

Bakır Sülfat Pentahidratın ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) Büyük Balmumu Güvesi *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) ve Un Kurdu *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) Larvalarının Hemosit Sayıları Üzerine Etkisi

Ata ESKİN^{1*} , Sabri TAŞDİREK¹ , Fatih KIRMIZIKAR¹ 

¹ Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Avanos Güzel Sanatlar Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Nevşehir, Türkiye

Sorumlu Yazar/Corresponding Author
E-mail: ataeskin@nevsehir.edu.tr

Araştırma Makalesi/Research Article
Geliş Tarihi/Received: 07.08.2024
Kabul Tarihi/Accepted: 02.12.2024

Öz

Galleria mellonella L. (Lepidoptera: Pyralidae) ve *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae), günümüzde bilimsel çalışmalarda model sistemler olarak tanımlanan ve bu amaçla kullanılan böcek türleridir. Bakır sülfat pentahidratın ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (BSP), tarımsal faaliyetlerde yoğun olarak; fungusit ve algisit etkili olmak üzere çeşitli organizmalara karşı kullanılmaktadır. Toplam hemosit sayısı (THS) ise böcek kan dolaşımındaki hemositlerin konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. Çalışmada, BSP'nin 100, 250 ve 500 ppm dozlarının, *G. mellonella* ve *T. molitor* larvalarının toplam hemosit sayıları üzerine etkisi incelendi. BSP, her iki türün son dönem larvalarına zorla besleme tekniği ile verildi. BSP maruziyetinin 24. saat sonrasında larvaların THS sayıları belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre, 100, 250 ve 500 ppm dozlarına maruz kalan *G. mellonella* larvalarının THS değerlerinde önemli bir farklılık elde edilmez iken, 250 ppm BSP dozuna maruz kalan *T. molitor* larvalarının THS değerleri önemli düzeyde artış gösterdi. Bu sonuçlar aynı zamanda iki farklı böcek türünün THS değerleri açısından BSP'ye karşı ortak yanıtlarına da vurgu yapmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bakır sülfat pentahidrat, *Galleria mellonella*, *Tenebrio molitor*, Toplam hemosit sayısı

Influence of Copper Sulfate Pentahydrate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) On the Hemocyte Counts of the Greater Wax Moth *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) And the Yellow Mealworm *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) Larvae

Abstract

Galleria mellonella L. (Lepidoptera: Pyralidae) and *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) are insect species that are defined and used as model systems in scientific studies. Copper sulphate pentahydrate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (CSP) is widely used in agriculture as a fungicide and algacide against various organisms. Total haemocyte count (THC) is defined as the concentration of haemocytes of the insect circulatory system. In the study, the effect of CSP at doses of 100, 250, and 500 ppm on the total haemocyte counts (THCs) of *G. mellonella* and *T. molitor* larvae was investigated. CSP was administered to the last instar larvae of both species using a force-feeding technique. THCs were determined 24 hours after CSP exposure. According to the obtained results, while there was no significant difference in the THCs values of *G. mellonella* larvae exposed to 100, 250 and 500 ppm doses, the THCs values of *T. molitor* larvae exposed to 250 ppm CSP dose increased significantly. These results also highlight the common responses of two different insect species to the CSP in terms of THCs values.

Keywords: Copper sulphate pentahydrate, *Galleria mellonella*, *Tenebrio molitor*, Total haemocyte count

Cite as;

Eskin, A., Taşdirek, S., Kırmızıkar, F. (2024). Bakır sülfat pentahidratın ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) büyük balmumu güvesi *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) ve un kurdu *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) larvalarının hemosit sayıları üzerine etkisi. *Recep Tayyip Erdogan University Journal of Science and Engineering*, 5(2), 103-110. DOI: 10.53501/rteufemud.1529544

1. Giriş

Günümüzde, büyük balmumu güvesi *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) ve un kurdu *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) türleri, bilimsel çalışmalarda model deney organizması olarak literatürde yer almaktadır (Andrade-Oliveira vd., 2023; Giammarino vd., 2024). Hayat döngülerinin kısa olması, sürdürülebilir şekilde kolayca yetiştirilebilir olma özellikleri günümüzde toksikolojik çalışmalarda kullanılmalarına olanak sağlamaktadır (Eskin vd., 2019; Andrade-Oliveira vd., 2023).

BSP, kolayca elde edilebilen ve saklanabilen bir kimyasal madde olup, bakteriyel, algal ve fungal kontaminasyonlara karşı bakterisit, algisit ve fungusit etkileri olan bir kimyasal bileşiktir (Biagi vd., 2014; Miah vd., 2021). Bakır sülfat, suda çözünerek bakır ve sülfat iyonlarına ayrılmaktadır. Canlılar üzerinde daha çok bakır iyonları toksik etki göstermektedir. Bakır iyonlarının organizmada hücrelerin mukoz membranların parçalanmasına neden olduğu, hücre zararı ve hücre ölümlerinin ise hücrede aşırı miktarda bakır toplanmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Bulut ve Kubilay, 2021).

Zorla besleme, genellikle bir boru aracılığıyla yiyeceğin ağızdan mideye verilmesi yoluyla bir kişiyi veya hayvanı yemeye ve içmeye zorlama uygulamasıdır. Mikroorganizmaların veya toksik maddelerin toksisite çalışmaları, zorla besleme tekniği yoluyla böcekler üzerinde gerçekleştirilmektedir (Ramarao vd., 2012; Eskin ve Bozdoğan, 2021).

Böceklerin ve diğer omurgasızların hemolenfinde bulunan hemositler, doğuştan gelen bağışıklık da dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik işlevleri yerine getirirler (Moyetta vd., 2021). Hemositlerin yoğunluğundaki dalgalanmalar (artış veya azalışlar), bağışıklık tepkisinin göstergesi olarak tanımlanabilmektedir (Banville vd., 2012; Eskin, 2023). THS, böcek kan dolaşımındaki hemositlerin konsantrasyonunu ifade etmektedir (Mussel vd., 2015). Önceki çalışmalar, ağır metallerin böceklerin hemosit profili üzerinde belirgin etkiye sahip olduğunu göstermiştir

(Borowska ve Pyza, 2011, Akman Gündüz vd., 2020).

Yirminci yüzyılın ikinci yarısında, nüfus artışıdaki hızlanma çevresel kirliliği artırmış, bu da yaşam kaynaklarının daha fazla kirlenmesine yol açmıştır. Sonuç olarak, ekosistemlerin bozulması giderek daha ciddi bir boyut kazanmıştır. İnsan sağlığı açısından kritik öneme sahip ve çevresel etkileri bulunan kimyasal maddelerin etkilerinin belirlenmesi, ekotoksikoloji ve çevre sağlığı açısından önemli bir araştırma konusu olmuştur (Katalay vd., 2019). Bu anlamda THS, çevresel kirleticilerin etkilerini değerlendirmek için iyi bir biyoindikatör olarak nitelendirilmektedir (Katalay vd., 2019).

BSP'nin yüksek konsantrasyonu tatlı su ve yeraltı suyunda bulunan bazı su ekosistemlerinde tespit edilmiştir (Atabat vd., 2015; Kirici vd., 2017). Karasal ekosistemlerde ise BSP'nin, yaygın kullanımı ve doğal yaşam alanlarına yayılması, bu tür kirleticilerin hedef olmayan türler üzerinde, özellikle de polen taşıyıcılar da dahil olmak üzere böcekler üzerinde yaratabileceği ikincil etkiler hakkında soruları gündeme getirmektedir (Bernardes vd., 2022; Pardo vd., 2024). Özellikle bakır sülfatın, bir böcek türü olan *Partamona helleri* (Friese, 1900) (Hymenoptera : Apidae) üzerinde; yürüme davranışının değişmesine neden olduğu, orta bağırsak epitelinde ve peritrofik matrisinde hasarlara neden olduğu bildirilmiştir (Pardo vd., 2024).

BSP'nin canlı sistemler üzerindeki potansiyel toksik etkileri, kısmi olarak bilinmekte olup bu konuda ek çalışmaların yapılması gerektiği anlaşılmaktadır (Kirici vd., 2017). Bu çalışmanın amacı günümüzde tarımsal faaliyetlerde aynı zamanda bir pestisit olarak da kullanılan, kimyasal bir bileşik olan BSP'nin *G. mellonella* ve *T. molitor* larvalarının THS üzerine etkisini belirlemektir.

2. Materyal ve Metot

2.1 *Galleria mellonella* ve *Tenebrio molitor* Böcek Kültürlerinin Elde Edilmesi

G. mellonella böcek kültürü; karanlık ortamda, 27 ± 4 °C sıcaklık ve %55 ± 5 bağıl nem bulunan laboratuvar şartlarında yetiştirildi. Bunun için larva ile bulaşık petekler, arıcılardan temin edilerek, içerisinde balmumu bulunan 1 litre hacimdeki kavanozlarda kültüre alındı. Ergin hale gelen bireylerin bıraktığı yumurtalar, içerisinde bal mumu bulunduran, delikli kavanoz kapağı ve Amerikan bezi ile ağzı kapalı kavanozlarda kültüre alındı. Söz konusu yumurtalardan gelişen larvalar son dönem ağırlıklarına ulaştıklarında (180 ± 20 mg) deneysel çalışmalar için ayrıldılar.

T. molitor böcek kültürü; 28 ± 3°C, 60 ± %5 bağıl nem içeren laboratuvar koşullarında, içerisinde kalın kepek, mısır nişastası ve elma parçaları içeren delikli plastik kaplarda yetiştirildi. Deneysel çalışmalar için ergin bireylerin bırakmış olduğu yumurtalardan gelişen son döneme ait larvalar (100 ± 20 mg) kullanıldı (Morales-Ramos vd., 2015).

2.2 Kimyasal Maddeler ve Kullanılan Diğer Malzemeler

Bu çalışmanın deneysel aşamalarında; BSP (Tekkim, Lot no: 060315619), distile su, 29 gauge mikro ince insülin şırıngası, PBS (Phosphate Buffered Saline) (Sigma Aldrich, USA), delikli 20 mL sos kapları, Neuber hemositometre (MC, Qiujing, 02270113, Çin), diseksiyon makası (ISOLAB), mikropipet (Thermoscientific-2-20 µL), Swift SW380T marka ve model mikroskop ve lamel kullanıldı.

2.3 Larvalardan Hemolenf Toplanması ve Toplam Hemosit Sayılarının Hesaplanması (THS)

BSP'nin 100, 250 ve 500 ppm konsantrasyonları, her bir son dönem larvaya 10µL dozda olmak üzere 29 gauge mikro ince insülin şırıngası kullanılarak zorla besleme tekniği ile verildi. Bu çalışmada test edilen yüksek konsantrasyona sahip dozlar, günümüzde farklı canlı sistemler üzerindeki toksik etki deneme çalışmaları

kapsamında da test edilmektedir (Bulut ve Kubilay, 2022). Bu çalışmada, kontrol grubu larvalarına sadece distile su 10 µL verildi. Uygulama yapılan larvalar, delikli 20 mL'lik plastik kutulara aktarıldı. Uygulamanın 24 saat sonrasında larvalardan hemolenf toplama ve hemosit sayım aşamalarına geçildi. Bunun için *G. mellonella* türüne ait larvalar buz kalıbının üzerine bırakılarak, birinci arka bacak üzerinden 5 µL hemolenf mikropipet ile alınarak içerisinde 45 µL pıhtılaşma engelleyici solüsyon (PBS) bulunan eppendorf tüplerine aktarıldı (Tojo vd., 2000; Teramoto ve Tanaka, 2004). *T. molitor* larvalarından hemolenf, 3. toraks segmentinden çıkan bacağın diseksiyon makası ile kesilmesi suretiyle elde edildi. Hemolenfler, mikropipet yardımıyla karıştırıldı ve söz konusu karışımdan 10 µl mikropipet ile çekilerek Neubauer hemositometresine yüklendi. Hemosit sayımları, Swift SW380T marka ve model mikroskop kullanılarak gerçekleştirildi. Deney için her bir deney grubundan ve kontrol grubundan bir tekerrürde 5 larva kullanıldı. Çalışma üç tekerrürlü olacak şekilde toplamda 15 adet larva ile gerçekleştirildi. Militredeki toplam hemosit sayıları;

Hücre sayısı / mL = Büyük karede saydığımız hücre sayısı × Sulandırma katsayısı (10) × 10⁴ formülünden yararlanılarak hesaplandı (Prescott ve Breed, 1910).

2.4 İstatistiksel Analizler

Her iki böcek türüne ait elde edilen ortalamalar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırıldı. Ortalamalara ait farklar Tukey testi ile değerlendirildi. Veri analizinde SPSS 11.0 istatistik programı (IBM) kullanıldı. Tüm istatistiksel analizlerde p<0,05 anlamlı kabul edilmiştir. Bu çalışmanın tüm istatistiksel bulgularını içeren tabloda kontrol grubu '0' olarak belirlendi (Tablo 1).

3. Bulgular ve Tartışma

BSP'nin 100, 250 ve 500 ppm dozlarının *G. mellonella* ve *T. molitor* larvalarının toplam hemosit sayıları (THS) üzerine etkisini gösteren bulgular aşağıda Tablo 1'de verilmektedir.

Tablo 1. Bakır sülfat pentahidratın (CuSO₄5H₂O) uygulamadan 24 saat sonra *G. mellonella* ve *T. molitor* larvalarının hemosit sayıları üzerine etkisi

Table 1. The influence of copper sulfate pentahydrate (CuSO₄5H₂O) on the hemocyte counts of *Galleria mellonella* and *Tenebrio molitor* larvae 24 hours after administration

Dozlar (ppm)	Min- Maks	Toplam Hemosit Sayısı (THS) × 10 ⁶ (X ± SH)
<i>Galleria mellonella</i>		
0 (distile su)	11,91-17,64	14,78 ± 1,33 ^{a*}
100	13,62-20,53	17,08 ± 1,60 ^{a*}
250	15,41-23,50	19,46 ± 1,88 ^{a*}
500	13,93-23,06	17,45 ± 2,12 ^{a*}
<i>Tenebrio molitor</i>		
0 (distile su)	12,50-16,41	14,60 ± 0,91 ^{a**}
100	12,21-17,87	14,99 ± 1,34 ^a
250	16,97-26,01	21,49 ± 2,10 ^{b**}
500	13,14-22,50	17,82 ± 2,18 ^{ab}

* Aynı sütunda aynı harfe sahip gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (Tukey, P>0,05).

** Aynı sütunda farklı harfe sahip gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir (Tukey, P<0,05).

Tablo 1.'deki veriler incelendiğinde, THS ortalamalarında *G. mellonella* larvalarının deney grupları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadığı anlaşıldı (df:3, F=1,328, P=0,274, Tukey Testi). *T. molitor* larvalarının deney grupları ve kontrol grubuna ait THS ortalamaları incelendiğinde, 250 ppm BSP'ye maruz kalan larvaların THS ortalamasının (21,49 × 10⁶) kontrol grubu larvalarına göre (14,60 × 10⁶) istatistiksel olarak önemli düzeyde artış gösterdiği anlaşıldı (df:3, F=1,328, P=0,021, Tukey Testi).

Daha önce gerçekleştirmiş olduğumuz ve bileşiminde bakır bulunan diğer çalışmamızda; 38 nm boyutunda ve pul benzeri şekilli CuO nanopartikülleri, *G. mellonella*'nın dördüncü evre (100 ± 20 mg) larvalarına 10, 50, 100 ve 150 µg/10 µL dozlarında olmak üzere zorla besleme tekniği ile larvalara ağızdan verilmiştir (Eskin ve Bozdoğan, 2021). Söz konusu çalışmanın sonucunda, bu çalışmada elde edilen *G. mellonella*'nın THS ortalama sonuçlarına benzer

olarak (Tablo 1), her ne kadar doza bağlı olarak, THS ortalaması kontrol grubuna göre artış gösterse de, söz konusu artış istatistiksel olarak anlamlı düzeyde gerçekleşmemiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar daha önce gerçekleştirmiş olduğumuz çalışma ile uyum gösterdi (Tablo 1) (Eskin ve Bozdoğan, 2021).

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Pyralidae) larvaları üzerinde 500 ppm CuO nanopartikül dozunun, böceğin immün yanıtına etkilerinin çalışıldığı bir araştırmada, söz konusu doza maruziyetten 24 saat sonra deney grubunda, kontrol grubuna göre hemosit yoğunluğunda %19,42'lik bir oranda azalma olduğu tespit edilmiştir (Rahman vd., 2022). Benzer şekilde, etki süresinin farklılığı açısından, bu çalışmadaki sonuçlardan farklı olarak, bakırın 10 mg/L konsantrasyonuna maruz kalan *G. mellonella* larvalarında, 72 saatlik etki süresi sonucunda, toplam hemosit sayısında azalma meydana geldiği Tunçsoy vd., (2020) tarafından bildirilmiştir.

BSP kullanarak sentezlemiş olduğumuz, organik-inorganik hibrit nano çiçekler ile gerçekleştirmiş olduğumuz farklı bir çalışmada, 1000, 2000 ve 6000 ppm nano çiçek dozlarının, *G. mellonella*'nın THS ortalamalarını kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttırdığı tespit edildi (Eskin vd., 2022). Mevcut çalışmada, 250 ppm BSP'nin, *T. molitor* larvalarının THS

ortalamasını, kontrol grubu larvalarına göre önemli düzeyde artmasına neden olduğu anlaşıldı (Tablo 1). Elde edilen bu sonuçlar, Eskin vd., (2022) sonuçları ile uyum göstererek, her ne kadar bu çalışmada farklı bir böcek türü test edilse de (*T. molitor*), söz konusu böceğin bağışıklık sisteminin, BSP toksisitesine benzer bir yanıt verdiğini gösterdi.

Helicoverpa armigera (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarının besinine farklı derişimlerde (25, 50 ve 100 mg/kg) Cu ilave edildiğinde, çalışmamızdaki 250 ppm BSP dozuna maruz kalan *T. molitor* larvalarının vermiş olduğu immün yanıtı benzer olarak tüm dozlarda toplam hemosit sayısında artış gözlemlenmiştir (Baghban vd., 2018; Tunçsoy vd., 2020).

Lodhi vd., (2008), BSP'nin tatlı su karidesi *Macrobrachium dayanum*'un (Crustacea-Decapoda) THS üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, yine bu çalışmadaki veriler ile uyumlu olacak şekilde, BSP'ye maruz kalma sonucunda, THS'nin hem akut (24, 48, 72 ve 96 saat) hem de subakut (10, 20 ve 30 gün) sürelerde belirgin dalgalanmalar gösterdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar özellikle THS'nin, BSP'ye ilk olarak 24 saat ve 10 günlük maruziyette, kontrol grubuna göre deney gruplarında (akut: 0,418 mg/L) ve (subakut: 0,105 mg/L) önemli bir artış gösterdiğini gözlemlenmişlerdir. Araştırmacılar bu durumun nedenini; her ne kadar ağır metallerin dolaşımdaki hemositleri tam olarak nasıl etkilediği bilinmese de, THS'nin fizyolojik değişikliklere karşı bir stres yanıtı olarak, lizis ve degranülasyon mekanizmaları ile artış göstermiş olabileceğini, buna ilave olarak bakır iyonlarının stresi sonucunda, hemositlerin larvanın rezerv havuzlarından hemosit sirkülasyonuna dahil olması ile hemolenfte sayılarını artırdıkları şeklinde yorumlamışlardır (Lodhi vd., 2008).

Toksik maddeye bağlı olarak önemli düzeyde artan hemosit yoğunluğunun nedenleri ile ilgili olarak; böceğin bağışıklık sisteminin, toksik maddenin hemosit detoksifikasyonuna karşı bir eylemi olarak (George ve Ambrose, 2004), hematopoezdeki artıştan kaynaklanması

nedeniyle (Kurt ve Kayış, 2015), hemositlerdeki mitotik aktivite artışı ve dolaşımdaki granüositlerin görev alması nedeniyle olabileceği yönünde literatürde değerlendirmeler mevcuttur (King ve Hillyer, 2013; Eskin vd., 2022). Dolayısıyla, *T. molitor* hemolenfinde bulunan hemositlerin, 250 ppm BSP dozuna karşı hemolenfteki yoğunluğunun önemli düzeyde artış göstermesinin nedeni yukarıda açıklanan mekanizmalardan kaynaklı olabilir. Son olarak, 500 ppm BSP dozuna maruz kalan *G. mellonella* ve *T. molitor* larvalarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, toplam hemosit sayılarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farklılığın görülmemesinin nedeni, BSP'nin vücuda alındıktan sonra böceğin bazı doku ve organlarında (sindirim sistemi, boşaltım sistemi, fat body ve bağırsak epitel hücrelerinde) kümeleşme göstermesi ve BSP'nin dışkı ile atılması sonucunda, hemolenfteki yoğunluğunun daha az gerçekleşmesi durumundan kaynaklı olabilir (Raes vd., 1989; Al-Salim vd., 2011) (Tablo 1).

4. Sonuçlar

Sonuç olarak bu çalışmada BSP'nin 100, 250 ve 500 ppm dozlarının, *G. mellonella* ve *T. molitor* larvalarının THS üzerine etkisi incelendi. Elde edilen sonuçlara göre, özellikle *T. molitor* larvalarının hemositlerinin, BSP'ye karşı hemolenfte artış göstermek suretiyle bir yanıt verdiğini ortaya koydu. Çalışma, *T. molitor*'un ağır metaller ile gerçekleştirilecek biyo-deneyler ve toksikolojik çalışmalar açısından biyoindikatör olarak uygun bir organizma olduğunu gösterdi. Mevcut çalışma, gerek BSP'nin böceğe veriliş tekniği açısından gerekse de deneme yapılan türler açısından BSP toksisitesi hakkında araştırmacılara değerli veriler sunmaktadır. Fungusit, algisit etkili olmak üzere çeşitli organizmalara karşı tarımsal faaliyetlerde yoğun olarak kullanılan BSP'nin, önemli sitolojik etkilerinin olduğu ve konsantrasyon artışıyla bu etkilenmenin daha fazla gerçekleştiği bu çalışma ile belirlendi.

Yazar Katkısı

Yazarlar makalenin oluşturulması noktasında gerekli olan tüm aşamalarda eşit katkıda bulduklarını beyan etmişlerdir.

Finansman beyanı

Bu araştırma herhangi bir fon kuruluşundan, ticari veya kar amacı gütmeyen sektörlerden özel bir hibe almamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Etik Standartlar

Bu çalışma için Etik Kurul Kararı gerekmemektedir.

Kaynaklar

Akman Gündüz, N.E., Sevcan, M. and Özcan, Ö. (2020). Effect of cadmium and lead on total hemocyte count of *Achroia grisella* Fabr. (Lepidoptera: Pyralidae). *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(1), 190-194. Doi: <https://doi.org/10.17714/gumusfenbil.531102>

Al-Salim, N., Barraclough, E., Burgess, E., Clothier, B., Deurer, M., Green, S., Malone, L., Weir, G. (2011). quantum dot transport in soil, plants, and insects. *Science of the Total Environment*, 409, 3237–3248. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.05.017>

Andrade-Oliveira, A.L., Lacerda-Rodrigues, G., Pereira, M.F., Bahia, A.C., de Alcântara Machado, E., Rossi, C C. and Giambiagi-deMarval, M. (2023). *Tenebrio molitor* as a model system to study *Staphylococcus* spp virulence and horizontal gene transfer. *Microbial Pathogenesis*, 183, 106304. Doi:

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106304>

Atabati, A., Keykhosravi, A., Askari-Hesni, M., Vatandoost, J., Motamedi, M. (2015). Effects of copper sulfate on gill histopathology of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). -. *Iranian Journal of Ichthyology*, 2(1): 35-42. Doi: <https://doi.org/10.22034/iji.v2i1.13>

Baghban, A., Sendi, J.J., Zibae, A. (2018). Effect of essential and non-essential elements on cellular immune system of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Invertebrate Survival Journal*, 15(1), 158-168. Doi: <https://doi.org/10.25431/1824307X/isj.v15i1.158-168>

Banville, N., Browne, N. and Kavanagh, K. (2012). Effect of nutrient deprivation on the susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to infection. *Virulence*, 3(6), 497-503.

Bernardes, R.C., Fernandes, K.M., Bastos, D.S. S., Freire, A.F.P.A., Lopes, M.P., de Oliveira, L.L., Tavares, M.G., Araujo, R.S., Martins, G. F. (2022). Impact of copper sulfate on survival, behavior, midgut morphology, and antioxidant activity of *Partamona helleri* (Apidae: Meliponini). *Environmental Science and Pollution Research*, 29(4), 6294-6305. Doi: 10.1007/s11356-021-16109-1

Biagi, M., Giachetti, D., Miraldi, E., Figura, N. (2014). New nonalcoholic formulation for hand disinfection. *Journal of Chemotherapy*, 26(2), 86-91. Doi: <https://doi.org/10.1179/1973947813Y.0000000111>

Borowska, J., Sulima, B., Niklińska, M. and Pyza E. (2004). Heavy metal accumulation and its effects on development, survival and immunocompetent cells of the house fly *Musca domestica* from closed laboratory populations as model organism. *Fresenius Environmental Bulletin*, 13, 1402-1409.

- Bulut, C. ve Kubilay, A. (2022). Bakır Sülfatın (CuSO₄·5H₂O) Farklı konsantrasyonlarının gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) üzerine histopatolojik etkileri. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 8(1), 18-27. Doi:10.17216/LimnoFish.777287
- Eskin, A., Öztürk, Ş., Körükçü, M. (2019). Determination of the acute toxic effects of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) in total hemocytes counts of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) with two different methods. *Ecotoxicology*, 28, 801-808. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10646-01902078-2>
- Eskin, A. and Bozdoğan, H. (2021). Effects of the copper oxide nanoparticles (CuO NPs) on *Galleria mellonella* hemocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(4), 1870–1880. Doi: <https://doi.org/10.1080/01480545.2021.1892948>
- Eskin, A., Ekremoglu, M., Altinkaynak, C. (2022). Effects of organic-inorganic hybrid nanoflowers' framework on hemocytes and enzymatic responses of the model organism, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 42, 333–344. Doi: <https://doi.org/10.1007/s42690-02100551-2>
- Eskin, A. (2023). *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) Pupalarının Eşeyssel Yönden Bazı Biyolojik Parametrelerinin Karşılaştırılması. Doğa ve Mühendislik Biliminde Güncel Tartışmalar, *BİDGE Yayınları*, (12), 54-60.
- George, P.J.E. and Ambrose, D. (2004). Impact of insecticides on the hemogram of *Rhynocoris kumarii* ambrose and livingstone (Hem., Reduviidae). *Journal of Applied Entomology*, 128(9-10): 600–604. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2004.00896.x>
- Giammarino, A., Bellucci, N., Angiolella, L. (2024). *Galleria mellonella* as a model for the study of fungal pathogens: advantages and disadvantages. *Pathogens*, 13(3), 233. Doi: <https://doi.org/10.3390/pathogens1303023>
- IBM-SPSS Statistics for Windows. (2011). Version 20.0. Elsevier, London, UK. IBM Corp. Released. Armonk, NY: IBM Corp.
- Katalay, S., Ayhan, M.M. and Günel, A.Ç. (2019). The effects of zinc pyrethrin on total hemocyte counts of mussel (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 36(2), 185-189. Doi: [10.12714/egejfas.2019.36.2.11](https://doi.org/10.12714/egejfas.2019.36.2.11)
- King, J.G. and Hillyer, J.F. (2013). Spatial and temporal in vivo analysis of circulating and sessile immune cells in mosquitoes: hemocyte mitosis following infection. *BMC Biology*, 11:55, 1-15. Doi: <https://doi.org/10.1186/1741-7007-11-55>
- Kirici, M., Turk, C. and Caglayan, C. (2017). Toxic effects of copper sulphate pentahydrate on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation of freshwater fish *Capoeta umbla* (Heckel, 1843) tissues. *Applied Ecology & Environmental Research*, 15(3), 1685-1696. Doi:10.15666/aeer/1503_16851696
- Kurt, D. and Kayış, T. (2015). Effects of the pyrethroid insecticide deltamethrin on the hemocytes of *Galleria mellonella*. *Turkish Journal of Zoology*, 39: 452–457. Doi: <https://doi.org/10.3906/zoo-1405-66>
- Lodhi H.S., Tiwari K.J., Shukla, S. and Sharma U.D. (2008b). Alternations in total haemocyte counts (THCs) of freshwater prawn, *Macrobrachium dayanum* (Crustacea-Decapoda) after copper sulphate exposure. *Journal of Advanced Zoology*, 29(2):92-98.
- Miah, M.A., Blore, K., Xue, R.D. (2021). Effect of copper sulphate pentahydrate on

- mosquito larval *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, and *Anopheles quadrimaculatus* in laboratory and under semi-field conditions. *Journal of the Florida Mosquito Control Association*, 68(1), 79-85. Doi: <https://doi.org/10.32473/jfmca.v68i1.129103>
- Morales-Ramos, J.A., Kay, S., Rojas, M.G., Shapiro-Ilan, D.I. and Tedders, W.L. (2015). Morphometric analysis of instar variation in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 108(2), 146-159. Doi: 10.1093/aesa/sau049
- Moyetta, N.R., Ramos, F.O., Leyria, J., Canavoso, L.E., Fruttero, L.L. (2021). Morphological and ultrastructural characterization of hemocytes in an insect model, the hematophagous *Dipetalogaster maxima* (Hemiptera: Reduviidae). *Insects*, 12(7), 640. Doi: <https://doi.org/10.3390/insects12070640>
- Mussel, Z., Ramsay, R., Davenport, J., Ohalloran J., Culloty, C.S. (2015). Effect of the microcystin-producing cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, on immune functions of the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *Journal of Shellfish Research*, 34(2), 433-442.
- Pardo, C., Bellati, A., Polverino, G., Canestrelli, D. (2024). The dark side of organic farming: Copper sulphate compromises the life history and behaviour of the walking stick insect, *Bacillus rossius*. *Science of The Total Environment*, 29, 6294–6305. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16109-1>
- Prescott, S.C. and Breed, R.S. (1910). The determination of the number of body cells in milk by a direct method. *American Journal of Public Hygiene*, 663-664.
- Raes, H., Bohyn, W., Rycke, De H.P., Jacobs, F. (1989). Membrane-bound iron-rich granules in fat cells and midgut cells of the adult honeybee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 20, 327-337.
- Rahman, A., Pittarate, S., Perumal, V., Rajula, J., Thungrabeab, M., Mekchay, S., Krutmuang, P. (2022). Larvicidal and antifeedant effects of copper nano-pesticides against *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) and its immunological response. *Insects*, 13(11), 1030. Doi: 10.3390/insects13111030
- Ramarao, N., Nielsen-Leroux, C. and Lereclus, D. (2012). The insect *Galleria mellonella* as a powerful infection model to investigate bacterial pathogenesis. *Journal of Visualized Experiments*, 70, 4392.
- Teramoto, T. and Tanaka, T. (2004). Mechanism of reduction in the number of the circulating hemocytes in the *Pseudaletia separata* host parasitized by *Cotesia kariyai*. *Journal of Insect Physiology*, 50, 1103–1111.
- Tojo, S., Naganuma, F., Arakawa, K. ve Yokoo, S. (2000). Involvement of both granular cells and plasmatocytes in phagocytic reactions in the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella*. *Journal of Insect Physiology*, 46, 1129-1135.
- Tunçsoy, B., Kara, A., Özalp, P. (2020). Cu, Zn ve karışımlarının *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının hemosit tipleri ve sayıları üzerine etkileri. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 5(1), 45-51. Doi: <https://doi.org/10.35229/jaes.649536>