

***Eurydema blandum* (Horvath, 1903), *Aelia rostrata* (Boheman, 1852) ve
Eurydema ventrale (Kolenati, 1846) (Heteroptera: Pentatomidae)'NİN
EMBRİYONİK GELİŞİM EVRELERİ VE ERGİNLERİNİN TOTAL
PROTEİN VE ESTERAZLARININ ELEKTROFORETİK ANALİZİ**

Gülay ÖZEL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HAZİRAN 2007
ANKARA**

Gülay ÖZEL tarafından hazırlanan *Eurydema blandum* (Horvath, 1903), *Aelia rostrata* (Boheman, 1852) ve *Eurydema ventrale* (Kolenati, 1846) (Heteroptera: Pentatomidae)'NİN EMBRİYONİK GELİŞİM EVRELERİ VE ERGİNLERİNİN TOTAL PROTEİN VE ESTERAZLARININ ELEKTROFORETİK ANALİZİ adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Yrd. Doç. Dr. Selami CANDAN

Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: : Prof. Dr. Zekiye SULUDERE

Üye : Prof. Dr. Yusuf KALENDER

Üye : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

Üye : Doç. Dr. Reyhan VERİMLİ ÇOLAK

Üye : Yrd. Doç. Dr. Selami CANDAN

Tarih : 25/06/2007

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Gülay ÖZEL

Eurydema blandum (Horvath, 1903), *Aelia rostrata* (Boheman, 1852) ve *Eurydema ventrale* (Kolenati, 1846) (Heteroptera: Pentatomidae)'NİN EMBRİYONİK GELİŞİM EVRELERİ VE ERGİNLERİNİN TOTAL PROTEİN VE ESTERAZLARININ ELEKTROFORETİK ANALİZİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Gülay ÖZEL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2007

ÖZET

Bu çalışmada Heteroptera takımına ait Pentatomidae familyasından *Eurydema blandum*, *Aelia rostrata* ve *Eurydema ventrale*'nin yumurta-ergin gelişimi boyunca 1-5 günlük yumurta ile 1-5. evre nimfleri ve erginlerinin tüm vücut homojenatlarında total protein ve esterase enzimindeki gelişimsel değişiklikler, total proteinler sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile esterase enzimi Native –PAGE ile incelenmiştir.

SDS-PAGE jellerinde *E. blandum*'un yumurtalarında 13-17, nimflerinde 4-14 ve erginlerinde 5; *A. rostrata*'nın yumurtalarında 10-13, nimflerinde 5-10, erginlerinde 10; *E. ventrale*'nin yumurtalarında 12-14, nimflerinde 5-15, erginlerinde 5 protein fraksiyonu belirlenmiştir. Her üç türde de evrelere özgü olarak niteliksel ve niceliksel değişimler gözlenmiştir. Native-PAGE ile *E. blandum*'un yumurtalarında alfa naftil asetat substratı ile 1-3, nimflerinde 2-13 ve erginlerinde 8 esterase aktivite bandı gözlenirken, *A. rostrata*'nın yumurtalarında alfa naftil asetat substratı ile 3-5, nimflerinde 4-11 ve erginlerinde 13 esterase aktivite bandı ve *E. ventrale*'nin yumurtalarında alfa naftil asetat substratı ile 2-3, nimflerinde 4-15 ve erginlerinde 14 esterase aktivite

bandı gözlenmiştir. Her üç türde gelişimin farklı evrelerinde esteraz aktivite yoğunluğunda varyasyonlar gözlenmiştir.

Bilim Kodu : 203.1.105
Anahtar Kelimeler : *Eurydema, Aelia*, protein, esteraz, gelişim, elektroforez
Sayfa Adedi : 62
Tez Yöneticisi : Yrd. Doç. Dr. Selami CANDAN

**ELECTROFORETIC ANALYSIS OF TOTAL PROTEINS AND ESTERASES
IN ADULTS AND EMBRYOGENESIS DEVELOPMENT STAGES OF
Eurydema blandum (Horvath, 1903), *Aelia rostrata* (Boheman, 1852) and
Eurydema ventrale (Kolenati, 1846) (Heteroptera: Pentatomidae)**

(M.Sc. Thesis)

Gülay ÖZEL

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

June 2007

ABSTRACT

In this study, developmental changes in total proteins of 1-5 days eggs, whole body homogenates of 1-5 nymphal stages and adults during egg-adult morphogenesis of *Eurydema blandum*, *Aelia rostrata* ve *Eurydema ventrale* from Pentatomidae family belong to Heteroptera were studied using sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and esterase enzymes with Native-PAGE.

In SDS-polyacrylamide gels, there were 13–17 protein fractions in eggs of *E. blandum*, 4-14 in nymphes and 5 in adults, 10-13 protein fractions in eggs of *A. rostarata*, 5-10 in nymphes and 10 in adults, while 12-14 protein fractions in eggs of *E. ventrale*, 5-15 in nymphes and 5 in adults. Stage-specific qualitative and quantitative changes were observed. Using alfa-naphthyl acetate substrate in native gels, 1-3 esterase bands in eggs of *E. blandum* were observed, 2-13 in nymphes and 8 in adults, while 3-5 esterase bands in eggs *A. rostarata*, 4-11 in nymphes and 13 in adults, 2-3 esterase bands in eggs of *E. ventrale*, 4-15 in nymphes and 14 in adults. Whole species have variations in esterase activity

density in different developmental stages.

Science Code : 203.1.105
Key Words : *Eurydema*, *Aelia*, protein, esterase, development, electrophoresis
Page Number : 62
Adviser : Assist. Prof. Dr. Selami CANDAN

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, çok büyük ilgi ve desteklerini gördüğüm, bilgi, deneyim ve görüşlerinden yararlandığım, güler yüzünü benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Selami CANDAN'a ve laboratuvar çalışmalarım da yardımcı olan A. Ü. Fen Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Reyhan ÇOLAK'a, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım hocalarım Sayın Prof. Dr. Zekiye SULUDERE ve Doç. Dr. Yusuf KALENDER'e, bölümümüzdeki laboratuvar çalışmalarım da bana yardımcı olan Araş. Gör. Meltem UZUNHİSARCIKLI, Araş. Gör. Ayşe ÖĞÜTÜCÜ ve Araş. Gör. Fatma AÇIKGÖZ'e, jel çalışmalarım da, fotoğraf çekiminde ve çizimlerimde bana yardımcı olan Gül OLGUN'a ve bana daima destek olan aileme; en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOD.....	7
2.1. Böceklerin Araziden Yakalanması.....	7
2.2. Böceklerin Laboratuvar Ortamında Yetiştirilmesi.....	7
2.3. SDS-PAGE Metodu.....	14
2.4. Native-PAGE Metodu.....	15
2.4.1. Esteraz enzimi boyama metodu.....	15
3. HETEROPTERA: PENTATOMIDAE HAKKINDA GENEL BİLGİ.....	17
3.1. Türler Hakkında Genel Bilgi.....	17
3.1.1. <i>Eurydema ventrale</i> ve <i>Eurydema blandum</i>	17
3.1.2. <i>Aelia rostrata</i>	18
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	19
4.1. SDS-PAGE Metodu İle Total Protein Analizi.....	19

Sayfa

4.1.1. <i>Eurydema blandum</i> 'un gelişim evrelerindeki total proteinlerin elektroforetik analizi.	19
4.1.2. <i>Aelia rostrata</i> 'nın gelişim evrelerindeki total proteinlerin elektroforetik analizi.....	24
4.1.3. <i>Eurydema ventrale</i> 'nin gelişim evrelerindeki total proteinlerin elektroforetik analizleri.....	29
4.2. Native- PAGE Metodu İle Esteraz İzozimlerinin Analizi.....	34
4.2.1. <i>Eurydema blandum</i> 'un gelişim evrelerindeki esteraz izozimlerinin Native-PAGE metodu ile analizi.....	34
4.2.2. <i>Aelia rostrata</i> 'nın gelişim evrelerindeki esteraz izozimlerinin Native-PAGE metodu ile analizi.....	39
4.2.3. <i>Eurydema ventrale</i> 'nin gelişim evrelerindeki esteraz izozimlerinin Native-PAGE metodu ile analizi.....	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	62

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. <i>Eurydema blandum</i> 'un yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ergin (M) bireylerin total proteinlerinin ve markerın (MK) SDS-PAGE çizimleri	21
Çizelge 4.2. <i>Eurydema blandum</i> 'un yumurta-ergin morfogenezi boyunca SDS-PAGE metodu ile açığa çıkan total protein bantlarının gelişimsel evrelere göre dağılımı.....	22
Çizelge 4.3. <i>Eurydema blandum</i> 'un yumurta-ergin morfogenezi boyunca farklı gelişimsel evrelerinde SDS-PAGE metodu ile açığa çıkartılan protein bant sayıları.....	23
Çizelge 4.4. <i>Aelia rostrata</i> 'nın yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerin total proteinlerininve markerın (MK) SDS-PAGE çizimleri.....	26
Çizelge.4.5. <i>Aelia rostrata</i> 'nın yumurta-ergin morfogenezi boyunca SDS-PAGE metodu ile açığa çıkan total protein bantlarının gelişimsel evrelere göre dağılımı.....	27
Çizelge.4.6. <i>Aelia rostrata</i> 'nın yumurta-ergin morfogenezi boyunca farklı gelişimsel evrelerinde SDS-PAGE metodu ile açığa çıkartılan protein bant sayıları.....	28
Çizelge 4.7. <i>Eurydema ventrale</i> 'nin yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerin total proteinlerinin ve markerın (MK) SDS-PAGE çizimleri.....	31
Çizelge 4.8. <i>Eurydema ventrale</i> 'nin yumurta-ergin morfogenezi boyunca SDS-PAGE metodu ile açığa çıkan total protein bantlarının gelişimsel evrelere göre dağılımı.....	32
Çizelge 4.9. <i>Eurydema ventrale</i> 'nin yumurta-ergin morfogenezi boyunca farklı gelişimsel evrelerinde SDS-PAGE metodu ile açığa çıkartılan protein bant sayıları.....	33
Çizelge 4.10. <i>Eurydema blandum</i> 'un yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerinin esterez enzimlerinin Native-PAGE çizimleri.....	37

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.11. <i>Eurydema blandum</i> 'un yumurta-ergin morfogenezi boyunca farklı gelişimsel evrelerinde Native-PAGE metodu ile açığa çıkartılan esteraz bant sayıları.....	38
Çizelge 4.12. <i>Aelia rostrata</i> 'nın yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerinin esteraz enzimlerinin Native-PAGE çizimleri.....	42
Çizelge 4.13. <i>Aelia rostrata</i> 'nın yumurta-ergin morfogenezi boyunca farklı gelişimsel evrelerinde Native-PAGE metodu ile açığa çıkartılan esteraz bant sayıları.....	43
Çizelge 4.14. <i>Eurydema ventrale</i> 'nin yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerinin esteraz enzimlerinin Native-PAGE çizimleri.....	47
Çizelge 4.15. <i>Eurydema ventrale</i> 'nin yumurta-ergin morfogenezi boyunca farklı gelişimsel evrelerinde Native-PAGE metodu ile açığa çıkartılan esteraz bant sayıları.....	48

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>E. blandum</i> ve <i>E. ventrale</i> 'nin laboratuvar ortamında yetiştirilmesi.....	8
Resim 2.2. <i>A. rostrata</i> 'nın laboratuvar ortamında yetiştirilmesi.....	9
Resim 2.3. <i>E. blandum</i> 'un yumurta kümesinin ışık mikroskobu altındaki görünüşü.....	9
Resim 2.4. <i>E. ventrale</i> 'nin yumurta kümesinin ışık mikroskobu altındaki görünüşü.....	10
Resim 2.5. <i>A. rostrata</i> 'nın yumurta kümesinin ışık mikroskobu altındaki görünüşü.....	10
Resim 2.6. <i>E. blandum</i> , <i>A. rostrata</i> ve <i>E. ventrale</i> 'nin bıraktıkları yumurtalarının embriyonik gelişimlerini tamamladıkları petri kapları.....	11
Resim 2.7. <i>E. blandum</i> 'un yumurtalarından yeni çıkan nimfleri.....	11
Resim 2.8. <i>E. ventrale</i> 'nin yumurtalarından yeni çıkan nimfleri.....	12
Resim 2.9. <i>A. rostrata</i> 'nın yumurtalarından yeni çıkan nimfler.....	12
Resim 2.10. <i>E. ventrale</i> nimfinin gömlek atarken görüntüsü.....	13
Resim 2.11. <i>E. blandum</i> , <i>A. rostrata</i> ve <i>E. ventrale</i> nimflerinin yetiştikleri ağzı tülbentle kaplı plastik kutular.....	13
Resim 4.1. <i>Eurydema blandum</i> 'un yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerin total proteinlerinin ve markerın (MK) SDS-PAGE profilleri.....	21
Resim 4.2. <i>Aelia rostrata</i> 'nın yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerin total proteinlerinin ve markerın (MK) SDS-PAGE profilleri.....	25
Resim 4.3. <i>Eurydema ventrale</i> 'nin yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerin total proteinlerinin ve markerın (MK) SDS-PAGE profilleri.....	30

Resim	Sayfa
Resim 4.4. <i>Eurydema blandum</i> 'un yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireyelerinin esteraz enzimlerinin Native-PAGE zimogramı.....	36
Resim 4.5. <i>Aelia rostrata</i> 'nın yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireyelerinin esteraz enzimlerinin Native-PAGE zimogramı.....	41
Resim 4.6. <i>Eurydema ventrale</i> 'nin yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireyelerinin esteraz enzimlerinin Native-PAGE zimogramı.....	46

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Esteraz izozimlerini boyama metodundaki reaksiyonun şematik gösterimi.....	17

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada bazı simgeler ve kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

Native-PAGE

Native-Poliakrilamid Jel Elektroforezi

rpm

Devir/dakika

SDS-PAGE

Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi

Kısaltmalar

Açıklama

Est

Esteraz

JH

Jüvenil Hormon

JHE

Jüvenil Hormon Esteraz

Pr

Protein

SDS

Sodyum Dodesil Sülfat

1. GİRİŞ

Dünyada meydana gelen hızlı gelişmeler bir takım sorunları da beraberinde getirmiştir ki bunların başında kullanılabilen tarım alanlarının azalması ve açlık sorunu gelmekte bunun sonucunda yeryüzünde birçok ülkede özellikle Orta Asya ve Afrika bölgelerindeki insanlar açlıktan ölmektedir. Açlık sorunun ortaya çıkması ile tarımsal ürünlerde verimliliğin artırılmasının yanı sıra bütün tarımsal ürünlerde çeşitli nedenlerle ortaya çıkan kayıpların en aza indirilmesi için gerekli araştırmaların hızlandırılması gereği ortaya çıkmaktadır.

Çiçekli bitkilerin yaklaşık 2/3'ü tozlaşma için böceklere gereksinim duymaktadır. Bu nedenle böcekler ekolojik açıdan büyük bir öneme sahiptirler. Fakat yaklaşık 10.000 kadar böcek türü insanlar için bir sorun oluşturmaktadır. Bunların bitkilere ve dolayısıyla insanlara vermiş olduğu zararlar tahmin edilemeyecek kadar büyüktür. Dünyadaki mahsulün yaklaşık 1/3'ü bu hayvanlar tarafından yok edilmektedir. Özellikle tarım alanlardaki bu ürün kaybının önüne geçilmesi açısından tarımsal ürünlere zarar veren böceklerle mücadele edilmesi gerekmektedir [1].

Önemli bir hububat zararlısı olan Heteroptera ordosuna ait kımlıl (*Aelia rostrata*), Türkiye genelinde Orta, Doğu ve özellikle Güneydoğu Anadolu bölgesinde lokalize olmuştur. Salgın yaptığı yıllarda büyük ürün kayıplarına neden olmuştur. Zararlıya karşı yapılan kimyasal mücadeleye karşı zararlının direnç geliştirdiği ve popülasyonunu küçültmesi beklenirken canlının popülasyonunun genişlediği ve popülasyonun etken maddeye karşı direnç geliştirdiği belirlenmiştir [2-4].

Hububat zararlısı olan diğer bir tür ise, Heteroptera ordosuna ait sünedir (*Eurygaster integriceps*). Bu zararlı Doğu ve Güneydoğu Anadolu ile Akdeniz bölgesinde lokalize olmuştur ve yine bu böcek ile yapılan kimyasal mücadeleler de başarılı olunamamıştır [5, 6].

Genel olarak Heteroptera ordosunun Pentatomidae familyasının üyelerine ait türlerin çoğunluğu ekonomik öneme sahip olup dünyada ve ülkemizde zaman zaman

populasyon yoğunluğunu artırarak tarım alanlarında oldukça fazla zarara sebep olmaktadır. Bu böceklerin çoğunluğu fitofag olup, üzerinde yaşadıkları bitkilerin meyve, sap, çiçek, tohum, yaprak ve sürgünlerinin öz suyunu emerek bitkilerin kurumasına, tohumlarda çimlenme kabiliyetlerinin azalmasına, ürün kalitesinin düşmesine ve ürün kaybına neden olmaktadır. Bu böceklerin dünya ve ülkemiz ekonomisi açısından son derece önemli yer tutan tahıl bitkileri, fındık, pamuk, tütün, pirinç, baklagiller, kültür bitkileri ve meyve bahçelerinde oldukça fazla zarar yaptıkları birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur. Bu konuda yapılan çalışmalar geniş alanlarda ilaçlı mücadele yapılmasına karşın, zararlının mücadele alanının giderek genişlediğini ve ilaçlı mücadele ile salgınların önlenemeyeceği gibi bu tür uygulamaların bir takım sorunları da beraberinde getirdiğini göstermiştir [7-8].

Böceklerle yapılan mücadelede çeşitli araştırmacılar tarafından denen metotlar arasında insektisitler, parazitler, juvenoidler, kimyasal kısırlaştırıcılar (kemosterilant) ve beslenmeyi engelleyici maddelerin kullanılması sayılabilir. Son yıllarda bu mücadele metotlarının yanı sıra biyolojik mücadele metotlarına yönelme başlamıştır. Kullanılan bütün bu metotların etkileri, genellikle böceklerin bıraktıkları yumurta sayısı ve yumurtaların açılma oranındaki azalma ile ölçülmektedir.

Zirai mücadele yöntemleri zararlının larva, nimf ve erginleri üzerinde yapılmaktadır. Böceklerin bir yumurtlama döneminde çok sayıda yumurta bıraktıkları göz önünde bulundurulursa, zararlının yumurtaları üzerine etki edecek insektisitlerin, pestisidlerin ve biyoinspektisitlerin kullanılması ile yapılacak mücadele daha etkili olacaktır. Fakat böcek yumurtaları üzerine uygulanacak mücadele de yumurtaların morfolojik yapıları ile ince yapılarının bilinmesi ayrıca böceklerin yumurta bırakma koşullarının, yumurta bıraktıkları bölgelerin, yumurta bırakma dönemlerinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Bunun yanı sıra böceklerin farklı gelişimsel evrelerindeki moleküler özelliklerinin de bilinmesi biyolojik mücadeleye yardımcı olabilecektir. Bundan dolayı farklı gelişim evrelerindeki protein ve enzimlerin incelenmesi faydalı olacaktır [7].

Böcek proteinlerinin karakterizasyon çalışması, enzimatik aktivitesi çeşitli araştırmacılar tarafından yapılmıştır. Bunun yanı sıra taksonomik amaçlı olarak,

gelişimsel evrelerin protein özelliklerinin karşılaştırılması ve protein kompozisyonunda meydana gelen değişimler çalışılmıştır [9-14].

Culicoides variipennis'de (Diptera: Ceratopogonidae) yumurtadan ergine kadar devam eden gelişim sürecindeki böcekte meydana gelen değişimler elektroforetik olarak incelenmiş ve gelişim boyunca ortaya çıkan protein bantlarında meydana gelen değişimler belirlenmişlerdir [15].

Rhodnius prolixus'un (Hem.) embriyonik gelişimindeki protein örgülerinde meydana gelen niteliksel ve niceliksel değişimler elektroforetik ve immünolojik tekniklerle incelenmiştir [16].

Oncopeltus fasciatus (Hem.) ve *Galleria mellonella*'nın (Lep.) gelişiminin çeşitli evrelerindeki hemolenf ve yağ dokusu proteinlerinin SDS-PAGE yöntemiyle karşılaştırılması ve çeşitli evrelerdeki larva ve nimflerin protein özelliklerinde meydana gelen niteliksel ve niceliksel değişimler belirlenmiştir [14].

Riptortus clavatus'un (Heteroptera: Alydidae) nimflerinin hemolenf ve yumurtasındaki biliverdin bağlayan siyanoproteinlerin karakterizasyonunu yapmıştır [17].

Hemimetabol böceklerin yumurta, nimf ve ergin evreye kadar devam eden gelişim sürecinin takip edilmesi, gelişim esnasında ortaya çıkan evre veya evrelere özgü proteinlerin morfogenetik özelliklerle ilgili olmasından dolayı önemlidir. Hemimetabol böceklerin nimfal evrelerinin holometabol böceklerin pupal evrelerine karşılık geldiği deneysel kanıt olmaksızın düşünülmektedir. Böylece gerek hemimetabol böceğin nimfal gelişiminde ortaya çıkan protein özellikleri gerekse holometabol böceklerin larval, pupal evrelerinde ortaya çıkan protein özelliklerinin böceklerin morfogenetik özellikleri hakkında bilgi verecektir [14].

Metamorfoz geçiren böcek larvasının hücrelerindeki moleküler değişimler hücrede meydana gelen metabolik aktivitelerdeki ve hücredeki birtakım değişimleri

göstermektedir. Bu şekilde moleküler ve yapısal özelliklerdeki değişimler farklı böcek dokularında, böceğin farklı dokularında ve dokunun farklı hücrelerinde değişiklik göstermektedir. Bunun yanı sıra böceğin metamorfoz esnasında ve metamorfozdan önce hücresel boyutta meydana gelen değişimlerinin belirlenmesi ve bu esnadaki kontrol mekanizmaları hakkında bilgi edinmekte mümkündür. Bu şekilde zararlılarla mücadelede yeni yöntemlerin ortaya çıkması açısından önem sağlamaktadır [14, 18, 19].

Böceklerde esteraz enzimi üzerinde yapılan çalışmalarda böceğin dokularındaki esteraz enzimi incelenmiş ve hatta karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

O. fasciatus'un embriyo ve genç nimflerinin formalinle fiske edilen dokuları ile yapılan çalışmada; doku kesitlerinin histokimyasal yöntemlerle boyanmasıyla üç grup esterazın dokularındaki dağılımı gösterilmiştir [20]

Başka bir çalışmada ise histokimyasal yöntemle dokudaki total esteraz aktivitesinin bir kısmının belirlenebileceği ortaya konmuştur [21].

Nişasta jel elektroforez yöntemiyle yapılan bir çalışmada; *O. fasciatus*'un 1-5 günlük yumurtalarında ve bir günlük nimflerinin gelişim sırasında esterazlarındaki niteliksel ve niceliksel farklılıkları tespit edilmiştir [22].

Nişasta jel elektroforez yöntemi kullanılarak böceklerin dokularındaki esteraz enzimleri incelenmiş ve bu bulgulara göre çok sayıda esteraz bandı belirlenmiştir [10, 11, 23].

Zararlı böceklerle yapılan mücadelede kullanılan kimyasal ilaçlara karşı böceklerin direnç geliştirdikleri ortaya konmaktadır. Özellikle bazı Heteropterlerdeki pestisitlere karşı gösterilen direnç mekanizmalarını açıklamaya yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Böceklerin kimyasal mücadelede kullanılan insektisitlere karşı geliştirdikleri direnç etkeni olarak asetilkolin esteraz aktivitesi olarak gösterilmektedir [24-28].

Bemisia argentifolii (Homoptera: Aleyrodidae) beyazsineği ile bir pestisid olan bifentrine duyarlı ve dirençli ırklarıyla yapılan çalışmada esteraz sayısı ve yoğunluğunda farklılıklar olduğunu tespit etmiştir [29].

Culex sineklerinde ve *Myzus persicae* afidinde yapılan çalışmalarda esteraz genlerinin amplifiye olması sonucunda insektisit moleküllerinin hidrolize olduğu ve insektisit direncinin arttığı belirlenmiştir. Bu şekilde dirençli ev sineği popülasyonlarının büyük bölümünde non-spesifik esterazlar görülmüştür. Yine yapılan çalışmalarda tahıl zararlılarının dirençli nesillerinde de esteraz seviyesinin yükseldiği ortaya konmuştur [30-33].

Birçok böceğin larva ve erginlerinin dokularında ve hemolefinde tanımlanmış olan juvenil hormon esteraz (JHE) juvenil hormonunu (JH) parçalayan katabolik bir enzimdir. JHE biyokimyasal bir anti-juvenil hormon ajanıdır. Anti-JH ajanları böcek gelişimini kontrol etmektedir. JH sentezini ve JH-reseptör interaksiyonlarını bloke etmekte etkilidir. JHE biyolojik şartlar altında hormonu hidrolize etmektedir. Bu yüzden JHE erginleşmemiş genç larvalara sokulursa, JH aktif olduğunda enzim JH'ü parçalayarak morfolojik ve fizyolojik antijuvenil hormon etkilere neden olabilir [34-36].

Hemimetabol bir böcek olan *Oncopeltus fasciatus* 'un yumurta evreleri ve 1. evre nimflerinin esteraz özellikleri başka araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur. Ayrıca Heteropterlerden *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae) ve *Graphosoma lineatum* (Heteroptera: Pentatomidae)'nın farklı gelişim evrelerindeki total proteinlerin ve esterazların elektroforetik analizi yapılmıştır. Aynı zamanda bahsi geçen bir çok çalışmada görüldüğü gibi holometabol ve hemimetabol olan gelişim sürecindeki çeşitli böceklerin gerek proteinleri gerekse esteraz enzimleri incelenmiştir [22, 37]

Yapılan literatür taramalarında gerek ülkemizde gerekse dünyada *Eurydema blandum*, *Eurydema ventrale* ve *Aelia rostrata* (Heteroptera)'nin total protein ve esteraz enzimi üzerinde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma ile

karakterizasyon ve insektisit etkisi gibi yapılacak çeşitli çalışmalar için; doğal populasyonundan alınan ve laboratuvar ortamında yetiştirilen *Eurydema* cinsi (*E. blandum*, *E. ventrale*) ve *Aelia* cinsi'nin (*A. rostrata*) gelişimsel evrelerinin total protein ve esteraz profillerinin ortaya çıkarılması ile bu çalışmalara temel teşkil etmesi ve yumurtadan ergine kadarki gelişim süreci boyunca farklı gelişimsel evrelerde meydana gelen total protein ve esteraz enzimlerinde meydana gelen bir takım miktar ve yoğunluk değişimleri incelenerek böcek gelişimi boyunca ortaya çıkan gen ifadesindeki farklılıkların tespit edilmesi hedeflemiştir. Bunun yanında laboratuvar ortamında yetiştirilen *E. blandum*, *E. ventrale* ve *A. rostrata*'nın gelişim süresince sentezledikleri esteraz ve total proteinlerinin kıyaslanması yapılmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2. 1. Böceklerin Araziden Yakalanması

Çalışmada kullanılan *E. blandum*'un ve *E. ventrale*'nin erginleri 2005 Nisan-Mayıs aylarında Ankara Yenimahalle Biyologlar Ormanı ve civarından toplanmıştır. Böcekler besin bitkisi olarak *Diplotaxis tenuifolia* (Cruciferae) verilmiştir. Yine bu çalışmada kullanılan *Aelia rostrata* erginleri ise Aksaray civarından 2005 Mayıs ayında toplanarak getirilmiştir ve besin bitkisi olarak Graminae sp. bitkileri verilmiştir.

2. 2. Böceklerin Laboratuvar Ortamında Yetiştirilmesi

Laboratuvar ortamına getirilen böcekler laboratuvarda plastik kavanozlarda, uzun gün periyodunda, oda sıcaklığında ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) yetiştirilmiştir. Yaklaşık 50 dişi ve 50 erkek böcek yetiştirme kavanozlarına bırakılarak bu kavanozlara temiz, ıslak pamuk, bir miktar besin bitkisi ve böceğin yumurtlaması için beyaz tülbentler bırakılmıştır (Bkz. Resim 2.1, Resim 2.2). Böceklerin bıraktıkları yumurta kümeleri petri kaplarının içlerine alınarak toplama saati ve tarihi kaydedilmiştir (Bkz. Resim 2.6). Yumurta gelişimlerini petri kutularında tamamlayan embriyolar yumurtadan çıktıktan sonra içlerinde besin bitkileri, ıslak pamuk ve ağzına tülbent kapatılmış olan plastik kaplara bırakılmıştır. Bu kaplarda nimfal gelişimlerini tamamlayarak ergin hale gelmişlerdir. Her bir türün gelişim evrelerine girme tarihleri kaydedilmiştir (Bkz. Resim 2.11)

Deneyleerde kullanılacak yumurtalar, nimfler ve ergin böcekler aşağıda gösterilmiş olan zaman sürelerinde toplanarak -30°C 'de buzdolabında saklanmıştır.

A. Yeni bırakılmış yumurtalar bir saat içerisinde (Yeni yumurta)

B. 1-5 günlük yumurtalar toplandıkları saatlerde (1günlük yumurta, 2 günlük yumurta, 3 günlük yumurta, 4 günlük yumurta, 5 günlük yumurta) (Bkz. Resim 2.3-Resim 2.5)

- C. Yumurtadan yeni çıkan nimfler yumurtadan çıkışlarından çıkışlarından itibaren 1-2 saat içerisinde (Yeni nimf) (Bkz. Resim 2.7-Resim 2.9)
- D. 1 günlük nimfler yumurtadan çıkışlarından 24 saat sonra (1. evre nimf)
- E. 1. evre nimfler kabuk attıktan 24 saat sonra (2. evre nimf) (Bkz. Resim 2.10)
- F. 2. evre nimfler kabuk attıktan 24 saat sonra (3. evre nimf)
- G. 3. evre nimfler kabuk attıktan 24 saat sonra (4. evre nimf)
- H. 4. evre nimfler kabuk attıktan 24 saat sonra (5. evre nimf)
- I. 5. evre nimfler kabuk attıktan 24 saat sonra (Ergin).



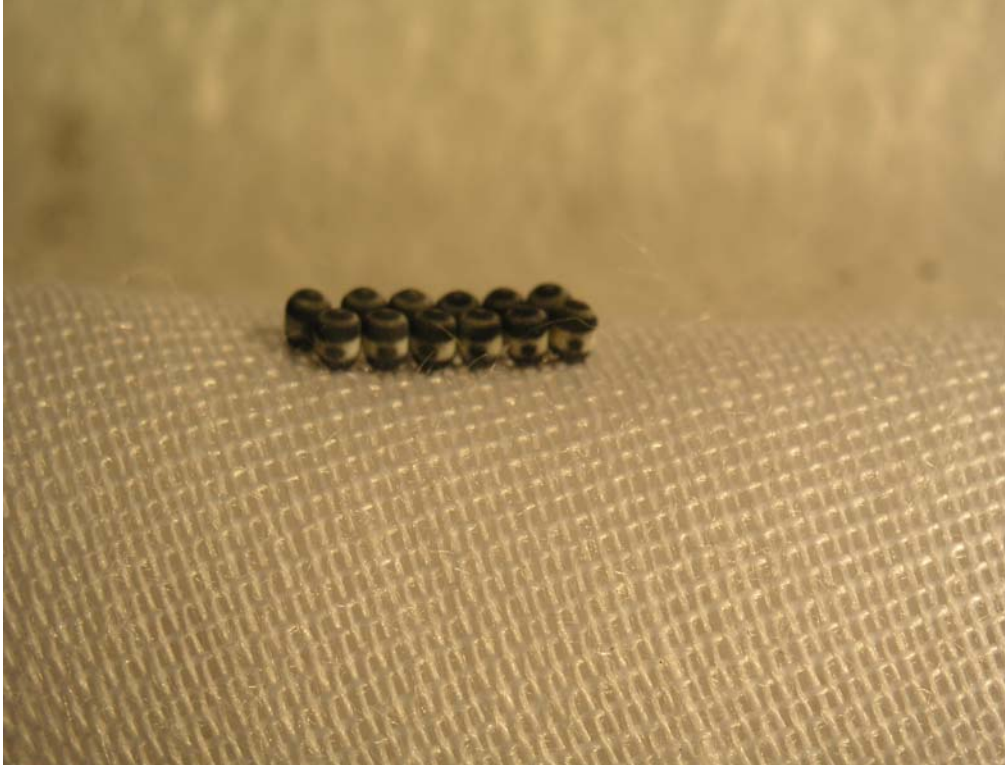
Resim 2.1. *E. blandum* ve *E. ventrale* 'nin erginlerinin laboratuvar ortamında yetiştirilmesi [38]



Resim 2.2. *A. rostrata* 'nın laboratuvar ortamında yetiştirildiği plastik kaplar [38]



Resim 2.3. *E. blandum* 'un yumurta kümesinin ışık mikroskobu altındaki görünüşü [7]



Resim 2.4. *E. ventrale* 'nin yumurta kümesinin ışık mikroskobu altındaki görünüşü [38]



Resim 2.5. *A. rostrata* 'nın yumurta kümesinin ışık mikroskobu altında görünüşü [38]



Resim 2.6. *E. blandum*, *A. rostrata* ve *E. ventrale*'nin bıraktıkları yumurtalarının embriyonik gelişimlerini tamamladıkları petri kutuları [38]



Resim 2.7. *E. blandum*'un yumurtalarından yeni çıkan nimfleri [7]



Resim 2.8. *E. ventrale*'nin yumurtalarından yeni çıkan nimfleri [7]



Resim 2.9. *A. rostrata*'nın yumurtalarından yeni çıkan nimfler [38]



Resim 2.10. *E.ventrale* nimfinin gömlek atarken görüntüsü [38]



Resim 2.11. *E.blandum*, *A. rostrata* ve *E.ventrale* 'nin nimflerinin yetiştikleri ağzı tülbentle kaplı plastik kutular [38]

2.3. SDS-PAGE Metodu

SDS-PAGE yönteminde kullanılacak olan ve daha öncesinde toplanan *Eurydema blandum*, *Eurydema ventrale* ve *Aelia rostrata*'nın yumurta, nimf ve erginleri -30 °C'den çıkarılmıştır ve hemen örnek tamponu (0,0625 M Tris-Cl, pH: 6,8, %2 SDS, %10 Gliserol, %52 Merkaptöentanol ve %0,001 bromfenol mavisi) içinde homojenize edilmiştir. Örnekler 3 dakika kaynatılıp denatüre edilmiştir. Elektroforezden önce örnekler 12 000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Elektroforez işlemi için, Consort E 863 model vertical slab jel elektroforez cihazı kullanılmıştır. SDS- poliakrilamid denatüre jeller, ayırma jeli %7,5'luk ve yığma jeli %4'lük konsantrasyonda hazırlanmıştır. Elektrot tampon solüsyonu 0,025 M Tris, 0,192 M Glisin, %1 SDS pH: 8,3 olacak şekilde hazırlanmıştır. Jele yüklenecek protein miktarı semikantitatif olarak belirlenmiştir. Molekül ağırlığı belirleyicisi olarak; karbonik anhidraz (29 000), yumurta albumini (45 000), inek albumini (66 000), fosforilaz B (97 400), beta-galaktosidaz (116 000) ve miyozin (205 000)'den oluşan Sigma MW-SDS-200 kullanılmıştır. Yığma jeline 80 V sabit voltaj uygulanmış, izleme boyası ayırma jeline ulaşıncaya voltaj 150 V olarak ayarlanmıştır. Elektroforezden sonra jeller metanol: su: asetik asit (45:45:10) karışımında %0,25 Coomassie Brilliant Blue R 250 ile bir gece boyanmıştır. Jeller metanol:su:asetik asit (45:45:10) ile yıkanmıştır. Jelde gözlenen protein bantlarının fotoğrafları çekilip çizimleri yapılarak değerlendirilmiştir [39-41].

2.4. Native-PAGE Metodu

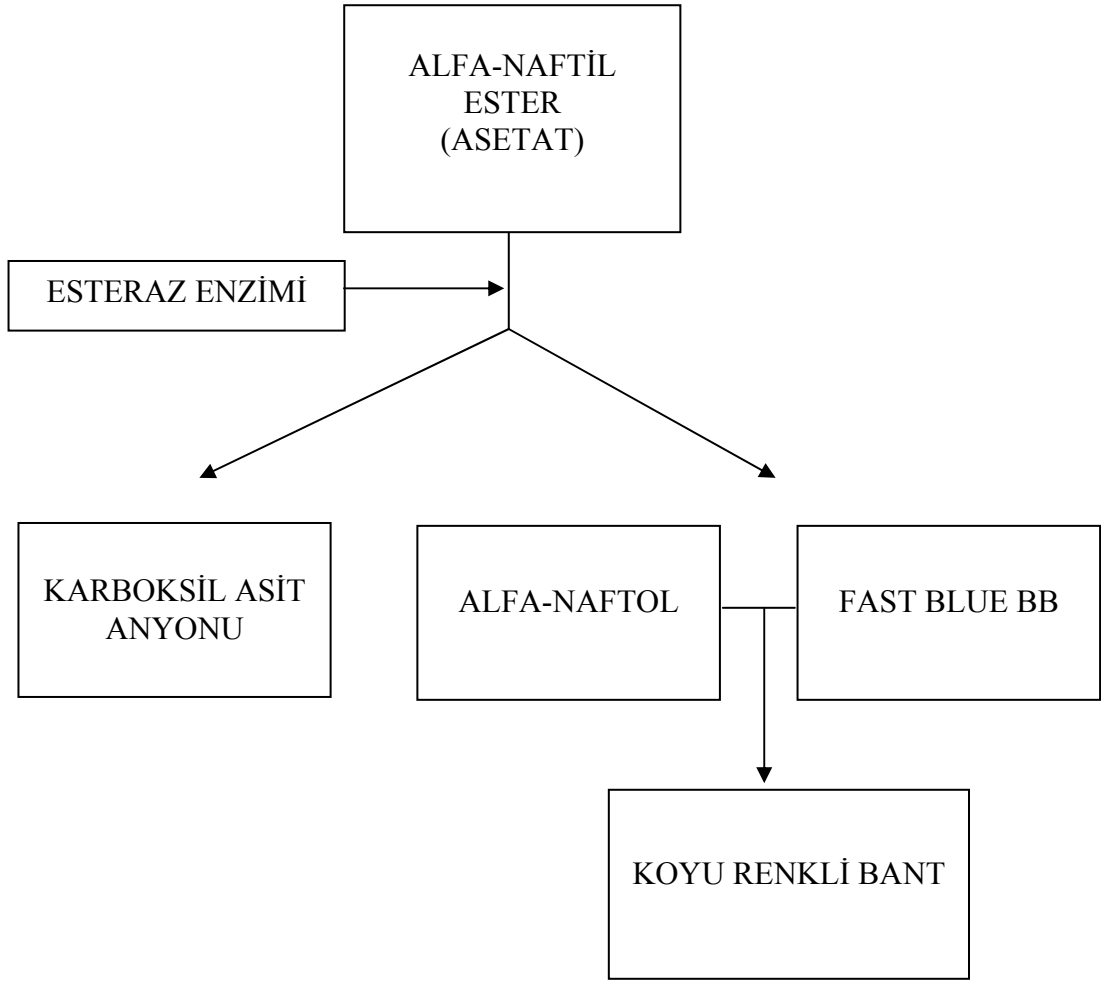
Çalıştığımız türlerde daha önce anlattığımız gibi toplamış olduğumuz yumurta, nimf ve erginler soğuk distile su içerisinde homojenize edilmiştir. Daha sonra her örnek %10'luk sükröz+boya (BFB) karışımı ile 1:1 oranında karıştırılmıştır. Örnekler elektroforezden önce 12 000 rpm'de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Elektroforez işlemi için, Consort E 863 model vertical slab jel elektroforez cihazı kullanılmıştır. Native-poliakrilamid jeller, %7.5'luk ayırma jeli olarak hazırlanmıştır. Elektrot tampon solüsyonu 0,025 M Tris, 0,192 M Glisin pH: 8,3 olacak şekilde hazırlanmıştır. Jele her bir örnekten 15 mikrolitre yüklenmiştir.

Ayırma jeline 150 V sabit voltaj uygulanmıştır. Elektroforezden sonra jeller 0.2 M Tris-HCl, pH: 7.0, alfa naftil asetat solüsyonu ve Fast Blue BB salt ile boyanmıştır. Jeller aktivite bantları gözlemlendikten sonra fiksatife [metanol: asetik asit: su (45:45:50)] alınmıştır. Jelde gözlenen esteraz bantlarının fotoğrafları çekilip çizimleri yapılarak değerlendirilmiştir [27, 40, 42].

2.4.1. Esteraz enzimi boyama metodu

Esteraz izozimleri elektroforez çalışmalarında floresan ve renkli boya oluşturacak şekilde çeşitli yöntemlerle boyanmaktadır.

40 mg Fast Blue BB içeren 100 ml 0,05 M pH: 6,5 olan fosfat tamponuyla %1'lik alfa naftil asetatın stok solüsyonundan (% 1'lik alfa naftil asetat %50'lik asetonda hazırlanır) 4 ml çözelti karıştırılarak boya çözelti jel üzerine dökülür. 15-20 dakikadan sonra koyu renkli bantlar görülmeye başlar (Bkz. Şekil 2.1) [43].



Şekil 2.1. Esteraz izozimlerini boyama metodundaki reaksiyonun şematik gösterimi [43].

3. HETEROPTERA: PENTATOMIDAE HAKKINDA GENEL BİLGİ

Yeryüzünde 58 Familyaya bağlı 40.000 kadar türü bilinen Heteroptera takımı, Pterygota alt sınıfının, Exopterygota bölümünün en geniş grubunu oluşturmaktadır. Türlerin çoğunluğu tropik bölgelerde bulunmakla birlikte, diğer zoocoğrafik bölgelerde de bulunmaktadır.

Heteroptera takımı içerisinde yer alan Pentatomidae familyası gerek tür sayısının fazla oluşu, gerekse, yeryüzünde geniş bir alanda yayılış göstermeleri bakımından önemli bir yer tutmaktadır [44].

Bu familyaya ait türlerin çoğunluğu ekonomik öneme sahip olup dünyada ve ülkemizde zaman zaman popülasyon yoğunluğunu artırarak tarım alanlarında oldukça fazla zarara sebep olmaktadır. Bu böceklerin çoğunluğu fitofag olup, üzerinde yaşadıkları bitkilerin meyve, sap, çiçek, tohum, yaprak ve sürgünlerinin öz suyunu emerek bitkilerin kurumasına, tohumlarda çimlenme kabiliyetinin azalmasına, ürün kalitesinin düşmesine ve ürün kaybına yol açmaktadır. Bu familyaya ait böceklerin bir kısmı dünya ve ekonomimiz açısından son derece önemli yer tutan tahıl, pamuk, fındık, tütün, baklagiller kültür bitkileri ve meyve bahçelerinde oldukça fazla zarar yaptıkları bilinmektedir [45-54].

3. 1. Türler Hakkında Genel Bilgi

3. 1. 1. *Eurydema ventrale*, *Eurydema blandum*

Avrupa, Akdeniz çevresi ülkeleri ile Palearktik bölgenin geri kalan kısmının büyük bir bölümünde bulunur. Yurdumuzun hemen her yerinde *E. ventrale*, *E. blandum* türlerine az veya çok rastlanır. Özellikle Cruciferae familyası bitkileri, başta lahanalar, karnabahar, turp, şalgam, hardal ve diğer yabancı Cruciferae bitkilerinde bol olarak rastlanır. Ergin ve nimfleri, bitkilerin yapraklarını, çiçek ve tohumlarını sokup emerler. Yapraklarda beslenen yerlerde sarı lekeler oluşur. Kışı muhtelif yerlerde geçiren erginler, İlkbaharda mart ayından itibaren kışlak yerlerinden kültür ya da

yabani Cruciferae bitkilerine geçerler. Eşeyssel olgunluğa erişen erginler çiftleşerek yumurta bırakmaya başlarlar. Bir yumurta kümesinde genellikle 2 sıra halinde 12 yumurta bulunmaktadır. Yumurtaların açılma süresi iklim sıcaklığına bağlıdır. Yumurtadan çıkan nimfler ilk gömlek değiştirene kadar toplu halde aynı yumurta kümesi üzerinde ve yakınında bulunurlar. İkinci devre nimfler dağılmaya ve bulunduğu bitkinin çeşitli yerlerine giderek beslenmeye ve gerçek zararını yapmaya başlarlar [55, 7]

3. 1. 2. *Aelia rostrata*

Avrupa'nın büyük bir kısmı, Kuzey Afrika, Kafkasya Suriye, Türkiye; İsrail, Irak, İran ve Orta Asya da yayılış gösterir. Yurdumuzda bulunan *Aelia* türleri içerisinde en zararlı türdür. Doğu ve Güneydoğu Bölgelerinin ve Orta Anadolu'nun bazı kesimlerinde muntazam olmayan aralıklarla önemli hububat zararlısı (özellikle buğdayda) olarak bilinmektedir. *A. rostrata* Orta Anadolu'da kışlaklardan Mayıs ayı başlarında inmeye başlar. Dişi yumurtalarını genellikle 2 sıralı ve 12 tanelik kümeler halinde bırakır. Bir dişi hayatı boyunca 100 kadar yumurta bırakır. Arazide nimflerin gelişimi Temmuz ayına kadar sürer. Yeni çıkan erginler özellikle yoğun olarak süneler gibi beslenerek vücutlarına besin depo etmeye başlarlar [55].

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. SDS-PAGE Metodu ile Total Protein Analizi

4.1.1. *Eurydema blandum*'un gelişim evrelerindeki total proteinlerin elektroforetik analizi

E. blandum'un yumurta-ergin gelişimi boyunca SDS-PAGE yöntemiyle açığa çıkartılan farklı gelişim evrelerindeki total proteinler resimde gösterilmiştir (Bkz. Resim 4.1). Jelde belirlenen bantlar orijinden başlayarak artan aktivitelerine göre numaralandırılmıştır (Bkz. Çizelge 4.1 ve 4.2).

E. blandum'un bütün gelişim süresi boyunca total olarak 24 majör protein tespit edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.3). Bu proteinlerden sadece 1 tanesi böceğin bütün gelişimi boyunca görülürken, 4 tanesi yumurta gelişimine özgü olarak görülür, nimfal evreye özgü olan proteine ve ergin evreye özgü proteine rastlanmamıştır. Böcek gelişimindeki proteinler incelendiğinde, gelişimsel evrelerde bir takım yeni proteinlerin ortaya çıktığı, bu proteinlerin bir kısmının gelişimin son evresi olan ergin evreye kadar mevcut olduğu geri kalanının ise ergin evreye ulaşmadan önce gözden kaybolduğu görülmektedir.

Gelişim boyunca yeni proteinler ortaya çıktığı gibi, gelişimin başlangıcından bu yana mevcut olan bazı proteinler de devam etmekte olan gelişim boyunca gözden kaybolmaktadır. Pr-4, Pr-6, pr-7, pr-10, pr-11, pr-18, pr-19, pr-21, pr-22, pr-23 ilerleyen gelişim sürecinde gözden kaybolan protein bantlarıdır.

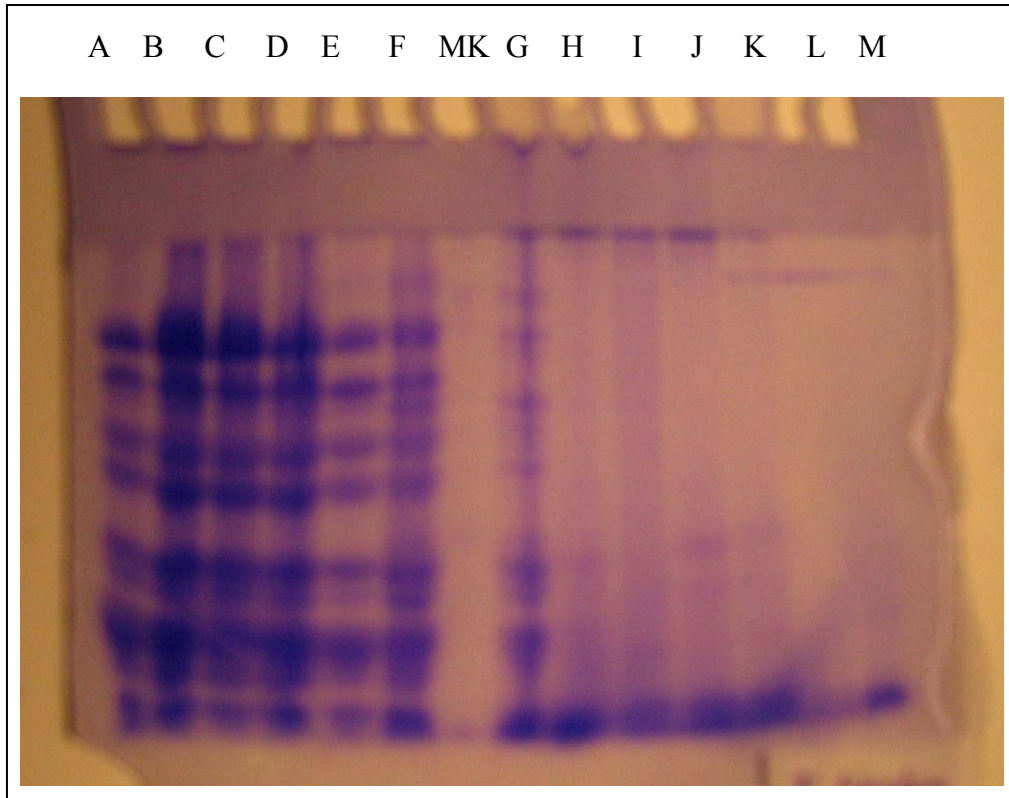
Gelişim sürecinde evreye özgü proteinlerin üretilmesi de söz konusudur. Pr-8 ve pr-12 yeni nimfal evreye özgü, pr-9 2. evre nimfe özgü, pr-20 1. evre nimfe özgü proteinler olarak gözlenmektedir.

Yeni bırakılmış yumurta evresinden sonra protein bant sayısında sabit bir süreç başlamakta ve ardından protein sayısında artış gözlenmektedir. Yeni bırakılmış

yumurtada protein bant sayısı 13 iken, 1 günlük, 2 günlük ve 3 günlük yumurtada protein bant sayısı 14 olarak sabitlenmiş, 4 günlük yumurtada 16 olmuş ve 5 günlük yumurtada 17 olarak belirlenmiştir.

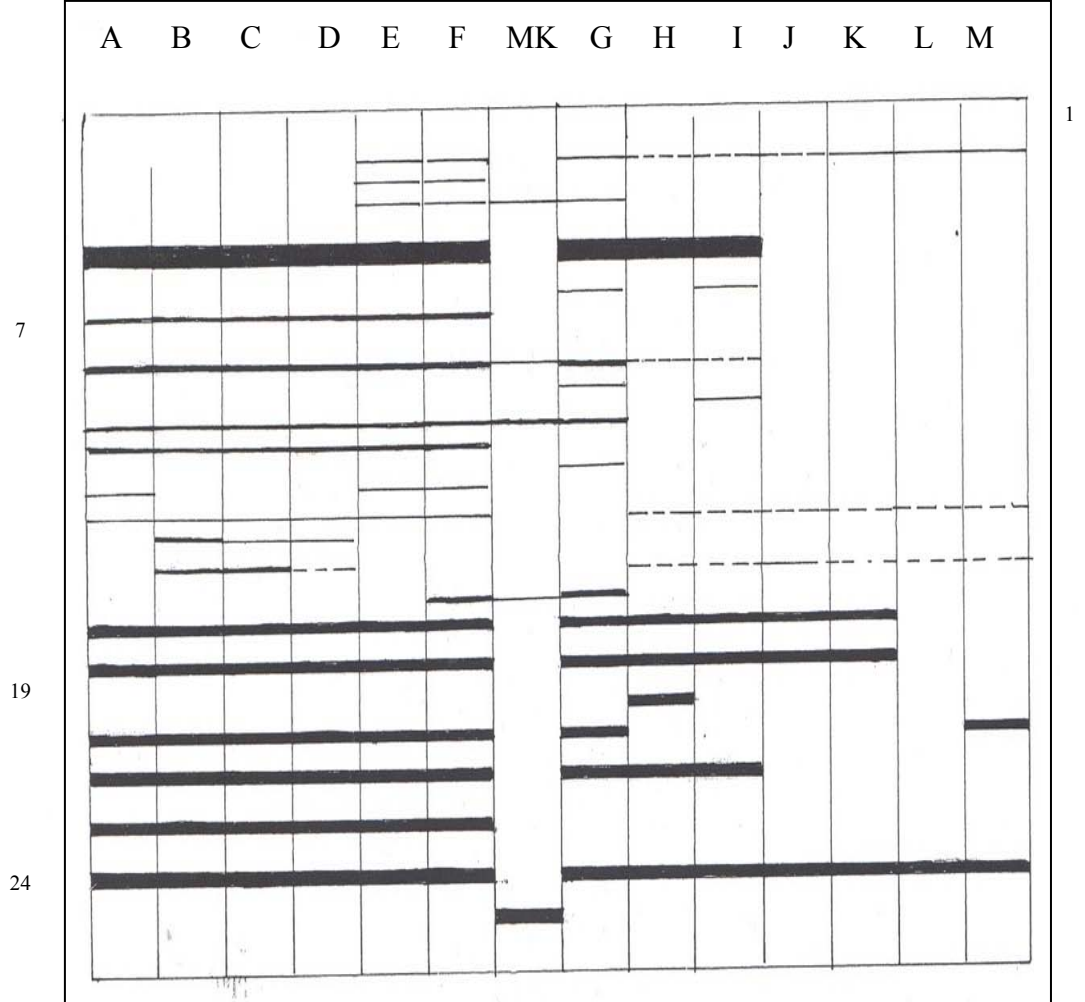
Yeni nimfte protein bant sayısı 14 iken, 1. evre nimf ve 2. evre nimfte 11'e düşmüştür, 3. ve 4. evre nimfte ise protein bant sayısı azalarak 6'ya düşmüştür, son nimfal evrede protein bant sayısı 4 olarak belirlenmiş olup, ergin evrede 5 protein bant sayısı tespit edilmiştir.

Yumurta evreleri ile nimfal evreler arasında özellikle de 5. evre nimfe doğru protein bant sayısı bakımından çeşitli farklılıklar ortaya çıkmaktadır; yumurta evresinde nimfal evreye göre daha fazla protein bandı tespit edilmiştir.



Resim 4. 1. *E. blandum*'un yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ergin (M) bireylerin total proteinlerinin ve markerin (MK) SDS-PAGE profilleri

Çizelge 4. 1. *E. blandum*'un yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ergin (M) bireylerin total proteinlerinin ve markerin (MK) SDS-PAGEçizimleri



Çizelge 4.2. *E. blandum*'un yumurta-ergin morfejenezi boyunca SDS-PAGE ile açığa çıkan total protein bantlarının gelişimsel evrelere göre dağılımı

Total protein bantları	GELİŞİMSEL EVRELER												
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
6	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
10	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
11	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
13	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
14	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
15	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
17	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
21	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
23	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A: Yeni yumurta, B-F: 1-5 günlük yumurta, G: Yeni nimf, H-L: 1-5. evre nimf, M: Ergin

Çizelge 4.3. *E. blandum*'un yumurta-ergin morfogenezi boyunca farklı gelişimsel evrelerinde SDS-PAGE metodu ile açığa çıkartılan protein bant sayıları

TÜR	EVRE	SDS-PAGE
		TOTAL PROTEİN
<i>Euryedama blandum</i>	Yeni Yumurta	13
	1 günlük yumurta	14
	2 günlük yumurta	14
	3 günlük yumurta	14
	4 günlük yumurta	16
	5 günlük yumurta	17
	Yeni Nimf	14
	1. Evre Nimf	10
	2. Evre Nimf	11
	3. Evre Nimf	6
	4. Evre Nimf	6
	5. Evre Nimf	4
	ErginEvre	5

4.1.2. *Aelia rostrata*'nın gelişim evrelerindeki total proteinlerin elektroforetik analizi

A. rostrata'nın yumurta ergin gelişimi boyunca SDS-PAGE yöntemiyle açığa çıkartılan farklı gelişim evrelerindeki total proteinler resimde gösterilmiştir (Bkz. Resim 4.2). Jellerde gözlenen bantlar orijinden başlanarak artan aktivitelerine göre numaralandırılmıştır (Bkz. Çizelge 4.4. ve Çizelge 4.5).

A. rostrata'nın tüm gelişimi boyunca toplam 21 majör protein belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.6). Bu proteinlerden 4 tanesi tüm gelişim boyunca gözlenirken, 1 tanesi yumurta gelişimi boyunca gözlenmiştir.

Gelişim boyunca, gelişime bağlı olarak yeni proteinler açığa çıkmaktadır. Bu proteinlerin bir kısmının sentezi gelişimin son evresi olan ergin evreye kadar devam etmektedir. Pr-1, 2.evre nimfte ortaya çıkan ve gelişimin daha sonraki evrelerinde de gözlenen protein bandıdır. Pr-6, pr-8, pr-9, pr-11, pr-12, pr-13, pr-14 ve pr-16 yumurta gelişim sürecinin çeşitli evrelerinde ortaya çıkan fakat sentezleri ergin evreye kadar devam etmeyen protein bantlarıdır.

Gelişim boyunca yeni proteinler açığa çıktığı gibi, gelişimin başlangıcından itibaren var olan bazı proteinlerde gelişimsel süreç boyunca kaybolmaktadır. Pr-3, pr-6, pr-11, pr-13 ve pr-16 gelişimsel sürecin başlamasıyla var olan fakat gelişimsel sürecin çeşitli evrelerinde gözden kaybolan protein bantlarıdır.

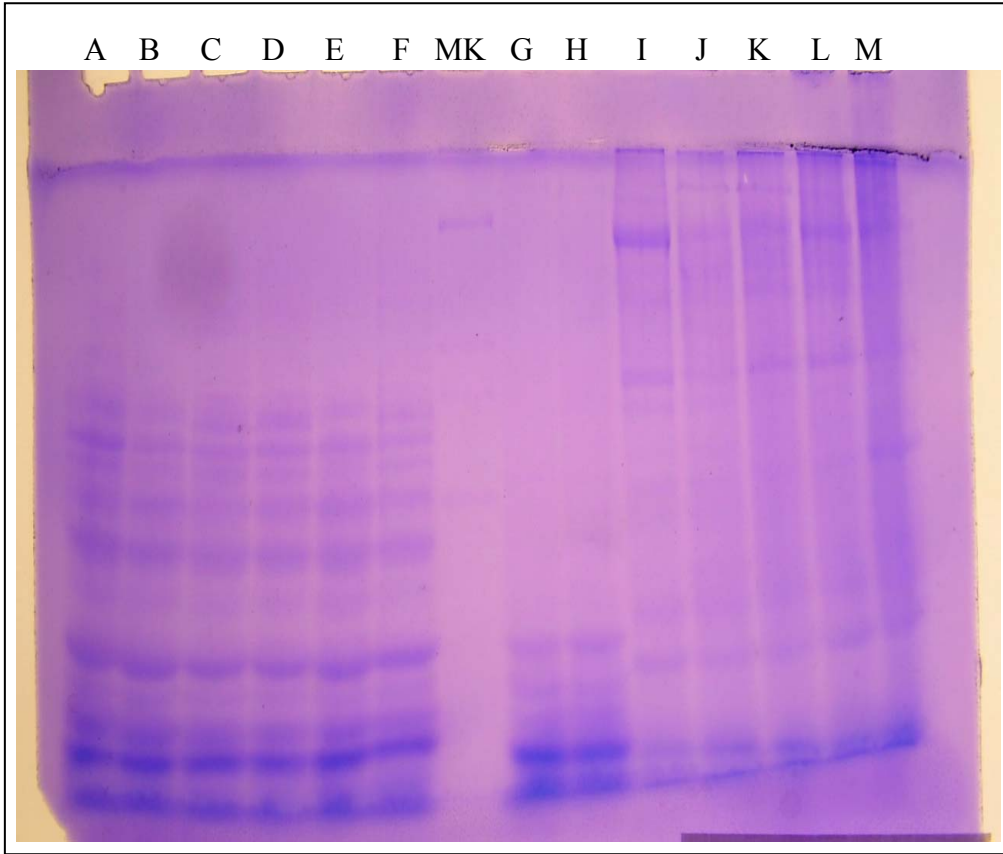
Böcek gelişimi boyunca pr-3 ve pr-6 yeni yumurta evresi, pr-5, 2 günlük yumurta evresi, pr-8, 4 günlük yumurta evresi ve pr-9, 5 günlük yumurta evresine özgü sentezlenmiş proteinler olarak belirlenmiştir. Ayrıca pr-16 ise tüm yumurta gelişimine özgü protein bandı olarak karşımıza çıkmaktayken, nimfal gelişim ile ergin evreye özgü protein bandı tespit edilememiştir.

Yeni bırakılmış yumurtada 13 protein bant sayısı mevcutken, 1 günlük yumurtada bu sayı 10 olarak belirlenmiş olup; 2 günlük yumurtada 13 olarak 3 günlük yumurtada

11 olarak belirlenmişken, 4 günlük yumurtada tekrar 10'a düşmüş ve 5 günlük yumurtada 11'e yükselmiştir.

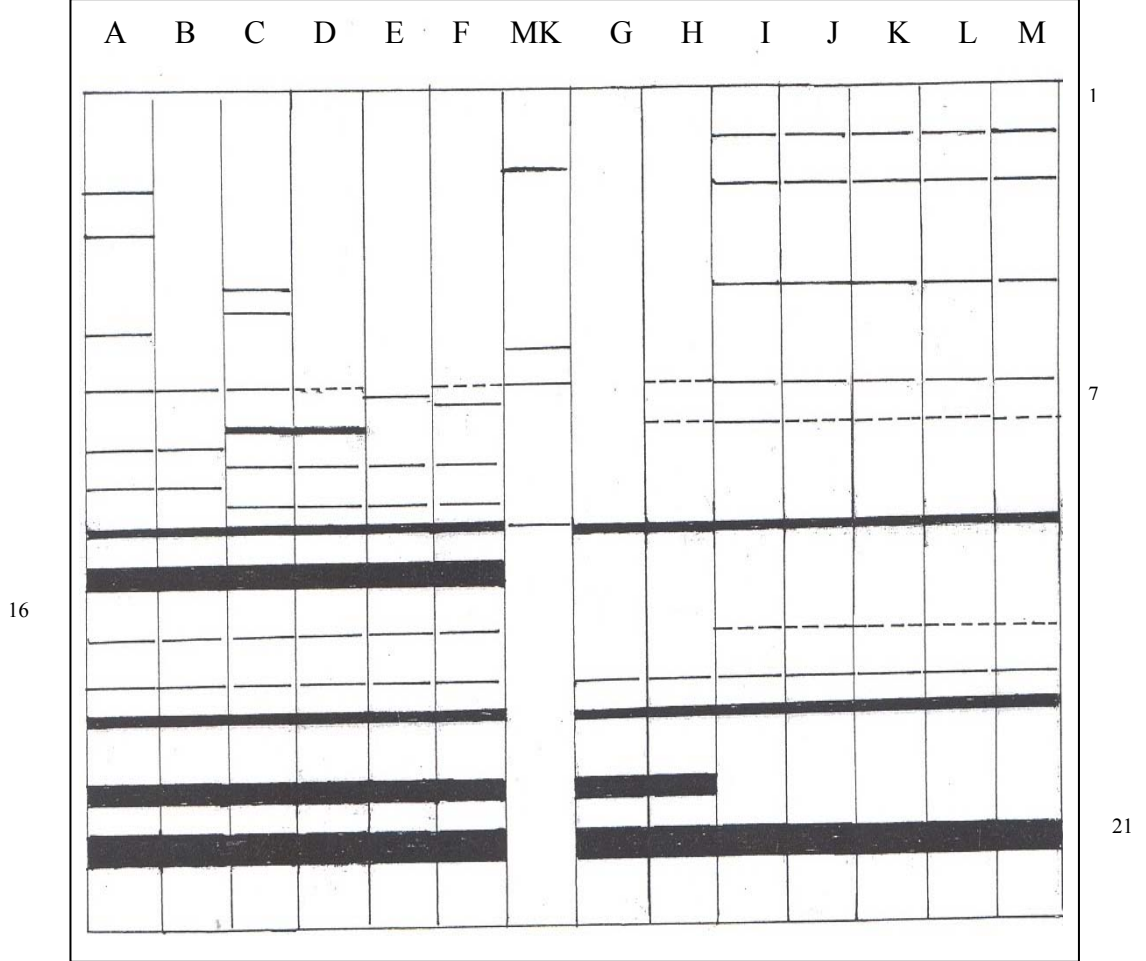
Yeni nimfte protein sayısı azalarak 5 olmuş, 1. evre nimfte 7'ye çıkmış, 2. evre nimfte 10, 3. evre nimfte 9, 4. ve 5. evre nimf ile ergin evrede tekrar 10 protein bant sayısı tespit edilmiştir.

Yumurta ile nimfal evre protein bantları arasındaki fark; yeni nimf ile 1. evre nimf haricinde iki bölüm arasında büyük bir değişim söz konusu değildir.



Resim 4. 2. *A. rostrata*'nın yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ergin (M) bireylerin total proteinlerinin ve markerın (MK) SDS-PAGE profilleri [38]

Çizelge 4. 4. *A. rostrata*'nın yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ergin (M) bireylerin total proteinlerinin ve markerin (MK) SDS-PAGE çizimleri



Çizelge 4. 5. *A. rostrata*'nın yumurta-ergin morfogenezi boyunca SDS-PAGE ile açığa çıkan total protein bantlarının gelişimsel evrelere göre dağılımı

Total protein bantları	GELİŞİMSEL EVRELER												
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
2	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
5	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
8	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
11	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
13	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
17	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A: Yeni yumurta, B-F: 5 günlük yumurta, G: Yeni nimf, H-L: 1-5. Evre nimf, M: Ergin

Çizelge 4.6. *A. rostrata*'nın yumurta-ergin morfogenezi boyunca farklı gelişimsel evrelerinde SDS-PAGE metodu ile açığa çıkartılan protein bant sayıları

TÜR	EVRE	SDS-PAGE
		TOTALI PROTEİN
<i>Aelia rostrata</i>	Yeni yumurta	13
	1. günlük yumurta	10
	2. günlük yumurta	12
	3. günlük yumurta	11
	4. günlük yumurta	10
	5. günlük yumurta	11
	Yeni Nimf	5
	1. Evre Nimf	7
	2. Evre Nimf	10
	3. Evre Nimf	10
	4. Evre Nimf	10
	5. Evre Nimf	10
	Ergin Evre	10

4.1.3. *Eurydema ventrale*'nin gelişim evrelerindeki total proteinlerin elektroforetik analizleri

E. ventrale'nin yumurta ergin gelişimi boyunca SDS-PAGE yöntemiyle açığa çıkartılan farklı gelişim evrelerindeki total proteinler resimde gösterilmiştir (Bkz. Resim 4.3). Jellerde gözlenen bantlar orijinden başlanarak artan mobilitilerine göre numaralandırılmıştır (Bkz. Çizelge 4.7. ve Çizelge 4.8).

E. ventrale'nin tüm gelişimi boyunca toplam 22 majör protein belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.9). Bu proteinlerin 1 tanesi tüm gelişimsel evreye özgü iken, 3 tanesi nimfal gelişim evrelerine özgü ve 5 tanesi yumurta gelişimine özgüdür, ergin evreye özgü protein bandına rastlanmamıştır.

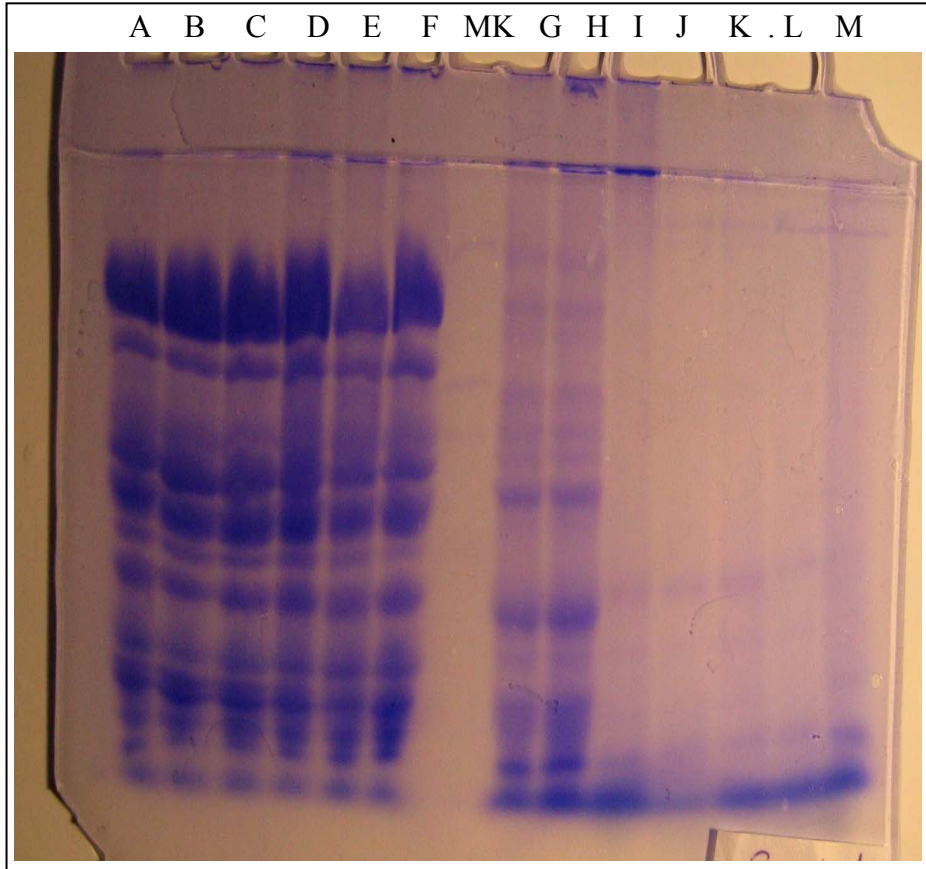
Pr-1, pr-16 ve pr-20 yeni nimfte ortaya çıkan ve gelişimin daha sonraki evrelerinde de gözlenen protein bantlarıdır. Pr-2, pr-6, pr-7, pr-9 ve pr-15 nimfal gelişim; pr-11 yumurta gelişim süreçlerinde ortaya çıkan ancak sentezleri ergin evreye kadar devam etmeyen protein bantlarıdır.

Gelişim boyunca yeni proteinler açığa çıktığı gibi, gelişimin başlangıcından itibaren var olan bazı proteinler de gelişimsel süreç boyunca kaybolmaktadır. Pr-3, pr-4, pr-5, pr-8, pr-10, pr-12, pr-13, pr-17, pr-18, pr-19, pr-21 gelişimsel sürecin başlamasıyla var olan ancak gelişimsel sürecin çeşitli evrelerinde gözden kaybolan protein bantlarıdır.

Böcek gelişimi boyunca pr-7 protein bandı yeni nimfal evreye özgü protein bandı olarak belirlenmiştir.

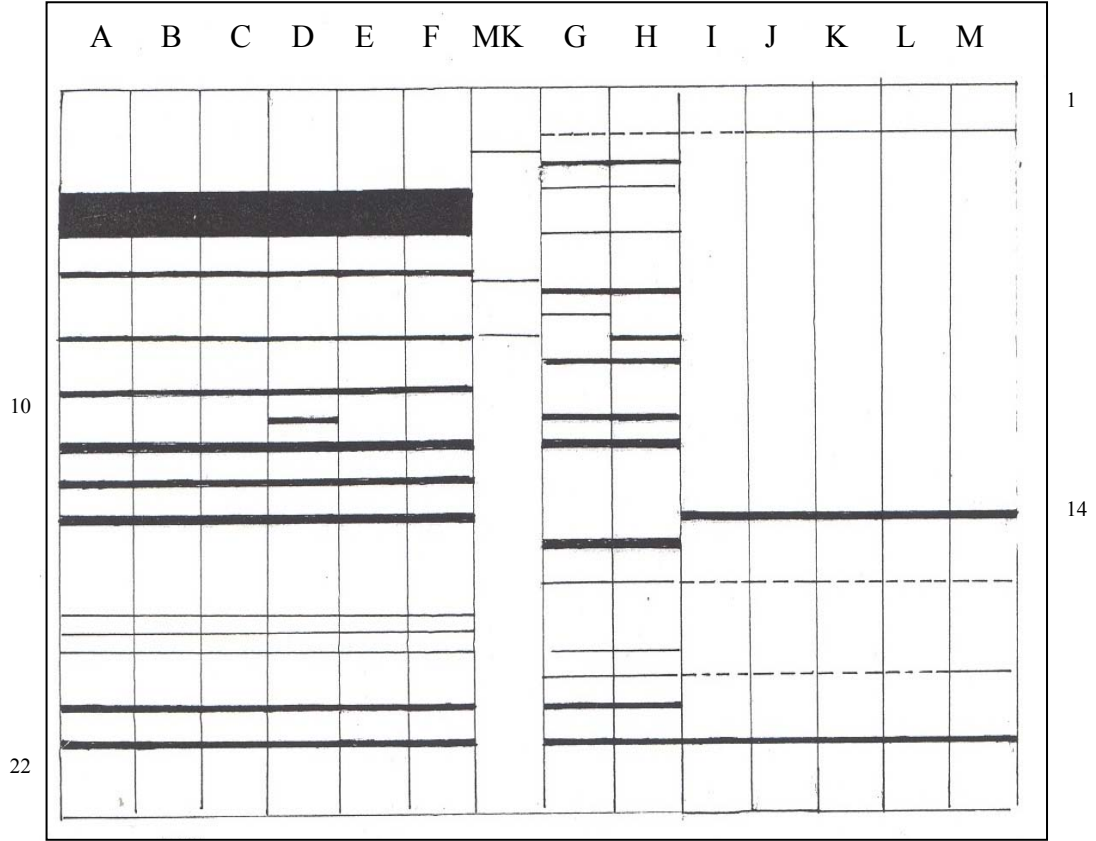
İlk üç günlük yumurta evresinde aynı protein profili gözlenirken, protein bant sayısı her birinde 13 olarak belirlenmiştir ve 3 günlük yumurtada protein sayısı 14 olarak artmıştır ancak 4 ve 5. günlerde protein profilleri ve sayısı aynı 13 olarak gözlenmiştir. Tüm yumurta gelişiminin protein yapıları itibariyle birbirine çok yakın protein profillerine sahip olduklarını görmekteyiz.

Nimfal evrelerde ise yeni nimf ve 1. evre nimfin protein profilleri aynı değildir protein bant sayısı itibariyle aynıdır ve 15 adet protein bandı mevcuttur. Bu evreden sonra protein bant sayısında ani bir düşüş söz konusudur, 2. nimfal evre, 3. nimfal evre, 4. nimfal evre, 5. nimfal evre ve ergin evrenin her birinde 5 adet protein bandı tespit edilmiştir ve her bir evrenin protein profillerinin aynı olduğu görülmektedir.



Resim 4.3 *E. ventrale*'nin yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5 evre (H-L), ergin (M) bireylerin total proteinlerinin ve markerın (MK) SDS-PAGE profilleri [38]

Çizelge 4.7. *E. ventrale*'nin yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerin total proteinlerinin ve markerin (MK) SDS-PAGE çizimleri



Çizelge 4.8. *E. ventrale*'nin yumurta-ergen morfogenezi boyunca SDS-PAGE ile açığa çıkan total protein bantlarının gelişimsel evrelere göre dağılım

Total protein bantları	GELİŞİMSEL EVRELER												
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
4	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
5	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
8	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
10	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
12	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
13	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
14	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
15	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-
16	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
17	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
18	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
19	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
21	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A: Yeni Yumurta, B-F: 1-5 Günlük Yumurta, G: Yeni Nimf, H-L: 1-5. Evre Nimf, M: Ergin

Çizelge 4.9. *E. ventrale*'nin yumurta-ergin morfogenezi boyunca farklı gelişimsel evrelerinde SDS-PAGE metodu ile açığa çıkartılan protein bant sayıları

TÜR	EVRE	SDS-PAGE
		TOTAL PROTEİN
<i>Eurydema ventrale</i>	Yeni Yumurta	12
	1. günlük yumurta	13
	2. günlük yumurta	13
	3. günlük yumurta	14
	4. günlük yumurta	13
	5. günlük yumurta	13
	Yeni Nimf	15
	1. Evre Nimf	15
	2. Evre Nimf	5
	3. Evre Nimf	5
	4. Evre Nimf	5
	5. Evre Nimf	5
	Ergin Evre	5

4. 2. Native- PAGE Metodu İle Esteraz İzozimlerinin Analizi

4.2.1. *Eurydema blandum*'un gelişim evrelerindeki esteraz izozimlerinin Native PAGE metodu ile analizi

Yeni Bırakılmış Yumurta: Bu evrede 2 tane esteraz bandı mevcuttur. Est-1 en düşük aktiviteyi bu evrede gösterir. Diğer esteraz bandı est-13'dir (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

1 *Günlük Yumurta:* Yeni yumurtada var olan esteraz bandı kaybolmuştur yeni bir esteraz bandı olan est-2 bandı ortaya çıkmıştır ve est-13 bandı bu evrede de yine aynı aktivitede devam etmektedir (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

2 *Günlük Yumurta:* Yeni yumurta ve 1 günlük yumurtaların her ikisinde de mevcut olan esteraz bantlarını içeren bir evredir; est-1 aktivitesini artırmıştır, est-2 ve est-13 bantları mevcuttur (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

3 *Günlük Yumurta:* Sadece bu evreye özgü olan est-3 bandı ortaya çıkmıştır ve est-1 ve est-2 bantları bu evrede aktivitelerini yitirmişlerdir. est-13 bandı aynı yoğunlukta devam etmektedir (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

4 *Günlük Yumurta:* Bu evrede est-3 bandı aktivitesini yitirmiştir. Sadece est-13 bandı aktif durumdadır (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

5 *Günlük Yumurta:* 4 günlük yumurta evresi ile aynı esteraz profiline sahiptir (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

Yeni Nimf: Est-19 ve est-21 bantları ilk defa ortaya çıkmıştır ve nimfal evreye özgü olan est-19 bantı ilk defa gözlenmiştir. Diğer bantlar gözden kaybolmuştur. Bütün nimfal gelişim sürecinde en az esteraz bandı bu evrede görülmüştür (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

1. *Evre Nimf:* 1. nimfal evrede aktivitesi düşük olarak gözlenen ve ergin evrede yine aktivitesi azalan ancak diğer bütün nimfal gelişim sürecinde görülen est-15 bandı

ortaya çıkmıştır ve est-19 ve est-21 bantları aynı aktivitede görülmektedir. Toplam 3 esteraz bandı görülmektedir (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

2. *Evre Nimf*: Bu evrede toplam 4 esteraz bandı görülür ve est-15 bandının aktivitesi artmıştır; est-19 bandının diğer evrelerdeki gibi aynı aktivitede devam ederken bu evrede est-21 bandının aktivitesi sona ermiş ve bu evrede est-22 bandı ilk defa ortaya çıkmıştır, bundan sonraki bütün evrelerde de aktivitesini devam ettirmektedir. Aynı zamanda est-23 bandı düşük aktivitede ve ilk defa ortaya çıkmıştır (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

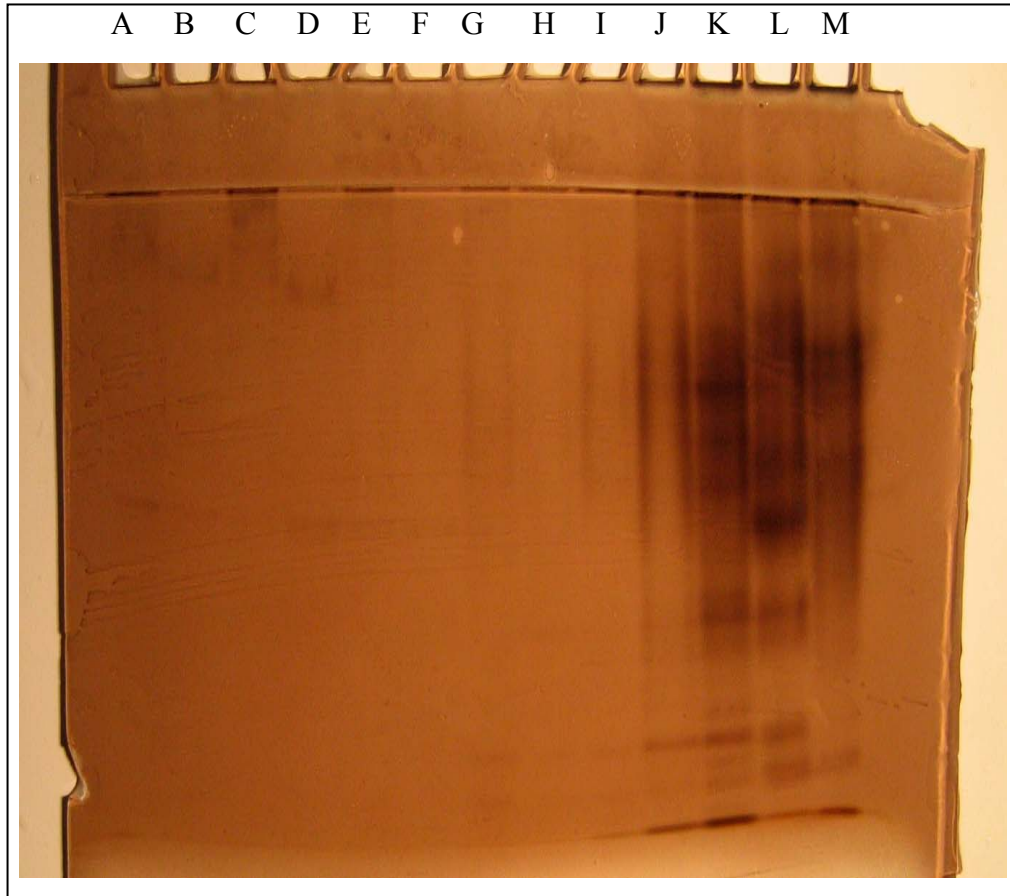
3. *Evre Nimf*: 8 adet esteraz bandı görülür ve bir önceki evrenin 2 katı kadar esteraz bandı ortaya çıkmıştır. Bu evrede ilk defa est-6 ve est-7 bantları ortaya çıkmıştır ve bundan sonraki evrelerde de devam edecek olan esteraz bantlarıdır. Est- 15, 19, 22 bantları aynı yoğunlukta devam etmektedir. Est- 16 bandı düşük aktivitede bu evrede ortaya çıkmıştır. Est-17 bandı ise sadece bu evreye özgü bir banttır. Est-18 bandı da yine ilk defa ve düşük aktivitede bu evrede ortaya çıkmıştır (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

4. *Evre Nimf*: 13 adet esteraz bandı görülür, est- 5, 9, 20 bantları bu evreye özgü bantlardır. Est-6, 7, 15, 16, 19, 22 bantları aynı yoğunlukta devam etmekte olan bantlardır. Est-11 ve 14 bantları ilk defa ortaya çıkan bantlardır ve bundan sonraki evrelerde de devam eden bantlardır. Est-12 bandı yine bu evrede ilk defa ortaya çıkmaktadır. Est-18 bandı son olarak bu evrede görülmektedir (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

5. *Evre Nimf*: 12 adet esteraz bandı görülür. Yumurta evrelerinden sonra nimfal evrede ilk defa yoğun olarak est-13 bandı tekrar karşımıza çıkmaktadır. Bu evreye özgü bantlar est-4, 10 bantlarıdır. Est-6, 7, 11, 14, 15, 22 bantları hala devam eden bantlardır. Est-16 ve 19 bantları en son bu evrede görülmektedir. Est-23 bandı 1. evre nimften sonra son kez ortaya çıkmaktadır (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).

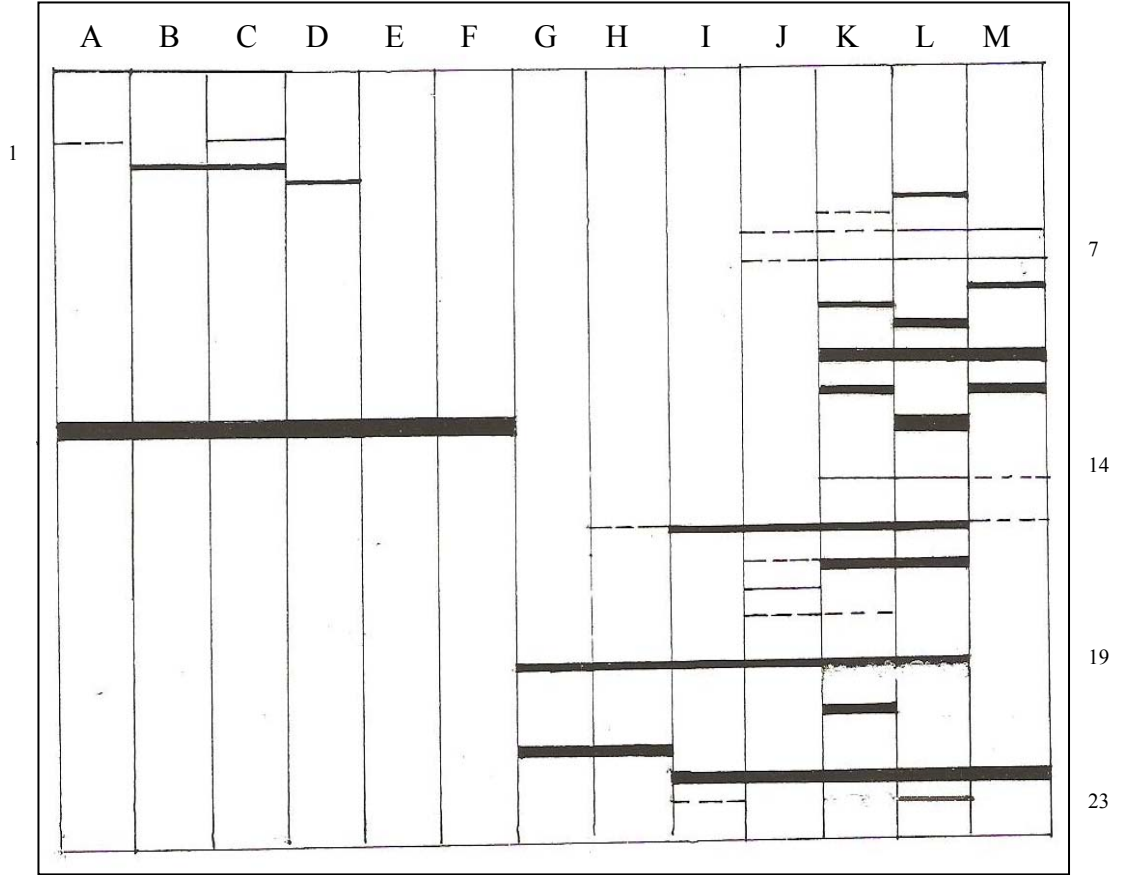
Ergin Evre: Esteraz sayısı 8 olarak belirlenmiştir. Est-6, 7, 11, 14, 15, 22 bantlarının aktiviteleri devam etmektedir. Est-8 bandı bu evreye özgü esteraz bandıdır. Est-4, 10,

13, 16, 19, 23 bantlarının aktiviteleri bitmiştir. Est-12 bandı 4. evre nimften sonra yeniden ortaya çıkmıştır (Bkz. Resim 4.4, Çizelge 4.10).



Resim 4.4.*E. blandum*'un yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerinin esteraz enzimlerinin Native-PAGE zimogramı [38]

Çizelge 4.10. *E. blandum*'un yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerinin esterez enzimlerinin Native-PAGE çizimleri



Çizelge 4.11. *E. blandum*'un yumurta-ergin morfogenezi boyunca farklı gelişimsel evrelerinde Native PAGE metodu ile açığa çıkartılan esteraz bant sayıları

TÜR	EVRE	NATIVE-PAGE
		ESTERAZ SAYISI
<i>Euryedama blandum</i>	Yeni Yumurta	2
	1 günlük yumurta	2
	2 günlük yumurta	3
	3 günlük yumurta	2
	4 günlük yumurta	1
	5 günlük yumurta	1
	Yeni Nimf	2
	1. Evre Nimf	3
	2. Evre Nimf	4
	3. Evre Nimf	8
	4. Evre Nimf	13
	5. Evre Nimf	12
	Ergin Evre	8

4.2.2. *Aelia rostrata*'nın gelişim evrelerindeki esteraz izozimlerinin Native-PAGE metodu ile analizi

Yeni Yumurta: Bu evrede est-5, est-16, est-18 bantları görülmektedir. Toplam 3 esteraz bandı gözlenmektedir (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).

1 *Günlük Yumurta:* Est-4 bandı bu evreye özgü esteraz bandıdır ve düşük aktivite göstermektedir. Est-6 bandı yine bu evrede ilk defa ortaya çıkmıştır ve diğer yumurta gelişiminde de gözlenmektedir. Est-16 bandı gözden kaybolmuştur. Toplam 4 esteraz bandı görülmektedir. Est-5 bandı aktivitesini devam ettirmektedir ve est-19 bandı yine bu evrede ilk defa ortaya çıkan esteraz bandıdır (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).

2 *Günlük Yumurta:* Est-6 bandı gözlenmeye devam etmektedir. Est-17 bandı ilk kez ortaya çıkmıştır. Est-19 bandı aktivitesini devam ettirmektedir. Toplam 3 esteraz bandı mevcuttur (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).

3 *Günlük Yumurta:* 3 esteraz bandı görülmektedir. Est-6 bandı aktivitesini devam ettirmektedir ve est-18 bandı yeni yumurtadan sonra yeniden gözlenmektedir ancak aktivitesi azalmıştır ve diğer yumurta gelişimlerinde de gözlenecektir. Est-19 bandı aynı aktivitede devam etmektedir (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).

4 *Günlük Yumurta:* Est-6, 18, 19 bantları aktivitelerini bu evrede devam ettirmektedirler, est-19 bandı bu evrede aktivitesini artırmıştır. 3 esteraz bandı görülmektedir (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).

5 *Günlük Yumurta:* 5 adet esteraz bandı görülmektedir. Est-5 bandı 1 günlük yumurtadan sonra yeniden gözlenmiştir. Est-18 bandının aktivitesi artmıştır. Est-19 bandının aktivitesi biraz azalmıştır ve ilk defa est-20 bandı görülmüştür (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).

Yeni Nimf: Nimfal evrede ilk defa 1 günlük yumurtadan sonra görülen est-19 bandı aktivitesini bu evrede artırmıştır. Yine bu evrede ilk defa düşük aktivitede görülen ve

bundan sonra ergin evreye kadar görülecek olan est-2, est-3 bantları ile est-7 bandı görülmektedir (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).

1.*Evre Nimf*: Toplam 6 esteraz bandı mevcuttur. Est-2, est-3 bantlarının aktiviteleri artmıştır. Est-7 bandı aynı aktivitede devam etmektedir. Est-19 bandı aynı aktivitede devam etmektedir. Bunun haricinde est-17 bandı 2 günlük yumurtadan sonra tekrar karşımıza çıkmaktadır. Est-18 bandı da 5 günlük yumurta evresinden sonra yeniden ortaya çıkmıştır (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).

2.*Evre Nimf*: Toplam 6 esteraz bandı görülmektedir ve est-5 bandı tekrar karşımıza çıkmıştır ve bu evreden sonra gözden kaybolmaktadır. Est-2, est-3 bantları da devam etmektedir. Est-7 ve est-17 bantları gözden kaybolmaktadır. Est-18 bandı , est-19 bandı devam etmektedir, est-19 bandının mobilitesi azalmıştır. Est-20 bandı 5 günlük yumurta evresinden sonra tekrar ortaya çıkmıştır (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).

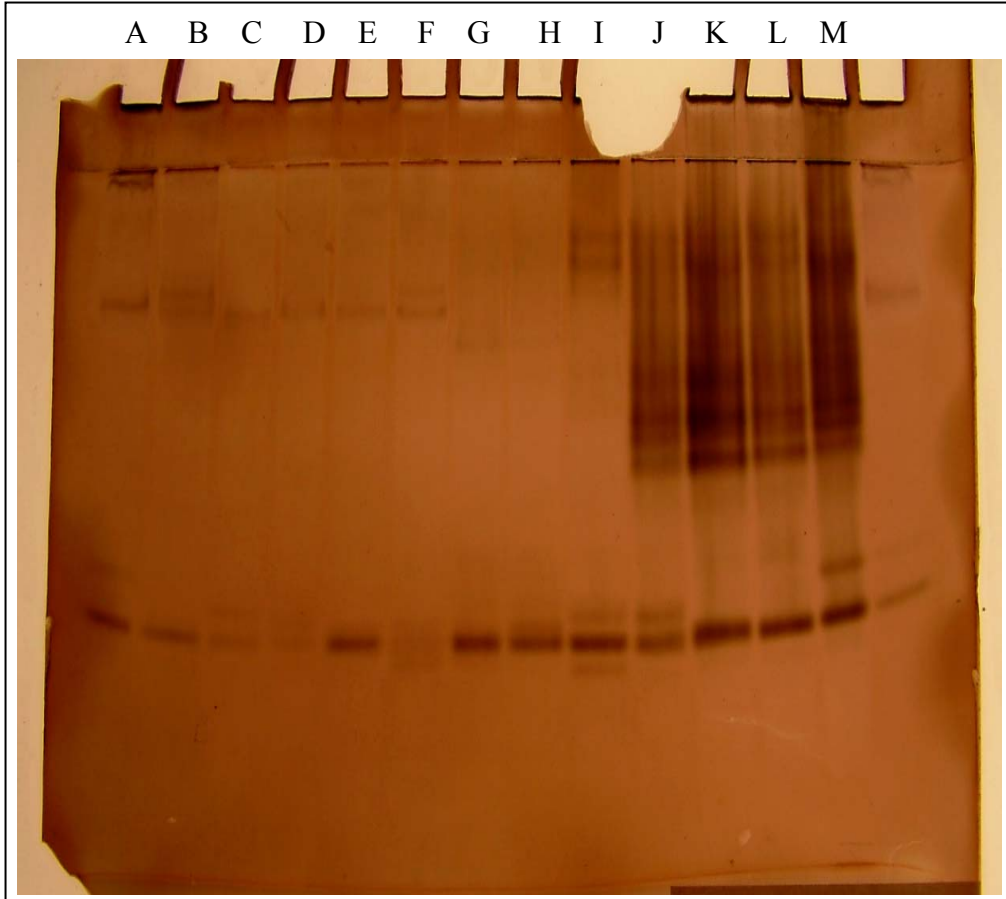
3.*Evre Nimf*: 11 esteraz bandı mevcuttur. Est-2, est-3, est-8, est-9, est-10, est-11, est-12, est-13, est-14, est-18, est-19 bantları görülmektedir. Yeni olarak ortaya çıkan ve bu evreden sonraki evrelerde de devam eden bantlar est-8, est-9, est-10, est-11, est-12, est-13, est-14 bantlarıdır. Est-19 bandı yine yüksek aktivitede görülmektedir (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).

4. *Evre Nimf*: 11 esteraz bandı görülmektedir. Est-19 bandı yüksek aktivitede görülmektedir. Est-15 bandı ilk defa bu evrede ortaya çıkmıştır. Est-18 bandı ise gözden kaybolmuştur. Est-2, 3, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 19 bantları devam eden esteraz bantlarıdır (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.11).

5. *Evre Nimf*: 4. evre nimf ile aynı esteraz profiline sahiptir (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).

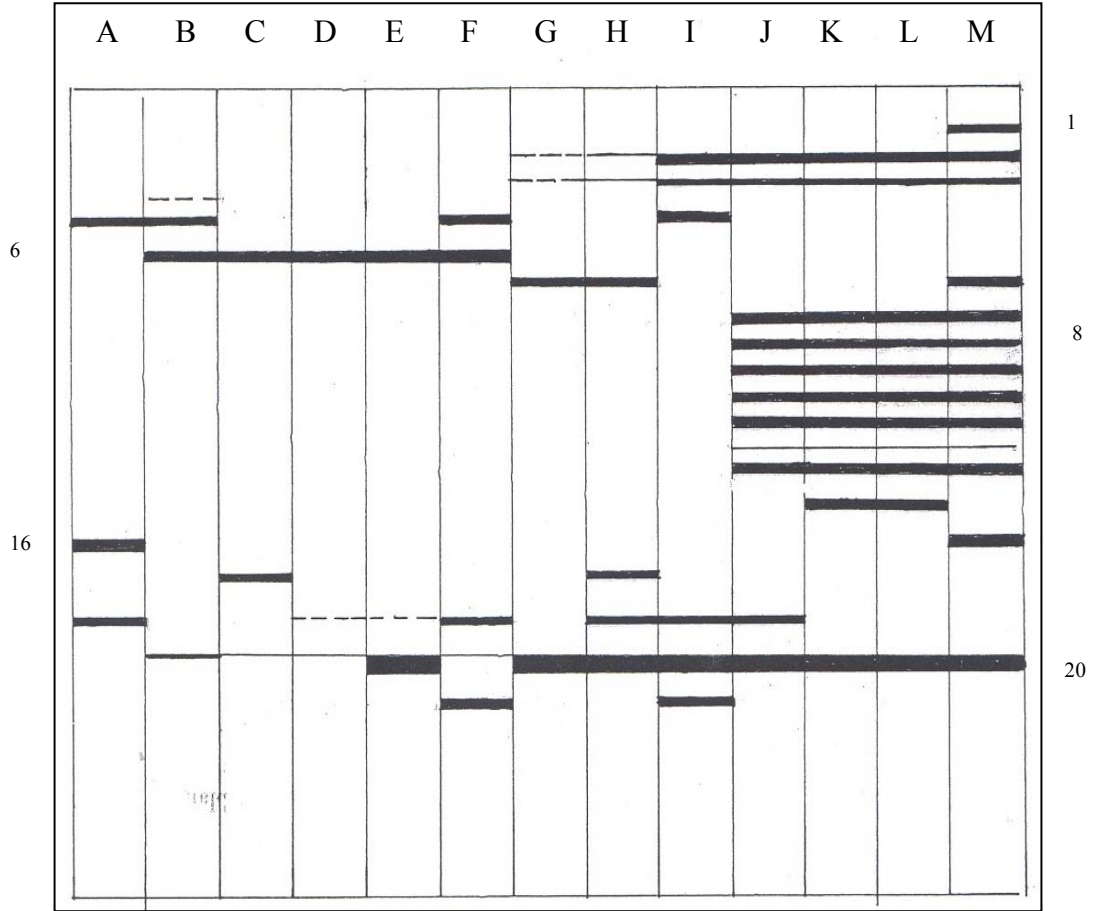
Ergin Evre: Est-1 bandı sadece ergin evreye özgü esteraz bandıdır. Est-7 bandı 1. evre nimften sonra tekrar karşımıza çıkmaktadır. Est-16 bandı ise yeni bırakılmış

yumurta evresinden sonra tekrar gözlenmiştir, est-15 bandı gözden kaybolmuştur (Bkz. Resim 4.5, Çizelge 4.12).



Resim 4.5. *A. rostrata*'nın yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerinin esterase enzimlerinin Native-PAGE zimogramı [38]

Çizelge 4.12. *A. rostrata*'nın yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerinin esteraz enzimlerinin Native-PAGE çizimleri



Çizelge 4.13. *A. rostrata*'nın yumurta-ergin morfogenezi boyunca farklı gelişimsel evrelerinde Native PAGE metodu ile açığa çıkartılan esteraz bant sayıları

TÜR	EVRE	NATİVE-PAGE
		ESTERAZ SAYISI
<i>Aelia rostrata</i>	Yeni Yumurta	3
	1 günlük yumurta	4
	2 günlük yumurta	3
	3 günlük yumurta	3
	4 günlük yumurta	3
	5 günlük yumurta	5
	Yeni Nimf	4
	1. Evre Nimf	6
	2. Evre Nimf	6
	3. Evre Nimf	11
	4. Evre Nimf	11
	5. Evre Nimf	11
	Ergin Evre	13

4. 2. 3. *Eurydema ventrale*'nin gelişim evrelerindeki esteraz izozimlerinin Native-PAGE metodu ile analizi

Yeni Bırakılmış Yumurta: Toplam 2 esteraz bandı mevcuttur, est-16, est-18 bantları tüm gelişim boyunca da karşımıza çıkacak olan bantlardır (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

1 *Günlük Yumurta*: Yeni bırakılmış yumurta evresiyle aynı esteraz profiline sahiptir. Toplam 2 esteraz bandı mevcuttur (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

2 *Günlük Yumurta*: 1 günlük yumurta ile aynı esteraz profiline sahiptir ancak est-16 aktivitesi azalmıştır. Toplam 2 esteraz bandı mevcuttur (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

3 *Günlük Yumurta*: 2 günlük yumurta ile aynı esteraz profiline sahiptir. Toplam 2 esteraz bandı mevcuttur (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

4 *Günlük Yumurta*: 3 günlük yumurta ile aynı esteraz profiline sahiptir. Toplam 2 esteraz bandı mevcuttur (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

5 *Günlük Yumurta*: Yeni esteraz bantı olan est-3 bandı ortaya çıkmıştır, diğer 2 esteraz bantlarından est-16 bandı, est-18 bandının aktivitesi daha yoğun olarak devam etmektedir (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

Yeni Nimf: Est-2 bandı bu evreye özgü olarak görülmektedir. Bunun haricinde, est-4 bandı tüm nimfal gelişim sürecinde ergin de dahil olmak üzere mevcuttur. Est-5 bandı bu evreye özgüdür. Yine nimfal gelişim sürecinde dönem dönem görülecek olan est-7 bandı bu evrede gözlenmektedir. Est-16 ve est-18 bantlarının aktivitesi aynı yoğunlukta devam etmektedir. Toplam 6 esteraz bandı mevcuttur (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

1. *Evre Nimf*: Est-3 bandı 5 günlük yumurtadan sonra tekrar gözlenmektedir. Est-4 bandı aynı aktivitede devam eder ancak est-5, est-7 bantları aktivitesini yitirmiştir. Est-16, est-18 bantları aynı aktivitede devam etmektedir. Toplam 4 esteraz bandı gözlenmiştir (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

2. *Evre Nimf*: Toplam olarak 10 esteraz bandı sayılmıştır. Est-3, est-4, est-16, est-18 bantları devam eden bantlarken est-11, est-12, est-13, est-14, est-21, est-22 bantları yeni ortaya çıkan bantlardır. Est-21 ve est-22 bantları düşük aktivitelere görülürken est-11 bandı sadece bu evreye özgü olarak karşımıza çıkmaktadır (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

3. *Evre Nimf*: Toplam 12 esteraz bandı gözlenmektedir. Est-3, est-4, est-12, est-13, est-14, est-16, est-18, est-21, est-22 bantları devam eden bantlarken; est-6, est-7, est-8 bantları ise yeni ortaya çıkan bantlardır ve düşük aktivite gösterirler yine est-4 bandının aktivitesi düşüktür, est-21, est-22 bantlarının aktiviteyi yüksekken est-12, est-13, est-14 bantlarının aktiviteyi düşüktür (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

4. *Evre Nimf*: Toplam 17 esteraz bandı gözlenmektedir. Est-1 bandı ilk defa bu evrede ortaya çıkmaktadır. Est-10 bandı sadece bu evrede gözlenmektedir. Est-15 bandı da yine bu evrede ilk defa ortaya çıkar ve bundan sonra gelen evrelerde de görülür. Est-19, est-20 bantları da aynı şekildedir. Bunun haricinde est-18 bandının aktivitesi yüksektir, est-4 aktivitesi bir önceki evreye oranla artmıştır. Est-3, est-4, est-6, est-7, est-8, est-12, est-13, est-14, est-16, est-18 bantları devam etmektedir. Est-21, est-22 bantları da en son bu evrede gözlenir (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

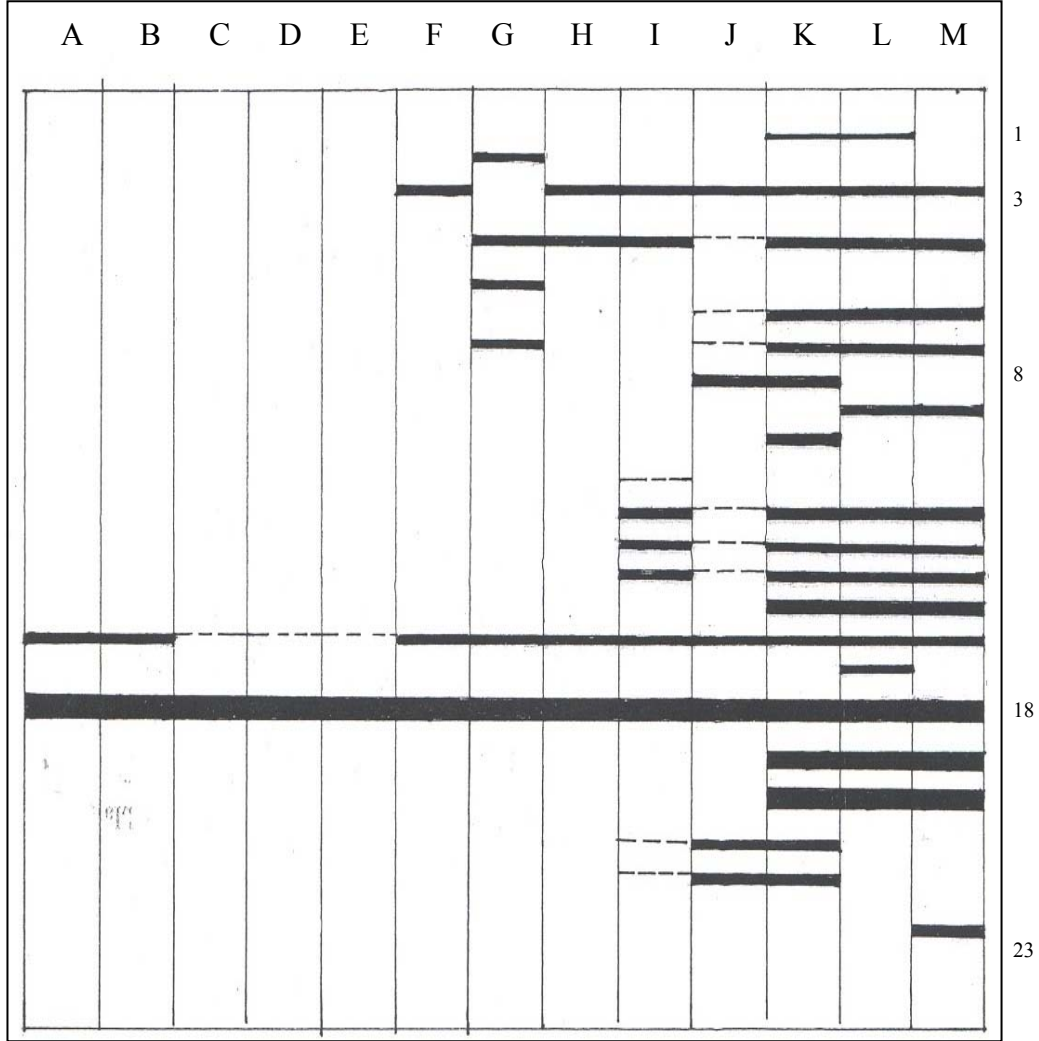
5. *Evre Nimf*: Toplam 15 esteraz bandı görülmektedir. Est-1, est-3, est-4, est-6, est-6, est-7, est-9, est-12, est-13, est-14, est-15, est-16, est-18, est-19, est-20 bantları devam etmektedir ancak est-10, est-21, est-22 bantları gözden kaybolmuştur. Est-17 bandı ortaya çıkmıştır ve sadece bu evrede gözlenir. Est-8 bandı gözden kaybolmuştur (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).

Ergin Evre: Est-1, est-17 bantları gözden kaybolmuştur. Est-3, est-4, est-6, est-7, est-9, est-12, est-13, est-14, est-15, est-16, est-18 est-19, est-20 bantları devam eden bantlarken, est-23 bandı bu evreye özgü esteraz bandı olarak gözlenmektedir (Bkz. Resim 4.6, Çizelge 4.14).



Resim 4.6. *E. ventrale*'nin yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerinin esteraz enzimlerinin Native-PAGE zimogramı [38]

Çizelge 4.14.E. *ventrale*'nin yeni (A), 1-5 günlük (B-F) yumurtaları, yeni nimf (G), 1-5. evre (H-L), ve ergin (M) bireylerinin esteraz enzimlerinin Native-PAGE çizimleri



Çizelge 4.15. *E. ventrale*'nin yumurta-ergin morfogenezini boyunca farklı gelişimsel evrelerinde Native PAGE metodu ile açığa çıkartılan esteraz bant sayıları

TÜR	EVRE	NATIVE-PAGE
		ESTERAZ SAYISI
<i>Eurydema ventrale</i>	Yeni Yumurta	2
	1 günlük yumurta	2
	2 günlük yumurta	2
	3 günlük yumurta	2
	4 günlük yumurta	2
	5 günlük yumurta	3
	Yeni Nimf	6
	1. Evre Nimf	4
	2. Evre Nimf	10
	3. Evre Nimf	12
	4. Evre Nimf	17
	5. Evre Nimf	15
	Ergin Evre	14

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Birçok araştırmacı hemimetabol ve holometabol böceklerin yumurtaları, erginleri ve gelişim dönemindeki nimf veya larvalarının protein örgülerinde meydana gelen bir takım değişikliklerin varlığını belirlemişlerdir.

Hemimetabol bir böcek olan *Oncopeltus fasciatus*'un 3., 4. ve 5. evre nimfleri ile erginlerinin yağ dokusu ile hemolenfindeki protein özelliklerini SDS-PAGE yöntemiyle incelemişler ve protein örgülerindeki kalitatif ve kantitatif değişimleri göstermişlerdir. Bu bulgularda 3. nimfal evrenin hemolenfinde 29 protein bandı, 4. ve 5. nimfal evrede 45 protein bandı, erginde ise 41 protein bandı tespit edilirken, yağ dokusunda 3. nimfal evrede 18 protein bandı, 4. nimfal evrede 34 protein bandı ve 5. nimfal evre ile ergin evrede 25 protein bandı tespit edilmiştir [14].

Başka bir çalışmada da yine aynı böcek olan *Oncopeltus fasciatus*'un total vücut proteinleri incelenmiş; 3. ve 4. nimfal evrede 31 protein bandı, 5. nimfal evrede 30 protein bandı ve ergin evrede 28 protein bandı tespit edilmiştir. Bu çalışmanın devamında *Grophosoma lineatum*'un total vücut proteinlerinde; 3. evre nimfte 22 protein bandı, 4. nimfal evrede 21 protein bandı, 5. nimfal evrede 20 protein bandı ve ergin evrede 14 protein bandı tespit edilmiştir [37].

Eurydema blandum, *Aelia rostrata* ve *Eurydema ventrale*'nin total vücut proteinlerinin çalışıldığı bu çalışmada; *E. blandum*'un 3. nimfal evrede 6 protein bandı, 4. nimfal evrede 6 protein bandı, 5. nimfal evrede 4 protein bandı ve ergin evrede 5 protein bandı tespit edilmiştir. *E. blandum* gibi hemimetabol bir böcek olan *A. rostrata*'nın 3. nimfal evre, 4. nimfal evre, 5. nimfal evre ve ergin evrede total olarak 10 protein bandı tespit edilmiştir. *E. ventrale*'de ise 3. nimfal evre, 4. nimfal evre ve 5. nimfal evre ile ergin evrede total olarak 5 protein bandı tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda proteinlerde bir takım kalitatif ve kantitatif değişimler tespit edilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada ise *E. blandum*'un total proteinlerinde kalitatif ve kantitatif değişimler söz konusuysen, *A. rostrata* ve *E. ventrale*'nin total

vücut proteinlerinde kantitatif olarak değişiklikler gözlenmemiş buna karşın kalitatif olarak değişimler tespit edilmiştir [14, 15].

Holometabol böceklerde yapılmış çalışmalardan da benzer sonuçlar elde edilmiştir. *Galleria mellonella*'nın 5. instar, 6. instar ve 7. instar larvalarının yine yağ dokusu ve hemolenfindeki proteinleri SDS-PAGE yöntemiyle analiz edilmiş ve benzer şekilde proteinlerdeki kalitatif ve kantitatif değişimler gösterilmiştir. Holometabol bir böcek olan *Culicoides verripennis*'in (Diptera: Cerratopogonidae) yumurtadan-ergine gelişim sürecinde total vücut proteinleri incelenmiş; larval, pupal ve ergin de meydana gelen benzer değişimler gösterilmiştir [14, 15].

Dipterler üzerinde yapılan çalışmalarda evrelere özgü proteinlerin varlığı gösterilmiştir. Lepidopterler üzerinde yapılan benzer çalışmalarda da holometabol böceklerde görülen özelliğin görüldüğü tespit edilmiştir [56, 57].

Oncopeltus fasciatus ve *Graphosoma lineatum*'un yumurta gelişimi, nimfal gelişimi ve tüm gelişime özgü protein bantları da araştırmalarda tespit edilmiştir [37].

Bu çalışmada *E. blandum*, *A. rostrata* ve *E. ventrale*'nin yumurta, nimfal gelişimleri ile tüm gelişime özgü protein bantları da tespit edilmiştir. Gerek hemimetabol gerekse holometabol böceklerde gözlenen bu evrelere özgü protein bantlarının protein sentezinin tek evre için gerçekleşebileceğini gösterirken, bir kısım protein sentezinin ise tüm gelişime özgü olarak gerçekleştirilebileceğini göstermektedir.

Bazı araştırmacılar tarafından gelişim sürecinin farklı evreleri üzerinde yapılan çalışmalarda, böceğin esteraz aktivitesindeki değişimler ortaya konmuştur. Nişasta jel elektroforezi ve Native-PAGE elektroforez metodları ile *Graphosoma lineatum* ve *Oncopeltus fasciatus*'la yapılan çalışmalarda yumurta gelişiminde ve nimfal gelişimde esteraz aktivitelerinde meydana gelen bir takım değişiklikler ortaya koyulmuştur [37].

Oncopeltus fasciatus ve *Graphosoma lineatum* ile yapılan çalışmada; *Oncopeltus fasciatus*'un 3. evre nimfi ve *Graphosoma lineatum*'un 4. evre nimfinde esteraz aktivitesinin en yüksek düzeyde olduğunu belirlenmiş ve bu evrelerden sonra ise esteraz aktivitesinin azalış gösterdiği belirtilmiştir [37].

E. blandum ve *E. ventrale*'nin 4. evre nimf, *A. rostrata*'nın ise ergin evrede esterazların maksimum aktiviteye ulaştıkları gelişimsel evreler olarak dikkat çekmektedir (Bkz. Çizelge 4.11, Çizelge 4.13, Çizelge 4.15). *E. blandum* ve *E. ventrale*'de bu evrelerden itibaren esteraz bantının aktivitesinde az miktarda da olsa azalış söz konusuysen, *A. rostrata*'nın esteraz aktivitesi 3., 4. ve 5. nimfal evrelerde sabit, ergin evrede maksimum olduğu gözlenmektedir (Bkz. Çizelge 4.13). Zararlı böceklerle mücadelede kullanılan insektisitlere karşı böceklerin gösterdikleri dirençte yüksek esteraz aktivitesinin rol oynadığı birçok araştırmada ortaya konmaktadır. Böceklerin kimyasal ilaçlara, insektisitlere karşı geliştirdikleri dirençte etken esteraz aktivitesinin yüksek olması ise, zararlı böceklerin yumurtadan ergin birey hale geldikleri gelişim süreci içerisinde esteraz aktivitelerinde meydana gelen değişimlerin tespit edilmesi; zararlılarla yapılan zirai mücadeleyi daha etkili hale getirebilecek ve bunun neticesinde de dolaylı yollarla insan sağlığını olumsuz etkileyen insektisitlerin, pestisidlerin etkilerini en aza indirgeyebilecek ayrıca çevre üzerindeki zararları da azaltabilecektir [26-28].

Anopheles türlerinin incelendiği çalışmada esterazların larval, pupal ve ergine özgü ayrıca tüm gelişime özgü esteraz bantları tespit edilmiştir. Yine *Oncopeltus fasciatus* ve *Graphosoma lineatum* ile yapılan çalışmada da yumurta gelişimine, nimfal gelişime ve tüm gelişime özgü esteraz bantları belirlenmiştir ve evrelere özgü esteraz bantlarının; bulunduğu evreye özgü bir takım olaylarda rol alabileceğini, tüm gelişim boyunca devam eden esteraz bantlarının genel metabolik olaylarda rol alabileceği ileri sürülmüştür. Bunun yanında *E. blandum*'un 5. nimfal evresinde gözlenen esteraz bantları (est-4 ve est-10 bantları) ergin evre için gerekli olan bir takım maddeleri sentezlemek üzere ifade edildiklerini düşündürmektedir [37, 58].

İncelenen *E. blandum* ve *E. ventrale* ve *A. rostrata*'da ise; evrelere özgü esteraz bantları söz konusudur (Bkz. Resim 4.4- Resim 4.6 ve Çizelge 4.10, Çizelge 4.12, Çizelge 4.14). Yapılan çalışmalar hemimetabol ve holometabol böceklerde her ne kadar gelişim farklı şekilde gerçekleşse de esteraz sentezinin birbirleriyle uyumlu olabileceğini göstermektedir.

Nimfal gelişimde yumurta gelişimine göre daha fazla esteraz bandı ortaya çıktığı ve bunun nedeninin ise yumurtanın açılmasıyla esteraz enzimini kodlayan bir çok lokusun nimfal gelişimin başında ifade edilmesinden dolayı olabileceği ortaya konmuştur. Bu çalışmada ise yine *E. blandum*, *A. rostrata* ve *E. ventrale*'nin nimfal gelişiminde yumurta gelişimine göre daha fazla sayıda esteraz bandı tespit edilmiştir. Bu durumu *E. ventrale* için ele alırsak 5 günlük yumurtada 3 olan esteraz bandı sayısı yumurtanın açılmasıyla 6'ya yükselmiştir (Bkz. Çizelge 4.15). Bu durumda yumurtanın açılmasıyla esteraz enzimini kodlayan birçok lokus nimfal gelişimin hemen başında ifade edilmiştir. *E. ventrale*'nin, *E. blandum* ve *A. rostrata*'ya göre esteraz ekspresyonunun gelişimle daha uyumlu olduğu söylenebilir [37].

Oncopeltus fasciatus'un gelişim süreci ile yapılan çalışmada yeni yumurta evresi ile 1 günlük yumurta evresindeki esteraz içeriklerinde; yumurtada gözlenen evreye özgü esteraz bantlarının annenin maternal gen ürünlerinin olabileceği ve bu esterazların anneye ait olan maternal etkili genlerin ifade edilmesi sonucu sentezlenen ve yumurtanın belirli bölgelerinde lokalize olan mRNA'ların translasyonu sonucu ortaya çıkabileceği ileri sürülmüştür. *E. blandum*, *A. rostrata* ve *E. ventrale* ile yaptığımız çalışmada *A. rostrata*'nın yeni ve 1. günlük yumurtası incelendiğinde; yeni yumurta evrede var olan esteraz bandının (est-16) 1 günlük yumurtada ve daha sonraki gelişim evrelerinde gözlenmeyip ergin evrede tekrar ortaya çıkması bu esteraz bandının maternal etkili genlerin ürünü olabileceğini düşündürmektedir [37].

E. ventrale'nin 1. evre nimfin başlangıcı olan yeni nimfte gözlenen est-2 ve est-5 bantlarının 1. evre nimfte kaybolması aynı evre içinde esteraz sentezindeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Bkz. Çizelge 4.14).

Yapılan çalışmalarda gelişimin çeşitli evrelerinde ortaya çıkan ancak başka bir gelişim evresinde tekrar gözlenebilen esteraz bantlarının farklı lokusların ürünleri olabilecekleri aynı lokusu temsil eden ancak böcek gelişimine bağlı olarak sentezi farklı biçimde gerçekleştirilen esteraz bantlarının olabileceğini ya da kullanılan teknikle gösterilemeyecek kadar düşük aktivitede sentezlendiği belirtilmiştir. *E. blandum*'un gelişimindeki est-1 bantının yeni yumurtada ortaya çıkıp 1 günlük yumurta da kaybolup 2 günlük yumurtada tekrar ortaya çıkması, est-23 bantının 2. evre nimfte ortaya çıkması 3. ve 4. evrelerde kaybolup 5. evre nimfte tekrar ortaya çıkması; benzer bir olayın *A. rostarata*'da est-21 bantının yeni nimfte ortaya çıkıp 1. evre nimfte kaybolması ve 2. evre nimfte tekrar ortaya çıkması ve aktivite olarak yakın olmaları bu bantların farklı lokusların ürünü yada aynı lokusu temsil eden ve gelişime bağlı olarak sentezi farklı bir biçimde gerçekleştirilen esteraz bantları da olabilir (Bkz. Çizelge 4.12) veya kullandığımız teknikle gösterilemeyecek kadar düşük aktivite sentezlenmiş olabilir. Gelişim sürecinde meydana gelen esteraz aktivitesindeki farklılık ise gen ekspresyonunun farklı oranlarda olabileceğini göstermektedir [37].

Dipterlerde çoklu esteraz aktivitesi tespit edilmiş ve bu bantların fazla lokus tarafından kontrol edildiği sonucunu çıkarmışlardır. Heteropterlerle yapılan çalışmada da esteraz enzimi sentezinin birçok lokus tarafından kontrol edildiği tespit edilmiştir. *E. blandum*, *A. rostarata*, *E. ventrale* ile yapılan bu çalışmada da esteraz enziminin sentezinde birçok lokusun etkili olabileceği belirlenmiştir [37, 59].

Böcek gelişiminde ortaya çıkan esteraz enzimlerinin fonksiyonları araştırmacılar tarafından belirlenmiştir. Bu çalışmalarda kolinesterazların sinir sistemiyle ilişkili olduğu ve non-spesifik esterazların, ergin böceklerde asetilkolin salgılanmasıyla ilişkili olduğu ayrıca tüm yumurta gelişimindeki fizyolojik olaylara katılmakta olduklarını belirlemişlerdir.

Oncopeltus fasciatus'un gelişen embriyo ve genç nimflerinin dokularının histokimyasal yöntemlerle boyanarak yapılan çalışmada aromatik esteraz, aliesteraz ve kolin esterazların gelişim sürecindeki çeşitli evrelerde üretildiğini, bu esterazların

hücre ve dokularda bulduklarını ayrıca buldukları bölgelerdeki çeşitli olaylarda görev yaptıkları ileri sürülmüştür. Yapılan çalışmada 3 günlük yumurtada non-spesifik esterazın seroza hücrelerinde bulunduğu ve subkordiyal membran oluşumunda görev yaptığı, 4 günlük yumurtada tespit edilen asetilkolin esterazın sinir sisteminin gelişiminde, 4 günlük embriyoda ise epidermal hücrelerde aromatik esterazın embriyonik kütikula oluşumunda görev yaptığı ileri sürülmüştür. Bu çalışmada tüm vücut homojenatlarındaki esterazlar incelendiği için hücre ve dokulara özgü esterazların özelliklerinin karakterizasyon çalışması yapılmamıştır [20].

Gelişim sürecinde çeşitli evrelerde ortaya çıkan ve daha sonra gözden kaybolan esterazların da buldukları dönemdeki gelişimsel olaylarda görevli oldukları söylenebilir.

Anopheles larvalarında yapılan çalışmada larvalarda tespit edilen yüksek esteraz aktivitesinin ekdizon hormonu üzerinde düzenleyici rol oynayabileceği belirtilmiştir. Başka bir çalışmada ise karboksil esterazın JH seviyesini düzenlemede rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. [59, 60]

E. ventrale, *E. blandum* ve *A. rostrata*'nın yumurtadan ergine kadar devam eden gelişim sürecindeki farklı gelişim evrelerindeki esteraz profillerinin belirlenmesi ileride bu esterazların lokalize oldukları bölgelerdeki fonksiyonel özelliklerinin belirlenebilmesi amacıyla kullanılabilir.

Araştırmacılar tarafından böcek gelişiminde ortaya çıkan bir takım proteinlerin enzimatik aktivite gösterdiklerini benzer jel üzerinde bu proteinlerin enzimatik aktivitelerinin incelenmesi ve elde edilen enzimatik aktiviteye sahip protein bantlarının bu modeldeki proteinlerle karşılaştırılarak hangi proteinin enzimatik aktiviteye sahip olduğunun belirlenebileceğini ileri sürülmüştür. *E. ventrale*, *E. blandum* ve *A. rostrata*'nın farklı evrelere özgü total protein içeriklerinin jel üzerinde belirlenmesi bu açıdan önem kazanmaktadır [37].

Bu çalışmada kullanılan Heteroptera takımından iki farklı cinse ait türlerin farklı gelişim süreçlerindeki yumurta, nimf ve erginlerinin incelenen enzim ve proteinlerinin benzer özelliklere sahip olduğu görülmektedir. Bundan sonraki çalışmalar için esteraz enzimlerinin karakterize edilerek insektisit direncini gerçekleştiren esterazların tespit edilmesi için, ayrıca daha fazla enzimin çalışılarak karakterize edilmesi ile diğer enzimlerin de insektisit direncindeki rollerinin ve gelişimsel fonksiyonlarının belirlenmesi için önemli olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Demirsoy A., “Yaşamın Temel Kuralları”, Cilt II/ Kısım II, **Meteksan Basımevi**, Ankara, 878 (2001).
2. Memişoğlu, H., Melan, K., Özkan, M. And Kılıç, A. Ü., “Orta Anadolu bölgesinde kımıl (*Aelia rostrata* Boh.)’ın neden olduğu ürün kayıpları üzerine araştırmalar”, **Bitki Koruma Bülteni**, 34 (3-4): 111-121 (1994).
3. Memişoğlu, H., Melan, K., Özkan, M., Kılıç, A. Ü. And Dörtbudak, Y., “Orta Anadolu bölgesinde kımıl (*Aelia rostrata* Boh.)’ın kışlama ve göç durumu üzerine araştırmalar”, **Bitki Koruma Bülteni**, 36 (3-4): 115-142 (1996).
4. Ünal, G., Yılmaz, D., Kılıç, A. U. Ve Dindar, Ö. N., “Orta Anadolu Bölgesinde hububat alanlarında zarar yapan kımıl (*Aelia rostrata* Boh.)’ın kullanılan insektisitlere karşı duyarlılıklarının araştırılması”, **Bitki Koruma Bülteni**, 34 (3-4): 135-142 (1994).
5. Şimşek, Z. ve Yılmaz, T., “Su ve besinin değişik kombinasyonları kullanılarak doğal koşullarda ve iklim odalarında yetiştirilen süne (*Eurygaster integriceps* Put, Heteroptera: Scutelleridae) nimflerinin canlı kalma oranları ile sürelerinin belirlenmesi”, **Türkiye II. Entomoloji Kongresi**, Adana, 433-445 (1992).
6. Şimşek, Z. ve Yılmaz, T., “Doğal koşullarda ve iklim odalarında süne (*Eurygaster integriceps* Put., Heteroptera: Scutelleridae) erginlerinin canlı kalma eğrileri ile yumurtlama periyodunun belirlenmesi”, **Türkiye II. Entomoloji Kongresi**, Adana, 447-457 (1992).
7. Candan, S. “Bazı Pentatomidae (Hemiptera: Insecta) yumurtalarının dış morfolojik yapısı”, Doktora Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, 1-45 (1997).
8. Şimşek, Z., “Güneydoğu Anadolu Bölgesinde süne (*Eurygaster integriceps* Put.) (Het.: Scutelleridae) yumurta parazitoiti *Trissolcus semistriatus* Nees. (Hym.; Scelionidae)’un renkli yapışkan tuzaklar kullanılarak populasyon seyrinin belirlenmesi”, **Bitki Koruma Bülteni**, 36 (1-2) 13: 9-16 (1996).
9. Whittaker. J. R. And West. A. S., “A Strach Gel Electrophoretic Study of Insect Haemolymph Proteins” **Can. J. Zool.**, 40: 655-670 (1962).
10. Laufer, H., “Blood proteins in insect development”, **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 89: 490-515 (1960).
11. Laufer, H., “Form of enzymes in insect development”, **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 94: 825-835 (1961).

12. Tefler, W. H., Pan, M. L., "Storage hexamer utilization in *Manduca sexta*" 6 pp. *Journal of Insect Science*, 3: 26 (2003).
13. Igbokwe, E. C., "Numerical electrophoretic analysis and behaviour of larval proteins among *Aedes mosquito*", *Can. J. Zool.*, 57:979-982 (1978).
14. Ergezen, S. S., and Abdul-Aziz, S., "Comparison of hemolymph and fat body electrophoretic protein patterns during development of *Galleria mellonella* (Holometabola) and *Oncopeltus fasciatus* (Hemimetabola)", *Doğa-TR. J. Of Biology*, 15 (2): 94-107 (1991).
15. Nunamaker, R. A and McKinnon. C. N., " Electrophoretic Analysis of proteins and enzymes in *Culicoides variipennis* (Diptera: Ceratopogonidae)", *Comp. Biochem. Physiol.*, 92 B: 9-16. (1989).
16. Oliveria, P. L., Petretski, M. D. A., Masuda, H., "Vitellin processing and degradation during embryogenesis in *Rhodnius prolixus* (Hem.)" *Insect-Biochemistry*, 19 (5): 489-498 (1989).
17. Chinzei, Y., Haruna, T., Miura, K., Numata, H., Nakayama, S., "Purification and characterization of biliverdin-associated cyanoprotein from eggs and hemolymph of the bean bug, *Riptortus clavatus* (Heteroptera: Alydidae)", *Insect-Biochemistry*, 20(6): 545-555 (1990).
18. Sridhara, S., "Macromolecular changes during insect metamorphosis. In Metamorphosis", Edited by L. I. Gilbert and E. Frieden., *Plenum Pres*, 177-216 (1981).
19. Riddiford, M. L. "Hormon action at the cellular level. In Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology", V. 8. Edited by G.A. Kerkut and I. Gilbert", *Pergamon Pres.*, 38-75 (1985).
20. Salkeld, E. H. "The distribution and identification of esterases in the developing embryo and young nymph of the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Dallas)", *Can. J. Zool.*, 39: 589-595 (1961).
21. Erankö, O., Harkönen, M., Kokko, A. And Raisanen, L., "Histochemical and starch gel electrophoretic characterization of desmo- and lyo-esterases in the sympathetic and spinal ganglia of the rat", *J. Histochem. Cytochem.*, 12 (8): 570-581 (1964).
22. Salkeld, E. H., "Electrophoretic separation and identification of esterases in eggs and young nymph of the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Dallas)", *Can. J. Zool.*, 43: 593-602 (1965).

23. Menzel, D. G., Craig, R. And Hoskins, W. M., "Electrophoretic properties of esterases from susceptible and resistant strains of the housefly, *Musca domestica* L." **J. Insect Physiol.**, 9: 479-493 (1963).
24. Ziegler, R., Whyard, A., Downe, E. R., Wyatt, G. R. And Walker, V. K., "General esterase, Malathion Carboxylesterase, and Malathion Resistance in *Culex tarsalis*", **Pesticide Biochem. Physiol.**, 28: 279-285 (1987).
25. Takada, H. And Murakami, Y., "Esterase variation and insecticide resistance in Japanese *Aphis gossypii*", **Entomol. Exp. Appl.**, 48: 37-41 (1988).
26. Dittrich, Ö., Ernst, G. H., Ruesch, O. And Uk, S., "Resistance mechanisms in sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Sudan, Turkey, Guetamala, and Nicaragua", **J. Econ. Entomol.**, 83: 1665-1670 (1990).
27. Prabhakaran, S. K. and Kamble, S. T., "Activity and electrophoretic characterization of esterases in insecticide-resistant and susceptible strains of German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae)", **J. Econ. Entomol.**, 86: 1009-1013 (1993).
28. Bloch, G. and Wool, D., "Esterase activity in populations of the whitefly, *Bemisia tabaci* (Aleyrodidae: Homoptera) heritability and associated organophosphorus insecticide resistance", **Bull. Entomol. Res.**, 85: 11-19 (1995).
29. Riley, D. G., Tan, W. J. and Wolfenbarger, D., "Esterase isozymes associated with bifenthrin resistance in the silverleaf whitefly (Homoptera: Aleyrodidae)", **J. Entomol. Sci.**, 34 (3): 295-304 (1999).
30. Devonshire, A. L. and Moores, G. D., "A carboxylesterase with broad substrate specificity causes organophosphorus, carbamate and pyrethroid resistance in peach-potato aphids, (*Myzus persicae*)", **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 18: 235-246 (1982).
31. Mouches, C., Pasteur, N., Berge, J. B., Hyrien, O., Raymond, M., Saint Vincent, B. R., Silvestri, M. And Georgiou, G. P., "Amplification of an esterase gene is responsible for insecticide resistance in California *Culex mosquito*", **Science**, 233: 778-780 (1986).
32. Hemingway, J., Coleman, M., Paton, M., McCarroll, L., Vaughan, A. and DeSilva, D., "Aldehyde oxidase is co-amplified with the world's most common *Culex mosquito* insecticide resistance-associated esterases", **Insect Mol. Biol.**, 9: 93-99 (2000).
33. Conyers, C. M., MacNicoll, A. D. and Price, N. R., "Purification and characterization of an esterase involved in resistance to organophosphorus insecticide in the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae)", **Insect Biochem. and Mol. Biol.**, 28: 425-448 (1998).

34. Stoltzman, C. A., Stocker, C., Borst, D. and Stay, B., “Stage-specific production and release of juvenile hormone esterase from the ovary of *Diploptera punctata*”, *J. Insect Physiol.*, 46: 771-782 (2000).
35. Scharf, M. E., Ratliff, C. R., Wu-Sharf, D., Zhou, X., Pittendrigh, B. R., Bennett, G. W., “Effects of juvenile hormone III on *Reticulitermes flavipes*: changes in hemolymph protein composition and gene expression”, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35: 207-215 (2004).
36. Philpott, M. L. and Hammock, B. D., “Juvenile hormone esterase is a biochemical anti-juvenile hormone agent”, *Insect Biochem.*, 20 (5): 451-459 (1990).
37. Gölpınar, M., “*Graphosoma lineatum* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) ve *Oncopeltus fasciatus* (Dallas) (Heteroptera: Lygaeidae)’un Farklı Gelişim Evrelerindeki Total Proteinlerin ve Esterazların Elektroforetik Analizi” Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 23-63 (2004).
38. Özel, G., Arşivinden, (2005).
39. Laemmli, U. K., “Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4”, *Nature*, 227: 680-685 (1970).
40. Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T., “Molecular cloning, a laboratory manual”, Second Edition, *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, New York, 6.36-6.50 (1989).
41. Esen, A. “Simple Method for Quantitative, Semiquantitative, and Qualitative Assay of Protein”, *Anal. Biochem.*, 89: 264-273 (1978).
42. Hillis, D. M and Moritz, C., “Molecular Systematics”, *Sinauer Associates Inc.*, USA. P., 45-127 (1990).
43. Harris, H. and Hopkinson, D. A., “Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics”, *North-Holland Publishing Company, Amsterdam; Oxford American Elsevier Publishing Company Inc.*, New York, 3.1.1-3.1.1.2 (1976).
44. Lodos, N ve Önder, F., “Heteroptera: Türkiye ve Palearktık bölge familyaları hakkında genel bilgi”, *E.Ü. Ziraat Fak.Yay.*, İzmir, 359: 111 (1986).
45. Butler, E.A., “A Contribution to the life history of *Piezodorus lituratus*”, *Ent. Mont.Mag.*, 53: 34-39 (1917).

46. Lodos, N., "Ege Bölgesinde muhtelif bölgelerinde tesadüf edilen Pentatomidae (Hemiptera- Heteroptera) familyasına bağlı bazı türlerin yumurtaları üzerinde araştırmalar", *E.Ü.Ziraat Fak. Derg.*, A, 1(1): 17-37 (1964)
47. Lodos, N., "Türkiye Entomolojisi II. Genel, Uygulamalı, Faunistik", Cilt II, *E.Ü. Ziraat Fak. Yay.*, İzmir, 423-463 (1968).
48. Benedek, P., "On the *Eurydema* species in Hungary. VII. The eggs of *Eurydema* (Heteroptera, Pentatomidae)", *Z. Angew. Ent.*, 61: 113-118, (1968)
49. Ural, İ., Işık, M., Kurt, A., "Doğu Karadeniz Bölgesi fındık bahçelerinde tespit edilen böcekler üzerinde bazı incelemeler", *Bitki Koruma Bülteni*, 13 (2): 55-66 (1973).
50. Lodos, N., Önder, F., Atalay, R., "Ege ve Marmara bölgesinin zararlı böcek faunasının tespiti üzerinde çalışmalar", *Gıda ve Tar.Hay. Bak. Zir. Müc. Kar. Müd. Yay.*, 134-173 (1978).
51. Yiğit, A., Uygun N., "Adana, İçel, Kahramanmaraş illeri elma bahçelerinde zararlı ve yararlı faunanın saptanması üzerinde çalışmalar", *Bitki Koruma Bülteni*, 22(4): 163-178 (1982)
52. Karsavuran, Y., "Bornova (İzmir) Koşullarında çeşitli kültür bitkilerinde zarar yapan *Dolycoris baccarus* (Heteroptera: Pentatomidae)' un biyolojisi ve ekolojisi üzerinde araştırmalar", *Türk Bitki Koruma Dergisi*, 10 (4): 213-230 (1986).
53. Karsavuran, Y., "Laboratuarda bazı bitkilerin tohumları ile beslenen *Nezera viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) nimflerinin gelişme süreleri ve canlı kalma oranları üzerinde araştırmalar", *Türk. Ent. Derg.*, 15 (1): 43-50 (1991)
54. Karsavuran, Y., "Laboratuarda *Graphosoma lineatum* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) nimflerinin gelişmesine bazı besinlerin etkileri üzerinde araştırmalar", *Türkiye II. Entomoloji Kongresi*, Adana, 1-8 (1992).
55. Lodos, N., Önder, F., Atalay, R., "Ege ve Marmara bölgesinin zararlı böcek faunasının tespiti üzerine çalışmalar" *Gıda ve Tar. Hay. Bak. Zir. Müc. Kar. Müd. Yay.*, Ankara, 135-173. (1978).
56. Duke, E. J. and Pantelouris, E. M., "Ontogenesis of haemolymph proteins in *Drosophila melanogaster*", *Comp. Biochem. Physiol.*, 10B: 351-355 (1963).
57. Loughton B. G. and West A. S., "The development and distribution of haemolymph proteins of Lepidoptera", *J. Insect. Physiol.*, 11: 919-932 (1965).

58. Santos, J. M. M., Tadei, W. P. and Contel, E. P. B., "Ontogeny of esterases, leucine aminopeptidase and alfa-glycerophosphate dehydrogenase in *Anopheles (Nyssoprhynchus) darlingi* Root, 1926 (Diptera: Culicidae)", *Rev. Brasil. Biol.*, 56 (3): 591-598 (1996).
59. Rodriguez, G. A. D., Santos, J. M. M. and Maia., D. F., "Ontogenetic patterns and genetic variation in *Anopheles intermedius* Chagas, 1908 and *Anopheles mattogrossensis* Lutz&Neiva, 1911 (Diptera: Culicidae) in the Brazilian Amazon", *Rev. Bras De Biol.*, 60: 1-13 (2000).
60. Whitmore, D. Jr., Whitmore, E. and Gilbert, L. I., "Juvenil hormone induction of esterases: A mechanism for the regulation of juvenile hormone titer", *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 69 (6): 1592-1595 (1972).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : ÖZEL, Gülay
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : 18.08.1980, Ankara
Medeni Hali : Bekar
Telefon : 0216 6801611
e-mail : ozgulay2001@yahoo.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Gazi Üniversitesi	2003
Lise	Yenimahalle Şentepe Lisesi	1997

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2005	Adli Tıp Kurumu Başkanlığı Biyoloji İhtisas Dairesi İstanbul	Biyolog

Yabancı Dil

İngilizce