



Levamisolün Model Organizma *Galleria mellonella*'nın Bazı Biyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi

The Effect of Levamisole on Some Biological Parameters of Model Organism Galleria mellonella

Volkan Keleş*, Ender Büyükgüzel

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Zonguldak

Öz

İmidotiyazol türevi antihelmintik bir madde olan levamisolün büyük bal mumu güvesi, *Galleria mellonella*'nın, larva, pup ve ergin evresindeki yaşama oranı, gelişim süreleri ve ergin ömür uzunluğu üzerine etkileri incelendi. *G. mellonella* birinci evre larvaları 0,001, 0,01 ve 0,1 g/100 g levamisol içeren yapay besinler ile beslendi. Denenen levamisol konsantrasyonları levamisol içermeyen kontrol besini ile karşılaştırıldığında *G. mellonella*'nın yaşama ve gelişim parametrelerini üzerinde olumsuz yönde etkilediği tespit edildi. Levamisolün %0,001 g ve %0,01 g'lık konsantrasyonları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 7.evreye ulaşan larva oranını istatistiksel olarak önemli derecede düşürdü. Denenen en yüksek konsantrasyonda (%0,1 g) bu oran kontrol grubuna göre (%98,75) 3 kat azalarak %28,75 olarak belirlendi. Levamisol içeren yapay besinlerde beslenen gruplarda kontrol grubuna göre pup olma oranı ve ergin olma oranında da benzer etkiler gözlemlendi. Levamisolün farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinde yetiştirilen böcekler, levamisol içermeyen kontrol grubuna göre 7.evre larva, pup ve ergin evrelere daha geç ulaştı. Levamisolün %0,001 g ve %0,01 g'lık konsantrasyonları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında böceğin ergin ömür uzunluğunu uzatırken denenen en yüksek levamisol konsantrasyonu (%0,1 g) böceğin ergin ömür uzunluğunu kontrol grubuna göre yaklaşık olarak 3 gün azalttı. Elde edilen sonuçlar neticesinde yapay besinle birlikte alınan levamisolün model organizma *G. mellonella*'nın hem aktif beslenme gösterdiği larval evrede hem de pup ve ergin dönemi olmak üzere daha sonraki gelişim evrelerinde olumsuz etkilerinin olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Levamisol, *Galleria mellonella*, Yaşama oranı, Gelişme süresi, Ergin ömür uzunluğu

Abstract

The effects of levamisole, an imidothiazole derivative anthelmintic, on survival rate, development time and adult longevity of greater wax moth, *Galleria mellonella*, larvae, pupae and adult stage were investigated. First instar larvae of *G. mellonella* were fed on artificial diet containing 0,001, 0,01 and 0,1 g/100 g of levamisole. Experimented levamisole concentrations negatively affected the survival and developmental parameters of *G. mellonella* when compared to the control diet without levamisole. The concentrations of 0,001% g and 0,01% g of levamisole significantly decreased survival rates of 7th instar larvae when compared to the control group. Similar results obtained from the survival of pupal and adult stages. Insects that fed on artificial diet with different concentrations of levamisole reached the 7th instar larva, pup and adult stages later than the control group without levamisole. While the concentrations of 0,001% g and 0,01% g of levamisole extended adult longevity of insect, the highest concentration of levamisole tested (0,1% g) reduced the adult longevity of the insect by approximately 3 days compared to the control group. As a result, it has been demonstrated that levamisole taken with artificial diet has negative effects both in the larval stage that shows active feeding and in the subsequent developmental stages, including the pupal and adult stages of model organism *G. mellonella*.

Keywords: Levamisole, *Galleria mellonella*, Survival rate, Developmental time, Adult longevity

*Sorumlu yazarın e-posta adresi: volkankeles@outlook.com

Volkan Keleş orcid.org/0000-0001-5035-8148

Ender Büyükgüzel orcid.org/0000-0002-4442-5081



1. Giriş

Tarım zararlıları ile mücadelede sıklıkla başvurulan geleneksel yöntemlere nazaran daha çevre dostu yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Ekonomik açıdan önemli zararlara sahip birçok böcek türünün laboratuvar ortamında kitle halinde üretimlerinin yapılması hem bu böceklerin fizyolojilerinin anlaşılmasına hem de çevre dostu yeni kimyasal maddelerin tespit edilmesine olanak sağlamaktadır. Bunun için laboratuvar ortamında bu böceklerin kültürünün yapılması önemli bir basamaktır (Zahran vd. 2018, Zeng vd. 2019).

Laboratuvar şartlarında böcek kültürlerinin oluşturulmasında kullanılan yapay besinlerin kalitesi bu tür çalışmalar için önemli kısmı oluşturmaktadır. Böcek kültür ortamlarında çok sık karşılaşılan mikrobiyal kontaminasyonların önüne geçebilmek için yapay besin bileşenlerine klinik açıdan önemli olan çeşitli antibiyotikler eklenmektedir (Büyükgüzel ve Kalender 2007, 2008, 2009, Büyükgüzel ve Kayaoğlu 2014, Aslan vd. 2019, Üstündağ vd. 2020).

Böceğin gelişimini optimum koşullarda sağlamak için kullanılan bu maddeler genel olarak yan etkisi düşük ve yüksek organizmalarda görülen prevalansı yüksek hastalıkların tedavisinde kullanılan klinik öneme sahip antibiyotiklerdir. Çeşitli bakteriyel, fungal veya helmintik enfeksiyonların tedavisi için geliştirilen bu antibiyotiklerin böceklerin yapay besininde yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında yaşama ve gelişim parametrelerini olumsuz yönde etkilediği birçok çalışmada gösterilmiştir (Hoffmann vd. 2014, Li vd. 2020, Büyükgüzel ve Büyükgüzel 2019, Wu vd. 2020).

Antimikrobiyal ajanların etkinliğinin ve toksisitesinin değerlendirilmesinde fare ve sıçan gibi omurgalı model organizmalar son yıllarda bazı etik kaygılardan dolayı yerini *Galleria mellonella*'ya bırakmıştır (Vogel vd. 2011, Lange vd. 2018, Piatek vd. 2020, Kastamonuluoğlu vd. 2020). *G. mellonella*'nın laboratuvar şartlarında başarılı bir şekilde kitle halinde üretimi ve kullanılan yapay besinlerin kalitesinin artırılması bu çalışmalar için oldukça önemlidir (Büyükgüzel ve Kalender 2007, 2008, 2009, Büyükgüzel ve Büyükgüzel 2016, 2019, Li vd. 2020).

Büyük bal mumu güvesi, *G. mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) bal peteklerine yaptığı tahribat nedeniyle ekonomik açıdan öneme sahip tarım zararlısı bir böcek türüdür. Hayat döngüsünü tam başkalaşım geçirerek sürdüren *G. mellonella* larva, pup ve ergin olmak üzere fizyolojik ve morfolojik olarak farklı süreçleri içeren üç farklı gelişim evresine sahiptir (Lange vd. 2019, Cutuli vd.

2019). Zirai olarak önemli bir zararlı olan *G. mellonella*'nın aktif beslenme davranışı gösterdiği larval evresi memeliler ile karşılaştırıldığında fizyolojik olarak yüksek homoloji göstermesi ve bu benzerliklerin diğer yüksek organizmalara göre daha az kompleks olması global olarak öneme sahip çeşitli hastalıkların moleküler mekanizmasının anlaşılmasında sıklıkla model organizma olarak tercih edilmesini sağlamıştır (Mikulak vd. 2018, Bismut ve Eztray 2019, Pereira ve Rossi 2020).

1966 yılında keşfedilmiş imidazotiyazol türeviden levamizol memelilerde görülen akciğer ve bağırsak paraziti enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan sentetik bir antibiyotiktir (Miller 1980, Martin vd. 2012). Levamizol spesifik olarak nematodların kas hücre duvarındaki nikotinik asetilkolin reseptörlerine bağlanıp, reseptöre bağlı kalsiyum iyon kanallarını açarak hücre içi kalsiyum derişiminin artmasına neden olur. Hücre içindeki kalsiyum miktarının artması sürekli kasılmaya yol açar ve hedef organizmayı felç ederek etkisiz hale getirir (McKellar ve Jackson 2004, Holden-Dye ve Walker 2007).

Yapılan çalışmalarda levamizolün antihelmintik etkisinin yanı sıra doğal öldürücü hücrelerin ve T hücrelerinin aktivesini artırdığı tespit edilmiştir. İltihaplı romatizma gibi enfeksiyon hastalıklarının çoğunda ve özellikle 3. evre kolon kanserinin tedavisinde cerrahi müdahale sonrası uygulanan kemoterapi kürlerinde immünostimülant olarak kullanılmaktadır (Scheinfeld vd. 2012, Chapuis vd. 2019).

Bu çalışmada, levamizolün yukarıdaki uygulamalarının dışında model organizma olarak kullanılan *G. mellonella*'nın yapay besinine eklenerek laboratuvar şartlarında böceğin biyolojisi üzerine etkisi gözlemlenmek amacıyla *G. mellonella*'nın 7.evre larva, pup ve erginlerindeki yaşama ve gelişim parametreleri ve ergin ömür uzunluğuna etkisi araştırılmıştır.

2. Gereç ve Yöntemler

2.1. *G. mellonella* Kültürü

Laboratuvarımızda daha önceden kültüre alınmış olan yumurtadan yeni çıkmış birinci evre *G. mellonella* larvaları 28 ± 2 °C ve %65 \pm 5 nispi nemde soğutmalı inkübatörde (Nüve, Es 500) ve devamlı karanlığın sağlandığı ortamda, Bronskill (1961) tarafından geliştirilen yapay besin (420 g buğday kepeği, 150 mL süzme bal, 150 mL gliserin, 20 g öğütülmüş koyu renkli eski petek ve 30 mL saf su) kullanılarak ergin evreye kadar yetiştirilerek stok kültür oluşturuldu.

2.2. Levamizolün Uygulanması

Deneylerde kullanılan imidazotiyazol türevi bir antihelminetik olan levamizol ($C_{11}H_{12}N_2S$, [6-phenyl-2,3,5,6-tetrahydroimidazo(2,1-b)(1,3)thiazole], suda çözünür, 204.291 g/mol, 500 g, Parti no: 1000204922) Deva İlaç Şirketi'nden temin edildi. Levamizol konsantrasyonları daha önce gerçekleştirilmiş olan çalışmalardaki veriler göz önüne alınarak ön denemeler çerçevesinde oluşturuldu (Büyükgüzel ve Kayaoğlu 2014, Çalık vd. 2015, Sugeçti vd. 2016, Sefer ve Büyükgüzel 2017, Çelik vd. 2019). Yapılan ön denemeler sonucunda yapay besine ilave edilecek levamizol konsantrasyonları %0,001 g, %0,01 g, %0,1 g ve %1 g olarak belirlendi fakat denenen en yüksek konsantrasyonda (%1 g) gelişim gözlenmediği için bu grup deney düzeneğinden çıkarıldı.

İçeriği verilen yapay besin bileşenleri geniş bir kap içinde yaklaşık olarak 15-20 dakika karıştırılarak yapay besin elde edildi. Belirlenen levamizol miktarı 100 gram besin başına düşen gram antibiyotik olarak yapay besinin içerisine doğrudan ilave edilip, iyice homojen oluncaya kadar karıştırıldı.

2.3. Beslenme Deneyleri

Galleria mellonella birinci evre larvaları yumuşak uçlu fırça yardımıyla kontrol ve levamizol konsantrasyonları içeren kavanozlara bırakıldı. Kavanozlar 28 ± 2 °C ve %65 \pm 5 nispi nemde devamlı karanlığın sağlandığı ortamda ergin evreye kadar yetiştirildi.

Denenen levamizol konsantrasyonlarının böceğin 7.evre larva, pup ve erginlerindeki yaşama oranı, gelişim süresi ve ergin ömür uzunluğu üzerine etkisinin belirlenmesi için yapay besin içerisinde olgunlaşan 7. evre larvalar 30 mL'lik saklama kaplarında stok kültürün yürütüldüğü şartlarda (28 ± 2 °C ve %65 \pm 5 nispi nemde soğutmalı inkübatörde devamlı karanlığın sağlandığı ortamda) saklandı ve deney düzeneği her gün kontrol edildi. Levamizol içermeyen kontrol grubu ve levamizol içeren gruplar ile yapılan deneyler dört farklı zamanda tekrar edildi.

2.4. Verilerin Değerlendirilmesi

Yaşama oranı, gelişme süreleri ve ergin ömür uzunluğu ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde "ONE-WAY ANOVA" (Tek Yönlü Varyans Analizi) kullanıldı. Ortalamalar arasındaki farkın önemini saptamak için gelişme süresi ve ergin ömür uzunluğunda "LSD Testi" (SPSS statistical software version 15.0 for windows; SPSS Inc., Chicago, IL, USA), yaşama oranı ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde

"Chi square Testi" (χ^2) (Snedecor ve Cochran 1989), kullanıldı. Ortalamalar arasındaki fark ise 0,05 olasılık seviyesinde değerlendirildi.

3. Sonuçlar

Yapay besine doğrudan ilave edilen levamizolün %0,001 g, %0,01 g ve %0,1 g olmak üzere denenen bütün konsantrasyonlarının *G.mellonella*'nın yaşama ve gelişim parametreleri üzerine olumsuz bir etki gösterdiği tespit edildi (Şekil 1, 2).

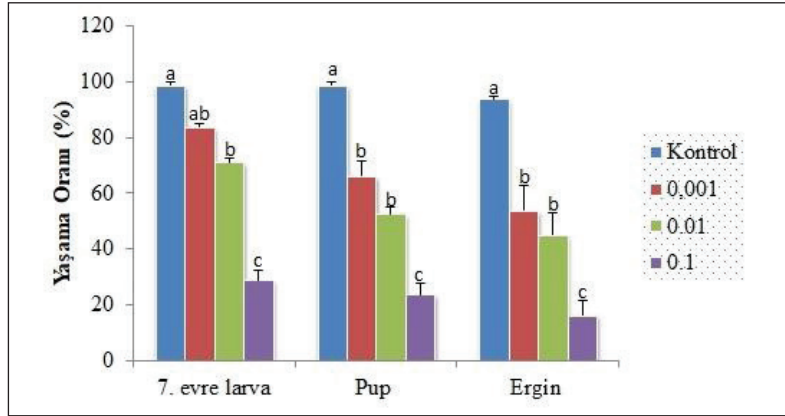
Levamizolün %0,001 g ve %0,01 g'lık konsantrasyonları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 7.evreye ulaşan larva oranını istatistiksel olarak önemli derecede düşürdü. Denenen en yüksek konsantrasyonda (%0,1 g) bu oran kontrol grubuna göre (%98,75) 3 kat azalarak %28,75 olarak belirlendi. Levamizol içeren yapay besinlerde beslenen gruplarda kontrol grubuna göre pup olma oranı ve ergin olma oranında da benzer etkiler gözlemlendi (Çizelge 1).

Levamizolün farklı konsantrasyonlarını içeren yapay besinde yetiştirilen böcekler, levamizol içermeyen kontrol grubuna göre 7.evre larva, pup ve ergin evrelere daha geç ulaştı. Denenen en yüksek levamizol konsantrasyonu (%0,1 g) böceğin 7. evre larval döneme ulaşma süresini yaklaşık olarak 2 gün, pup evresine ulaşma süresini 10 gün ve ergin olma süresini 7 gün uzattı fakat bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı çıkmadı (Çizelge 2).

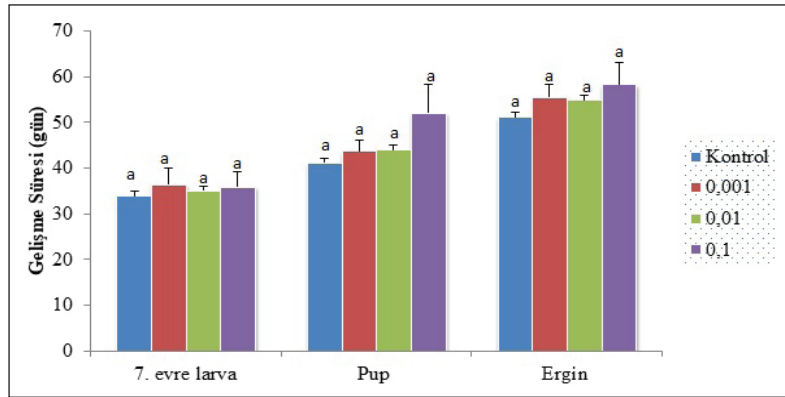
Levamizolün %0,01 g ve %0,1 g'lık konsantrasyonları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında böceğin ergin ömür uzunluğunu uzatırken, denenen en yüksek levamizol konsantrasyonu (%0,1 g) böceğin ergin ömür uzunluğunu kontrol grubuna göre yaklaşık olarak 3 gün azaltarak önemli bir etki gösterdi (Çizelge 3).

4. Tartışma

Tarım zararlılarıyla mücadelede çevre dostu yeni yaklaşımların geliştirilmesinde ve prevalansı yüksek hastalıkların tedavisi için kullanılan klinik açıdan önemli antibiyotiklerin etkinliğinin ve toksisitesinin belirlenmesinde kullanılan model organizmaların yaşama ve gelişim parametrelerindeki değişiklikler yapılan uygulamaların önemli bir basamağını oluşturmaktadır (Zorlu vd. 2018, Yusof vd. 2019). Özellikle ergin ömür uzunluğu çeşitli etken maddelerin ekotoksikolojisinin belirlenmesinde ve bu maddelerin detoksifikasyonu veya birikmesine bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stres ile yakın ilişkili hastalıkların anlaşılmasında önemli bir parametreyi oluşturmaktadır (Ning vd. 2016, Ghoneim vd. 2019).



Şekil 1. Levamizolün *G. mellonella*'nın yaşama oranına etkisi. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir ($P>0,05$, LSD Testi).



Şekil 2. Levamizolün *G. mellonella*'nın gelişme süresine etkisi. Aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir ($P>0,05$, LSD Testi).

Çizelge 1. Levamizolün *G. mellonella*'nın yaşama oranına etkisi.

Levamizol (g/100g)	7. evreye ulaşan larva oranı (%) (Ort [†] ± S.E) [†]	Pup olma oranı (%) (Ort [†] ± S.E) [†]	Ergin olma oranı (%)
			(Ort [†] ± S.E) [†]
0,000 [§]	98,75 ± 1,08 ^a	98,75 ± 1,08 ^a	93,75 ± 1,08 ^a
0,001	83,75 ± 5,12 ^{ab}	66,25 ± 5,12 ^b	53,75 ± 2,72 ^b
0,01	71,25 ± 9,25 ^b	52,50 ± 9,12 ^b	45,00 ± 7,71 ^b
0,1	28,75 ± 3,70 ^c	23,75 ± 3,70 ^c	16,25 ± 5,41 ^c

[†]Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 adet 1. evre larva kullanıldı. [†]Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir ($P>0,05$, LSD Testi). [§]Kontrol besini (Levamizol içermeyen).

Çizelge 2. Levamizolün *G. mellonella*'nın gelişme süresine etkisi.

Levamizol (g/100g)	7. evreye ulaşma süresi (gün) (Ort [†] ± S.E) [†]	Pup olma süresi (gün) (Ort [†] ± S.E) [†]	Ergin olma süresi (gün)
			(Ort [†] ± S.E) [†]
0,000 [§]	33,96 ± 3,06 ^a	41,45 ± 3,47 ^a	51,22 ± 3,30 ^a
0,001	36,51 ± 1,81 ^a	43,57 ± 2,39 ^a	55,59 ± 2,00 ^a
0,01	35,09 ± 2,35 ^a	43,99 ± 2,75 ^a	54,95 ± 2,25 ^a
0,1	35,98 ± 3,28 ^a	52,22 ± 6,01 ^a	58,34 ± 4,65 ^a

[†]Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 adet 1. evre larva kullanıldı. [†]Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir ($P>0,05$, LSD Testi). [§]Kontrol besini (Levamizol içermeyen).

Çizelge 3. Levamizolün *G. mellonella*'nın ergin ömür uzunluğuna etkisi.

Levamizol (g/100g)	Ergin ömür uzunluğu (gün)
	(Ort [±] S.E) [†]
0,000 [§]	9,64 ± 0,5 ^{ab}
0,001	12,24 ± 0,7 ^a
0,01	10,96 ± 1,6 ^a
0,1	6,14 ± 1,3 ^b

[†]Dört tekrarın ortalaması, her bir tekrar için 20 adet 1. evre larva kullanıldı.
[†]Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir (P>0,05, LSD Testi). [§]Kontrol besini (Levamizol içermeyen).

Tarım zararlılarıyla mücadelede birçok böcek türü için bü-yüme inhibitörü ve doğal bir insektisit olan azadiraktinin kullanıldığı bir çalışmada, azadiraktinin subletal konsantrasyonlarının (LC₅₀: 16.564 ppm) *G. mellonella*'nın gelişim sürelerini uzattığı ve ömür uzunluğunu azalttığı tespit edilmiştir (Er vd. 2016). Çalışmamızda yapay besin ile birlikte verilen levamizolün yapılan çalışma ile benzer olarak *G. mellonella*'nın larva, pup ve ergin evredeki yaşama oranını düşürdüğü, gelişme sürelerini uzattığı ve ergin uzunluğunu düşürdüğü tespit edilmiştir. Benzer etki Erbaş ve Altuntaş (2020) tarafından yapılan çalışmada da belirtilmiştir. Bir bitki sekonder metaboliti olan juglonun kullanıldığı bu çalışmada ise besin ile beraber verilen junglon konsantrasyonlarının (LC₃₀: 1.59 mg / 2 g, LC₅₀: 2.38 mg / 2 g ve LC₇₀: 3.18 mg / 2 g) *G. mellonella*'nın larva, pup ve erginlerinin yaşama oranını düşürdüğü, bu evrelere ulaşma sürelerini uzattığı ve ergin ömür uzunluğunu düşürdüğü gözlemlenmiştir (Erbaş ve Altuntaş 2020).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda geniş bir antimikrobiyal spektruma sahip olan benzimidazol türevi antihelmintik maddelerin model organizma *G. mellonella* üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmalar arasında parazitik organizmaların mikrotübüllerini hedef alan benzimidazol sınıfı anthelmintiklerden mebendazolün kullanıldığı bir çalışmada yapay besine ilave edilen mebendazol konsantrasyonlarının (%0,005 g, %0,05 g, %0,5 g ve %1 g) artmasıyla paralel olarak *G. mellonella*'nın 7. evre larva, pup ve ergin evrelerindeki yaşama oranının düştüğü, ergin ömür uzunluğunun ve tüm evrelerdeki gelişme sürelerinin kısaldığı tespit edilmiştir. Elde edilen bu veriler doğrultusunda mebendazolün denenen konsantrasyonlarının böceğin yaşama ve gelişme parametrelerini olumsuz yönde etkilediği ifade edilmiştir (Çalık vd. 2016). Bizim çalışmamızda, %0,001 g, %0,01 g ve %0,1 g olmak üzere yapay besin ile birlikte veri-

len levamizol konsantrasyonlarının benzer bir şekilde böceğin 7. evre larva, pupa ve ergin dönemdeki yaşama oranını kontrol besinine göre ortalama %75 oranında düşürdüğü ve denenen en yüksek levamizol konsantrasyonunun (%0,1 g) ergin ömür uzunluğunu ise yaklaşık olarak 4 gün kısalttığı belirlenmiştir.

Yeni nesil benzimidazol türevi bir antihelmintik olan triklabendazol *G. mellonella*'nın yetiştirilmesinde kullanılan yapay besine %0,001 g, %0,01 g ve %0,1 g'lık konsantrasyonlarda ilave edilmiş ve yapılan beslenme deneyleri sonucunda böceğin 7. evre larva, pup ve ergin evrelerindeki yaşama oranının önemli ölçüde düştüğü ve denenen en yüksek triklabendazol konsantrasyonunun böceğin pup ve ergin evrelere ulaşma süresini sırasıyla 4 gün ve 7 gün uzattığı tespit edilmiştir (Kılıç vd. 2015). Deneylerimizde kullandığımız en yüksek levamizol konsantrasyonunun (% 0,1 g) benzer bir şekilde *G. mellonella*'nın pup ve ergin evreye ulaşma sürelerini kontrol besinine göre sırasıyla 11 gün ve 7 gün uzattığı belirlenmiştir.

Benzimidazol türevleri arasında daha geniş bir etki spektruma sahip bir anthelmintik olan oksfendazol %1,5 g'lık konsantrasyonda yapay besin ile birlikte verildiğinde *G. mellonella*'nın 7. evre larva, pup ve ergin evredeki yaşama oranını önemli ölçüde düşürdüğü, pup ve ergin olma sürelerini ise kontrol grubuna göre yaklaşık olarak 3 gün uzattığı ve ergin ömür uzunluğunu önemli derecede kısalttığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmada böceğin yaşama ve gelişme parametrelerinde görülen olumsuz etkinin oksfendazolün böceğin orta bağırsağında oluşturduğu stresten kaynaklanmış olabileceği ileri sürülmüştür (Sugeçti vd. 2016). Çalışmamızda kullandığımız imidazotiyazol türevi bir anthelmintik olan levamizolün memeli sindirim kanalından kolayca emilebildiği bilinmektedir (Luyckx vd. 1982, Kouassi vd. 1986). Yapay besin ile birlikte alınan levamizol böceğin orta bağırsak ve yağ dokusunda biyotransformasyon reaksiyonları sonucunda ortaya çıkan reaktif oksijen türlerinin yoğunluğunu artırarak benzer bir strese neden olmuş ve buna bağlı olarak da yaşama ve gelişim parametreleri üzerinde olumsuz bir etki göstermiş olabilir.

Yapılan bir başka çalışmada %0,003 g, %0,03 g ve %0,3 g'lık konsantrasyonlarda yapay besine ilave edilen salisilanilid türevi bir anthelmintik olan oksiklozanidin *G. mellonella*'nın 7. evre larva, pup ve ergin evrelerinde yaşama oranını ve ergin ömür uzunluğunu önemli derecede düşürdüğü, tüm evrelerinde gelişme süresini uzattığı tespit edilmiştir. Böceğin yaşama ve gelişme parametrelerinde görülen bu etkinin oksiklozanidin denenen konsantrasyonlarının besin

kalitesine olan olumsuz etkisinden kaynaklanmış olabileceği öne sürülmüştür (Çelik vd. 2019). Bizim çalışmamızda %0,001 g, %0,01 g ve %0,1 g olmak üzere denenen levamizol konsantrasyonları benzer bir şekilde yapay besin bileşenlerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirerek *G. mellonella*'nın yaşama ve gelişme parametrelerine olumsuz bir etki yapmış olabilir.

Nair ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise *G. mellonella* (Lepidoptera) ile aynı takımında bulunan ve tarım zararlısı olarak değerlendirilen *Helicoverpa armigera*, *Earias vittella*, *Spodoptera litura*, *Spodoptera exigua*, *Pectinophora gossypiella* ve *Chilo partellus* olmak üzere 5 farklı böcek türünün yetiştirilmesinde antifungal ajan olarak kullanılan formalinin yapay besin ortamındaki kontaminasyonu düşürdüğü fakat bu böceklerin larva, pup ve ergin olmak üzere tüm gelişim evrelerindeki yaşama oranına ve gelişim sürelerine olumsuz etkisinin olduğu rapor edilmiştir (Nair vd. 2018). Çalışmamızda *G. mellonella*'nın yapay besinine ilave ettiğimiz antihelmintik bir madde olan levamizolün %0,01 g ve %0,1 g'lık konsantrasyonlarının benzer bir şekilde kontrol grubuna göre böceğin 7. evre larva olma oranını ortalama % 45, pup olma oranını ortalama %50 ve ergin olma oranını ortalama %60 oranında düşürdüğü ve bu evrelere ulaşma sürelerini yaklaşık olarak 9 gün uzattığı tespit edilmiştir. Yaptığımız analizler sonucunda, yapay besin içeriğine ilave edilen levamizol konsantrasyonlarının artmasıyla paralel olarak seyreden tüm gelişim evrelerdeki yaşama oranı, gelişme süreleri ve ergin ömür uzunluğundaki olumsuz etki levamizolün böceğin larval dönemdeki beslenme davranışını önemli ölçüde değiştirerek, larva sonrasındaki evreler üzerinde de benzer bir etki göstermesine neden olmuş olabilir.

Salisinalid türevi bir antihelmintik madde olan niklozamidin *G. mellonella*'nın fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada da niklozamidin %0,001 g, %0,01 g, %0,1 g ve %1 g'lık konsantrasyonlarını içeren yapay besinle beslenen 1. evre larvaların, son evre larva, pup ve ergin evrelerindeki yaşama oranının düştüğü ve denenen en yüksek konsantrasyonda ergin olma süresinin önemli derecede uzadığı kaydedilmiştir. Buna ek olarak, böceğin yaşama ve gelişim parametrelerinde tespit edilen bu etkinin niklozamidin oluşturduğu prooksidan etkisinden kaynaklandığı tespit edilmiştir (Büyüküzgel ve Kayaoğlu 2014). Bizim çalışmamızda da denenen en yüksek levamizol konsantrasyonunun (%0,1 g) böceğin ergin olma süresini yaklaşık olarak 7 gün uzattığı tespit edilmiştir. Böceğin yaşama oranı ve gelişme süreleri

üzerindeki olumsuz etki benzer bir şekilde denenen levamizol konsantrasyonlarının böcek üzerinde oluşturduğu prooksidan etkisinden kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak, %0,001 g, %0,01 g ve %0,1 g'lık konsantrasyonlarda yapay besine ilave edilerek oral yolla verilen imidazotiyazol türevi bir antihelmintik olan levamizolün *G. mellonella*'nın 7. evre larva, pup ve ergin olmak üzere tüm gelişim evrelerinde böceğin yaşama ve gelişme parametrelerini olumsuz yönde etkilediği anlaşılmıştır. Levamizolün *G. mellonella* üzerinde gösterdiği olumsuz etkinin tam olarak anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara gerek duyulmaktadır.

5. Teşekkür

Bu çalışma "Levamizolün model organizma *Galleria mellonella*'nın tüm gelişim evreleri ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi" başlıklı doktora tez projesinden elde edilmiştir. 2021-50737594-07 kodlu proje desteği için Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz. Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi ve Biyokimyası Araştırma Laboratuvarı'nın imkanlarını kullanmamızı sağlayan Prof. Dr. Kemal Büyüküzgel'e teşekkür ederiz. Çalışmamızda kullandığımız levamizolü temin eden Deva İlaç Şirketi'ne teşekkür ederiz.

6. Kaynakça

- Aslan, N., Büyüküzgel, E., ve Büyüküzgel, K. 2019.** Oxidative effects of gemifloxacin on some biological traits of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Environ. Entomol.*, 48 (3): 667-673. Doi: 10.1093/ee/nvz039
- Bernardi, EB., Haddad, ML., Parra, JRP. 2000.** Comparison of artificial diets for rearing *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) (Lep., Pyralidae) for Trichogramma mass production. *Rev. Brasil. Biol.*, 60 (1): 45-52
- Bismuth, H., Aussel, L., Ezraty, B. 2019.** The greater wax moth, *Galleria mellonella* to study host-pathogen interactions. *Med. Sci.*, 35 (4): 346-351. Doi: 10.1051/medsci/2019071
- Bronskill, J. 1961.** A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae). *J. Lep. Soc.*, 15 (2): 102-104
- Buyukguzel, E., Buyukguzel, K. 2016.** Effect of acyclovir on the microbial contamination in the artificial and natural diets for rearing of *Galleria mellonella* L. larvae. *Karaelmas Sci. Eng. J.*, 6 (1): 105-110
- Büyüküzgel, E. 2009.** Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion. *J. Econ. Entomol.*, 102 (1): 152-159. Doi: 10.1603/029.102.0122

- Büyükgüzel, E., Kalender, Y. 2007.** Penicillin-induced oxidative stress: effects on antioxidative response of midgut tissues in instars of *Galleria mellonella*. *J. Econ. Entomol.*, 100 (5): 1533-1541. Doi: 10.1093/jee/100.5.1533
- Büyükgüzel, E., Kalender, Y. 2008.** *Galleria mellonella* (L.) survivorship, development and protein content in response to dietary antibiotics. *Entomol. Sci.*, 43 (1): 27-40. Doi: 10.18474/0749-8004-43.1.27
- Büyükgüzel, E., Kalender, Y. 2009.** Exposure to streptomycin alters oxidative and antioxidative response in larval midgut tissues of *Galleria mellonella*. *Pestic. Biochem. Phys.*, 94 (2): 112-118. Doi: 10.1016/j.pestbp.2009.04.008
- Büyükgüzel, E., Kayaoglu, S. 2014.** Niklozamid'in *Galleria mellonella* L.(Lepidoptera: Pyralidae)'nın bazı biyolojik ve fizyolojik özelliklerine etkisi. *Türk. Entomol. Derg.*, 38(1): 83-99
- Büyükgüzel, E., Büyükgüzel, K. 2019.** Effects of a DNA gyrase inhibitor, novobiocin, on the biological parameters of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Entomol. Sci.*, 54 (1): 79-86. Doi: 10.18474/JES18-72
- Chapuis, PH., Bokey, E., Chan, C., Keshava, A., Rickard, MJFX., Stewart, P., Dent, OF. 2019.** Recurrence and cancer-specific death after adjuvant chemotherapy for Stage III colon cancer. *Colorectal Dis.*, 21 (2): 164-173. Doi: 10.1111/codi.14434
- Copping, LG., Duke, SO. 2007.** Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest Manag. Sci.*, 63 (6): 524-554. Doi: 10.1002/ps.1378
- Cutuli, MA., Petronio Petronio, G., Vergalito, F., Magnifico, I., Pietrangelo, L., Venditti, N., Di Marco, R. 2019.** *Galleria mellonella* as a consolidated in vivo model hosts: New developments in antibacterial strategies and novel drug testing. *Virulence*, 10 (1): 527-541. Doi: 10.1080/21505594.2019.1621649
- Çalık, G., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2016.** Reduced fitness in adults from larval, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) reared on media amended with the anthelmintic, mebendazole. *J. Econ. Entomol.*, 109 (1): 182-187. Doi: 10.1093/jee/tov305
- Çelik, C., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2019.** The effects of oxytetracycline on survival, development and total protein of *Galleria mellonella* L.(Lepidoptera: Pyralidae). *J. Entomol. Res.*, 21 (1): 95-108
- Er, A., Taşkıran, D., Sak, O. 2017.** Azadirachtin-induced effects on various life history traits and cellular immune reactions of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Arch. Biol. Sci.* 69 (2): 335-44. Doi: 10.2298/ABS160421108E
- Erbaş, ED., Altuntaş, H. 2020.** Lethal and sublethal effects of juglone on the life-history traits of *Galleria mellonella* L.(Lepidoptera: Pyralidae). *Acta. Zool. Bulg.*, 72: 43-48. Doi: 10.81043/aperta.2913
- Ghoneim, K., Tanani, M., Hamadah, Kh., Abdel-Khalig, A., Emam, D. 2019.** Deteriorated adult performance and reproduction of the Greater Wax Moth, (*Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) by the honey bee apitoxin. *Egypt. Acad. J. Biol. Sci.*, 12 (4): 95-108. Doi: 10.21608/EAJBSA.2019.45828
- Holden-Dye, L., Walker, RJ. 2007.** Anthelmintic drugs. *WormBook*, 1.
- Hoffmann, MF., Preissner, SC., Nickel, J., Dunkel, M., Preissner, R., Preissner, S. 2014.** The Transformer database: biotransformation of xenobiotics. *Nucleic Acids Res. Spec. Publ.*, 42 (D1): D1113-D1117. Doi: 10.1093/nar/gkt1246
- Kayis, T., Altun, M., Coskun, M. 2019.** Thiamethoxam-mediated alteration in multi-biomarkers of a model organism, *Galleria mellonella* L.(Lepidoptera: Pyralidae). *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 26: 36623-36633. Doi: 10.1007/s11356-019-06810-7
- Kılıç, A., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2015.** Antihelmintik triklabendazolun yapay besin ile beslenen *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının yaşama ve gelişimine etkisi. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 21 (6): 841-847. Doi: 10.9775/kvfd.2015.13731
- Lange, A., Schäfer, A., Bender, A., Steimle, A., Beier, S., Parusel, R., Frick, J. S. 2018.** *Galleria mellonella*: a novel invertebrate model to distinguish intestinal symbionts from pathobionts. *Front. Immunol.*, 9: 2114. Doi: 10.3389/fimmu.2018.02114
- Li, G., Xia, X., Zhao, S., Shi, M., Liu, F., Zhu, Y. 2020.** The physiological and toxicological effects of antibiotics on an interspecies insect model. *Chemosphere*, 248: 126019. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.126019
- Marklund, S., Marklund, G. 1974.** Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 47: 469-474. Doi: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x
- Martin, RJ., Robertson, AP., Buxton, SK., Beech, RN., Charvet, CL., Neveu, C. 2012.** Levamisole receptors: a second awakening. *Trends Parasitol.*, 28 (7): 289-296. Doi: 10.3389/fimmu.2018.02114
- McKellar, QA., Jackson, F. 2004.** Veterinary anthelmintics: old and new. *Trends Parasitol.*, 20 (10): 456-461. Doi: 10.1016/j.pt.2004.08.002
- Mikulak, E., Gliniewicz, A., Przygodzka, M., Solecka, J. 2018.** *Galleria mellonella* L. as model organism used in biomedical and other studies. *Przegl. Epidemiol.*, 72 (1): 57-73.

- Miller, MJ. 1980.** Use of levamisole in parasitic infections. *Drugs*, 20 (2): 122-130
- Nair, RV., Kulye, MS., Kamath, SP. 2019.** A single semi-synthetic diet with improved antimicrobial activity for mass rearing of lepidopteran insect pests of cotton and maize. *Entomol. Exp. Appl.*, 167 (4): 377-387. Doi: 10.1111/eea.12779
- Ning, S., Zhang, W., Sun, Y., Feng, J. 2017.** Development of insect life tables: comparison of two demographic methods of *Delia antiqua* (Diptera: Anthomyiidae) on different hosts. *Sci. Rep.*, 7 (1): 1-10. Doi: 10.1038/s41598-017-05041-5
- Pereira, TC., De Barros, PP., Fugisaki, LRDO., Rossoni, RD., Ribeiro, FDC., De Menezes, RT., Junqueira, JC., Scorzoni, L. 2018.** Recent advances in the use of *Galleria mellonella* model to study immune responses against human pathogens. *J. Fungus*, 4 (4): 128. Doi: 10.3390/jof4040128
- Piatek, M., Sheehan, G., Kavanagh, K. 2020.** Utilising *Galleria mellonella* larvae for studying in vivo activity of conventional and novel antimicrobial agents. *Pathog. Dis.*, 78 (8): ftaa059. Doi: 10.1093/femspd/ftaa059
- Scheinfeld, N., Rosenberg, JD., Weinberg, JM. 2004.** Levamisole in dermatology. *Am. J. Clin. Dermatol.*, 5 (2): 97-104. Doi: 1175-0561/04/0002-0097
- Sefer, EN., Büyükgüzel, K. 2018.** The Effect of piperazine on survivorship and development of *Galleria mellonella*. *Karaelmas Fen ve Müh. Derg.*, 8 (1): 365-372. Doi: 10.7212%2Fzkufbd.v8i1.1248
- Snedecor GS., Cochran, WG. 1989.** Statistical Methods. 8th ed. Ames, IA, USA: Iowa State University Press.
- SPSS Inc: User's Manual.** Version 15.0 for Windows; SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2006.
- Sugeçti, S., Büyükgüzel, E., Büyükgüzel, K. 2016.** Laboratory assays of the effects of oxfendazole on biological parameters of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Entomol. Sci.*, 51 (2): 129-137. Doi: 10.18474/JES15-36.1
- Üstündağ, G., Büyükgüzel, K., Büyükgüzel, E. 2020.** Penicillin impact on survivorship, development, and adult longevity of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Entomol. Sci.*, 55 (4): 560-569. Doi: 10.18474/0749-8004-55.4.560
- Vogel, H., Altincicek, B., Glöckner, G., Vilcinskas, A. 2011.** A comprehensive transcriptome and immune-gene repertoire of the lepidopteran model host *Galleria mellonella*. *BMC Genomics*, 12 (1): 1-19. Doi: 10.1186/1471-2164-12-308
- Yusof, S., Mohamad Dzomir, AZ., Yaakop, S. 2019.** Effect of irradiating puparia of oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) on adult survival and fecundity for sterile insect technique and quarantine purposes. *J. Econ. Entomol.*, 112(6): 2808-2816. Doi: 10.1093/jee/toz217
- Wu, J., Li, J., Zhang, C., Yu, X., Cuthbertson, AG., Ali, S. 2020.** Biological impact and enzyme activities of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) in response to synergistic action of Matriline and *Beauveria brongniartii*. *Front. Physiol.*, 2020 (11): 584405. Doi: 10.3389/fphys.2020.584405
- Zahran, NF., Hamza, AF., Sayed, WAA. 2018.** Impact of certain additives to diet on the biological and biochemical characteristics of peach fruit fly, *Bactrocera zonata*. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, 11 (4): 423-428. Doi: 10.1016/j.jrras.2018.07.007
- Zeng, J., Bi, B., Zhang, F., Cheng, G., Thi, MDV., Zhang, G. 2019.** Cu/ZnSOD always responded stronger and rapider than MnSOD in *Lymantria dispar* larvae under the avermectin stress. *Pestic. Biochem. and Phys.*, 156: 72-79. Doi: 10.1016/j.pestbp.2019.02.010
- Zorlu, T., Nurullahoğlu, ZU., Altuntaş, H. 2018.** Influence of dietary titanium dioxide nanoparticles on the biology and antioxidant system of model insect, *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Entomol. Res.*, 20 (3): 89-103.