ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nilay YILMAZ

FARKLI BAKIR ORANLARININ ERGİN *Pimpla turionellae* L'nin YAŞAM SÜRESİ ve YUMURTA VERİMİ ile SENTEZLEDİĞİ PROTEİN ve GLİKOJEN MİKTARINA ETKİLERİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2013

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI BAKIR ORANLARININ ERGİN *Pimpla turionellae* L'ın YAŞAM SÜRESİ ve YUMURTA VERİMİ ile SENTEZLEDİĞİ PROTEİN ve GLİKOJEN MİKTARINA ETKİLERİ

Nilay YILMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez …/…/2013 Tarihinde A şağıdaki Jüri Üyeleri tarafından Oybirliği/ Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

……..	……..	……..
Prof. Dr. İskender EMRE	Doç. Dr. Ramazan BİLGİN	Yrd. Doç. Dr. Pınar ÖZALP
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: FEF2011YL35

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI BAKIR ORANLARININ ERGİN *Pimpla turionellae* L'ın YAŞAM SÜRESİ ve YUMURTA VERİMİ ile SENTEZLEDİĞİ PROTEİN ve GLİKOLEN MİKTARINA ETKİLERİ

Nilay YILMAZ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. İskender EMRE
Yıl : 2013, Sayfa: 51
Jüri : Prof. Dr. İskender EMRE
: Doç. Dr. Ramazan BİLGİN
: Yrd. Doç. Dr. Pınar ÖZALP

Bu çalışmada farklı bakır ($CuSO_4.5H_2O$) oranlarının (0.000, 0.010, 0.025, 0.050 ve 0.100 mg/100 ml) bir endoparazitoid hymenopter türü olan ergin *Pimpla turionellae* L.' nin yaşam süresi, yumurta sayısı, yumurta açılımı ile sentezlediği protein ve glikojen miktarına etkileri, kimyasal yapısı bilinen sentetik besinler kullanılarak araştırılmıştır.

Denenen bakır konsantrasyonlarının yaşam süresine etkisi, uygulanan bakır miktarlarıyla ters orantılı olarak kontrole oranla azalma şeklinde görülmüştür. Birey başına düşen yumurta sayısında dikkate değer olmamakla beraber düşüş gözlenirken, yumurta açılım oranında bazı günlerde azalma yönünde önemli değişimler tespit edilmiştir.

Deneylerde besine ilave edilen tüm bakır dozlarının *P. turionellae* dişilerinin protein miktarı üzerinde kontrol grubu dişilerine kıyasla azalma şeklinde etki yarattığı gözlenirken glikojen miktarı üzerinde tam tersi durum söz konusudur.

Anahtar Kelimeler: *Pimla turionellae*, Bakır, Protein ve Glikojen

ABSTRACT

MSc THESIS

THE EFFECTS OF DIFFERENT COPPER RATES ON SURVIVOR, EGG FECUNDITY AND THE RATE OF SYNTHESIED PROTEIN and GLYCOGEN AMOUNT OF ADULT *Pimpla turionellae* L.

Nilay YILMAZ

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Supervisor : Prof. Dr. İskender EMRE
Year: 2013, Pages: 51
Jury : Prof. Dr. İskender EMRE
: Assoc. Prof. Dr. Ramazan BİLGİN
: Asst. Prof. Dr. Pınar ÖZALP

In this study, the effects of different copper ($CuSO_4.5H_2O$) rates (0.000, 0.010, 0.025, 0.050 and 0.100 mg/100 ml) on the life span, egg production and hatchability, rate of synthesied protein and glycogen amount of adult endoparasioid hymenoptoreus *Pimpla turionellae* L. females were investigated by using chemically defined synthetic diets.

The effects of tested copper concentrations on the life expectancy,compared to the control group,was observed in the form of reduction inverse proportion to the quantities of copper applied in. Although there was a remarkable decline in the amount of eggs per individual, significant reductions in the rate of egg hatchability has been found on some days.

All doses of copper which was added to the feed has been effected in the form of a reduction on the amount of protein synthesied by *P. turionellae* females but the amount of glycogen has increased by the increasing of copper rate, compared to the control group.

Keywords: *Pimpla turionellae*, Copper, Protein and Glycogen

TEŞEKKÜR

Benden hiçbir zaman desteğini, deney çalışmalarım sırasında yardımlarını ve tecrübesini esirgemeyen değerli danışman hocam Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. İskender EMRE' ye teşekkür ederim.

Ayrıca Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Pınar ÖZALP' a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet SULANÇ' a ve Adıyaman Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa COŞKUN ve Yrd. Doç. Dr. Tamer KAYIŞ' a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca desteğini ve yardımlarını benden esirgemeyen laboratuvar arkadaşlarım Osman DURSUN, Süheyla İNKAYA, Gonca COŞKUN, Benay SEZER, Merve Saffet DURA ve Feyza TAŞ' a teşekkür ederim.

Maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen her zaman beni destekleyip cesaretlendiren tecrübelerinden yararlandığım anneme ve babama teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Son olarak kardeşlerim Mehmet Ali YILMAZ ve Okan YILMAZ' a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR III
İÇİNDEKİLER IV
ÇİZELGELER DİZİNİ VI
ŞEKİLLER DİZİNİ VIII
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 5
3. MATERYAL VE METOT 11
3.1. Stok Kültürünün Devamlılığı, Beslenmesi ve Deney Böceklerinin EldeEdilmesi 11
3.2. Deney Besinlerinin Hazırlanması 11
3.2.1. Kontrol Besinin Hazırlanması 11
3.2.2. $CuSO_4.5H_2O$ İçeren Besinlerin Hazırlanması 14
3.3. Deney Böceklerinin Beslenmesi 15
3.4. Verilerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi 15
3.4.1. Bakırın Yumurta Sayısı ve Yumurta Açılımı Üzerine Etkilerinin Saptanması 15
3.4.2. Glikojen ve Protein Özütlerinin Hazırlanmasına Kadar Böceklerin Saklanması 16
3.4.3. Böceklerin Homojenizasyonu 17
3.4.4. Protein Miktarının Saptanması 17
3.4.5. Glikojen Miktarının Tayini 19
4. BULGULAR 21
5. TARTIŞMA 35
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 39
KAYNAKLAR 41
ÖZGEÇMİŞ 51

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 3.1. Kontrol besininin bileşimi 12
Çizelge 3.2. Lowry ve ark. (1951) yöntemiyle protein miktarı ölçüm prosedürü..... 18
Çizelge 3.3. Van Handel (1985) yöntemiyle glikojen miktarı ölçüm prosedürü 19
Çizelge 4.1. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerininyaşam süresine etkileri .. 21
Çizelge 4.2. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurtasayısına etkisi 23
Çizelge 4.3. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurta sayısına günlere göre etkisi 24
Çizelge 4.4. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılım yüzdelerine etkisi 26
Çizelge 4.5.Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılımına günlere göre etkisi 28
Çizelge 4.6. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin toplam yumurta sayısıve açılımına etkileri 30
Çizelge 4.7. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri protein miktarına etkisi 31
Çizelge 4.8. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri glikojenmiktarına etkisi 32

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil.1.1. *P.turionellae*'nin konakcısını parazitleme anı 4
Şekil 4.1. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin yaşam süresine etkileri 22
Şekil.4.2. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurta sayısına etkisi 24
Şekil 4.3. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurta sayısına günlere göre etkisi 25
Şekil 4.4. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılımına etkisi 27
Şekil 4.5. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılımına günlere göre etkisi 28
Şekil 4.7. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri protein miktarına etkisi 31
Şekil 4.8. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri protein yüzdesine etkisi 32
Şekil 4.9. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri glikojen miktarına etkisi 33
Şekil 4.10. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri glikojen yüzdesine etkisi 33

1. GİRİŞ

Çevre kirliliği birçok sebeple ortaya çıkan, tüm canlıları direkt yada indirekt olarak etkileyen ve son yıllarda gündemi fazlaca meşgul eden bir problemdir. Buna neden olan en önemli etkenlerden biri ağır metallerdir. Metaller elektron vererek (+) değerlikli iyon haline geçebilen, asitlerde yer alan hidrojen iyonu ile yer değiştirebilen, kendi aralarında bileşik oluşturmayan fakat ametallerle bileşik oluşturabilen, oksitleri bazik olan, normal şartlar altında katı olup -cıva (Hg) hariç-ısı ve elektriği iyi ileten, metalik bir renk ve parlaklığa sahip elementlerdir. Bu fiziksel özellikleri taşıyan ve yoğunlukları 5 g/cm^3' den fazla olan elementler ağır metal olarak bilinirler (Järup, 2003; Hazer, 1992). Ekotoksikolojistler arasında ise ağır metaller çevre problemlerine neden olan metaller seklinde tanımlanmaktadır. Bunlar: kadmiyum (Cd), civa (Hg), çinko (Zn), bakır (Cu), nikel (Ni), krom (Cr), kobalt (Co), titanyum (Ti), demir (Fe), mangan (Mn), gümüş (Ag) ve kalay (Sn) olup hava, su ve toprak aracılığı ile fauna ve flora kirliliğine neden olurlar (Ortel, 1989; Ortel, 1991; Ortel 1995a; Türkan, 1995).

Çok az miktarda dahi tehlike oluşturan ağır metallerin atom numaralarının büyümesi ile doğru orantılı olarak toksisite dereceleri de artmakta ve bu da canlı sistemlerde kalıcı hasarlara yol açmakta, hatta ölümlere sebebiyet vermektedir (Uysal ve Bahçeci, 1996).Yapılan araştırmalar Se, Fe, Mn, Ce, Co gibi elementlerin doğal olarak yer kabuğundan sulara karıştığını, Mg, K ve Cu elementlerinin ise deniz suyunun doğal bileşenleri olup, hava ortamına bu kaynaklardan geçtiğini göstermektedir (Irwin, 1997).Atık sulardaki ağır metaller inorganik ve organik metaller halinde çözünebilir ya da çözünmeyen halde bulunabilirler. Ayrıca kirleticiler arasında öncelikli olarak kabul edilen ağır metallerin diğer organik kirleticiler gibi parçalanamadıkları, yok edilemedikleri ve farklı maddelerle çok kompleks yapılar oluşturarak zehir etkileriniarttırdıkları bilinmektedir(Fonesca ve ark., 2006).

Kentsel ve endüstriyel gelişmenin bir sonucu olarak yaygın bir şekilde kullanılan bakır birçok ortamda kirlenmeye ve dolayısı ile organizmalarda hasarlara neden olur (Munoz ve ark., 1991). Bakırın subletal derişimlerinin bazı canlılarda

büyüme, gelişme ve üreme üzerine olumsuz etkiler yaptığı birçok araştırıcı tarafından belirtilmiştir (Buckley ve ark., 1982; Hilmy ve ark., 1985). Kadmiyum, kurşun, bakır ve çinkonun hem total hemolenf içeriğinde, hem de serbest aminoasit kompozisyonunda bir azalışa yol açtığı gösterilmiştir (Ortel, 1995b). Bununla birlikte aynı metaller yüksek derişimlerine bağlı olarak hemolenf ve dokularda karbohidrat seviyelerini de değiştirebilmektedir (Ortel, 1996).Bakır sülfat en yaygın kullanılan zirai mücadele ilaçlarından birisidir. Bu bileşik, kültür balıkçılığında fungal ve paraziter hastalıkların tedavisinde, tarım alanlarında bitkileri tahrip eden zararlılarla mücadelede, havuzlarda zararlı otların yok edilmesinde ve su bitkilerinin büyümesinin kontrol altında tutulmasında sıkça kullanılan kimyasal maddelerden biridir (Arda ve ark., 2002; Boyd, 2010; Sağlam ve Ural, 2003).

Yapılan kronik birikim çalışmaları böcek embriyolarında Cu, Cd, ve Hg' nin, gelişim ve açılım oranlarını anormal şekilde etkilediğini göstermiştir (Beaty ve Marquardt, 1996). Ayrıca embriyo gelişimi, pupa oluşumu ve ergin çıkma oranları gibi bir böceğin tüm fizyolojik evrelerinde ağır metal birikiminin metabolik ve genetik deformasyonlara da neden olduğu geniş bir şekilde araştırılmıştır (Vuorive Kukkonen, 1996). Organizmaya alınan metaller proteinlerle birleşerek onların enzimatik ve yapısal fonksiyonlarını değiştirerek inhibe edebilirler, temel elementlerin yerine geçerek toksik etkilerini gösterebilirler. Bazı toksik metaller ise proteinlerle birleşerek hücre içinde birikime neden olurlar (Bremner, 1974; Yoshikava, 1982). Biyokimyasal düzeyde bu metallerin aşırı derişimlerinin neden olduğu olumsuz etkiler ATP ve ADP' nin fosfat grubuyla olan reaksiyonlar, hücre membranlarının zarar görmesi, -SH gruplarıyla olan reaksiyonları, esas iyonların yerine geçmesi ve esas metabolitlerle rekabet etmesidir. Ağır metaller, özellikle kurşun, peptid ve proteinlerin – SH gruplarıyla reaksiyonlara girerek bu moleküllerin hücredeki biyolojik fonksiyonuna engel olmakta ve bu nedenle azot ve protein miktarı derişim arttıkça azalmaktadır (Gregory, 1997)

Metallerin vücuda alınımı, fizyolojik etkileri ve salgılanması türlere göre değişiklik gösterdiği gibi, aynı zamanda eşey durumu, yaş, gelişim evresi, mevsimsel farklılıklar, fizyolojik aktivite gibi birçok etmene de bağlıdır (Rabitsch, 1995). Yapılan bu genelleme tüm omurgasızları içine alıyor olsa da mevcut çalışmaların

çoğunun aquatik organizmaları kapsıyor olması (Wada ve Fujinuki, 1976; Zaba ve Haris, 1978; George, 1982; Cinier ve ark., 1999; Keteles ve Fleeger, 2001) özellikle böcek türleri için yetersizliği ortaya koyması açısından dikkat çekicidir.

Bakır, metalik elementlerin büyük bir grubunu oluşturan iz elementlerin ilk sınıfında yer alır ve diğer ağır metaller gibi ekosistemde toksik kirliliğe yol açar. Yaklaşık 30 enzimin, örneğin sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz, amin oksidaz, askorbik asit oksidaz gibi, kofaktör olarak bakırı kullandığı bilinmektedir (Arellano ve ark., 1999). Ayrıca kemik oluşumu, kalp fonksiyonları, omuriliğin miyelinleşmesinde, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde, bağ dokusu gelişiminde ve doku pigmentasyonunda da etkin rol oynamaktadır (Cousins, 1985).

Her geçen gün doğada daha da fazla birikim gösteren ağır metaller, çevrenin doğal dengesini sağlamada önemli rolü olan birçok canlının ortadan yok olmasına neden olmaktadır. Bunlardan en önemli olanı belki de biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilen predatör böcek türü populasyonlarının azalması ve giderek yok olmasıdır. Ağır metallerin ekosistemden uzaklaştırılamadığı da göz önünde bulundurulacak olursa (Linde ve ark., 1996) sorunun önemi bir kez daha açığa çıkmaktadır.

Doğal çevrenin korunması amacıyla kullanılan doğal kontrol ajanlarının yüksek kalitede ve çok sayıda üretilmesi biyolojik mücadelenin başarısı açısından çok önemlidir. Singh (1977), in bu amaçla 750' nin üzerinde böcek türünün, örümcek ve akarların yapay besinlerle laboratuar koşullarında üretilebileceğini ifade etmesi, bu konuya verilen önemi bir kez daha göstermektedir. Parazitoid ve predatörlerin biyolojik savaş programlarında kitle halinde üretilmesinde, bunların çevreye salınmasından konukçuyu parazitleme yeteneğine kadar birçok konunun yanı sıra, zararlı maddelere karşı olan duyarlılıklarının bilinmesi, biyolojik kontrolün başarısı açısından çok önemlidir (Gülel, 1982; Hentz ve ark., 1997; Hentz ve ark., 1998; Uçkan ve Gülel, 2000).

Günümüzde farklı böcek takımlarına ait, bilimsel olarak tanımlanmış yaklaşık 68 bin parazitoid türü bilinmektedir (Gaston, 1991; Eggleton ve Belshaw, 1992; Godfray 1994). Bu tanımlanmış türler içerisinde yaklaşık 50 bin tanesi Hymenoptera takımına aittir (Gündüz ve Gülel 2005). Parazitik hymenopterler biyolojik

mücadelede özellikle Lepidoptera takımına ait zararlı türlerin mücadelesinde kullanılmaktadır (Gülel, 1982;Şengonca ve Peters, 1993; Gül ve Gülel, 1995; Setamou ve ark., 2002).

Çalışmada kullanılan Hymenopter endoparazitoit bir tür olan *Pimplaturionellae* L., Lepidoptera ordosunun değişik türlerinin pupasını parazitleyen polifaj bir parazit olmasından dolayı önemli bir biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılmaktadır. Kış mevsiminin düşük sıcaklıklarına dayanabilme özelliğine sahip larvaları, kışı konak pupaları içerisinde geçirebildiği gibi ergin olarak da kışlayabilen bir türdür (Adıyaman ve Aktümsek, 1996).



Şekil.1.1. *P.turionellae*'ın konakcısını parazitleme anı.

Her hayvan grubunda olduğu gibi böcekler de büyüme ve gelişmelerini tamamlamak için karbohidratlar, proteinler, lipitler, vitaminler, madensel tuzlar ve diğer besin bileşenlerine gereksinim duymaktadırlar (House, 1962, 1972, 1974; Dadd, 1973; Jacob ve Morugan 1989; Tsiropoulos 1992; Thompson ve Hagen, 1999). Protein ve glikojen birçok böcekte ana enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca proteinin böceklerde üreme performansını doğrudan etkilediği de bilinmektedir (Friend and Dadd, 1982; Dadd, 1985;).

Bu bilgiler doğrultusunda bakırın artan derişimlerinin (%0.010, %0.025, %0.050 ve %0.100 mg/ml) *Pimpla turionellae* L.erginlerinde yaşam süresi, yumurta sayımı ve açılımı, glikojen ve protein sentezi üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tanton ve Epilaj (1984), konukçu *Propsis atomaria* larvaları alınarak bunlarınparazitoidleri olan Tachinidler ve *Edya paropsidis* tarafından parazitlendikten sonraDDT ve fenitrotion uygulamasında konukçu içindeki parazitoidler etkilenmiş, *E.paropsidis* da ölüm oranı artmış konukçuya tutunan *E. paropsidis* pupasyonu başaramamıştır.

Ortel ve Vogel (1989), pupa parazitoidi olan *P. turionellae*'nın ortalama ömrü üzerine kadmiyumun sadece besin kontaminosyonu yoluyla etkili olduğunu ve Cd+Pb'un birlikte oksijen tüketimi üzerine etkisinin besin yolundan daha çok su yoluyla olduğunu tespit etmiştir.

Ortel (1991), *P. turionellae*'nın özellikle kadmiyumlu besinle beslenmesi sonucu su içeriğinde bir artma olduğunu, aynı zamanda total lipit ve protein miktarında önemli bir azalmanın olduğunu göstermiştir.

Bischof (1995), parazitlenmiş *Lymantria dispar* larvalarının hemolenf vetotal vücut dokularındaki karbohidrat ve lipit derişimleri üzerine ağır metal iyonu stresinin etkilerini incelemiş ve total vücut dokularında glikojen miktarının önemli derecede azaldığını tespit etmiştir

Ortel (1995), ağır metalle kontamine olmuş sentetik besinle beslenen Lymnatriidae familyasına ait *Gypsy-moth* larvalarının, hem total hemolenf içeriğinde hem de serbest amino asit bileşiminde bir düşüş olduğu sonucunu yorumlamıştır.

Crawford ve ark. (1996), Acrididae familyasından herbivor bir böcek türüolan *Locusta migratoria*'nın farklı oranlardaki bakır ve kadmiyumla kontamineolmuş mısırla beslenmesi sırasında ağır metallerin besin zinciri yoluyla barsaktan vücut sıvısına alındığını, kadmiyumun bakırdan daha fazla biriktiğini ve besinsel regülasyonda kadmiyumun etkili olmayarak dişi ve erkekte benzer etkilere maruz kaldığını göstermiştir.

Ortel (1996), *Gypsy-moth* larvaları, Cd, Pb, Cu ve Zn gibi ağır metallerlekontamine olmuş besinlerle beslenmiş ve her bir metalin artan konsantrasyonuna bağlı olarak hemolenf ve dokularda karbohidrat seviyelerinin değiştiği gözlenmiştir. Özellikle Cd ve Zn ile beslenen böceklerde hemolenf şekeri

olan trehaloz oranı ve buna bağlı olarak larvanın glikoz ve glikojen oranlarının metal konsantrasyonunun artışı ile düştüğü deneysel olarak gösterilmiştir.

Vuori ve Kukkonen (1996), Hydropsychidae familyasından sucul bir böcektürü olan *Hydropsyche pellucidula* larvalarında Al, Cd, Cu, Pb ve Zn gibi çeşitli metal derişimlerinin vücut yüzeyindeki dokular tarafından absorblandığını ve ekzokütikül oluşumunu etkileyerek morfolojik anormalliklere neden olduğunu göstermiştir.

Uysal ve Bahçeci (1996), kurşun nitratın *Drosophila melanogaster* larvalarının tükrük bezi politen kromozomları üzerine olan etkilerini incelemiştir. Araştırıcılar kurşun nitratın kromozomal aberasyonlara neden olduğunu göstermişlerdir.

Jaglan ve ark., (1997), nohut ve pamuk bitkilerinin, neem tohum ve yeşil yapraklarından elde edilen ekstraktlarla ilaçlanması durumunda *Helicoverpa. armigera* dişilerinde, ekstraktın artan dozlarına paralel olarak yumurta veriminin ve doğurganlığın azaldığını bildirmiştir.

Özkan ve Emre (1997), Organofosforlu bir insektisit olan malationla yaptıkları çalışmada düşük dozdaki malationun (0,001 ppm) *P. turionellae*' de toplam yumurta sayısını %50 oranında arttırmasına rağmen, 0,05 ve 0,01 ppm' lik malation konsantrasyonun yaşam süresini ve yumurta verimini önemli ölçüde düşürdüğünü göstermişlerdir.

Pantani ve ark., (1997), 26 farklı kimyasalı iki amfipod tür, *Gammarus italicus* ve *Echinogammarus tibaldii* üzerinde akut toksisite etkilerini bulmak üzere denemiş ve *E. tibaldii*' nin 15 bileşiğe karşı *G. italicus*' un da diğer 8 bileşiğe karşı duyarlı olduklarını göstermişlerdir.

Rabitsch (1997), metal kirliliği olan bölgelerden toplanan *Formica pratensis*(Retzius), *Formica polyctena* (Forster) ve *Camponotus lignperda* (Latreille) karınca türlerinin işçilerinin farklı hücrelerindeki metal düzeylerini karşılaştırılmış, tüm türlerde en yüksek metal (Pb, Cd, Zn, Cu ,Fe ve Mn) düzeyleri orta mide de bulunmuştur.

Uysal ve Bahçeci (1997), *D. melanogaster*' in gelişimi üzerine kurşun nitratınetkisini incelemiş ve bu maddenin böceğin metamorfoz süresini uzattığı,

meydana getirdikleri yavru sayısında bir azalmaya neden olduklarını tespit etmişlerdir.

Rayms-Keller ve ark., (1998), ağır metallerden Cu, Cd, ve Hg' nin Culicidaefamilyasından (Diptera) *Aedes aegypti'*nin gelişimi ve biyolojik etkileriniaraştırdıkları çalışmada, birinci evredeki larvaların artan Cu, Cd ve Hg oranlarına bağlı olarak mortaliteye uğramış aquatik böceklerde lethal konsantrasyonları göstermişlerdir.

Van der Geest ve ark., (1999), nehir kenarında yaşayan karakteristik böcekler olan *Epheron virgo* ve *Cyrnus trimaculatus*' un bakır ve diazinona karşı duyarlılıklarını araştırmış ve bu böceklerin sucul böceklere oranla bu iki zehre karşı daha duyarlı olduklarını göstermişlerdir.

Gelegen ve Yeşilada (2000), *D. melanogoster*' in bazı gelişimsel özellikleri üzerine kadmiyum nitratın etkilerini araştırdıkları çalışmalar ve ergin dönemde verilen kadmiyum nitratın derişim artışına bağlı olarak yumurta verimini inhibe ettiğini ve larvadan ergine gelişim oranının derişim artışı ile azaldığını bulmuşlardır.

Kazimirova ve Ortel (2000), Tephritidae familyasından (Diptera) *Ceratitiscapitate*' de yaptıkları çalışmada kurşun, kadmiyum ve bakır gibi metallerin besin yoluyla birikimini ve bu türün pupal parazitoidi olan Proctotrupoidae familyasından (Hymenoptera) *Coptera occidentalis*' e bu metallerin transferinde kadmiyum ve çinkonun kurşun ve bakırdan daha fazla biriktiğini ve sonuçta strese neden olduğunu, metal stresi sonucunda dişilerin yüzde oranının bakır ve kadmiyumlu besinlerden etkilendiğini göstermişlerdir.

Moe ve ark. (2001), sublethal dozda toksik maddelerin *Lucilia sericata* populasyonunun büyüme oranına etkilerini araştırmışlar ve besin yoluyla alınan kadmiyumun hem larval evrede hem de ergin evrede birikim gösterdiğini, ayrıca yetişkinlerde ömür uzunluğunu ve fertiliteyi düşürdüğünü bulmuşlardır.

Shin ve ark. (2001), *Galleria mellonella* L.' da kadmiyumun total lipit ve yağ asitleri üzerine etkilerini araştırmış ve kadmiyumun total lipid bileşenlerini önemli derecede azalttığını bulmuşlardır.

Martinez ve ark.,(2002), 3 farklı bakır ve 3 farklı kadmiyum oranı uyguladıkları *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae)larvalarında yaptıkları

çalışmada bu metallerin teratojenik ajanlar gibi büyümeye etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir.

Michaud J.P. ve Angela K. Grant, (2003), Florida' da yaptıkları bir çalışmada petrol yağı ile karıştırılmış bakır sülfat formülasyonuna maruz bıraktıkları 3 coccinellid türündeki denemelerinde, yetişkin evreye ulaşma sürelerinde bir değişim gözlenmezken, *Olla v-nigrum* larvalarının gelişim sürecinde kayda değer bir artış olduğu görülmüştür. Bu larvalar kontrol grubuna göre daha uzun bir üreme süreci sergilerken yumurta sayılarında düşüş gözlemlemişlerdir.

Cervera ve ark. (2004), *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae)' da kadmiyumun gelişme ve verimlilik üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında kadmiyumun kontrol grubuna göre ovoposition oranını ve yumurta açılımını önemli derecede azalttığını bulmuşlardır.

Büyükgüzel (2006), yaptığı çalışmada *Galleria mellonella*' da malation ile oksidatif stres oluşturmuş ve konukçusu olan *P. turionellae' de*ergin çıkışı, ömür uzunluğu ve oksidatif ve antioksidatif etkilerini incelemiştir. 100 ppm malation konsantrasyonunun *G. mellonella'*da pupa oluşturma oranını ve ergin *P. turionellae* çıkışını önemli ölçüde azalttığını, hem konakta hem de konukçuda MDA düzeyinin arttığını göstermiştir.

Sak ve ark. (2006), *P. turionellae'*da sipermetrinin toplam vücutağırlığı, glikojen, protein ve lipit bileşimine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında dişi böceklerin sipermetrinden daha fazla etkilendiğini, tüm gelişim evrelerinde protein, lipit ve glikojen düzeylerinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir.

Tapi ovan Ooik ve ark., (2006), ağır metal kirliliğinin geometrid güve *Epirrita autumna*' **n** gelişimi ve immün yanıtı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Büyüme oranında kontrol grubuna oranla dikkate değer düşüş tespit etmişler, immun yanıtın kirliliğe maruz kalan kelebeklerde kontol kelebeklerine göre daha yüksek olmasını da çevre kirliliğinin böceklerde bağışıklık sistemini geliştirdiğine dayandırmışlardır.

Armindo Rodrigues ve ark., (2008) Ca, Cd, Cu, Mg, Mn, Pb, Rb ve Zn konsantrasyonlarını toprak, ot, ve volkanik aktiviteye maruz kalan ve kalmayan yerlerden ele geçirilen *Pseudaletia uninpuncta* larvalarında ölçmüş,Cu, Mn, Rb ve

Zn seviyelerinin, Pb ,Cd ve Mg seviyeleri ile benzer şekilde yüksek düzeyde olduğunu kaydetmiştir.

Wu ve ark., (2008),bakır ve kadmiyumun *Boettcherisca peregrina* larvalarının malpighi tüpleri ve barsaklarındaki ultrastrüktürel etkilerini elektron mikroskobu altında incelerken kontamine larvaların barsaklarının koyu ve kalın bir hal aldığını ve yüzeyde bir çeşit tümör oluştuğunu tespit etmişlerdir.

Gülfer ve ark. (2009), Organofosforlu bir insektisit olan malationun *P.turionellae'*nin eşey oranına etkilerini araştırdıkları çalışmalarında 0,001, 0.010,0.100 ve 0.500 ppm malation konsantrasyonuna sahip sentetik besinle besledikleri *P.turionellae'* de oral yolla alınan yüksek dozdaki malationun (0.500 ppm) dişi bireyçıkışını önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir.

Sak ve Uçkan, (2009), Cypermethrin' in*G. mellonella'*nın pupalaşma ve ölüm oranına etkilerini araştırmışlar, ağırlıklarına göre 2gruba ayırdıkları larvalarda pupalaşma ve ölüm oranının büyük oranda benzerlikgösterdiğini, sipermethrin dozunun arttıkça larval gelişim ve pupalaşma süresiningeciktiğini, pupalaşma yüzdesinin azaldığını ve ölüm oranının arttığınıbelirtmişlerdir.

Kayış ve Emre (2012), ağır metal stresinin endoparazitoid *P. turionellae'* nın protein ve glikojen sentezine etkilerini araştırdıkları çalışmada besin yoluyla uyguladıkları kadmiyumun sentezlenen protein ve glikojen miktarı üzerinde önemli etkileri olduğunu kaydetmişlerdir. Glikojen sentezinde kontrole oranla besin verilişinin 10. gününden itibaren artma gözlenirken, protein sentezinde 20. günde tüm konsantrasyonlarda kontrole göre azalma, 30. günde ise en düşük konsantrasyonda artış, en yüksek konsantrasyonda ise önemli ölçüde azalma gözlenmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Stok Kültürünün Devamlılığı, Beslenmesi ve Deney Böceklerinin Elde Edilmesi

Sunulan çalışmada oral yolla alınan farklı bakır (Cu^{+2}) oranlarının endoparazitoidbir hymenopter türü olan *P.turionellae*erginlerinin yaşam süresi, yumurta verimi ve açılımı ile protein, glikojen, lipit miktarlarına etkileri araştırılmıştır. Deneyde kullanılan böcek genel kültürünün devamlılığı, böceklerin %50±5 bağıl nem içeren, 24±2ºC sıcaklık ve 12 saat aydınlık fotoperiyodu uygulanan laboratuvar koşullarında, büyük kafesler içinde %50 bal çözeltisi ve büyük bal mumu güvesi *G. mellonella*pupuhemolenfi ile beslenmeleriyle sağlandı.

P.turionellae bireylerini üretmek için üç günde bir dişilereparazitlemeleriamacıyla*G. mellonella*pupu verildi ve bu puplaryaklaşık bir saat süreyle kafeslerde tutuldu. Bekleme süresinin sonunda parazitlenmiş olan puplar alınıp, ağzı tülbentle kapatılmış plastik kaplara konuldu ve yine aynı laboratuvar koşullarında karanlık bir ortamda böceklerin gelişmeleri sağlandı.

Deneylerde konak olarak kullanılan *G.mellonella* pupaları ise 28±2ºC sıcaklıkta ve %60±5 bağıl nemiçeren laboratuvar koşullarında Bronskill(1961) tarafından belirlenen besin kültüründe yetiştirilen larlavalardan elde edildi.

3.2. Deney Besinlerinin Hazırlanması

3.2.1. Kontrol Besinin Hazırlanması

Çalışmada kontrol besini olarak Emre (1988) tarafından geliştirilen kimyasal yapısı bilinen ve bileşimi Çizelge 3.1 de verilen sentetik besin kullanıldı.

Çizelge 3.1. Kontrol besininin bileşimi (Emre, 1988).

Besin Bileşeni	mg/100 ml besin	Besin Bileşeni	mg/100 ml besin
L-Amino asit karışımı	**3000.00**	**Suda çözünen vitamin karışımı**	**284.38**
Alanin	210.00	Askorbik asit	10.6105
Arjinin-HCl	150.00	Biotin	0.0379
Aspartik asit	195.00	Ca-Pentotenat	2.8042
Fenilalanin	165.00	Folik asit	0.1137
Glisin	192.00	Inositol	17.0526
Glutamik asit	315.00	Kolin klorür	246.3158
Hidroksipirolin	57.00	Nikotinik asit	5.6842
Histidin	120.00	Pridoksin -HCl	0.2842
Izolösin	156.00	Riboflavin	1.3263
Lizin	159.00	Tiamin-HCl	0.1516
Lösin	231.00		
Metionin	90.00	**İnorganik tuz karşımı**	**75.00**
Prolin	246.00	$CaCl_2$	3.6684
Serin	195.00	$CuSO_4$ $5H_2O$	0.6721
Sistein	39.00	$CoCl_3$ $6H_2O$	0.5798
Tirozin	120.00	$FeCl_3$ $6H_20$	2.1583
Treonin	165.00	K_2HPO_4	45.0129
Triptofan	60.00	$MgSO_4$ $7H_2O$	15.7853
Valin	135.00	$MnSO_4$ H_2O	6.2201
		Na_2HPO_4 $12H_2O$	0.0479
Lipit karışımı	**540.96**	$ZnCl_2$	0.8552
Kolesterol	138.8430		
Linoleik asit	8.0331	Ribonükleik asit	75.00
Linolenik asit	25.5537	Sükroz	14000.00
Oleik asit	10.5950	2N KOH	280.00
Palmitik asit	0.6777	2N K_2HPO_4*	14.03
Stearik asit	0.2314	Saf su	100 ml oluncaya kadar
Tween 80	357.0248		

* : Vitamin karışımı çözeltisine ilave edilmiştir.

Çizelge3.1' de verilen kimyasal yapısı belirli besini hazırlamak için öncebesin bileşenlerinden L-amino asit karışımı, vitamin karışımı çözeltisi, lipit karışımı çözeltisive inorganik tuz karışımı stok çözelti ve karışımlar halinde hazırlandı. Bu stok karışım ve çözeltilerin hazırlanmasında şu yöntemler kullanıldı:

L-Amino asit karışımı: Nicel ve nitel bileşimi *G. mellonella*hemolenfi amino asit bileşimine (Wyatt ve ark., 1956) göre hazırlanan bu karışım 100 gramlık stok halinde hazırlandı. Bu karışımda bulunan amino asitler ve gram olarak değerleri şu şekildedir. Alanin 7.0; Arjinin-HCl 5.0; Aspartik asit 6.5; Fenilalanin 5.5; Glisin6.4;Glutamik asit 10.5; Hidroksiprolin 1.9; Histidin 4.0; İzolösin 5.2; Lizin 5.3; Lösin 7.7; Metionin 3.0 Prolin 8.2; Serin 6.5; Sistein 1.3; Tirozin 4.0; Treonin 5.5; Triptofan 2.0; Valin 4.5. Belirtilen miktarlardaki amino asitler bir porselen havan içinde ezilerek toz haline getirildi ve bu şekilde karışımın homojen bir yapı haline gelmesi sağlandı. Karışım ışık almaması için ışık geçirmeyen renkli bir şişeye konuldu ve ağzı sıkı bir şekilde kapatılarak saklandı. 100 mililitrelik besin içerisine bu karışımdan 3.0 g katıldı.

Vitamin karışımı çözeltisi: Stok vitamin çözeltisi gram olarak şu vitaminleriiçermektedir: Askorbik asit 0.1120; Biotin 0.00040; Ca– Pantotenat 0.0296; Folik asit 0.0012; İnozitol 0.1800; Kolin klorür 2.6000; Nikotinik asit 0.0600; Pridoksin– HCl0.0030; Riboflavin 0.0140; Tiamin-HCl 0.0016; Belirtilen miktarlarda tartılan vitaminler bir erlenmayer içine konuldu ve üzerine 90.0 ml saf su eklendi ve daha sonra manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözünmeleri sağlandı.Yukarıda belirtilen suda çözünen vitaminleri içeren bu çözeltiye daha sonra 0.850 ml 2N K_2HPO_4ilave edilerek çözeltinin pH sının 6.5 olması sağlandı. Hazırlanmış olan bu stokçözelti kullanılıncaya kadar -10^oC de saklandı. Çözelti kontrol besine eklenmedenönce oda sıcaklığına gelmesi sağlandı ve manyetik karıştırıcıda tekrar karıştırıldı ve daha sonra 100 ml besine 9 ml ilave edildi.

Lipit karışımı: Karışımda bulunan yağ asitleri ve kolesterol miktarı gram olarak şu şekildedir: Kolesterol 0.840; Linolenik asit 0.1546; Linoleik asit 0.0486; Oleik asit 0.0641; Palmitik asit 0.0041; Stearik asit 0.0014. Yağ asitleri ve kolesterol bir homojenizatör tüpüne kondu ve üzerine 2.16 g Tween 80 ve 32.0 ml sıcak saf su konulduktan sonra UltraTurrax T25 marka homojenizatörde 22.000 devirde 5 dakika

süreyle karıştırıldı. Elde edilen karışım bir erlenmayere konuldu ve ağzı sıkıca kapatılıp −10°C de kullanılıncaya kadar saklandı.Lipid karışımı da yine kontrol besine eklenmeden önce oda sıcaklığında sıvı hale gelmesi sağlandı. Karışım daha sonra manyetik karıştırıcıda iki dakika süreyle karıştırılarak homojenliği sağlandı. 100 ml besine bu emülsiyondan 6 ml ilave edildi.

İnorganik tuz karışımı: Bu karışımı hazırlamak için 0.8580 g $CaCl_2$; 0.1572 g$CuSO_4.5H_2O$; 0.1356 g $CoCl_3.6H_2O$; 0.5048 g $FeCl_3.6H_2O$; 10.5280 g K_2HPO_4; 1.4548 g $Na_2HPO_4.12H_2O$; 3.6920 g $MgSO_4.7H_2O$; 0.0112 g $MnSO_4.H_2O$; 0.2000 g $ZnCl_2$, bir beher içine kondu ve üzerine 100 ml sıcak su ilave edilerek tuzların çözülmeleri sağlandı. Daha sonra bu çözelti 150°C deki etüvde karışımın ağırlığı sabit oluncaya kadar bekletildi. Bu süre sonunda suyundan tamamen arınan tuz karışımı daha sonra bir porselen potaya konularak dövüldü ve karışımın homejenliğisağlandı. Elde edilen stok karışım, ağzı sıkı bir şekilde kapanan renkli bir şişeye kondu ve kullanılıncaya kadar nem içermeyen bir ortamda saklandı. 100 ml' lik besine bu tuz karışımından 0.075 g katıldı.

Kontrol besinin hazırlanması: Çizelge 3.1 de belirtilen miktarlarda RNA, L-aminoasit karışımı, inorganik tuz karışımı ve sükroz bir behere konuldu ve bumaddeler üzerine toplam su miktarının yarısı kadar 80°C de saf su eklenerekçözünmesi sağlandı. Çözelti soğutuldu ve daha sonra üzerine lipit karışımı, vitamin karışımı ve pH' yı6.5' e ayarlamak için 2N KOH eklendi. Bu aşamalardan sonra oluşan çözeltinin hacminin 100 mililitreye tamamlanması için saf su eklendi. Bu şekilde deneyde kullanılacak olan kontrol besini hazırlandı. Erlenmayer içerisine alınan bu stok besin ağzı sıkıca kapatılarak +4°C de muhafaza edildi.

3.2.2. $CuSO_4.5H_2O$ İçeren Besinlerin Hazırlanması

Sunulan çalışmada biri kontrol (%0.00 mg/ml Cu^{+2}) ve dördü defarklıkonsantrasyondabakır (Cu^{+2}) içeren besin kullanıldı. Her bir bakır konsantrasyonuhazırlamak için $CuSO_4.5H_2O$kullanıldı. Stok olarak hazırlanan sentetik besinden 100' er ml alındı veiçerisinde %0.010, %0.025, %0.050 ve %0.100 mg/mlCu^{+2} olacak şekilde $CuSO_4.5H_2O$ eklenerek manyetik karıştırıcıda karışım

homojen hale gelinceye kadar karıştırıldı. Elde edilen besinlere kontrol besininin saklama koşulları uygulandı.

3.3. Deney Böceklerinin Beslenmesi

Deneylerde pupalardan yeni çıkmış, henüz besin almamış ve çiftleşmemiş*P. turionellae*ergin dişileri kullanıldı. Her deney serisinin her bir tekrarı için bu dişilerden 5 birey alındı ve 1000 ml' lik behere konularak ağzı çift katlı tülbentle kapatıldı. Böylelikle her bir deney serisinin her bir tekrarı için biri kontrol olmak üzere toplam beş deney ortamı hazırlandı.

Böceklerin beslenmesi, 3x3 cm boyutundaki kağıt parçaları üzerine eşit miktarlarda damlatılan besinlerin böceklere verilmesi ile sağlandı.Beherlerin içine bırakılan besin 1 saat süre ile tutularak böceklerin beslenmeleri sağlandı. Deney periyodu süresince bu işlem her gün aynı saatte tekrarlandı. Böcek dışkıları ile kirlenen beherler kontaminasyonu engellemek amacıyla belirli periyotlarda saf sulu sterilpamuk yardımı ile temizlendi.

3.4. Verilerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi

3.4.1. Bakırın Yumurta Sayısı ve Yumurta Açılımı Üzerine Etkilerinin Saptanması

Farklı bakır konsantrasyonlarının (%0.00, %0.010, %0.025, %0.050 ve %0.100 mg/mlCu^{+2}) yaşam süresi, yumurta sayısı, yumurta açılımı üzerine olan etkilerinin de araştırıldığı bu çalışmada deney böceklerinin deney için alınmasını takip eden10, 13, 16, 19, 22, 25, 28 ve 31. günlerde üçer adet *G.mellonella* pupası verilerek parazitleme yapıldı.

Parazitleme işlemi yapılacağı zaman *G. mellonella*pupaları, deney böcekleritarafından besin olarak kullanılmalarını önlemek amacıyla, iki kat kafes teli ilesarıldı ve bu şekilde deney böceklerinin pupalara sadece yumurtalarını bırakmaları sağlandı. Parazitlenecek pupaların konduğu tel kafesler 25 cm^2 alana sahip iki kafes

teli parçası üst üste konularak pupanın bu tel kafeslere kolayca yerleştirilebilmesi için ortasına bir bombe yapılarak elde edildi. Tel kafeslerin boşta kalan alt kısımları alüminyum folyo ile kapatıldı. Parazitleme sırasında tel kafeste bulunan bombeye bir pupa yerleştirildi ve bu şekilde dişi deney böceklerinin ovipozitörlerini kullanmak vasıtasıyla yumurtalarını pupanın içine bırakması sağlandı.

Parazitlenmek üzere bırakılan *G. mellonella*pupaları 1 saat süre ile deney beherlerinde bekletildi. Bu süre sonunda tel kafeslerden çıkarılan pupalar embriyonik gelişmelerini tamamlamak için laboratuvar koşullarında 24 saat süre ile ayrı ayrı petri kaplarında karanlık ortamda bekletildi ve süre sonunda pupalar disekteedilerek yumurta sayımı yapıldı.

Diseksiyon işlemi içinde %0.08' lik NaCl çözeltisi bulunan petrikaplarındaince uçlu bir pensler kullanılarak yapıldı. Açığa çıkarılan yumurtalar yumuşak ince uçlu bir fırça yardımıyla yine içinde %0.08' lik NaCl çözeltisi bulunan saat camlarına alınarak sayıları saptandı. Burada 24 saat süre ile karanlık ortamda ve aynı laboratuvar koşullarında bekletilen yumurtalar, süre sonunda binoküler mikroskop altında incelendi ve açılan yumurta sayısı belirlendi. Deneyin her tekrarında aynı işlem uygulandı ve behere konan 3 pupa üzerinde yapılan parazitleme işleminde bırakılan toplam yumurta sayısı, ayını beherdeki böcek sayısına sayısına bölünerek dişi birey başına düşen ortalama yumurta sayısı hesaplandı.. Bırakılan yumurtaların açılım oranları ise açılan yumurtaların bırakılan toplam yumurta sayısına göre yüzdelerinin hesaplanmasıyla elde edildi.

3.4.2. Glikojen ve Protein Özütlerinin Hazırlanmasına Kadar Böceklerin Saklanması

Deney süresi sonunda dişi bireyler $1X10^{-4}$ g hassaslığa sahip hassas terazide tartılarak yaş ağırlıkları alındı ve ağzı kapaklı tüplere aktarıldı. Tüplerin içerisine 5 ml %10 trikloroasetik asit (TCA) konuldu. Her tekrarın her bir konsantrasyonunun dişileri ayrı ayrı tüplere konularak $+4^{o}$C lik buzdolabında özütler hazırlanıncaya kadar bekletildi.

3.4.3. Böceklerin Homojenizasyonu

Böcekler 1/30 oranında fosfat tamponu (pH7.4) içerisinde Ultra Turrax T25 marka homojenizatör ile 24.000 devir/dk da homojenize edildi. Homojenat 10000 devir/dk da 30 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen supernatant protein miktarının saptanmasında, dipteki pellet ve yaklaşık 0.2 ml süpernatant ise glikojen miktarının saptanmasında kullanıldı.

3.4.3.1. Protein Miktarının Saptanması

Protein miktarının saptanmasındaLowry ve arkadaşları (1951) tarafından gösterilen yöntem kullanılmıştır.

Prensip

Proteinlerin alkali $CuSO_4$ ilavesiyle fosfotungustik asit ile mavi renkli kompleks oluşturması ilkesine dayanır.

Kullanılan Çözeltiler

Çözelti A: [% 2 Na_2CO_3 (0.1 N NaOH içinde)] : 2 g Na_2CO_3 tartıldı ve 0.1 N NaOH içinde toplam hacim 100 ml olacak şekilde çözüldü.

Çözelti B1: (%1 $CuSO_4.5H_2O$): 1 g $CuSO_4.5H_2O$ tartıldı ve çözelti bidistile saf su ile toplam hacim 100 ml olacak şekilde çözüldü.

Çözelti B2: (%2 Na-K-tartarat): 2 g Na-K-tartarat tartıldı ve çözelti bidistile saf su ile toplam hacim 100 ml olacak şekilde çözüldü.

Çözelti C: 50 hacim çözelti A, 1 hacim 1/1 oranındaki çözelti B1 ve B2 karışımı ile karıştırıldı.

Folin-ciocalteu çözeltisi: Kullanılmadan önce 1/1.5 oranında bidistile saf su ile seyreltildi.

Çizelge 3.2. Lowry ve ark. (1951)yöntemiyle protein miktarı ölçüm prosedürü

	Kör	Standart	Örnek
Saf su (ml)	0.3	-	-
Standart (ml)	-	0.3	-
Örnek (ml)	-	-	0.3
Çözelti C (ml)	3	3	3
Karıştırılır ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilir			
Folin-ciocalteu (ml)	0.3	0.3	0.3

Protein miktarlarının saptanmasında önce 100 ml si 1 gr albümin (Sigma; A-2153) içeren bir stok çözelti hazırlandı ve bu çözeltiden seyreltme yöntemi ile 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 ve 0.8 mg/ml albümin içeren standart çözeltiler elde edildi. Her bir standart çözeltiye Lowry ve ark.,(1951) protein tayini metodu kullanılarak spektrofotometrede(Cecil 5000) 750 nm de ışık absorbsiyon değerleri okundu ve elde edilen verilerden aşağıdaki regresyon denklemi elde edildi.

$$\mathbf{y = 0,7412x + 0,0258 \ (R^2=0,9947)} \qquad (3.1)$$

Örneklerin protein miktarları okunan absorbansların bu regresyon denkleminde yerine konulmasıyla hesaplandı.

Protein miktarlarının belirlenmesi için kör tüpüne 0.3 ml bidistile saf su üzerine 3 ml çözelti C eklendi ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 0.3 ml Folin-ciocalteu ilave edildi. 30 dakika bekletildikten sonra 750 nm de okuma yapıldı. Örneklerin okunması için 0.3 ml örnek üzerine 3 ml çözelti C eklenerek oda sıcaklığında 15 dk bekletildi ve üzerine 0.3 ml Folin-ciocalteu ilave edilerek 30 dakika bekletildi. Daha sonra 750 nm de köre karşı absorbans değerleri okundu. Elde edilen ışık absorbsiyon değeri regresyon doğrusu denkleminde yerine konularak bir deney serisinin bir tekrarındaki böceklerin toplam protein miktarı elde edildi. Bu değer böcek sayısına bölünerek birey başına düşen protein miktarı saptandı. Yaş ağırlığa göre birey başına düşen protein oranı ise birey başına düşen protein miktarının 100 ile çarpımının yaş ağırlığa bölünmesiyle elde edildi.

3.4.3.2. Glikojen Miktarının Tayini

Glikojen miktarının tayininde Van Handel' in (1985) geliştirmiş olduğu yöntem kullanıldı.

Kullanılan Çözeltiler:

Antron Çözeltisi: 750 mg antron tartıldı, 150 ml bidistile saf su ve 380 ml konsantre H_2SO_4 içerisinde çözüldü.

%2' lik Sodyum Sülfat (Na_2SO_4) çözeltisi: 2 gr Na_2SO_4 tartıldı ve son hacim 100 ml olacak şekilde bidistile saf su ile çözüldü.

Kloroform/metanol Karışımı (1/2): 10 ml kloroform ve 20 ml metanolerlenmayer içerisinde karıştırıldı ağzı sıkıca kapatılarak saklandı.

Çizelge 3.3. Van Handel (1985) yöntemiyle glikojen miktarı ölçüm prosedürü

	Kör	Standart	Örnek
Saf su (ml)	0.2	-	-
Standart (ml)	-	0.2	-
Örnek (ml)	-	-	0.2
Antron (ml)	1	1	1
90^oC de 15 dk bekletilir ve buzdolabında soğutulur			

Glikojen miktarının tayininden önce mililitresi 0.1 g saf glikojen (Sigma G-8751) içeren bir stok çözelti hazırlandı ve bundan seyreltme yöntemi ile 0.005, 0.010, 0.025, 0.050, ve 0.075 mg/ml glikojen standart çözeltileri elde edildi. Bu glikojen standardı serisine Van Handel (1985) metodu uygulanarak örneklerin ışık absorbsiyon değerleri 625 nm dalga boyundaki spektrofotometrede (Cecil 5000) okundu ve verilerden regresyon denklemi elde edildi.

$$\mathbf{y = 0,457x - 0,062 \ (R^2=0,997)} \qquad (3.2)$$

Örneklerin glikojen miktarlarının tayininde ise her bir tüpe önce 100 µl sodyum sülfat eklendi ve üzerine 900 µl kloroform-metanol (1:2) karışımı ilave

edildikten sonra 15.000 devirde 4 dksantrifüj edildi. Dipte kalan pellet ve yaklaşık 0.2 ml süpernatant alınarak 90^{o}C de ki sıcak su banyosuna kloroform-metanolun tamamen uçması sağlandı. Tüpler soğutulduktan sonra üzerlerine 1 ml antron çözeltisi eklenerek tekrar 90^{o}C de 15 dakika bekletildi. Süre sonunda buzdolabında soğutulan tüplerin absorbansı 625 nm de okundu. Elde edilen absorbsiyon değerleri regresyon denkleminde yerine konularak örneğin 1 ml içindeki glikojen miktarı mg cinsinden elde edildi. Daha sonra bu değer o serideki böcek sayısına bölünerek birey başına düşen glikojen miktarı saptandı. Yaş ağırlığa göre birey başına düşen glikojen oranı ise birey başına düşen glikojen miktarının 100 ile çarpımının birey başına düşen yaş ağırlığa bölünmesiyle elde edildi.

Tüm deneyler değişik zamanlarda üçer kez tekrar edildi. Deney periyodu süresince kaçan veya deney hataları sonucu ölen böcekler değerlendirmeye alınmadı. Bir deney serisinde elde edilen veriler kontrol besini ile ve kendi aralarında günlere göre karşılaştırılmak suretiyle değerlendirildi. Verilerin karşılaştırılmasında varyans analiz yöntemi, ortalamalar arası farkın önem kontrolünde ise StudentNewmanKeul' s (SNK) testi bilgisayarda SPSS 20.0 istatistik veri paketi kullanılarak uygulandı. Ortalamalar arası fark 0.05 olasılık seviyesinde F değerinden büyük olduğunda önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

Farklı bakır derişimlerinin (0.000, 0.010, 0.025, 0.050 ve 0.100 mg/100 ml) ergin *P. turionellae* dişilerinin yaşam süresi üzerine etkileri Çizelge 4. 1 ve Şekil 4. 1' de verilmiştir.

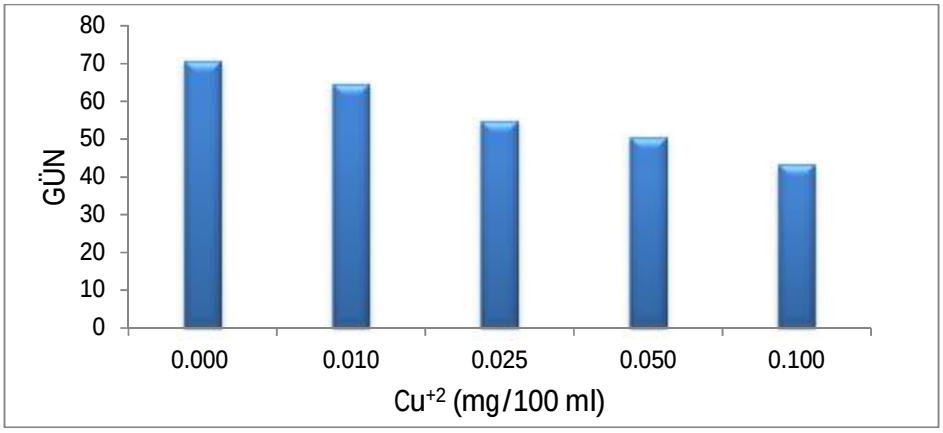
Çizelge 4.1. Bakır derişimlerinin *P. turionella* dişilerinin yaşam süresine etkileri

	YAŞAM SÜRESİ
Cu^{+2} (mg/100 ml)	GÜN ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$) *
0.000 **	70.73 ± 1.90 a
0.010	64.59 ± 0.92 a
0.025	54.67 ± 1.42 b
0.050	50.40 ± 1.78 b
0.100	43.23 ± 3.95 c

* : SNK: Aynı harfi içeren veriler arasında istatistik ayırım yoktur (P>0.05).
($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$) : Aritmetik ortalama ± Standart hata
** : Kontrol

Besinin bakır içermemesi (kontrol besini) ve 0,010 mg/ml Cu^{+2} içermesi denenen diğer bakır derişimlerine oranla istatistiki bakımdan önemli olmak üzere en yüksek yaşam süresine neden olmuş ve dişi bireyler sırasıyla 70.73 ve 64.59 gün yaşamışlardır. Besinin 0.025 ve 0.050 mg/ml Cu^{+2} içermesi *P. turionellae* dişilerinin yaşam süresini kendi aralarında etkilenmemiştir. %0.100 mg/ml Cu^{+2} içeren besin böceğin yaşam süresini denenen diğer derişimlere oranla önemli derecede etkileyerek en düşük değere ulaşmasına neden olmuştur. Adı geçen bakır derişiminde dişi böcekler ortalama 43.23 gün yaşamışlardır (Çizelge 4.1.).

Besindeki bakır derişiminin artmasına bağlı olarak *P. turionellae* dişilerinin yaşam süresinin düşmesi Şekil 4.1 de açıkça görülmektedir.



Şekil 4.1. Bakır derişimlerinin *P. turionella* dişilerinin yaşam süresine etkileri

P. turionellae ergin dişilerinin bıraktığı yumurta sayısına besindeki farklı bakır derişimlerinin eklileri Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2' de sunulmuştur.

Denenen tüm bakır derişimleri böceğin yumurta üretimini önemli derecede etkilememiştir. Bununla beraber, besindeki bakır derişiminin artmasına paralel olarak yumurta sayısında bir azalmanın olduğu Çizelge 4.2 deki verilerden anlaşılmaktadır.

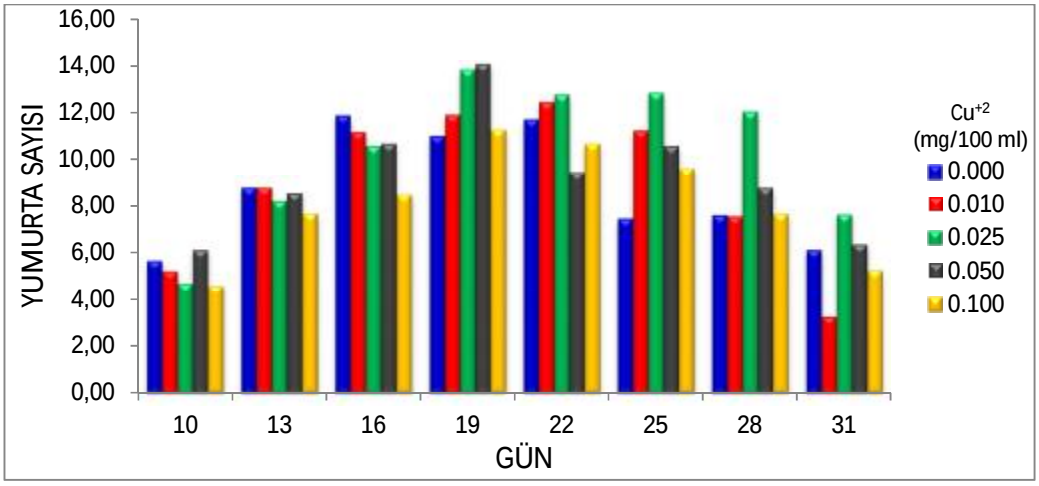
Dişi ergin böceklerin bıraktıkları yumurta sayısına denenen bakır derişimlerinin günlere göre etkileri Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3 de verilmiştir.

Böceğin yumurta bıraktığı günler açısından bir değerlendirme yapıldığında besinin bakır içermemesi (kontrol besini) bırakılan yumurta sayısında önemli bir etkide bulunmamıştır. 0.010 mg/100 ml Cu^{+2} içeren besinde 16-25 günler arasında yumurta üretimi maksimum düzeye çıkmış ve 12.43 düzeyi ile 22. günde maksimuma ulaşmıştır. Bu deney serisinde en düşük yumurta üretimi ise 3.27 ile 31. günde ede edilmiştir. Besinin 0.025 mg/100 ml Cu^{+2} içermesi durumunda da yumurta üretimi 16. günden itibaren maksimum düzeye çıkmış, bu durum 28. güne kadar devam etmiştir. Bu derişimde 13.83 ile 19. günde maksimum düzeye çıkarken 4.50 düzeyi ile 10. günde minimum yumurta üretimi elde edilmiştir. 0.050 mg/100 ml Cu^{+2} içeren besinde maksimum yumurta üretimi 14.07 ile 19. günde elde edilmiş, minimum yumurta üretimi ise 6.13 düzeyi ile 10. günde gözlenmiştir.

Çizelge 4.2. Bakır derişimlerinin *P. turionella* dişilerinin bıraktıkları yumurta sayısına etkisi

Cu^{+2} (mg/100 ml)	YUMURTA SAYIMI							
	10. Gün ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)*	13. Gün ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)*	16. Gün ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)*	19. Gün ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)*	22. Gün ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)*	25. Gün ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)*	28. Gün ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)*	31. Gün ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$)*
0.000 **	5.67 ± 0.27 a	8.77 ± 0.12 a	11.87 ± 0.18 a	11.00 ± 1.00 a	11.70 ± 1.39 a	7.47 ± 1.25 a	7.60 ± 3.01 a	6.13 ± 2.07 a
0.010	5.23 ± 0.87 a	8.77 ± 0.62 a	11.17 ± 1.17 a	11.90 ± 1.53 a	12.43 ± 0.83 a	11.23 ± 2.04 a	7.55 ± 1.36 a	3.27 ± 0.37 a
0.025	4.70 ± 1.28 a	8.20 ± 1.36 a	10.57 ± 0.99 a	13.83 ± 1.72 a	12.77 ± 0.91 a	12.83 ± 0.39 a	12.03 ± 2.00 a	7.63 ± 1.51 a
0.050	6.13 ± 0.73 a	8.53 ± 0.35 a	10.67 ± 0.67 a	14.07 ± 2.03 a	9.43 ± 1.36 a	10.57 ± 0.30 a	8.77 ± 2.35 a	6.37 ± 1.35 a
0.100	4.60 ± 0.53 a	7.67 ± 0.59 a	8.47 ± 1.67 a	11.27 ± 1.45 a	10.67 ± 0.24 a	9.60 ± 1.93 a	7.67 ± 1.16 a	5.27 ± 1.16 a

* : SNK: Aynı sütunda aynı harfi içeren veriler arasında istatistik ayrım yoktur (P>0.05)
($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$) : Aritmetik ortalama ± Standart hata
** : Kontrol

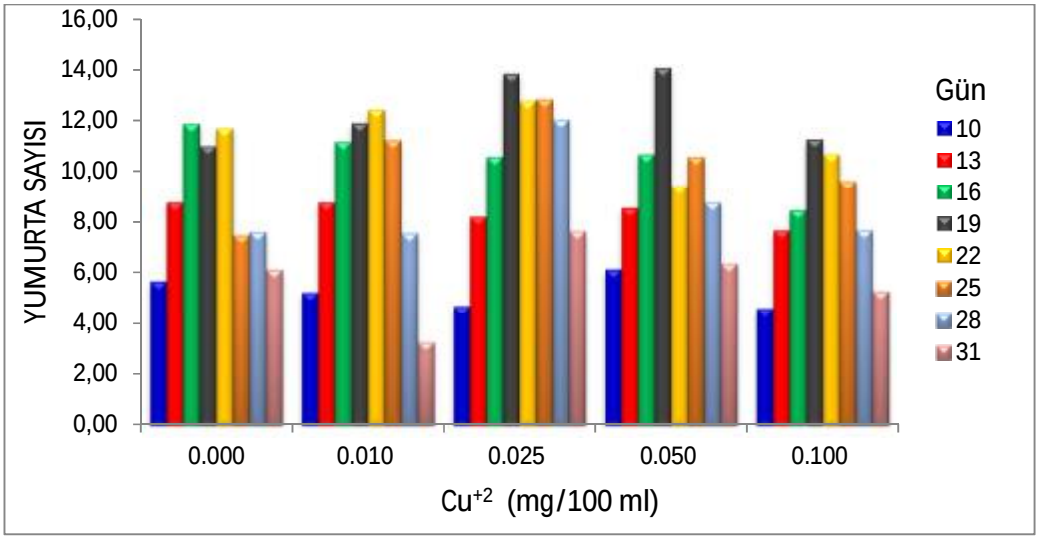


Şekil.4.2. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurta sayısına etkisi

Çizelge 4.3. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurta sayısına günlere göre etkisi

GÜNLER	Cu $^{+2}$ Derişimleri (mg/100 ml)				
	0.000 **	0.010 *	0.025 *	0.050	0.100 *
10	5.67 ± 0.27 a	5.23 ± 0.87 ab	4.70 ± 1.28 a	6.13 ± 0.73 a	4.60 ± 0.53 a
13	8.77 ± 0.12 a	8.77 ± 0.62 ab	8.20 ± 1.36 ab	8.53 ± 0.35 ab	7.67 ± 0.59 abc
16	11.87 ± 0.18 a	11.17 ± 1.17 c	10.57 ± 0.98 b	10.67 ± 0.67 ab	8.47 ± 1.67 abc
19	11.00 ± 1.00 a	11.90 ± 1.53 c	13.83 ± 1.72 b	14.07 ± 2.03 b	11.27 ± 1.45 c
22	11.70 ± 1.39 a	12.43 ± 0.83 c	12.77 ± 0.91 b	9.43 ± 1.36 ab	10.67 ± 0.24 bc
25	7.47 ± 1.25 a	11.23 ± 2.04 c	12.83 ± 0.39 b	10.57 ± 0.30 ab	9.60 ± 1.93 abc
28	7.60 ± 3.01 a	7.55 ± 1.36 abc	12.03 ± 2.00 b	8.77 ± 2.35 ab	7.67 ± 1.16 abc
31	6.13 ± 2.07 a	3.27 ± 0.37 a	7.63 ± 1.51 ab	6.37 ± 1.35 a	5.27 ± 1.16 ab

* : SNK: Aynı sütunda aynı harfi içeren veriler arasında istatistik ayırım yoktur (P>0.05).
: Aritmetik ortalama ± Standart hata
** : Kontrol



Şekil 4.3. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurta sayısına günlere göre etkisi

En yüksek derişim (%0.100 mg/ml Cu^{+2}) uygulaması sonucu ergin dişilerin bıraktığı yumurta sayısının maksimum miktarı 11.27 ile 19. günde elde edilmiştir. Bunu 10.67 ile 22. gün izlemektedir. En düşük yumurta üretimi ise 4.60 ile 10. günde görülmektedir. Bu deney serisinde yumurta üretiminin düşüşünün 25. günden itibaren başladığı Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3 de açıkça görülmektedir.

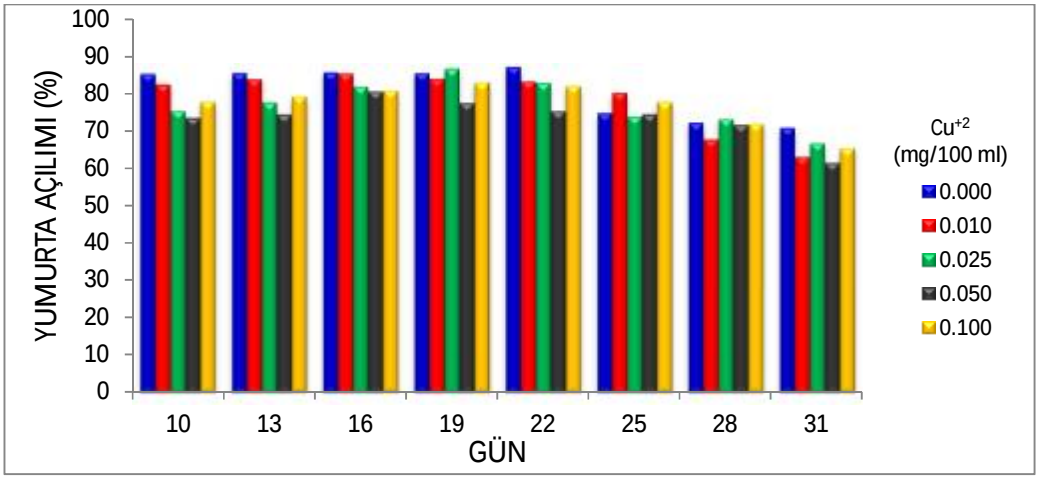
Farklı bakır derişimleri içeren besinlerle beslenen *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılımı üzerine etkileri Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4 de sunulmuştur.

Denenen bakır derişimleri 10. 16. 25. 28. ve 31. günlerde yumurta açılımını önemli düzeyde etkilememiştir. Bununla beraber yukarıda belirtilen günlerde maksimum yumurta açılımı 28. gün hariç diğerlerinde kontrol besininde sırasıyla %85.64, 85.75, 85.64 ve 71.07 düzeyinde gerçekleşmiştir. 28. günde ise %73.44 ile 0.025 mg/100 ml Cu^{+2} içeren besinde gözlenmiştir.

Çizelge 4.4. Bakır derişimlerinin *P. turionella* dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılım yüzdelerine etkisi

Cu^{+2} (mg/100 ml)	YUMURTA AÇILIMI (%)							
	10. Gün $(\bar{X} \pm s_{\bar{X}})$ *	13. Gün $(\bar{X} \pm s_{\bar{X}})$*	16. Gün $(\bar{X} \pm s_{\bar{X}})$ *	19. Gün $(\bar{X} \pm s_{\bar{X}})$ *	22. Gün $(\bar{X} \pm s_{\bar{X}})$*	25. Gün $(\bar{X} \pm s_{\bar{X}})$*	28. Gün $(\bar{X} \pm s_{\bar{X}})$*	31. Gün $(\bar{X} \pm s_{\bar{X}})$*
0.000 **	85.64 ± 2.76 a	85.60 ± 1.39 b	85.75 ± 3.01 a	85.64 ± 2.65 b	87.26 ± 2.22 b	75.01 ± 3.02 a	72.47 ± 2.39 a	71.07 ± 2.29 a
0.010	82.60 ± 2.90 a	84.03 ± 2.77 b	85.55 ± 2.01 a	84.12 ± 0.69 b	84.45 ± 1.06 ab	80.36 ± 0.20 a	68.04 ± 2.66 a	63.33 ± 0.83 a
0.025	75.56 ± 3.14 a	77.88 ± 1.92 ab	82.03 ± 2.00 a	86.85 ± 1.38 b	83.01 ± 2.47 ab	74.07 ± 1.14 a	73.44 ± 3.18 a	66.93 ± 0.83 a
0.050	73.74 ± 3.42 a	74.59 ± 1.52 a	80.67 ± 3.17 a	77.73 ± 1.34 a	75.54 ± 1.33 a	74.74 ± 1.24 a	71.89 ± 2.22 a	61.79 ± 1.13 a
0.100	79.08 ± 1.61 a	80.29 ± 1.30 ab	82.98 = 1.08 a	83.50 ± 1.04 b	82.29 ± 1.29 ab	76.42 ± 0.97 a	71.59 ± 1.14 a	65.74 ± 1.24 a

* : SNK: Aynı sütunda aynı harfi içeren veriler arasında istatistik ayırım yoktur (P>0.05).
$(\bar{X} \pm s_{\bar{X}})$: Aritmetik ortalama ± Standart hata
** : Kontrol



Şekil 4.4. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılımına etkisi.

Deney periyodunun 13. gününde minimum yumurta açılımı %74.59' lük değerle 0.050 mg/100 ml Cu^{+2} ekli sentetik besinle beslenen böcek yumurtalarında görülmüştür. Yumurta açılımının maksimum düzeyde gerçekleştiği değer ise %85.60 ile 0.000 mg/100 ml Cu^{+2} (kontrol besini) içeren besinle beslenen böcek grubunda görülmüştür.

On dokuzuncu günde minimum yumurta açılımı, denenen diğer derişimlere oranla istatistik bakımdan önemli olmak üzere %77.73 lük bir değerle 0.050 mg/100 ml Cu^{+2} içeren besinde elde edilmiştir. Bu deney serisinde denenen diğer derişimler arasında önemli bir etkileşim görülmemekle beraber açılımın maksimum olduğu derişim %86.85 lik bir oranla 0.025 mg/100 ml Cu^{+2} olmuştur.

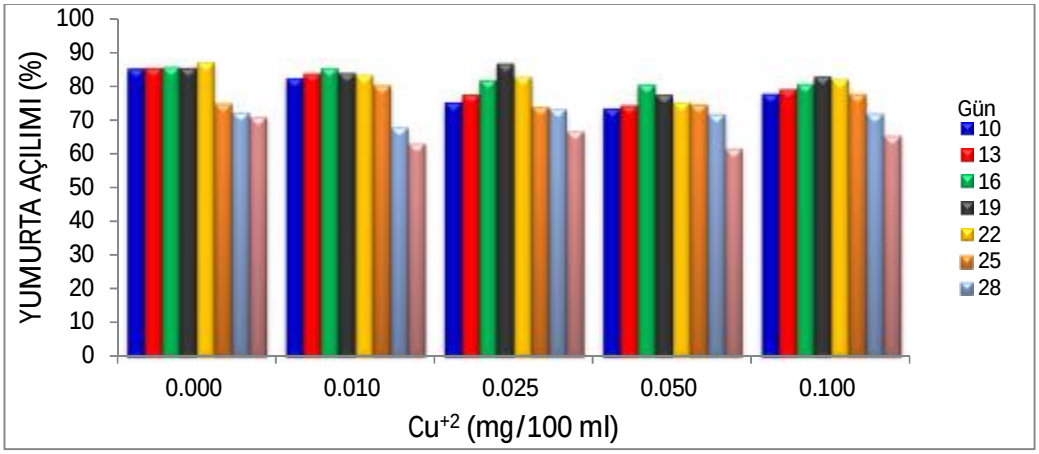
P. turionellae dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılım oranı 22. günde %87.26 ile bakır içermeyen besinde (kontrol) maksimum düzeye ulaşmıştır. Bu günde minimum açılım kontrol ile istatistiki bakımdan önemli olmak üzere 0.050 mg/100 ml Cu^{+2} içeren besinde %75.54 düzeyinde gerçekleşmiştir.

P. turionellae dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılımı üzerine farklı bakır derişimlerinin günlere göre etkileri Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5 de sunulmuştur.

Çizelge 4.5. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılımına günlere göre etkisi

GÜNLER	Cu $^{+2}$ Derişimleri (mg/100 ml)				
	0.000 **	0.010 *	0.025 *	0.050	0.100 *
10	85.46 ± 2.76 bc	82.60 ± 2.90 a	75.56±3.14 ab	73.74±3.42 a	78.05±2.35 a
13	85.60 ± 1.39 bc	84.03 ± 2.77 a	77.88±1.92 bc	74.59±1.52 a	79.36±1.63 a
16	85.75 ± 3.01 bc	85.55 ± 2.01 a	82.03±2.00 bc	80.67±3.17 a	80.91±1.27 a
19	85.64 ± 2.65 bc	84.12 ± 0.69 a	86.85±1.38 c	77.73±1.34 a	83.14±1.28 a
22	87.26 ± 2.22 c	83.45 ± 1.08 a	83.08±2.47 bc	75.54±1.33 a	82.20±1.93 a
25	75.01 ± 3.02 ab	80.36 ± 0.20 a	74.07±1.14 ab	74.74±1.24 a	77.92±2.55 a
28	72.47 ± 2.39 a	68.04 ± 2.66 b	73.44±3.18 ab	71.89±2.22 a	72.12±3.07 ab
31	71.07 ± 2.29 a	63.33 ± 0.83 b	66.93±0.83 a	61.79±1.13 b	65.56±4.05 b

* : SNK: Aynı sütunda ayı harfi içeren veriler arasında istatistik ayırım yoktur (P>0.05).
: Aritmetik ortalama ± Standart hata
** : Kontrol



Şekil 4.5. Bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılımına günlere göre etkisi.

Bakır içermeyen besinle (kontrol) beslenen dişi bireylerin bıraktıkları yumurtaların açılımının maksimum düzeyde olduğu gün %87.26 değerle 22. gün olarak tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla %85.75 ile 16. gün, %85.64 ile 19. gün, %85.60 ile 13.gün ve %85.46 ile 10. gün takip etmektedir. Bu beş günde elde edilen açılım oranları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. Yumurta

açılımı 31. günde önemli düzeyde etkilenerek %71.07 değerle minimum düzeye ulaşmıştır.

P. turionellae L. ergin dişilerinin 0.010 mg/100 ml Cu^{+2} içeren sentetik besin ile beslenmeleri bırakılan yumurtaların açılımını 10. günden 25. güne kadar önemli düzeyde etkilememiştir. Açılım bu günler içinde 16. günde %85.55 ile maksimum düzeye ulaşmıştır. Yumurta açılımı 25. günden sonra denenen diğer günlere göre önemli düzeyde etkilenerek 28. günde %68.04 e ve 31. günde de ise minimum değer olan %63.33 düşmüştür.

0.025 mg/100 ml Cu^{+2} içeren besinle beslenen dişi böceklerin bıraktıkları yumurtaların açılımı 19. güne kadar bir artışla %86.85 e ulaşmış, bu günden itibaren de düşme göstererek 31. günde %66.93 oranına erişmiştir.

Yumurta açılımı, 0.050 mg/100 ml Cu^{+2} içeren besinle beslenen ergin dişilerde 28. güne kadar önemli düzeyde etkilenmemiştir. Bu güne kadar maksimum açılım %80.67 ile 16. günde elde edilmiştir. 31. günde ise yumurta açılımı denen diğer günlere göre önemli düzeyde etkilenerek %61.79 gibi minimum değere ulaşmıştır.

Besinin 0.100 mg/00 ml Cu+2 içeren besinle beslenen *P. turionellae* ergn dişilerinin bıraktıkları yumurtaların açılımı 28. güne kadar önemli düzeyde etkilememiştir. Bu süre sürecinde 19. günde yumurta açılımı maksimum düzeye (%83.50) çıkmıştır. Bu deney serisinde minimum yumurta açılımı 31. günde %65.74 düzeyinde gerçekleşmiştir. Elde edilen bu değerin 28. gün hariç denenen diğer günlere göre istatistik bakımdan önemli düzeyde olduğu Çizelge 4.5 deki verilerde açıkça görülmektedir.

P. turionellae dişilerinin deney periyodu süresince bıraktıkları toplam yumurta sayıları ve bu yumurtaların açılım yüzdeleri Çizelge 4. 6 ve Şekil 4.6 da sunulmuştur.

Çizelge 4.6. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin toplam yumurta sayısı ve açılımına etkileri

Cu^{+2} (mg/100 ml)	TOPLAM YUMURTA SAYISI ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$) *	TOPLAM YUMURTA AÇILIMI (%) ($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$) *
0.000 **	70.20 ± 9.71 a	81.03 ± 0.22 a
0.010	71.55 ± 9.22 a	78.94 ± 0.76 a
0.025	82.57 ± 3.24 a	77.47 ± 1.27 ab
0.050	74.53 ± 4.25 a	73.84 ± 0.42 b
0.100	65.13 ± 5.52 a	77.41 ± 1.89 ab

* : SNK: Aynı sütunda ayı harfi içeren veriler arasında istatistik ayırım yoktur (P>0.05).
($\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$) : Aritmetik ortalama ± Standart hata
** : Kontrol

Deney periyodu süresince farklı derişimlerde bakır içeren besinlerle beslenen *P. turionellae* dişilerinin bıraktıkları toplam yumurta sayısı, besindeki bakır derişimlerindeki değişmeler ile önemli derecede etkilenmemiştir.

Denenen bakır derişimlerinden 0.000 mg/100 ml Cu^{+2} içeren besin (Kontrol) böceklerin bıraktıkları yumurtaların açılımının maksimum düzeyde olmasına neden olmuştur. Aynı deney serisinde 0.050 mg/100 ml Cu^{+2} içeren besin ise %73.84 gibi bir değerle yumurta açılımını minimum düzeyde gerçekleştirmiştir. Denenen diğer bakır derişimleri açılım üzerine önemli bir etkide bulunmamıştır.

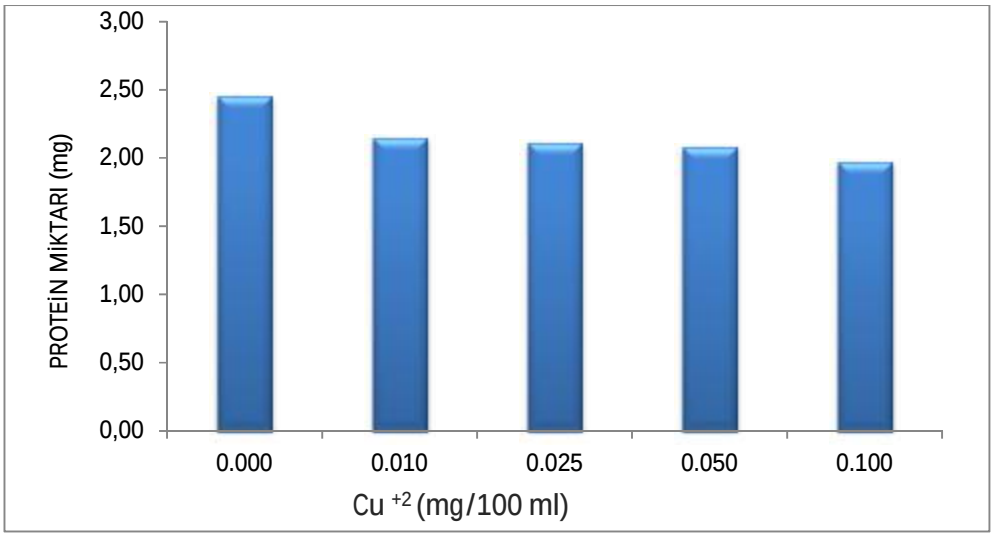
P. turionellae ergin dişilerinin sentezledikleri protein miktarına farklı bakır derişimlerinin (0.000, 0.010, 0.025, 0.050 ve 0.100 mg/100 ml) etkileri Çizelge 4. 7, Şekil 4. 7 ve Şekil 4.8' de verilmiştir.

Denenen tüm bakır deşimleri dişi bireylerin sentezledikleri protein miktarını önemli derecede etkimemiştir. Bununla beraber Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7 ve 4.8 deki verilerin incelenmesi, besindeki bakır derişiminin artmasına bağlı olarak sentezlenen protein miktarında bir azalmanın olduğunu açıkca göstermektedir. Denenen tüm derişimler içinde maksimum etki kontrol grubundan elde edilmiştir.

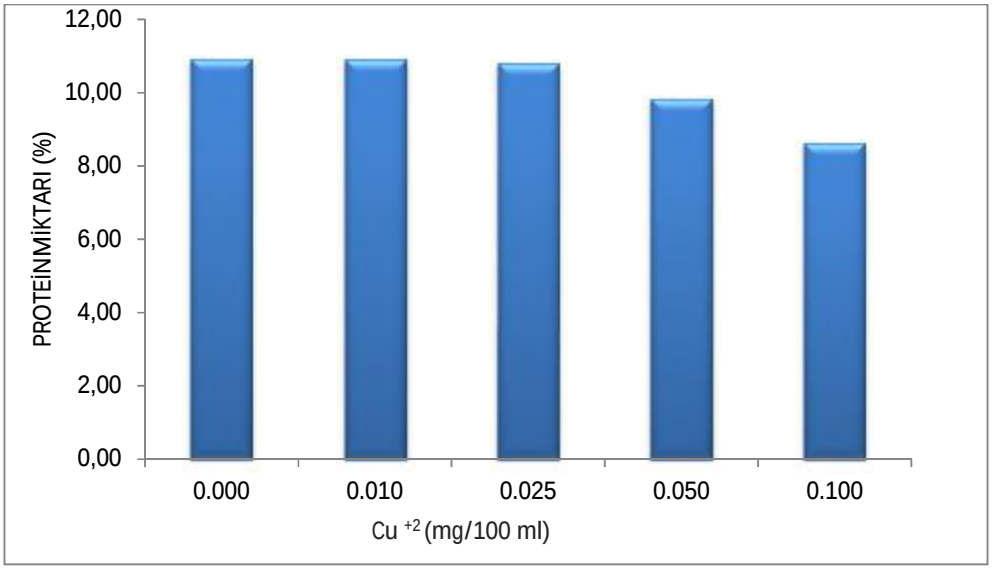
Çizelge 4.7. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri protein miktarına etkisi.

Cu^{+2} (mg/100 ml)		PROTEİN MİKTARI (mg) *		PROTEİN MİKTARI (%) *
0.000 **		2.45 ± 0.25 a		10.90 ± 0.24 a
0.010		2.15 ± 0.07 a		10.92 ± 2,12 a
0.025		2.11 ± 0.27 a		10.82 ± 1.27 a
0.050		2.08 ± 0.03 a		9.83 ± 0.30 a
0.100		1.97 ± 0.17 a		8.63 ± 1.12 a

* : SNK: Aynı sütunda aynı harfi içeren veriler arasında istatistik ayırım yoktur (P>0.05).
: Aritmetik ortalama ± Standart hata
** : Kontrol



Şekil 4.7. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri protein miktarına etkisi.



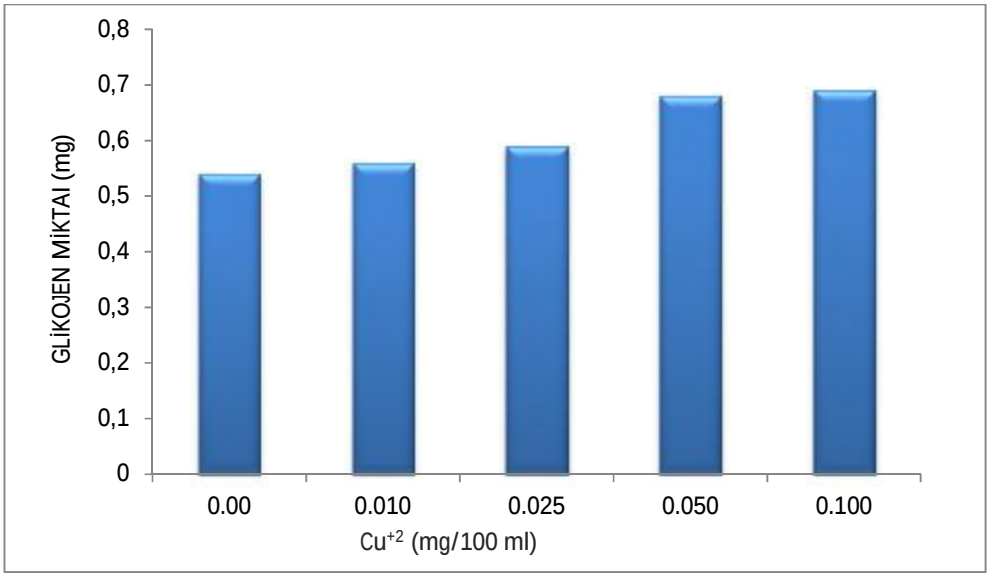
Şekil 4.8. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri protein yüzdesine etkisi.

Farklı bakır derişimlerinin ergin dişi *P. turionellae.* bireylerinin sentezlediği total glikojen miktarına etkileri ise Çizelge 4.8 ve Şekil 4.9 ve Şekil 4.10 da sunulmuştur.

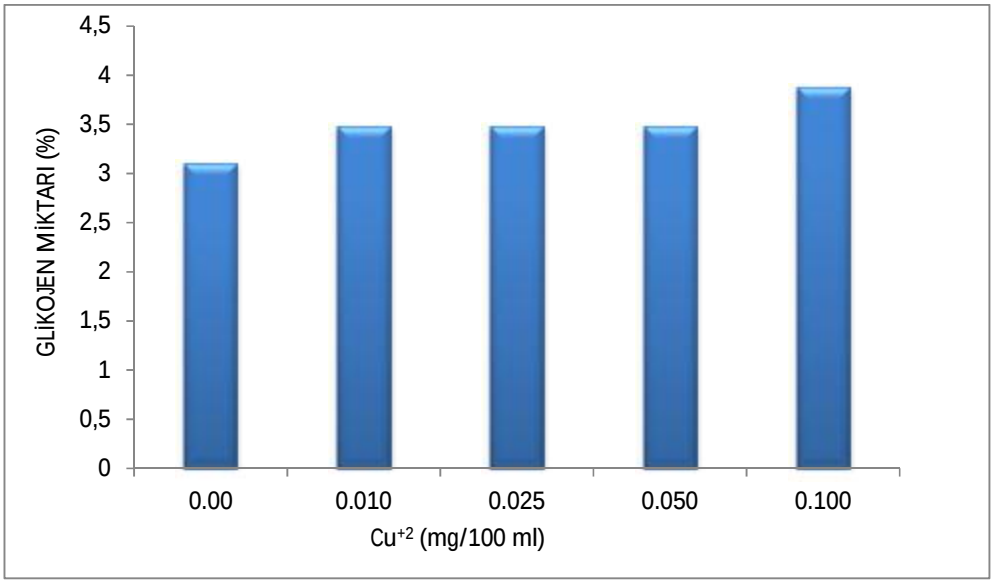
Çizelge 4.8. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri glikojen miktarına etkisi.

Cu^{+2} (mg/100 ml)	GLİKOJEN (mg) *	GLİKOJEN (%) *
0.000**	0.54 ± 0.02 a	0.0031 ± 0.0004 a
0.010	0.56 ± 0.03 a	0.0035 ± 0.0001 ab
0.025	0.59 ± 0.03 ab	0.0035 ± 0.0004 ab
0.050	0.68 ± 0.04 b	0.0035 ± 0.0001 ab
0.100	0.69 ± 0.03 b	0.0039 ± 0.0003 b

* : SNK: Aynı sütunda aynı harfi içeren veriler arasında istatistik ayırım yoktur (P>0.05).
: Aritmetik ortalama ± Standart hata
** : Kontrol



Şekil 4.9. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri glikojen miktarına etkisi.



Şekil 4.10. Bakır derişimlerinin *P. turionallae* dişilerinin sentezledikleri glikojen yüzdesine etkisi.

Denenen bakır derişimlerinin *P. turionellae* dişilerinin sentezledikleri glikojen miktarına etkileri incelendiğinde, besindeki bakır derişiminin artmasına paralel olarak glikojen miktarının da arttığı görülmektedir. Besindeki bakır derişimi 0.100 mg/100 ml düzeyine çıktığında glikojen düzeyi de önemli düzeyde artarak maksimuma ulaşmıştır (Çizelge 4.8, Şekil 4.9-10).

5. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada oral yolla alınan 0.000, 0.010, 0.025, 0.050 ve 0.100 mg/100 ml derişimlerindeki bakırın, ergin *P. turionellae*' nin yaşam süresi, yumurta üretimi ve açılımı, sentezlediği total protein ve glikojen miktarına etkileri araştırılmıştır.

Biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilirliği olan*P.turionellae*' nin doğadaki sürekliliği diğer endoparazitik hymenopter türlerinin çoğunda olduğu gibi embriyo gelişimi, yumurta açılımı, larva gelişimi, pupa oluşumu ve ergin çıkma oranları gibi fizyolojik gelişme periyoduna bağlıdır. *P. turionellae* ve bunun gibi biyolojik mücadelede kullanılmak üzere kitle halinde üretimi amaçlanan türlerin gelişme süreçlerinde çevre şartlarına karşı duyarlılık sınırlarının iyi bilinmesi gerekmektedir. Bu nedenle besinsel kontaminasyon yoluyla böceklere taşınabilen metallerin hangi derişimlerde hangi etkilere neden olduğunun araştırılması büyük bir önem taşımaktadır.

Ekosistemde bulunan toksik etkili metallerin tüm canlı türleri üzerine yaptığı etkiler sonucunda metabolik süreçlerin hem sentez olaylarında hem de enerji metabolizmasında önemli değişimlere neden olduğu bilinmektedir. Biyokimyasal düzeyde bu metallerin neden olduğu olumsuz etkiler arasında ATP ve ADP' nin fosfat gruplarıyla olan reaksiyonları, hücre membranının zarar görmesi, -SH gruplarıyla olan reaksiyonları, temel iyonların yerine geçmeleri ve esas metaboliklerle rekabet etmeleri sayılabilir (Gregory, 1997).

Ayrıca toksik etkili metallerin metal bağlayıcı proteinler olarak bilinen glikoproteinler ve metallotiyonein ile canlı vücudunda bağlanarak metabolik süreçler ve sentez olaylarında önemli bazı değişmelere neden oldukları (Hopkin, 1989) bilinen gerçeklerdendir. Metallothioneinler hayvanlarda yüksek derecede sistein içeren ve metal iyonlarını bağlayıcı özelliği olan, herhangi bir stres faktörüne karşı harekete geçebilen (Hensbergen ve ark., 2000) yaygın bir indikatör protein olarak bilinmektedirler.

Böceklerin doğal ekosistemlerinden metal asimilasyonunu besin yoluyla gerçekleştirdikleri, alınımı, fizyolojik mekanizması ve vücuttan atılma şeklinin türe

özgü olmasının yanı sıra bazı yaşamsal parametrelere de bağlı olduğu bilinmektedir (Rabitsch, 1995). Metallerin hücreye pasif difüzyon, aktif transport, endositoz ve iyon pompalama sistemi gibi besinsel kontaminasyon yoluyla taşınmasının yanı sıra hangi konsantrasyonlarda hangi etkilere neden olduğu da açıkça belirlenmelidir. Bu amaçla sunulan bu çalışmada bakır ($CuSO_4.5H_2O$)'ın farklı derişimleri her bir deney grubuna ayrı ayrı uygulanmıştır.

Bakırın toksik etkisinin gerek ortamdaki derişimine gerekse de türe bağlı olarak farklılık gösterebileceği bilinmektedir. Örneğin bir Ephemoptera ordosu türü olan *Ephoron virgo*, bir Tricoptera ordosu türü olan *Cyrnus trimaculatus*' a oranla bakır toksisitesinden 10 kat daha fazla etkilendiği ve yüksek oranda ölümlerin gerçekleştiği tespit edilmiştir (Van Der Geest ve ark., 1999). Diğer taraftan bakırın doğadaki derişiminin artmasına paralel olarak böcek türü populasyonunun önemli derecede azaldığı da ortaya konulmuştur (Kozlov ve ark., 2005). Farklı derişimlerde bakır içeren besinlerle beslenen ergin *P .turionellae* dişilerinin yaşam süresi üzerine etkilerinin de araştırıldığı bu çalışmada en uzun yaşam süresi kontrol grubu dişilerinde, en düşük yaşam süresi ise en yüksek konsantrasyon uygulanan dişilerde gözlenmiştir. Elde edilen veriler, besindeki bakır derişiminin artmasıyla yaşam süresinin ters orantılı bir şekilde etkilendiğini açıkça göstermektedir (Çizelge 4.1).

Besine ilave edilen bakırın 5 farklı derişiminin*P. turionellae* dişilerinin deney periyodu süresince bıraktığı toplam yumurta sayısı üzerine önemli bir etkide bulunmamıştır. Bununla birlikte yumurta üretiminin maksimum düzeye çıktığı günler kontrol grubunda 16.-22. günler arasında iken besinin 0.010 ve 0.050 mg/100 ml Cu^{+2} içermesi durumunda 16.-25. günler arasında, besinin 0.025 mg/100 ml Cu^{+2} içermesi durumunda ise 16.-28. günler arasında gerçekleşmiştir.0.100 mg/100 ml Cu^{+2} içeren besinde ise bu durum 19.-22. günlerde gerçekleşmiştir. Elde edilen bu veriler böceğin yumurta üretimi açısından kontrol besinine tuz karışımı içinde verilen bakırın yeterli ölçülerde olmadığı diğer bir değişle besinin bu besin bileşeni bakımından iyi dengelenmemiş olabileceği fikrini vermektedir. Yüksek bakır derişiminde böceğin yumurta veriminin azalması *Proisotoma minuta* Tullberg (Collembola)' de de yüksek ölüm oranı, düşük hızda gelişim ve üremenin durması şeklinde ortaya çıkmıştır (Nursita ve ark., 2004).

Birçok canlı grubunda olduğu gibi böceklerde gelişme ve üremelerini devam ettirebilmek için protein, karbonhidrat ve lipit gibi temel besin maddelerine gereksinim duymaktadır (House, 1962, 1972, 1974; Dadd, 1973; Thompson ve Hagen, 1999). Glikojen böcekler tarafından ana enerji kaynağı olarak kullanılırken (Dadd, 1985), proteinin böceklerde üreme performansını doğrudan etkilediği bilinmektedir (Tsiropoulos, 1980, 1983; Ferro ve Zucoloto, 1991; Chang ve ark., 2001; Chang, 2004).

Denenen bakır derişimleri*P. turionellae* erginlerinin sentezlediği total protein miktarına önemli etkiler yapmamıştır. Ancak yüksek bakır derişimi içeren besinle beslenen böceklerde gözlenen sentezlenen protein miktarındaki düşüş, Kayış ve Emre' nin(2012) yine bu böcek üzerinde kadmiyumla ile yaptıkları denemelerde, yüksek kadmiyum derişimlerinde ergin dişilerde protein sentezinin inhibe edildiğini ortaya çıkaran veriler ile benzerlik oluşturmaktadır.

Böceklerde yapılan tüm çalışmalar, değişik yapıdaki metallerin aynı türün farklı cinslerinde bile değişik etkiler yapmasının yanı sıra, metalin hücre içine alınım mekanizması ve birikimi de hücre tipi ve türüne bağlı olarak benzer özellikler göstermektedir (Kocalar,2005).Gözlenen bu genotoksik etkilerin, metalin nukleus içine membrandaki Ca^{+2} kanallarından girişiyle başladığı ve daha sonra nukleusa giren bu metallerin DNA yapısındaki fosfat grubunun yerine geçerek bağlanması yoluyla DNA sentezini inhibe ettikleri şeklinde gerçekleştiği bilinmektedir (Uysal ve Bahçeci, 1996).Sunulan çalışmada *P. turionallae* ergin dişilerinde gözlenen bakırın yüksek derişimlerinin protein miktarını negatif yönde etkilemesi, denenen diğer böcek türlerinden gözlenen sonuçlarla benzerlik göstermekte ve olasılıkla da mekanizmasının aynı yönde gerçekleştiği fikrini vermektedir.

Böceklerde enerji rezervi olarak büyük önem taşıyan glikojen, yağ doku ve uçma kasları gibi metabolik ve fizyolojik aktivitesi yüksek dokularda depolanmaktadır. Bu depo bileşeninin dokulardaki birikim düzeyi böceğin beslenme rejiminin nicel ve nitel bileşimiyle yakından ilişkili olmakla birlikte (Wyatt, 1967; Siegert, 1987), çeşitli çevre koşulları bu bileşiğin birikim düzeyini etkileyebilmektedir. Bunlardan en önemlilerinden biri de ağır metal stresinin neden olduğu etkilerdir. Glikojen düzeyindeki değişimlerin faydalı bir kirlilik belirteci

olarak değerlendirilebilmesi (Lagadic ve ark., 1994) adı geçen bileşiklerin etkilerininönemini vurgulaması açısından dikkat çekicidir. Örneğin, parazitlenmiş *Lymantria dispar* larvalarının hemolenf ve total vücut dokularındaki karbohidrat derişimleri, ağır metaliyonu stresinin etkileriyle önemli derecede azalmakta (Bischof, 1995a), aynı böcektüründe Cd, Pb ve Cu gibi ağır metallerin düşük derişimlerde verilmesi glikojeniçeriğinin artmasına (Ortel, 1996) neden olmaktadır. Hücreye giren ağır metallerdaha sonra mitokondrinin içine alınarak oksidatif fosforilasyonu inhibe ederek (Zabave Haris, 1978; George, 1982; Viarengo, 1985; Moura ve ark., 2000) etkigösterdikleri gibi bu metallerin oluşturduğu stres sonunda glikogenolitik sürecinhızlanması (Spring ve ark., 1977) şeklinde de etkilerini göstermektedirler. Sunulan çalışmada besindeki bakır derişiminin arttırılması sentezlenen glikojen miktarının da artmasına neden olmuştur. Artan derişimler ile doğru orantılı olarak görülen glikojen miktarındaki bu artışın *L. dispar'*da da gözlendiği gibi (Ortel, 1996)glikogenezin sitimüle edilmesinin bir sonucu olabileceği şeklinde değerlendirilebilir

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan çalışmada bakır gibi toksisitesi yüksek bir ağır metalin ergin*P.turionellae*L.ergin dişilerinin yaşam süresi, yumurta verimi, protein ve glikojen sentezi üzerine etkileriaraştırılmış ve sonuç olarak kullanılan metal derişimlerinin artan oranlarının ergin dişilerin yaşam süresini kısalttığı, yumurta verimi üzerinde negatif etkileri olduğu, dişiböceklerin sentezledikleri glikojen oranlarını artışa bağlı olarak besinsel regülasyondaönemli derecede farklı etkiler gösterdiği, buna karşılık protein sentezinde benzer etkiler göstermediğibelirlenmiştir.

Sonuç olarak; bakır sülfatınartan konsantrasyonları *P .turionellae*.' nin ergin dişilerinde toksik etki yaratarak ölümlere yol açmakta, üreme ve sentez mekanizmasında farklı etkilere neden olmaktadır. Genel olarak toksik etkili bakır ve buna benzer ağır metallerin aktif veya pasif yollarla membrandan hücre içine alınarak, başta protein ve glikojen sentezi olmak üzere, enerji üretimi ve enzim sentez mekanizmalarını engelleyerek metabolik bozukluklara neden oldukları bilinmektedir. Aynı zamanda bu tür metallerin DNA, ATP ve ADP' nin fosfat gruplarıyla olan reaksiyonları, hücre membranlarına verdikleri zarar, sülfhidril gruplarıyla olan reaksiyonları, esas iyonların yerine geçerek temel metabolitlerle rekabet etmeleri nedeniyle toksik etkilerinin artması da bilinen gerçeklerdendir. Bununla birlikte bakırın yüksek derişimlerinde ergin *P. turionellae*' nindişilerinde glikojen sentezini arttırması, bu oranın sentez mekanizmasını stimüle edici bir etki yarattığı sonucunu doğurmaktadır. Sunulan çalışmadan elde edilen sonuçların daha sağlıklı değerlendirilebilmesi, Cu, Cd,ve Hg gibi ağır metallerin tüm böcek türleri üzerindeki birikim, taşınma ve etki mekanizmalarının çok iyi anlaşılması ile mümkün olabilir. Bu nedenle metal alınımının toksikolojiksonuçlarının da araştırılmasını gerektiren çalışmalara ihtiyaç vardır. Mevcut çalışmalar, besinsel yollarla alınan farklı bakır miktarlarının besin zincirinde ve sentez mekanizmalarında etkili olabileceğini göstermekle birlikte bakır ve benzer toksik etkili ağır metallerin tüm parazitoid böceklerde dikkatle çalışılması gereken problemler olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu konularda daha sağlıklı değerlendirmelerin yapılabilmesi için şu ana kadar yapılan benzer çalışmaların yanı sıra ağır metallerin böcek türleri üzerindeki biyokimyasal ve fizyolojik etkilerinin daha ayrıntılı olarak çalışılması; anatomi, fizyoloji, moleküler biyoloji ve biyokimya gibi bilimlerin kombineli olarak belli bir manipülasyonla bu tür çalışmaların tüm ayrıntılarını ortaya koyarak açıklayacağından önemli olduğunu da vurgulamak isteriz.

KAYNAKLAR

ADIYAMAN, N. and AKTUMSEK, A., 1996. The Effect of Low Temperature on Fecundity of Pupae and Adults of Female *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). Tr. J. of Zoology, 20:1– 5 Ek Sayı TUBİTAK

ARDA, M., SEÇER, S. ve SARRIEYYÜPOĞLU,M., 2002. Balık Hastalıkları. Medisan Yayınları Serisi, No: 56, Ankara, 142s.

ARELLANO, J.M., STORCH, V. and SARASQUETE, C., 1999. Histological Changes and copper Accumulation in Liver and Gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 44: 62-72.

BEATY, B.J. and MARQUARDT, W.C., 1996. The Biology of Disease Vectors. Univ. Pres of Colorado, Niwot.

BISCHOF, C., 1995. Effects of Heavy Metal Stress on Carbohydrate and Lipid Concentrations in the Haemolymph and Total Body Tissue of Parasitized *Lymantria dispar* L. Larvae (Lepidoptera). Comp. Biochem. Physiol., 112 C:1, 87– 92.

BOYD, R.S. 2010. Heavy Metal Pollutants and Chemical Ecology: Exploring New Frontiers. ChemoecologyDOI: 10.1007/s10886-009-9730-5.

BREMNER. I., 1974. Heavy metal Toxicities Quart. J. Biophys., 7: 74– 124.

BRONSKILL, J., 1961. A Cage to Simplify the Rearing of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae). J. Lep.Soc., Vol. 15, No 2, pp. 102-104.

BUCKLEY, J. T., ROCH, M., McCARTER, J. A., RENDELL, C. A. and MATHERSON, A. T., 1982. Chronic Exposure of Coho Salmon to Sublethal Concentrations of Copper -I. Effects of Growth, on Accumulation and Distribution of Copper and on Copper Tolerance. Comp. Biochem. Physiol., 72C(1): 15-19.

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). J. Econ. Entomol., 99(4): 1225-1234.

CERVERA, A., MAYMO, A.C., SENDRA M., MARTINEZ-PARDO, R. and GARCERA, M.D., 2004. Cadmium Effects on Development and Reproduction of *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae). *J. Insect Physiol.*,. 50, 737– 749.

CHANG, C.L., 2004. Effect of Amino Acids on Larvae and Adults of *Ceratitis capitata* (Diptera:Tephritidae). Ann. Entomol. Soc. Am., 9(3), 529-535

CHANG, C.L., ALBRECHT, C., EL-SHALL,S.S.A. and KURASHIMA, R., 2001. Adult Reproductive Capacity of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) on a Chemically Defined Diet. Ann. Entomol. Soc. Am., 94, 702-706.

COUSINS, R.J., 1985. Absorbtion, Transport and Hepatic Metabolism of Copper and Zinc: Special Referaence to Metallothionein and Ceruloplasmin. Physiological Reviews, 65(2), 238-309.

CRAWFORD, L.A., LEPP, N.W. and HODKINSON, I.D., 1996. Accumulation and Egestion of Dietary Copper and Cadmium by the Grasshopper *Locustamigratoria* R&F (Orthoptera: Acrididae). Environ. Pollut., 92(3): 241– 246.

DADD, R.H., 1973. Insect Nutrition: Current Developments and Metabolic Imlications. Ann. Rev. Ent.18, 381– 420.

DADD, R.H., 1985. Nutrition: Organism. In Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. (Edited by Kerkut G.A and Gilbert L.I.) Pergamon Press.,Volume 8, p.p. 313– 390

EGGLETON, P. and BELSHAW, R., 1992. Insect Parasitoids. An Evolutionary Overview. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B, pp. 337: 1-20

EMRE, İ., 1988. Meridik bir Besinin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) Ergin Dişilerinin Yumurta Verimine Etkisi. Doğa Tu Biyol., 12(2): 101-105.

FERRO, M. I. T. and ZUCOLOTO, F. S., 1991. Influence of Amino Acid Deletion on Egg Production and Egg Laying by *Ceratitis Capitata*. Rev. Bras. Biol., 51(2), 407-412,

FONESCA, M. G., OLIVERIA, M. M. and ARAKAKI, L. N. H., 2006. Removal of Cadmium, Zinch, Manganese and Chromium Cations from Aqueous Solution by Clay Mineral. Journal of Hazardous Materials., 137: 288-292.

FRIEND, W.G. and DADD, R.H., 1982. Insect Nutrition. A Comparative Perspective. *Advances in Nutritional Research*, Vol. 4, 205– 247.

GASTON, K.J., 1991. The Magnitude of Global Insect Species Richness. The Society for Conservation Biology, 5: 283-296.

GELEGEN, L. ve YEŞİLADA, E., 2000. *Drosophila melanogaster*'in Bazı Gelişimsel Özellikleri Üzerine Kadmiyum Nitratın Etkisi. *Turk. J. Biol*. 24: 585– 591

GEORGE, S.G., 1982. Subcellular Accumulation and Detoxification of Metals in Aquatic Animals. In: Vernberg, W.B., Calabrese, A., Thurberg, F.P., Vernberg, F.J. (Eds), Physiological Mechanisms of Marine Pollutant Toxicity. Academic Pres, New York, 3– 52.

GODFRAY, H.C.J., 1994. Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology. Princeto University Press. Princeton NJ.473 pp.

GREGORY, J.L.,1997. The Effect of Cadmium on Cytosolic Free Calcium, Protein Kinase and Collagen Synthesis in Rat Osteosarcoma (Ros 17/2.8) Cells. Toxicol. And App. Pharmacol,143, 189– 195.

GÜL, M. and GÜLEL, A., 1995. Parasitoid *Bracon hebetor* (Say (Hymenoptera: Braconidae)' un Biyolojisi ve Konak Larva Büyüklüğünün Verim ve Eşey Oranı Üzerine Etkisi.Turkish Journal of Zoology, 19, 231-235

GÜLEL, A., 1982. Studies on the Biology of the *Dibrachys boarmiae* (Warker) (Hymenoptera: Pteromalidae) Parasitic on *Galleria mellonella* L. Zeitschrift für Angewandte Entomologie, 94, 138-149.

GÜLFER, B., COŞKUN, M., KAYIŞ, T., and EMRE, İ., 2009. Impact of Organophosphorus Insecticide, Malathion on The Progeny Sex Ratio of *Pimpla turionellae* L.J. Environ. Biol., 30(5), 727-730.

GÜNDÜZ, N. E. A. and GÜLEL, A., 2005. Ergin Yaşı ve Konukçu Türünün Parazitoit *Bracon hebetor* (Say.) (Hymenoptera: Braconidae)' un Gelişme Süresine Etkisi., OMU Ziraat Fakültesi. Dergisi, 20(2),31-36

HAZER, B., 1992. Genel Kimya. Karadeniz Teknik Üniversitesi Basımevi Genel Yayın No: 149, Fakülte Yayın No: 44. Trabzon, 497s.

HENSBERGEN, P.J., VAN VELZEN-MARTIN, J.M.,NUGROHO, R.A., DONKER, M.H. and VAN STRAALEN, N.M., 2000. Metallothionein-bound Cadmium in the Gut of the Insect *Orchesella cincta* (Collembola) in Relation to Dietary Cadmium Exposure. Comp. Biochem. and Physiol. Part C, 125, 17-24.

HENTZ, M., ELLSWORRTH, P. and NARANJO, S., 1997. Biology and Morphology of *Chelonus* sp. Nr. *curvimaculatus* (Hymenoptera: Braconidae) as a Parasitoid of *Pectionophoragossypiella* (Lepidoptera: Gelechiidae). Ann. Entomol. Soc. Am., 90(5): 631-639

HENTZ, M.G., ELLSWORRTH, P.G., NARANJO, S.E., and WATSON, T.F., 1998. Development, Longevity and Fecundity of *Chelonus* sp. nr. *Curvimaculatus* (Hymenoptera: Braconidae) an Egg-Larval Parasitoid of Pink Bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). Environ. Entomol., 27, 443-449.

HILMY, A. M, SHABANA, M.B.and DAABEES. A.Y.,1985. Effects of Cadmium Toxicity upon the *in vivo* an *in vitro* Activity of Proteins and Five Enzymes in Blood Serum and Tissue Homogenates of *Mugil cephalus.* Comp. Biochem. Physiol. 81 (1), 145-153.

HOPKIN, S.P., 1989. Ecophysiology of Metals in Terrestrial Invertebrates. Elsevier, London, UK.

HOUSE, H.L., 1962. Insect Nutrition Ann. Rev. Biochem. 31, 653– 672.

HOUSE, H.L., 1972. Insect Nutrition: In Biology of Nutrition, I.E.F.N. Vol. 18. ed. by R. N. Fiennes. Pergamon Press. Oxford and New York. Chapter 17 Pages 517– 573.

HOUSE, H.L., 1974. Nutrition. In the Physiology of Insecta, Vol. V, Ed. by M. Rockstein, *Academic* Pres. New York. pages. 1– 62.

IRWIN, R.J., 1997. Environmental Contaminants Encyclopedia. National Park Service. Page:250. Colorado.

JACOB, P.J. and MORUGAN, K., 1989. Impact of Natural and Artificial Diet on the Feeding and Reproduction in two Species of Acridids (Orthoptera: Insecta) *Entomon.*15, (3)., 221-226.

JAGLAN, M.S., KHOKHAR, K.S.,MALIK,M.S. and SING, R., 1997. Evalution of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Exctracts Against American Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner). J. Agric. Food Chem., 45:3262-3268.

JÄRUP, L., 2003. Hazards of Heavy Metal Contamination. British Medical Bulletin, 68: 167-182.

KAYIS, T. ve EMRE, İ., 2012. Ağır Metal Stresinin *Pimpla turionellae* Hymenoptera: Ichneumonidae)' nin Protein ve Glikojen Sentezine Etkileri. Ekoloji. 21, 83, 61-67.

KAZIMIROVA, M. and ORTEL, J., 2000. Metal Accumulation by *Ceratitis capitata* (Diptera) and Transfer to the Parasitic Wasp *Coptera occidentalis* (Hymenoptera). Environ. Toxicol. And Chem., 19: (7) 1822– 1829.

KETELES, K.A. and FLEEGER, J.W., 2001. The Contrubution of Ecdysis to the Fate of Copper, Zinc and Cadmium in Grass Shrimp, *Palaemonetes pugio* Holthius. Mar. Pollut. Bull., 42: 12, 1397– 1402.

KOCALAR, K., 2005. Farklı Civa Oranlarının Ergin *Pimpla turionellae* L' **n** Sentezlediği Protein ve Glikojen Miktarına Etkileri Üzerine Araştırmalar. Ç. Ü. Fen- Edebiyat Fakültesi – Yüksek Lisans Tezi 40 sayfa.

KOZLOV, M. V., BRODSKAYA, N. K., HAARTO, A., KUUSELA, K., SCHÄFER, M. and ZVEREV, V., 2005. Abundance and Diversity of Human-Biting Flies (Diptera: Ceratopogonidae, Culicidae, Tabanidae, Simuliidae) Around a Nickel-Copper Smelter at Monchegorsk, Northwestern Russia. J. Vector Ecol., 30(2):263-71.

LAGADIC, L., CAQUET, T. and RAMADE, F., 1994. The Role of Biomarkers in Environmental Assesment. Invertebrate Populations and Communities. Ecotoxicol., 3(5), 193-208.

LINDE, A.R., ARRIBAS, P., SANCHEZ-GALAN, S. and GARCIA-VAZQUEZ, F., 1996. Eel (*Anguilla anguilla*) and Brown Trout (*Salmo trutta*) Target Species to Assess The Biological Impact of Trace Metal Pollution in Freshwater Ecosystems. Arch. Environ.Contam. Toxicol., 31, 197– 302.

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., and RANDALL, R.J., 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. J Biol Chem., Nov; 193

MARTINEZ, E.A., MOORE, B. C., SCHAUMLOFFEL, J. and DASGUPTA, N., 2003. Morphological Abnormalities in *Chironomus tentans* Exposed to Cadmium– and Copper-Spiked Sediments. Ecotoxicology and Environmental Safety,55**:** 204-212. (1): 265– 75.

MICHAUD J.P. and ANGELA K. GRANT, 2003. Sub-Lethal Effects of a Copper Sulfate Fungicide on Development and Reproduction in Three Coccinellid Species. 6pp. Journal of Insect Science, 3:16.

MOE, S.J., STENSETH, N.C. and SMITH, R.H., 2001. Effect of a Toxicant on Population Growth Rates: Sublethal and Delayed Responses in Blowfly Populations. *Functional Ecology*. 15, 712– 721.

MOURA, G., VILARINHO, L. and MACHADO, J., 2000. The Action of Cd, Cu, Cr, Zn and Pb on Fluid Composition of *Anodonta cygnea* (L.): Organic Components. *Com.*Biochem. and Physiol. Part B, 127.

MUNOZ, M. J., CARBALLO, M. and TARAZONA, J. V., 1991. The Effect of Sublethal Levels of Copper and Cyanide on Some Biochemical Parameters of Rainbow Trout Along Subacute Explotion. Comp. Biochem. Physiol., Vol.100C (3): 577-582.

NURSITA, A.I., SINGH, B. and LEES, E., 2004. The Effects of Cadmium, Copper, Lead, and Zinc on the Growth and Reproduction of *Proisotoma minuta* Tullberg (Collembola). Ecotoxicology and Environmental Safety, 60, 306– 314.

ORTEL, J., 1991. Effects of Lead and Cadmium on Chemical Composition and Total Water Content of Pupal Parasitoid *Pimpla turionellae.* EntomologiaExperimentalis et Applicata, 59:1, 93– 100.

ORTEL, J., 1995a. Accumulation of Cd and Pb in Successive Stages of *Galleria mellonella* and Metal Transfer to the Pupal Parasitoid *Pimpla turionellae*.Entomologia Experimentalis et Applicata, 77:1, 89– 97.

ORTEL, J., 1995b. Changes in Protein Content and Free Amino Acid Composition in Metal-Contaminated Gypsy Moth Larvae (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepidoptera). Comparative Biochemistry and Physiology, 112C, 291– 298.

ORTEL, J., 1996. Metal Supplemented Diets after Carbohydrate-Levels in Tissue and Hemolymph of Gypsy-Moth (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepidoptera). Environ. Toxicol. and Chem., 15(7), 1171– 1176.

ORTEL, J. and VOGEL, W.R., 1989. Effects of Lead and Cadmium on Oxygen Consumption and Life Expectancy of the Pupal Parasitoid.*Pimplaturionellae*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 52:1, 83– 88.

OZKAN, F. and EMRE, I., 1997. Effects of Orally Administrated Malathion, an Organophosphate Insecticide, on Longevity, Egg Production and Hatchability of Adult Female *Pimpla turionellae* L.. Tr. J. of Zoology, 21, 309– 313.

PANTANI, C.,PANNUNZIO, G., DE CRISTOFARO, M., NOVELLI,A. A. andSALVATORI, M., 1997.Comparative Acute Toxicity of Some Pesticides, Metals, and Surfactants to *Gammarus italicus*Goedm. and *Echinogammarus tibaldii* Pink. and Stock (Crustacea: Amphipoda). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.59:6, 963-967.

RABITSCH, W.B., 1995. Metal Accumulation in Arthropods Near a Lead / Zinc Smelter in Arnoldstein, Austria. I. Environ. Pollut., 90:2, 221– 237.

RABITSCH, W.B., 1997. Tissue-Spesific Accumulation Patterns of Pb, Cd, Cu, Zn, Fe and Mn in Workers of Three Ant Species (Formicidae, Hymenoptera) from a Metal-Polluted Site. Arch. Environ.Contam. Toxicol. *32, 172-177*.

RAYMS-KELLER, A., OLSON, K.E., MCGAW, M., ORAY, C., CARLSON, J.O. and BEATY, B.J., 1998. Effect of Heavy Metals on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Larvae. Ecotoxicology and Environmental Safety *39, 41-47*.

RODRIGUES, A., CUNHA, L., AMARAL, A., MEDEIROS, J. and GARCIA, P., 2008. Bioavailability of Heavy Metals and their Effects on the Midgut Cells of a Phytopaghous Insect Inhabiting Volcanic Environments. Science of the Total Environment 406, 116 – 122.

SAĞLAM, N., URAL, M., 2003. Değişik Yoğunluktaki Bakır Sülfat ($CuSO_4$) Solüsyonunda Bırakılan Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Makroskobik ve Mikroskobik İncelemeler. Elazığ Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 15(1), 89-97.

SAK, O. ve UÇKAN, F., 2009. Cypermethrinin *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)' nin Puplaşma ve Ölüm Oranına Etkisi. U. Arı Derg. 9(3), 88-96.

SAK, O., UCKAN, F. and ERGIN, E., 2006. Effects of Cypermetrin on Total Body Weight, Glycogen, Protein and Lipid Contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). Bel. J. Zool., 136(1): 53-58.

SÉTAMOU, M., SCHULTHESS, F., GOERGEN, G., POEHLING, H– M. and BORGEMEISTER, C., 2002. Natural Enemies of the Maize Cob Borer, *Mussidia nigrivenella* (Lepidoptera: Pyralidae) in Benin, West Africa. Bulletin of Entomological Research, 92, 343-349.

SIEGERT, K. J., 1987. Carbohydrate Metabolism in *Manduca sexta* During Late Larval -Development. Journal of Insect Physiology, 33: 421-427.

SINGH, P., 1977. Artificial Diets for Insects. Mites and Spiders, Plenum Press, New York. pp. 594.

SHIN, BYUNG-SIK., RI, NA CHOI. AND CHOONG-UN LEE, 2001. Effect of Cadmium on Total Lipid Content and Fatty Acids of the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella. Korean J. Ecol.* 24(6), 349– 352.

SPRING J.H., MATTHEWS, J.R. and DOWNER, A., (1977). Fate of Glucose in the Haemolymph of the American Cockroach, *Periplaneta americana*. Journal of Insect Physiology, 23: 525-529.

ŞENGONCA, Ç. and PETERS, G., 1993. Biology and Effectiveness of *Apantales rubecula* Marsh, Hymenoptera: Braconidae), a Solitary Larval Parasitoid of *Pieris rapae* L. (Lepidoptera; Pieridae). Journal of Applied Entomology, 115,85-89

TANTON, M.T. and EPILAJ, S.O., 1984. Effects of DDT and Fenitrothion on Field-Collected Larvae of a Eucalypt-Defoliating Beetle, *Paropsis atomaria*: 2. Effects of Treatment of the Host on the Parasitoids. Aust. J. Zool., 32(3), 337-344.

TAPI O. O., MARKUS J. R. and IRMA S., 2007. Diet-Mediated Effects of Heavy Metal Pollution on Growth and Immune Response in the Geometrid Moth *Epirrita autumnata.*Environmental Pollution, 145, 348-354.

THOMPSON, S.N. and HAGEN, K.S., 1999. Nutrition of Entomophagous Insect and Other Arthropods, In the Hand Book of Biological Control, Ed. By Thomas et all., Academic Press. Chapter 22, 594– 652.

TSIROPOULOS, G.J., 1980. The Importance of Vitamins in Adult *Dacus olea*(Gmel) Nutrition. Ann. Entomol. Soc. Am., 73, 705-707.

TSIROPOULOS, G.J., 1983. The Importance of Dietary Amino Acids on the Reproduction andLongevity of Adult *Dacus olea*. Arch. Intern. Physiol. Bioch., 91, 159-164.

TSIROPOULOS, G.J., 1992. Feeding and Dietary Requirements of the Tephritid Fruit Flies, Advances in Insect Rearing for Research and Pest Managment. Edited by Thomas E.A. and Norman C.L., *In Westview Pres*s. Chapter 7, 93–118.

TÜRKAN, İ., 1995. Comparison of Moss and Bark Samples as Biomonitors of Heavy Metals in a Highly Industrialized Area in İzmir, Turkey. The Scienceof the Total Environment,166, 61– 67.

UÇKAN,F. ve GÜLEL, A., 2000. *Apantales galleriae* Wilkinson (Hymenoptera:Braconidae)' nin Bazı Biyolojik Özelliklerine Konak Türün Etkileri. Tr. J. of Zoology, 24 Ek sayı, 105-113

UYSAL, H. ve BAHÇECİ, Z., 1996. Kurşun Nitrat'ın *Drosphila melanogaster*' in Üçüncü İnstar Larvalarının Tükrük Bezi Politen Kromozomları Üzerine Etkileri. Tr. J. of Biology, 20. 199-205,

UYSAL, H. ve BAHÇECİ, Z., 1997. Kurşun Nitrat'ın *Drosphila melanogaster*' in Gelişimi Üzerine Etkileri. Tr. J. of Biology, 21. 1-10.

VAN HANDEL, E., 1985. Rapid Determination of Glycogen and Sugars in Mosquitoes. J. Am. Mosq. Control. Assoc., 1, 199-301.

VAN DER GEEST, H.G., GREVE,G.D., KROON, A., KUIJL, S., KRAAK, M.H.S. and W. ADMIRAAL, 2000, Sensivity of Characteristic Riverine Insects, the Caddishly *Cyrnus trimaculatus* and Mayfly *Epheron virgo*, to Copper and Diazinon. Environmental Pollution, 109, 177-182.

VIARENGO, A., 1985. Biochemical Effects of Trace Metals. Mar. Pollut. Bull. 16, 153-158.

VUORI, K-M., and KUKKONEN, J., 1996. Metal Concentrations in *Hydropsyche pellucidula* Larvae (Trichoptera, Hydropstchidae) in Relation to the AnalPapillae Abnormalities and Age of Exocuticule. Wat. Res.,30:10, 2265–2272.

WADA, K. and FUJINUKI, T., 1976. Biomineralization in Bivalvae Molluscs with Emphasis on the Chemical Composition of the Extrapallial Fluid. In: Watabe, N., Wilbur, K. M. (Eds.), The Mechanisms of Mineralization in the Invertebrates and Plants. University of South Carolina Press, Columbia, 175–190.

WU, G.-X.,GAO, X.,YE, G.-Y., LI, K., Hu, C. andCHENG, J.-A.,2009. Ultrastructural Alterations in Midgut and Malpighian Tubules of *Boettcherisca peregrina* Exposure to Cadmium and Copper. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72, 1137-1147.

WYATT, G.R., LOUGHHEED, T.C. and WYATT, S.S., 1956. The Chemistry of Insect Hemolymph of the Silkworm, *Bombyx mori*, and Two Other Species, J. Gen. Physiol., 39, 853-868.

WYATT, G.R., 1967. The Biochemistry of Sugars and Polyaccharides in Insects. In the Advances in Insect Physiology (ed. by Treherne, J.W.L. and Wigglesworth, V.B.), Vol IV. 287-347, Academic Press, New York.

YOSHIKAWA, H.S., 1982. Interaction of Metals and Metallothionein. Elsevier/ North-Holland.New York Amsterdam Oxford, 11– 23.

ZABA, B.N. and HARRIS, E.J., 1978. Accumulation and Effects of Trace Metal Ions in Fish Liver Mitochondria. Comp. Biochem. Physiol., 61C (1), 57– 66

ÖZGEÇMİŞ

28.06.1987 yılında Hatay'ın İskenderun ilçesinde doğdu. İlk ve Orta öğrenimini Mithat Paşa İlköğretim Okulu' nda tamamladı. 2005 yılında İskenderun İbn_i Sina Anadolu Lisesi' nden mezun oldu. Aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü' nü kazandı. 2010 yılında Biyolog olarak mezun oldu. Aynı yıl Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı.