

## BİR ÇEŞİT ADJUVAN OLAN POTASYUM ALUMUN *Drosophila melanogaster* (Meyve sineği)' in YUMURTA VERİMİ ve ÇEŞİTLİ GELİŞİMSEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Arif Ayar<sup>1</sup>, Handan Uysal<sup>1\*</sup>, Deniz Altun<sup>2</sup>, Sıdıka Semerdöken<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzurum

<sup>2</sup>Erzincan Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzincan

### Özet:

Bu çalışmada, uzun yıllardır aşılarda immün yanıtı arttırmak amacıyla katkı maddesi olarak kullanılan adjuvanlardan biri olan potasyum alumun (potasyum alüminyum sülfat) *Drosophila melanogaster*' in Oregon R (Meigen) yabanıl soyuna ait dişi bireylerde kronik beslenmeye bağlı olarak yumurta verimi, yumurtadan-ergine gelişim dönemleri ve F1 nesline ait yavru birey sayısı üzerine etkileri araştırılmıştır.

Bu amaçla, dört farklı konsantrasyonda (0.1; 0.3; 0.5 ve 1.0M) potasyum alüminyum sülfat [AlK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] çözeltisi, içerisinde Standart *Drosophila* Besiyeri (SDB) bulunan petri kutularına eklenmiştir. Deney gruplarında kullanılacak olan dişi bireyler Alum+SDB içeren bu besiyerlerinde üç gün kronik olarak beslenmişlerdir. Daha sonra, uygulama gruplarına ait bu dişi bireyler ile gelişim dönemlerini yalnızca SDB'de geçiren erkek bireyler arasında 1♀ X 3♂ çaprazı kurulmuştur. 24 saatlik periyotlarla petri kutuları içerisindeki sinekler bayıltılarak aynı konsantrasyonlarda Alum+SDB içeren yeni besiyerlerine alınmışlardır. Kontrol ve uygulama grupları için üç gün süren bu işlemlerden sonra, petrielerde yumurta, pupa ve F<sub>1</sub> nesline ait ergin yavru birey sayımları yapılmıştır.

Çalışmamızın sonucunda, potasyum alumun 0.1 ve 0.3M uygulama gruplarında dişi başına düşen günlük ortalama yumurta verimi ve yumurtadan-ergine dönüşebilme sayı/oranları üzerine istatistiksel olarak önemli oranda etkili olmadığı (P>0.05) ancak son iki uygulama grubunda (0.5 ve 1.0M) bu oranları oldukça düşürdüğü tespit edilmiştir (P<0.05).

**Anahtar kelimeler:** Adjuvan, *Drosophila melanogaster*, Fekundite, Fertilité, Gelişim Evreleri, Potasyum Alum

## EFFECTS OF A VARIETY OF ADJUVANTS POTASSIUM ALUM ON THE EGG PRODUCTION AND THE VARIOUS DEVELOPMENTAL PROPERTIES OF DROSOPHILA MELANOGASTER (FRUIT FLY)

### Abstract:

In this study, the effects of potassium alum (potassium aluminium sulfate) which is one of the adjuvants for many years used as an additive in order to enhance the immune response to vaccines on the egg production, developmental stages from egg to adult and the offspring of the number of individuals belonging to F1 progeny developmental stages of female Oregon R *Drosophila melanogaster* (Meigen) with chronic feeding were investigated.

For this purpose, at four different concentrations (0.1, 0.3, 0.5, and 1.0M), potassium aluminium sulfate [AlK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] solution was added into the petri dishes with Standard *Drosophila* Medium (SDM). The female individuals to be used in the application groups were chronically fed for three days in the medium. Then, the female individual belonging to applications groups and three male individuals that lived in only SDM during their developmental stages were crossed (1♀ X 3♂). These flies in the petri dishes were put into the new petri dishes that contained the same concentration Alum+SDM with 24-hour periods by etherization. After this procedure having taken three days for the control and application groups, it was counted eggs, pupae and adult offspring of the F1 progeny in the petri dishes.

In the result of our study, it was observed that potassium alum has no significant effects by statistically (P>0.05) on the average daily egg production per female and eggs and the eclosion number/rate in the 0.1 and 0.3M application groups except the last two (0.5 and 1.0M) application groups (P<0.05).

**Keywords:** Adjuvant, *Drosophila melanogaster*, Fecundity, Fertilization, Developmental stages, Potassium aluminium

## Giriş

Aşılamada son hedef, yaşam boyu koruyuculuk, uzun süreli ve güçlü bir immün yanıt oluşturmaktır. Var olan antijenlerin saflaştırılmasıyla veya rekombinat DNA tekniğiyle elde edilmiş antijenlerle üretilen ölü aşılar zayıf immünojenlerdir ve güçlü bir immün yanıt için adjuvana ihtiyaç duyarlar [1]. Latince “Adjuvare” kelimesinden türetilen adjuvan, yardım etmek, arttırmak, çoğaltmak anlamına gelmekte ve spesifik bir antijenle beraber kullanıldığında antijenin tek başına kullanıldığından çok daha güçlü ve etkili immün yanıt oluşturan madde olarak tanımlanmaktadır [2].

Glenny ve ark. [3] göre, adjuvanlar ilk kez 1925 yılında Ramon tarafından tanımlanmıştır ve yine aynı araştırmacılar alüminyuma adsorbe edilmiş difteri toksoidi ile alüminyum tuzlarının adjuvan etkisini göstermişlerdir. O yıllardan günümüze alüminyum bileşikleri en sık kullanılan aşı adjuvanları olmuştur [4]. Al yeryüzünde en çok bulunan üçüncü metaldir ve özellikle farklı organizmalarda beyin, karaciğer, kemik ve hematopoietik sistem üzerinde toksik etkili olduğu bildirilmiştir [5]. 1972 yılına kadar Al'un zararlı olmadığı düşünülmekteydi. Ancak Al'un diğer ağır metaller kadar toksik olmasa da kronik alımlarda organizmada çeşitli hasarlara yol açtığı bildirilmektedir [6]. Al'un organizmada birikmesi ve proteinlere fazla miktarda bağlanması nedeni ile vücuttan atılması zordur ve ciddi rahatsızlıklara neden olmaktadır [7]. Özellikle sürekli hemodiyaliz tedavisi gören hastaların çoğunda ‘diyaliz ensefalopati sendromu’ (DES), ‘diyaliz dementia’ olarak bilinen bir beyin hastalığı, kemik yumuşaması olarak tanımlanan ‘diyaliz osteomalizisi’ [8-10] ve kansızlığa sebep olduğunun görülmesiyle [11], Al'un insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkisi ile ilgili araştırmalar başlamıştır.

Deney hayvanları üzerinde yapılan bir araştırmada, döllenmiş Ross cinsi besi tavuk yumurtalarına kuluçkanın 1.gününde 1000mcg/0.1ml serum fizyolojik içinde verilen alüminyum sülfatın, civciv karaciğerinde yaygın inflamatuara [12], sıçan testislerinde germinatif ve böbrek tübül sisteminde dejeneratif hasara sebep olduğu gösterilmiştir [13, 14]. Al birikimine bağlı olarak hem civciv karaciğerinde hem de sıçanların böbrek ve beyin dokusunda oksidatif hasar da gözlenmiştir.

Golub ve ark. [15] tarafından yapılan bir çalışmada, gebeliğin başından itibaren diyetle verilen Al, farelerde dalak ve karaciğer ağırlığında artmaya ve embriyoda gelişme geriliğinin bir göstergesi olan tepe-topuk ölçüsünde kısalmaya yol açtığı tespit edilmiştir. Domingo ve ark. [16] çalışmasında ise gebe sıçanlara intraperitoneal olarak verilen Al bileşiklerinin nispeten küçük dozlarda bile gebelik toksikozu oluşturduğu gösterilmiştir.

Literatürde aşılarla ilgili pek çok çalışmanın mevcut olmasına rağmen, adjuvan olarak kullanılan bileşikler ve bunların gelişim biyolojisi üzerine olumsuz etkileriyle ilgili araştırmalara pek rastlanılmamıştır. Bu amaçla çalışmamızda *D. melanogaster*'in yumurta verimi ve çeşitli gelişim evreleri üzerine alüminyum bileşiklerinden potasyum alüminyum sülfatın etkileri araştırılmıştır.

### Materyal ve Metod

Bu çalışmada, uzun yıllardan beri kendileştirilerek laboratuvar koşullarına uyum sağlamış arı bir soy olan *D. melanogaster*'in Oregon R soyu kullanılmıştır. Hem kontrol hem de deney gruplarında besiyeri olarak Standart Drosophila Besiyeri (SDB) seçilmiştir. Tüm deney sistemleri ve stoklar  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve %40-60 bağıl nem taşıyan sürekli karanlık koşullardaki inkübatörlerde tutulmuştur. Deney grupları için, potasyum alum dört farklı konsantrasyonda (0.1; 0.3; 0.5 ve 1.0M) içerisinde SDB bulunan petri kutularına ilave edilmiş ve pupadan henüz çıkmış aynı yaşlı dişi bireyler bu besiyerlerinde üç gün yaşatılmıştır. Daha sonra, uygulama gruplarına ait dişiler ile gelişim dönemlerini yalnızca SDB'de geçiren erkek bireyler arasında  $1\text{♀} \times 3\text{♂}$  çaprazı kurulmuştur. 24 saatlik periyotlarla petri kutuları içerisindeki sinekler bayıltılarak aynı konsantrasyonlarda Alum+SDB içeren petrilere transfer edilmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarında üç gün süren bu işlemlerden sonra, petrilere yumurta, pupa ve ergin sayımları yapılmıştır. Elde edilen veriler SPSS 13.0 paket programı ile değerlendirilmiştir.

### Bulgular

Denelerimizde, *D. melanogaster*'in yabancı soyunda dişi bireyler için günlük ortalama yumurta verimi, yumurtadan pupaya ve pupadan ergine dönüşebilme sayı/oranlarına göre, potasyum alumun etkisi belirlenmiştir. Kontrol grubunda bir dişi için günlük ortalama yumurta verimi  $21.67\pm 3.75$  iken bu yumurtalardan çıkan larva sayısı  $20.0\pm 3.46$ , pupa sayısı  $17.33\pm 3.28$  ve erginleşebilen birey sayısı da  $16.67\pm 3.52$  olarak bulunmuştur (Tablo 1).

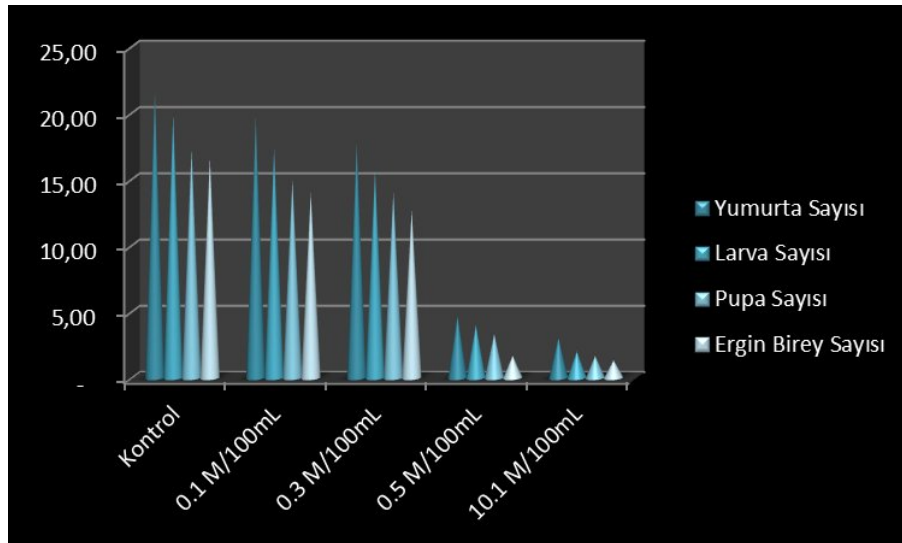
0.1M uygulama grubunda bir dişi için günlük yumurta verimi  $19.67\pm 3.18$ , erginleşebilen birey sayısı  $14.0\pm 2.64$ ; 0.3M uygulama grubunda ise günlük yumurta verimi  $17.67\pm 1.45$ , erginleşebilen yavru sayısı da  $12.67\pm 0.88$  olarak bulunmuştur. Kontrol ve ilk iki deney grubuna (0.1; 0.3M) ait değerler arasındaki fark istatistiki olarak ( $P<0.05$ ) anlamlı değildir (Tablo 1). Ancak 0.5M uygulama grubuna ait değerler, kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman, günlük yumurta veriminin  $21.67\pm 3.75$ 'den  $4.67\pm 1.20$ 'ye, erginleşebilen birey sayısının da  $16.67\pm 3.52$ 'den  $3.0\pm 0.57$ 'ye gerilediği görülmüştür ( $P<0.05$ ). En yüksek konsantrasyona sahip uygulama grubu olan 1.0M'de ise yumurta verimi  $3.0\pm 1.15$ , erginleşebilen birey sayısı da  $1.33\pm 0.66$  olarak saptanmıştır (Tablo 1). Şekil 1.'de de yumurtadan-ergine gelişebilen bireylerin sayısı ve konsantrasyon artışı arasındaki negatif korelasyon açıkça görülebilmektedir.

**Tablo 1.** Ergin yaşamının ilk üç gününü potasyum alum bulunan ortamda geçiren bireylerde bir dişi için günlük ortalama yumurta, larva, pupa ve ergin sayısı

Uygulama Grupları (Molar)	Y.S.±S.H.	L.S.±S.H.	P.S.±S.H.	E.S.±S.H.
Kontrol	21.67 ± 3.75 <sup>a</sup>	20.0 ± 3.46 <sup>a</sup>	17.33 ± 3.28 <sup>a</sup>	16.67 ± 3.52 <sup>a</sup>
0.1	19.67 ± 3.18 <sup>a</sup>	17.33 ± 2.90 <sup>a</sup>	15.0 ± 3.21 <sup>a</sup>	14.0 ± 2.64 <sup>a</sup>
0.3	17.67 ± 1.45 <sup>a</sup>	15.67 ± 0.88 <sup>a</sup>	14.0 ± 0.57 <sup>a</sup>	12.67 ± 0.88 <sup>a</sup>
0.5	4.67 ± 1.20 <sup>b</sup>	4.0 ± 0.57 <sup>b</sup>	3.33 ± 0.66 <sup>b</sup>	3.0 ± 0.57 <sup>b</sup>
1.0	3.0 ± 1.15 <sup>b</sup>	2.0 ± 1.15 <sup>b</sup>	1.67 ± 0.88 <sup>b</sup>	1.33 ± 0.66 <sup>b</sup>

Y.S.:Yumurta sayısı, L.S.: Larva sayısı, P.S.:Pupa sayısı, E.S.:Erginleşebilen birey sayısı, S.H.:Standart hata.

İstatistiksel karşılaştırma kontrol ve uygulama grupları arasında yapılmıştır. Farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki fark P<0.05 düzeyinde önemlidir.



**Şekil 1.** Farklı konsantrasyonlarda Alum+SDB içeren besiyeri ile beslenen ergin bir dişinin günlük ortalama yumurta sayısı ve larvadan ergine dönüşebilen birey sayılarının karşılaştırılması

**Tartışma ve Sonuç:**

Çalışmamızın sonucunda aşı adjuvanlarından potasyum alumun yüksek konsantrasyonlarda (0.5 ve 1.0M) *D. melanogaster*' in çeşitli gelişim evrelerinin süresini uzatarak negatif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 1 ve Şekil 1). Ayrıca Tablo 1 incelendiğinde, özellikle son iki uygulama grubuna ait günlük yumurta veriminin son derece düştüğü ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ( $P<0.05$ ).

*D. melanogaster*'de potasyum alum uygulaması sonucu ortaya çıkan yumurta verimindeki azalmanın yumurta sarısı proteinlerinden olan vitellojen sentezinin engellenmesi ile oluşabileceği düşünülmektedir [17,18]. Bu engelleme iki farklı mekanizma ile gerçekleşebilir. En sık rastlanılan mekanizma, pozitif yüklü alüminyumun elektrostatik etki ile proteinlere adsorbe olması şeklindedir. İkinci mekanizma ise "ligand exchange" olarak tanımlanmaktadır. Bu mekanizmada, protein ile alüminyum tuzları arasında hidroksil ve fosfat grupları değiştirilir. Örneğin, proteinlerin hidroksil grubu ile alüminyum fosfatın fosfat grubu değiştirilerek farklı bir bağlanma sağlanmaktadır [19, 20]. *Drosophila*'nın *sephia* mutantıyla yapılan bir çalışmada farklı kimyasal maddelerle yumurta sarısı proteinlerinin yukarıdaki mekanizmaya benzer şekilde yanlış bağlanması sonucu embriyonik mortalitenin arttığı [21], embriyonik mortalitedeki artışın da *D. melanogaster*'de yumurta açılım oranını düşürdüğü belirlenmiştir [22].

Araştırmamızın diğer bir bölümünde, potasyum alum konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak larvaların ergine gelişme oranının azaldığı gözlenmiştir (Tablo 1 ve Şekil 1). Literatürde bizim bulgularımızı destekler nitelikte olan ve çeşitli metallerin *D. melanogaster*'in gelişim dönemleri üzerine etkileriyle ilgili birçok çalışma mevcuttur [23,26]. Bu çalışmalarda, kadmiyum klorür, bakır sülfat, demir sülfat ve kurşun nitrat gibi bazı ağır metaller ile çeşitli kimyasalların *D. melanogaster*'de metamorfoz süresini uzattığı belirlenmiştir. Ayrıca özellikle 1. ve 2. evre larvaların ve pupaların ağır metallerle karşı oldukça duyarlı oldukları vurgulanarak ergine gelişmeyi inhibe ettiği tespit edilmiştir. Massie ve ark. [27] tarafından yapılan bir çalışmada, diyetle aşırı miktarda alınan alüminyum ve alüminyum tuzlarının *Drosophila*'da toksik etkilere neden olduğu ve bunun da yaşam süresini %20 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Bu nedenle artan alüminyum konsantrasyonuna bağlı olarak bizim çalışmamızda da ergin birey sayısı kontrol grubuna göre önemli bir düşüş göstermiştir ( $P<0.05$ ).

Golub ve ark. [15] dişi farelere gebeliğin başından itibaren diyetle verilen alüminyumun embriyoda teratojenik etkilere sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Butnaro [28]'ya göre, alüminyumun sebep olduğu teratojenik etki, *Drosophila*'da ayrılmama ve kromozom kırıkları gibi kromozom anormalliklerine atfedilmektedir. Teratojenite sebebiyle de ergin birey sayısının azalması kuvvetle muhtemeldir.

Kiss ve ark. [29] göre, Al hücre membranının geçirgenliğini ve yapısal bütünlüğünü bozarak ve önemli enzim faaliyetlerini kısıtlayarak hücrelerin yaşamsal faaliyetlerini durdurucu etki göstermektedir. Al'un varlığında iyon kanalları uzun süre açık kalır ve bunun sonucunda hücre içine Na sızıntısı gerçekleşir. Hücre içine sızan Na'nın konsantrasyonunun artışıyla Na/H dengesi bozulur ve hücreler arası pH azalarak hücre ölümleri gerçekleşir [30].

Diğer bir çalışmada ise temelde Al'un hücrenel birikimle mitokondriyonların fonksiyonunu etkilediği ifade edilmektedir. Mitokondri iç zarı ile Al'un etkileşimi, reaktif oksijen türlerinin açığa çıkmasına neden olmakta ve oksidatif hasara yol açmaktadır [31]. Oksidatif reaksiyonu gösteren malondialdehit ve glutatyon düzeyindeki değişiklikler Ross besi civcivlerinde gösterilmiştir [12]. Lai ve ark. (1985) [32]'na göre Al, hexokinaz gibi bazı mitokondriyal enzimlerin aktivitelerini de kısıtlamaktadır.

Hayvanlar stres koşulları ile mücadele etmek için yüksek oranda enerjiye ihtiyaç duyarlar ve çeşitli onarım mekanizmaları için daha çok enerji harcayabilirler [33, 34]. Sonuçta, Al uygulamasına bağlı olarak ortaya çıkan stres durumunu atlatabilmek için *D. melanogaster*'in enerji depolarında mitokondriyel hasara bağlı olarak oluşabilecek azalma, gelişim evrelerinin uzamasına yol açarak özellikle yüksek dozlarda pupalaşma oranını düşürmüş olabilir. Pupa sayısındaki düşüşte ergin yavru birey sayısını etkileyebilecektir.

Al uygulamasına bağlı olarak larvadan ergine dönüşebilme oranındaki düşüşle ilgili bir diğer mekanizma hormonal düzensizlik olabilir. Şöyle ki; böceklerin üreme potansiyeli, sinir ve endokrin sistemin koordinasyonu altındadır [35]. Gelişim evrelerinde ortaya çıkan hücre ölümleri ve enerji düzeyindeki düşüş gibi olumsuz etkiler, böcekte bulunan ve böceğin gelişimini kontrol altında tutan juvenil hormon dengesini değiştirebilir. Juvenil hormonları değişik inhibitör veya inhibitör benzeri maddelerle, örneğin Al gibi, baskılandığı zaman [36], bizim çalışmalarımızın sonucunda da gözlemlendiği üzere yumurtadan-ergine gelişimin değişik evrelerinde gecikmeler görülebilir.

Bu çalışmayla alüminyumlu aşı adjuvanlarından potasyum alumun kronik alımına bağlı olarak *D.melanogaster*'de özellikle yüksek konsantrasyonlardaki uygulama ile çeşitli gelişim dönemleri yumurtadan-ergine inhibe edilmiş ve muhtemelen organizmamızda bulunan ksenobiyotik intoksifikasyon mekanizmasının [37] yetersiz kalmasından dolayı gelişim sürecinin uzaması ile yavru birey sayısının azalması arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir.

**Kaynaklar**

- [1] Vogel FR, Hem SL. Immunologic adjuvants. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA (eds). Vaccines (5th ed). Philadelphia: WB Saunders, 2008, 59-71.
- [2] Exley C, Siesjo P, Eriksson H. The immunobiology of aluminium adjuvants: how do they really work? Trends Immunol 2010, 31:103-109.
- [3] Glennly AT, Pope CG, Waddington H, Wallace W. The antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum. J Path Bact 1926, 29: 38-45.
- [4] Tomljenovic L ve Shaw CA. Aluminum Vaccine Adjuvants: Are they Safe? Current Medicinal Chemistry 2011, 18: 2630-2637
- [5] Stacchiotti A, Rodella LF, Ricci F, et al. Stress proteins expression in rat kidney and liver chronically exposed to aluminium sulphate. Histol Histopathol 2006, 21:131-40.
- [6] Marichal T, Ohata K, Bedoret D et al. DNA released from dying host cells mediates aluminum adjuvant activity. Nat. Medic. 2011, 17:996–1002.
- [7] Kutlubay R, Oğuz EO, Güven C, et al. Histological and ultrastructural evidence for protective effects on aluminium-Induced kidney damage by intraperitoneal administration of alpha tocopherol. Int J Toxicol 2007, 26:95-101.
- [8] Perl DP, Moalem S. Aluminum and Alzheimer's disease, a personal perspective after 25 years. J Alzheimers Dis. 2006, 9:291-300.
- [9] Prior JC, Cameron EC, Knickerbocker WJ. et al. Dialysis encephalopathy and osteomalacic bone disease. The Am J Med 1982, 72:33-42.
- [10] Smith GD, Winney RJ, Me Lean A, et al. Aluminium related osteomalacia. Kidney Int 1987, 32:96-101.
- [11] Parkinson IS, Ward MK, Kerr DNS. Dialysis encephalopathy, bone disease and anemia. J Clin Pathol 1981, 34:1285-1294.
- [12] Oğuz EO, Yüksel H, Enli H, Enli Y, Zorbozan O, Can Z, Turgut G. Alüminyum Sülfat'ın "Ross" cinsi term besi civcivi karaciğerinde yarattığı toksik ve inflamatuvar hasar. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2008, 61:1-6.
- [13] Mahieu S, Millen N, Gonzalez M, et al. Alterations of the renal function and oxidative stress in renal tissue from rats chronically treated with aluminium during the initial phase of hepatic regeneration. J Inorg Biochem 2005, 99:1858-1864.
- [14] Kaneko N, Yasui H, Takada J, et al. Orally administrated aluminum-maltolate complex enhances oxidative stress in the organs of mice. J Inorg Biochem 2004, 98:2022-2031.
- [15] Golub MS, Gershwin ME, Donald JM. Maternal and developmental toxicity of chronic aluminum exposure in mice. Fundam and Appl Toxicol 1987, 8:346-357.
- [16] Domingo JL, Gomez M, Colomina MT. Risks of aluminium exposure during pregnancy. Contrib Sci 2000, 1:479-487.
- [17] De Man W, De Loof A, Bries T, Huybrechts R. Effect of absisic acid on vitellogenesis in *Sarcophoga bullata*. Entomol Exp Appl 1981, 29:259-267.
- [18] Vasedeu V, Krishnamuthy HB. Preliminary studies on the effect of cadmium chloride on *D. melanogaster*, Drosophila Inform Service, 1981, 56:145-153.
- [19] Morefield GL, Jiang D, Romero-Mendez IZ, Geahlen RL, Hogenesch H, Hem SL. Effect of phosphorylation of ovalbumin on adsorption by aluminum-containing adjuvants and elution upon exposure to interstitial fluid. Vaccine 2005, 23:1502-1506.
- [20] Iyer S, HogenEsch H, Hem SL. Relationship between the degree of antigen adsorption to aluminum hydroxide adjuvant in interstitial fluid and antibody production. Vaccine 2003, 21:1219-1223.
- [21]Nadda G, Saxena PN, Srivastava G. Effects of sublethal doses of beta-cyfluthrin on mutant *Drosophila melanogaster* (Diptera:Drosophilidae). Appl Entomol Zool 2005, 40:265–271.
- [22]Mukhopadhyay I, Siddique HR, Bajpai VK, Saxena DK, Chowdhuri DK. Synthetic pyrethroid cypermethrin induced cellular damage in reproductive tissues of *Drosophila melanogaster*: hsp70 as a marker of cellular damage. Arch Environ Contam Toxicol 2006, 51:673–680.
- [23]Gelegen L, Yeşilada E. *Drosophila melanogaster*' in bazı gelişimsel özellikleri üzerine kadmiyum nitratın etkisi. Turk J of Biol 2000, 24:585–591.
- [24] Islam MS, Khan MAR, Barman PC, Ali SI. Effect of copper and ferrous sulphates on the durations of developmental stages of *D. melanogaster*. Drosophila Inform Service 1988, 67: 46.
- [25]Uysal H, Kaya Y. Toxicity of *Eupharbia canariensis* latex to some developmental stages of *Drosophila melanogaster* (Diptera:Drosophilidae). Bull Environ Contam Toxicol 2004, 72:45–53.
- [26]Karataş A, Bahçeci Z. Effect of cypermethrin on some developmental stages of *Drosophila melanogaster* . Bull Environ Contam Toxicol 2009, 82:738-42.

- [27] Massie HR, Williams TR, Aiello VR. Excess dietary aluminum increases *Drosophila's* rate of aging. *Gerontology* 1985, 31:309-314.
- [28] Butnaru G. Aluminium and *Drosophila melanogaster* life cycle. *Metal Elements in Environment, Biology and Medicine*. 2nd Intern. Symp. Timisoara, Romania, 1996.
- [29] Kiss AS, Kiss I, Csikkel-Szolnoki A. The toxic effect of aluminium and its supposable mechanism in *Drosophila*. *J Elementol* 2007, 12:281-285.
- [30] Bittar EE, Xiang Z, Hunag YP. Citrat as an Al chelator and positive effect of sodium efflux in single barnacle muscle fibers. *Biochim Biophys Acta* 1992, 1108:210-214.
- [31] De Marchi U, Mancon M, Battaglia V, et al. Influence of reactive oxygen species production by monoamine oxidase activity on aluminum-induced mitochondrial permeability transition. *Cell Mol Life Sci* 2004, 61:2664-71.
- [32] Lai JCK, Baker A, Carlson KC, Blass JP. Differential effects of monovalent, divalent and trivalent metal ions on rat brain hexokinase. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1985, 80:291-294.
- [33] Lohar MK, Wright DJ. Changes in the lipid content in the haemolymph, fat body and oocytes of malathion treated *Tenebrio molitor* L. adult females. *Pakistan J Zool* 1993, 25:57-60.
- [34] Choi J, Roche H, Caquet T. Hypoxia, hyperoxia and exposure to potassium dichromate or fenitrothion alter the energy metabolism in *Chironomus riparius* Mg. (Diptera: Chironomidae) larvae. *Comp Biochem Physiol* 2001, 130:11-17.
- [35] Özkan F. Oral yolla alınan organofosfatlı insektisit Malathion'un *Pimpla turionellae* L. dişi bireylerinin yaşam süresi, yumurta verimi ve açılımına etkisi. Msc. Thesis, Çukurova University Institute of Basic and Applied Sciences 1995, 62-78, Adana.
- [36] Correia TG, Narcizo AM, Bianchini A, Moreira RG. Aluminum as an endocrine disruptor in female *Nile tilapia* (*Oreochromis niloticus*). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2010, 151:461-466.
- [37] Betina V. Biological effect of mycotoxins. *Mycotoxins: Chemical*. Ed: Betina, V., Biological and Environmental Aspects. Elsevier, Amsterdam, 42-58, 1989.