

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

KONAĞA VERİLEN 5-Aza-dC'NİN PARAZİTOİT *Apanteles galleriae*
WILKINSON (Hymenoptera: Braconidae)'İN TOPLAM LİPİT VE YAĞ
ASİDİ MİKTARLARINA ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özgül SAKİN HACIOĞLU

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Olga SAK

Balıkesir, Eylül 2009

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

KONAĞA VERİLEN 5-Aza-dC'NİN PARAZİTOİT *Apanteles galleriae*
WILKINSON (Hymenoptera: Braconidae)'İN TOPLAM LİPİT VE YAĞ
ASİDİ MİKTARLARINA ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özgül SAKİN HACIOĞLU

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Olga SAK

Sınav Tarihi: 28.08.2009

Jüri Üyeleri: Yrd. Doç. Dr. Olga SAK (Danışman-BAÜ)

Yrd. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN (KOÜ)

Doç. Dr. Selma SİNAN (BAÜ)



ÖZET

KONAĞA VERİLEN 5-Aza-dC’NİN PARAZİTOİT *Apanteles galleriae* WILKINSON (Hymenoptera: Braconidae)’İN TOPLAM LİPİT VE YAĞ ASİDİ MİKTARLARINA ETKİLERİ

Özgül SAKİN HACIOĞLU

Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı

(Yüksek Lisans Tezi / Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Olga SAK)

Balıkesir, 2009

Koinobiont, soliter ve erken evre larva endoparazitoiti *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae), Lepidopter konak, Küçük Balmumu Güvesi, *Achoria grisella* Fabr. üzerinde, 25 ± 2 °C sıcaklık, % 60 ± 5 bağıl nem ve 12:12 saat (Aydınlık: Karanlık) fotoperiyot uygulanan laboratuvar şartlarında yetiştirildi. Farklı dozlarda (0.1, 0.5, 0.75, 1.0 mg/ml) konağa verilen 5-Aza-2'-deoxycytidine (5-Aza-dC)'in, *A. galleriae*'nin toplam lipit ve yağ asidi miktarlarına etkileri tespit edildi.

5-Aza-dC uygulaması *A. galleriae* dişilerinde kontrol ile karşılaştırıldığında toplam lipit miktarında azalmaya, yağ asidi değerlerinde ise az oranda artışa neden oldu. Madde uygulanan erkek bireylerin toplam lipit miktarında azalma görülmesine rağmen, bu azalma dişi bireylerdeki kadar belirgin değildi. Erkeklerde lipit değerlerinin aksine sadece 0.1 mg/ml ve 0.5 mg/ml dozlarındaki yağ asidi değerleri kontrol gruplarına göre az oranda artış gösterdi. Bununla beraber, hem dişi hem de erkeklerde kontrol ve deney grupları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi. 5-Aza-dC ve çeşitli kimyasal maddelerin konak ve parazitoit üzerindeki etkilerinin belirlenmesi böcek biyokimyası ve fizyolojisi ile ilgili çalışmalara katkıda bulunacaktır.

Anahtar sözcükler: *Apanteles galleriae* / *Achoria grisella* / 5-Aza-dC / lipit / yağ asidi.

ABSTRACT

EFFECS OF 5-Aza-dC APPLIED TO HOST ON TOTAL LIPID AND FATTY ACID CONTENT OF PARASITOID *Apanteles galleriae* WILKINSON (Hymenoptera: Braconidae)

Özgül SAKİN HACIOĞLU

Balikesir University, Institute of Science, Department of Biology

(M. Sc. Thesis / Supervisor: Ass. Prof. Dr. Olga SAK)

Balikesir-Turkey, 2009

Koinobiont, solitary and early instar larval endoparasitoid, *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae) was reared on lepidopterous host, the small wax moth, *Achoria grisella* Fabr. under a photoperiod of 12:12 h (Light: Dark) at 25 ± 2 °C and 60 ± 5 % relative humidity. The effect of 5-Aza-2'-deoxycytidine (5-Aza-dC) applied to host at different doses (0.1, 0.5, 0.75, 1.0 mg/ml) on the total lipid and fatty acids of *A. galleriae* were investigated.

5-Aza-dC treatment reduced the total lipid content of *A. galleriae* females compared with control. However, fatty acids of females slightly increased by 5-Aza-dC treatment. Total lipid of male parasitoids also decreased but the range of depletion was not prominent as in females. Unlike the lipid content, fatty acids of males slightly increased at only 0.1 and 0.5 mg/ml doses of 5-Aza-dC with respect to controls. However, the differences between control and experimental groups in both female and males were not significant. The assessment of the effects that 5-Aza-dC and other chemicals have on host and parasitoid species will contribute to the studies of insect biochemistry and physiology.

Key Words: *Apanteles galleriae* / *Achoria grisella* / 5-Aza-dC / lipid / fatty acids.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET, ANAHTAR KELİMELER	ii
ABSTRACT, KEY WORDS	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
ÖNSÖZ	vii
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOD	9
2.1 Konak Kültürlerinin Kurulması	9
2.2 Parazitoit Kültürlerinin Kurulması	10
2.3 5-Aza-2'-deoxycytidine	11
2.4 5-Aza-2'-deoxycytidine'in Uygulanması	11
2.5 Örneklerin Toplanması	13
2.6 Lipit Özütlemesi, Toplam Lipit ve Yağ Asidi Miktarı	13
2.7 İstatistiksel Analiz	14
3. BULGULAR	16
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	25
5. KAYNAKLAR	29

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil Numarası	Adı	Sayfa
Şekil 1.1	DNA metilasyonunun mekanizması	4
Şekil 2.1	5-Aza-dC'nin kimyasal yapısı	11
Şekil 3.1	5-Aza-dC'nin farklı dozlarında <i>A. galleriae</i> dişilerinin lipit ve yağ asidi yüzdeleri	18
Şekil 3.2	5-Aza-dC'nin farklı dozlarında <i>A. galleriae</i> dişilerinin lipit ve yağ asidi yüzdelerinin karşılaştırılması	19
Şekil 3.3	5-Aza-dC'nin farklı dozlarında <i>A. galleriae</i> erkeklerinin lipit ve yağ asidi yüzdeleri	21
Şekil 3.4	5-Aza-dC'nin farklı dozlarında <i>A. galleriae</i> erkeklerinin lipit ve yağ asidi yüzdelerinin karşılaştırılması	21
Şekil 3.5	5-Aza-dC'nin farklı dozlarında <i>A. galleriae</i> dişi ve erkeklerinin lipit yüzdeleri	22
Şekil 3.6	5-Aza-dC'nin farklı dozlarında <i>A. galleriae</i> dişi ve erkeklerinin yağ asidi yüzdeleri	23
Şekil 3.7	<i>A. galleriae</i> 'da 5-Aza-dC'nin farklı dozlarının eşeye göre yüzde lipit ve yağ asidi miktarları üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması	24

TABLO LİSTESİ

Tablo Numarası	Adı	Sayfa
Tablo 2.1	Bronskill tarafından önerilen besin içeriği ve içerikte yapılan değişiklik	10
Tablo 3.1	5-Aza-dC dozu ve eşey etkileşiminin <i>A. galleriae</i> yüzde lipit üzerine etkilerini gösteren ANOVA sonuçları	16
Tablo 3.2	5-Aza-dC dozu ve eşey etkileşiminin <i>A. galleriae</i> yüzde yağ asidi üzerine etkilerini gösteren ANOVA sonuçları	17
Tablo 3.3	<i>A. galleriae</i> dişilerinde 5-Aza-dC'nin lipit ve yağ asidi yüzdelerine etkisi	17
Tablo 3.4	<i>A. galleriae</i> erkeklerinde 5-Aza-dC'nin lipit ve yağ asidi yüzdelerine etkisi.	20

ÖNSÖZ

Lisans ve lisansüstü eğitimim boyunca tecrübe, bilgi ve sevgisiyle beni her zaman destekleyen, ömür boyu izleyeceğim bir yol açan çok değerli Danışman Hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Olga SAK'a içtenlikle teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince yardımlarından dolayı değerli hocamız Yrd. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN'a teşekkürlerimi sunarım. Her zaman bilgi birikimini benimle paylaşan ve her konuda yardımcı olan Arş. Gör. Aylin ŞAHİN ER'e teşekkür etmeyi bir borç bilirim. Araştırmalarım esnasında yakın ilgilerini gördüğüm Fen–Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü ve Fen Bilimleri Enstitüsü'ndeki hocalarıma ve çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım. Sevgili arkadaşım Bahar BUDAK'a da yardımları için teşekkür ederim. Mekanı cennet olsun.

TBAG 109T004 nolu Hızlı Destek Projesi ile tezime yapmış olduğu maddi katkı ve bana sağladığı burs için TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Tezimin biyokimyasal analiz kısmında çalışmama katkıda bulunan Sn. Murat KAYAR'a teşekkürü borç bilirim.

Hayatım boyunca beni her zaman destekleyen, sevgi ve güvenlerini benden hiç esirgemeyen, eğitimimi sürdürebilmem için bana her türlü imkanı sağlayan canım annem, babam, kardeşim, anneannem ve dedeme yürekten teşekkürler. Gece gündüz demeden el emeği ile benim için rahat bir eğitim süreci sağlayan ve her zaman yanımda olan anneme ayrıca teşekkür ederim. Son olarak lisansüstü eğitimim boyunca en zor anlarda pes etmemem için desteğini esirgemeyen sevgili eşim Ayhan HACIOĞLU'na anlayışı ve sabrı için sonsuz teşekkürler...

Balıkesir, 2009

Özgül SAKİN HACIOĞLU

1. GİRİŞ

Dünyada önlenemeyen hızlı nüfus artışı büyük bir besin açığını da beraberinde getirmektedir. Besinlerin verimli ve sağlıklı bir şekilde üretilmesi oldukça önemlidir. Ancak, kullanılan kimyasal maddeler kara ve deniz kaynaklı olan bitkisel ve hayvansal besinleri büyük ölçüde tehdit etmektedir. İnsanoğlunun ürettiği ve bilinçsizce kullanmaktan çekinmediği bütün kimyasallar sadece besinlerimizi değil, canlı ve cansız çevreyi de olumsuz yönde etkilemektedir. Kullanılan zararlı kimyasallar doğada birikmekte ve besin zinciri yoluyla canlıların değişik dokularına (yağ, kas, karaciğer ve dalak gibi) geçmektedir [1]. Zamanla bu maddeler çeşitli yollarla mutasyon ve kanser oluşumuna sebep olabilmektedirler.

Kimyasal mücadele yöntemlerinin kullanılması sonucu belirli bir süre sonra doğadaki dengeler bozulmaya başlamıştır. Bu durum insanları başka mücadele yöntemlerini araştırmaya zorlamıştır. Günümüzde büyük bir başarıyla kullanılan ‘‘Biyolojik Kontrol Yöntemi’’ hem cansız çevreye hem de canlılara hiçbir zararı olmayan, çevre kirliliğine yol açmayan ve doğal dengenin korunmasını sağlayan önemli bir yöntemdir [2-14]. 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 uygulanabilir [12]. Ekosistemin korunmasındaki katkıları düşünüldüğünde, doğal düşmanların en uygunu, en az risk taşıyanı ve en çok spesifik etki yapanı parazitoitlerdir [12, 15]. Bu nedenle parazitoit türler ekolojik can simitleri olarak tanımlanabilirler [16]. Parazitoitlerin çoğalması konak ile orantılı olduğundan, konak sayısındaki artış parazitoit sayısını artırmakta, konak sayısındaki azalma ise parazitoit sayısını azaltmaktadır [7, 17, 18]. Bu şekilde konak ve parazitoit arasında belli bir denge sağlanmaktadır [19].

Günümüzde parazitoit terimi parazit terimiyle karıştırılabilmektedir. Bu canlıları tipik parazitlerden ayırmak için parazitoit terimi ilk olarak 1913'de O. Reuter tarafından kullanılmıştır [20]. Parazitoitler ile parazitler arasındaki temel farklılıklar ise 1959'da R. Doult tarafından aşağıdaki gibi tanımlanmıştır :

- a) Parazitoitlerde; gelişen birey konağı öldürür.
- b) Parazitoitler sadece ergin öncesi evrede parazittirler.
- c) Parazitoitler konaklarında morfolojik bozukluğa neden olmazlar (heteroecious değildirler).
- d) Konaklarından büyük, küçük veya konaklarıyla aynı büyüklükte olabilirler
- e) Çoğunlukla konakları ile aynı taksonomik sınıfa sahiptirler.
- f) Besinlerini oluşturan konaklarını öldürme özellikleri ile daha çok predatörlere benzerler. Ancak, bu yönleri ile, konaklarını genellikle öldürmeyen parazitlerden oldukça farklıdır [19-21].

Parazitoitler biyolojik özelliklerine göre değişik şekillerde sınıflandırılmaktadır. Larvaların beslenme davranışına göre parazitoitler, endo ve ekto parazitoitler olarak iki sınıfa ayrılabilir [4, 21, 22]. Endoparazitoit olanlar yumurtalarını konağın içine bırakır ve larvalar konağı içten yiyerek gelişir ve erginleşirler [7, 17, 24]. Ektoparazitoit olanlar ise, yumurtalarını konak yüzeyine bırakırlar ve larvaları, vücutları dışarıda, ağız parçaları ise konak vücudu içinde olacak şekilde beslenir ve gelişirler [6, 25]. Ovipozisyondan sonra konağın gelişimine izin veren parazitoitler koinobiont; ovipozisyondan önce konağı öldüren veya felç edenler ise idiobiont olarak tanımlanmıştır [23, 26]. Parazitoitler, yumurta bıraktıkları konak evresine göre yumurta, larva, pup ve ergin parazitoitleri olarak da ayrılabilirler [23].

Bir diğer sınıflandırma şeklinde ise bir konaktan elde edilen ergin parazitoit sayısı dikkate alınmıştır [20, 23]. Buna göre, aynı konağa dişi parazitoit tarafından birden fazla yumurta bırakıldığında, bunlardan sadece bir tanesi ergin evreye ulaşabiliyorsa soliter, çok sayıda larva ergin evreye ulaşabiliyorsa gregar parazitoitlerden söz edilir [20, 23, 27, 28]. Yeterli miktarda konak bulunmadığında, aynı türe ait dişi parazitoitlerin aynı konak üzerine yumurta bırakmaları superparazitizm olarak tanımlanır [4, 23, 27-31]. Eğer bir dişi parazitoit daha önce

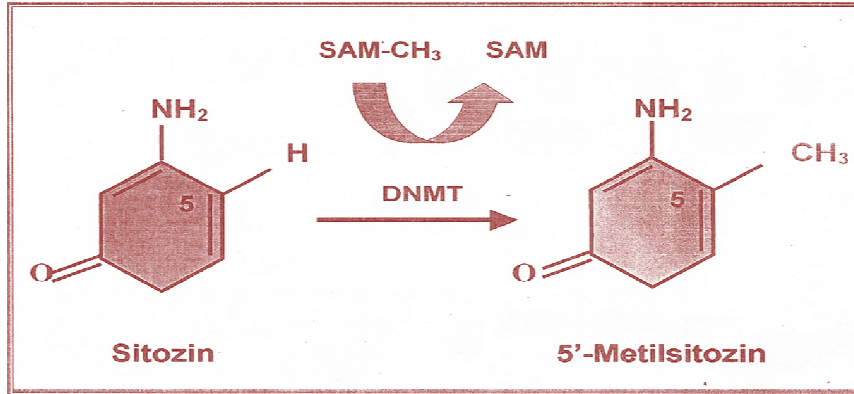
farklı bir türden dişi tarafından parazitlenmiş konağa yumurta bırakırsa iki farklı durum oluşabilir. Farklı iki türe ait larva, konağı besin kaynağı olarak kullanımda birbiri ile rekabete girerse, multiparazitizm meydana gelir [28, 30, 32]. İkinci türe ait larvanın konağı değil de, konakta bulunan diğer türe ait larvayı besin kaynağı olarak kullanması durumu ise hiperparazitizm olarak adlandırılmıştır [20, 23]. Ayrıca hiperparazitizm fakültatif ve zorunlu hiperparazitizm olarak da ayrılabilir [23]. Fakültatif hiperparazitler, parazitlenmemiş konakları direkt olarak parazitleyebilirler ve sadece daha önceden parazitlenmiş bir konağa yumurta bırakıldığında hiperparazitoit olarak gelişirler [23]. Aksine, zorunlu hiperparazitler ancak parazitoitin parazitoiti olarak gelişebilirler [23]. Kleptoparazitizm ise ender olarak görülen bir parazitizm tipidir [23]. Bir kleptoparazitoit zorunlu olarak başka türden bir parazitoitin varlığına ihtiyaç duymaktadır. Ancak, bu tipte parazitoite olan gereksinim hiperparazitizmde olduğu gibi, beslenme amaçlı değildir. Bu zorunluluk, sadece kleptoparazitoit ovipozitörden yoksun olduğundan ve yumurta bırakmak için konağın daha önceden başka bir tür tarafından ovipozisyon için delinmesi gerektiğinden ortaya çıkmaktadır [20, 23].

Yapılan çalışmalarda, parazitoitlerin ergin öncesi gelişimlerini, Hymenoptera, Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Homoptera ve Heteroptera gibi değişik böcek ordolarına ait türlerin, yumurta [26, 33, 34], larva [8, 26, 35], prepup [6, 26], pup [26] ve ergin [36] evrelerine yumurta bırakmak sureti ile onları konak olarak kullanarak tamamlayabildikleri gibi, farklı akar ve örümceklerin değişik evrelerini de konak olarak kullanabildikleri tespit edilmiştir [37]. Bazı durumlarda ise, parazitoitler yumurtalarını doğrudan konak üzerine değil de, onun besini üzerine bırakmaktadır. Böylece parazitoit yumurtası beslenme yoluyla konak tarafından alınmakta ve konak içinde gelişimini sürdürmektedir [23].

Parazitoit türler, Hymenoptera, Diptera, Hemiptera ve Coleoptera takımlarında bulunmaktadır [23]. Ancak, parazitoit türlerin büyük bir çoğunluğu Hymenoptera ve Diptera takımlarının üyeleridir [23]. Bugüne kadar Hymenoptera takımında yüz binin üzerinde, Diptera takımında on beş binin üzerinde ve diğer takımlarda ise üç binin üzerinde parazitoit karakterde tür tanımlanmıştır [20, 23]. Bununla birlikte, araştırmacılar daha yüz binlerce tanımlanmamış parazitoit

karakterde böcek olabileceğini ileri sürmektedirler [23]. Hymenopter parazitoit türlerinin sayıca çok fazla olması ve çeşitli böcek takımlarına ait tarım zararlı türlerin çeşitli evrelerini yumurta bırakmak için kullanıp geniş bir zararlı yelpazesinde etkili olmaları nedeniyle son yıllarda zararlı kontrolünde bu türler sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır [6-8, 17, 21, 25, 26, 30, 31, 33-37].

Metilasyon, DNA'nın Sitozin-Guanin dinükleotid bölgesindeki (CpG) sitozinin 5. karbonuna metil grubunun bağlanması ile gerçekleşmektedir (Şekil 1.1) [38]. Metillenme, DNA'daki Sitozin-Guanin çiftleri halinde bulunan sitozinlerden ve genellikle de her iki zincirde birden olmaktadır. CpG adacıkları, sıklıkla promotor bölgeler olarak işlev görürler ve replikasyon başlangıç bölgeleri oldukları da düşünülmektedir [39]. Metillenmenin gen ifadesinin regülasyonundaki rolü ile ilgili en kuvvetli bulgular baz analogları ile yapılan çalışmalardan elde edilmektedir [38, 40, 41].



Şekil 1.1 DNA Metilasyonun Mekanizması

- * O : Oksijen
- * H : Hidrojen
- * NH₂ : Amin grubu
- * SAM : S-adenozil metiyonin
- * DNMT : DNA metiltransferaz
- * CH₃ : Metil
- * SAM-CH₃ : S-adenozil metiyonin- Metil

5-Aza-2'-deoxycytidine (5-Aza-dC) maddesi bir sitozin analogu olarak işlev görür ve DNA metiltransferaz enziminin güçlü bir inhibitörüdür [40]. Madde in vitro ve in vivo çalışmalarda demetilasyon ajanı olarak sıkça kullanılmaktadır [42]. 5-Aza-dC, metiltransferaz enzimini iki şekilde inhibe etmektedir:

* DNA ile DNA metiltransferaz enzimi arasında kovalent bir bağ oluşturarak doğrudan enzimin aktivitesinin kaybolmasına neden olur ve hücre DNA'sındaki sitozin ile yer değiştirerek DNA'ya bağlanabilir,

* DNA metilasyonunu etkileyip, gen ekspresyonu/kromatin yapısını değiştirerek dolaylı olarak etkiler [40].

Üzerinde çalıştığımız 5-Aza-dC maddesi ilk olarak Piskala ve Sorm tarafından 1964 yılında sentezlenmiştir [43]. Kanser hücreleriyle yapılan in vivo çalışmalarda maddenin geniş bir antimetabolik aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir [41]. 5-Aza-dC'nin türevi olan 5-azacytidine (5-AzaC) DNA, RNA ve protein sentezini etkilerken, 5-Aza-dC'nin etkisi doğrudan DNA üzerinde olmaktadır [41]. 5-Aza-dC kültüre alınmış hücrelerde ve hayvan hücrelerinde 5-AzaC'ne göre 10 kat daha fazla sitotoksik etki göstermektedir [44, 45].

Memeli hücre kültürleri ile yapılan deneyler, DNA metilasyonu ile gen ekspresyonunun kontrolü arasında doğrudan bir ilişki olduğunu göstermiştir [46, 47]. 5-Aza-dC ve 5-AzaC gibi kimyasal maddelerin kanser önleyici özellikleri ve gen ekspresyonu üzerindeki etkileri nedeniyle bu maddelerin mutajenik etkileri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır [48]. Aktif *K-ras* mutasyonu içeren birincil fare akciğer tümör modeline göre 5-Aza-dC'nin, tümör oluşma sıklığında % 23, tümör çeşitliliğinde % 42 oranında azalma sağlayarak tümör oluşumunu önleyici yönde etki yaptığı kanıtlanmıştır [42]. 5-Aza-dC lösemi ve bazı katı tümörlerin kemoterapi ile ilgili klinik denemelerinde de kullanılmaktadır [49, 50]. Günümüzde kemoterapi ile ilgili bazı uygulamalarda 5-Aza-dC'nin sitotoksik dozları kullanılmaktadır. Ayrıca maddenin tümör oluşumunun erken safhalarında ve akciğer kanserinin kimyasal ve cerrahi tedavilerinden sonra neoplazinin azalmasında yarar sağladığı da tespit edilmiştir [42]. Bununla beraber söz konusu maddelerin in vivo kanseri teşvik ettikleri de belirlenmiştir [42, 51]. Örneğin, insanda düşük konsantrasyonlarda 5-

Aza-dC'nin in vitroda sessiz genleri yeniden aktive ettiği gösterilmiştir [52-54]. Ayrıca insan meme kanseri hücrelerinde 5-Aza-dC'nin hem östrojen reseptör geninin demetilasyonu hem de bazı hücre hatlarında apoptozise neden olan kararlı DNA metiltransferaz-DNA adducts oluşumuna yol açarak etkili olduğu gösterilmiştir [40].

Yapılan çalışmalarda 5-Aza-dC gibi maddelerin zararlı etkilerini sadece metilasyon özelliğini etkileyerek meydana getirmediği ifade edilmiştir [48, 55]. Hamile ratlar 5-Aza-dC'ye maruz kaldıklarında plasentanın sınıf I ve sınıf II genlerinde demetilasyona neden olmuş ancak plasentanın sınıf I ve sınıf II antijenlerinin ekspresyonunu etkilememiştir [55]. Sonuç olarak maddenin uygulanması ile farelerde görülen düşüklerin demetilasyon ile korelasyon göstermediği ve meydana gelen bu etkinin maddenin hücresel etkisine bağlanabileceği ifade edilmiştir [55]. *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophiladae) ile yapılan çalışmada ise bu böceğin neredeyse hiç 5-metil sitozin taşımadığı ve bu nedenle bu tip organizmalarda 5-Aza-dC gibi maddelerin metilasyonu etkileyerek mutasyona yol açabileceğinin gösterilemeyeceği ifade edilmiştir [48]. Çalışmada larvalar 5-Aza-dC içeren besin ile beslenmiş ve hayatta kalan ergin erkek bireyler babaya ait eşey kromozomlarındaki değişiklikler için incelenmiştir. Sonuçta maddenin X-Y kromozomu arasında parça değişimine neden olduğu, submetasentrik Y kromozomunun kollarından birinde kısmi kayba yol açtığı ve babaya ait eşey kromozomlarında tam bir kayba neden olduğu belirlenmiştir [48].

Bitkilerde yapılan çalışmalarda da 5-Aza-dC ve 5-AzaC gibi maddelerin morfolojik anormalliklere neden olduğu gözlenmiştir. Örneğin, *Petunia*'nın yaprak disklerine bu iki madde SI ortamında uygulandığında tomurcukların filizlenmesinin engellendiği, yaprak disklerinin yaş ağırlığının % 60-80 azaldığı ve filizlerde internodyum uzunluğunun kısaldığı belirlenmiştir [56]. Ayrıca, 5-AzaC'nin mısır ve tütünde fenotipik değişikliklere yol açtığı [57], *Brassica oleracea* vars. *botrytis*, *italica* ve *alboglabra*'da tohumun çimlenmesinden önce filizlenmeyi etkilediği ve morfolojik anormalliklere neden olduğu [58] belirlenmiştir. Birer demetilasyon ajanı olan 5-Aza-dC ve 5-AzaC gibi maddelerin fare, insan, tavuk, sinek ve bitkilerde benzer şekilde genetik yapıyı olumsuz olarak etkilediği gösterilmiştir [40, 48, 55, 56, 59, 60]. Bugüne kadar 5-Aza-dC'nin genellikle omurgalılar üzerindeki etkileri

belirlenmiş ancak omurgasızlardan özellikle böcekler üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalar yok denecek kadar azdır [48, 61]. Ayrıca, 5-Aza-dC'nin parazitoit türler üzerindeki etkileri ile ilgili bilinenler oldukça sınırlıdır [61].

Bitkiler ve hayvanlarda olduğu gibi böceklerde de temel metabolitler hayatsal faaliyetlerin gerçekleştirilmesinde önemli olmaktadır. Lipitler; yapısal görevleri, enerji kaynağı olarak kullanılmaları ve hormon olarak iş görmeleri nedeniyle böcek biyokimyasında önemli bir role sahiptirler [62]. Triaçilgliseroller şeklinde yağ doku hücreleri içinde depolanan yağ asitleri, birçok böcekte göç periyotları boyunca besin bulamadıkları ve uzun süre uçtukları zamanlarda temel enerji kaynağı olarak iş görürler [63, 64]. Bununla beraber fosfolipitler gibi polar lipitler zarlarda yapısal eleman olarak rol oynarlar [65]. Böcek gelişiminin farklı safhaları ile eşeyler arasındaki lipit ve yağ asidi içerikleri ile ilgili farklılıkların belirlenmesi bunların çok farklı metabolik fonksiyonları ve homeostasisin devamlılığındaki çeşitli rolleri nedeniyle önemli bilgilere ulaşılmasını sağlamaktadır. Lipit profilindeki bu değişiklikler böceğin fizyolojik ihtiyaçları ile yakından ilişkili olup, bu ihtiyaçlar türe, eşeye, yaşa ve gelişim safhasına bağlı olarak büyük oranda farklılık gösterir ve çevresel faktörlerden etkilenir [66-69].

Konak-parazitoit ilişkisi içinde konak ve parazitoit türler arasındaki besinsel ilişkiler konağın bolluk derecesini belirleyen önemli bir faktördür [70, 71]. Örneğin, parazitoitlerin yağ asidi içeriklerini düzenleme dereceleri konak uygunluğunu belirleyen faktörlerden biridir [72]. *Apanteles galleriae* (Wilkinson) (Hymenoptera: Braconidae); *Galleria mellonella* L., *Achoria grisella* Fabr., *A. innotata* Walker ve *Vitula edmandsae* (Packard) gibi lepidopter türlerde koinobiont, soliter ve larval endoparazitoit bir türdür [73-75]. *A. galleriae* ile ilgili yaptığımız literatür taramasında taksonomik özelliklerinin [74], bir dereceye kadar gelişim biyolojisinin [73], konak türlerin parazitoitin bazı biyolojik özelliklerine etkilerinin [76, 77], parazitoitin verim ve eşey oranına parazitoit-dişi eşdeğeri konak sayısındaki artışın etkilerinin [77, 78], farklı sıcaklık ve besin çeşitlerinin ergin hayat uzunluğuna etkilerinin [79-81], konak besin kalitesinin değiştirilmesinin ergin öncesi gelişim süresi, verim, eşey oranı, ergin hayat uzunluğu ve boyuna etkilerinin [80], mevsimsel yaşam ile yaş ve yoğunluğa bağlı üreme biyolojisinin modellenmesinin [82]

araştırıldığı görülmüştür. *G. mellonella* [83] ve *A. grisella* [84]'da yetiştirilen *A. galleriae*'nin toplam lipit ve yağ asidi miktarları ile yağ asidi bileşimlerinin evre/eşeye göre nasıl değiştiğini ve parazitlemenin konağın lipit miktarı ve yağ asidi profili ve içeriğine olan etkileri ile parazitoit ve konağın yağ asidi içeriklerinin benzerlik derecelerini ve farklı dozlarda konağa verilen cypermethrinin parazitoitin biyolojisine etkilerini [85] gösteren çalışmalar yapıldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, konak larvasına verilen 5-Aza-dC'nin *A. galleriae*'nin biyolojik özelliklerini nasıl etkilediği de araştırılmıştır [61]. Çalışmada, madde uygulamasının kontrol ile karşılaştırıldığında hem konak hem de parazitoit türün ergin öncesi gelişim süresini uzatarak daha geç erginleşmelerine neden olduğu ve konak türde bazı morfolojik bozukluklara yol açtığı belirlenmiştir. Ayrıca 5-Aza-dC uygulamasına bağlı olarak erginleşen parazitoitlerin ergin hayat uzunluğu ve boyunun kısaldığı, dişi parazitoit sayısı azalırken erkek parazitoit sayısının arttığı ve dişi veriminin önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir [61]. Ancak yapmış olduğumuz literatür taramasında, konağa uygulanacak 5-Aza-dC'nin parazitoitin toplam lipit ve yağ asitlerine etkisi hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle farklı dozlarda besin içinde konağa verilen 5-Aza-dC'nin *A. galleriae*'nin lipit ve yağ asidi yüzdelere etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. MATERYAL METOD

5-Aza-dC uygulanmayan gruplar için 1.45x2.00x3.55 metre ve 5-Aza-dC uygulanan gruplar için 1.45x2.60x3.55 metre boyutlarında birbirinden farklı iki oda laboratuvar olarak kullanıldı. Bütün deneyler süresince laboratuvarlarda, 25 ± 2 °C sıcaklık, % 60 ± 5 nispi nem ve 12:12 saat (Aydınlık: Karanlık) fotoperiyot şartları devam ettirildi. Odada sıcaklık 9000 BTU klima ve termostatlı radyatör kullanılarak, nispi nem ise radyatörün her iki yanına asılan içi su dolu plastik kaplarla ve gerektiğinde laboratuvarın zeminine su serpilerek sağlandı. Laboratuvara ait sıcaklık ve nem değerleri maksimum-minimum termometre ve termohigrografla devamlı olarak takip edildi. Aydınlık ve karanlık süresi fotoperiyot cihazları ile ayarlandı.

2.1 Konak Kültürlerinin Kurulması

Deneylerde konak olarak Küçük Balmumu Güvesi, *A. grisella*'nın erken evre larvaları kullanıldı. *A. grisella*'nın laboratuvar süksesif kültürlerinin kaynağını, biyoloji laboratuvarından alınan ve içinde *A. grisella*'ya ait larva, pup ve erginlerin bulunduğu çekirdek kültür oluşturdu. Bu larva, pup ve erginler bir arada, balsız kuru siyahlaşmış petek ve yarı sentetik besin içeren çeşitli hacimlerdeki cam kavanozlarla konularak konak stok kültürü oluşturuldu. Konak stok kültürü Bronskill [86] besinindeki kepek oranı değiştirilerek modifiye edilen [87] besin ortamında devam ettirildi. Bronskill'in [86] önerdiği besin içeriği ve Sak ve ark. [87] tarafından yapılan değişiklik Tablo 2.1'de verilmektedir.

Konak süksesif kültürlerini oluşturmak için on beşer gün aralıklarla stok kültürden alınan beşer adet en çok iki gün yaşlı dişi ve erkek *A. grisella* erginleri, yukarıda belirtildiği gibi, içerisinde besin bulunan bir litrelik cam kavanozlar içine bırakıldı. Kavanozların ağzı hava sirkülasyonunu sağlayacak şekilde bez ve üstüne

yaklaşık 50 kadar ince delikler açılmış orijinal metal kapakları (larvaların bezi delip kaçmalarını önlemek için) ile kapatıldı. Stok ve süksesif kültür kaplarına populasyon yoğunluğuna bağlı olarak azalan konak besinini karşılamak için zaman zaman yeterli miktarda yarı sentetik besin ve balsız kuru siyahlaşmış petek ilave edildi. Süksesif konak kültürlerini kurma işlemine, hem kültürün devamını sağlamak hem de deneylerde kullanılacak erken evre larvalarını verecek erginleri elde etmek için deneyler boyunca devam edildi.

Tablo 2.1 Bronskill tarafından önerilen besin içeriği ve içerikte yapılan değişiklik.

	Bronskill Besini	Kullanılan Besin
Ufalanmış petek	200 g	200 g
Kepek	500 g	860 g
Süzme Bal	150 ml	150 ml
Gliserin	300 ml	300 ml
Saf su	150 ml	150 ml

2.2 Parazitoit Kültürlerinin Kurulması

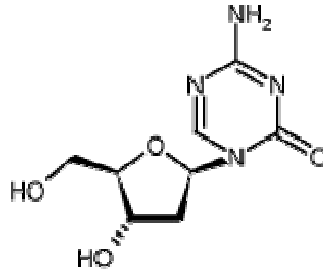
Deneylerde parazitoit olarak koinobiont, soliter ve larva endoparazitoiti *A. galleriae* kullanıldı. *A. galleriae* stok kültürlerinin kaynağını biyoloji laboratuvarından alınan parazitlenmiş konaklardan çıkan ergin bireyler oluşturdu.

Parazitoitin süksesif kültürünü oluşturmak için 1-3 gün yaşlı dişi ve erkek *A. grisella* erginleri kullanıldı. Öncelikle, içerisinde balsız kuru siyahlaşmış petek ve yarı sentetik besin bulunan bir litrelik cam kavanozlara beş dişi ve beş erkek konak ergini bırakıldı. Konağın yumurtadan larvaya kadar olan gelişim süreci dikkate alınarak ve parazitoitlere yeterince erken evre konak larvası sağlamak için *A. grisella* erginlerinin bulunduğu kavanozlara yedi gün sonra beşer adet en çok 1-2 gün yaşlı ergin parazitoit dişi ve erkeği bırakıldı. Kavanozların ağzı hava sirkülasyonunu önlemeyecek şekilde bez ve üstüne delikler açılmış metal kapaklar ile kapatıldı.

Belirtilen kültür kurma işlemleri 15-20 gün arayla tekrarlanarak parazitoitin süksesif stok kültürleri oluşturuldu ve deneyler boyunca devam ettirildi. Söz konusu kültürlerden elde edilen erginlerin bir kısmı parazitoit kültürünün devamında, bir kısmı da deneylerde kullanıldı.

2.3 5-Aza-2'-deoxycytidine

Çalışmamızda kullandığımız 5-Aza-dC (EEC no. 219-089-4, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) bir sitozin analogu olup beyaz toz halinde kimyasal bir maddedir. Moleküler formülü $C_8H_{12}N_4O_4$ 'tür. 5-Aza-dC, saf su içerisinde çözülerek mililitresinde 0.1, 0.5, 0.75 ve 1 miligram katı madde içeren dört farklı dozda çözelti hazırlandı ve yarı sentetik besin içine saf su oranı kadar ilave edildi.



Şekil 2.1 5-Aza-dC'nin kimyasal yapısı

2.4 5-Aza-2'-deoxycytidine'in Uygulanması

A. galleriae'nin ergin dişi ve erkeklerinde toplam lipid ve yağ asidi miktarlarına farklı dozlarda 5-Aza-dC'nin etkisini belirlemek için, önceden hazırlanan konak stok kültürlerinden 1-3 gün yaşlı *A. grisella* ergin dişi ve erkekleri elde edildi. Bunun için, içerisinde sadece konak larva ve pupları bulunan kültürler her gün takip edildi. Kültürden ilk çıkan 1-3 gün yaşlı konak erginleri deneylerin kurulmasında kullanıldı. Daha önce belirtildiği gibi dört farklı dozda (0.1, 0.5, 0.75 ve 1 mg/ml) hazırlanan 5-Aza-dC, 30 gram susuz yarı sentetik besine saf su oranı kadar ilave edildi. Her bir deney grubu için 30 gram maddeli besine ilave olarak

doğabilecek besin ihtiyacını karşılamak amacıyla 30 gram maddeli yedek besin hazırlandı. Konak stok kültürlerinden elde edilen 3 dişi ve 3 erkek *A. grisella* ergini maddeli besin içeren bir litrelik cam kavanozlara bırakıldı. Kavanozların ağzı hava sirkülasyonunu önlemeyecek şekilde bez ve delikli kapaklarla kapatıldı. Çiftleşip yumurta bırakmaları amacıyla kavanozlara konulan konaklar, bırakılmalarının beşinci gününde kavanozlardan alındı. Bu kavanozlara larvaların aç kalmaması için gerektiğinde maddeli yedek besin ilave edildi. Kontrol gruplarının oluşturulmasında deney grupları için verilen yöntem izlendi, ancak 5-Aza-dC yerine saf su eklenmiş yarı sentetik besin kullanıldı. Kontrol ve deney grupları ilk ergin çıkışına kadar her gün takip edildi.

Bu kültürlerden elde edilen bir gün yaşlı bir dişi ve bir erkek *A. grisella* ergini 330 mililitrelik cam kavanozlara alındı. Erginlerin yumurta bırakabilmeleri için kavanozlara 1 gr balsız kuru siyahlaşmış petek atıldı. Zaman zaman konak larvalarına besin sağlamak için kavanozlara saf sulu yarı sentetik besin ilave edildi. Çiftleşip yumurta bırakmaları amacıyla kavanozlara konulan konaklar, bırakılmalarının yedinci gününde kavanozlardan alındı. Konağın yumurtadan larvaya kadar olan gelişim süreci dikkate alınarak ve de parazitoitlere yeterince erken evre konak larvası sağlamak için *A. grisella* larvalarının bulunduğu kavanozlara yedi gün sonra birer adet en çok 1-2 gün yaşlı ergin parazitoit dişi ve erkeği bırakıldı. *A. galleriae* erginleri, % 30 bal çözeltisine batırılarak hazırlanmış pamuk topçuklar ile her gün beslendi. Konak erken evre larvalarını parazitlemeleri için kavanozlara bırakılan ergin parazitoitler konak erginlerinin kavanozlara bırakılmasının 14. gününde kavanozlardan alındı. Kavanozların üzeri hava sirkülasyonunu sağlayacak şekilde bezle örtüldü. Bu şekilde hazırlanan kavanozlar lipit ve yağ asidi çalışmalarında kullanılmak üzere ergin parazitoit çıkışına kadar bekletildi.

Bütün deneyler değişik zamanlarda üç kez tekrar edildi. Tekrar gruplarında kullanılan konak ve parazitoit bireylerin farklı zaman ve farklı süksesif kültürlerden alınmasına özen gösterildi.

2.5 Örneklerin Toplanması

Lipit ve yağ asidi çalışmalarında kullanılmak üzere hazırlanan deney kavanozlarından elde edilen 0-1 günlük ergin parazitoitler, 1×10^{-4} gram hassasiyette tartılarak kimyasal analizler için toplandı. Tartılan bireyler beslenmeden, 3 ml 2:1 oranında kloroform: metanol (v/v) (Merck) karışımına alındı ve toplam lipit ve yağ asidi analizleri yapılana kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Bir deney serisinin her bir tekrarında 20 birey olacak şekilde deneyler değişik zamanlarda üç kez tekrar edildi.

2.6 Lipit Özütlemesi, Toplam Lipit ve Yağ Asidi Miktarı

Örneklerden lipit özütlenmesi ile toplam lipit miktar tayini Folch ve arkadaşlarına [90] göre yapıldı. 2:1 kloroform: metanol (v/v) karışımında -20 °C'de bekletilen lipit örnekleri buzlu ortamda, Art-Miccra D-8 marka homojenizatörde 26 000 devir/dakikada beş dakika süre ile homojenize edildi. Elde edilen sulu ham özüt Whatman No: 41 filitre kağıdından süzüldü. Süzüntü içindeki çözücüler döner buharlaştırıcı (Rotary Evaporatör) ile hafif vakumda uçuruldu. Örnekler çözücünün tam olarak uçması için 40 °C'lik etüvde bir gece bekletildi. Geri kalan kısım desikatörde sabit tartıma gelene kadar bekletildi. Sabit tartıma ulaşan örnek toplam lipit miktarı olarak kaydedildi. Böylece bir deney serisinin bir tekrarındaki tüm bireylerin toplam lipit miktarı belirlendi. Bu değer birey sayısına bölünerek birey başına düşen ortalama lipit miktarı belirlendi. Her örnek grubunda üç tekrar için mg olarak elde edilen ortalama lipit miktarları toplanıp üçe bölünerek ortalama yağ ağırlığına göre, ortalama lipit miktarları tespit edildi. Ortalama lipit miktarlarından yararlanılarak toplam lipit miktarı yağ ağırlığının yüzdesi olarak hesaplandı ve istatistikleri yapıldı.

Gravimetrik olarak toplam lipit miktarı belirlenen örnekler desikatörden çıkarıldıktan sonra 3 ml 2:1 oranında kloroform: metanol (v/v) (Merck) karışımına alındı ve toplam yağ asidi analizleri yapılana kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

-20 °C'de 10 ml'lik şişelerde muhafaza edilen örnekler yağ asidi analizleri için 15 ml'lik şişelere aktarıldı (10 ml'lik şişeler içlerinde yağ örneği kalma ihtimaline karşı 1 ml kloroform ile yıkandı). 15 ml'lik şişelerdeki örneklerin kloroform ve metanolü azot gazı yardımı ile uzaklaştırıldı. Şişede sadece yağ örneğinin kalmasına özen gösterildi. Örneklerdeki yağı dağıtmak ve reaksiyon için gerekli fazla metanolü sağlamak amacıyla yağ örneğinin üzerine 1 ml metanol eklendi. Bu şekilde hazırlanan örnek karıştırıcıda 15 saniye karıştırıldı. Karıştırılan örneğin üzerine 3 ml 3 N hidroklorik asit eklendi ve 30 saniye daha karıştırıldı. Daha sonra örnekler yağ asitlerinin esterleşmesi için 95 °C sıcaklık ayarlı su banyosunda bir saat bekletildi. Bir saatin sonunda karışıma 5 ml % 88'lik sodyum klorür ilave edildi, karıştırıcıda 20 saniye karıştırıldı ve karışımdan sabun ve benzeri maddelerin uzaklaştırılması sağlandı. Bundan sonra karışıma gravimetrik analiz yapabilmek için 0,2 ml internal standart ve 0,8 ml n-heptan eklendi. Burada oluşan üst faz Gaz Kromatografi cihazı ile analiz edildi. Bütün bu işlemler için BUTAL KM043 metodu kullanıldı ve bu metot için TS EN ISO 5508 ve TS 4504 standartları referans olarak alındı.

Bir deney serisinin bir tekrarındaki tüm bireylerin toplam yağ asidi miktarı GC'den elde edilen veriler kullanılarak hesaplandı. GC sonuçlarından elde ettiğimiz yağ asidi yüzdesi (%YA(m/m)), bir tekrardaki 20 bireyin toplam lipit miktarı ile çarpılıp çıkan sonuç 100'e bölünerek yağ asidi değeri mg cinsinden hesaplandı. 20 bireye ait elde edilen bu değer (mg cinsinden YA) 100 ile çarpılıp çıkan sonuç toplam vücut ağırlığına bölünerek yüzde yağ asidi hesaplandı. Daha sonra her örnek grubundan üç tekrar için elde edilen yüzde yağ asidi sonuçları istatistiksel olarak değerlendirildi.

2.7 İstatistiksel Analiz

Bir deney serisinde elde edilen veriler kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırılmak sureti ile değerlendirildi. *A. galleriae*'da toplam lipit ve yağ asidi miktarları üzerine 5-Aza-dC dozu ve eşeyin etkilerini belirlemek için İki Yönlü Varyans Analizi (ANOVA), her bir eşey için toplam lipit ve yağ asidi miktarları üzerine değişik madde dozlarının etkileri ise Tek Yönlü Varyans Analizi Testi

(ANOVA) ile değerlendirildi. Ortalamalar arası farkın önem kontrolünde Tukey HSD Testi kullanıldı[89]. Yüzde olarak belirlenen verilerin varyans analizinden önce arksinüs karekökleri alındı [90]. Değerlendirmede 0.05 güven sınırı esas alındı.

3. BULGULAR

5-Aza-dC dozu ve eşey etkileşiminin *A. galleriae* yüzde lipit değerleri üzerine etkileri ANOVA tablosunda verilmektedir (Tablo 3.1). İki faktörlü varyans analizi sonuçları; yüzde lipit değerlerinin 5-Aza-dC dozu ve eşeye bağlı olarak önemli oranda değişmediğini ($P>0.05$) göstermektedir. Ayrıca parazitoitin lipit oranında 5-Aza-dC dozuna bağlı farklılığın eşeyden bağımsız olarak oluştuğu ($P>0.05$) belirlendi.

Tablo 3.1 5-Aza-dC dozu ve eşey etkileşiminin *A. galleriae* yüzde lipit üzerine etkilerini gösteren ANOVA sonuçları ($r^2=0.235$).

Kaynak	Sd	KO	F	P
5-Aza-dC	4	11.346	0.958	0.452
Eşey	1	14.868	1.256	0.276
5-Aza-dC *Eşey	4	3.119	0.263	0.898
Hata	20	11.840		

5-Aza-dC dozu ve eşeye bağlı olarak *A. galleriae* yüzde yağ asidi değerlerinde görülen değişiklikler ANOVA tablosunda verilmektedir (Tablo 3.2). İki faktörlü varyans analizi sonuçları; yüzde yağ asidi değerlerinin 5-Aza-dC dozuna bağlı olarak önemli oranda değişmediğini ($P>0.05$) ancak eşeye bağlı olarak önemli oranda değiştiğini ($P<0.05$) göstermektedir. Ayrıca parazitoitin yağ asidi oranında görülen farklılıklar 5-Aza-dC dozu-eşeye bağlı değildi ($P>0.05$).

Tablo 3.2 5-Aza-dC dozu ve eşey etkileşiminin *A. galleriae* yüzde yağ asidi üzerine etkilerini gösteren ANOVA sonuçları ($r^2=0.558$).

Kaynak	Sd	KO	F	P
5-Aza-dC	4	0.451	2.618	0.066
Eşey	1	1.456	8.456	0.009
5-Aza-dC *Eşey	4	0.272	1.578	0.219
Hata	20	0.172		

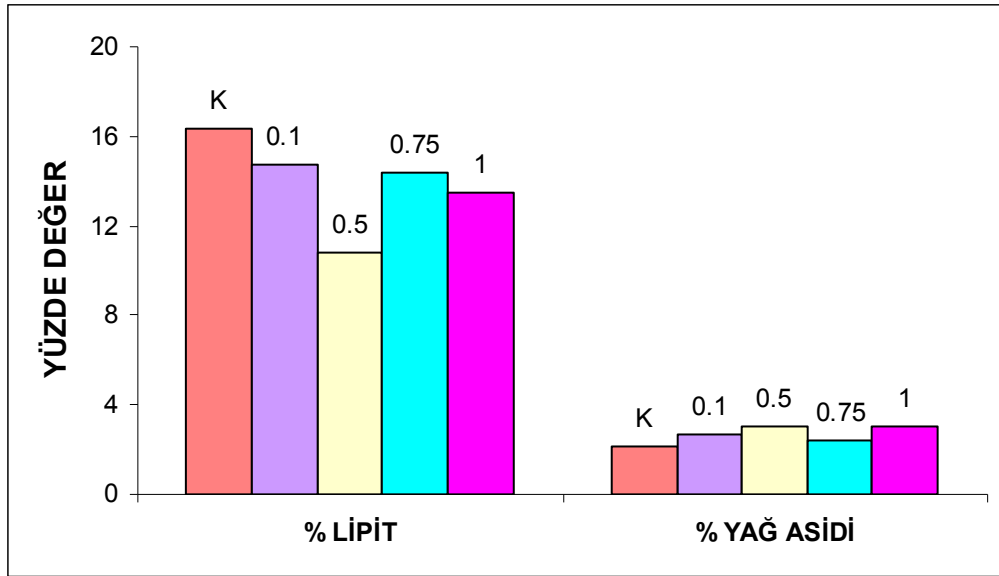
A. galleriae'nin dişi ve erkek bireyelerine göre toplam lipit ve yağ asidi değerlerindeki değişiklikler Tablo 3.3 ve 3.4'de verilmektedir. *A. galleriae*'nin dişilerinde 5-Aza-dC'nin farklı dozlarının yüzde lipit ($F = 1.608$; $df = 4, 10$; $P > 0.05$) ve yüzde yağ asidi değerleri ($F = 2.576$; $df = 4, 10$; $P > 0.05$) üzerindeki etkisinin anlamlı olmadığı görüldü (Tablo 3.3). 5-Aza-dC uygulaması kontrol ile karşılaştırıldığında deney gruplarının toplam lipit miktarında azalmaya neden oldu. Kontrolde 16.38 olan lipit miktarının deney gruplarından 0.5 mg/ml dozunda 10.83 ile en düşük, 0.1 mg/ml dozunda ise 14.73 ile en yüksek değere sahip olduğu görüldü. Ancak, farklılıklar istatistiksel olarak önemli değildi (Tablo 3.4). Yüzde lipit değerinin aksine yüzde yağ asidi değerlerinin kontrole göre az oranda artış gösterdiği belirlendi. Ancak, kontrol ve deney grupları arasındaki farklılıklar anlamlı değildi.

Dişilerde yüzde lipit ve yağ asidi değerleri ile ilgili veriler grafiğe dönüştürüldüğünde Şekil 3.1 ve Şekil 3.2 elde edilir. Kontrol ve deney gruplarını karşılaştırdığımızda yüzde lipit değerlerinin azaldığı ve sıralanmanın çoktan aza doğru 0.1, 0.75, 1 ve 0.5 mg/ml şeklinde olduğu görüldü (Şekil 3.1). Madde uygulaması dişilerin yüzde yağ asidini artırdı. Bununla beraber artış oranı yüzde lipit değerindeki azalma oranı kadar belirgin değildi (Şekil 3.1 ve 3.2).

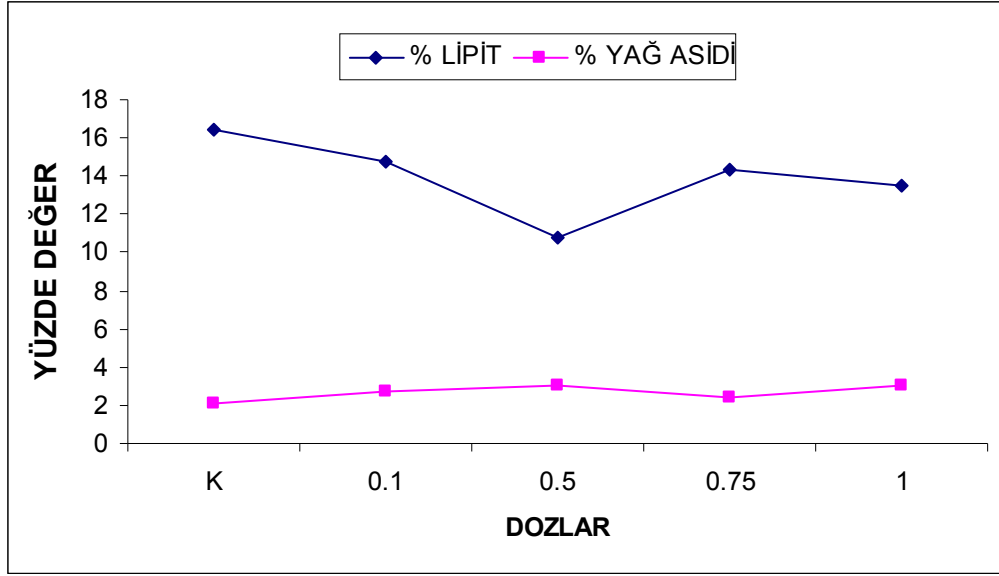
Tablo 3.3 *A. galleriae* dişilerinde 5-Aza-dC'nin lipit ve yağ asidi yüzdelerine etkisi.

5-Aza-dC (mg/ml)	Toplam Lipit (%)	Toplam Yağ Asidi (%)
Kontrol	16.38 ± 1.17a	2.11 ± 0.08a
0.1	14.73 ± 2.82a	2.67 ± 0.16a
0.5	10.83 ± 1.57a	3.04 ± 0.18a
0.75	14.37 ± 0.23a	2.42 ± 0.42a
1	13.51 ± 1.03a	3.04 ± 0.27a

Her veri üç tekrarın ortalamasıdır. Aynı sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0.05, Tukey HSD testi).



Şekil 3.1 5-Aza-dC'nin farklı dozlarında *A. galleriae* dişilerinin lipit ve yağ asidi yüzdeleri.



Şekil 3.2 5-Aza-dC'nin farklı dozlarında *A. galleriae* dişilerinin lipit ve yağ asidi yüzdelerinin karşılaştırılması. K;Kontrol.

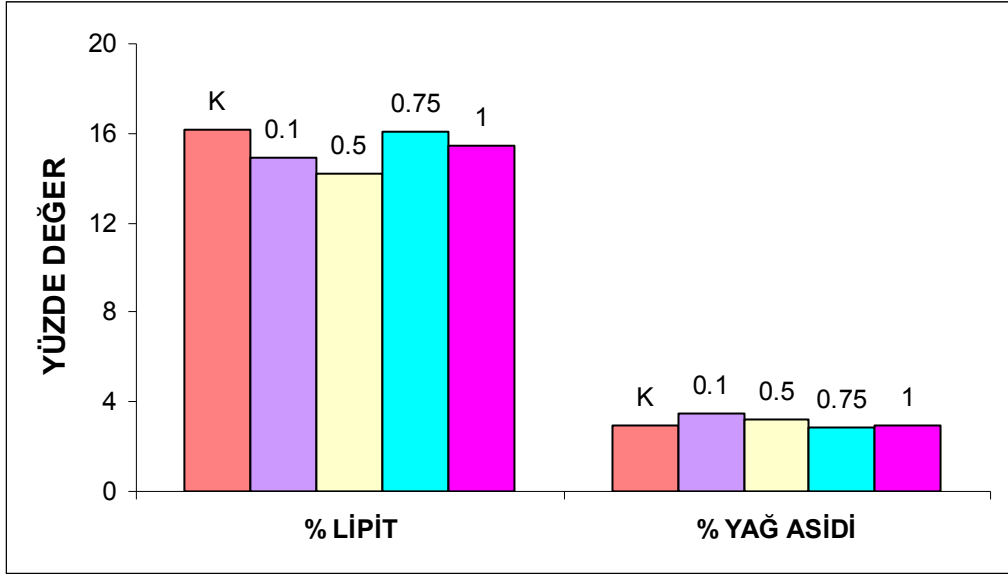
A. galleriae'nin erkeklerine farklı dozlarda 5-Aza-dC uygulamasının yüzde lipit ($F = 0.127$; $df = 4, 10$; $P > 0.05$) ve yüzde yağ asidi değerlerini ($F = 1.517$; $df = 4, 10$; $P > 0.05$) anlamlı olarak etkilemediği görüldü (Tablo 3.4). 5-Aza-dC uygulaması kontrol ile karşılaştırıldığında deney gruplarının toplam lipit miktarında azalmaya neden oldu. Ancak, farklılıklar istatistiksel olarak önemli değildi. Deney gruplarının lipit miktarlarında azalma olsa da kontrole göre azalma oranı dişilerdeki kadar belirgin değildi (Tablo 3.4). Yüzde lipit değerlerinin aksine sadece 0.1 mg/ml ve 0.5 mg/ml dozlarındaki yüzde yağ asidi değerlerinin kontrole göre az oranda artış gösterdiği belirlendi. Ancak, kontrol ve deney grupları arasındaki farklılıklar anlamlı değildi.

Tablo 3.4 *A. galleriae* erkeklerinde 5-Aza-dC'nin lipit ve yağ asidi yüzdelerine etkisi.

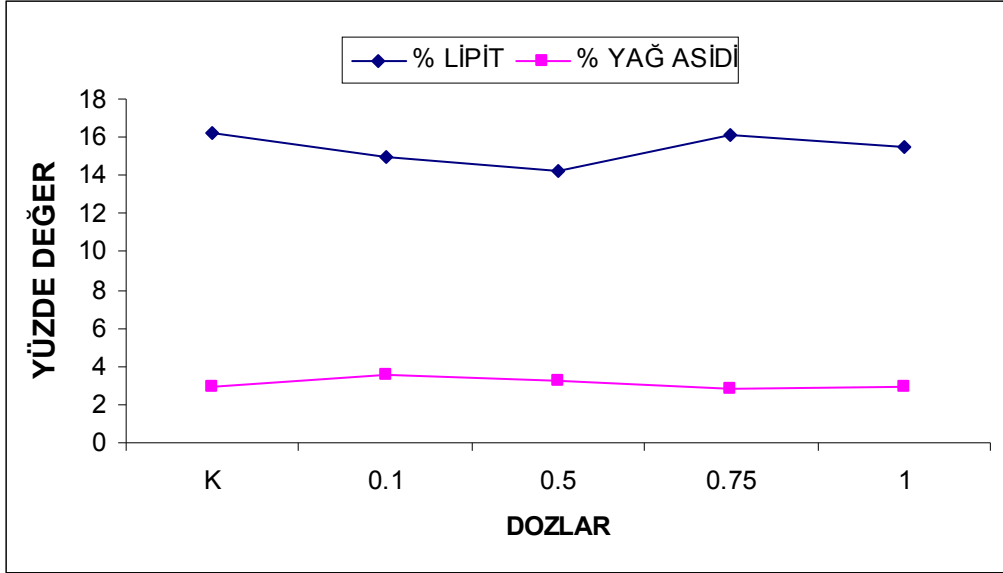
5-Aza-dC (mg/ml)	Toplam Lipit (%)	Toplam Yağ Asidi (%)
Kontrol	16.17±1.05a	2.97 ± 0.38a
0.1	14.94±2.47a	3.52 ± 0.14a
0.5	14.21±2.31a	3.23 ± 0.17a
0.75	16.10±3.25a	2.84 ± 0.12a
1	15.44±1.86a	2.92 ± 0.23a

Her veri üç tekrarın ortalamasıdır. Aynı sütunda aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$, Tukey HSD testi).

Erkeklerde yüzde lipit ve yağ asidi değerleri ile ilgili veriler grafiğe dönüştürüldüğünde Şekil 3.3 ve Şekil 3.4 elde edilir. Kontrol ve deney gruplarını karşılaştırdığımızda yüzde lipit değerleri azaldı ve gruplardaki sıralamanın çoktan aza doğru 0.75, 1, 0.1 ve 0.5 mg/ml şeklinde olduğu görüldü (Şekil 3.3). Şekil 3.3 ve 3.4 incelendiğinde yüzde yağ asidindeki artma ve azalmaların lipit miktarındaki azalmalar kadar belirgin olmadığı görülmektedir.

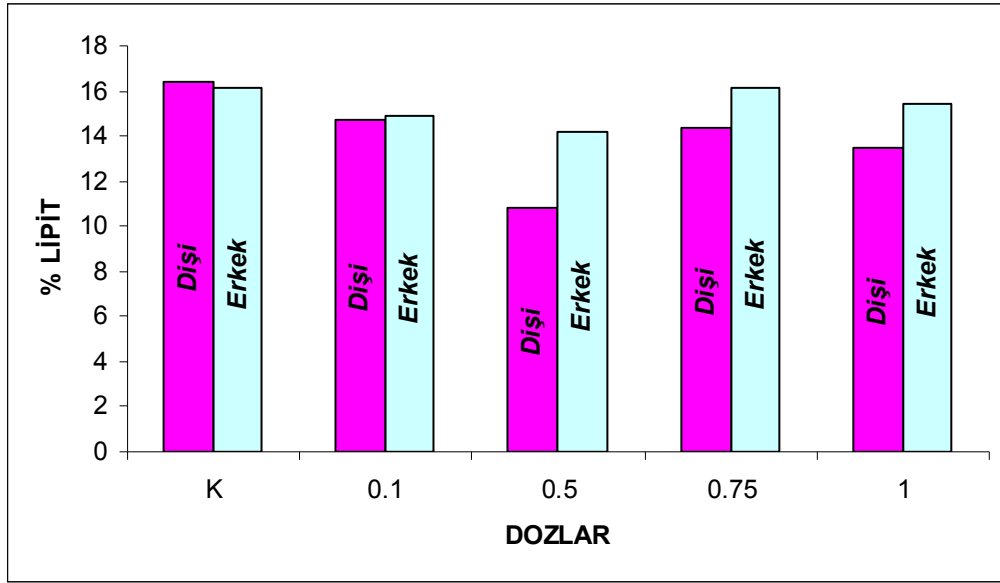


Şekil 3.3 5-Aza-dC'nin farklı dozlarında *A. galleriae* erkeklerinin lipit ve yağ asidi yüzdeleri. K; Kontrol.

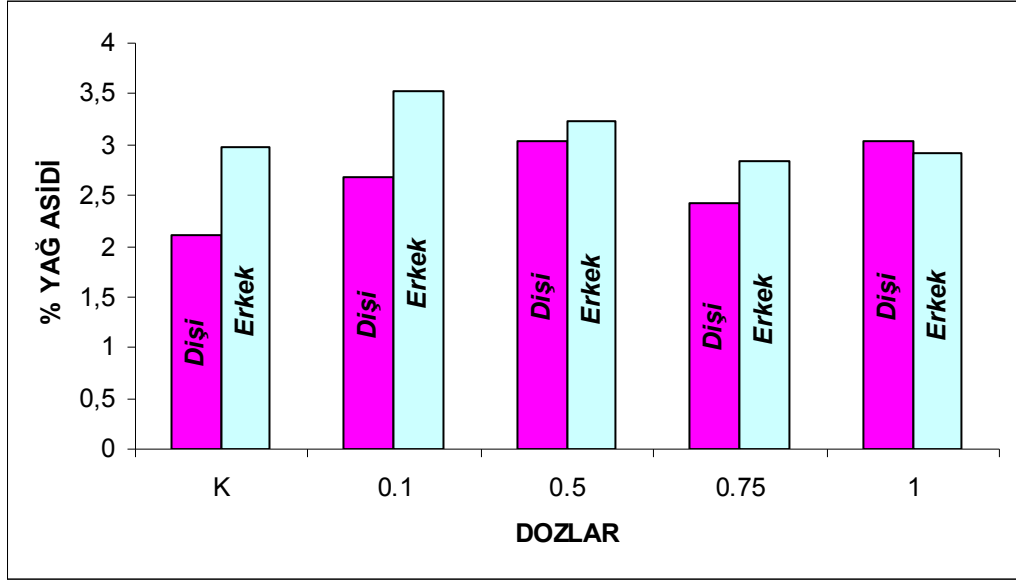


Şekil 3.4 5-Aza-dC'nin farklı dozlarında *A. galleriae* erkeklerinin lipit ve yağ asidi yüzdelerinin karşılaştırılması. K; Kontrol.

Dişi ve erkeğin lipit ve yağ asidi değerleri karşılaştırmalı olarak Şekil 3.5 ve 3.6'da verilmektedir. Kontrol ve 0.1 mg/ml madde uygulanan deney grubunda dişi ve erkeğin yüzde lipit değerleri neredeyse aynı değere sahipken diğer deney gruplarında erkeğin lipit oranının daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 3.5). Dişinin yağ asidi değeri 1 mg/ml madde uygulanan deney grubu hariç hem kontrolde hem de diğer dozlarda erkeğe göre daha azdır (Şekil 3.6).

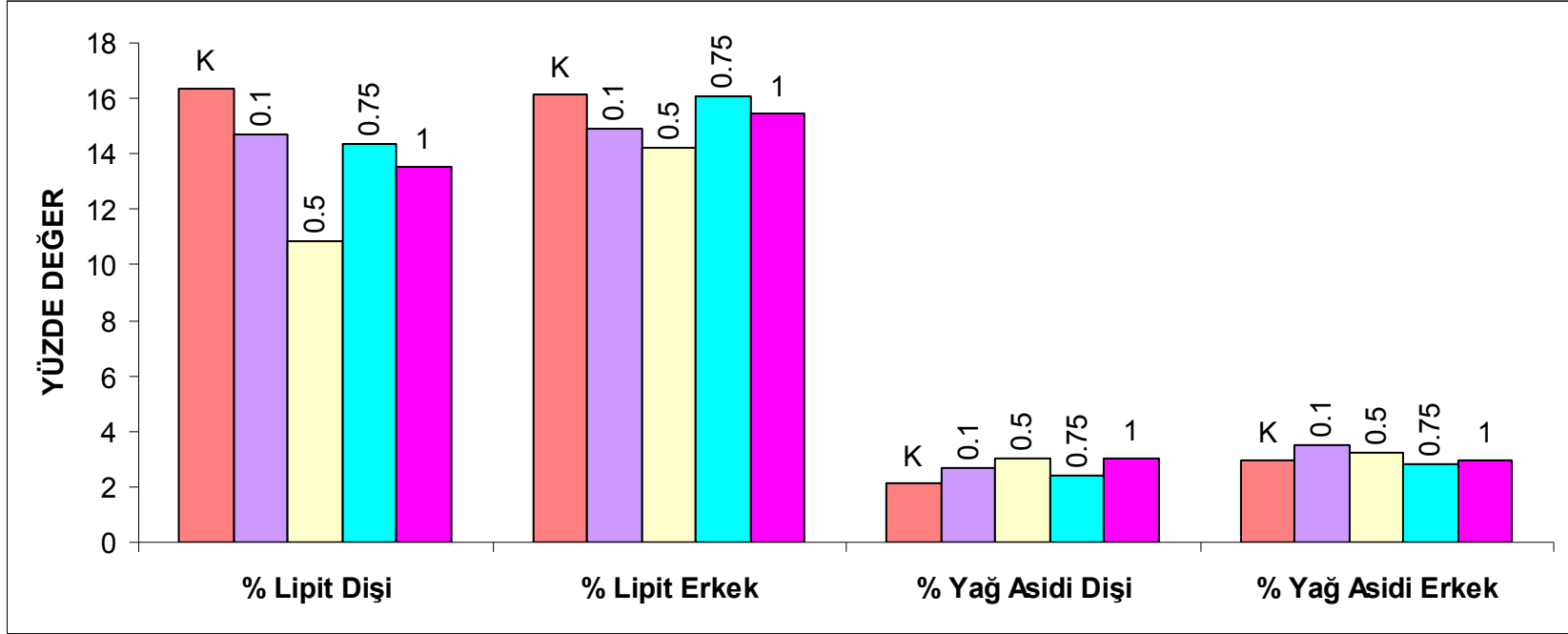


Şekil 3.5 5-Aza-dC'nin farklı dozlarında *A. galleriae* dişi ve erkeklerinin lipit yüzdeleri. K; Kontrol.



Şekil 3.6 5-Aza-dC'nin farklı dozlarında *A. galleriae* dişi ve erkeklerinin yağ asidi yüzdeleri. K; Kontrol.

Şekil 3.7'de farklı 5-Aza-dC dozlarının dişi ve erkeklerin yüzde lipit ve yağ asidi oranlarına etkisi toplu olarak verilmektedir. Erkeklerde deney gruplarının lipit miktarları kontrole göre azalma gösterse de bu azalma oranı dişilerdeki kadar belirgin değildi. Genel olarak madde uygulamasının hem dişi hem de erkeklerde yağ asidi değerlerini arttırdığı görüldü (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 *A. galleriae*'da 5-Aza-dC'nin farklı dozlarının eşeye göre yüzde lipit ve yağ asidi miktarları üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması. K; Kontrol.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Canlılar farklı genetik yapılara sahip olsalar da benzer koşullarda benzer tepkiler meydana getirebilirler. Örneğin aynı besin maddesinin ya da aynı kimyasal maddenin metabolik yolları veya parçalanma şekilleri kimyasal olarak canlı türüne göre farklılık göstermez. Çünkü her maddenin belirli bir sentez ve parçalanma süreci vardır. Bu nedenle canlılar farklı genetik ve morfolojik özelliklere sahip olsalar da kimyasal maddeler canlılar üzerinde benzer etkilere sahip olabilmektedir. Yapılan araştırmalarda 5-Aza-dC'nin hem hayvanlar hem de bitkiler üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu görülmüştür [56-58, 61]. Besin içinde verilen 5-Aza-dC'nin konak tür, *A. grisella* bireylerinde boy uzunluğunun azalması ve kıvrık kanatlı bireylerin oluşmasına sebep olduğu belirlenmiştir [61]. Ayrıca maddenin parazitoit tür, *A. galleriae*'nin ergin öncesi gelişim süresini artırdığı, ergin bireylerin boy uzunluğu, verim ve eşey oranını ise azalttığı da tespit edilmiştir [61]. Buna benzer sonuçlar çeşitli bitki türleriyle yapılan çalışmalarda da gözlenmiştir [56, 57]. Bitkilerde yapılan çalışmalarda aynı maddenin uygulanmasından sonra, *Brassica oleracea vars. botrytis, italica* ve *alboglabra*'da tohumun çimlenmesinden önce filizlenmeyi etkilediği ve morfolojik anormalliklerde artış olduğu kaydedilmiştir [58].

Gen havuzundaki bütün organizmalar farklı genetik şifrelere sahiptir. Diğer canlılarda olduğu gibi böceklerde de genler bireye özgüdür. Ancak, yaşam süreci içerisinde maruz kalınan ilaçlar, kimyasallar, pestisitler vs. genetik yapının bozulmasına ve çeşitli kanserlere neden olmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız 5-Aza-dC maddesi de canlılarda kanserojen etkilere neden olmuştur [42]. 5-AzaC ve 5-Aza-dC maddeleri DNA metiltransferaz aktivitesindeki hız, zaman ve doza bağlı olan düşüşlerde, hayvan sistemlerinde hipometile olmuş DNA sentezine izin vermektedir. Bu maddelerin sitozinin gerçek analogları olduğu ve metilasyonu inhibe eden birer demetilasyon ajanı oldukları görülmüştür [91].

5-Aza-dC uygulamasının *A. galleriae*'nın ergin bireylerinde toplam lipit miktarını kontrole göre azalttığını belirledik. Ancak bu oran dişi ve erkek bireylerde istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P>0,05$). Diğer kimyasal maddelerle yapılan çalışmalar da kimyasalların metabolizma üzerindeki olumsuz etkilerini desteklemektedir. Bir insektisit olan cypermethrinin konağa uygulanması sonucu parazitoit tür, *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera:Ichneumonidae) erkek ve dişilerinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da toplam lipit miktarlarında azalmaya neden olmuştur [87]. Değişik insektisitlere maruz kalan isopodların enerji depolarında (glikojen ve lipit) ise önemli oranda azalma tespit edilmiştir [92, 93]. *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae)'da malathion ergin dişilere topik olarak uygulandığında hemolenf, yağ doku ve oositlerde toplam lipit miktarı önemli ölçüde azalmıştır [94].

Lipitler, böceklerin enerji metabolizması için oldukça önemli bileşiklerdir [62]. Böcek gelişiminin belirli safhalarında, özellikle larval gelişim süresince ve genç erginlerde sindirilen karbohidratların büyük bir bölümü lipide dönüştürülmektedir [95]. Böceklerde metamorfozun başlangıç safhasında triaçilgliserollerin en yüksek seviyede olduğunu belirleyen bir çalışma [96] bu safhada lipit birikimi olduğunu desteklemektedir. Ayrıca, toplam lipit miktarının ergin bireylerde larva ve pup evrelerine göre artış gösterdiği de belirlenmiştir [83, 84]. Ergin dönemde lipit ihtiyacı, ergin öncesi gelişim süresince depolanan lipitlerden, besinle alınan lipitlerden ya da lipogenesis ile yeni sentezlenen lipitlerden karşılanmaktadır [97].

Deney gruplarına göre dişi ve erkek bireylerin toplam lipit değerlerini karşılaştırdığımızda, erkek bireylerde lipit oranının dişi bireylerden daha yüksek olduğu görüldü. Ancak, kontrol gruplarında dişi bireylerin lipit miktarının erkek bireylerinkinden daha fazla olduğu belirlendi (Şekil 3.5). Bunun nedeni dişilerin madde uygulanmasından daha fazla etkilenmesi olabilir. Bir diğer demetilasyon ajanı olan 5-AzaC de farklı türlerin eşeyleri üzerinde çeşitli etkilere sebep olabilmektedir. Bazı türlerin dişileri madde uygulanmasından daha fazla etkilenirken bazı türlerde ise erkekler daha fazla etkilenmektedir [55, 60, 98]. Örneğin, 5-AzaC gebe dişi farelere uygulandığında plasentanın morfolojisini etkilemektedir [98]. Bu

madde ölen ya da kalan fetuslarda herhangi bir sakatlığa neden olmamıştır. 5-AzaC uygulanan ve uygulanmayan dişilerin döllerinde herhangi bir farklılık yoktur [55]. 5-AzaC uygulanan sıçanların gebe kalma oranlarına bakıldığında ise herhangi bir farklılık bulunmamıştır. 11 hafta 5-AzaC uygulanan erkek farelerde seminifer tüp kesitlerinin bazılarında ortak anormallik olan vakuol formasyonu gözlenmiştir. Yüksek dozda 5-AzaC uygulandığında ise çok nükleuslu dev hücre formasyonu, vakuol formasyonu, üreme hücre tipinin şeklinin bozulması, üreme hücrelerinin dejenerasyonu ve bazen de tübül atrofileri görülmüştür [60].

Deney gruplarında erkek bireylerin lipit oranının dişi bireylerden fazla olmasının bir diğer sebebi de çiftleşme davranışları olabilir. Çiftleşme süresince erkekler dişileri ararken daha fazla uçma aktivitesi göstermektedir [83, 99]. Lipitler, aynı zamanda böceklerde yumurta üretiminde ve böceğin enerji ihtiyaçlarını gidermede de kullanılmaktadır. Lipitlerin dişilerde yüksek yumurta verimi için çok gerekli olduğu, buna karşılık erkeklerde de eşey feromonlarının üretiminde kullanıldığı saptanmıştır [97, 100]. Ayrıca *A. galleriae*'da preovipozisyon periyodunun olmaması [78] nedeni ile dişilerin analizden önce yumurtalarını bırakıp lipit depolarını bu sırada harcamış olabilecekleri [84] ve bu nedenle erkeklere göre lipit değerlerinin daha düşük çıkmasında etkili olabileceği söylenebilir. Omurgalılar üzerinde yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlar [101-104] madde uygulamadığımız *A. galleriae* bireylerinin toplam lipit ve yağ asidi miktarları ile benzerlik göstermektedir. Örneğin, *Cyprinus macrostomus*'un ovaryumlarından elde edilen total lipit ve yağ asidi miktarlarının testislerden elde edilen değerlerden çok yüksek olduğu bulunmuştur [101]. Bu durum dişi balıkların gonat gelişimi ve yumurta oluşturması için erkeklerden daha fazla lipide gerek duyduklarını göstermektedir. Ovaryumda lipit oranının yüksek oluşu, lipitlerin yumurtaların embriyonik gelişiminde gerek yapısal gerekse enerji açısından önemli rol oynaması nedeniyledir [102–104]. Sonuç olarak omurgasız ve omurgalı canlılarda lipitler yumurta oluşumu açısından büyük önem taşımaktadır.

A. galleriae'nin dişi bireylerinde yağ asidi değerlerinin kontrole göre arttığı belirlendi (Şekil 3.1). Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P>0,05$). Erkek bireylerde ise 0.1 ve 0.5 mg/ml dozlarında artış kaydedilirken 0.75 ve 1 mg/ml

dozlarında azalma görüldü (Şekil 3.3). Bu artış ve azalma da istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P>0,05$). Ayrıca, bu değişimlerin 5-Aza-dC'den bağımsız olduğu kaydedildi. Yapılan bir başka çalışmada 5-Aza-dC uygulanan *A. galleriae* erkeklerinin genel olarak dişilerden daha uzun yaşadığı, ancak tüm gruplarda aynı sonucun gözlenmesi doğrultusunda bu maddenin eşeye bağlı bir etki yapmadığı belirlenmiştir [61]. 5-Aza-dC için intraperitoneal (i.p.) maksimum tolere edilen doz canlılarda akciğer tümörleriyle yapılan deneylerle belirlenmiştir. Ancak yapılan deneyler sonucunda bu maddenin uygulanmasıyla hiçbir hayvanın ölmediği gözlenmiştir [42]. Bireylerde, toksisitenin olmadığı buna karşılık vücut ağırlığının kaybı, abdominal ödem, şiddetli saç kaybı ya da paraliz/zayıflığa neden olduğu açıkça belirtilmiştir [42]. Bu çalışmalar deneylerimizde kullandığımız maddenin canlılar üzerinde olumsuz etkileri olduğunu göstermektedir.

Biyokimyasal özellikler çok sayıda stres faktörünün subletal konsantrasyonlarına karşı çok duyarlıdır. Ancak uygun biyokimyasal sistemler incelenmiyorsa yapılan deney sonucunda herhangi bir değişiklik gözlenemeyebilir. Bu nedenle organizmanın stres altında olduğuna karar vermek için genel özelliklerin (glukoz, glikojen, protein, lipit vb.) incelenmesi tercih edilir [1, 105-109]. Kimyasal maddelerin metabolizma üzerindeki etkileri böcek türüne, evre/eşeye, kimyasal maddenin çeşidine ve incelenen biyokimyasal özelliğe göre büyük oranda değişiklik göstermektedir [108-110]. Konak besinine uyguladığımız 5-Aza-dC, *A. galleriae* dişi ve erkek bireylerinin lipit ve yağ asidi değerlerinde doza bağlı olarak anlamlı değişikliklere neden olmadı. Bu durum maddenin etkisini toplam lipit ve yağ asidi değerleri üzerinde değil, böceğin yağ asidi bileşimleri üzerinde gösteriyor olmasından kaynaklanabilir. 5-Aza-dC maddesi ile ilgili çalışmalar daha yoğun olarak omurgalılar üzerinde yapılmıştır [42, 49, 50, 52-54]. Omurgasızlar ile yapılan çalışmalar ise yok denecek kadar az olduğundan [48, 61] sonuçlarımızı daha ayrıntılı olarak tartışmak mümkün olmamaktadır. Bununla beraber, 5-Aza-dC ve buna benzer maddelerin her bir yağ asidi grubu için etkilerinin incelendiği ve çalışmamızı tamamlayıcı nitelikteki araştırmalar 5-Aza-dC'nin böcekler üzerindeki etkilerini daha iyi anlamamızı sağlayacaktır. Ayrıca elde ettiğimiz sonuçların böcek biyokimyası ve fizyolojisi ile ilgili çalışmalara ışık tutacağı düşüncesindeyiz.

5. KAYNAKLAR

- [1] Sancho, E., Ferrando, M.D., Fernández, C. and Andreu, E., “Liver energy metabolism of *Anguilla anguilla* after exposure to fenitrothion”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **41**, (1998) 168-175.
- [2] Hillocks, R.J., “Integrated management of insect pests, diseases and weeds of cotton in Africa”, *Integrated Pest Management Reviews*, **1**, (1995) 31-47
- [3] Wells, M.L., McPherson, R.M., Ruberson, J.R. and Herzog, G.A., “Coccinellids in cotton: population response to pesticide application and feeding response to cotton aphids (Homoptera: Aphididae)”, *Environ. Entomol.*, **30(4)**, (2001) 785-793.
- [4] Rosen, D., Biological Control. In: Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology, ed. Kerkut, G.A., Gilbert, L.I., 12, Pergamon Press, New York, (1985) 413-464.
- [5] Simmons, A.M., Abd-Rabou, S. and Mccutcheon, G.S., “Incidence of parasitoids and parasitism of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in numerous crops”, *Environ. Entomol.*, **31(6)**, (2002) 1030-1036.
- [6] Gülel, A., “Studies on the biology of the *Dibrachys boarmiae* (Walker) (Hymen.; Pteromalidae) parasitic on *Galleria mellonella* L.”, *Z. Ang. Ent.*, **94**, (1982) 138-149.
- [7] Driesche, R.G., “Field measurement of population recruitment of *Apanteles glomeratus* (L.) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Pieris rapae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae), and factors influencing adult parasitoid foraging success in kale”, *Bull. ent. Res.*, **78**, (1988) 199-208.

- [8] 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)**, (1990) 1096-1101.
- [9] Bin, F., Vinson, S.B., Strand, M.R., Colazza, S. and Jones, W.A., "Source of an egg kairomone for *Trissolcus basalus*, a parasitoid of *Nezara viridula*", *Physiological Entomology*, **18**, (1993) 7-15.
- [10] Obrycki, J.J. and Kring, T.J., "Predaceous Coccinellidae in biological control", *Annu. Rev. Entomol.*, **43**, (1998) 295-321.
- [11] Wells, M.L., McPherson, R.M., Ruberson, J.R. and Herzog, G.A., "Effect of fungicide application on activity of *Neozygites fresenii* (Entomophthorales: Neozygitaceae) and cotton aphid (Homoptera: Aphididae) suppression", *J. Econ. Entomol.*, **93(4)**, (2000) 1118-1126.
- [12] 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)**, (2001a) 14-20.
- [13] Mansfield, S. and Mills, N.J., "Host egg characteristics, physiological host range, and parasitism following inundative releases of *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in walnut orchards", *Environ. Entomol.*, **31(4)**, (2002) 723-731.
- [14] Charlet, L.D., "Parasitization of the red sunflower seed weevil (Coleoptera: Curculionidae) by its larval parasitoid *Triaspis aequoris* (Hymenoptera: Braconidae) in cultivated sunflower", *Environ. Entomol.*, **31(5)**, (2002) 844-851.

- [15] Andow, D.A., Ragdale, D.W. and Nyvall, R.F., “Ecological interactions and biological control”, Westview Press, Colorado, (1997).
- [16] Uçkan, F. and Gülel, A., “Age-related fecundity and sex ratio variation in *Apanteles galleriae* (Hym., Braconidae) and host effect on fecundity and sex ratio of its hyperparasitoid *Dibrachys boarmiae* (Hym., Pteromalidae)”, *J. Appl. Ent.*, **126(10)**, (2002) 534-537.
- [17] Faulds, W., “*Spread of Bracon phylacteophagus*, a biocontrol agent of *Phylacteophaga froggatti*, and impact on host”, *New Zealand Journal of Forestry Science*, **21 (2/3)**, (1991) 185.
- [18] Hassel, M.P. and Waage, J.K., “Host-parasitoid population interactions”, *Ann. Rev. Entomol.*, **28**, (1984) 89.
- [19] Greathead, D.J. and Waage, J.K., “Opportunities for biological control of agricultural pests in developing countries”, World Bank Technical Paper, Number 11, The World Bank, Washington, D.C., U.S.A., (1983) 1.
- [20] Vinson, S.B., *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, ed. Vinson, S.B., 9, Pergamon Press, New York, (1985) 417.
- [21] Doutt, R.L., “The biology of parasitic hymenoptera”, *Ann. Rev. Entomol.*, **4**, (1959) 161.
- [22] Vinson, S.B. and Iwantsch, G.F., “Host suitability for insect parasitoids”, *Ann. Rev. Entomol.*, **25**, (1980) 397
- [23] Godfray, H.C.J., *Parasitoids-Behavioral and Evolutionary Ecology*, Princeton University Press, New Jersey, (1994).
- [24] Hirashima, Y., Miura, K., Miura, T. and Matsuda, S., “Studies on the biological control of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus),

functional responses of the egg-parasitoids *Trichogramma ostrinae* to host densities”, *Sci. Bull. Fac. Agr.*, Kyushu Univ., (1990) 89.

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

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

[27] Vinson, S.B., “Host selection by insect parasitoids”, *Ann. Rev. Entomol.*, **21**, (1976) 109.

[28] Van Alphen, J.J.M. and Visser, M.E., “Superparasitism as an adaptive strategy for insect parasitoids”, *Ann. Rev. Entomol.*, **35**, (1990) 59.

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

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

[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)**, (1991) 571.

[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)**, (1999a) 601-608.

- [33] Bin, F., Vinson, S.B., Strand, M.R., Calazza, S. and Jones, W.A., “Source of an egg kairomone for *Trissolcus basalus*, a parasitoid of *Nezera viridula*”, *Physiological Entomology*, **18**, (1983) 7.
- [34] Brower, J.H. and Press, J.W., “Interactions between the egg parasite *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera;Trichogrammatidae) and a predator, *Xyloris flavipes* (Hemiptera; Anthocoridae) of the Almond moth, *Carda cautella* (Lepidoptera; Pyralidae)”, *J. Entomol. Sci*, **23 (4)**, (1988) 342.
- [35] 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)**, (1990) 588.
- [36] Obrycki, J.J., Tauber, M.J. and Tauber, C.A., “*Perilitus coccinellae* (Hymenoptera;Braconidae) parasitization and development in relation to host-stage attacked, *Ann. Entomol.Soc. Am.*, **78(6)**, (1985) 852.
- [37] Riechert, S.E., and Lockley, T., “Spiders as biological control agents”, *Ann. Rev. Entomol.*,**29**, (1984) 299.
- [38] Klug, W.S. ve Cummings, M.R., Genetik Kavramlar, (çeviri editörü: Öner, C.), Palme Yayıncılık, Ankara, 2002, 816s.
- [39] Delgado, S., Gomez, M., Bird, A. and Antequera, F., “Initiation of DNA replication at CpG islands in mammalian chromosomes”, *EMBO J.* **17(8)**, (1998) 2426-35.
- [40] Ferguson, A.T., Vertino, P.M., Spitzner, J.R., Baylin, S.B., Muller, M.T. and Davidson, N.E., “Role of Estrogen Reseptor Gene Demethylation and DNA Methyltransferase DNA Adduct Formation in 5-Aza-dC Induced Cytotoxicity in Human Breast Cancer Cells”, *The Journal of Biological Chemistry*, (1997) 32260-32265.

- [41] Christman, J.K., “5-Azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation: mechanistic studies and their implications for cancer therapy”, *Oncogene* **21**, (2002) 5483-5495.
- [42] Lantry, L.E., Zhang, Z., Crist, A.K., Wang, Y., Kelloff, G.J., Lubet, A.R. and You, M., “5-Aza-dC is Chemopreventive in a 4-(methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone Induced Primary Mouse Lung Tumor Model”, *Carcinogenesis*, (1999) 1-9.
- [43] Piskala, A. and Sorm, F., *Collect Czech Chem. Commun*, **29**, (1964) 2060-2076.
- [44] Flatau, E., Gonzales, F.A., Michalowsky, L.A. and Jones, P.A., “DNA methylation in 5-aza-2'-deoxycytidine-resistant variants of C3H 10T1/2 Cl8 cells”, *Molecular and Cellular Biology*, **4**, (1984) 2098-2102.
- [45] Momparler, R.L., Rossi, M., Bouchard, J., Vaccaro, C., Momparler, L.F. and Bartolucci, S., “Kinetic interaction of 5-AZA-2'-deoxycytidine-5'-monophosphate and its 5'-triphosphate with deoxycytidylate deaminase”, *Molecular pharmacology* (1984), **25(3)**, 436-40.
- [46] Jones, P.A., “Altering gene expression with 5-azacytidine” *Cell*, **40**, (1985) 485-486.
- [47] Holliday, R., and Ho, T., “Gene silencing in mammalian cells by uptake of 5-methyl deoxycytidine-5'-triphosphate” *Somatic Cell and Molecular Genetics*, **17**, (1991) 537-542.
- [48] Osgood, C.J. and Seward, S.M., “5-azacytidine induces sex chromosome loss and interchange in immature germ cells of *Drosophila mei-9* males” *Environ. Mol. Mutagen*, **14**, (1989) 135-145.

- [49] Van Groeningen, C.J., Leyva, A., O'Brien, A.M., Gall, H.E. and Pinedo, H.M., "Phase I and pharmacokinetic study of 5-aza-2'-deoxycytidine (NSC127716) in cancer patients", *Cancer Res.*, **46**, (1986) 4831–4836.
- [50] Pinto, A. and Zagonel, V., "5-Aza-2'-deoxycytidine (Decitabine) and 5-azacytidine in the treatment of acute myeloid leukemias and myelodysplastic syndromes: past, present, and future trends", *Leukemia*, **1**, (1993) 51–60.
- [51] Carr, B.I., Garrett-Reilly, J., Smith, S.S., Winberg, C. and Riggs. A. D., "The tumorigenicity of 5-azacytidine in the male Fischer rat" *Carcinogenesis*, **5**, (1984) 1583-1590.
- [52] Herman, J.G., Merlo, A., Mao, L., Lapidus, R.R., Issa, J. P., Davidson, N. E., Sidransky, D. and Baylin,S.B., "Inactivation of the CDKN2/p16MTS1 gene is frequently associated with aberrant DNA methylation in all common human cancers", *Cancer Res*, **55**, (1995) 4525-4530.
- [53] Otterson, G.A., Khleif, S.N., Chen, W., Coxon, A.B. and Kaye, F.J., "2CDKN2 gene silencing in lung cancer by DNA hypermethylation and kinetics of p16INK4 protein induction by 5-aza-2'-deoxycytidine", *Oncogene*, **11**, (1995) 1211-1216.
- [54] Jackson-Grusby, L., Laird, P.W., Magge, S.N., Moeller, B.J., Jaenisch, R., "Mutagenicity of 5-aza-2'-deoxycytidine is mediated by the mammalian DNA methyltransferase", *PNAS*, **94**, (1997)4681-4685.
- [55] Yuan, X.J., Dixon-McCarthy, B., Kunz, H.W., and Gill. T.J., "Role of methylation in placental major histocompatibility complex antigen expression and fetal loss", *Biol. Reprod*, **51**, (1994) 831-842.
- [56] Prakash, A.P., and Kumar, P.P., "Inhibition of shoot induction by 5-azacytidine and 5-Aza-2'-deoxycytidine in *Petunia* involves DNA hypomethylation", *Plant Cell Reports*, **16**, (1997) 719-724.

- [57] Brown, P.T.H., "DNA methylation in plants and its role in tissue culture" *Genome*, **31**, (1989) 717-729.
- [58] King, G.K., "Morphological development in *Brassica oleracea* is modulated by in vivo treatment with 5-azacytidine", *J. Hort Sci*, **79**, (1995) 333-342.
- [59] Schauenstein, K., Csordas, A., Krömer, G., Dietrich, H. and Wick, G., "In-vivo treatment with 5-azacytidine causes degeneration of central lymphatic organs and induces autoimmune disease in the chicken, *Int. J. Exp. Path*, **72**, (1991) 311-318.
- [60] Doerksen, T., Benoit, G. and Trasler, J.M., "Deoxyribonucleic acid hypomethylation of male germ cells by mitotic and meiotic exposure to 5-azacytidine is associated with altered testicular histology", *Endocrinology*, **141**, (2000) 3235-3244.
- [61] Uçkan, F., Şengül, H.Ş., Sak, O. and Korkmaz, M., "Effects of 5-Aza-2'deoxyctidine on Biological Parameters of Larval Endoparasitoid *Apanteles galleriae* (Hymenoptera: Braconidae) and on Its Host *Achoria grisella* (Lepidoptera: Pyralidae)", *Ann. Entomol. Soc. Am*, **100**, (2007) 265-269.
- [62] Stanley-Samuelson, D.W., Jurenka, R.A., Cripps, C., Blomquist, G.J. and DeRenobles, M., "Fatty acids in insects: composition, metabolism, and biological significance", *Arch. Insect Biochem. Physiol*, **9**, (1988) 1-33.
- [63] Downer, R.G.H. and Matthews, J.R., "Patterns of lipid distribution and utilization in insects", *Am. Zool*, **16**, (1976) 733-745.
- [64] Beenackers, A.M.T., Van der Horst, D.J. and Van Marrewijk, J.A., "Insect lipids and lipoproteins and their role in physiological processes", *Prog. Lipid Res*, **24**, (1985) 19-67.

- [65] Downer, R.G.H., Lipid metabolism. In G. A. Kerkut and L. I. Gilbert (eds.), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 10. Pergamon, Oxford, England, (1985) p.77-113.
- [66] Guerra, A.A. and Robacker, D.C., “Effects of sex, age, and diet on the triacylglycerol fatty acid composition of subtropical boll weevils, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae)”, *J. Agric. Food Chem*, **37**, (1989) 796-799.
- [67] Cohen, A.C., “Fatty acid distributions as related to adult age, sex and diet in the phytophagous heteropteran, *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae)”, *J. Entomol. Sci*, **25**, (1990) 75-84.
- [68] Itoyama, K., Tojo, S., Yanagita, T. and Hardie, J., “Lipid composition in long-day and short-day forms of the black bean aphid, *Aphis fabae*”, *J. Insect Physiol*, **46**, (2000) 119-125.
- [69] Bozkuş, K., “Phospholipid and triacylglycerol fatty acid compositions from various development stages of *Melanogryllus desertus* Pall. (Orthoptera: Gryllidae)”, *Tr. J. Biol*, **27**, (2003) 73-78.
- [70] Thompson, S.N., “Biochemical and physiological effects of metazoan endoparasites on their host species”, *Comp. Biochem. Pyhsiol*, **74B**, (1983) 183-211.
- [71] Thompson, S.N., “Redirection of host metabolism and effects on parasite nutrition. In N.E. Beckage, S.N. Thompson and B.A.Federici (eds.), *Parasites. Parasites and Pathogens of Insects*”, Academic Press, New York, USA (1993).
- [72] Thompson, S.N. and Barlow, J.S., “The fatty acid composition of parasitic hymenoptera and its possible biological significance”, *Ann. Entomol. Soc. Am*, **67**, (1974) 627-63.

- [73] Shimamori, K., “On the biology of *Apanteles galleriae*, a parasite of the two species of wax moths”, *Honeybee Science*, **8**, (1987) 107-112.
- [74] Watanabe, C., “Occurrence of *Apanteles galleriae* (Hymenoptera: Braconidae), a parasite of wax moth in Japan”, *Kontyû*, **55**, (1987) 165-168.
- [75] Whitfield, J.B., Cameron, S.A., Ramirez, S.R., Roesch, K., Messinger, S., Taylor, O.M. and Cole, D., “Review of the *Apanteles* species (Hymenoptera: Braconidae) attacking lepidoptera in *Bombus* (*Fervidobombus*) (Hymenoptera: Apidae) colonies in the new world, with description of a new species from South Africa”, *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **94**, (2001) 851-857.
- [76] Uçkan, F. and Gülel, A., “*Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera; Braconidae)’nin bazı biyolojik özelliklerine konak türün etkileri”, *Tr. J. of Zoology*, **24** (Ek Sayı), (2000) 105 - 113
- [77] Uçkan, F., Erken evre larva endoparazitoiti *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera; Braconidae)’nin iki konak Lepidoptera türü ile etkileşimleri, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Samsun (1996).
- [78] Uçkan, F. ve Gülel, A., “*Apanteles galleriae* Wilkinson (Hym.; Braconidae)’nın verim ve eşey oranına, parazitoit-dişi eşdeğeri konak sayısındaki artışın etkileri”, *BAÜ Fen Bil. Enst. Derg.*, **1**, (1999) 16-25.
- [79] Verma, S.C., Raj, D., Devi, N., Srivastava, S., “Biology of *Apanteles galleriae* Wilkinson parasitising larvae of wax moths (*Galleria mellonella* Linn. and *Achroia grisella* Fabr.)”, *J. Ent. Res.*, **21**, (1997) 361-364.

- [80] Uçkan, F. and Ergin, E., “Effect of host diet on the immature developmental time, fecundity, sex ratio, adult longevity, and size of *Apanteles galleria* (Hymenoptera: Braconidae)”, *Environ. Entomol.*, **31**, (2002) 168-171.
- [81] Uçkan, F. and Ergin, E., “Temperature and food source effects on adult longevity of *Apanteles galleria* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae)”, *Environ. Entomol.*, **32**, (2003) 441-446.
- [82] Uçkan, F., Ergin, E., Ayaz, F., “Modelling age and density structured reproductive biology and seasonal survival of *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hym., Braconidae)”, *J. App. Entomol.*, **128**, (2004) 407-413.
- [83] Uçkan, F., Nurullahoğlu, Z.Ü., Sak, O., Öztürk, R., *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae) ve Parazitlenmiş Konağı *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)’nın Toplam Lipit Ve Yağ Asidi Bileşimleri, XIX. Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran (2008), Trabzon.
- [84] Nurullahoğlu, Z.Ü., Uçkan, F., Sak, O., Ergin, E., “Total lipid and fatty acid composition of *Apanteles galleriae* and its parasitized host”, *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **97**, (2004) 1000-1006.
- [85] Ergin, E., Er, A., Uçkan, F. and Rivers, D.B., “Effect of Cypermethrin Exposed Hosts on Egg-Adult Development Time, Number of Offspring, Sex Ratio, Longevity, and Size of *Apanteles galleriae* Wilkinson (Hymenoptera : Braconidae)”, *Belg. J. Zool.*, **137**, (2007) 27-31.
- [86] Bronskill, J.F., “A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae)”, *J. Lep. Soc.*, **15(2)**, (1961) 102-104.

- [87] Sak, O., Uçkan, F. and Ergin, E., “Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae)”, *Belgian J. Zool*, **136**, (2006) 53-58.
- [88] Folch, J., Lees, M. and Sloane Stanley, G.H., “A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues”, *J. Biol. Chem.*, **226**, (1957) 497-509.
- [89] SPSS Inc. SPSS 10.0 statics. SPSS, Chicago, IL, (1999).
- [90] Sokal, R.R. and Rohlf. F.J., *Biometry*. Freeman, San Francisco,CA. (1995)
- [91] Creusot, F., Acs, G., Christman, J.K., “Inhibitions of DNA Methyltransferase and Induction of Friend Erythro leukemia Cell Differentiation by 5-Azad and 5-Aza-dC”, *J. Biology Chemistry*, (1982), 2041-2048.
- [92] Vink, K., Dewi, L., Bedaux, J., Tompot, M.H. and Van Straalen, N.M., “The importance of the exposure route when testing the toxicity of pesticides to saprotrophic isopods”, *Environ. Toxicol. Chem.*, 14, (1995) 1225-1232.
- [93] Ribeiro, S., Sousa, J.P., Nogueira, A.J.A. and Soares, A.M.V.M., “Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the terrestrial isopod *Porcellio dilatatus*”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **49**, (2001)131-138.
- [94] Lohar, M.K. and Wright, D.J., “Changes in the lipid content in the haemolymph, fat body and oocytes of malathion treated *Tenebrio molitor* L. adult females”, *Pakistan Journal of Zoology*, **25(1)**, (1993) 57-60.

- [95] Candy, D.J., Intermediary Metabolism. In: Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology, ed. Kerkut, G.A., Gilbert, L.I., 10, Pergamon Press, New York, (1985), p. 1-41.
- [96] Garcia, R., Megias, A. and Municio, A.M., "Biosynthesis of neutral lipids by mitochondria and microsomes during development of insects", *Comp. Biochem. Physiol.*, **65B**, (1980) 13-23.
- [97] Giron, D. and Casas, J., "Lipogenesis in adult Parasitic Wasp. *J. Insect Physiol.*, **49**, (2003) 141-147.
- [98] Craek Kustel, V., Ester, K. and Stipic, J., "Role of retionic acid and DNA methylation in differentiation of Mammalian embryo in vitro.", *Periodicum Biologorum*, (2002), 55-66.
- [99] Candy, D.J. and Kilby, B.A., *Insect Biochemistry and Function*, Chapman and Hall, London, UK, (1975).
- [100] Kumar, D., Misiura, A. and Singn, A.K., "Stage and sex dependent changes in the lipid profile of *Psyderrous koenigii* (Heteroptera: Pyrrhocoridae) during development", *Internati. J. Trop. Insect. Sci.*, **24(3)**, (2004) 236-241.
- [101] Metin, K. ve Akpınar, M.A., "*Cyprinion macrostomus* (HECKEL,1843)'un gonatlarında total lipit ve yağ asidi miktarının mevsimsel değişimi", *Tübitak*, **24**, (2000) 627-634.
- [102] Jangaard, P.M., Ackman, R.G. and Sipos, J.C., "Seasonal changes in fatty acid composition of cod liver, flesh, roe and milt lipids", *J. Fish. Res. Bd. Can.* **24(3)**, (1967) 613-627.

- [103] Diana, J.S. and Mackay, W.C., "Timing and magnitude of energy deposition and loss in the body, liver and gonads of northern pike (*Esox lucius*)", *J. Fish. Res. Board Can.*, **36**, (1979) 481-487.
- [104] Akpınar, M.A., "Ergin olmayan ve ergin sazanların (*Cyprinus carpio* L.) gonatlarında total lipid değişimi", *C.Ü. Fen- Ed. Fak. Fen Bil. Derg.* **5**, (1987)173-190.
- [105] Bischof, C., "Effects of heavy metal stress on carbohydrate and lipid concentrations in the haemolymph and total body tissue of parasitized *Lymantria dispar* L. larvae (Lepidoptera)", *Comp. Biochem. Physiol.*, **112C(1)**, (1995a) 87-92.
- [106] 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)**, (1991) 93-100.
- [107] Ortel, J., "Metal-supplemented diets alter carbohydrate levels in tissue and hemolymph of gypsy moth larvae (*Lymantria dispar*, Lymantriidae, Lepidoptera", *Environmental Toxicology and Chemistry*, **15(7)**, (1996) 1171-1176.
- [108] Shakoori, A.R. and Saleem, M.A., "Some macromolecular abnormalities developed by the interaction of malathion and permethrin and subsequent refeeding in *Tribolium castaneum* larvae", *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **11(4)**, (1989) 203-215.
- [109] Mandal, D. and Chaudhuri, D.K., "Studies on carbohydrate, protein and lipid levels in normal and stress conditions in fat body and integument as compared to whole body during development of rice moth, *Corcyra cephalonica* (St.)", *Insect Science and its Application*, **13(1)**, (1992) 121-128.
- [110] Shakoori, A.R., Malik, M.Z. and Saleem, M.A., "Toxicity of Karate to malathion-resistant Pakistan strain of red flour beetle (*Tribolium castaneum*) adults", *Pakistan Journal of Zoology*, **25(3)**, (1993) 261-271.