



Farklı Kadmiyum ve Kurşun Oranlarının Ergin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nin Yumurta Üretimi ve Açılımı Üzerine Etkileri

Effects of Different Cadmium and Lead Rates on the Egg Production and Hatchability of Adult Pimpla turionellae L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)

Bilge Nur Kaydan , Mehmet Sulanç* 

Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Balcalı, Adana, Türkiye

Öz

Bu çalışmada, kurşun-nitrat ve kadmiyum-klorür gibi ağır metallerin *Pimpla turionellae* L.(Hymenoptera: Ichneumonidae) ergin dişilerinin yumurta verimi ve açılımı üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Deneilerde, kurşun-nitratın besine katılan tüm konsantrasyon değerleri kontrol grubuna göre böceklerin toplam yumurta sayısı ve açılma oranını etkilememiştir. Bununla beraber %0.50 ve %1.00 oranında kadmiyum-klorür içeren sentetik besin hem toplam yumurta sayısı hem de açılma oranını önemli derecede azaltmıştır. Bunun tam tersine %5.00 kadmiyum-klorür konsantrasyonu yumurta verimliliği ve açılma yüzdesini kontrol grubuna göre arttırmıştır. Sonuç olarak, kadmiyum-klorür, yumurta verimi ve yumurta açılım yüzdesini kurşun-nitrat'tan daha fazla düşürmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum, Kurşun, *Pimpla turionellae*, Yumurta açılımı, Yumurta üretimi

Abstract

In this study, the effects of heavy metals such as lead-nitrate and cadmium-chloride on the egg production and hatchability of the adult females of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) were investigated. In the experiments, in all rates of lead-nitrate, added to diets did not significantly affect the total egg productions and percentages of egg hatch comparing to the control group. Furthermore, both total egg productions and their hatchability were significantly decreased by the synthetic diet consisting of 0.50 mg percent and 1.00 mg percent of cadmium-chloride rates. However, 5.00 mg percent of cadmium-chloride concentration increased the egg production and percentage of egg hatch compared to the control group. Consequently, cadmium-chloride decreased the values of egg productions and percentages of egg hatch more than lead-nitrate.

Keywords: Cadmium, Lead, *Pimpla turionellae*, Egg hatchability, Egg production

1. Giriş

Son yıllarda çeşitli sebeplerle ortaya çıkan çevre kirliliği gündemi meşgul eden oldukça önemli bir sorundur. Çevrenin kirlenmesine yol açan etkenlerden biri olan ağır metaller hava, su, toprak ve bunlara bağlı olarak flora ve fauna kirliliğine sebep olmaktadır (Ortel 1989, 1991, 1995a, Türkan 1995, Florea ve Büsselberg 2006, Chouhan vd. 2017). Eser miktarlarda bile tehlikeli olan ağır metallerin atom numaraları büyüdükçe toksisite dereceleri de artmakta ve toksisite derecesinin artmasına bağlı olarak canlı sistemlerde ağır tahribatlara neden olmaktadır. Bu yönüyle ağır metaller

özellikle biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan predatör böcek türlerinin popülasyonlarının azalması ve zamanla yok olması açısından oldukça önem arz etmektedir. Ağır metallerin ekosistemden elimine edilememesi (Linde vd. 1996) sorunun önemini bir kat daha artırmaktadır.

Ağır metaller arasında bulunan kurşun endüstride oldukça geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Doğal su ortamlarında çok düşük miktarlarda bulunmakla birlikte miktarındaki artış atmosferik birikim yoluyla gerçekleşir. Araç trafiğinin yoğun olduğu alanlarda, şehir merkezlerinde ve maden tasviye alanlarında atmosferik birikim yüksek olabilir (McLaughlin vd. 1999). Aynı zamanda tarımsal alanlara kurşun girdisi de kurşun katkısı içeren gazların yanması ve demir dışındaki metallerin eritilmesiyle ortaya çıkan atmosferik birikim artışı ile gerçekleşir. Gelişen fotoğrafçılık ve boya sanayinin atıklarının yanı sıra patlayıcı madde üretimi de

*Sorumlu yazarın e-posta adresi: msulan@cu.edu.tr

Bilge Nur Kaydan  orcid.org/0000-0003-0599-8984

Mehmet Sulanç  orcid.org/0000-0002-0938-0084

kurşun kirliliğinin artışına neden olmaktadır. Çeşitli dozlardaki kurşunun değişik canlı türlerinde teratojenik ve klas-tojenik etkilerinin güçlü olduğu gösterilmiştir (Nordenson vd. 1982; Sharma vd. 1988; Lerda 1992; Winder ve Bonin, 1993, Pandey vd. 2016).

Kadmiyum da ekosistemde toksik ağır metal kirlenmelerine neden olan etkenlerden biridir. Kadmiyum, yüksek toksisitesi ve canlı organizmalarda birikme yeteneği nedeniyle son derece toksik ve mutajenik bir metaldir (Jensen vd. 1990; Jensen ve Bro-Rasmussen 1992, McMurrey ve Tainer 2003). Yüksek toksisitesi ile ekolojik anlamda önemli bir sorun olan kadmiyum, çoğunlukla Cd^{2+} şeklinde +2 değerli katyon olarak bulunur, bazı durumlarda inorganik ligandlarla ilişki kurarak solüsyonda kompleks iyon olarak da bulunabilir (McLaughlin vd. 1996). Aynı zamanda diğer metallerin yerlerine geçerek esas metabolikler ile rekabete girerek hücrel membran transport mekanizmasını etkileyip (Gregory 1997), lipid, protein ve nükleik asitlerin oksidatif hasarlarına yol açarak (Mikhailov vd. 1997), anti-oksidatif ve detoksifikasyon enzimlerinin aktivitesini değiştirip, nörohormonların sentez ve salınımını engelliyerek etkisini gösterir (Lijun vd. 2005, İlijin vd. 2010).

Belirtilen yollarla besin, su, toprak ve hava ortamlarında miktarı artan ağır metaller çeşitli canlı türlerinde kalıcı zararlara yol açmakta ve hatta ölümlere neden olmaktadır. (Gupta 2013, Suganya vd. 2016). Bu olumsuz durum özellikle biyolojik kontrol programlarında kullanılabilirliği olan böcek türleri için biyo-indikatör nedeni olarak değerlendirilebilir.

Aynı zamanda diğer canlı organizmalarda da olduğu gibi ekosistemlerinde gelişen olumsuz faktörlerden etkilenmeleri kaçınılmazdır. Örneğin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) bir kaç lepidopter türünün pupal endoparazitoididir ve kolaylıkla kültüre alınabilen parazitik hymenopterlerin ilk temsilcisidir (Yazgan 1981).

Pimpla turionellae'de kadmiyum, kurşun ve kadmiyum + kurşunun beslenme yoluyla özellikle kadmiyumla kontamine olan parazitoidlerin su içeriğinde bir artma ile birlikte total lipid ve protein içeriğinde bir azalma bulunmuş (Ortel 1991), aynı zamanda su ve besin içeriğine bakılarak kadmiyumun kurşuna göre daha düşük konsantrasyonlarda ortalama ömrü azalttığı belirlenmiştir. *Ceratitis capitata*'da kurşun, kadmiyum ve bakırın besin yoluyla birikimi ve metallerin tek tek pupal parazitoid *Coptera occidentalis*'e transferi kontamine diyetler yoluyla deneysel olarak incelenmiş, kadmiyum ve çinkonun, kurşun ve bakırdan daha fazla birikim yaptığı gözlenmiştir (Kazimirova ve Ortel, 2000).

Her ne kadar belirtilen çalışmalar böceklerin ağır metal kirlenmelerinden etkilenme durumlarına ışık tutsa da çoğunluğu larval dönemde gerçekleştirilmiş olup ergin bir dişinin yumurta üretimi ve verimliliği konusunda yetersiz kalmaktadır. Özellikle biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan böceklerin ağır metal etkileri altında, yumurta üretebilirliği ve yumurtaların açılımlarının nasıl etkilendiğinin bilinmesinin biyolojik mücadelede avantaj sağlayacağı bir gerçek olup, bu bilgiler ışığında sunulan çalışmanın amacı, kurşun ve kadmiyumun değişen çevre şartlarında en çok rastlanan kompleksleri olan kurşun nitrat ve kadmiyum klorürün artan konsantrasyonlarının *P. turionellae* ergin dişilerinin yumurta üretimi ve açılımı üzerine etkilerini araştırmaktır.

2. Gereç ve Yöntem

2.1. Böcek Kültürünün Devamlılığı ve Deneysel Böceklerin Beslenmesi

Deneysel böceklerinin elde edilmesi, beslenmesi, laboratuvar koşullarının belirlenmesi, yumurta eldesi ve açılımın sağlanması işlemleri Emre (1988) tarafından belirlenen yöntem ve teknikler uygulanmıştır.

2.2. Deneysel Besinlerinin Hazırlanması

Deneysel sırasında kontrol besin olarak Emre (1988) tarafından kimyasal yapısı belirlenen sentetik besin bileşimi kullanılmıştır. Bu besine %0.05, %0.1, %0.5, %1.0 ve %5.0 oranlarında kurşun nitrat ve kadmiyum klorür çözeltilerinin eklenmesiyle hazırlanan besinlerle *P. turionellae* ergin dişileri beslenmiştir.

2.2.1. Kontrol besinin hazırlanması

Çalışmada Emre (1988) tarafından kullanılan kontrol besinin kimyasal bileşimi Çizelge 1'de verilmiştir

Amino asit karışımı: Bu karışım 100 gramlık stok halinde hazırlanmıştır. Karışımda yer alan amino asit miktarları gram olarak şöyledir: Alanin 7.0; arjinin-HCl 5.0; aspartik asit 6.5; fenilalanin 5.5; glisin 6.0; glutamik asit 10.5; hidroksprolin 1.9; histidin 4.0; izolösin 5.2; lizin 5.3; lösin 7.7; methionin 3.0; prolin 8.2; serin 6.5; sistein 1.3; tirozin 4.0; treonin 5.5; triptofan 2.0; valin 4.5. Belirtilen miktarlarda alınan amino asitler porselen havan içinde ezilerek toz haline getirilmiş ve karışım homojen yapıya kavuşturulmuştur. Karışım renkli bir şişeye konularak ağzı sıkı şekilde kapatılarak saklanmıştır. 100 ml'lik stok besine bu karışımdan 3.0 g katılmıştır.

İnorganik tuz karışımı: Bu karışım için 0.8580 g $CaCl_2$; 0.1572 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; 0.1356 g $CoCl_3 \cdot 6H_2O$;

Çizelge 1. *Pimpla turionellae* bireylerini beslemede kullanılan temel besin bileşimi.

Besin bileşimi	g/100ml
L-Amino asit karışımı	3.000
Lipit karışımı*	6.000
Vitamin karışımı**	9.000
İnorganik tuz karışımı	0.075
RNA	0.075
Sükroz	14.000
2N KOH***	2.500
Saf su	Toplam hacim100 ml oluncaya kadar

* : Besine 6 ml çözelti halinde katıldı.
** : Besine 9 ml çözelti halinde katıldı.
*** : Besine 9 ml çözelti halinde katıldı.

0.5048 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$; 10.5280 g K_2HPO_4 ; 1.4548 g $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$; 3.6920 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0.0112 g $MnSO_4 \cdot H_2O$; 0.2000 g $ZnCl_2$ bir beher içine alınarak 100 ml sıcak su ilavesiyle tuzların çözülmesi sağlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti 150 °C deki etüvde karışımın ağırlığı sabitleninceye kadar bekletilmiştir. Bu süre sonunda suyu tamamen uzaklaştırılmış tuz karışımı porselen bir havana konularak dövülmüş ve karışım homojen bir hale getirilmiştir. Hazırlanan karışım renkli bir şişeye konularak ağız sıkıca kapatılarak kullanılıncaya kadar nem içermeyen bir ortamda saklanmıştır. 100 ml'lik stok besine bu karışımdan 0.075 g katılmıştır.

Lipit karışımı: Karışımda yer alan yağ asitleri ve kolesterol miktarları gram olarak şöyledir: Kolesterol 0.840; linolenik asit 0.1546; linoleik asit 0.0486; oleik asit 0.0641; palmitik asit 0.0041; stearik asit 0.0014. Yağ asitleri ve kolesterol verilen miktarlarda bir homojenizatör tüpüne konmuş, üzerine 2.16 g Tween 80 ve 32.0 ml sıcak su konulduktan sonra UltraTurrax T25 marka homojenizatörde 22.000 devirde 5 dakika süreyle karıştırılmıştır. Hazırlanan bu karışım bir erlenmayere konularak ağız sıkıca kapatılmış şekilde -10 °C'de kullanılıncaya kadar saklanmıştır. Kontrol besine katılmadan önce 40 °C'deki su banyosuna konmuş ve tekrar sıvı hale gelmesi sağlanmıştır. Sıvılaştıran karışım manyetik karıştırıcıda iki dakika süreyle karıştırılarak homojenliği sağlanmıştır. 100 ml'lik stok besine bu emülsiyondan 6.0 ml katılmıştır.

Vitamin çözeltisi: Stok çözeltinin içerdiği vitaminler gram olarak şöyledir: Askorbik asit 0.1120; biotin 0.0004; Ca-pantotenat 0.0296; folik asit 0.0012; inositol 0.1800; kolin klorür 2.6000; nikotinik asit 0.0600; pridoksin-HCl 0.0030;

riboflavin 0.0140; tiamin-HCl 0.0016. Verilen miktarlarda tartılan vitaminler bir erlenmayer içine konulmuş üzerine 90.0 ml saf su ilave edilerek manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözümleri sağlanmıştır. Çözelti suda çözünen vitaminleri içermektedir. Çözeltinin pH'sının 6.5 olması için 0.850 ml 2N K_2HPO_4 ilave edilmiştir. Hazırlanan stok çözelti kullanılıncaya kadar -10 °C'de saklanmıştır. Kontrol besine katılmadan önce çözeltinin oda sıcaklığına gelmesi sağlanmış ve manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 100 ml besine 9.0 ml olarak katılmıştır.

Belirtilen stok çözeltiler hazırlandıktan sonra kontrol besinin hazırlanması şu şekildedir: Öncelikle Çizelge 1.'de belirtilen miktarlardaki L- amino asit karışımı, inorganik tuz karışımı, RNA ve sükroz bir beher konulmuş ve üzerine toplam su miktarının yarısı kadar 80 °C'de saf su eklenerek bu maddelerin çözünmesi sağlanmıştır. Çözelti soğuduktan sonra üzerine lipit karışımı, vitamin karışımı ve pH'yı 6.5'e ayarlamak için 2N KOH eklenmiştir. Daha sonra elde edilen çözeltinin hacmi, saf su ilavesiyle 100 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu besin bir erlenmayer içinde ağız sıkıca kapatılarak buzdolabında saklanmıştır.

2.2.2. Kurşun nitrat içeren çözeltilerin besin serilerine uygulanması

Deneylerin birinci serisi için ağır metal grubu elementlerinden olan kurşun, sentetik besine kurşun nitrat çözeltisi şeklinde katılmıştır. Her derişim için belirlenen kurşun nitrat çözeltisi hazırlanan sentetik besinlere her deney grubu için artan derişimlerde (%0.05, %0.1, %0.5, %1.0 ve %5.0 mg olmak üzere) stok kurşun nitrat çözeltisinden alınarak ilave edilmiştir.

2.2.3. Kadmiyum klorür içeren çözeltilerin besin serilerine uygulanması

Deneylerin ikinci serisi için yine ağır metal grubu elementlerinden kadmiyum, sentetik besine kadmiyum klorür çözeltisi şeklinde katılmıştır. Deney grupları için belirlenen derişimlerde (%0.05, %0.1, %0.5, %1.0 ve %5.0 mg olmak üzere) stok kadmiyum klorür çözeltisi sentetik besinlere ilave edilmiştir.

2.3. Deney Böceklerinin Beslenmesi

Deneylerde pupalardan yeni çıkmış, henüz besin almamış ve çiftleşmemiş *P. turionellae* ergin dişileri kullanılmıştır. Her deney serisinin her grubu için bu dişilerden 4 birey alınarak 500 ml lik beher konulmuş ve ağız çift kat tülbentle kapatılmıştır.

Hazırlanan birinci seri için kontrol ve deney grubu olmak üzere iki deney seti hazırlanmıştır. Kontrol grubu, kontrol

besinle; deney grubu ise farklı kurşun nitrat derişimleri içeren sentetik besinle beslenmiştir. İkinci seri için de birinci seride olduğu gibi kontrol ve deney grubu olmak üzere iki deney seti hazırlanmıştır. Kontrol grubu yine kontrol besinle; deney grubu ise farklı kadmiyum klorür içeren sentetik besinle beslenmiştir. Böceklerin beslenmesi sırasında, hazırlanan besinler 3cm x 3cm boyutundaki alüminyum kağıt parçaları üzerine eşit miktarlarda damlatılarak deney beherlerinin içine yerleştirilmiştir. Beherlerin içine bırakılan besin 1 saat süre ile tutularak böceklerin beslenmesi sağlanmıştır. Deney periyodu süresince bu işlem her gün aynı saatte tekrarlanmıştır. Böcek dışkıları ile kirlenen beherler kontaminasyonu engellemek amacıyla belirli periyotlarda temizlenmiştir.

2.4. Verilerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi

Çalışmanın amacına yönelik olarak *P. turionellae* dişilerinden yumurta elde edilmesi için stok kültürden elde edilen böceklerin deney ortamına alınmasından sonraki 10. günden itibaren parazitlenme işlemine başlanmıştır ve her üç günde bir bu işlem tekrarlanarak 31. güne kadar devam edilmiştir.

Parazitlenme sırasında *G. mellonella* pupaları, deney böceklerinin yumurta bırakmalarını sağlamak, aynı zamanda bu pupaların böcekler tarafından yenmesini engellemek amacıyla iki kat kafes teli ile sarılmıştır. Tel kafesler 25 cm² alana sahip iki kat kafes teli parçasının ortasına pupanın yerleştirilebileceği bir bombenin oluşturulması ile hazırlanmıştır. Parazitlenme sırasında hazırlanan bu bombeye *G. mellonella* pupaları yerleştirilmiş ve açıkta kalan alt kısım alüminyum kağıt parçası ile kapatılmıştır. Bu şekilde deney beherlerine bırakılan pupaya, dış etkilerden zarar görmeden, böceklerin ovipozitörlerini kullanarak yumurtalarını bırakmaları sağlanmıştır.

Deney serilerinin her tekrarında *P. turionellae* dişî bireylerinin yumurtalarını bırakması için tel kafesle çevrilmiş 2 adet *G. mellonella* pupası 1 saat süreyle deney beherlerine bırakılmış, bu süre sonunda pupalar beherlerden alınmıştır. Tel kafeslerden çıkartılan pupalar embriyonik gelişimleri için laboratuvar koşullarında 24 saat süreyle ayrı ayrı petri kaplarında bekletilmiştir. Bu süre sonunda pupalar disekte edilerek yumurta sayımı yapılmıştır.

Diseksiyon işlemi sırasında bir petri kabı içinde % 0.08'lik NaCl çözeltisinde *P. turionellae* tarafından parazitlenmiş *G. mellonella* pupaları ince uçlu bir pens yardımıyla parçalanmıştır. Açığa çıkarılan yumurtalar yumuşak ince uçlu bir fırça yardımıyla yine içinde %0.08'lik NaCl çözeltisi bulunan saat camlarına alınmıştır. Burada 24 saat süreyle

bekletilen yumurtalar süre sonunda binoküler mikroskop altında incelenmiş ve bırakılan toplam yumurta ve açılan yumurta sayısı belirlenmiştir. Her bir deney serisinin her tekrarında aynı işlem uygulanmış her tekrarda bir behere konan iki pupa üzerinde yapılan parazitlenme işleminde bırakılan toplam yumurta sayısı aynı beherdeki dişî böcek sayısına bölünerek dişî birey başına düşen ortalama yumurta sayısı hesaplanmıştır. Bırakılan yumurtaların açılım oranları ise açılan yumurtaların bırakılan toplam yumurta sayısına göre yüzdelerinin hesaplanmasıyla elde edilmiştir.

Bütün deneyler üçer kez tekrarlanmış ve elde edilen veriler çizelgeler halinde sunulmuştur. Her deney serisi için besinlerin etkileri deney periyodu boyunca bir dişî birey tarafından bırakılan ortalama yumurta sayısı (yumurta üretimi) ve yine aynı periyot süresince dişî bireyin bıraktığı yumurtaların açılma yüzdesi (yumurta açılma oranı) hem o serideki kontrol grubu verileri ile hem de kendi aralarında karşılaştırılmak suretiyle değerlendirildi.

Verilerin analizinde SPSS 21.0 paket program kullanılmış ve Varyans Analizi ile Student-Newman Keul's Test (SNK)" testleri uygulanmıştır (Sokal ve Rohlf, 1969).

3. Bulgular

Sunulan çalışmada farklı Kurşun nitrat ve Kadmiyum klorür'ün *Pimpla turionellae* ergin dişisinin deney periyodu boyunca 10. ve 31. günler arasında bıraktığı toplam yumurta sayısı ve açılımı üzerine etkileri Çizelge 2'de sunulmuştur.

Yumurta eldesinin gerçekleştirildiği periyot boyunca (10. ve 31. günler arası) kurşun nitrat içeren besinlerle beslenen dişîlerin bıraktığı yumurta sayısı incelendiğinde %0.50, %1.00 ve %5.00 derişimleri önemli bir etkide bulunmamış ancak %0.05 ve %0.10 derişimleri bırakılan toplam yumurta sayısını önemli derecede düşürmüştür .

Aynı kurşun nitrat derişimlerinin deney periyodu boyunca bırakılan toplam yumurtalarının açılım yüzdesine bakıldığında, kontrol besinle beslenen dişîlerin bıraktığı toplam yumurtaların açılım yüzdesi ile kurşun nitratlı besinlerle beslenen dişîlerin toplam yumurtalarının açılım yüzdesi arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir .

Yumurta eldesinin başladığı 10. günden 31. güne kadar denenen kadmiyum klorür derişimlerinden %0.05, %0.10 ve %5.00'lik derişimler bırakılan toplam yumurta sayısı üzerinde kontrole göre önemli bir etkide bulunmamış bununla birlikte %0.50 ve %1.00'lik derişimler toplam yumurta sayısını önemli derecede düşürmüştür

Çizelge 2. Kurşun nitrat ve Kadmiyum klorür'ün *P. turionellae* ergin dişisinin bıraktığı toplam yumurta sayısına ve açılım yüzdesine etkisi.

Kurşun Nitrat (% mg)	Toplam Yumurta Sayısı (Ort*±S.H**)**	Toplam Yumurta Açılımı (%) (Ort*±S.H**)**
0.00 §	48.90 ± 0.49 a	76.46 ± 1.76 a
0.05	33.98 ± 0.39 b	79.54 ± 1.42 a
0.10	36.07 ± 0.36 b	81.73 ± 2.91 a
0.50	53.64 ± 0.43 a	82.32 ± 2.67 a
1.00	50.02 ± 0.19 a	78.41 ± 2.44 a
5.00	50.40 ± 0.32 a	78.89 ± 4.06 a
Kadmiyum-Klorür (% mg)	Toplam Yumurta Sayısı (Ort*±S.H**)**	Toplam Yumurta Açılımı (%) (Ort*±S.H**)**
0.00 §	48.90 ± 0.49 a	76.4 ± 1.76 a
0.05	48.42 ± 0.42 a	85.98 ± 3.15 b
0.10	40.14 ± 0.43 a	71.43 ± 2.38 a
0.50	16.93 ± 0.37 b	78.28 ± 3.78 a
1.00	2.55 ± 0.53 c	58.33 ± 0.03 c
5.00	55.51 ± 0.21 a	71.49 ± 2.01 a

* : Üç tekrarın ortalaması

** : Standart hata

*** : Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir. p<0.05

§ : Kontrol

Aynı kadmiyum klorür derişimlerinden %0.05'lik derişim kontrole göre istatistiksel olarak toplam yumurta açılım yüzdesini önemli derecede arttırmış; buna rağmen %1.00 lik derişimde ise toplam yumurta açılım yüzdesinde önemli ölçüde bir düşüş gözlenmiştir. Denenen diğer derişimler toplam yumurta açılım yüzdesinde herhangi bir azalış veya artışa neden olmamıştır

4. Tartışma

Biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılan *P. turionellae*'nin devamlılığı diğer endoparazitik hymenopter türlerinin çoğunda olduğu gibi dişi böceğin konak pupaya bıraktığı yumurtalardan ilk açılanın erginleşmesiyle gerçekleşir. Bu nedenle biyolojik mücadelede kullanılmak üzere kitle halinde üretimi amaçlanan bu grupların istenilen seviyede avantaj sağlayabilmesi için verimli dişi birey sayısının artırılması bununla birlikte her gelişme düzeyinde bireylerin çevre şartlarına karşı duyarlılık sınırlarının iyi bilinmesi gerekmektedir.

Ekosistemde bulunan toksik etkili metallerin hem dinamik yapılarının hem de böcek türleri üzerine etkilerinin metal

konsantrasyonlarına göre tam olarak anlaşılması oldukça önem taşımaktadır. Çünkü toksik etkili maddelerin böcekler tarafından alınması sonucu etkilenen metabolik süreçlerin, hem hemolenf içeriğinde hem de sentez olaylarında önemli değişimlere neden olması, ATP ve ADP'nin fosfat gruplarıyla olan reaksiyonları, hücre membranlarının zarar görmesi, sülfhidril gruplarıyla olan reaksiyonları, esas iyonların yerine geçmeleri ve esas metabolitlerle rekabet etmeleri yanı sıra üremeyi de direkt etkilediği sayılabilir (Gupta 2013, Suganya vd. 2016, Gregory 1997).

Besinsel kontaminasyon yoluyla böceklere taşınabilen ağır metallerin böcek türlerinde bağışıklık sistemini geliştirip geliştirmediği (Ooik vd. 2007), bu metallerin hangi konsantrasyonlarda hangi etkilere neden olduğu belirlenmelidir. Bu amaçla, sunulan bu çalışmada kurşun nitrat ve kadmiyum klorürün farklı derişimleri her bir deney grubuna ayrı ayrı olarak uygulanmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre sentetik besine ilave edilen kurşun nitratın %0.05 ve %0.10 derişimlerinin uygulandığı gruplarda ergin dişinin bıraktığı toplam yumurta sayısının azalması, aynı derişimlerde bırakılan yumurtaların

açılım yüzdesinin kontrolden farklı olmaması; bununla birlikte uygulanan diğer derişimlerde ise ne toplam yumurta üretiminde ne de yumurta açılım yüzdelерinde herhangi bir etkinin görülmemesi kurşun nitratin düşük derişimlerinin sadece yumurta üretimi üzerinde negatif yönde etkili olduğu kanısını doğurmaktadır. Ağır metallerin, hücre nükleusu içine membran üzerindeki Ca^{2+} kanallarından girişiyile genotoksik etkiye buldukları (Lin vd. 1993) ve nükleusa giren bu metallerin DNA yapısındaki fosfat grubunun yerine geçerek bağlanması yoluyla hem DNA sentezini (Uysal ve Bahçeci, 1996), hem de oksidatif fosforilasyonu inhibe ettikleri (Moura vd. 2000) bilinmektedir. Kurşun nitratin düşük derişimlerde bırakılan yumurta sayısını azaltması durumu da büyük bir olasılıkla benzer bir mekanizma ile gerçekleşmektedir. Bununla birlikte besin zincirinden kuvvetle asimile edilmesine rağmen kurşunun diğer metallere oranla canlı bünyesinde daha az birikim göstermesi (Kazimirova ve Ortel, 2000) deney periyodunun ilerleyen günlerinde bırakılan yumurta sayısının kurşun nitrat derişimlerinden etkilenmemesi durumunu açıklamaya destek olabilir.

Kadmiyumun değişen konsantrasyonlarında *Hydropsyche pelucidula* larvalarında anal papilla yapısını etkilediği (Vuori ve Kukkonen, 1996); *Acheta domesticus*'da solunum metabolizması verimliliği ve gelişme periyodunda enerji düzeylerini etkilediği (Migula, 1989, Migula vd. 1989), nöroendokrin sistem aktivitelerinde değişikliklere neden olduğu (Ivanovic ve Janković-Hladni, 1991), hormon reseptörlerinin sentezini ve fonksiyonel özelliklerini etkilediği (Cervera vd. 2006, Planello vd. 2010) bilinmektedir. Sunulan bu çalışmadan elde edilen verilere göre ise kadmiyum, ergin dişi bireyin bıraktığı toplam yumurta sayısını önemli derecede etkilemiştir.

Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre kadmiyum klorürün %0.05 ve %0.10 derişimlerinin uygulandığı deney gruplarında *P. turionellae* L. ergin dişisinin bıraktığı toplam yumurta sayısının metalden etkilenmemesi, %0.50 ve %1.00 derişimlerde yumurta sayısının önemli ölçüde azalması, buna rağmen %5.00 olan en yüksek derişimde ise yumurta sayısının kontrol değerlerinden bile fazla bir artış göstermesi dikkate değer bir bulgudur. Düşük kadmiyum düzeylerine maruz bırakılan *Chironomus riparius* larvalarının gelişim hızında kontrole göre artış göstermesi (Timmermans vd. 1992), sunulan çalışmada gözlenen düşük kadmiyum düzeylerinde yumurta sayısındaki artışı destekleyen bir bulgudur. Bununla birlikte yüksek kadmiyum düzeylerinde yine *C. riparius* larvalarının gelişiminin azalması (Pascoe

vd. 1989) çalışma sonucunda elde edilen kadmiyum klorür etkisindeki ergin *P. turionellae* dişisinin yumurta sayısının azalmasına paralellik göstermektedir.

Kurşun ve bakırda olduğu gibi organik maddelere bağlanarak bağırsak yoluyla vücuda alınmasının yanı sıra moleküler yapısının değiştirilememesinin sonuçları kadmiyumun atılımdan çok depolandığını (Crawford vd. 1995) göstermektedir. Bu olay kadmiyumun metallothionein gibi bağlayıcı enzimlerin üretimini uyarmasının bir sonucu olarak gerçekleşebilir veya kadmiyumun sindirimi için gerekli etkili olmayan bir sistemin başlıca sonuçlarından biri olarak karşımıza çıkabilir. Buna dayanarak böceğin bağırsağındaki kadmiyum bağlayıcı metallothioneinde de bir artışın olduğunu söyleyebiliriz.

Methallothionein yaygın bir indikatör protein olarak bilinmekte olup özellikle kadmiyumun metallothioneindeki -SH (sülhidril) gruplarına bağlanma yeteneğine sahip olduğu da ortaya çıkmıştır (Hensbergen vd. 2000).

Böceklerde metallothionein hakkında çok az bilgi mevcuttur aynı zamanda bu konuda çalışılan *Drosophila*'da iki tip metallothionein geninin (Mtn ve Mto) bağırsakta tespit edilmiş olması (Mokdad vd. 1987) bu bağlayıcı proteinin tüm böcek türlerinde de yaygın olarak bulunabileceği ihtimalini güçlendirmektedir.

Aslında biyolojik sınırlarda birikmiş mevcut ağır metaller proteinlerle veya asidik mukopolisakaritlerle birleşmiş olabildiği gibi (Wada ve Fujinuki, 1976), artan metal derişimleri etkisiyle böceklerde hem protein sentezini hem de üreme sistemindeki yumurta üretimini azaltması ve inhibe etmesi (Chinni ve Yallapragada. 2002, Bream. 2003, Telang vd. 2002, Burmester 2001) muhtemelen bu tür metabolik olumsuzluklar nedeniyle ortaya çıkan fizyolojik gelişimlerin etkilenmesinden kaynaklanmaktadır. Buna rağmen uygulanan en yüksek kadmiyum klorür derişiminde *P. turionellae* L. ergin dişisinin bıraktığı yumurta sayısının kontrol değerlerinin oldukça üzerine çıkması bu derişimde metalin yumurta üretimi üzerine stimüle edici bir etki yaptığını göstermektedir.

Artan metal derişimlerinin *P. turionellae* ergin dişisinin bıraktığı toplam yumurta sayısı üzerine etkileri böyleyken erginin bıraktığı bu yumurtaların açılım yüzde oranları ekstrem sonuçlar göstermemektedir. Yumurta sayısının en düşük gözleendiği derişimlerde bile yumurtaların açılım yüzdesinin kontrole göre önemli ölçüde yüksek değerlerde olduğu belirlenmiştir. Kadmiyum klorür etkisindeki deney gruplarından elde edilen veriler dikkate alındığında

günlere göre bırakılan yumurta sayısı önemli farklılıklar göstermektedir. %0.50 oranında 31. günde, %1.00 da 16. günden itibaren yumurta üretiminin tümüyle durması kadmiyumun bu yüzdelik konsantrasyonlarda özellikle yumurta üretimi üzerinde önemli ölçüde inhibe edici bir etki gösterdiği, buna rağmen yumurta açılımında önemli oranlarda azalmaların görülmemesi hatta bazı yüksek derişimlerde artışların gözlenmesi kadmiyumun yumurta üretimini azaltmasına rağmen bırakılan yumurtaya aktarılmadığı için açılımda etkili olmadığı fikrini çağrıştırmaktadır.

Çalışma sonucunda ergin *P. turionellae* dışısının yumurta üretimi üzerinde kurşun nitratin düşük derişimlerinde, kadmiyumun ise yüksek derişimlerinde negatif yönde etkili olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak %5.00 kadmiyum derişiminin ergin dişi bireyin yumurta üretimini stimüle etmiş olabileceği konusu dikkate değer bir ayrıntıdır. Uygulanan ağır metallere kurşun nitrat ve kadmiyum klorürün ergin *P. turionellae* dışısının bıraktığı yumurtaların açılım yüzdesi üzerinde önemli ölçülerde etkide bulunmaması, bu durumun ergin bireyin vücudunda biriken metallere yumurtaya transferinin gerçekleşmemesi ile ilgili olarak açıklanabilir.

5. Teşekkür

Çalışmalarımnda fikir ve önerileri ile her zaman desteğini gördüğüm merhum Prof. Dr. Şevki Yazgan hocamı minnetle anıyorum. Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir (Proje No: FBE2001YL164).

6. Kaynaklar

- Bream, AS. 2003.** Laboratory evaluation of heavy metals stress on certain biochemical parameters of the aquatic insect, *Sphaerodema urinator* Duf. (Hemiptera: Belostomatidae). *Comm. Agr. Appl. Biol. Sci.* 68 (4 Pt A): 291-297.
- Burmester, T. 2001.** Molecular evolution of the arthropod hemocyanin superfamily. *Mol. Biol. Evol.* 18 (2): 184-195.
- Cervera, A., Maymo, AC., Martinez-Pardo, R., Garcera, MD. 2006.** Vitellogenin polypeptide levels in one susceptible and one cadmium-resistant strain of *Oncopeltus fasciatus* (Heteroptera: Lygaeidae) and its role in cadmium resistance. *J. Insect Physiol.* 52: 158-168. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.10.001>
- Chinni, S., Yallapragada, PR. 2002.** Energy levels of *Panaeus inducus* postlarvac on exposure to lead. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 52: 173-179. <https://doi.org/10.1006/eesa.2002.2171>

- Chouhan, S., Verma, S.C., Thakur. M. 2017.** Effect of cadmium on biology of tobacco caterpillar *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera:Noctuidae). *Nat. Environ. Pollut. Technol.*16(3): 883-888.
- Crawford, LA., Hodkinson, ID., Lepp, NW. 1995.** Effect of elevated host-plant copper and cadmium on the performance of the aphid *Aphis fabae* (Homoptera; Aphididae). *J. Appl. Ecol.*, 32: 528-535. Doi: 10.2307/2404650
- Emre, İ. 1988.** Meridik bir besinin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) ergin dişilerinin yumurta verimine etkisi. *Doğa Tu. Biyol.*, 12(2): 101-105.
- Florea, AM., Büsselberg, D. 2006 .** Occurrence, use and potential toxic effects of metals and metal compounds. *Biometals*, 19: 419-427. <https://doi.org/10.1007/s10534-005-4451-x>
- Gregory. JL. 1997.** The effect of cadmium on cytosolic free calcium,protein kinase and collagen synthesis in rat osteosarcoma (Ros 17/2.8): cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 143: 189-195. <https://doi.org/10.1006/taap.1996.8060>
- Gupta, V. 2013.** Mammalian feces as bio-indicator of heavy metal contamination in Bikaner Zoological Garden, Rajasthan, India. *Res. J. Animal, Veterinary and Fishery Sci.*, 1(5): 10-15.
- Ilijin, L., Peric-Mataruga, V., Radojicic, R., Lazarcvic, J., Nenadovic, V., Vlahovic, M., Mrdakovic, M. 2010.** Effect of cadmium on protocerebral neurosecretory neurons and fitness components in *Lymantria dispar* L. *Folia Biologica* (Krakow) 58: 91-99. https://doi.org/10.3409/fb58_1-2.91-99
- Ivanovic, J., Jankovic-Hladni, M. 1991.** Hormones and metabolism in insect stress. CRC Press. Boca Raton.
- Hensbergen, PJ., Van Velzen-Martin, JM., Nugroho, RA., Donker, MH.,Van Straalen, NM. 2000.** Metallothionein-bound cadmium in the gut of the insect *Orchesella cincta* (Collembola) in relation to dietary cadmium exposure. *Comp. Biochem. and Physiol. Part C*, 125: 17-24. [https://doi.org/10.1016/S0742-8413\(99\)00087-0](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(99)00087-0)
- Jannsen, MPM., Joosse, ENG., Van Straalen, NM. 1990.** Seasonal variation in concentration of cadmium in litter arthropods from a metal contaminated Site. *Pedobiologia*, 34 (4), 257-267.
- Jensen, A., Bro-Rasmussen, F. 1992.** Environmental cadmium in Europe. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 125: 101-81. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2890-5_3
- Kazimirova, M., Ortel, J. 2000.** Metal accumulation by *Ceratitidis capitata* (Diptera) and transfer to the parasitic Wasp *Coptera occidentalis* (Hymenoptera). *Environ. Toxicol. and Chem.* 19(7): 1822-1829. <https://doi.org/10.1002/etc.5620190716>
- Lerda, D. 1992.** The effect of lead on *Allium cepa* L. *Mutat. Res.* 281 (2): 89-92. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(92\)90041-F](https://doi.org/10.1016/0165-7992(92)90041-F)

- Lin, RH., Wu, LJ., Lee, CH., Lin-Shiau, SY. 1993.** Cytogenetic toxicity of uranyl nitrate chinese hamster ovary cells. *Mutat. Res.* 319: 197-203. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(93\)90079-S](https://doi.org/10.1016/0165-1218(93)90079-S)
- Linde, A. R., Arribas, P., Sanchez-Galan, S., Garcia-Vazquez, F. 1996.** Eel (*Anguilla anguilla*) and brown trout (*Salma trutta*) target species to assess the biological impact of trace metal pollution in freshwater ecosystems. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 31: 297-302. <https://doi.org/10.1007/BF00212668>
- Lijun, L., Xucmcia, L., Yaping, G., Enbo, M. 2005.** Activity of enyzmes of the antioxidative system in cadmium-treated *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acridoidae). *Environ. toxicol. Pharmacol.* 20: 412-416. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.04.001>
- Mclaughlin, MJ., Parker, DR., Clarke, JM. 1999.** Metals and micronutrients-food safety issues. *Field Crops Res.* 60: 143-163. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00137-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00137-3)
- Mclaughlin, MJ., Tiller, KG., Naidu, R., Stevens, DG., 1996.** Review: The behaviour and environmental impact of contaminants in fertilizers. *Aust. J. Soil. Res.* 34: 1-54. <https://doi.org/10.1071/SR9960001>
- McMurray, CT., Tainer, JA. 2003.** Cancer, cadmium and genome integrity. *Nat. Genet* 34: 239-241. <https://doi.org/10.1038/ng0703-239>
- Migula, P. 1989.** Combined and separate effects of cadmium, lead and zinc on respiratory metabolism during the last larval stage of the house cricket, *Acheta domesticus*. *Biologia* (Bratislava), 44 (6): 513-521.
- Migula, P., Kedziorzky, A., Makoneczny, M., Kafel, A. 1989.** Combined and separate effects of heavy metals on energy budget and metal balances in *Acheta domesticus*. *Uttar Pradesh. J. Zool.* 9(2): 140-149.
- Mikhaililova, MV., Littlefield, NA., Hass, BS., Poirier, LA., Chou, MW. 1997.** Cadmium-induced 8-hydroxydeoxyguanosine formation, DNA strand breaks and antioxidant enzyme activities in lymphoblastoid cells. *Cancer Lett.*, 115: 141-148. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(97\)04720-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(97)04720-4)
- Moura, G., Vilarinho, L., Machado, J. 2000.** The action of Cd, Cu, Cr, Zn and Pb on fluid composition of *Anodonta cygnea* (L.): Organic Components. *Com. Biochem. and Physiol.* Part B, 127. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(00\)00241-8](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(00)00241-8)
- Mokdad, R., Debec, A., Wegnez, M. 1987.** Metallothionein genes in *Drosophila melanogaster* constitute a dual system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 2658-2662. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.9.2658>
- Nordenson, I., Nordstom, S., Sweins, A., Beckman, L. 1982.** Chromosomal aberrations in lead-exposed Workers. *Hereditas*, 96: 265-268. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1982.tb00857.x>
- Ooik, VT., Rantala, MJ., Saloniemi, I. 2007.** Diet-mediated effects of heavy metal pollution on growth and immune response in the geometrid moth *Epirrita autumnata*. *Environ. Pollut.*, 145: 348-354. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.03.008>
- Ortel, J. 1989.** Effects of lead and cadmium on oxygen consumption and life expectancy of the pupal parasitoid *Pimpla turionellae*. *Entomol. Exp. Appl.* 52(1): 83-88. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1989.tb01251.x>
- Ortel, J. 1991.** Effects of lead and cadmium on chemical composition and total water content of the pupal parasitoid, *Pimpla turionellae*. *Entomol. Exp. Appl.* 59(1): 93-100. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1991.tb01491.x>
- Ortel, J. 1995a.** Accumulation of Cd and Pb in successive stages of *Galleria mellonella* and metal transfer to the pupal parasitoid *Pimpla turionellae*. *Entomol. Exp. Appl.* 77(1): 89-97. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1995.tb01989.x>
- Pandey, R., Dwidevi, MK., Singh, P.K., Patel, B., Pandey, S., Patel, B., Patel, A., Singh, B. 2016.** Effluences of heavy metals, way of exposure and bio-toxic impacts: an update. *J. Chem. & Cheml. Sci.* 6(5): 458-475.
- Pascoe, D., Williams, KA., Green, DWJ. 1989.** Choronic toxicity of cadmium to *Chironomus riparius* meigen-effects upon larval development and adult emergence. *Hydrobiologia* 175: 109-115. <https://doi.org/10.1007/BF00765121>
- Planello, R., Martinez-Guitarte, JL., Morcillo, G. 2010.** Effect of acute exposure to cadmium on the expression of heat-shock and hormone – nuclear receptor genes in the aquatic midge *Chironomus riparius*. *Sci. Total Environ.* 408: 1598-1603. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.01.004>
- Sharma, GP., Sopti, RC., Chaudiry, A., Ahluwalia, KK. 1988.** Genotoxicity of two heavy metal compounds-lead acetate mercuric chloride in the Mosquito, *Anopheles stephensi* Liston (Culicidae: Diptera). *Cytologia.* 53(2): 263-267. <https://doi.org/10.1508/cytologia.53.263>
- Sokal, RR., Rohlf, JF. 1969.** Biometry. W.H. Freeman and Company. San Fransisco, pp 776.
- Suganya, M., Karrthi, S., Shivakumar, MS. 2016.** Effect of Cd and lead exposure on tissue spesific antioxidant response in *spodoptera litura*. *Free Radicals & Antioxidants*, 6(1): 90-100. Doi: 10.5530/fra.2016.1.11
- Telang, A., Buck, NA., Wheeler, DE. 2002.** Response of storage protein levels to variation in dietary protein levels. *J. Insect Physiol.* 48(11): 1021-1029. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(02\)00190-7](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(02)00190-7)
- Timmermans, KR., Peeters, W., Tonkes, M. 1992.** Cadmium, zinc, lead and copper in *Chironomus riparius* (Meigen) larvae (Diptera, Chironomidae): uptake and effects. *Hydrobiologia*, 241: 119-134. Doi:10.1007/BF00008264

- Türkan, İ. 1995.** Comparison of moss and bark samples as biomonitors of heavy metals in a highly industrialised area in İzmir, Turkey. *Sci. Total Environ.* 166: 61-67. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(95\)04518-6](https://doi.org/10.1016/0048-9697(95)04518-6)
- Uysal, H., Bahçeci, Z. 1996.** Kurşun nitrat'ın *Drosophila melanogaster*'in üçüncü instar larvalarının tükrük bezi politen kromozomları üzerine etkileri. *Tr. J. of Biology*, 20: 199-205.
- Vuori, KM., Kukkonen, J. 1996.** Metal concentrations in *Hydropsyche pellucidula* larvae (Trichoptera, Hydropsychidae) in relation to the anal papillae abnormalities and age of exocuticle. *Wat. Res.* 30(10): 2265-2272. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(96\)00109-1](https://doi.org/10.1016/0043-1354(96)00109-1)
- Wada, K., Fujinuki, T. 1976.** Biomineralization in bivalvae molluscs with emphasis on the chemical composition of the extrapallial fluid. In: watabe, N., Wilbur, K. M. (Eds.), The mechanisms of mineralization in the invertebrates and plants. The University of South Carolina Press, Columbia, 175-190.
- Winder, C., Bonin, T. 1993.** Genotoxicity of lead. *Mut. Res.* 285(1): 117-124. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(93\)90059-O](https://doi.org/10.1016/0027-5107(93)90059-O)
- Yazgan, Ş. 1981.** A Meridic diet and quantitative effect of tween 80, fatty acid mixtures and inorganic salts on development and survival of the endoparasitoid *Pimpla turionellae* L. *Z ang Ent.* 91(15): 433-441. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1981.tb04501.x>