçüde etkilemiştir. Önemli bir hücrel bağışıklık bileşeni olan hemosit sayılarını azalmasına neden olarak böcekte immün sistem üzerine olumsuz etkide bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlar yeni nesil bir insektisit olan imidaklopridin antioksidan savunma enzimleri, protein, lipid ve karbohidratlar gibi önemli biyoenerji kaynakları ve hemositler gibi önemli bir immün sistem komponenti üzerine olan etkilerini *G. mellonella* gibi memelilere alternatif omurgasız hayvan modeli olarak kullanılan bir model organizmada göstermesi bakımından önemlidir.

Elde edilen sonuçlar göstermektedir ki, yeni nesil bir insektisit grubuna dahil olan imidakloprid zararlı böceklerle mücadelede etkin bir ürün olmakla birlikte, hedef dışı canlılar üzerine de potansiyel etkili olmasından dolayı bilinçli kullanılması gereken bir insektisittir.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Aal, A.E., (2006). Effect of chlorfluazuron, nuclear polyhydrosis virus (SLNPV) and *Bacillus thuringiensis* on some biological and enzymes activity of cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisd), Bulletin of the Entomological Society of Egypt, Economic Series, 32: 171-185.
- Abd El-Aziz., N. M., (2015). Detoxification system in *Spodoptera littoralis* against abamectin, International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology, 4 (6): 4219-4228.
- Abd El-Aziz, M.N., and Awad, H.H., (2010). Changes in the haemocytes of *Agrotis ipsilon* larvae (Lepidoptera: Noctuidae) in relation to dimilin and *Bacillus thuringiensis* infections, Micron, 41 (3): 203-209.
- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., and Rezaie, A., (2004). Pesticides and oxidative stress: a review, Medical Science Monitor, 10(6): 141-47.
- Abou-Donia, M.B., Goldstein, L.B., Bulman S., Tu, T., Khan, W.A., Dechkovskaia, A.M., and Abdel-Rahman, A.A., (2008). Imidacloprid induces neuro behavioral deficits and increases expression of glial fibrillary acidic protein in the motorcortex and hippocampus in offspring rats following *in utero* exposure, Journal of Toxicology and Environmental Health, 71: 119–130.
- Adamo, S.A., (2010). Why should an immune response activate the stress response? Insights from the insects (the cricket *Gryllus texensis*), Brain Behavior and Immunity, 24: 194-200.
- Adamski, Z., Ziemnicki, K., Fila, K., Zikic, R., and Stajn, A., (2003). Effects of long-term exposure to fenitrothion on *Spodoptera exigua* and *Tenebrio molitor* larval development and antioxidant enzyme activity, Biology Letters, 40: 43-52.
- Aebi, H., (1984). Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology, 121-126.
- Ahmad, S., and Pardini, R.S., (1990). Mechanisms for regulating oxygen toxicity in phytophagous insects, Free Radical Biology and Medicine, 8: 401-413.
- Ahmad, S., Pritsos C.A., Bowen, S.M., Heisler, C.R., Blomquist, G.J., and Pardini, R, S., (2005). Subcellular distribution and activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in the southern

- armyworm, *Spodoptera eridania*, Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 7: 173-18.
- Ahmad, S., (1992). Biochemical defenses of prooxidant plant allelochemicals by herbivorous insects. Biochemistry and Systematic Ecology, 20: 269-296.
- Ahmad, S., Duval, D.L., Weinhold, L.C. and Pardini, R.S., (1991). Cabbage Looper Antioxidant Enzymes. Tissue Specificity. Insect Biochemistry, 21: 563-572.
- Al-Barty., A.M.F. (2014). Laboratory evaluation of superoxide dismutase (SOD) of methylamine avermectin control of the rice red weevil (*Sitophilus oryzae* L.) in stored wheat grains, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 6(4): 979-983.
- Al-Hariri, M.K., and Anjum, S., (2001). Effect of lambda-cyhalothrin and deltamethrin on the haemocytes of Desert Locust, *Schistocerca gregaria* Forsk, International Journal of Agriculture and Biology, 3(1): 81-84.
- Ali, N.S., Ali, S.S., and Shakoori, A.R., (2014). Biochemical response of malathion – resistant and – susceptible adults of *Rhyzopertha dominica* to the sublethal doses of deltamethrin. Pakistan Journal of Zoology, 46: 853- 861.
- Anraku, M., Chuang, V.T., Maruyama, T., and Otagiri, M., (2013). Redox properties of serum albumin. Biochimica et Biophysica Acta, 1830: 5465-5472.
- Aslanturk, A., Kalender, S., Uzunhisarcikli, M., and Kalender, Y., (2011). Effects of methidathion on antioxidant enzyme activities and malondialdehyde level in midgut tissues of *Lymantria dispar* (Lepidoptera) larvae, Journal of Entomological Research Society, 13: 27–38.
- Aydın, A., Sayal, A., ve İşimer, A., (2001). Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayn Kitapı.
- Baffi, M.A., Pereira, C.D., Souza, G.R.L., Bonetti, A.M., Ceron, C.R., and Gourelart, L.R., (2005). Esterase profile in a pyrethroid-resistant Brazilian strain of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae), Genetics and Molecular Biology, 28: 749-753.
- Baillie, J.E.M., Hilton-Taylor, C., and Stuart, S.N., (eds.) (2004). 2004 IUCN Red list of threatened species. A Global Species Assessment. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

- Banville, N., Browne, N., and Kavanagh, K., (2012). Effect of nutrient deprivation on the susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to infection. *Virulence*, 3(6): 497-503.
- Barbehenn, R.V., Maben, R.E., and Knoester, J.J., (2008). Linking phenolic oxidation in the midgut lumen with oxidative stress in the midgut tissues of a tree-feeding caterpillar *Malacosoma disstria* (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Environmental Entomology*, 37: 1113-1118.
- Barbehenn, R.V., Bumgarner, S.L., Roosen, E.F., and Martin, M.M., (2001). Antioxidant defenses in caterpillars: role of the ascorbate-recycling system in the midgut lumen, *Journal of Insect Physiology*, 47: 349–357.
- Bar-Or, D., Rael, L.T., Lau, E.P., Rao, N.K.R., Thomas, G.W., Winkler, J.V., Yukl, R.L., Kingston, R.G., and Curtis, C.G., (2001). An analog of the human albumin N-terminus (Asp-Ala -His- Lys) prevents formation of copper induced reactive oxygen species, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 284: 856–862.
- Baskin, S.I., and Salem, H., (1997). *Oxidants, antioxidants, and free radicals*. Washington DC: Taylor and Francis, 79-120.
- Ben-Ami, R., (2011). Innate immunity against moulds: lessons learned from invertebrate models, *Immunological Investigations*, 40: 676-691.
- Bhavan-Saravana, P., and Geraldine, P., (2001). Biochemical responses in tissues of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* on exposure to endosulfan, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2531: 1-15.
- Borges, A.R., Santos, P.N., Furtado, A.F., and Figueiredo, R.C., (2008). Phagocytosis of latex beads and bacteria by hemocytes of the triatomine bug *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae), *Micron*, 39: 486-494.
- Boulahbel, B., Aribi, N., Kilani-Morakchi, S., and Soltani, N., (2015). Activity of neem oil in *Drosophila melanogaster*: toxicity and delayed effect on the progeny African Entomology, *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3(6): 306-310.
- Brandt, A., Goreflo, A., Siede, R., Meixner, M., and Büchler, R., (2016). The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the

- immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.), *Journal of Insect Physiology*, 86: 40-47.
- Brivio, M.F., Mastore, M., and Nappi, A.J., (2010). A pathogenic parasite interferes with phagocytosis of insect immunocompetent cells, *Developmental and Comparative Immunology*, 34: 991-998.
- Bronskill, J.K., (1961). A cage to simplify the rearing of greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae), *Journal of the Lepidopterists' Society*, 15(2): 102-104.
- Burton, G.W., (1994). Vitamin E. Molecular and biological function, *Proceeding of the Nutrition Society*, 53(2): 251-262.
- Buyukguzel, E., (2009). Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion. *Journal of Economic Entomology*, 120(1): 152-159.
- Buyukguzel, K., (2006). Malathion-induced oxidative stress in a parasitoid wasp: Effect on adult emergence, longevity and oxidative and antioxidative response of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Journal of Economic Entomology*, 99: 1225– 1234.
- Buyukguzel, K., (2001). DNA gyrase inhibitors: Novobiocin enhances the survival of *Pimpla turionellae* larvae reared on an artificial diet but other antibiotics do not, *Journal of Applied Entomology*, 125: 583-587.
- Cereser, C., Guichard, J., Draï, J., Bannier, E., Garcia, I., Boget, S., Parvaz, P. and Revol, A., (2001). Quantitation of reduced and total glutathione at the femtomole level by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: Application to red blood cells and cultured fibroblasts, *Journal of Chromatography*, 752: 123- 132.
- Champion, O.L., Wagley, S., and Titball, R.W., (2016). *Galleria mellonella* as a model host for microbiological and toxin research, *Virulence*, 7(7): 840-845.
- Chapman, R.F., (1998). *The Insects: Structure and Function*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Chen, L., and Fadamiro, H.Y., (2006). Comparing the effects of five naturally occurring monosaccharide and oligosaccharide sugars on longevity and carbohydrate nutrient levels of a parasitic phorid fly, *Pseudacteon tricuspis*, *Physiological Entomology*. 31: 46-56.

- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Li, A.M.Y., Richardson, B.J. and Lam, P.K.S., (2001). Relationship between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicology*, 52: 189-203.
- Choi, J., Roche, H., and Caquet, T., (2001). Hypoxia, hyperoxia and exposure to potassium dichromate or fenitrothion alter the energy metabolism in *Chironomus riparius* Mg. (Diptera: Chironomidae) larvae, *Comparative Biochemistry and Physiology C Toxicology and Pharmacology*, 130(1): 11-17.
- Cnubben, N.H.P., Rietjens, I.M.C.M., Wortelboer, H., Van-Zanden, J., and Van Bladeren, P.J., (2001). The interplay of glutathione related processes in antioxidant defense, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10: 141-152.
- Costa, C., Silvari, V., Melchini, A., Catania, S., Heffron, J.J., Trovato A., and De Pasquale, R., (2009). Genotoxicity of imidacloprid in relation to metabolic activation and composition of the commercial product, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 672(1): 40-44.
- Çakır, Ş. ve Yamanel, Ş., (2005). Böceklerde insektisidlere direnç, *Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi*, Cilt 6 Sayı. 1 21-29.
- Damien, C., Chantal, V.H., Pirouz, S., Zerimech, F.H., Laurence, J., and Jean, M.H., (2004). Cellular impact of metal trace elements in Terricolous lichen *Diploschistes muscorum* (Scop.) R. Sant.–identification of oxidative stress biomarkers, *Water Air and Soil Pollution*, 152, 55–69.
- Desalegne, B., (2001). Origin and characterization of honeybee (*A. mellifera*) pollen source around Utrecht University, The Netherlands. M.Sc thesis, Utrecht University, Faculty of Biology,
- Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Bloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S., and Lele, R.D., (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects, *Journal of the Association of Physicians of India*, 52: 794-804.
- Dickinson, D.A. and Forman, H.J., 2002. Cellular glutathione and thiols metabolism, *Biochemistry and Pharmacology*, 64: 1019-1026.
- Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S.J., Anderson, D., Locke, B., Delaplane, K.S., Wauquiez, Q., Tannahill, C., Frey, E., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P., and Ellis, J.D., (2013). Standard methods for varroa research. In V. Dietemann; J D Ellis;



- P Neumann (Eds) The Coloss Beebook, Volume II: Standard methods for *Apis mellifera* pest and pathogen research. Journal of Apicultural Research 52(1): <http://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.09>.
- 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, Part C, 148: 1-5.
- Elbarky, N.M., Dahi, H.F., and El-Sayed, Y.A., (2008). Toxicological evaluation and biochemical impacts for radiant as a new generation of spinosyn on *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae, Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, 1(2): 85 – 97.
- Ellis, J.D., Graham, J.R., and Mortensen, A., (2013). Standard methods for wax moth research, Journal of Apicultural Research, 52(1): 1-17.
- Emre, I., Kayis, T., Coskun, M., Dursun, O., and Cogun, H.Y., (2013). Changes in antioxidative enzyme activity, glycogen, lipid, protein, and malondialdehyde content in cadmium-treated *Galleria mellonella* larvae, Annals of the Entomological Society of America, 106(3): 371-377.
- Enayati, A., Ranson, H., and Hemingway, J., (2005). Insect glutathione transferases and insecticide resistance, Insect Molecular Biology, 14: 3–8.
- Er, A., (2011). Endoparazitoit *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera; Ichneumonidae) zehiri ve parazitlemesinin konak hemositlerine etkileri, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir.
- Erenel, G., Erbaş, D., and Arıcıoğlu, A., (1992). Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. Gazi Tıp Dergisi, 3: 243-250.
- Etebari, K., Bizhannia, A.R., Sorati, R., and Matindoost, L., (2007). Biochemical changes in haemolymph of silkworm larvae due to pyriproxyfen residue, Pesticide Biochemistry and Physiology, 88: 14-19.
- Fallon, J., Kelly, J., and Kavanagh, K., (2012). *Galleria mellonella* as a model for fungal pathogenicity testing, Methods in Molecular Biology, 845:469-85.

- Fallon, J.P., Troy, N., and Kavanagh, K., (2011). Pre-exposure of *Galleria mellonella* larvae to different doses of *Aspergillus fumigatus* conidia causes differential activation of cellular and humoral immune responses, *Virulence*, 2: 413-21.
- Fatima, M., Tariq, M., Tariq, K., Naz, G., Jan, I., Anvar, Z., Gulzar, A., Ali, A., Khan, A.A., Khursheed, I., Shah, A.A., Gulzar, A., Ali, K. and Nadeem, M. (2016). Effect of thiacloprid and imidacloprid on the haemocytes of American Bollworm, *Helicoverpa armigera*, *American-Euroasian Journal of Toxicological Sciences*, 8(2): 110-114.
- Felton, G.W., and Duffey, S.S., (1992). Ascorbate oxidation reduction in *Helicoverpa zae* as a scavenging system against dietary oxidants, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 19: 27-37.
- Felton, G.W., and Summers, C.B., (1995). Antioxidant system in insects, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 29,:187-197.
- Feng, S., Kong, Z., Wang, X., Peng, P., and Zeng, E.Y., (2005). Assessing the genotoxicity of imidacloprid and RH-5849 in human peripheral blood lymphocytes *in vitro* with comet assay and cytogenetic tests, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61(2): 239-46.
- Fornazier, R.F., Ferreira, R.R., Pereira, G.J.G., Molina, S.M.G., Smith, R.J., Lea, P.J. and Azevedo, R.A., (2002). Cadmium stress in sugar cane callus cultures: Effect on antioxidant enzymes, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 71: 125-131.
- Fotouhi, K., Fazel, M.M., and Kavaousi, A., (2015). Effects of pyriproxyfen on bioenergetic resources of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) *Türk Entomoloji Dergisi*, 39(1): 11-22.
- Fridovich I.,(1995). Superoxide radical and superoxide Dismutase, *Annual Review of Biochemistry*, 64: 97-112.
- Gahring, L.C., and Rogers, S.W., (2006). Neuronal nicotinic acetylcholine receptor expression and function on nonneuronal cells, *Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, 7(4): 885-894.
- George, P.J.E., and Ambrose, D.P., (2004). Impact of insecticides on the hemogram of *Rhynocoris kumarii* Ambrose and Livingstone (Hem., Reduviidae), *Journal of Applied Entomology*, 128(9–10): 600–604.

- Gessa, N.M., Mona, M.H., Sharshar, K.H.M., EL-Maghraby, H.M., and Osman, S.R., (2006). Effect of carbosulfan insecticide on hematological parameters in juveniles of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda, Crustacea), Egyptian Journal of Experimental Biology (Zoology), 2: 173 – 179.
- Giglio, A., Battistella, S., Talarico, F.F., Brandmayr, T.Z., and Giulianini, P.G., (2008). Circulating hemocytes from larvae and adults of *Carabus (Chaetocarabus) lefebvrei* Dejean 1826 (Coleoptera, Carabidae): Cell types and their role in phagocytosis after in vivo artificial non-self-challenge, Micron, 39: 552–558.
- Gillespie, J.P., Kanost, M.R. and Trenzcek, T., (1997). Biological mediators of insect immunity, Annual Review of Entomology, 42: 611-643.
- Giron, D., and Casas, J., (2003). Lipogenesis in an adult parasitic wasp, Journal of Insect Physiology, 49: 141–147.
- Glantzounis, G., Tsimoyiannis, E., Kappas, A., and Galaris, D., (2005). Uric acid and oxidative stress, Current Pharmaceutical Design, 11:4145–4151.
- Gupta, A. P., (1985).“Cellular Elements in the Hemolymph”, In Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology, .G. A. Kerkut and L. I. Gilbert Eds. Pergamon Pres, New York, 3: 401-45.
- Gutteridge, J.M., (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, Clinical Chemistry, 41: 1819-1828.
- Güler, Ç., ve Çobanoğlu, Z., (1997). Pestisitler, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52, Ankara.
- Gümrükçüoğlu, A. (2017). Serbest radikaller, Erişim: [genetikbilimi.com/serbest-radikaller](http://genetikbilimi.com/serbest-radikaller), 20.05.2017.
- Halawa, S., Gaaboub, I., Gad, A.A., F El Aswad, A., (2007). Effect of some insecticides heamolymph of desert locust *Schistocera gregaria* Forskal, Journal of the Egyptian Society of Toxicology, 36: 61-66.
- Halliwell, B., (1994). Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. Nutrition Reviews, 52: 253-265.
- Halliwell, B., and Gutteridge, J.M.C., (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. Methods in Enzymology, 280: 1-85.
- Halliwell, B., and Gutteridge, J.M.C., (1999). Free radicals in biology and medicine. Third Edition, Oxford University Pres. Inc., New York, 936s.

- Hamza, R.Z., Al-Barty, A.M.F., and Rashwan, R.S., (2014). Evaluation of toxic effect of methylamine avermectin on malondialdehyde activity in the rice red weevil *Sitophilus arYZae* L. (Coleoptera: Curculionidae) in stored rice grains. *Biosciences Biotechnology Research ASIA*. 11(1): 295-299.
- Hermes-Lima, M., Storey, J.M., and Storey, K.B., (2001). Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress. In: Storey K.B., Storey J.M. (Eds), *Cell and Molecular Responses to Stress*, Elsevier Press, Amsterdam, pp. 263-287.
- Hoffmann, J.A., (1995). Innate immunity of insects, *Current Opinion in Immunology*, 7: 4-10.
- Icen, E., Armutcu, F., Buyukguzel, K., and Gurel, A. (2005). Biochemical stress indicators of Greater Wax Moth exposure to organophosphorus insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 98: 358–366.
- Ihara, M., Brown, L.A, Ishida, C., Okuda, H., Sattelle, D.B., and Matsuda, K., (2006). Actions of imidacloprid, clothianidin and related neonicotinoids on nicotinic acetylcholine receptors of American cockroach neurons and their relationships with insecticidal potency, *Journal of Pesticide Science*, 31(1): 35–40.
- Iqbal, K., Khan, A., and Khattak M.A.K., (2004). Biological significance of ascorbic acid (Vitamin C) in human health-a review. *Pakistan Journal of Nutrition* 3:(1): 5-13.
- Ittoop, G., George, K. C., George, R.M., Sobhana, K. S., Sanil, N. K. And Nisha, P. C. (2009). Effect of copper toxicity on the hemolymph factors of the Indian edible oyster, *Crassostrea madrasensis* (Preston), *Indian Journal of Fisheries*, 56(4) : 301-306.
- Junqueira, J.C., (2012). *Galleria mellonella* as a model host for human pathogens: recent studies and new perspectives, *Virulence*, 3(6), 474-476.
- Jones, J. C. 1967. Changes in the hemocyte picture of *Galleria mellonella* L., *Biological Bulletin (Woods Hole)*, 132: 211–221.
- Kalamida, D., Poulas, K., Avramopoulou, V., Fostieri, E., Lagoumintzis, G., Lazaridis, K., Sideri, A., Zouridakis, M., and Tzartos, S.J., (2007). Muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors: Structure, function and pathogenicity, *FEBS Journal*, 274:3799–3845.

- Kanbur, M., Liman, B.C., Eraslan, G., and Altinordulu, S., (2008). Effects of cypermethrin, propetamphos, and combination involving cypermethrin and propetamphos on lipid peroxidation in mice, *Environmental Toxicology*, 23(4): 473 – 479.
- Kanost, M.R., Jiang, H., and Yu, X.Y., (2004). Innate immune responses of a lepidopteran insect, *Manduca sexta*, *Immunological Reviews*, 198: 97–105.
- Kapoor, U., Srivastava M.K. and Srivastava, L.P., (2011). Toxicological impact of technical imidacloprid on ovarian morphology, hormones and antioxidant enzymes in female rats, *Food and Chemical Toxicology*. 49: 3086-3089.
- Kapoor, U., Srivastava M.K., Bhardwaj, S. and Srivastava, L.P., (2010). Effect on Imidacloprid on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in female rats to derive its No observed Effect Level (NOEL), *The Journal of Toxicological Sciences*, 35(4): 577-581.
- Karabay, N.U., and Oguz, M.G., (2005). Cytogenetic and genotoxic effects of the insecticides, imidacloprid and methamidophos, *Genetics and Molecular Research*, 4(4): 653-662.
- Kavanagh, K., and Reeves, E.P., (2004). Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*, 28: 101-112.
- Kavanagh, K., and Reeves, P.E., (2007). Insects and mammalian innate immune responses are much alike, *Microbe*, 2: 596–599.
- Kavanagh, K., and Fallon, J.P., (2010). *Galleria mellonella* larvae as models for studying fungal virulence, *Fungal Biology Reviews*, 24: 79-83.
- Kayış, T., (2010). Diazinonun subletal konsantrasyonlarının *Pimply turionellae* L.'nin eşey oranı ve bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. sf. 101.
- Kayış, T., Coskun, M., Dursun, O., and Emre, I., (2015). Alterations in antioxidant enzyme activity, lipid peroxidation and ion balance induced by Dichlorvos in *Galleria mellonella* L. *Annals of the Entomological Society of America*: 108 (4): 570-574.

- Kayis, T., Emre, İ., and Coskun, M., (2012). Effects of diazinon on antioxidant enzymes and adult emergence of the parasitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Türk Entomoloji Dergisi*, 36(4): 463-471.
- Kissoum, N., and Soltani, N., (2016). Spiromesifen, an insecticide inhibitor of lipid synthesis, affects the amounts of carbohydrates, glycogen and the activity of lactate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*, *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(1): 452-456.
- Krautz, R., Arefin, B., and Theopold, U., (2014). Damage signals in the insect immune response, *Frontiers in Plant Science*, 5(342): 1-11.
- Krishnan N., and Sehna F., (2006). Compartmentalization of oxidative stress and antioxidant defense in the larval gut of *Spodoptera littoralis*, *Archives in Insect Biochemistry and Physiology*, 63: 1-10.
- Krishnan, N., Kodrik, D., Kludkiewicz, B. and Sehna, F., (2009). Glutathione-ascorbic acid redox cycle and thioredoxin reductase activity in the digestive tract of *Leptinotarsa decemlineata*, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39: 180–188.
- Kumar, A.N., Aruna, P., Naidu, J.N., Kumar, R., and Srivastava, A.K., (2015). Review of concepts and controversies of uric acid as antioxidant and pro-oxidant, *Archives Medical Review Journal*, 24(1): 19-40.
- Kumargal, D., (2007). Neonikotinoitlerin kurbağa (*Rana ridibunda*) periferik sinirleri üzerine elektrofizyolojik etkilerinin araştırılması. Mersin Üniversitesi. Ss.70.
- Kurt, D., and Kayis, T., (2015). Effects of the pyrethroid insecticide deltamethrin on the hemocytes of *Galleria mellonella*, *Turkish Journal of Zoology*, 39: 452-457.
- Lavine, M.D. and Strand, M.R., (2002). Insect hemocytes and their role in immunity, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32: 1295-1309.
- Lee, J.C., Heimpel, G.E., and Leibe, G.L. (2004). Comparing floral nectar and aphid honeydew diets on the longevity and nutrient levels of a parasitoid wasp, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 111: 189-199.
- Lemaitre, B., and Hoffmann, J., (2007). The host defense of *Drosophila melanogaster*, *Annual Review of Immunology*, 25:697-743.
- Levin, D.M., (2007). An integrin required for the encapsulation immune response in the tobacco hornworm *Manduca sexta* L. (Lepidoptera: Sphingidae), PhD Thesis,

Kansas State University, College of Agriculture, Department of Entomology, Manhattan, Kansas.

- Li, L., Lui, X., Guo, Y. and Ma, E., (2005). Activity of the enzymes of the antioxidative system in cadmium-treated *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acridoidae), *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20, 412-416.
- Limon-Pacheco J., and Gonsebatt, ME., (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress, *Mutation Research*, 674(1-2): 137-147.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265–75.
- Manduzio, H., Rocher, B., Durand, F., Galap, C., and Leboulenger, F., (2005). The point about oxidative stress in molluscs, *Invertebrate Survival Journal*, 2: 91-104.
- Maryanski, M., Kramarz, P., Laskowski, R., and Niklinska, M., (2002). Decreased energetic reserves, Morphological changes and accumulation of metals in Carabid Beetles (*Poecilus cupreus* L.) exposed to Zinc or Cadmium contaminated food, *Ecotoxicology*, 11, 127–139.
- Mates, J.M., (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology, *Toxicology*, 153, 83-104.
- Matsuda, K., Buckingham, S.D., Kleier, D., Rauh, J.J., Grauso, M. and Sattelle, D.B., (2001). “Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors”, *Trends Pharmacological Science*, 22(11): 573-580.
- Marmaras, V.J., and Lampropoulou, M., (2009). Regulators and signalling in insect haemocyte immunity, *Cellular Signalling*, 21: 186–195.
- Mello, L.M., Junior, H.A., Garcia, S. and Vinatea, L., (2011). Acute toxicity of pyrazosulfuron-ethyl and permethrin to juvenile *Litopenaeus vannamei*, *Maringa*, 33(1): 1-6.
- Mentel, T., Duch, C., Stypa, H., Wegener, G., Muller, U., and Pflugler, H.J., (2003). Central modulatory neurons control fuel selection in flight muscle of migratory locust, *The Journal of Neuroscience*, 23: 1109-1113.

- Mercan, U., (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet. Fak. Derg., 15 (1-2), 91-96.
- Milatovic, D., Gupta, R.C. and Aschner, M., (2006). Anticholinesterase toxicity and oxidative stress, The Scientific World Journal, 6: 295-310.
- Mirhaghparast, S.K., Zibae, A., Sendi, J.J., Hoda, H., and Fazeli-Dinan, M., (2015). Immune and metabolic responses of *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Crambidae) larvae to an insect growth regulator, hexaflumuron, Pesticide Biochemistry and Physiology, 125: 69-77.
- Mitchellmore, C.L., Chipman, J.K., Carcia-Martinez, P., Lemaire, P., Peters, L.D. and Livingstone, D.R., (1996). Normal status of hepatic 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity, antioxidant enzymes and DNA oxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) and other flatfish species following exposure to nitroaromatic compounds, Marine Environmental Research, 42(1-4): 329-333.
- Mohammad, A., Akram, R., Shahin, S., Shekoufeh, N. and Ali, R., (2004). Pesticides and oxidative stress, Annual Review of Medical Science Monitoring, 10(6): 141-147.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K. and Radwell, V.W., (1993). Harper'in Biyokimyası. Çevirenler: Prof. Dr. Gülriz Mentec, Prof.Dr. Biltan Ersöz. Barış Kitabevi.
- Muthusamy, R., and Rajakumar, S., (2016). Antioxidative response in a silkworm, *Bombyx mori* larvae to dichlorvos insecticide, Free Radicals and Antioxidants, (6):158-163.
- Mylonakis E., Casadevall A., Ausubel FM., (2007). Exploiting amoeboid and non-vertebrate animal model systems to study the virulence of human pathogenic fungi, PLoS Pathogens, 3(7) :e101.
- Mylonakis E., Frederick MA., Michael G., and Arturo C., (2012). Of model hosts and man: Using *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* and *Galleria mellonella* as Model Hosts for Infectious Disease Research. In: Justin GB, Maged M, Mylonakis E, eds. Recent Advances on Model Hosts. Springer: London; 11-9.
- Mytilineou, C., Kramer, B.C. and Yabut, J.A., (2002). Glutathione depletion and oxidative stress, Parkinsonism Related Diseases, 8: 385-387.



- Nath, S.B., (2000). Changes in carbohydrate metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm *Bombyx mori* L., exposed to organophosphorus insecticides, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 68: 127-137.
- Nath, S.B., (2002). Shifts in glycogen metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) in response to organophosphorus insecticides toxicity, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 74: 73-84.
- Nath, S.B., Suresh, A., Mahendra Varma, B., and Kumar, R.P., (1997). Changes in protein metabolism in haemolymph and fat body of the silk worm, *Bombyx mori* L., in response to organophosphorus insecticides toxicity, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 36: 169-173.
- Nauen, R., (1995). Behaviour modifying effects of low systemic concentrations of imidacloprid on *Myzus persicae* with special reference to an antifeeding response, *Pesticide Science*, 44(2): 145-153.
- Neumann, P., Pirk C W., W Schäfer., M O Ellis., J D., (2013). Standard methods for small hive beetle research. In V Dietemann; J D Ellis, P Neumann (Eds) *The Coloss Beebook: Volume II: Standard methods for *Apis mellifera* pest and pathogen research*, *Journal of Apicultural Research* 52(4): 1-4.
- Nordberg, J., and Arnér, E.S.J., (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system, *Free Radical Biology and Medicine*, 31: 1287–1312.
- Oruc Ozcan, E., Sevgiler, Y., and Uner, N., (2004). Tissue-specific oxidative stress responses in fish Exposed to 2,4-D and Azinphosmethyl. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 137; 43-51.
- Öncüer, C., (2000). Tarımsal zararlılarla savaş yöntemleri ve ilaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları No: 13, Genişletilmiş 4. Baskı, Aydın, 379s.
- Packer, L., Weber, S.U. and Rimbach, G., (2001). Molecular aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signalling, *Journal of Nutrition*, 31: 369-373.
- Parakash, B., Bhargava, S., and Rawat, K., (2007). Effect of penfluron on total hemocyte count of *Dysdercus koenigii*. *Asian Journal of Experimental Sciences*, 21(1): 151-154.

- Parmar, M.S., (2009). Uric acid and cardiovascular risk, *New England Journal of Medicine*, 360: 539.
- Patton, R.L., (1983). *Introductory insect physiology*. W.B. Saunders Co. Philadelphia, 47: 65 pp.
- 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.
- Piri, F., Sahragard, A., and Ghadamyari, M., (2014). Sublethal effects of spinosad on some biochemical and biological parameters of *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae), *Plant Protection Science*, 50(3): 135–144.
- Rajak, P., Dutta, M., and Roy, S., (2015). Altered differential hemocyte count in 3rd instar larvae of *Drosophila melanogaster* as a response to chronic exposure of Acephate, *Interdisciplinary Toxicology*, 8(2): 84–88.
- Ramarao, N., Nielsen-Leroux, C., and Lereclus, D., (2012). The insect *Galleria mellonella* as a powerful infection model to investigate bacterial pathogenesis, *Journal of Visualized Experiments*, 2; 70: e4392.
- Rashwan, M., (2013). Biochemical impacts of rynaxypyr (Coragen) and spinetoram (Radiant) on *Spodoptera littoralis* (Boisd.), *Nature and Science*, 11(8): 40-47.
- 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: 73-85.
- Ray, D.E., and Fry, J.R., (2006). A reassessment of the neurotoxicity of pyrethroid insecticides, *Pharmacology & Therapeutics*, 111(1): 174-193.
- Reiter, R.J., Paredes, S.D., Manchester, L.C., and Tan, D.X., (2009). Reducing oxidative/nitrosative stress: A newly-discovered genre for melatonin, *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 44 (4); 175–200.
- Reiter, R.J., Acuna-Castroviejo, D., Dun- Xian, T., and Burkhardt, S., (2006). Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system, *New York Academy of Sciences*, 939: 200-215.
- Reiter, R.J., Tan, D.X., Terron, M.P., Flores, L.J., and Czarnocki, Z., (2007). Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions, *Acta Biochimica Polonica*, 54: 1-9.

- Ribeiro, C. and Brehelin, M., (2006). Insect haemocytes: What type of cell is that? *Journal of Insect Physiology*, 52: 417-429.
- Ribeiro, C., Simoes, N. and Brehelin, M., (1996). Insect immunity: the haemocytes of the armyworm *Mythimna unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae) and their role in defence reactions. *in vivo* and *in vitro* studies, *Journal of Insect Physiology*, 42: 815-822.
- Ribeiro, S., Sousa, J.P., Nogueira, A.J.A., and Soares, A.M.V.M., (2001). Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the terrestrial isopod *Porcellio dilatatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49: 131- 138.
- Richards, E.H. and Edwards, J.P., (2002). Parasitism of *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera) by the ectoparasitic wasp, *Eulophus pennicornis*, disrupts the cytoskeleton of host haemocytes and suppresses encapsulation *in vivo*, *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 49: 108–124.
- Rigotti, A., (2007). Absorption, transport, and tissue delivery of vitamin E, *Molecular Aspects of Medicine*, 28: 423-36.
- Roche M., Rondeau P., Singh NR., Tarnus E., and Bourdon E., (2008). The antioxidant properties of serum albumin, *FEBS Letters*, 582(13): 1783-1787.
- Rowley, A.F. and Ratcliffe, N.A., (1981). Insects, In: *Invertebrate blood cells*, ed. Ratcliffe, N.A., Rowley, A.F.. Vol 2, Academic Press, London, p 421-488.
- Sabri, M.A. and Tariq, B., (2004). Toxicity of some insecticides on the haemocytes of red pumpkin beetle, *Aulacophora foveicollis* Lucas, *Journal of Pakistan Entomology*, 26: 109-114.
- Sak, O., and Uçkan, F., (2009). Cypermethrinin *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)' nin puplaşma ve ölüm oranına etkisi, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 9(3): 88-96.
- Sak, O., Uçkan, F. and Ergin, E., 2006. Effects of cypermetrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Belgian Journal of Zoology*, 136(1): 53-58.
- Saleem, M.A., Shakoori, A.R., and Mantle, D., (1998). Macromolecular and enzymatic abnormalities induced by a synthetic pyrethroid, Ripcord (cypermethrin) in adult

- beetles of stored grain pests, *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Col. Tenebrionidae), Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 39: 144-154.
- Santos, M.F., Santos, R.L., Tome, H.V.V., Barbosa, W.F., Martins, G.F., Guedes, R.N.C. and Oliveira, E.E., (2016). Imidacloprid-mediated effects on survival and fertility of the Neotropical Brown stink bug *Euschistus heros*. Journal of Pesticide Science, 89: 231-240.
- Sarma, A.D., Mallick, A.R., and Ghosh, A.K., (2010). Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview, International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences, 1(3): 185-192.
- Schulz-Jander, D.A., and Casida J.E., (2002). Imidacloprid insecticide metabolism: human cytochrome P450 isozymes differ in selectivity for imidazolidine oxidation versus nitroimine reduction, Toxicology Letters, 132: 65–70.
- Scully LR., and Bidochka, M.J., (2006). Developing insect models for the study of current and emerging human pathogens, FEMS Microbiology Letters, 263: 1-9.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R., and De, B., (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 3(1): 91-100.
- Sen, S., and Chakraborty, R., (2011). The role of antioxidants in human health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy, 1: 1-37.
- Sendi, J.J. and Salehi, R., (2011). The effect of methoprene on total hemocyte counts and histopathology of hemocytes in *Papilio demoleus* L. (Lepidoptera), Munis Entomology & Zoology, 5(1): 240-248.
- Serafini, M., and Del Rio, D., (2004). Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: Is the total antioxidant capacity the right tool?, Redox Report, 9(3): 145-152.
- Shacter, E., (2000). Protein Oxidative Damage, Methods in Enzymology, 319: 428-436.
- Shafer, T.J., Rijal, S.O., and Gross, G.W., (2008). Complete inhibition of spontaneous activity in neuronal networks in vitro by deltamethrin and permethrin, Neuro Toxicology, 29(2): 203-212.
- Sharma, S.K., Dai, T., Kharkwal, G.B., Huang, Y., Huang, L., De Arce, V.J.B., Tegos, G.P., and Hamblin, M.R., (2011). Drug discovery of antimicrobial

- photosensitizers using animal models, *Current Pharmaceutical Design*, 17(13): 1303–1319.
- Shaurub, E.H., and Abd El-Aziz, M.N., (2015). Biochemical effects of lambda-cyhalothrin and lufenuron on *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae), *International Journal of Mosquito Research*, 2(3): 122-126.
- Sheenan, D., Meade, G., Foley, V.M., and Dowd, C.A., (2001). Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily, *Biochemical Journal*, 360: 1-16.
- Schmidt, O., Theopold, U. and Strand, M., (2001). Innate immunity and its evasion and suppression by Hymenopteran endoparasitoids, *BioEssays*, 23: 344-351.
- Simpson, W.M., and Schuman, S.H., (2002). Recognition and management of acute pesticide poisoning, *American Family Physician*, 65: 1599–1604.
- Singh, S.P., Coronella, J.A., Benes, H., Cochrane, B.J., and Zimniak, P., (2001). Catalytic function of *Drosophila melanogaster* glutathione s-transferase DmGSTS1-1 (GST-2) in conjugation of lipid peroxidation end products, *European Journal of Biochemistry*, 268: 2912-2923.
- Smulders, C.J.G.M., Tjerk, J.H., Bueters, T.J.H., Regina, G.D.M., Van Kleef, R.G.D.M., and Vijverberga, H.P.M.V., (2003). Selective effects of carbamate pesticides on rat nicotinic acetylcholine receptors and rat brain acetylcholinesterase, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 193: 139-148.
- Sohal, S.K., Rup, P.J., Sehgal, R., and Kaur, S., (2008). Activity of eleven enzymes in nymphs of *Lipaphis erysimi* as affected by 2,4-D (herbicide) treatment, *Bulletin of Insectology*, 61 (2): 239-244.
- Song, O., (2004). Oxidative Stress: A theoretical model or biological reality?, *Comptes Rendus Biologies*, 327: 649-662.
- Strand, M.R., (2008). The insect cellular immune response. *Insect Science*, 15(1): 1-14.
- Suhail, A., Gogi, M.D., Arif, M.J., Rana A. and Sarfraz, M. (2007). Effect of various treatments of azadirachtin, spinosad and abamectin on the haemogram of *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae), *Pakistan Entomology*, 29(2): 151-164.

- Summers, C.B., and Felton, G.W., (1993). Antioxidant role of dehydroascorbic acid reductase in insects, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1156: 235–238.
- Sun, Y., Oberley, L.W. and Li, Y., (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clinical Chemistry*, 34(3): 497–500.
- Tan, D. X., Reiter, R. J., Manchester, L. C., Yan, M. T., El-Sawi, M., Sainz, R. M., Mayo, J. C., Kohen, R., Allegra, M., Hardeland, R., (2002). Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2:181-197.
- Teleb, S.S., (2011). Effect of nomolt on differential and total haemocytes in the Desert Locust *Schistocerca gregaria* Forskal (Orthoptera: Acrididae), *Journal of American Science*, 7(11) :479-484.
- Teramoto, T., and Tanaka, T., (2004). Mechanism of reduction in the number of the circulating hemocytes in the *Pseudaletia separata* host parasitized by *Cotesia kariyai*, *Journal of Insect Physiology*, 50:1103–1111.
- Thornaley, P.J. and Vasak, M., (1985). Possible role of metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress: Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals, *Biochimica et Biophysica Acta*, 827: 35–44.
- Tojo, S., Naganuma, F., Arakawa, K., and Yokoo, S., (2000). Involvement of both granular cells and plasmatocytes in phagocytic reactions in the greater wax moth, *Galleria mellonella*, *Journal of Insect Physiology*, 46: 1129–1135.
- Tomizawa, M., and Casida, J.E., (2005). Neonicotinoid insecticide toxicology: Mechanisms of selective action. *Annual Reviews in Pharmacology and Toxicology*, 45: 247-268.
- Tripathi, S.M., Thaker, A.M., Joshi, C.G., Garg, S.P., and Snakhla, L.N., (2007). Immunotoxicity induced by subacute acephate exposure in white leghorn cockerels, *Journal of the Indian Society of Toxicology*, 3: 13–21.
- Tsagkarakou, A., Leeuwen, T.V., Khajehalil, A., Grispou, M., Williamsons, M.S., Tirry, L., and Vontas, J., (2009). Identification of pyrethroid resistance associated mutations in the para sodium channel of the two spotted spider mite

- Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), *Insect Molecular Biology*, 18(5): 583- 593.
- Tsai, C.J., Loh, J.M., and Proft, T., (2016). *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing, *Virulence*, 7(3): 214-229.
- Tunaz, H., (2004). Böceklerde Bağışıklık Mekanizması. *K.S.Ü. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 7(2): 78-82.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncola, J., Cronin, M.T.D., Mazura, M., and Telser J., (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44-84.
- Van Handel, E., (1985a). Rapid determination of glycogen and sugar in mosquitoes, *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1: 299-304.
- Van Handel, E., (1985b). Rapid determination of total lipids in mosquitoes, *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1: 302- 304.
- Venkateswara Rao, J., (2006). Toxic effects of novel organophosphorous insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86: 78-84.
- Vilcinskas, A., (2011). Anti-infective therapeutics from the Lepidopteran model host *Galleria mellonella*, *Current Pharmaceutical Design*, 17(13): 1240-1245.
- Vohra, P. and Khera, K.S., (2015). Alteration in key enzymes and micromorphology of vital organs during exposure of imidacloprid in albino rats, *International Journal of Advanced Research*, 3(3): 134-144.
- Vural, N., (2005). Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:73 Ankara.
- Waring, W.S., (2002). Uric acid: an important antioxidant in acute ischemic stroke, *Quarterly Journal of Medicine*, 95(10): 691-693.
- Watanabe, S., Kang, D.H., and Feng, L. (2002) Uric acid, hominoid evolution and the pathogenesis of saltsensitivity, *Hypertension*, 40: 355–360.
- Weiss, B., Amler, S., and Amler, R.W., (2004). Pesticides, *Pediatrics*, 113(4):1030 – 1036.
- Werren, J.H., (1987). Labile sex ratios in wasps and bees, *Bioscience*, 37: 498-506.

- Wickens, P.A., (2001). Ageing and the free radical theory, *Respiration Physiology*, 128: 379–391.
- Yamamoto, I., and Casida, J.E., (1999). “Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptors”, Yamamoto, I., Casida, J.E. (Eds.) Springer-Verlag, Tokyo, 952 s.
- Young, I.S., and Woodside, J.V., (2001). Antioxidants in health and disease, *Journal of Clinical Pathology*, 54(3): 176-186.
- Yu, S.J., (2004). Induction of detoxification enzymes by triazine herbicides in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 80: 113-122.
- Yue, B., Wilde, G.E., Arthur, F., (2003). Evaluation of thiamethoxam and imidacloprid as seed treatments to control european corn borer and indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) larvae, *Journal of Economic Entomology*, 96(2): 503-509.
- Zaman, K., MacGill, R.S., Johnson, J.E., Ahmad, S., and Pardini, R.S., (1994). An insect model for assessing mercury toxicity: effect of mercury on antioxidant enzyme activities of the housefly (*Musca domestica*) and the cabbage looper moth (*Trichoplusia ni*), *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 26(1): 114-118.
- Zhang, W., Jiang, F., and Ou, J., (2011). Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus, *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 1(2):125-144.
- Zhu, Q., Yuan, He Y., Yao, J., Liu, Y., Tao, L., and Huang, Q., (2012). Effects of sublethal concentrations of the chitin synthesis inhibitor, hexaflumuron, on the development and hemolymph physiology of the cutworm, *Spodoptera litura*, *Journal of Insect Science*, 12 (27): 1-13.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mehmet Sait YÜCEL

Doğum Yeri : Adıyaman

Doğum Tarihi : 25/01/1978

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurumu ve Yıl)

Lise : Adıyaman Lisesi (1992-1995)

Lisans : Balıkesir Üniversitesi/Necatibey Eğitim Fakültesi (1996-2000)

Yüksek Lisans : Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (2017)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Milli Eğitim Bakanlığı (2000- Devam ediyor)

Yayımları (SCI ve diğer)