KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ*FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Pimpla turionellae L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) ZEHİRİNİN VE PARAZİTLEMENİN KONAK (*Galleria mellonella*) HEMOLENF KARBOHİDRAT VE LİPİT MİKTARINA ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevcan KULELİ

Anabilim Dalı: Biyoloji

Danışman: Yard.Doç.Dr. Fevzi UÇKAN

KOCAELİ, 2011

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Pimpla turionellae L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) ZEHİRİNİN VE PARAZİTLEMENİN KONAK (*Galleria mellonella*) HEMOLENF KARBOHİDRAT VE LİPİT MİKTARINA ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevcan KULELİ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 10 Haziran 2011

Tezin Savunulduğu Tarih: 01 Temmuz 2011

Tez Danışmanı

Yrd.Doç.Dr.Fevzi UÇKAN

(.....)

Üye

Doç.Dr.Ekrem ERGİN

(.....)

Üye

Yrd.Doç.Dr.Halim Aytekin ERGÜL

(.....)

KOCAELİ, 2011

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Araştırmamızda, biyolojik kontrolde önemli bir role sahip olduğu düşünülen *Pimpla turionellae* L. ve konağı *G. mellonella* parazitoit- konak ilişkisindeki farklı doz zehir enjeksiyolarında ve parazitleme sonucu meydana gelen etkileri çalışmayı planladık. Biyolojik kontrolde konak-parazitoit ilişkisinin bilinmesi yapılacak mücadelenin başarısını artıracak en önemli unsurlardan biridir.

Lisansüstü eğitimim ve öğrenimimde bilgi, beceri ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan, beni destekleyen ve yönlendiren değerli Danışman Hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN'a içtenlikle teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında bilgi birikimini benimle paylaşan Sayın Doç. Dr. Ekrem ERGİN'e ve deneysel çalışmalarımda yardımlarını benden esirgemeyen Arş. Gör.Hülya YALÇITAŞ ve Arş. Gör. Aylin ER'e teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Lisansüstü eğitimim süresince aynı laboratuarı paylaştığım değerli arkadaşlarım, İpek HAFTACI TÜRKMEN, Rabia ÖZBEK ve Zuhal ÖZTÜRK'e manevi desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Araştırmalarım esnasında yakın ilgilerini gördüğüm KOÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ndeki hocalarıma, çalışanlara ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak hayatım boyunca beni her zaman destekleyen, cesaretlendiren, sevgilerini benden esirgemeyen, eğitimimi sürdürebilmem için büyük fedakârlıklarda bulunan canım annem, babam ve ağabeyime sonsuz teşekkürler…

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
ŞEKİLLER DİZİNİ iii
TABLOLAR DİZİNİ iv
SİMGELER v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
1. GİRİŞ 1
2. GENEL KISIMLAR 9
3. MALZEME VE YÖNTEM 18
3.1. Laboratuar 18
3.2. Konak Kültürleri 18
3.3. Parazitoit Kültürleri 19
3.4. Zehir Eldesi Enjeksiyonu ve Parazitleme 20
3.5. Hemolenf Alma 23
3.6. Karbohidrat 23
3.6.1. Karbohidrat standart grafiği 23
3.6.2. Hemolenf karbohidrat miktarı 25
3.7. Lipit 26
3.7.1. Lipit standart grafiği 26
3.7.2. Hemolenf lipit miktarı 27
3.8. İstatistik 28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 29
4.1. Karbohidrat 29
4.1.1. Zehirin konak larval hemolenf karbohidrat miktarına etkisi 29
4.1.2. Parazitlemenin ve zehirin konak pup hemolenf karbohidrat miktarına etkisi 31
4.2. Lipit 34
4.2.1. Zehirin konak larval hemolenf lipit miktarına etkisi 34
4.2.2. Parazitlenmenin ve zehirin konak pup hemolenf lipit miktarına etkisi 37
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 41
KAYNAKLAR 45
ÖZGEÇMİŞ 59

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1: *G. mellonella* larva, pupa ve ergini 18
Şekil 3.2: Parazitoit *Pimpla turionellae* larvası ve pupası 20
Şekil 3.3: Parazitoit *Pimpla turionellae* ergin erkek ve dişi bireyi 20
Şekil 3.4: Toplam karbohidrat standart grafiği.....25
Şekil 3.5: Toplam lipit standart grafiği 27
Şekil 4.1: KEZ dozlarının farklı zaman dönemlerinde konak larvası karbohidrat miktarına etkileri.....31
Şekil 4.2: Parazitlemenin ve KEZ dozlarının farklı zaman dönemlerinde pup karbohidrat miktarına etkileri 34
Şekil 4.3: KEZ dozlarının farklı zaman dönemlerinde konak larvası lipit miktarına etkileri 37
Şekil 4.4: Parazitlemenin ve KEZ dozlarının farklı zaman dönemlerinde pup lipit miktarına etkileri…… 40

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 3.1: Konak puplarına enjekte edilecek zehir dozları.....21
Tablo 3.2: Konak larvalarına enjekte edilecek zehir dozları.....22
Tablo 3.3: Karbohidrat standart grafiğinin oluşturulmasında kullanılan farklı konsantrasyondaki stok çözeltiler.....24
Tablo 3.4: Lipit standart grafiğinin oluşturulmasında kullanılan farklı konsantrasyondaki stok çözeltiler.....26
Tablo 4.1: Farklı zehir dozlarının konak larva hemolenfindeki karbohidrat miktarına etkisi.....30
Tablo 4.2: Parazitlemenin ve farklı zehir dozlarının konak pup hemolenfindeki karbohidrat miktarına etkisi.....33
Tablo 4.3: Farklı zehir dozlarının konak larva hemolenfindeki lipit miktarına etkisi.....36
Tablo 4.4: Parazitlemenin ve farklı zehir dozlarının konak pup hemolenfindeki lipit miktarına etkisi.....39

SİMGELER

˚C	: Derece santigrad
cm	: Santimetre
Da	: Dalton
dk	: Dakika
F	: Frekans
Mg	: Miligram
ml	: Mililitre
P	: Olasılık değeri
ppm	: Milyonda kısım
sd	: Serbestlik derecesi
SH	: Standart hata
$\bar{x}$	: Aritmetik ortalama
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre

Kısaltmalar

C	: Karbon
$CaCl_2$	: Kalsiyum klorür
Cl	: Klor
$CoCl_2$	: Kobalt klorür
$FeCl_3$	: Demir(III)klorür
H_2O	: Su
IPM	: (Integrated Pest Management) Birleştirilmiş Zararlı Yöntemi
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi
PDV	: Poli DNA Virüsü
VLP	: Virüs Benzeri Parçacıklar

Pimpla turionellae L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) ZEHİRİNİN VE PARAZİTLEMENİN KONAK (_Galleria mellonella_) HEMOLENF KARBOHİDRAT VE LİPİT MİKTARINA ETKİLERİ

Sevcan KULELİ

Anahtar kelimeler: *Pimpla turionellae*, *Galleria mellonella,* zehir, parazitleme, karbohidrat, lipit.

Özet: İdiobiont, soliter ve pup endoparazitoiti *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) ve konak tür büyük balmumu güvesi, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) 25 ± 2 °C sıcaklık, % 60 ± 5 nispi nem ve 12:12 (Aydınlık: Karanlık) fotoperiyot uygulanan laboratuar şartlarında yetiştirildi. Değişen kese eşdeğeri zehir (KEZ) dozlarında *P. turionellae* zehiri enjeksiyonunun ve parazitlemenin larva ve pup evresinde konak hemolenfinde bulunan karbohidrat ve lipit miktarı üzerine etkileri belirlendi.

Değişik KEZ dozları uygulanan konak larva ve pup hemolenf karbohidrat ve lipit miktarlarında deney ve kontrol grupları arasında farklılıklar gözlendi. Larval evrede, zehir dozu miktarı arttıkça karbohidrat miktarında kontrol gruplarına göre azalma meydana geldi. En fazla azalma 4. saatte 0,5 dozluk uygulamada görüldü (2,63 ± 0,41µg). Pupal evrede en fazla artma (7,41 ± 0,71µg) 0,01 KEZ dozunda 4. saatinde gözlendi. Karbohidrat miktarının pupal evrede larval evreye oranla daha az miktarda bulunduğu tespit edildi.

Larval hemolenf lipit miktarındaki en yüksek artma (10,18 ± 0,94µg) 0,02 KEZ enjeksiyonunun ardından 4. saatte görüldü. Pupal hemolenfteki lipit miktarı en fazla 0,005 KEZ' lik uygulamayı takiben 4. saatinde gözlendi. Pupal evredeki lipit miktarının larval evreye göre daha yüksek miktarda olduğu belirlendi. Sonuç olarak, düşük zehir uygulanması karbohidrat ve lipit miktarında hormesis etkisi yaratmakta ve metabolik ihtiyaçlar konak evresine göre farklılıklar gösterebilmektedir. Araştırmada elde edilen sonuçların biyolojik kontrol çalışmalarında, IPM programlarında ve biyolojik kaynaklı maddelerin oluşturulmasında yarar sağlayacağı düşünülmektedir.

THE EFFECTS OF THE VENOM OF *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) AND PARASITIZATION ON THE AMOUNT OF HOST (*Galleria mellonella*) HEMOLYMPH CARBOHYDRATE AND LIPID

Sevcan KULELİ

Keywords: *Pimpla turionellae*, *Galleria mellonella,* venom, parasitization, carbohydrate, lipid.

Abstract: Idiobiont solitary pupal endoparasitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) were reared on the greater wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) in the laboratory at 25 ± 2 ºC, 60 ± 5 % relative humidity and a photoperiod of 12:12 h (Light: Dark). The effects of dose-dependent envenomation by and parasitization of *P. turionellae* on host larvae and pupae hemolymph carbohydrate and lipid amount were investigated.

Hemolymph carbohydrate and lipid amount of *G. mellonella* larvae and pupae exposured to *P. turionellae* venom displayed differences among treatment and control groups. In the larval stage, the amount of carbohydrate in hemolymph decreased dose-wise with respect to control. Maximum decrease in carbohydrate amount was observed at 0.5 venom reservoir equivalent (VRE) at 4 h post treatments as 2.63±0.41µg. Pupae displayed the maximum amount of carbohydrate at 0.01 VRE at 4 h post treatments as 7.41 ± 0.71µg. Pupal carbohydrate amount was less than that of larval.

The highest lipid amount in larval hemolymph was determined at 0.02 VRE at 4 h post treatments as 10.18±0.94µg. Lipid amount of pupae was the highest as 57.60±1.40µg at 0.005 VRE at the same time period. Pupal lipid concentration was higher than that of larval. Consequently, it was suggested that exposure to low doses of venom might cause a decrease in carbohydrate and lipid amounts because of stress conditions and metabolic needs might show differences relating to the host stage. Results from this study might provide benefits for biological control studies, IPM programs and developing of matters which have biological origin.

1. GİRİŞ

Biyolojik yaşamı korumak, ekolojik dengeyi bozmamak ve bunun sürdürülebilirliğini sağlamak ancak kendi doğal dengesiyle yapılacak çalışmalar ile mümkündür. Böcek zararlıları ürünlerde büyük verim ve kalite kaybına neden olmaktadır. Bu durum ise üretici açısından ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenden dolayı, çoğunlukla kısa, ucuz ve etkisini çabuk gösteren ancak uzun vadede yararlı sonuçlar sağlamayan bir yöntem olan kimyasal mücadeleye başvurulmaktadır. Ne yazık ki birçok ülkede, böcek zararlıları ile yapılan mücadele kimyasal yöntemler ile gerçekleştirilmektedir. Bu yöntem ise zararlılar ile mücadelede ilk uygulamada etkin bir sonuç sağlamakta ancak zamanla oluşan zararlı direnci nedeniyle etkisi azalmakta hatta etkisiz hale gelmektedir. Bunun yanında besin zincirinde ve biyosferde biyolojik birikime neden olmaktadır. Topraktan suya, sudan burada yaşayan canlılara ve buradan da besin yolu ile insanlara geçerek ciddi ve kalıcı hastalıklar oluşturmaktadır. Son yıllarda biyolojik kaynaklı olan maddeler için olan çalışmalar artmış olsa bile biyoinsektisit olarak kullanılan ticari pestisitlerin çok az bir kısmı biyolojik kaynaklıdır. Bu kimyasalların kanserojen, teratojen ve mutajen etkileri düşünüldüğünde [1, 2] meydana gelen etkiler kaygı oluşturmaktadır. Bu nedenle, kimyasal ilaçların zararlı etkilerinin ortadan kaldırılması veya en aza indirilmesi amacıyla kimyasal kontrol yöntemlerinin yerini alabilecek başka yöntemler üzerindeki çalışmalar son yıllarda artış göstermektedir [3]. Bu durum biyolojik mücadeleye olan ilgiyi günden güne arttırmaktadır. Bu ilgiyle birlikte parazitoit türlerin biyolojik özelliklerinin araştırılması, konaklarıyla olan etkileşimlerinin çok iyi bilinmesi önem kazanmaktadır. Bu kapsamda parazitleme esnasında zehrin meydana getirdiği biyokimsal ve fizyolojik etkiler de araştırmacılar tarafından incelenmeye başlamıştır. Söz konusu çalışmaların fizyolojik olarak öneminin yanısıra ekolojik ve insan sağlığı açısından da önemi büyüktür. Bu mekanizmaların ve konak üzerindeki etkilerinin tam olarak anlaşılmasıyla birlikte mücadele için yeni yöntemler oluşturulabilir.

Doğal dengenin özüne ters olan kimyasal kontrol yönteminin ortaya çıkardığı sorunlar karşısında, diğer mücadele metotlarına yönelme zorunluluğu doğmuş ve "Birleşik Zararlı Kontrol Yönetimi (Integrated Pest Management)" (IPM) denilen yöntem geliştirilmiştir [4- 7]. Bu yöntemde amaç, pestisit kullanımını en aza indirmek, bütün kontrol olanaklarını araştırmak ve zararlıların doğal düşmanlarından en üst düzeyde yararlanmaktır [1, 3- 8]. IPM programı çerçevesinde en önemli hedeflerden biri de çevre direncinin arttırılmasıdır. Çevre direncinin arttırılmasında zararlılara dayanıklı bitki çeşitlerinin yetiştirilmesinin yanı sıra doğal düşman populasyonlarının arttırılması ve bunlardan yararlanılması da IPM programlarının bel kemiğini oluşturmaktadır [8]. Bu yeni yöntem içerisinde doğal dengenin korunmasını sağlayan "Biyolojik Kontrol" önemli bir yer tutmaktadır [1, 3, 4- 8]. Bunun için, canlı veya cansız ortama hiçbir zararı olmayan, çevre kirliliğine yol açmayan ve ekolojik dengenin korunması veya düzelmesine katkı sağlayan biyolojik kontrol yöntemlerinin kullanımı daha da hız kazanmıştır [1- 3, 5- 8].

Biyolojik kontrolde zararlının doğal düşmanları olan parazitler, parazitoitler, virüsler, predatörler ve patojen bakteriler doğrudan kullanılabilir ya da kısırlaştırma, beslenmeyi önleyici maddeler ve feromon tuzakları ile toplama gibi yöntemler kullanılabilir [9]. Ekolojik dengedeki katkılarından dolayı; doğal düşmanların en uygunu, en az risk taşıyanı ve en çok spesifik etki yapanı parazitoitlerdir [9, 10]. Bu nedenle parazitoit türler ekolojik can simitleri olarak adlandırılmaktadırlar [11]. Parazitoitlerin çoğalması konak ile doğru orantılı olduğundan, konak sayısındaki artış parazitoit sayısını artırmakta, konak sayısındaki azalma ise parazitoit sayısını azaltmaktadır [12, 13]. Bu şekilde konak ve parazitoit arasında belli bir denge oluşmaktadır [1].

Genellikle, parazitoit parazit olarak düşünülmektedir. Parazitoitleri parazitlerden ayırmak için 1913 yılında O. Reuter tarafından parazitoit terimi öne sürülmüştür [14]. 1959 yılında parazitoitler ile parazitler arasındaki temel farklılıkları Richard Doutt aşağıdaki gibi açıklamıştır:

- ✓ Parazitoitler; sadece ergin öncesi evrelerinde parazittirler.
- ✓ Gelişen birey konağı öldürmektedir.

- ✓ Konaklarında morfolojik bir bozukluk meydana getirmezler.
- ✓ Konaklarından büyük, küçük veya konaklarıyla aynı büyüklükte olabilirler.
- ✓ Genellikle konakları ile aynı taksonomik sınıfa sahiptirler.

Besinlerini oluşturan konaklarını öldürme özellikleri, onları predatörlere benzer kılar. Bu özellikleri ile konaklarını genellikle öldürmeyen onlardan yararlanmaya devam eden parazitlerden farklı olduklarını gösterirler [1, 38].

Parazitoitlerin sınıflandırılmasında bazı biyolojik özellikler kullanılmaktadır. Larvalarının beslenme durumlarına göre endo ve ekto olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır [15, 16]. Yumurtalarını konağın içine bırakan ve larvaları konağı içten yiyerek gelişen parazitoitler, endoparazitoitler olarak adlandırılırken [8, 9, 10], yumurtalarını konağın yüzeyine bırakan ve larvaları, sadece ağız parçaları konak vücudu içine gömülü olacak şekilde beslenip, gelişenler ektoparazitoitler olarak adlandırılırlar [17, 18]. Ovipozisyon sonrasında konağın gelişimine izin veren parazitoitler koinobiont, ovipozisyondan önce konağı öldüren yada felç edenler ise idiobiont olarak belirtilmiştir [15, 16]. Çoğu endo ve ektoparazitoit parazitleme süresince konaklarının gelişimlerini durdurarak zehirleri ile felç eder [19, 20]. Bu parazitoitler idiobiontlar olarak sınıflandırılar [19]. Idiobiontlar ergin öncesi gelişimleri süresince konağın kaynaklarını kullanır. Bunun için konaklar ovipozisyon süresince enjekte edilen zehir ile ya kalıcı bir şekilde felç olurlar ya da ölürler. Parazitleme süresince konağın besin kaynaklarının sabitlenmesi parazitoitin gelişimine yarar sağlar çünkü konak tarafından besin kaynaklarının tüketilmesi durdurulmuş olur [21]. Bunun yanında, Eulophidae' ya ait ektoparazitoitler parazitlemeden sonra konağın beslenmesine izin verirler [22- 24]. Bu gibi parazitoitler koinobiontlar olarak sınıflandırılırlar [19]. Idiobiont parazitoitler felç olmuş ve gelişmesi durmuş konak üzerinde gelişmektedirler [19, 20, 25]. Bunun yanında, bir konaktan meydana gelen ergin birey sayısına göre parazitoitler, gregar ve soliter parazitoitler olarak iki grup olarak tanımlanmıştır [15]. Soliter olanlarda, bir konağa, dişi parazitoit tarafından birçok yumurta bırakılsa bile, sadece bir yumurta ergin evreye ulaşabilir [26, 27]. Ancak, gregar olanlarda yumurtaların birçoğu ergin evreye ulaşmaktadır [15]. Eğer ortamda yeterli sayıda konak yok ise, aynı türe ait dişi parazitoitler aynı konak üzerine yumurta bırakırlar bu durum

superparazitizm olarak tanımlanır [15, 26- 31]. Eğer bir dişi parazitoit daha önce farklı bir türden dişi tarafından parazitlenmiş bir konağa yumurta bırakır ise iki farklı durum ortaya çıkabilir. Birinci durumda, farklı iki türe ait larva, konağı besin kaynağı olarak kullanımda birbiri ile rekabete girer ise, multiparazitizm oluşur [27, 30, 32- 33]. İkinci durumda ise, ikinci türe ait larvanın konağı değil de, konakta bulunan diğer türe ait larvayı besin kaynağı olarak kullanması ise hiperparazitizm olarak adlandırılmıştır [14- 15]. Bunun yanında hiperparazitizm fakültatif ve zorunlu hiperparazitizm olarak ikiye ayrılmaktadır [15]. Fakültatif hiperparazitoitler, parazitlenmemiş konakları direkt olarak parazitleyebilirler ve sadece daha önceden parazitlenmiş bir konağa yumurta bırakıldığında hiperparazitoit olarak gelişimlerini sürdürürler [15]. Bunun tersine, zorunlu hiperparazitoitler ancak parazitoitin bir parazitoiti olarak gelişimlerini sürdürürler [15]. Kleptoparazitizm ise nadir rastlanan bir parazitizm tipidir [15]. Bu durum zorunlu bir şekilde başka türden bir parazitoitin varlığına ihtiyaç duymasını ortaya çıkarmaktadır. Ancak, bu tipte parazitoite olan gereksinim hiperparazitizmde olduğu gibi değildir yani beslenme amaçlı olarak parazitoiti kullanmaz. Kleptoparazitoit ovipozitörden yoksun olduğundan dolayı ve yumurta bırakmak için konağın daha önceden başka bir tür tarafından ovipozisyon için delinmesi gerekliliği bu durumu ortaya çıkarmaktadır [15, 1].

Parazitoitler yumurta bıraktıkları konak evresine göre, yumurta, larva, pup ve ergin parazitoitleri olarak da sınıflandırılmaktadır [15]. Parazitoitler Hymenoptera, Lepidoptera, Coleoptera, Homoptera, Diptera, Hemiptera ve Heteroptera gibi değişik böcek takımlara ait türlerin, yumurta [14- 16], larva [34- 38], prepup [34- 40], pup [35- 41] ve ergin [42] evrelerini konak olarak kullanabildikleri gibi, değişik örümcek ve akarların farklı evrelerini de konak olarak kullanabilirler [43]. Böcekler dünyasında, parazitoit olarak tanımlanmış türleri, Hymenoptera, Diptera, Hemiptera ve Coleoptera takımlarına mensup türler ouşturmaktadır [15]. Ancak, parazitoit türlerin çok büyük bir çoğunluğu Hymenoptera ve Diptera takımlarının üyeleridir [15].

Günümüze kadar Hymenoptera takımında yüz binin üzerinde, Diptera takımında on beş binin üzerinde ve diğer takımlarda ise üç binin üzerinde parazitoit karakterde tür tespit edilmiştir [14- 15]. Bununla birlikte, araştırmacılar henüz tanımlanmamış yüz

binlerce parazitoit karakterde böcek olabileceğini varsaymaktadırlar [15]. Hymenopter parazitoit türlerinin sayıca çok fazla olması ve çeşitli böcek takımlarına ait tarım zararlılarının çeşitli evrelerini kullanıp onların üzerinde spesifik olarak etki yaratmalarından dolayı son yıllarda zararlı kontrolünde sık bir şekilde kullanılmaktadırlar [12, 13, 16- 18, 30, 31, 34, 35, 36- 43]. Yaklaşık 225.000 türe sahip olduğu varsayılan parazitoit arılar [15] nesillerini başarılı bir şekilde devam ettirebilmek için yumurta bırakabilecekleri bir veya birkaç doğal konak türüne sahiptirler [36]. Parazitoit türler gelişimlerini sürdürebilmek için uygun ortam sağlamak amacıyla, genellikle konakları olan böceklere zarar verecek şekilde, konak bağışıklık, endokrinolojik, gelişim ve metabolik faaliyetlerinin düzenlenmesini içeren çeşitli mekanizmalara sahiptirler [37]. Parazitoit türler tarafından konak metabolik faaliyetlerinin düzenlenmesi, konağın uygunluğunun artmasıyla sonuçlanan anlaşılması güç ve kompleks bir süreçtir. Konak türe yumurta bırakan dişi parazitoitin ovipozisyon öncesinde veya esnasında konağa bıraktığı salgıların konak fizyolojisini düzenleyen maddeler içerdiği gösterilmiştir [24]. Konaklarının ölümüne neden olan hymenopter parazitoit türler, yumurta ve larvalarının konak içinde veya üstünde yaşamalarını ve gelişmelerini sağlamak için anlaşılması güç fakat etkili metabolik ve fizyolojik etkileşimlerde bulunurlar [15]. Bu etkiler temelinde konak hareketlerinin geçici veya sürekli olarak durdurulması, konak gelişiminin yavaşlatılması veya durdurulması gibi süreçleri barındırır.

Yumurta bırakma öncesinde veya esnasında dişi ergin parazitoit tarafından ovipozitor aracılığı ile konağa enjekte edilen kaliks sıvısı, polidnavirüsleri (PDVler), teratositler ve zehir salgısı ile konak türde fizyolojik olarak değişiklikler meydana getirir [44- 65]. Parazitoit salgısı içerisinde bulunan bileşenlerin miktarları ve etkileri parazitoit tür ve yaşına göre farklılık göstermektedir [66]. Konak-endoparazitoit ilişkisindeki mekanizma aşağıdaki gibidir:

- Ergin dişi parazitoit tarafından konağa yumurtanın bırakılması,
- Parazitleme sonucunda konakta meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler,
- Parazitoit neslinin konağı öldürerek konak vücut boşluğundan çıkması [67].

Endoparazitoit türlerin birçoğu konaklarının büyüme ve gelişimini düzenler fakat bu etkilerin miktarı ve süresi türden türe değişiklik gösterebilmektedir [68].

Çalışmamızda kullandığımız Hymenopter türlerden biri olan *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) idiobiont, soliter parazitoit olup, birkaç lepidopter türünün pre- pup ve pupal endoparazitoitidir. Kültüre alınmasının kolay olmasından dolayı parazitoit hymenopterlerin ilk çalışılan temsilcilerinden biri olmuştur. Bunun yanında *P. turionellae* biyolojik mücadele için kullanılabilmektedir. [69]. Bu parazitoit *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) türünü de konak olarak kullanmaktadır. *G. mellonella* larvaları arı kovanlarındaki petek ve baldan beslendikleri için arı kovanlarında ekonomik açıdan önemli zararlara neden olmaktadırlar.

P. turionellae konağını etkisiz hale getirmek amacıyla zehrini kullanır. Literatür araştırmaları sırasında Hymenopter zehir kompozisyonu ve aktivitesi ile ilgili çalışmalara rastlanmıştır [70- 75]. Araştırmalar, özellikle son otuz beş yıl içinde biyokimyasal yöntemlerdeki gelişmeler ile hız kazanmıştır. Hymenoptera türlerinin zehirleri zengin biyoaktif maddeler içermektedirler [73, 76]. Zehir içeriği yüksek farmakolojik aktiviteye sahip temel bileşenler ile fosfolipit ve mukopolisakkaritleri parçalayan enzimler ihtiva etmektedir [74]. Hymenoptera zehirinde bulunan bileşenler;

- peptitler ve proteinler,
- biyogenik aminler,
- kateşolaminler ve
- enzimler

olmak üzere dört grupta incelenmiştir [70-74].

2004 yılında Uçkan ve arkadaşları tarafından ichneumonoidae üstfamilyasına ait *P. turionellae* türünün zehir yapısı çalışmış ve zehirin kimyasal kompozisyonu ve aktivitesindeki değişimleri belirlemiştir [75]. Biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan çok sayıda parazitoit türün ichneumonoidae üstfamilyasında yer alıyor

olması [77] araştırmaların önem ve ekolojik değerini önemli bir şekilde arttırmaktadır [10]. Bunun yanında, yaptığımız literatür çalışmaları esnasında bazı insektisitlerin, *P. turionellae* gelişim biyolojisine etkilerinin [78, 79], inorganik tuzların, larvaların gelişimine ve sentezledikleri protein miktarına etkilerinin [80], sıcaklığın *P. turionellae* hemolenf kimyasına etkilerinin [81, 82], *P. turionellae* zehrinin ve parazitlemesinin konak hemosit sayısı, morfolojisine olan etkilerinin [83], *P. turionellae* ve konakları arasındaki biyolojik ilişkiler [84], zehir ve zehir yapısının [85- 87], *P. turionellae*' nın kullandığı besin kalitesinin etkilerinin [88- 91], *P. turionellae*' nın yağ asidi bileşiminin [92], *Pimpla turionellae'* nın başkalaşımı sırasında glikojen miktarındaki değişmelerin [93], bazı antibiyotiklerin ve mikrobiyal ajanların *P. turionellae*' nın yaşama ve gelişimine etkilerinin [94- 95], *P. turionellae*' nın açlık, beslenme, parazitleme ve yaşlılık durumlarında glikojen seviyesindeki değişimlerin [96], ağır metal etkilerinin [97- 99] araştırıldığı görülmüştür. Başka bir çalışmada ise, cypermethrinin *P. turionellae'* nın toplam vücut ağırlığı, glikojen, protein, lipit içeriğine etkileri incelenmiş ve cypermethrinin parazitoit metabolik döngüsü üzerinde toksik etki oluşturduğu, glikojen, lipit ve protein seviyelerindeki düşüşün parazitoit türlerin büyümesini, gelişimini ve üremesini olumsuz yönde etkileyeceği ortaya konulmuştur [100].

Ancak, yapmış olduğumuz bu literatür taramaları sonucunda, farklı zehir dozlarının farklı zaman dilimlerinde konak *G. mellonella* hemolenfindeki yağ ve karbohidrat miktarlarına olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda konak olarak, büyük balmumu güvesi olan *G. mellonella* kullanıldı. *G. mellonella* sarımsı boz renkte ve orta büyüklükte bir güvedir. Yumurtalarını kovan içerisindeki çatlaklara, yarıklara ve çerçeve oyuklarına bırakır. Bırakılan yumurtalar larva dönemine eriştiğinde petek gözleri içine girerek mum, bal ve polenle beslenir ve kovanlara zarar vermeye başlar. Petekler içerisinde kanallar açarak ilerleyerek hareketine devam eder. Özellikle, nemin yüksek olduğu ve çevre sıcaklığının ılıman olduğu ortamlarda koyu renkli, polenli petekler üzerinde büyüme ve gelişme hızı çok yüksektir.

Kompleks bir mekanizma barındıran konak- parazitoit ilişkisi, konakta meydana gelen metabolik ve fizyolojik süreçler ve bu süreçte kullanılan salgıların konak metabolizmasında meydana getirdiği etkiler göz önüne alındığında, bu konuyla ilgili yapılan çalışmaların biyolojik kaynaklı maddelerin oluşturulmasında yarar sağlayacağı düşünülmektedir. *P. turionellae* türünde bulunan zengin bir içeriğe sahip olan zehrin, konak kimyasında birçok farklılıklar meydana getirebileceği düşünülmüktedir. Zehrin miktarının ne kadar etkili olduğu ve zehirin alımından sonraki süreçte ne tür etkiler meydana getirdiği merak uyandırmaktadır.

Burdan yola çıkarak, yapılan çalışmada, zehrin miktarının ne kadar etkili olduğu ve zehirin alımından sonraki süreçte ne tür etkiler meydana getirdiği ile ilgili çalışmalar yapılmasına karar verilmiştir. Bunun için bu çalışmada, farklı zehir dozlarının konak larva ve pup hemolenflerindeki karbohidrat ve lipit miktarına etkileri ve enjeksiyon sonrası 4. ,8. ve 24. saatlerindeki biyokimyasal değişimler incelendi.

Konak- parazitoit ilişkisinin oluşturduğu etkilerin aydınlatılması, ileride entegre zararlı kontrolünde kimyasalların payının azaltılması adına, yeni biyolojik kaynaklı insektisitlerin oluşturulması ve zehirin hedef zararlı türler üzerindeki spesifik metabolik ve fizyolojik etkilerinin belirlenmesi, fizyolojik açıdan olduğu kadar ekonomik, ekolojik, çevre ve insan sağlığı açısından da oldukça önemlidir.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışmanın, konak metabolik faaliyetlerinin ve fizyolojik süreçlerinin düzenlenmesindeki parazitoit salgılarının rolünün daha detaylı olarak anlaşılmasına yardımcı olacağı bunun yanında, elde edilen sonuçların parazitoit ve konak biyokimyası, fizyolojisi, biyolojik kontrol ve insan sağlığı ile ilgili çalışmalara da önemli katkılarda bulunacağı düşünülmektedir.

2. GENEL KISIMLAR

Geçmişten günümüze kadar, konak- parazitoit ilişkisi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bazılarında bu ilişkinin konak gelişim biyolojisine etkileri, bazılarında ise biyotik ve abiyotik faktörlerin etkileri yada kendi etkileşimlerinde meydana gelen değişiklikler araştırılmıştır.

Böceklerin dolaşım sıvısı, renksiz yada pigmentlerinden dolayı yeşil veya sarı renkte olan hemolenftir. Böcek türüne göre vücut ağırlığının yaklaşık olarak %5-40'ını oluşturmaktadır. Böceklerde metamorfoz süresince metabolitlerin gerekli yerlere taşınması ve depolanmasında hemolenf çok önemli bir role sahiptir. Literatür araştırması esnasında parazitlemenin konak hemolenfinde meydana getirdiği etkilerin araştırıldığı çalışmalara rastlanmıştır.

Ektoparazitoitlerin büyük bir kısmının zehirinin felç edici olduğu ve konağı öldürdüğü birçok çalışma ile kanıtlanmıştır [101- 103]. Endoparazitik koinobiont parazitoitlerin yumurta ve larvaların gelişimini sağlayabilmek için konağın besinsel ve fizyolojik durumlarını düzenlediği bilinmektedir [104- 106]. *Eulophidae* ailesine ait bazı ektoparazitoit türler larval konağın beslenmesine ve büyümesine imkan sağlayarak başarılı bir şekilde parazitleyebilirler [65]. Nakamatsu ve Tanaka (2003), ektoparazitoit *Euplectrus separate* (Hymenoptera; Eulophidae)' in en iyi besinsel kaynağı elde etmek için lepidopter larval konağı olan *Pseudaletia separate* (Lepidoptera; Noctuidae)' nın fizyolojiksel ortamını nasıl düzenlediği konusundaki çalışmada, zehir enjeksiyonunun *P. separate* larvalarının parazitlenmesiyle aynı etkilerin ortaya çıktığını, zehirin kabuk değiştirme üzerindeki durdurucu etkilerinin doza bağımlı olduğunu ve enjekte edilen zehirin ektoparazitoit larvasının gelişimini ve büyümesini desteklemek için hemolenf lipit ve protein miktarını arttırdığı sonucuna varmışlardır [65].

Nakamatsu ve Tanaka (2003) yaptıkları başka bir çalışmada ise *P. separata– Cotesia kariyai* (Hymenoptera; Braconidae) sistemindeki hafifçe ve ağır bir şekilde parazitlemenin iki durumununu araştırmışlardır [107]. Sonuç olarak, hemolenfteki başlıca karbohidratlardan biri olan trehaloz miktarının konak içerisinde gelişmekte olan parazitoit larva sayısıyla ilişkili olduğunu, ağır bir şekilde parazitlenmiş konakta ise trehalozun düşük konsantrasyonlarda olduğunu ancak hafifçe parazitlenmiş konaklarda ise trehaloz miktarı parazitlemeden sonraki sekizinci günden sonra artış gösterdiği, onuncu günden itibaren azalma meydana geldiğini ortaya koymuşlar ve ağır bir şekilde parazitlenmiş konakların hemolenfindeki protein ve toplam lipit miktarının hafif bir şekilde parazitlenmiş konakların onuncu gününden daha düşük olduğunu ve bunun birçok sayıdaki parazitoit larvalarının yağ miktarını ve hemolenf besinlerini onuncu güne kadar tükettiklerinden dolayı meydana geldiğini öne sürmüşlerdir [107]. Aynı zamanda, hafif bir şekilde parazitlenmiş konakların sekizinci ve onuncu günündeki ve ağır bir şekilde parazitlenmiş konakların sekizinci günündeki yüksek toplam lipit konsantrasyonlarının teratositlere bağlı olabileceğini savunmuşlardır [107].

Salvador ve Coˆnsoli (2008), koinobiont *Cotesia flavipes* (Hymenoptera; Braconidae) parazitlemesinin konağı olan *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera; Crambidae) hemolenfi üzerindeki biyokimyasal etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada farklı gelişim dönemlerindeki kontrol grupları ile parazitlenmiş grupları karşılaştırmışlardır. Konak hemolenfindeki toplam protein değişiminin parazitlemeden hemen sonra fakat karbohidrat ve lipitteki değişimlerin ise parazitoit larvalarının dışarı çıkışını takiben meydana geldiğini, ayrıca *C. flavipes'* in konak hemolenfinde bulunan tüm makro besinlerden etkileniyor olmasına rağmen konak yağ dokularında depolanan lipitler ve proteinlerden etkilenmediğini, parazitoitin larval gelişiminin sonundaki karbohidrat konsantrasyonunun parazitlenmiş larvaların aynı gelişim dönemindeki kontrol larvalarından daha düşük olduğunu ortaya çıkarmışlardır [108].

Farklı bir çalışmada ise, *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)'nin *Hyposoter exiguae* (Viereck) (Hymenoptera: Ichneumonidae) tarafından parazitlenmesinin ardından konak hemolenf proteinlerinin birçoğunun

konsantrasyonu düşmüştür [109- 110]. Benzer şekilde, *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae), *Apanteles glomeratus* L. (Hymenoptera: Braconidae) konak- parazitoit çalışmasında ise parazitlenme sonucunda [111] konak depo proteinlerinin konsantrasyonunda azalma tespit edilmiştir. Ayrıca, *Apanteles congregates* (Hymenoptera: Braconidae), *Manduca sexta* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae)'yı parazitlemesini takiben [112] konak hemolenfinde arilforin konsantrasyonunda azalma gözlemlenmiştir. Aksine, *Chelonus* türleri tarafından parazitlenen *T. ni*'nin arilforin seviyesinde artış olduğu tespit edilmiştir [113- 114]. Bunlara ek olarak, parazitleme meydana geldikten sonraki süreçte, konağa özgü olmayan bazı proteinler konak hemolenfinde görülmüştür ve parazitoit veya konak türe göre bu proteinlerin sentezlendikleri yer ve görülme zamanlarının da farklılık gösterebileceği belirtilmiştir [105, 115- 117].

Çoğu durumda, ovipozisyon süresince dişi parazitoit yumurtalık sıvısındaki PDV' leri konağa enjekte etmiş olur ve yeni konak plazma proteinleri ve/veya bu proteinlerin miktarındaki değişimlerin bu PDV' lerin genlerinin ürünleri olduğu ileri sürülmektedir [118- 122].

G. Prevost ve ark. (2004) yaptıkları bir çalışmada Drosophila larvasının braconid parazitoiti olan Asobara' nın virüs benzeri parçacıklar (VLP) olmaksızın enkapsülasyon oluşturması için uyguladıkları alışıldık olmayan stratejilerini çalışmışlardır [123]. PDV' lerin, VLP' lerin yokluğunda, braconid ailesinden olan iki türün *Asobara tabida* (Hymenoptera: Braconidae) ve *Asobara citri* (Hymenoptera: Braconidae) bağışıklık savunma mekanizmalarını oluşturmak için kendilerine özgü olan stratejiler geliştirdiklerini öne sürmüşlerdir [123].

Yeni konak proteinleri ya da polipeptitleri endoparazitoitlerin teratositlerinden [104, 124- 126] veya parazitoit larvasının kendisinden de [127- 132] oluşabilmektedir. Bu proteinler, başarılı bir parazitlemenin oluşması için konak hemolenfinin düzenlenmesinde önemli bir role sahiplerdir. Bu da konak besin kaynaklarının gelişen parazitoit yararına kullanılmasına olanak sağlar, konak bağışıklık sistemini baskılar veya konak endokrin sisteminde hasar meydana getirir.

Konakların hemolenf proteininin yanında serbest aminoasitlerinde de değişimler meydana geldiği belirlenmiştir. *Cotesia congregata* Say (Hymenoptera: Braconidae) tarafından parazitlenen *M. sexta* hemolenfinde aminoasit konsantrasyonunda değişiklik oluşmadığı bildirilmiştir [133]. Parazitlenmiş *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) larva hemolenfi serbest aminoasit kromatogramı ile parazitlenmemiş kelebek larvalarınınkine ait olan kıyaslandığında; parazitlenmemiş konak larvasında görülen fenilalanin aminoasitinin larval gelişimin beşinci ve losinin ise sekizinci günlerinde yok olduğu bildirilmiştir [134]. Parazitleme sonrasında meydana gelen konak hemolenf serbest aminoasitlerinde değişimlerin, bu aminoasitlerin parazitoit tarafından tüketiliyor olmasına veya stres altındaki konağın enerji ihtiyacını karşılamak için glikojen sentezini artıyor olmasına bağlanmıştır [49].

Yapılan başka bir çalışmada, *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) beşinci evre larvalarında, organik fosforlu insektistler olan fenitrothion ve ethion' nun hemolenf ve yağ dokusunun protein metabolizması üzerine etkileri gözlemlenmiştir [135]. Bu nedenle, larvalar koza örene kadarki süreçte insektisit eklenmiş besin ile beslenmiş ve daha sonra hemolenf ve yağ doku örnekleri incelemeye alınmıştır [135]. Sonuç olarak, lethal ve sublethal dozlarda insektisit eklenmiş besin ile beslenenlerde hemolenf ve yağ dokularındaki toplam protein içeriğinin önemli oranda azalma gösterdiği, serbest aminoasitler, proteaz, alanin va aspartat aminotransferaz, glutamat dehidrogenaz enzim aktivitelerinde ise artış olduğu tespit edilmiş ve protein miktarındaki azalmanın proteaz enzim aktivitesinin artmasına bağlı olabileceği öne sürülmüştür [135].

Barras ve ark. çalışmalarında, *Cardiochiles nigriceps* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) tarafından parazitlenen *Heliothis virescens* Fabr. *(*Lepidoptera: Noctuidae) hemolenfinde aminoasit miktarının azalma gösterdiğini, aksine parazitoit hemolenf aminoasit miktarının arttığını öne sürmüşlerdir [136]. Konak hemolenf serbest aminoasitlerinin miktarının artması ve azalması veya tükenmesi gibi olağan tüm süreçler konak metabolizmasının parazitoit yararına düzenlenmesi için oluşturulan metabolik faaliyetlerdir.

P. turionellae çok sayıda zararlı Lepidopter türün prepup ve pupunda soliter, idiobiont ve endoparazitoit olarak gelişen bir türdür. Endoparazitoit türler konaklarını parazitlediklerinde, konak hemolenf içeriğinde niteliksel ve niceliksel olarak değişiklikler meydana getirmektedirler. Literatürde, çalışmamızda kullandığımız *P. turionellae* parazitoit ile yapılan biyolojik çalışmalar incelenirken bu parazitoitin genellikle konak olarak büyük bal mumu güvesi *G. mellonella* pupalarını kullanıldığı görülmüştür. Çalışmaların ise birçoğunun *P. turionellae' nın* biyolojik özellikleri, zehir yapısı ve zehir etkisi, hemolenf içeriğindeki değişiklikler üzerine olduğu dikkat çekmiştir.

Kaleli 1998 yılında *P. turionellae* ve *G. mellonella* ile yaptığı bir tez çalışmasında, parazitlenmiş konakların ilk saatte parazitlenmemişlere göre hemolenf protein düzeyinin azaldığını sonraki saatlerde ise arttığını saptamıştır [137].

Sak ve ark. 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada, cypermethrinin *P. turionellae* toplam protein, lipit ve karbohidrat miktarı ile hemositleri üzerine etkisini araştırmışlar ve sonuç olarak konak besinine cypermethrin uygulamasının parazitoit larva ve pupa evrelerinde vücut ağırlığını azalttığını, lipit ve protein değerlerinde sadece larva evresinde, glikojen değerlerinde sadece dişi bireylerde azalma meydana getirdiğini, mitotik aktivitede ise azalma, apoptik ve mikroçekirdek oluşumunda ise artış görüldüğünü öne sürmüşlerdir [100]. Sak ve ark. 2008 yılında yaptıkları başka bir çalışmada ise konak *G. mellonella* son evre larvalarına cypermethrin uygulanmasının parazitoit *P. turionellae* gelişim biyolojisine etkilerini araştırmışlar ve parazitoitin yumurtadan yetişkin oluncaya kadarki sürecinde cypermethrinin yaşam süresi, vücut ağırlığı, boyut, kanat ve anten uzunluklarına olan etkilerinin anlamlı olmadığını öne sürmüşlerdir [78].

Bir başka çalışmada, farklı E vitamini derişimlerinin *P. turionellae* erginlerinin eşey oranı üzerine etkilerine incelenmiş ve bunun için % 0,0010, % 0,0015 ve 0,0020 oranlarındaki E vitamini derişimini içeren üç farklı beslenme oranı kullanılmıştır [138]. Dişi birey çıkışı için en uygun olan oranın % 0,0015 lik beslenme ile sağlandığı öne sürülmüştür ve bu orandaki E vitamini dişi çıkışını böceğin yumurta

bırakma periyodu süresince yayarak arttırmış ve maksimum dişi birey çıkışının % 82,41 ile 25'inci günde olduğu vurgulanmıştır [138].

Bir başka çalışmada ise, *P. turionellae*' nın dişi pup ve erginlerine 3, 7, 15, 30, 45 ve 60 günlük sürelerle uygulanan düşük sıcaklığın (+4 ^{o}C) toplam lipit ve yağ asidi bileşimine etkileri araştırılmıştır [96]. Uzun süreli düşük sıcaklık uygulaması dişi pup ve erginlerde toplam lipit yüzdelerini etkilememiş ancak ağırlık kaybına neden olmuştur [139]. Ergin dişilerde toplam yağ asiti yüzdeleri önemli bir değişiklik göstermemiş fakat dişi puplarda 15 ve 30 günlük uygulamalarda önemli derecede azalmıştır [139]. Puplarda düşük sıcaklığa bağlı olarak doymamış yağ asitlerinin yüzdesi azalmış, uzun süreli uygulamalarda aşırı doymamış yağ asitlerinin yüzdeleri kısa süreli uygulamalarda ise doymuş yağ asitleri artmıştır [139]. Ergin bireyler süreye bağlı olarak incelendiğinde doymuş, doymamış ve aşırı doymamış yağ asidi yüzdelerinde önemli bir değişim ortaya çıkmamıştır [139]. Bir önceki çalışmaya benzer olarak, Kaya ve Yanıkoğlu 1999 yılında düşük sıcaklık değerlerinin *P. turionellae* ergin oluşumu ve eşey oranına etkilerini araştırmışlar ve düşük sıcaklıkta bekletme süresine bağlı olarak parazitoit erginleşme oranında azalma meydana geldiği ve daha çok erkek bireylerin ortaya çıktığı sonucuna varmışlardır [140].

Ortel 1991 yılında, ağır metalli besinin *P. turionellae* ergin dişi ve erkeklerinde bu besinin toplam lipit, protein ve karbohidrat seviyelerinde nasıl bir etki yarattığını araştırmış ve buna bağlı olarak kadmiyum ve kurşunun toplam karbohidrat içeriğinde önemli bir değişiklik meydana getirmediğini, kadmiyumlu gruplarda toplam lipit ve protein seviyelerinde ise önemli oranda azalma oluştuğunu, karbohidrat miktarında bir değişme olmazken, lipit miktarındaki azalmanın ağır metal stresine bağlı olarak enerji metabolizmasının lipit katabolizması yönünde değişmesi ile meydana gelmiş olabileceği öne sürmüştür [99]. Bunların yanında, protein miktarındaki azalmanın lipit-karbohidrat katabolizmasının protein katabolizması yönünde değişmesine bağlı olabileceğini vurgulamıştır [99].

Şeker ve Yanıkoğlu yaptıkları bir çalışmada, ergin dişilerde açlık, beslenme, yaşlılık ve parazitlemenin toplam glikojen seviyelerine etkilerini araştırmışlar ve parazitoit glikojen miktarının, açlık, yaşlanma ve parazitlemeye bağlı olarak azaldığını, % 30'

luk bal ile beslendiğinde ise arttığını öne sürmüşlerdir [96]. Özalp ve Emre [141], *P. turionellae*' nın ergin dişilerinde 22 karbohidratın toplam glikojen ve protein miktarına etkilerini araştırmışlar ve besin içinde verdikleri bu karbohidratlardan ksilozun ergin dişlerin toplam protein miktarını arttırdığını, glukozun ise azalttığını, diğer karbohidratların ise önemli bir değişiklik meydana getirmediğini ortaya çıkarmışlardır. Bunların yanında diğer karbohidratlardan ksiloz, riboz, ramnoz, mannoz, maltoz, sellobioz, melezitoz, raffinoz, glikojen, dulsitol ve mannitolün toplam glikojen miktarında önemli bir azalma meydana getirdiğini, sorbozun ise artış oluşturduğunu, diğerlerinin ise bir etkiye sahip olmadığını belirlemişlerdir [96].

Aynı türün erkek larvalarında besinsel inorganik tuzlardaki değişimin toplam protein miktarına olan kalitatif ve kantitatif etkileri de [80] incelenmiş ve *P. turionellae* larvalarının besinindeki inorganik tuzlar, besinden ayrı ayrı çıkartılarak gözlem yapıldığında, kobalt klorür ($CoCl_2.H_20$) hariç diğerlerinin sentezlenen protein miktarını önemli ölçüde azalttığı ortaya çıkarılmış, kalsiyum klorür ($CaCl_2$) ve demir klorür ($FeCl_3.6H_2O$)'den herhangi birinin kontrol besinindeki miktarının % 25 ve $CoCl_2.H_20$' ün % 50 oranında arttırılması ile birlikte sentezlenen protein miktarında artış olduğu gözlemlenmiştir [80].

Diğer bir parazitoit hymenopter tür olan *Macrocentrys grandi* (Goidanich) (Hymenoptera: Braconidae) ile yapılan bir çalışmada, parazitoit erkek ve dişi bireylerinde, aç bırakılma ve sükroz ile beslenmenin karbohidrat ve lipit metabolizması üzerine olan etkileri gözlemlenmiştir [142]. Sonuç olarak, vücuttaki basit depo şekerinin (özellikle trehaloz) ve glikojenin açlık durumunda az miktarda, sükroz ile beslenmede ise yüksek seviyelere ulaştığı, lipit depolarında ise sükroz ile beslenmenin açlık durumuna göre değişiklik göstermediği bildirilmiş ve elde edilen sonuçlara göre, trehaloz ve glikojen sentezinde diyetteki sükrozun kullanıldığı, lipit sentezinde ise kullanılmadığı tespit edilmiştir [142].

D. Giron ve J. Casas 2003 yılında yaptıkları bir çalışmada, *Eupelmus vuilletti* (Hymenoptera: Eupelmidae) parazitoitinde lipogenez içeriğini çalışmışlar, glukoz ile beslenmiş ve üç günün üzerinde aç kalmış dişilerde karbohidrat ve yağ metabolizmasını takip etmişlerdir [143]. Yaptıkları gözlemlerde beslenmiş dişilerin

lipit seviyelerini sürdürürken glikojen seviyelerini arttırdıklarından yola çıkarak dişilerin ya lipogenez süresince yavaş bir şekilde lipitlerini yenileyerek lipit seviyelerini sürdürdüklerini ya da aşırı şeker kullanarak lipit kaynaklarını koruduklarını öne sürmüşlerdir [143]. Lipitlerdeki radyoaktif olarak işaretlenmiş glukozlar ile lipit kaynaklarını arttırmak ve lipit kullanımını dengelemek için yeterli seviyede lipogenez oluşmadığını göstermişlerdir [143].

G. mellonella ve *P. turionellae* konak- parazitoit ilişkisinde parazitlemenin hemolenf proteinleri üzerine etkisi gözlendiğinde ise parazitlenmiş konakta ilk saatte hemolenf protein düzeylerinde, parazitlenmemiş kontrol konaklarına göre azalma olurken, ilerleyen saatlerde artış olduğu bulunmuştur [144].

Konak tür olan *G. melonellae* ile yapılan çalışmaların literatür taramasında makaleler incelendiğinde; Konağa 20 ppm' den daha yüksek dozlarda cypermethrin uygulandığında konak *G. mellonella*' nın pupa ağırlığında azalma, larva gelişim süresinde uzama, 50 ppm'den daha yüksek dozlar uygulanmış konak larvalarında ise anormal davranışlar görülmüştür [78]. Yapılan başka bir çalışmada *G. mellonella*' nın pupalaşma ve ölüm oranına etkisi gözlemlenmiş, larva gelişim ve pupalaşma süresinde doz artışına bağlı olarak gecikme, pupalaşma yüzdesinde azalma ve ölüm oranında artış meydana getirdiği gözlemlenmiştir [145].

Başka bir çalışmada ise böcekler, sekiz farklı fotoperiyot şartlarında yetiştirildiklerinde, 100 mg ağırlığındaki ergin dişi bireylerdeki protein miktarının yaşa bağlı olarak ergin hayatın ilk günlerinde arttığı ve sonra azaldığı saptanmış, erkeklerde ise azalma tespit edilmemiştir [146]. 100 mg ağırlığındaki dişi ve erkek bireylerde lipit miktarı yaşla birlikte azalırken, karbohidrat miktarlarında yaşla birlikte artış gözlenmiştir [146]. Sonuç olarak, uygulanan fotoperiyot şartlarına göre *G. mellonella* erginlerinin karbohidrat, lipit ve protein miktarlarında değişiklik meydana gelmemiş, karanlık süresi ile besin maddesi miktarları arasında ters orantı gözlenmiştir, tüm fotoperiyot şartlarında ise dişi birey hemolenfinin toplam olarak erkek birey hemolenfinden daha fazla karbohidrat, lipit ve protein içerdiği bildirilmiştir [146].

Adla ve ark. (1999) yaptıkları bir çalışmada, *G. mellonella*' da bulunan apolipoforin-III' ün hemolefin litik aktivitesini nasıl potansiye ettiğini çalışmışlar ve *Micrococcus lysodeikticus* (Actinomycetales: Micrococcaceae)' a karşı hemolenf litik aktivitesini arttırdığını ve bu meydana gelirken lizozoma bağlanmadığını ancak lizozom ile muhtemel bir ilişkisi olduğunu öne sürmüşlerdir [147].

Diğer bir çalışmada ise düşük sıcaklığın *G. mellonella* pupalarının toplam lipit ve toplam yağ asidi miktarına etkileri araştırılmıştır [148]. Sonuç olarak konağa uygulanan düşük sıcaklık ve bu sıcaklıktaki bekleme süresinin etkisinden dolayı ağırlık kaybında artış meydana gelirken, toplam lipit ve toplam yağ asidi miktarında azalma meydana geldiği belirtilmiştir [148].

Başka bir çalışmada ise, Sak ve ark. (2011) farklı zehir dozları kullanarak *P. turionellae* parazitlemesinin konak *G. mellonella* hemolenfindeki protein miktarına etkilerini araştırmışlar ve sadece kullandıkları en yüksek zehir dozunda kontrol grubuna göre protein seviyesinde iki katına varan artış, diğer dozlarda ise önemli bir değişiklik olmadığını tespit etmişlerdir [149]. Bu duruma enjeksiyon sonrasında konakta salgılanan stres proteinlerinin neden olduğunu vurgulamışlardır [149].

Tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında, parazitoitlerin konaklarındaki metabolik faaliyetleri zehir ya da kaliks içerikleriyle düzenlediği görülmektedir. Bunların yanında parazitleme esnasında ve sonrasında regülasyon için konak üzerinde farklı mekanizmalar kullanırken hemolenf içeriğinde bulunan metabolitlerin bir kısımında değişiklikler meydana getirirken bir kısmında etki oluşturmamaktadırlar. Ancak *P. turionellae* parazitlemesinin konak hemolenf lipit ve karbohidrat miktarlarına olan etkisine ait olan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Buradan yola çıkarak, biz de çalışmamızda *P. turionellae* parazitlemesinin, parazitlemeyi müteakip farklı zaman dilimlerinde konak *G. mellonella* hemolenf total lipit ve karbohidrat miktarına olan etkilerini incelemeye karar verdik.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Laboratuar

Konak ve parazitoit kültürlerinin yetiştirilmesinde laboratuar olarak 1.93 x 2.40 x 3.00 ve 1.37 x 2.20 x 3.00 metre boyutlarında birbirinden farklı iki oda kullanıldı. Bütün deneyler süresince laboratuarlarda, 25 ± 2°C sıcaklık, %60 ± 5 bağıl nem ve 12: 12 saat A: K (Aydınlık: Karanlık) fotoperiyot şartları devam ettirildi. Sıcaklık Arçelik R1251 marka termostatlı radyatör kullanılarak, oda içi bağıl nem radyatörün her iki yanına asılan içi su dolu plastik kaplarla ve gerektiği zamanlarda laboratuar zeminine su dökülerek sağlandı. Sıcaklık ve nem maksimum-minimum termometre ve higrometre ile devamlı olarak takip edildi. Aydınlık ve karanlık süresi zaman ayarlı fotoperiyot cihazı ile ayarlandı.

3.2. Konak Kültürleri

Konak tür *G. mellonella* (Şekil 3.1) süksesif kültürleri laboratuarımızda üretimi sürmekte olan *G. mellonella* erginleri kullanılarak oluşturuldu. Süksesif kültürlerin ve deney gruplarının oluşturulmasında larvaların doğal ortamına yakın bir ortamda yetiştirilmesi amacıyla sadece doğal koyulaşmış petekler kullanıldı.

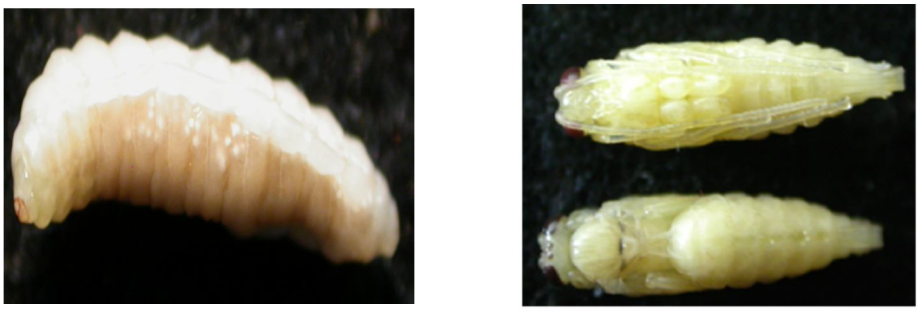


Şekil 3.1: *G. mellonella* larva, pupa ve ergini

Stok kültürden alınan 2 dişi ve 2 erkek ergini, içerisine dişilerin yumurta bırakması amacıyla bir miktar doğal koyulaşmış petek eklenerek 5 L'lik cam kavanozlara bırakıldı. Kavanozların ağzı hava sirkülâsyonunu önlemeyecek şekilde bez ve üstüne larvaların bezi delip kaçmalarını önlemek amacıyla delikler açılmış kapaklar ile kapatıldı. Kavanozlar koşulları yukarıda bahsedilen laboratuarlarda bekletildi. Larvaların beslenebilmesi amacıyla populasyon yoğunluğu takip edilerek, kavanozlara besin olarak zaman zaman yeterli miktarda petek ilave edildi. Bu şartlarda elde edilen konak larva ve pupları, parazitoit ve konak kültürlerinin devam ettirilmesinde ve deneylerde kullanıldı. Ayrıca, konak kültürlerinin hızlı bir şekilde üretilmesi ve gerekli olduğu zamanlarda pup elde etmek için 30- 35°C'ye ayarlanmış etüvler kullanıldı.

3.3. Parazitoit Kültürleri

Deneylerde parazitoit olarak idiobiont, soliter ve pup endoparazitoiti *P. turionellae* (Şekil 3.2-3) kullanıldı. *P. turionellae* stok kültürünün özünü kendi laboratuarımızda yetiştirilmekte olan *P. turionellae* erginleri oluşturdu. Besin olarak doğal petek kullanılarak yetiştirilen konak larvaları son larva evrelerine doğru kültürden alınıp içerisinde sadece katlanmış kağıt bulunan 1 L' lik kavanozlara bırakıldı. Kavanozlar üzeri delinmiş kapak ile kapatılarak konak stok kültürlerinin yetiştirildiği laboratuar şartlarında bekletildi. Gerekli olduğu durumlarda 30- 35°C'ye ayarlanmış etüvlere yerleştirildi. Larvalardan elde edilen puplar, *P. turionellae* stok kültürünün hazırlanmasında kullanıldı. Parazitoit üretimi için konak pupları *P. turionellae* ergin dişileri tarafından parazitlemeye sunuldu. Elde edilen ergin bireyler parazitoit kültürünün devam ettirilmesinde, deney gruplarının oluşturulmasında, zehir elde edilmesinde ve parazitlemede kullanıldı. Ergin parazitoit kültürleri, konak kültürleri ile aynı laboratuar koşullarında tutuldu. *P. turionellae* erginleri her gün %30' luk bal çözeltisi ve iki günde bir konak pup hemolenfi ile beslendi.



Şekil 3.2: Parazitoit *Pimpla turionellae* larvası ve pupası



Şekil 3.3: Parazitoit *Pimpla turionellae* ergin erkek ve dişi bireyi

3.4. Zehir Eldesi Enjeksiyonu ve Parazitleme

P. turionellae dişilerinin zehir bezi içeriğinin konak larva ve pup hemolenfine etkilerinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda 10- 20 günlük *P. turionellae* dişilerinin zehiri kullanıldı. Parazitoit ovipozitörleri kavranıp çekilerek böcekten ayrıldı. Zehir keseleri stereoskobik mikroskop altında diseksiyon iğneleri ile çıkartılarak içerisinde fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS Sigma pH:7,4) bulunan ve buz üzerinde tutulan ependorf tüpleri içine alındı. Zehir enjeksiyonu deneylerinde parazitoit zehirinin daha önceki çalışmada [87] belirlenen LD_{99} [LD_{99} = 0,06 (0,057 – 0,080) kese eşdeğeri zehir (KEZ) / pup] değeri altındaki farklı dört doz kullanıldı. Hazırlanan doz miktarları Tablo 3.1' de verildiği gibidir.

Tablo 3.1: Konak puplarına enjekte edilecek zehir dozları

Dişi Zehir Kesesi	PBS içine (µl)	KEZ
1 →	100 →	0,05
1 →	250 →	0,02
1 →	500 →	0,01
1 →	1000 →	0,005

*Enjeksiyon 5 µl/ pup olarak yapıldı.

Ependorf tüpleri içinde bulunan zehir keseleri, diseksiyon iğnesi ile delinerek içeriğin farklı derişimler oluşturmak için hazırlanan farklı miktarlardaki PBS çözeltilerine geçmesi sağlandı ve sonra zehir keseleri solüsyondan uzaklaştırıldı. Hazırlanan her bir ependorf tüp içerisinde bulunan farklı dozlardaki zehir solüsyonları bekletilmeyerek zehir enjeksiyonu deneylerinde hemen kullanıldı.

Pupal evrenin farklı dönemlerinde lipit ve karbohidrat miktarlarının farklılık gösterebileceği düşünülerek tüm deney gruplarında 1- 2 günlük *G. mellonella* pupları kullanıldı. Her bir KEZ değeri için puplara 10 µl' lik Hamilton marka mikroenjektör ile 5 µl zehir solüsyonu enjekte edildi. Zehir enjeksiyonu için pupta abdomenin son iki segmentleri arası kullanıldı. Enjeksiyon işlemini takiben hemolenf kaybını engellemek için enjeksiyon bölgesi vazelin (Petroleum jelly, Sigma) tatbik edilerek kapatıldı [59].

Farklı kese eşdeğeri zehir dozlarının konak larval lipit ve karbohidrat miktarlarının etkilerinin belirlendiği deneylerde ise parazitoit zehirinin daha önceki çalışmada [87] belirlenen LD_{99} [LD_{99} = 1,1 (0,66– 3,64) kese eşdeğeri zehir (KEZ) / larva] değeri altındaki dört farklı doz kullanıldı. Hazırlanan doz miktarları Tablo 3.2' de verildiği gibidir.

Tablo 3.2: Konak larvalarına enjekte edilecek zehir dozları

Dişi Zehir Kesesi	PBS içine (µl)	KEZ
10 →	100 →	0,5
2 →	100 →	0,1
1 →	100 →	0,05
1 →	250 →	0,02

*Enjeksiyon 5 µl/ larva olarak yapıldı.

10 µl'lik Hamilton mikroenjektör yardımıyla her KEZ dozu 5' er µl olacak şekilde larvalara birinci arka bacak üstünden enjeksiyonu yapıldı ve enjeksiyon bölgesi hemolenf kaybını önlemek için vazelin ile kapatıldı.

Parazitlemenin *G. mellonella* pupal lipit ve karbohidrat miktarlarının etkilerinin belirlendiği çalışmalarda ise 1-2 günlük puplar *P. turionellae* dişilerine parazitlemeleri için bırakıldı. Her bir pupa tek bir parazitoit dişisinin yumurta bırakması için parazitleme süresince parazitleme tamamlanıncaya kadar gözlendi ve ikinci bir parazitlemeye sebebiyet vermemek için parazitlendiği gözlenen puplar ortamdan uzaklaştırıldı. *G. mellonella* larvalarında sağlıklı bir parazitleme gerçekleştirilemediği için parazitlemenin konak lipit ve karbohidrat üzerine olan etkileri sadece pupal evrede araştırıldı.

Kontrol grupları ise üç seri halinde oluşturuldu. Birinci grup; herhangi bir işleme tabi tutulmamış normal pup ve larvalar, ikinci grup; sadece boş enjeksiyon yapılmış olanlar ve üçüncü grup ise; 5 µl PBS (Fosfat tamponlu tuz çözeltisi) enjekte edilerek hazırlanmış olanlardır. Enjeksiyon, diğer deney gruplarında olduğu gibi pupta abdomenin son iki segmenti arasından, larvada ise birinci arka bacak üzerinden yapılarak kontrol grupları oluşturuldu ve hemolenf kaybını engellemek için enjeksiyon bölgesi vazelin ile kapatıldı.

3.5. Hemolenf Alma

P. turionellae parazitlemesinin ve zehir dozlarının konak pupu ve larvasının hemolenf lipit ve karbohidrat miktarlarına etkilerinin belirlendiği çalışmalarda enjeksiyon ve parazitlemenin ardından bütün deney ve kontrol gruplarında 4, 8 ve 24 saat sonra hemolenf alınıp lipit ve karbohidrat içeriğindeki değişimler belirlendi.

Deney gruplarını oluşturmak için her zehir dozu, parazitleme ve kontrol grupları için 5 pup ve 5 larva kullanıldı. Parazitlemenin *G. mellonella* hemolenf lipit ve karbohidrat miktarına etkilerinin belirlenmesi için her zaman dilimi ve her KEZ veya kontrol grubu için 5, toplam 15 pup kullanıldı. Hemolenf alınma işleminden önce hemolenfin konulacağı ependorf tüplerinin -20˚C'de soğuması sağlandı ve melanizasyon oluşmaması için tüplerin içerisine hemolenf konulmadan önce 1 mg feniltiyoüre (Sigma) ilave edildi. Farklı deney ve kontrol gruplarında hemolenf karbohidrat ve lipit miktarının belirlenebilmesi için pup karın kısmından ince uçlu iğneyle delindi ve 4 µl hemolenf mikrokapiler tüp (Sigma) yardımıyla alındı. Larval hemolenf ise birinci arka bacak üzerinden yine mikrokapiler tüp yardımıyla elde edildi. Tüm hemolenf alım işlemleri esnasında örnek alınan tüp buz üzerinde bekletildi. Toplanan örnek hemolenfler analiz işlemi başlayıncaya kadarki süreçte -20˚C'de saklandı. Tüm deneyler farklı zaman farklı populasyonlardan alınan örneklerle üç kez tekrarlandı ve deney gruplarının analizleri 3 tekrar yapılarak incelendi.

3.6. Karbohidrat

3.6.1. Karbohidrat standart grafiği

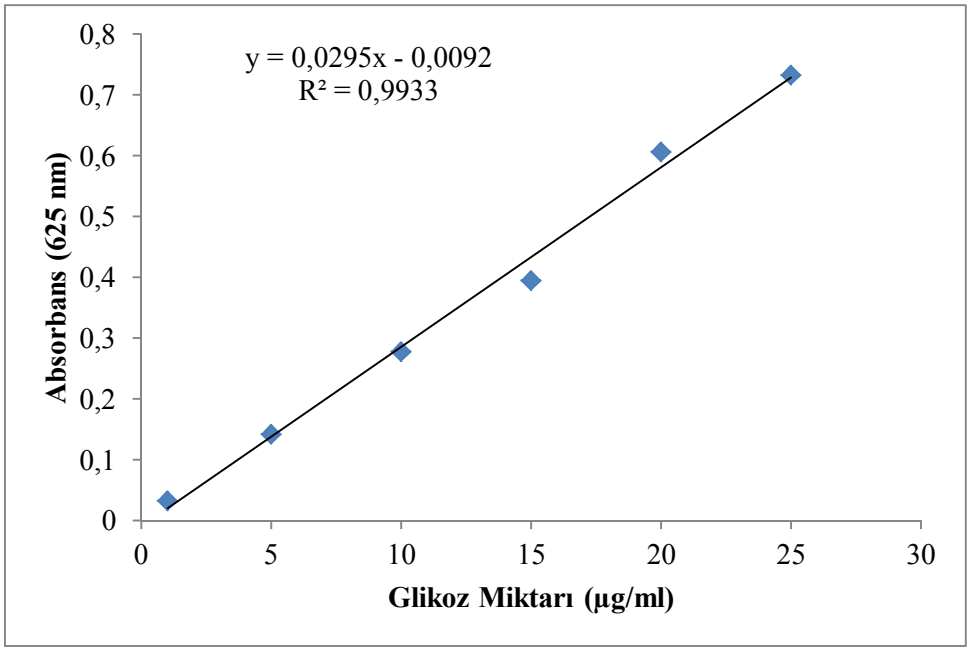
Deney gruplarının hemolenf karbohidrat içeriklerinin belirlenmesi için Van Handel [150-151]' in geliştirdiği antron metodu kullanıldı. Bu metoda göre karbohidrat konsantrasyonunun belirlenmesi için hemolenf analizlerinden önce bir standart grafiği oluşturuldu. Grafiğin oluşturulmasında saf glukoz (Merck) kullanıldı ve konsantrasyonu 1 mg/ml olan stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltiden sırasıyla 1,

5, 10, 15, 20, 25 µg/ml olan farklı konsantrasyonlardaki standart çözeltileri hazırlandı (Tablo 3.3).

Tablo 3.3: Karbohidrat standart grafiğinin oluşturulmasında kullanılan farklı konsantrasyondaki stok çözeltiler

Standart (µg/ml)	**Stok (µl) +Su (µl)**	**Toplam çözelti miktarı (µl)**
1	1 + 199	200
5	5 + 195	200
10	10 + 190	200
15	15 + 185	200
20	20 + 180	200
25	25 + 175	200

Hazırlanan 200 µl' lik çözeltiler ependorf tüpleri içine alınarak, 50 µl kalıncaya kadar buharlaşmasını sağlamak amacıyla 90˚C'de sıcak su banyosunda bekletildi. Reaktif olarak % 0.2' lik olarak hazırlanan antron reaktifi (Fluka) kullanıldı. Bunu hazırlamak için, 0.2 mg antron reaktifi tartıldı ve derişik sülfirik asit (H_2SO_4) ile 100 ml' ye tamamlandı. % 0.2' lik olarak hazırlanan antron reaktifinden 950 µl, sıcak su banyosundan çıkartılan tüplerin içerisine eklendi ve tekrardan 90˚C su banyosunda 15 dk bekletildi. Renk oluşumu gözlendi. Tüplerin absorbans değerleri Shimadzu UV-1601 marka spektrofotometrede 625 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Bu işlem farklı konsantrasyondaki her standart çözelti için üç kez tekrarlandı. Elde edilen absorbans değerleri ile Şekil 3.4' teki standart karbohidrat grafiği oluşturuldu.



Şekil 3.4: Toplam karbohidrat standart grafiği

3.6.2. Hemolenf karbohidrat miktarı

Parazitlemenin ve zehir dozlarının konak hemolenfinde bulunan karbohidrat miktarının belirlenmesinde Olson ve ark. [142]' nın Van Hendel [150- 151]'den uyarladıkları yöntem kullanıldı. Bunun için pup ve larva deney gruplarından alınan hemolenf örnekleri ependorf tüpü içerisinde + 4˚C' de Eppendorf 5804 Marka satrifüjde 10000 devirde 5 dk santrifüj edildi. Herbir tüpten santrifüj sonrası toplanan plazmadan 1 µl alınarak daha önceden buzda soğutulmuş başka ependorf tüplerine konuldu ve etiketlendi. Üzerine 50 µl %2' lik Na_2SO_4 (Merck) çözeltisi ilave edildi. Daha sonra, içerisine 450 µl kloroform-metanol (2:1) karışımı ilave edildikten sonra 14000 devir/dakikada 2 dk santrifüj edildi. Santrifüjdan sonra her gruptan alınan 200 µl supernatant kısım tüpler içerisine yerleştirildi ve etiketlendi. Tüpler içerisindeki örnekler 90˚C'deki su banyosunda içlerinde yaklaşık 50 µl örnek kalıncaya kadar ısıtıldı. Daha sonra, sıcak su banyosundan çıkartılan tüpler içerisine 950 µl antron reaktifi (Merck) eklenerek 90˚C' deki su banyosunda 15 dk bekletildi ve renk oluşumu gözlendi. Daha sonra tüplerin absorbans değerleri 625 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Bu işlem her bir deney grubu için üç kez tekrarlandı. Şekil 3.4' teki standart karbohidrat grafiği kullanılarak hesaplamalar yapıldı.

3.7. Lipit

3.7.1. Lipit standart grafiği

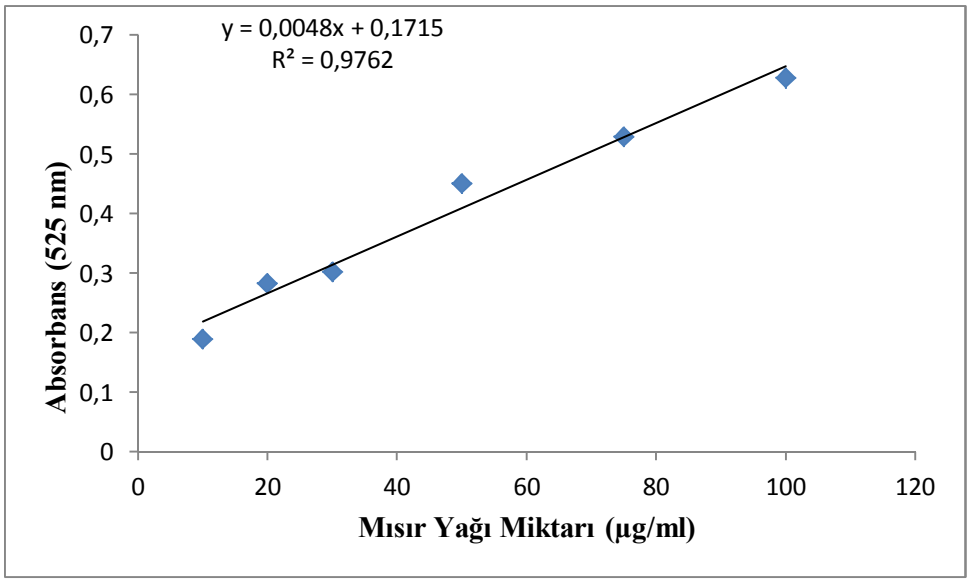
Pup ve larva deney gruplarının hemolenf lipit içeriklerinin belirlenmesi için Van Handel [151- 152]' in geliştirdiği vanillin- fosforik asit metodu kullanıldı. Bu metoda göre lipit konsantrasyonunun belirlenmesi için hemolenf analizlerinden önce bir standart grafiği oluşturuldu. Grafiğin oluşturulmasında %0.1' lik mısır yağı (Merck) kullanıldı ve konsantrasyonunun 1 mg/ml olması sağlandı. Konsantrasyonu 1 mg/ml olan stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözeltiden sırasıyla 5, 10, 20, 30, 40, 50 µg/ml olan farklı konsantrasyonlardaki standart çözeltileri hazırlandı (Tablo 3.4).

Tablo 3.4: Lipit standart grafiğinin oluşturulmasında kullanılan farklı konsantrasyondaki stok çözeltiler

Standart (µg/ml)	Stok (µl) +Su (µl)	Toplam çözelti miktarı (µl)
5	5 + 195	200
10	10 + 190	200
20	20 + 180	200
30	30 + 170	200
40	40 + 160	200
50	50 + 150	200

Reaktif olarak ise vanillin- fosforik asit ayıracı kullanıldı. Vanillin- fosforik asit ayıracını hazırlamak için 305 mg vanillin 78 ml distile su içerisinde çözüldü ve 172 ml fosforik asit ile 250 ml' ye tamamlandı. 200 µl olarak hazırlanan çözeltiler ependorf tüpleri içine alınarak içlerindeki çözeltilerin tamamı buharlaşıncaya kadar 90˚C'deki su banyosunda ısıtıldı. Tüplerde kalan lipit çökeleğinin üzerine 40 µl konsantre H_2SO_4 (Merck) çözeltisi ilave edilerek tüpler karıştırıldı ve tekrar 2 dk 90˚C'deki su banyosunda bekletildi. Tüpler buzda soğutulduktan sonra, her bir tüp içerisine van Handel [142]'in yöntemiyle hazırlanmış vanilin (Merck) - fosforikasit (Merck) reaktifi ilave edildi ve 30 dk oda sıcaklığında bırakıldı. Renk oluşumu gözlendikten sonra tüpler karıştırıldı ve tüplerin absorbans değerleri

spektrofotometrede 525 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Her standart çözelti konsantrasyonu için bu işlem üç kez tekrarlandı. Elde edilen absorbans değerleri ile Şekil 3.5'deki standart lipit grafiği oluşturuldu.



Şekil 3.5: Toplam lipit standart grafiği

3.7.2. Hemolenf lipit miktarı

Parazitlemenin ve zehir dozlarının konak hemolenfinde bulunan lipit miktarının belirlenmesinde karbohidrat miktarının belirlenmesinde olduğu gibi Olson ve ark. [142]' nın Van Hendel [151- 152]'den uyarladıkları yöntem kullanıldı. Bunun için pup ve larva deney gruplarından alınan hemolenf örnekleri ependorf tüpü içerisinde + 4˚C de Eppendorf 5804 Marka satrifüjde 10000 devirde 5 dk santrifüj edildi. Herbir tüpten santrifüj sonrası toplanan plazmadan 1 µl alınarak daha önceden buzda soğutulmuş başka ependorf tüplerine konuldu ve etiketlendi. üzerine 50 µl %2'lik Na_2SO_4 (Merck) çözeltisi ilave edildi. Daha sonra, içerisine 450 µl kloroform-metanol (2:1) karışımı ilave edildikten sonra 14000 devir/dakikada 2 dk santrifüj edildi. Santrifüjdan sonra her gruptan alınan 200 µl supernatant kısım tüpler içerisine yerleştirildi ve etiketlendi. Tüpler içerisindeki örnekler 90˚C' deki su banyosunda tamamen buharlaşıncaya kadar ısıtıldı. Tüplerde kalan lipit çökeleği üzerine 40 µl konsantre H_2SO_4 çözeltisi ilave edilerek tüpler karıştırıldı ve 2 dk 90˚C' de su banyosunda ısıtıldı. Tüpler buzda soğutulduktan sonra, her bir tüp içerisine 960 µl

vanilin-fosforik asit reaktifi ilave edildi ve tüpler 30 dk oda sıcaklığında bekletildi. Renk oluşumu gözlendikten sonra tüpler karıştırıldı ve tüplerin absorbans değerleri spektrofotometrede 525 nm dalga boyunda köre karşı okunarak tespit edildi. Bu işlem her bir deney grubu için üç kez tekrarlandı. Şekil 3.5' deki standart lipit grafiği kullanılarak hesaplamalar yapıldı.

3.8. İstatistik

Zehir dozları ve parazitlemeye bağlı olarak konak hemolenf karbohidrat ve lipit miktarındaki ortalamalar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırıldı. Ortalamalar arası farklar Tukey gerçekten anlamlı farklılık (Tukey HSD) testleri ile belirlendi. Veri analizinde SPSS istatistik programı [153] kullanıldı. Sonuçlar $P<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Karbohidrat

4.1.1. Zehirin konak larval hemolenf karbohidrat miktarına etkisi

Bütün deney serilerinin üçer kez tekrarı yapılarak elde edilen sonuçlar analiz edildiğinde, hiçbir işleme tabi tutulmamış *G. mellonella* larvasında 4, 8 ve 24 saatlik periyotlarda hemolenfteki karbohidrat miktarı sırası ile 6,41 ± 0,54, 12,92 ± 0 ,21 ve 6,44 ± 0,04 µg olarak ölçüldü (Tablo 4.1). Zehir dozuna bağlı 4 (F=72,938; sd=6, 56; P=0,000), 8 (F=88,906; sd=6, 56; P=0,000) ve 24 (F=69,971; sd=6, 56; P=0,000) saatlerinin sonunda larval hemolenf karbohidrat miktarında meydana gelen değişiklikler deney ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık gösterdi (Tablo 4.1). 4. saat periyodunda, 0,05 KEZ dozu ve daha yüksek dozlarda (>0,05 KEZ) karbohidrat miktarında kontrol gruplarına göre azalma meydana geldi. Tüm uygulamalar içerisinde en fazla azalma 4. saat periyodunda 0,5 dozluk uygulamada görüldü. Bu azalma dozun uygulanmasıyla birlikte konağın savunma mekanizması oluştururken yüksek düzeyde enerji harcamasından dolayı meydana gelmiş olabilir. Benzer bir sonuç Özkan ve Yanıkoğlu [154] tarafından da elde edilmiştir. Araştırıcılar 2,4-D ve maleic hydrazine uygulanan parazitoit yumurtalarında embriyolojik gelişim ilerledikçe (4, 8 ve 24 saat) glikojen miktarındaki azalmanın arttığını ve 30 saat sonunda elde edilen larvalarda neredeyse hiç glikojen olmadığını tespit etmişlerdir [154]. 8. ve 24. saatlerde ise kontrol grubundaki gibi normal seviyeye ulaşması ise konağın adaptasyonu yani homeostasi oluşturmuş olması ile açıklanabilir. (Tablo 4.1). 0,1 KEZ doz miktarının uygulanmasında ise karbohidrat miktarında 4. saatte kontrol grubuna göre neredeyse yarı yarıya bir azalma görüldü. Ancak, bu dozda 8. saatte, 4. saate göre dört kat artma meydana geldi (Tablo 4.1). En düşük dozdaki 0,02' lik uygulamada karbohidrat miktarında, 8. saatte 4. saate göre yaklaşık 1,5 kat artış gözlendi (Şeki 4.1). Bu artışın 0,05 KEZ ve üstü uygulamalarda üç hatta daha fazla miktarda yukarıda da söz edildiği üzere 0,1 KEZ'

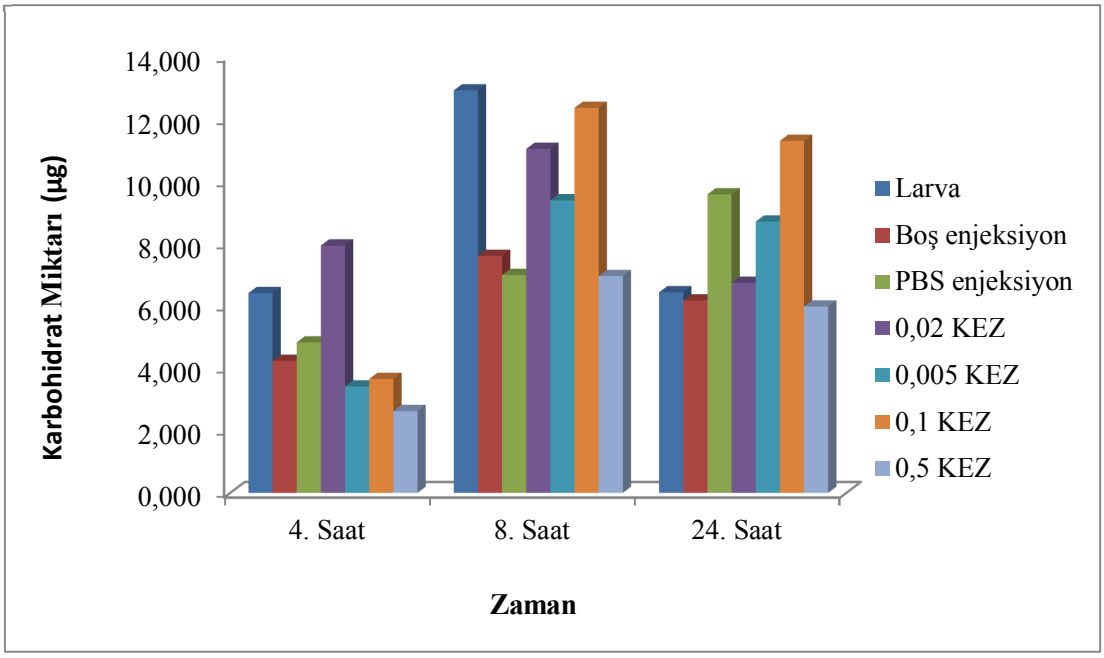
lik dozda dört kata kadar ulaştığı görüldü (Tablo 4.1). Ayrıca, başka bir çalışmada *P. turionellae* herbisitli bal çözeltisi ile on gün beslenmiş ve ergin dişilerin ve bu dişilerden elde edilen yumurta ve birinci evre larvalarda da glikojen seviyelerinin önemli miktarda azaldığı görülmüştür [154]. Bir başka çalışmada aynı türe ait ergin dişiler 30 gün boyunca 2,4-D'li bal çözeltileri ile beslenmiş ve sonuç olarak bu bireylerin glikojen seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir [155]. Bu çalışmalar yüksek zehir dozlarının uygulamanın hemen ardından larval hemolenf karbohidrat miktarını azalttığını desteklemektedir. Ancak çalışmamızda zehir enjeksiyonunun 4. saatini müteakip sürenin ilerlemesiyle görülen miktarlardaki artma yukarıda verilen çalışmalarla tezat oluşturmaktadır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Farklı zehir dozlarının konak larva hemolenfindeki karbohidrat miktarına etkisi

Deney Grupları	Toplam Karbohidrat ($\bar{x}$ ±SH) (µg) *			İstatistik (ANOVA)		
	Deney gözlem zamanı (saat) **					
	4	8	24	F	sd	P
Normal Larva	6,41 ± 0,54$^{a\,x}$	12,92 ± 0,21$^{a\,y}$	6,44 ± 0,04$^{a\,x}$	1,122	2, 24	0,000
Boş Enjeksiyon	4,24 ± 0,61^{bcx}	7,61 ± 0,25^{by}	6,18 ± 0,17^{az}	168,642	2, 24	0,000
PBS Enjeksiyon	4,83 ± 0,77^{cx}	7,00 ± 1,28^{by}	9,58 ± 0,02^{bz}	68,477	2, 24	0,000
0,02 KEZ	7,94 ± 0,45^{dx}	11,04 ± 0,07^{cy}	6,75 ± 0,25^{az}	498,306	2, 24	0,000
0,05 KEZ	3,42 ± 1,13^{bex}	9,39 ± 0,17^{dy}	8,71 ± 1,87^{by}	59,919	2, 24	0,000
0,1 KEZ	3,66 ± 0,27^{bx}	12,36 ± 1,41^{az}	11,30 ± 0,41^{cz}	272,155	2, 24	0,000
0,5 KEZ	2,63 ± 0,41^{ex}	6,96 ± 0,88^{dz}	5,98 ± 0,18^{az}	142,717	2, 24	0,000

*Her biri 5 bireyin hemolenfinden elde edilen sonuçların 3 tekrarının ortalamasını ve standart ortalamalarını göstermektedir.

** Aynı sütunda (a-e) ve satırda (x-z) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0,05; Tukey HSD testi). SH; Standart Hata.



Şekil 4.1: KEZ dozlarının farklı zaman dönemlerinde konak larvası karbohidrat miktarına etkileri, Larva: Herhangi bir işleme tabi tutulmamış G. mellonella larvası, B.E: Boş Enjeksiyon, PBS: PBS enjeksiyonu

4.1.2. Parazitlemenin ve zehirin konak pup hemolenf karbohidrat miktarına etkisi

Hiçbir işleme tabi tutulmamış *G. mellonella* pupunda 4, 8 ve 24 saatlik periyotlarda hemolenfteki karbohidrat miktarı sırası ile 5,22 ± 0,96, 5,96 ± 0,23 ve 4,00 ± 0,46 µg olarak ölçüldü (Tablo 4.2). Zehir dozuna bağlı olarak 4 (F=22,060; sd=7, 64; P=0,000), 8 (F=177,247; sd=7, 64; P=0,000) ve 24 (F=19,142; sd=7, 64; P=0,000) saatlerinde pupal hemolenf karbohidrat miktarında meydana gelen değişiklikler deney ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık gösterdi (Tablo 4.2). Zehir dozajı en az olan ilk iki dozda (0,005 KEZ ve 0,01 KEZ) ilk 4. saatte karbohidrat miktarında kontrol gruplarına göre artma gözlenirken, 0,02 KEZ ve 0,05 KEZ' lik dozlarda azalma gözlendi. Bu artma hormesis etkisinden dolayı meydana gelmiş olabilir. Zanuncio, T.V. ve ark. 2003 yılında yaptıkları bir çalışmada, permethrin dozlarının *Supputius cincticeps* (Heteroptera: Pentatomidae) gelişim biyolojisine etkilerini araştırmışlardır [156]. Araştırmada, düşük dozlardaki permethrine maruz bırakılan bireylerin hormesis etkisiyle performanslarının tetiklendiğini, orta şiddetteki dozların dişi nimflerin üçüncü instar sürelerini kısalttığını ve erkek

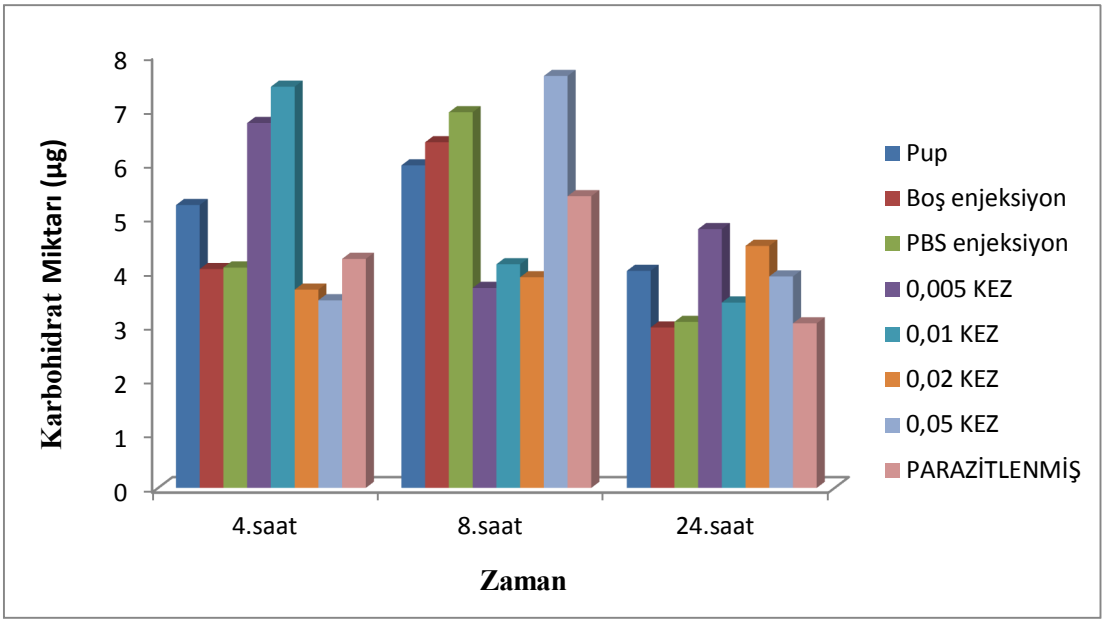
nimflerin ise beşinci instar sürelerini arttırdığını öne sürmüşlerdir [156]. Bunun yanında düşük dozların hormesis etkisiyle ovipozisyon öncesi süreyi kısalttığını vurgulamışlardır. Bu araştırma karbohidrat miktarındaki değişimlerin hormesis etkisiyle meydana gelebileceğinide destekler niteliktedir [156]. 0,02 KEZ , 0,05 KEZ ve parazitlenmiş gruplarda ise ilk 4. saatte karbohidrat miktarındaki azalma benzer bir ilişki göstermektedir. Gruplar arasında karbohidrat miktarındaki en yüksek artma 0,01 KEZ' lik doz uygulanmasının ardından ilk 4. saatte görüldü ve 4. saate göre 24. saatte azalma meydana geldi (Tablo 4.2) (Şekil 4.2). En yüksek zehir dozunda (0,05 KEZ) ise zehirin uygulanmasının ardından ilk 4. saatte karbohidrat miktarında azalma, 8. saatte ise iki katna varan bir artma ve 24. saatte ise tekrardan azalma olmuş 4. saatteki seviyelerine ulaşmıştır (Tablo 4.2). Bu azalma ve artışlar Nakamatsu ve Tanaka (2003)' nın yaptıkları bir çalışmanın sonuçları ile örtüşmektedir. Çalışmada *P. separata– C. kariyai* sistemindeki hafifçe ve ağır bir şekilde parazitlemenin iki durumununu araştırmışlardır [107]. Sonuç olarak, ağır bir şekilde parazitlenmiş konağın trehaloz miktarının düşük konsantrasyonlarda olduğunu ancak hafifçe parazitlenmiş konaklarda ise trehaloz miktarı parazitlemeden sonraki sekizinci günden sonra artış olduğunu göstermişlerdir [107]. Zehir dozlarının miktarına ve parazitlemeye bağlı olarak düşük miktardaki zehirin zamanla karbohidrat miktarını düşürdüğünü ancak sonraki zamanlarda bu oranın arttığını, yüksek dozlarda ise karbohidrat miktarını düşürdüğünü göstermeleri çalışmamızı destekler niteliktedir. En yüksek hemolenf karbohidrat miktarı 0,05 KEZ dozunun 8. saatinde gözlendi (Şekil 4.2). 0,05 KEZ doz enjekte edilmiş grup ile kontrol gruplarından PBS enjekte edilmiş grup arasındaki ilişki benzerdir.

Tablo 4.2: Parazitlemenin ve farklı zehir dozlarının konak pup hemolenfindeki karbohidrat miktarına etkisi

Deney Grupları	Toplam Karbohidrat ($\bar{x}$ ±SH) (µg) *			İstatistik (ANOVA)		
	Deney gözlem zamanı (saat) **					
	4	8	24	F	sd	P
Normal Pup	5,22 ± 0,96^{ax}	5,96 ± 0,23^{ax}	4,00 ± 0,46^{ady}	22,157	2, 24	0,000
Boş Enjeksiyon	4,04 ± 0,64^{abx}	6,38 ± 0,13^{ay}	2,96 ± 0,69 ^{bz}	92,224	2, 24	0,000
PBS Enjeksiyon	4,07 ± 0,80^{abx}	6,94 ± 0,22^{by}	3,07 ± 0,22^{bz}	146,309	2, 24	0,000
0,005 KEZ	6,74 ± 1,96^{cx}	3,69 ± 0,16^{cy}	4,78 ± 0,86^{cy}	13,931	2, 24	0,000
0,01 KEZ	7,41 ± 0,71^{cx}	4,13 ± 0,11^{cy}	3,42 ± 0,24^{abz}	212,906	2, 24	0,000
0,02 KEZ	3,66 ± 0,05^{bx}	3,89 ± 0,09^{cy}	4,47 ± 0,13^{cdx}	171,039	2, 24	0,000
0,05 KEZ	3,47 ± 0,68^{bx}	7,60 ± 0,72^{dy}	3,91 ± 0,46^{adz}	118,073	2, 24	0,000
Parazitleme	4,23 ± 0,56^{abx}	5,39 ± 0,45^{ey}	3,04 ± 0,21^{bz}	65,374	2, 24	0,000

*Her biri 5 bireyin hemolenfinden elde edilen sonuçların 3 tekrarının ortalamasını ve standart ortalamalarını göstermektedir.

** Aynı sütunda (a-e) ve satırda (x-z) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0,05; Tukey HSD testi). SH; Standart Hata.



Şekil 4.2: Parazitlemenin ve KEZ dozlarının farklı zaman dönemlerinde pup karbohidrat miktarına etkileri, Pup: Herhangi bir işleme tabi tutulmamış *G. mellonella* pupu. B.E: Boş Enjeksiyon, PBS: PBS enjeksiyonu, P: Parazitlenmiş

Larva evresinde ki total karbohidrat miktarı pup evresine göre daha yüksek orandadır. Yanıkoğlu [93] *P. turionellae*'nın başkalaşımı sırasında yüzde glikojen değerinin diğer evrelere göre larva evresinde daha düşük olduğunu ifade etmiştir. Akdeniz meyve sineği, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) ile yapılan çalışmalarda da, metamorfozun başlangıç safhalarında larvanın yüksek enerji ihtiyacı nedeniyle toplam glikojen miktarının çok düşük olduğu [157, 158] ve bunun glikogenolizis enzimleri ve trehalaz enzim aktivitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [158, 159]. Bizim yaptığımız çalışma ise larva evresinde karbohidrat miktarının daha yüksek olduğunu göstermektedir ve bu farklılığın başkalaşım süreciyle ilgili olabileceği düşünülmektedir (Şekil 4.1, 4.2).

4.2. Lipit

4.2.1. Zehirin konak larval hemolenf lipit miktarına etkisi

Pimpla turionellae farklı kese eşdeğeri zehir dozlarının konak larval hemolenf lipit miktarına etkilerini belirlenmesi için yapılan 3 tekrarlı analizlerde, hiçbir işleme tabi tutulmamış *G. mellonella* larvasında 4, 8 ve 24 saatlik periyotlarda hemolenfteki lipit

miktarı sırası ile 4,98 ± 0,15, 7,38 ± 0,24 ve 9,64 ± 0,30 µg olarak ölçüldü (Tablo 4.3). Zehir dozuna bağlı 4 (F=148,901; sd=6, 56; P=0,000), 8 (F=66,447; sd=6, 56; P=0,000) ve 24 (F=110,587; sd=6, 56; P=0,000) saatlerinin sonunda larval hemolenf lipit miktarında meydana gelen değişimler deney ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık gösterdi (Tablo 4.3). Hiçbir işleme tabi tutulmamış kontrol gruplarına göre larval hemolenf lipit miktarındaki en yüksek artma en düşük zehir olan 0,02 KEZ enjeksiyonunu müteakip 4. saat sonrasında meydana geldi (Şekil 4.3) (Tablo 4.3). Hemolenf lipit miktarındaki artmanın en düşük zehir dozunda meydana gelmesi hormesis etkisinden kaynaklanabileceğini göstermektedir [156]. Bunun yanında, Nakamatsu ve Tanaka(2003), ektoparazitoit *E. separate'* in en iyi besinsel kaynağı elde etmek için lepidopter larval konağı olan *P. separate* 'nın fizyolojiksel ortamını nasıl düzenlediği konusundaki çalışmada, zehir enjeksiyonunun hemolenf lipit miktarında artma meydana getirdiği sonucuna varmışlardır [65]. Bu çalışma zehir dozlarının konağın düzenlenmesinde rol oynadığını, lipit miktarını en düşük doz olan 0,02 KEZ enjeksiyonunu takiben farklı saatlerde attırdığını desteklemektedir. Diğer dozlar ise 4. saatte kontrol gruplarına göre değişiklik göstermedi. Yapılan bir çalışmada *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae) - *Achoria grisella* Fabr. (Lepidoptera: Pyralidae) sisteminde parazitleme sonucu konak toplam lipit ve yağ asiti miktarlarında herhangi bir değişiklik görülmemiştir [160]. Bu araştırma bulgularımızı desteklemektedir.

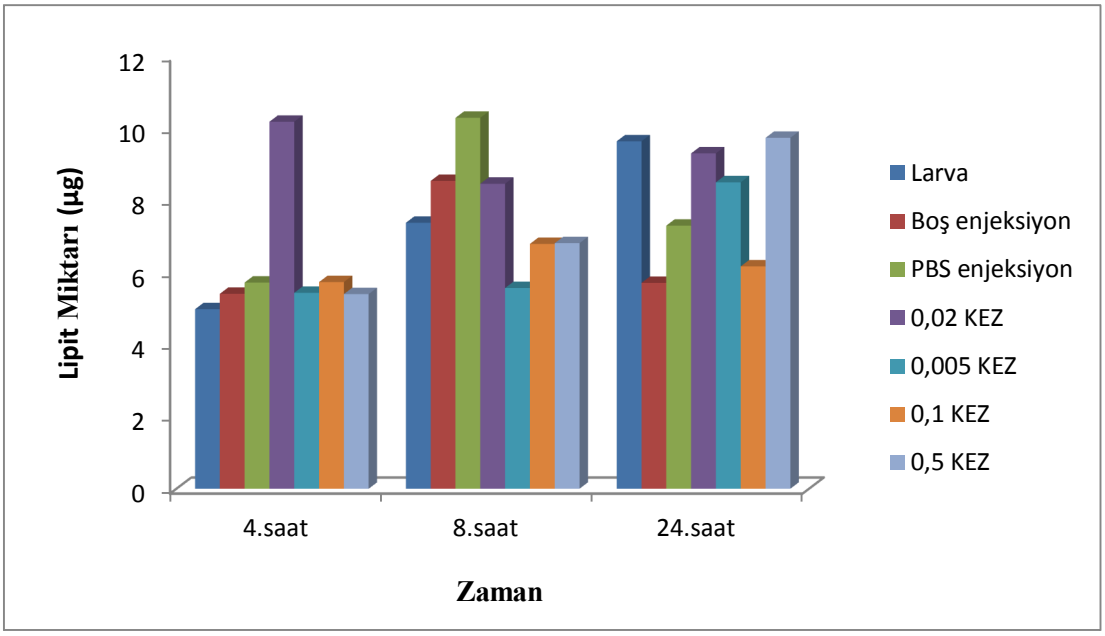
Tablo 4.3: Farklı zehir dozlarının konak larva hemolenfindeki lipit miktarına etkisi

Deney Grupları	Toplam Lipit ($\bar{x}$ ±SH) (µg) * Deney gözlem zamanı (saat) **			İstatistik (ANOVA)		
	4	8	24	F	sd	P
Normal Larva	4,98 ± 0,15^{ax}	7,38 ± 0,24^{ay}	9,64 ± 0,30^{az}	877,738	2, 24	0,000
Boş Enjeksiyon	5,41 ± 0,30^{abx}	8,54 ± 0,19^{by}	5,71 ± 0,63^{bx}	155,340	2, 24	0,000
PBS Enjeksiyon	5,72 ± 0,23^{bx}	10,29 ± 0,33^{cy}	7,30 ± 0,54^{cz}	318,024	2, 24	0,000
0,02 KEZ	10,18 ± 0,94^{cx}	8,46 ± 1,12^{by}	9,30 ± 0,24^{axy}	9,141	2, 24	0,001
0,05 KEZ	5,44 ± 0,21^{abx}	5,57 ± 0,27^{dx}	8,50 ± 0,23^{dy}	469,830	2, 24	0,000
0,1 KEZ	5,73 ± 0,49^{bx}	6,79 ± 0,15^{ay}	6,16 ± 0,75^{bx}	9,329	2, 24	0,001
0,5 KEZ	5,40 ± 0,22^{abx}	6,81 ± 0,84^{ay}	9,73 ± 0,38^{az}	146,774	2, 24	0,000

*Her biri 5 bireyin hemolenfinden elde edilen sonuçların 3 tekrarının ortalamasını ve standart ortalamalarını göstermektedir.

** Aynı sütunda (a-d) ve satırda (x-z) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0,05; Tukey HSD testi). SH; Standart Hata.

Nasonia vitripennis (Walker) (Hymenopter: Pteromalidae) konağı *Sarcophaga bullata* Parker (Diptera: Sarcophagidae)' ı parazitlemesi sonucu hem hemolenf hem de yağ cisimciğindeki lipit miktarını arttırmıştır [48]. *Euplectrus sp. near plathypenae* (Hymenoptera: Eulophidae)'nın zehiri ise konak *Pseudaletia separati* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae)' nin hemolenfinde lipit miktarını yükseltmiştir [65]. Ayrıca lipit konsantrasyonunun artışı yağ dokudan yağların hemolenfe çıkışı ile meydana geldiği düşünülebilir [160]. Söz edilen tüm çalışmalar bulgularımızı desteklemektedir.



Şekil 4.3: KEZ dozlarının farklı zaman dönemlerinde konak larvası lipit miktarına etkileri, Larva: Herhangi bir işleme tabi tutulmamış *G. mellonella* larvası, B.E: Boş Enjeksiyon, PBS: PBS enjeksiyonu

4.2.2. Parazitlenmenin ve zehirin konak pup hemolenf lipit miktarına etkisi

Üç kez tekrarlanarak analizleri yapılan deney serileri sonuçlarına göre, hiçbir işleme tabi tutulmamış *G. mellonella* pupunda 4, 8 ve 24 saatlik periyotlarda hemolenfteki lipit miktarı sırası ile 4,98 ± 0,15, 7,38 ± 0,24 ve 9,64 ± 0,30 µg olarak ölçüldü (Tablo 4.4). Zehir dozuna bağlı olarak 4 (F=80,080; sd=7, 64; P=0,000), 8 (F=325,875; sd=7, 64; P=0,000) ve 24 (F=117,027; sd=7, 64; P=0,000) saatlerinde pupal hemolenf lipit miktarında meydana gelen değişiklikler deney ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık gösterdi (Tablo 4.4). Zehir dozu uygulanmış gruplar içerisinde en fazla lipit miktarı en düşük doz olan 0,005 ve 0,01 KEZ' lik uygulamaları takiben 4. Saatte gözlendi (Şekil 4.4) (Tablo 4.4). Bu artmanın hormesis etkisinden dolayı meydana gelmiş olduğu düşünülmektedir. Dozlar içerisindeki en düşük hemolenf lipit miktarı ise 0,005 KEZ doz uygulanmış grupların 24. Saatinde gözlendi (Şekil 4.4). Ayrıca bu uygulama sonrasında (0,005 KEZ) zamana bağlı olarak sırasıyla 4, 8 ve 24. Saatlerde hemolenf lipit miktarında düzenli bir azalma gözlendi (Şekil 4.4) (Tablo 4.4). Pup grupları içerisinde zehir dozuna bağlı olarak azalmalar meydana geldi ancak saptanan lipit oranları larva

evresine göre çok yüksek miktardadır. *C. capitata*'da larva gelişimi boyunca glikojen ve karbohidrat kullanımı, larva evresi ve larva-pup geçişi süresince lipitlerin devamlı olarak biriktirilmesine bağlanmıştır [157]. Çalışmamızda, pup evresinde lipit değerinin larva evresine göre çok daha yüksek olması bu fikri desteklemektedir (Şekil 4.3, 4.4). En yüksek zehir dozu olan 0,05 KEZ' lik grubun haricinde diğer grupların hemolenf lipit miktarlarında düzenli bir azalma gözlendi. Parazitlenmiş gruplarda ise kontrol grupları ve zehir dozu uygulanmış gruplara göre hemolenf lipit miktarının çok daha düşük seviyelerde olduğu belirlendi (Tablo 4.4). Nakamatsu ve Tanaka (2003), yaptıkları çalışmada ağır bir şekilde parazitlenmiş konakların hemolenfindeki toplam lipit miktarının hafif bir şekilde parazitlenmiş konakların onuncu gününden daha düşük olduğunu ve bunun birçok sayıdaki parazitoit larvalarının yağ miktarını ve hemolenf besinlerini onuncu güne kadar tükettiklerinden dolayı meydana geldiğini öne sürmüşlerdir [107]. Bu çalışma düşük zehir dozlarının zamana ve dozlara göre hemolenf lipit miktarında artma, yüksek dozların ise azaltma meydana getirdiğini desteklemektedir.

Pup evresi karbohidrat sonuçlarında olduğu gibi lipit sonuçlarında da, yüksek doz zehir uygulamasından en fazla etkilenen evre oldu (Şekil 4.4). *G. mellonella* larva evrelerinin lipit içeriği zehir uygulamalarını takiben artma gösterirken pup evresinde lipit içeriğinin büyük oranda azalması, konağın pupalaşma nedeniyle enerji metabolizmasının lipit katabolizması yönünde değiştiğinin bir göstergesi olabilir (Şekil 4.4). Aynı zamanda başka bir çalışmada hemolenfteki lipit değişiminin doymamış yağ asitlerinin azalmasından dolayı ya da bağışıklık sisteminde yer alan lipoproteinlerin sentezinin durdurulmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir [108]. Yüksek zehir dozlarındaki lipit miktarının azalması bağışıklık sisteminde lipoprotein inhibisyonu ile açıklanabilir.

Yapılan çalışmalarda, Akdeniz meyve sineği, *C. capitata*' da metamorfoz boyunca temel metabolitlerin değişimi değişik araştırıcılar tarafından ele alınmıştır. Çalışmalarda, sinekte larva evresinin sonuna kadar lipit birikimin devam ettiği [157] ancak glikojen [157, 158] ve protein miktarlarının [157, 159] önemli ölçüde azaldığı ifade edilmiştir. Bununla beraber, pup evresinin sonlarına doğru protein sentezinin [157, 159] ve glikojen miktarının [157] arttığı belirtilmiştir. *C. capitata*'da ergin

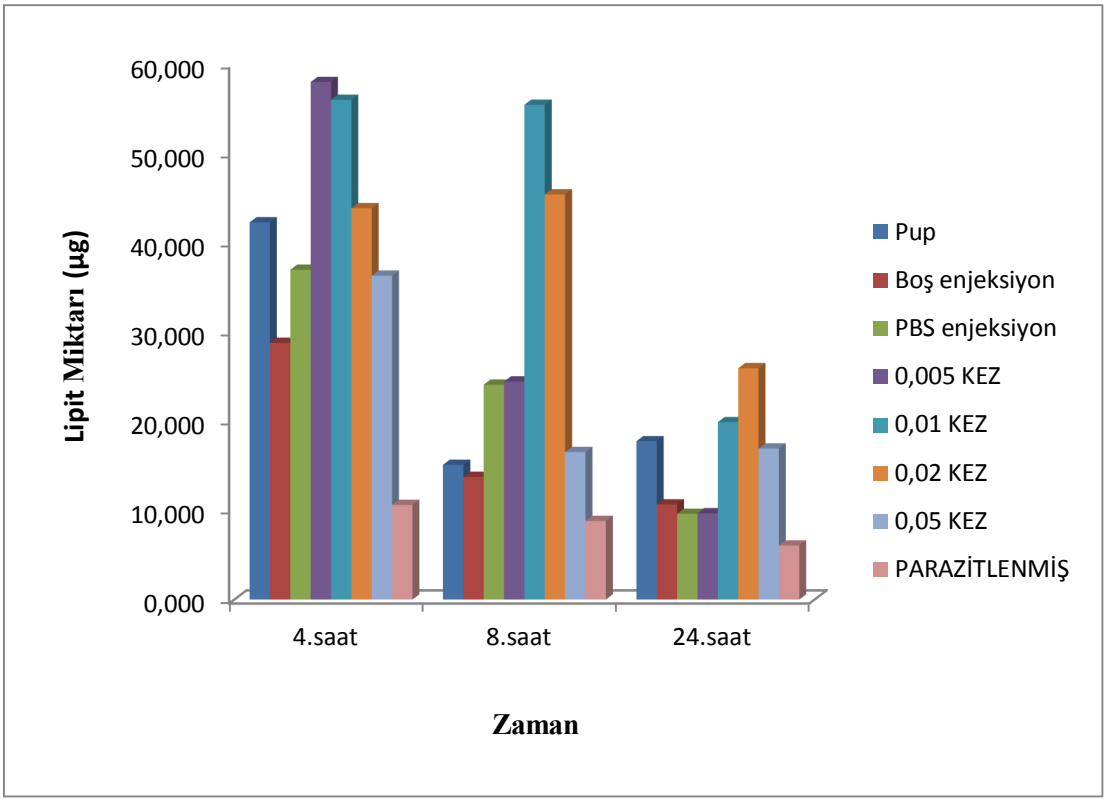
safhanın ilk yarısında lipit miktarında az oranda düşüş gözlenirken, glikojen önemli oranda artmış protein miktarı ise sabit kalmıştır [157]. Ancak, ergin safhanın ikinci yarısı ile erginleşinceye kadar lipit ve glikojen miktarının önemli ölçüde tüketildiği [157] belirlenmiştir. Bu durum konağın farklı evrelerde farklı miktarlarda enerji kaynaklarını kullandığını ve farklı oranlarda metabolitler bulundurduğunu desteklemektedir.

Tablo 4.4: Parazitlemenin ve farklı zehir dozlarının konak pup hemolenfindeki lipit miktarına etkisi

Deney Grupları	Toplam Lipit ($\bar{x}$ ±SH) (µg) *			İstatistik (ANOVA)		
	Deney gözlem zamanı (saat) **					
	4	8	24	F	sd	P
Normal Pup	42,27 ± 9,05^{acx}	15,10 ± 3,20^{ay}	17,75 ± 1,11^{acy}	64,965	2, 24	0,000
Boş Enjeksiyon	28,76 ± 9,35^{bx}	13,74 ± 2,46^{ay}	10,65 ± 1,82^{by}	26,174	2, 24	0,000
PBS Enjeksiyon	36,96 ± 5,02^{acx}	24,09 ± 2,40^{by}	9,61 ± 2,45^{bz}	136,651	2, 24	0,000
0,005 KEZ	57,60 ± 1,40^{dx}	24,43 ± 3,95^{by}	9,66 ± 0 ,25^{bz}	938,641	2, 24	0,000
0,01 KEZ	56,01 ± 3,00^{dx}	55,45 ± 1,76^{cx}	19,89 ± 1,03^{cy}	881,212	2, 24	0,000
0,02 KEZ	43,85 ± 0,89^{cx}	45,41 ± 4,15^{dx}	25,93 ± 3,81^{dy}	97,171	2, 24	0,000
0,05 KEZ	36,29 ± 0,02^{ax}	16,53 ± 1,40^{ay}	16,93 ± 0,70^{ay}	1,403	2, 24	0,000
Parazitleme	10,61 ± 0,36^{ex}	8,81 ± 0,31^{ey}	6,07 ± 0,67^{ez}	208,870	2, 24	0,000

*Her biri 3 bireyin hemolenfinden elde edilen sonuçların 3 tekrarının ortalamasını ve standart ortalamalarını göstermektedir.

** Aynı sütunda (a-e) ve satırda (x-z) aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (P>0,05; Tukey HSD testi). SH; Standart Hata.



Şekil 4.4: Parazitlemenin ve KEZ dozlarının farklı zaman dönemlerinde pup lipit miktarına etkileri, Pup: Herhangi bir işleme tabi tutulmamış G. mellonella pupu, B.E: Boş Enjeksiyon, PBS: PBS enjeksiyonu, P: Parazitlenmiş

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hymenoptera takımının büyük bir kısmını oluşturan parazitoit arılar, zararlılarla mücadelede önemli bir role sahiptirler. Bu hususta zararlı böcek türlerinin parazitoitlerle biyolojik mücadelesinde konak-parazitoit ilişkisinin bilinmesi yapılacak mücadelenin başarısını attıracak en önemli unsurlardan biridir. Parazitoit türler gelişimleri sürdürebilmek için uygun ortam sağlamak amacıyla genellikle konakları olan böceklere zarar verecek şekilde, konak bağışıklık, endokrinoloji, gelişim ve metabolik faaliyetlerinin düzenlenmesini içeren çeşitli mekanizmalara sahiptirler [37]. Parazitoit türler tarafından konak metabolik faaliyetlerinin düzenlenmesi, konağın uygunluğunun artmasıyla sonuçlanan anlaşılması güç ve kompleks bir süreçtir. Konak türe yumurta bırakan dişi parazitoitin ovipozisyon öncesinde veya esnasında konağa bıraktığı salgıların konak fizyolojisini düzenleyen maddeler içerdiği gösterilmiştir [24]. Bu nedenle biyolojik kontrolde önemli bir yere sahip olan *P. turionellae* zehirinin ve parazitlemenin konağı olan *G. mellonella*' nın farklı evrelerinde hemolenf üzerinde meydana getirdiği etkileri belirlemek biyolojik kökenli ilaçların oluşturulmasında ve biyolojik olarak mücadele etmedeki başarıyı arttıracaktır.

G. mellonella larvalarına değişen kese eşdeğeri zehir dozlarının uygulanması zamana ve doza bağlı olarak larval hemolenf karbohidrat miktarı deney ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık gösterdi (P=0,000). Zehir uygulanmasında doz miktarı arttıkça karbohidrat miktarında kontrol gruplarına göre azalma gözlendi. Tüm uygulamalar içerisinde en fazla azalma 4. saat periyodunda 0,5 dozluk uygulamada görüldü (2,63 ± 0,41µg) (Tablo 4.1). Bu azalmanın nedeninin, dozun uygulanmasıyla birlikte konağın savunma mekanizması oluştururken yüksek düzeyde enerji harcamasından ya da strese bağlı olarak karbohidrat katabolizması yönünde ilerlediğinden dolayı olduğu düşünülmektektedir. 8. ve 24. saatlerde sırasıyla kontrol gruplarındakine benzer şekilde seviyelere ulaşması ise konağın adaptasyon sağlamış olması ile açıklanabilir. Yüksek zehir dozu uygulanmasının hemen ardından larval

hemolenf karbohidrat miktarında azalma gözlendi. Ancak zehir enjeksiyonunu müteakip sürenin ilerlemesiyle karbohidrat miktarında artış meydana geldi. Zamana ve dozlara göre karbohidrat miktarında meydana gelen azalma ve artmaların konağın fizyolojik sürecinin düzenlemesinde meydana gelen metabolik faaliyetlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Konunun tam olarak aydınlatılması için tekrarlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

P. turionellae farklı kese eşdeğeri zehir dozlarının ve parazitlemenin konak pup hemolenf karbohidrat miktarına etkileri araştırıldı ve sonuç olarak, pupal hemolenf karbohidrat miktarlarının deney ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılıklar olduğu gözlendi (P=0,000). Gruplar arasında karbohidrat miktarındaki en fazla artma (7,41 ± 0,71µg) 0,01 KEZ' lik doz uygulanmasının ardından ilk 4. Saattinde gözlendi (Şekil 4.2) (Şekil 4.2). Zehir dozlarının miktarının parazitlemeye ve zamana bağlı olarak düşük miktardaki zehirin zamanla karbohidrat miktarında hormesis etkisiyle once artma meydana getirdiği [156] ancak zamanla bu oranda azalma oluştuğu, yüksek dozlarda ise karbohidrat miktarını düşürdüğü görüldü. Aynı zamanda, bu durum hafif ve ağır bir şekilde parazitlemenin karbohidrat miktarını etkilediğini göstermektedir. Aynı zamanda larva evresinde karbohidrat miktarının daha yüksek olduğu görülmektedir ve bu farklılığın konak evresi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (Şekil 4.1, 4.2).

Değişen kese eşdeğeri zehir dozlarının uygulanması konak larval hemolenf lipit miktarında değişiklikler meydana getirdi ve deney ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık gösterdi (P=0,000). Hiçbir işleme tabi tutulmamış kontrol gruplarına göre larval hemolenf lipit miktarındaki en yüksek artma (10,18 ± 0,94µg) en düşük zehir olan 0,02 KEZ enjeksiyonunu müteakip 4. saat sonrasında meydana geldi (Şekil 4.3). Pup hemolenf karbohidrat miktarlarında görüldüğü gibi bunun da hormesis etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir [156]. Zehir dozlarının larval lipit miktarına etkilerini belirlemek için tekrarlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca lipit konsantrasyonundaki artmanın yağ dokudan yağların hemolenfe çıkışı ile meydana geldiği düşünülebilir [160].

P. turionellae farklı kese eşdeğeri zehir dozlarının ve parazitlemenin ardından yapılan çalışmalar sonrasında konak pupal hemolenf lipit miktarında deney ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılıklar görüldü (P=0,000). Zehir dozu uygulanmış gruplar içerisinde hemolenfteki lipit miktarı en fazla en düşük doz olan 0,005 KEZ' lik uygulamayı takiben 4. saatte gözlendi (Şekil 4.4) (Tablo 4.4). Bunun diğer gruplarda olduğu gibi hormesis etkisininden meydana geldiği düşünülmektedir [156]. Dozlar içerisindeki en düşük hemolenf lipit miktarı ise 0,005 KEZ (9,66 ±0,25µg) doz uygulanmış grubun 24. saatinde gözlendi (Şekil 4.4). Düşük zehir dozu uygulaması zamana bağlı olarak lipit miktarını azaltmaktadır. Parazitlenmiş gruplarda ise kontrol grupları ve zehir dozu uygulanmış gruplara göre hemolenf lipit miktarının çok daha düşük seviyelerde olduğu belirlendi (Tablo 4.4).

Çalışmada düşük zehir dozlarının zamana ve dozlara göre lipit miktarını arttırdığı, yüksek dozların ise azalma meydana getirdiği görülmektedir. Çalışmamızda, pup evresinde lipit değerinin larva evresine göre çok daha yüksek olması konağın durağan faz olan puplaşma evresinde enerji kaynağı olarak kullanmak için lipitleri yağ dokudan hemolenf içerisine çıkarışından kaynaklanmaktadır (Şekil 4.3, 4.4).

Aynı zamanda larva evresinde karbohidrat miktarının daha yüksek olduğu görülmektedir ve bu farklılık konağın evresi ile ilgilidir (Şekil 4.1, 4.2). *P. turionellae* larva evrelerinin lipit içeriğinde yüksek zehir dozu uygulamalarını takiben değişiklik gözlemlenmezken, pup evresinde lipit içeriğinin büyük oranda azalması, konağın pupalaşma nedeniyle enerji metabolizmasının lipit katabolizması yönünde değiştiğinin bir göstergesi olabilir (Şekil 4.4). Yüksek lipit miktarları ise lipit katabolizması ile yağ dokuların parçalanarak hemolenf içerisine geçişinden kaynaklanabilir. Aynı zamanda, yüksek zehir dozlarındaki lipit miktarının azalması ise bağışıklık sisteminde lipoprotein inhibisyonu ile açıklanabilir [108].

Sonuç olarak, farklı oranlarda verilen zehir dozlarının ve parazitlemenin konağın farklı evrelerindeki hemolenf karbohidrat ve lipit miktarlarının zamana bağlı değişimleri tespit edildi. Konağın, farklı evrelerinde farklı miktarlarda enerji kaynakları kullandığı ve farklı oranlarda metabolitler bulundurduğu düşünülmektedir. Böcek gelişiminin belirli safhalarında, özellikle larval gelişim

süresince ve genç erginlerde sindirilen karbohidratların büyük bir bölümü lipite dönüştürülmektedir [161]. *P. turionellae* larvalarında ve puplarında farklı zehir dozlarının ve parazitlemenin karbohidrat ve lipit miktarlarını önemli oranda değiştirmesi fizyolojik özelliklerinin ve metabolik faaliyetlerinin etkilendiğini göstermektedir. Aynı zamanda biyokimyasal özelliklerin çok sayıda stres faktörünün subletal konsantrasyonlarına karşı çok duyarlı olduğu görülmektedir. Karmaşık bir süreç olan konak- parazitoit ilişkisinde meydana gelen metabolik ve fizyolojik süreçlerin bilinmesinin biyolojik kontrol çalışmalarında, IPM programlarında ve biyolojik kaynaklı maddelerin oluşturulmasında yarar sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Greathead, D.J. and Waage, J.K., "Opportunities for biological control of agricultural pests in developing countries", Number 11, ***World Bank Tecnical Paper,*** The World Bank, Washington, D.C., U.S.A., 1, (1983).

[2] Cox, C., "Insecticide Factsheet. Cypermethrin", ***Journal of Pesticide Reform,*** 16 (2), 15-20, (1996).

[3] Erol, T. ve Kılınçer, N., "Bazı insektisitlerin pupa asalağı *Pimpla turionellae* L. (Hym: Ichneumonidae)' ye etkileri üzerine araştırmalar", ***Türkiye 1. Biyolojik Mücadele Kongresi,*** Adana, 123-137, (1986).

[4] Takada, Y., Kawamura, S. and Tanaka, T., "Effects of various insecticides on the development of the egg parasitoid *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae)", ***J. Econ. Entomol.,*** 94 (6), 1340-1343, (2001).

[5] Xu, J., Shelton, A.M. and Cheng, X., "Variation in susceptibility of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) to permethrin", ***J. Econ. Entomol.,*** 94 (2), 541-546, (2001).

[6] Hillocks, R.J., " Integrated management of insect pests, diseases and weeds of cotton in Africa", ***Integrated Pest Management Reviews,*** 1, 31-47, (1995).

[7] Edge, J.M., Benedict, J.H., Carroll, J.P. and Reading, H.K., "Bollgard Cotton: An assesment of global economic, environmental and social benefits", ***The Journal of Cotton Science,*** 5, 121-136, (2001).

[8] Harris, M.K., "Integrated pest management of pecans", ***Ann. Rev. Entomol.,*** 28, 291, (1983).

[9] Xu, J., Shelton, A.M. and Cheng, X., "Comparison of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae) and *Microplitis plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) as biological control agents of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): field parasitism, insecticide susceptibility, and host-searching", ***J. Econ. Entomol.,*** 94(1), 14-20, (2001).

[10] Andow, D.A., Ragdale, D.W. and Nyvall, R.F., "Ecological interactions and biological control", ***Westview Press,*** Colorado, (1997).

[11] Uçkan, F. and Gülel, A., "Age-related fecundity and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Hym.; Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its hyperparasitoid *Dibrachys boarmiae* (Hym.; Pteromalidae)", ***J. Appl. Ent.,*** 126(10), 534-537, (2002).

[12] Driesche, R.G., "Field measurement of population recruitment of *Apanteles glomeratus* (L.) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Pieris rapae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae), and factors influencing adult parasitoid foraging success in kale", ***Bull. ent. Res.,*** 78, 199-208, (1988).

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

[14] Vinson, S.B., "Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology", 9. ed. Vinson, S.B., ***Pergamon Press,*** New York, 417, (1985).

[15] Gosdray, H.C.J, "Parasitoids. Behavioral and evolutionary ecology", ***Princeton University Press***, New Jersey, 473, (1994).

[16] Wharton, R.A., "Bionomics of the Braconidae", ***Ann. Rev. Entomol.***, 38, 121, (1993).

[17] Gülel, A., "Studies on the biology of the *Dibrachys boarmiae* (Walker) (Hymenoptera;Pteromalidae), parasitic on *Galleriae mellonella* (L.)", ***Z. Ang. Ent.,*** 94, 138, (1982).

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

[19] Askew, R.R., Shaw, M.R., Parasitoid communities: their size, structure and development. In: Waage, J.K., Greathead, D.J. (Eds.), Insect Parasitoids. ***Academic Press***, New York, 225–264, (1986).

[20] Mackauer, M., Sequeira, R., Pattern of development in insect parasites. In: Beckage, N.E., Thompson, S.N., Federici, B.A. (Eds.), Parasites and Pathogens of Insects, vol. 1. ***Academic Press***, New York, 1–23, (1993).

[21] Y. Nakamatsu , T. Tanaka, "Venom of Euplectrus separatae causes hyperlipidemia by lysis of host fat body cells", ***J. Insect Physiol.,*** 50, 267–275, (2004).

[22] Uematsu, H., Sakanoshita, A., "Effects of venom from an external parasitoid, Euplectrus kuwanae (Hymenoptera: Eulophidae), on larval ecdysis of Argyrogramma albostriata (Lepidoptera: Noctuidae) ", ***J. Appl. Ent. and Zoology***, 22, 139–144, (1987).

[23] Kelly, T.J., Coudron, T.A., "Total and specific ecdysteroids in the haemolymph of Trichoplusia ni (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasite, Euplectrus plathypenae (Hymenoptera: Eulophidae) ", ***J. Insect Physiol.,*** 36, 463–470, (1990).

[24] Coudron, T.A., Brandt, S.L., "Characteristics of a developmental arrestant in the venom of the ectoparasitoid wasp Euplectrus comstockii", ***Toxicon***, 34, 1431–1441, (1996).

[25] Gauld, I.D., "Evolutionary patterns of host utilization by ichneumonoid parasitoids (Hymenoptera: Ichneumonidae and Braconidae) ", ***Biological Journal of the Linnean Society***, 35, 351– 377, (1988).

[26] Vinson, S. B., "Host selection by insect parasitoids", ***Ann. Rev. Entomol.***, 21, 109-133, (1976).

[27] Van Alphen, J.J.M. ve Visser, M.E., "Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids", ***Ann. Rev. Entomol.***, 35, 59, (1990).

[28] Rosen, D., "Biological Control. In: Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology", 12, ed. Kerkut, G.A., Gilbert, L.I., ***Pergamon Press,*** New York, 413-464, (1985).

[29] Tumlinson, J.H., Lewis, W.J. and Vet L.E.M., "How parasitic wasps find their hosts", ***Scientific Am.,*** 46, (1993).

[30] Gülel, A., "*Dibrachys boarmiae* (Hymenoptera; Pteromalidae)'de superparazitizmin etkileri", ***Ondokuz Mayıs Üniv. Fen Dergisi,*** 1(1), 13, (1987).

[31] Hegazi, E.M., Shaaban, M.A. and El-Singaby, N.R., "Development of *Microplitis rufiventris* (Hymenoptera; Braconidae) in superparasitized *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera; Noctuidae)", ***Ann. Entomol. Soc. Am.,*** 84(6), 571, (1991).

[32] Ueno, T., "Multiparasitism and host feeding by solitary parasitoid wasps (Hymenoptera: Ichneumonidae) based on the pay-off from parasitized hosts", ***Ann. Entomol. Soc. Am.,*** 92(4), 601-608, (1999).

[33] Oğurlu, İ., "Biyolojik mücadele", 1, ed: Oğurlu, İ., ***Süleyman demirel Üniversitesi Orman Fakültesi***, Isparta, 1- 440, (2000).

[34] Graethead, D.J. ve Waage, J.K., "Opportunities for Biological Control of Agricultural Pests in Developing Countries", ***World Bank Technical Paper***, Number 11, The World Bank, Washington, D.C., U.S.A., (1983).

[35] Bin, F., Vinson, S.B., Strand, M.R., Colazza, S. ve Jones, W.A., "Source of an egg kairomone for *Trissolcus basalis*, a parasitoid of *Nezara viridula*", ***Physio. Entomol.*** 18, 7-15, (1993).

[36] Schmidt, O., Theopold, U. ve Strand, M., "Innate immunity and its evasion and suppression by hymenopteran endoparasitoids", ***BioEssays***, 23, 344-351, (2001).

[37] Beckage, N.E. ve Gelman, D.B., "Wasp parasitoid disruption of host development: implications for new biologically based strategies for insect control", ***Ann. Rev. Entomol.***, 49, 299-330, (2004).

[38] Doutt, R.L., "The biology of parasitic hymenoptera", ***Ann. Rev. Entomol.,*** 4, 161, (1959).

[39] Brower, J.H. and Press, J.W., "Interactions between the egg parasite *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera; Trichogrammatidae) and a predator, *Xyloris flavipes* (Hemiptera; Anthocoridae) of the Almond moth, *Carda cautella* (Lepidoptera; Pyralidae)", ***J. Entomol. Sci.,*** 23(4), 342, (1988).

[40] Brower, J.H. and Press, J.W., "Interaction of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in suppressing stored-product moth populations in small inshell peanut storages", ***J. Econ. Entomol.,*** 83(3), 1096-1101 (1990).

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

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

[43] Riechert, S.E. and Lockley, T., "Spiders as biological control agents", ***Ann. Rev. Entomol.,*** 29, 299, (1984).

[44] Tanaka, T., "Calyx and venom fluids of *Apanteles kariyai* as factors that prolong larval period of the host, *Pseudaletia separata*", ***Ann. Entomol. Soc. Am.***, 80, 530-533, (1987).

[45] Tanaka, T. ve Vinson, S.B., "Depression of prothoraric gland activity of *Heliothis virescens* by venom and calyx fluids from the parasitoid, *Cardiochiles nigriceps*", ***J. Insect Physiol.***, 37(2), 139-144, (1991).

[46] Tanaka, T., Yagi, S. ve Nakamatu, Y., "Regulation of parasitoid sex allocation and host growth by *Cotesia* (*Apanteles*) *kariyai* (Hymenoptera: Braconidae)", ***Ann. Entomol. Soc. Am.***, 85(3), 310-316, (1992).

[47] Rivers, D.B. ve Denlinger, D.L., "Developmental fate of the flesh fly, *Sarcophaga bullata*, envenomated by the pupal ectoparasitoid, *Nasonia vitripennis*", ***J. Insect Physiol.***, 40(2), 121-127, (1994).

[48] Rivers, D.B. ve Denlinger, D.L., "Redirection of metabolism in the flesh fly, *Sarcophaga bullata*, following envenomation by the ectoparasitoid, *Nasonia vitripennis* and correlation of metabolic effects with the diapause status of the host", ***J. Insect Physiol.***, 40(3), 207-215, (1994).

[49] Bischof, C. ve Ortel, J., "The effects of parasitism by *Glyptapanteles liparidis* (Braconidae: Hymenoptera) on the hemolymph and total body composition of gypsy

moth larvae (*Lymantria dispar*, Lymantriidae: Lepidoptera)", ***Parasitol. Res.*****,** 82(8), 687-692, (1996).

[50] Schopf, A. ve Nussbaumer, C., "Influence of parasitism by *Glyptapanteles liparidis* (Hym., Braconidae) on the haemolymph carbohydrate and glycogen content of its host larva, *Lymantria dispar* (Lep., Lymantriidae)", ***J. Appl. Ent.***, 120, 357-362, (1996).

[51] Reed, D.A. ve Beckage, N.E., "Inhibition of testicular growth and development in *Manduca sexta* larvae parasitized by the braconid wasp *Cotesia congregata*", ***J. Insect Physiol.***, 43(1), 29-38, (1997).

[52] Coudron, T.A., Raqib, A., Brandt, S.L. ve Wright, M.K., "Comparison of the hemolymph proteins in permissive and non-permissive hosts of *Euplectrus comstockii*", ***Comp. Biochem. Physiol. B.***, 120, 349-357, (1998).

[53] Digilio, M.C., Isidoro, N, Tremblay, E. ve Pennacchio, F. "Host castration by *Aphidius ervi* venom proteins", ***J. Insect Physiol.***, 46, 1041-1050, (2000).

[54] Powell, J.E., "Food consumption by tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae reduced after parasitization by *Microplitis demolitor* or *M. croceipes* (Hymenoptera: Braconidae)", ***J. Econ. Entomol.***, 82(2**)**, 408-411, (1989).

[55] Richards, E.H. ve Edwards, J.P., "Parasitism of *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera, noctuidae) by the ectoparasitoid wasp *Eulophus pennicornis*, results in the appearance of a 27 kDa parasitism-specific protein in host plasma", ***Insect Biochem. Molec. Biol.***, 29, 557-569, (1999).

[56] Richards, E.H. ve Edwards, J.P., "Parasitization of *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera: Noctuidae) by the ectoparasitoid wasp, *Eulophus pennicornis*. Effects of parasitization, venom and starvation on host haemocytes", ***J. Insect Physiol.*****,** 45, 1073-1083, (1999).

[57] Richards, E.H. ve Edwards, J.P., "Parasitization of *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera) by the ectoparasitoid wasp, *Eulophus pennicornis*, suppresses haemocyte-mediated recognition of non-self and phagocytosis", ***J. Insect Physiol.***, 46, 1-11, (2000).

[58] Richards, E.H. ve Edwards, J.P., "Parasitism of *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera) by the ectoparasitoid, *Eulophus pennicornis*, is associated with a reduction in host haemolymph phenoloxidase activity", ***Comp. Biochem. Physiol. B.***, 127, 289-298, (2000).

[59] Richards, E.H. ve Parkinson, N.M., "Venom from the endoparasitic wasp *Pimpla hypochondriaca* adversely affects the morphology, viability, and immune function of hemocytes from larvae of the tomato moth, *Lacanobia oleracea*", ***J. Invertebr. Pathol.***, 76, 33-42, (2000).

[60] Marris, G.C., Weaver, R.J., Bell, J. ve Edwards, J.P., "Venom from the ectoparasitoid wasp *Eulophus pennicornis* disrupts host ecdysteroid production by regulating host prothoracic gland activity", ***Physiol. Entomol.***, 26(3), 229-238, (2001).

[61] Nakamatsu, Y., Gyotoku, Y. ve Tanaka, T., "The endoparasitoid *Cotesia kariyai* (Ck) regulates the growth and metabolic efficiency of *Pseudaletia separata* larvae by venom and Ck polydnavirus", ***J. Insect Physiol.***, 47(6), 573-584, (2001).

[62] Nakamatsu, Y., Fujii, S. ve Tanaka, T., "Larvae of an endoparasitoid *Cotesia kariyai* (Hymenoptera: Braconidae), feed on the host fat body directly in the second stadium with the help of teratocytes", ***J. Insect Physiol.***, 48, 1041-1052, (2002).

[63] Rinehart, J.P., Denlinger, D.L. ve Rivers, D.B., "Upregulation of transcript encoding select heat shock proteins in flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis* in response to venom from the ectoparasitoid wasp *Nasonia vitripennis*", ***J. Invertebr. Pathol.***, 79, 62-63, (2002).

[64] Rivers, D.B., Ruggiero, L. ve Hayes, M., "The ectoparasitoid wasp *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) differentially affects cells mediating the immune response of its flesh fly host, *Sarcophaga bullata* Parker (Diptera: Sarcophagidae)", ***J. Insect Physiol.***, 48, 1053-1064, (2002).

[65] Nakamatsu, Y. ve Tanaka, T., "Venom of ectoparasitoid, *Euplectrus* sp. near *plathypenae* (Hymenoptera: Eulophidae) regulates the physiological state of *Pseudaletia separata* (Lepidoptera: Noctuidae) host as a food resource", ***J. Insect Physiol.***, 49, 149-159, (2003).

[66] Grossniklaus-Burgin, C., Pfister-Wilhelm, R., Meyer, V., Treiblmayr, K. ve Lanzrein, B., "Physiological and endocrine changes associated with polydnavirus/venom in the parasitoid-host system *Chelonus inanitus-Spodoptera littoralis*", ***J. Insect Physiol.***, 44, 305-321, (1998).

[67] Reed, D.A. ve Brown. J.J., "Host/ parasitoid interactions: Critical timing of parasitoid-derived products", ***J. Insect Physiol.***, 44, 721-732, (1998).

[68] Lawrence, P.O. ve Lanzrein, B., "Hormonal interactions between insect endoparasites and their host insects", In: Parasites and Pathogens of Insects, ed. Beckage, N.E., Thompson, S.N., Federici, B.A., ***Academic Press***, San Diego, 59-86, (1993).

[69] Yazgan, Ş., "A meridic diet and quantitative effects of Tween 80, fatty acid mixtures and inorganic salts on development and sırvival of endoparazitoit *Pimpla turionelllae* L." ***Z. Angew. Entomol.,*** 91, 433-441, (1981).

[70] Schmidt, J.O., "Biochemistry of insect venoms", ***Ann. Rev. Entomol.***, 27, 339-368, (1982).

[71] Endstrom, A., "Venomous and poisonous animals", ***Krieger Publishing Company***, Florida, 51, (1992).

[72] Blum, M.S., "Biochemical defenses of insects". In: Biochemistry of insects, ed. Rockstein, M., 11, ***Academic Press,*** New York, 465-513, (1978).

[73] Piek, T., "Insect venom and toxins", ***Academic Press***, Amsterdam, 595, (1972).

[74] Haberman, E., "Chemistry, pharmacology, and toxicology of bee, wasp, and hornet venoms" In: Venomous animals and their venoms, ed. Bücherl, W., Buckley, E. E., 45, ***Academic Press***, New York, 61-93, (1971).

[75] Uçkan, F., Sinan, S., Savaşçı, Ş., and Ergin, E., "Determination of venom components from the endoparasitoid wasp *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)", ***Ann Entomol. Soc. Am***., 97(4), 775-780, (2004).

[76] Konno, K., Palma, M.S., Hitara, I.Y., Juliano, M.A., Juliano, L. and Yasuhara, T., "Identification of bradykinins in solitary wasp venoms", ***Toxicon***, 40, 309-312, (2002).

[77] Borror, D.J., Delong, D.M. and Triplehorn, C.A., "An introduction to the study of insects", Holt, ***Rinehart and Winston***, New York,654, (1976),.

[78] Sak, O., Gülgönül, E.E., Uçkan, F., "Effects of cypermetrin exposed to host on the developmental biology of *Pimpla tuionellae" ,**Ann. Entomol. Soc. Am***., 101 (6), 288-294, (2008).

[79] Gülfer, B., " Oral yolla alınan bir organofosforlu insektisitin (Malathion) *Pimpla turionellae* L.'nin eşey oranına etkisi" Yüksek lisans tezi, ***Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,*** 11-22, (2007).

[80] Sulanç, M. ve Emre. İ., "İnorganik tuzların erkek *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvalarının gelişmesine ve sentezledikleri protein miktarına kalitatif ve kantitatif etkileri", ***Doğa-Tr. J. Of Zoology***, 16, 92-100, (1992).

[81] Nurullahoğlu, Z.Ü. ve Aksoylar, M.Y., "Düşük sıcaklığın *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) dişi pupa ve erginlerinin total lipid, total yağ asidi ve yağ asidi bileşimine etkileri", ***Tr.J. of Zoology***, **21**, 295-301, (1997).

[82] Adıyaman, N. ve Aktümsek, A., "Pup ve ergin evrede uygulanan düşük sıcaklığın *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) dişilerinin yumurta verimine etkileri", *Tr. J.* Zool., 20(Ek Sayı), 1-5, (1996).

[83] Er, A., Uçkan, F., Rivers, D. B., Sak, O., "Cytotoxic effects of parasitism and application of venom from the endoparasitoid Pimpla turionellae on hemocytes of the host Galleria mellonella'', ***J. Appl. Entomol.***,135(2011) , 225–236, (2010).

[84] Kansu, Y. A. ve Uğur, A., "*Pimpla turionellae* (L.) (Hym., Ichneumonidae) ile Konukçusu Bazı Lepidopter Pupaları Arasındaki Biyolojik İlişkiler üzerinde Araştırmalar" ***Doğa Bilim Dergisi*** D2 8 (2): 160-173, (1984).

[85] Uçkan, F. ve Gülel, A., "Endoparazitoit *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae*)* dişilerinde zehir aparatının yapısı ve zehirinin başlıca kimyasal grubunun tayini", ***X. Ulusal Biyoloji Kongresi***, Erzurum, 73-83, (1990).

[86] Uçkan, F., Sinan, S. ve Savaşçı, S., "Endoparazitoit *Pimpla turionellae* (L.) (Hym.; Ichneumonidae) dişilerinin zehir içeriğinin kromatografik belirlenmesi", ***2. Ulusal Kromatografi Kongresi***, Kırıkkale, 18, (2002).

[87] Ergin E., Uçkan F., Rivers D.B. and Sak O., "In vivo and in vitro activity of venom from the endoparasitic wasp *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae)", ***Arch. Insect Biochem. Physiol.***, 61, 87-97, (2006).

[88] Emre, İ. ve Yazgan, Ş., "Besin bileşenlerinin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın üremesi üzerine etkileri", ***Doğa-Tr. J. Biology***, **14**, 96-104, (1990).

[89] Nurullahoğlu, Z.Ü. ve Aksoylar, M.Y., "Besinsel yağ asitlerinin *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) ergin dişilerinin yağ asidi bileşimine etkileri", ***XIV. Ulusal Biyoloji Kongresi***, Samsun, 313-322, (1998).

[90] Yazgan, Ş., "A meridic diet and quantitative effects of Tween 80, fatty acid mixtures and inorganic salts on development and survival of the endoparasitoid *Pimpla turionellae* L.", ***Z. Angew. Entomol.***, **91,** 433-441, (1981).

[91] Emre; İ., "Meridik bir besinin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) ergin dişilerinin yumurta verimine etkisi", ***DOĞA TU Biyol. D.***, **12(2)**, 101-105, (1988).

[92] Aktümsek, A. ve Aksoylar, M.Y., "*Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera, Ichneumonidae)'nın yağ asidi bileşimi", ***DOĞA TU Biyol. D.***, **11(1)**, 10-18, (1987).

[93] Yanıkoğlu, A., "*Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın başkalaşımı sırasında glikojen miktarındaki değişmeler", ***Cumhuriyet Üniv. Fen Bil. Derg.***, 3(1), 57-68, (1985).

[94] Büyükgüzel, K. ve Yazgan, Ş., "Bazı antibiyotiklerin endoparazitoit *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın yaşama ve gelişimine etkileri", ***Tr. J. Zool.***, 20, 1-7, (1996).

[95] Büyükgüzel, K. and Yazgan, Ş., "Effects of antimicrobial agents on the survival and development of larvae of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) reared on an artificial diet", ***Turk. J. Zool.***, 26, 111-119, (2002).

[96] Şeker, D.A. ve Yanıkoğlu, A., "*Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın açlık, beslenme, parazitleme ve yaşlılık durumlarında glikojen seviyesindeki değişmeler", ***Tr. J. Zool.***, 23(Ek sayı 1), 289-296, (1999).

[97] Ortel, J. and Vogel, W.R., "Effects of lead and cadmium on oxygen consumption and life expectancy of the pupal parasitoid, *Pimpla turionellae*", ***Entomol. exp. appl.***, 52(1), 83-88, (1989).

[98] Ortel, J., "Accumulation of Cd and Pb in successive stages of *Galleria mellonella* and metal transfer to the pupal parasitoid *Pimpla turionellae*", ***Entomol. Exp. Appl.***, 77, 89-97, (1995).

[99] Ortel, J., "Effects of lead and cadmium on chemical composition and total water content of the pupal parasitoid, *Pimpla turionellae*", ***Entomol Exp. Appl.***, 59(1), 93-100, (1991).

[100] Sak, O., F. Uçkan, ve E. Ergin., "Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae)". ***Belg. J. Zool***. 136, 53-58, (2006).

[101] Beard, R.L., "Insect toxins and venoms", ***Ann. Rev. Entomol.***, 8, 1–18, (1963).

[102] Piek, T., "Insect venoms and toxins", In: Kerkut, G.A., Gilbert, L.I. (Eds.), Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology, Vol. 11, ***Pergamon Press,*** Oxford, 595–633, (1985).

[103] Piek, T., Spanjer, W., "Chemistry and pharmacology of solitary wasps venoms". In: Piek, T. (Ed.), Venoms of the Hymenoptera; Biochemical, Pharmacological and Behavioural Aspects, ***Academic Press***, London, 161–289, (1986).

[104] Vinson, S.B., Iwansch, G.F., "Host regulation by insect parasitoids", ***Quarterly Review of Biology***, 55, 143–165, (1980).

[105] Beckage, N.E., "Games parasites play: the dynamic roles of proteins and peptides in the relationship between parasites and host".In: Beckage, N.E., Thompson, S.N., Federici, B.A. (Eds.), Parasites and Pathogens of Insects, Vol. 1. Parasites***, Academic Press***, New York, 25–57, (1993).

[106] Thompson, S.N., "Redirection of host metabolism and effects on parasite nutrition" In: Beckage, N.E., Thompson, S.N., Federici, B.A. (Eds.), Parasites and Pathogens of Insects. Vol. 1 Parasites,
Academic Press, New York, pp. 125–144, (1993).

[107] Y. Nakamatsu, T. Tanaka, "Correlation between cöncentration of hemolymph nutrients and amount of fat body consumed in lightly and heavily parasitized hosts (Pseudaletia separata) ", ***J. Insect Physiol.,***
50, 135–141, (2004).

[108] Salvador, G., Coˆnsoli, F., L., "Changes in the hemolymph and fat body metabolites of Diatraea saccharalis (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) parasitized by Cotesia flavipes (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae)", ***Biological Control,*** 45, 103–110, (2008).

[109] Smilowitz, Z., "Electrophoretic patterns in hemolymph protein of cabbage looper during development of the parasitoid *Hyposoterexiguae*", ***Ann. Entomol. Soc. Am.***, 66, 93–99, (1973).

[110] Thompson, S.N., "Immediate effects of parasitization by the insect parasitoid *Hyposoter exiguae* on the nutritional physiology of its host ***Trichoplusia ni***", ***J. Parasitol.***, 68, 936–941, (1982).

[111] Smilowitz, A., "Smith C.L., Hemolymph proteins of developing *Pieris rap*ae larvae parasitized by *Apanteles glomeratus*", ***Annu. Entomol. Soc. Am.,*** 70, 447–454, (1977).

[112] Beckage, N.E., "Templeton T.J., Physiological effects of parasitism by *Apanteles congregatus* in terminal stage tobacco hornworm larvae", ***J. Insect. Physiol.***, 32, 299, (1986).

[113] Jones, D., Jones G., Rudnicka M., Click A., "Precocious expression of the final larval instar developmental program in larvae of *Trichoplusia ni* pseudoparasitized by *Chelonus* spp"., ***Comp. Biochem. Physiol***., 83B, 339–346, (1985).

[114] Kunkel, J.G., Grossniklaus-Burgin C., Karpells S.T., Lanzrein B., "Arylphorin of *Trichoplusia ni*: characterization and parasite induced precocious increase in titre", ***Arch. Insect Biochem. Physiol.***, 13, 117–125. (1990).

[115] Beckage, N.E., Templeton T.J., Nielsen B.D., Cook D.I., Stoltz D.B., "Parasitism-induced hemolymph polypeptides in *Manduca sexta* (L.) larvae parasitized by the braconid wasp *Cotesia congregatus* RM (Say) ", ***Insect Biochem***., 17, 439–455, (1987).

[116] Jones, D., "Protein expression during parasite redirection of host (*Trichoplusia ni*) biochemistry", ***Insect Biochem.***, 19, 445–455, (1989).

[117] Beckage, N.E., Kanost M.R., "Effects of parasitism by the braconid wasp *Cotesia congregata* on host hemolymph proteins of the tobacco hornworm *Manduca sexta*", ***Insect Biochem. Molec. Biol.***, 23, 643–653, (1993).

[118] Cook, D.I., Stoltz D.B., Vinson S.B. "Induction of a new haemolymph glycoprotein in larvae of permissive hosts parasitized by *Campoletis sonorensis*", ***Insect Biochem.,*** 14, 45–50, (1984).

[119] Harwood, S.H., Grosovsky S.J.,. Cowles E.A, Davis J.W., Beckage N.E., "An abundantly expressed hemolymph glycoprotein isolated from newly parasitized *Manduca sexta* larvae is a polydnavirus gene product", ***Virology***, 205, 381–392, (1994).

[120] Harwood, S.H., McElfresh J.S, Nguyen A., Conlan C.A., Beckage N.E., "Production of early expressed parasitism-specific proteins in alternate sphingid hosts of the braconid *wasp Cotesia congregata*", ***J. Invertebr. Pathol.***, 71, 271–279, (1998).

[121] Brochetto-Braga, M.R., Palma M.S., Ribeiro J.C., Gobbi N., "The effect of a polydnavirus of *Apanteles galleriae* on the hemolymph proteins of host *Galleria mellonella*", ***J. Venom. Anim. Toxins***, 2, 79-86, (1995).

[122] Beckage, N.E., "Modulation of immune responses to parasitoids by polydnaviruses", ***Parasitol.***, 116, S57–S64, (1998).

[123] Prevost, G., Eslin, P., Doury, G., Moreau, S.J.M., Guillot, S., "Asobara, braconid parasitoids of Drosophila larvae: unusual strategies to avoid encapsulation without VLPs", ***J. Insect. Physiol.***, 51, 171–179, (2005).

[124] Dahlman, D.H., "Evaluation of teratocyte function: an overview", ***Arch. Insect Biochem. Physiol.***, 13, 159–166, (1990).

[125] Dahlman, D.H., "Teratocytes and host/parasite interactions", ***Biol. Cont.***, 1, 118–126, (1991).

[126] Schepers, E.J., Dahlman D.L., Zhang D., "*Microplitis croceipes* teratocytes: *in vitro* culture and biological activity of teratocyte secreted protein", ***J. Insect Physiol.***, 44, 767–777, (1998).

[127] Soldevila, A.I., Jones D., "Characterization of a novel protein associated with the parasitization of lepidopteran hosts by an endoparasitic wasp", ***Insect Biochem. Molec. Biol.***, 24, 29–38, (1994).

[128] Vinson, S.B., Mourad A.K, Sebesta D.K., "Source of possible host regulatory factors in *Cardiochiles nigriceps* (Hymenoptera: Braconidae)", ***Arch. Insect Biochem. Physiol.***, 26, 197–209, (1994).

[129] Pfister-Wilhelm, R., Lanzrein B., "Precocious induction of metamorphosis in *Spodopter litoralis* (Noctuidae) by the parasitic wasp *Chelonus inantius* (Braconidae): identification of the parasitoid larva as the key element and the host corpora allata as a main target", *Arch.* ***Insect Biochem. Physiol.***, 32, 511–525, (1996).

[130] Richards, E.H, Edwards J.P., "Larvae of the ectoparasitic wasp, *Eulophus pennicornis*, release factors which adversely affect haemocytes of their host, *Lacanobia oleracea*", ***J. Insect Physiol.***, 48, 845–855, (2002a).

[131] Richards, E.H, Edwards J.P., "Parasitism of *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera) by the ectoparasitic wasp, *Eulophus pennicornis*, disrupts the cytoskeleton of host haemocytes and suppresses encapsulation in vivo", ***Arch. Insect Biochem. Physiol.***, 49, 108–124, (2002b).

[132] Richards, E.H., Manderyck B., Edwards J.P., "Partial amino acid sequence and physiological effects of a 27 kDa parasitism-specific protein present in the plasma of parasitized Lacanobia oleracea (Noctuidae)", ***Physiol. Entomol.***, 30, 362-371,(2005).

[133] Thompson, S.N.,. Lee R.W.K., "Metabolic fate of alanine in an insect, *Manduca sexta*: effects of starvation and parasitism", ***Biochim. Biophys. Acta***., 1200: 322-330. (1993).

[134] Fisher, R.C., Ganesalingam V.K., "Changes in the composition of host haemolymph after an attack by an insect parasitoid", ***Nat.***, 227, 191-192, (1970).

[135] Nath, B.S., Suresh, A., Varma, B.M. and Kumar, R.P.S., "Changes in protein matabolism in hemolymph and fat body of silkworm, *Bombyx mori (*Lepidoptera: Bombycidae*)*in response to organophosphorus insecticides toxicity", ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, 36(2), 196-173 (1997).

[136] Barras, D.J., Wiygul G., Vinson S.B., "Amino acids in the haemolymph of the tobacco busdorm, *Heliothis virescens* Fab., as affected by its habitual parasite, *Cardiochiles nigriceps* Viereck", ***Comp. Biochem. Physiol.***, 31, 707-714, (1969).

[137] Kaleli, S., "Konak *Galleria mellonella* L. ve endoparazitoit *Pimpla turionellae* L.'nın hemolenf protein bileşimine parazitlemenin etkileri**"**, (Doktora Tezi), ***Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, (1998).

[138] Coşkun, M. "Farklı E vitamini derişimlerinin *Pimpla turionellae* L. Erginlerinin eşey oranı üzerine etkileri" Yüksek Lisans Tezi, ***Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü***, Adana, 13-33 (2001)

[139] Nurullahoğlu, Z.Ü. ve Aksoylar, M.Y., "Düşük sıcaklığın *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) dişi pup ve erginlerinin total lipid, total yağ asidi ve yağ asidi bileşimine etkileri", ***Tr. J. of Zoology***, 21, (1997), 295-301.

[140] Kaya, B. Ve Yanıkoğlu, A., "2,4-D ve 4-CPA'nın *Drosophila melanogaster*'in F_1 F_2 ve F_3 kuşaklarında gelişim süresi ve ergin birey sayısına etkileri", ***Tr. J. Of Zoology,*** 23 (Ek sayı 1), (1999) 297-301.

[141] Özalp, P. ve Emre, İ., "Karbohidratların *Pimpla turionellae* L. ergin dişilerinde total glikojen ve protein miktarına etkileri", ***Tr. J. of Bology*****,** 22, (1998), 15-19.

[142] Olson, D.M., Fadamiro H., LUngren, J.G. and Heimpel, G.E., "Effects of sugar feeding on carbohyrate and lipid metabolism in a parasitoid wasp", ***Physiological Entomology***, 25, 17-26 (2000).

[143] Giron, D., "Lipogenesis in an adult parasitic wasp", ***J. Insect. Physiol.*****,** 49, 141–147, (2003).

[144] Er, A., Uçkan, F., Rivers, D. B., Ergin, E., Sak, O., "Infects of Parasitization and Envenomation by the Endoparasitic Wasp *Pimpla turionellae* (Hymenoptera:

Ichneumonidae) on Hemocyte Numbers, Morphology, and Viability of Its Host *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae)" ***Annu. Entomol. Soc. Am.*** , 103, 273-282(10), (2010).

[145] Sak. O., Uçkan F., "Cypermethrinin *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'nın pupalaşma ve ölüm oranlarına etkisi***" U. Bee J.*** 9(3) 88-96 (2009).

[146] Koç, Y., "Farklı fotoperiyot rejimlerinin *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae)da değişik yaştaki erginlerin total karbohidrat, lipit ve protein miktarına etkileri" Doktora Tezi, ***Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,*** Samsun, 73-84, (2005).

[147] Halwani, A. E., Dunphy, G. B., "Developmental and Comparative Immunology Apolipophorin-III in Galleria mellonella potentiates hemolymph lytic activity", 23, 563-570, (1999).

[148] Nurullahoğlu, Z.Ü., Kalyocu L., "Düşük sıcaklığın *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) pupalarının total lipit ve total yağ asidi üzerine etkileri" ***S.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergidi Cilt 1*** 91-93 (2000).

[149] Sak, O., Ergin, E., Uçkan, F., Rivers, D. B. and Er**,** A., "Changes in the Hemolymph Total Protein of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) After Parasitism and Envenomation by Pimpla turionellae (Hymenoptera: Ichneumonidae**)** " , ***Tr. J. Of Zoology***, 35, 2011, (Baskıda).

[150] Van Handel, E., "Rapid Determination of Glycogen and Sugars in Mosquitoes". J**.** ***Amer. Mosq. Cont. Assoc***., 1, 299-301, (1985a).

[151] Van Handel, E. and Day, J. F., "Assay of Lipids, Glycogen and Sugars in Individual Mosquitoes: Correlations with Wing Length in Field-collected Aedes vexans", ***Journal of the American Mosquito Control Association***, 4, 549–550, (1988).

[152] Van Handel, E., "Rapid Determination of Total Lipids in Mosquitoes", ***J. Amer. Mosq. Cont. Assoc***., 1, 302-304, (1985b).

[153] SPSS Inc., SPSS 15.0 Statistics. SPSS, Chicago, IL, (1999).

[154] Özkan, A. ve Yanıkoğlu, A., "Effects of 2,4-D and maleic hydrazide on the glycogen level in the embryonic development of *Pimpla turionellae* (L.) (Hym., Ichneumonidae)", ***J. Appl. Ent***., 123(4), 211-216, (1999).

[155] Yanıkoğlu, A., "2,4-D'nin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) dişilerinin glikojen seviyelerine etkisi", ***Cumhuriyet Üniv. Fen Bil. Derg***., 8(1), 27-34, (1989).

[156] Zanuncio, T. V., Serrao, J. E., Zanuncio, J. C., Guedes, R. N. C., "Permethrin-induced hormesis on the predator Supputius cincticeps (Stal, 1860) (Heteroptera: Pentatomidae",***Crop Protection***, 22, 941–947, (2003).

[157] Nestel, D., Tolmasky, D., Rabossi, A. and Quesada-Allué, L.A., "Lipid, carbohydrates and protein patterns during metamorphosis of the mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)", ***Ann. Entomol. Soc. Am***., 96(3), 237-244, (2003).

[158] Tolmasky, D.S., Rabossi, A. and Quesada-Allué, L.A., "Synthesis and mobilization of glycogen during metamorphosis of the mesdly *Ceratitis capitata*", ***Arch. Biochem. Biophys***., 392(1), 38-47, (2001).

[159] Rabossi, A., Ación, L. and Quesada-Allué, L.A., "Metamorphosis-associated proteolysis in *Ceratitis capitata*", ***Entomol. exp. Appl.***, 94, 57-65, (2000).

[160] Nakamatsu, ve Tanaka, T., "Venom of *Euplectrus separate* causes hyperlipidemia by lysis of host fat body cells", ***Appl.Entomol.***, 50, 267-275, (2004).

[161] Candy, D.J., Intermediary Metabolism. In: Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology, ed. Kerkut, G.A., Gilbert, L.I., 10, ***Pergamon Press***, New York, 1-41, (1985).

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında İstanbul' un Şişli ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini aynı şehirde tamamladıktan sonra 2003 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girmeye hak kazandı ve 2007 yılında şeref derecesi ile mezun oldu. 2008 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı ve şu an hâla yüksek lisans öğrencisi olarak eğitimine devam etmektedir.