



Temel Amino Asitlerin Erkek *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) Larvalarının Gelişmesine ve Sentezledikleri Protein miktarına Etkileri

Mehmet SULANÇ*

Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 01330 Sarıçam, Adana, Türkiye

Geliş Tarihi: 24 Kasım 2021

Kabul Tarihi: 20 Şubat 2021

Basım Tarihi: 31 Mart 2021

Atf yapmak için: Balta, F., Verep, B. & Akkan, T. (2021). Temel Amino Asitlerin Erkek *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) Larvalarının Gelişmesine ve Sentezledikleri Protein miktarına Etkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 92-98.

How to cite: Balta, F., Verep, B. & Akkan, T. (2021). Effects of essential amino acids on development and synthesised protein amount of male larvae of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 92-98.

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0938-0084>

***Sorumlu yazarın:**

Mehmet SULANÇ
Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat
Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 01330 Sarıçam,
Adana, Türkiye.
✉: msulanc@cu.edu.tr

Öz: Temel amino asitlerin farklı oranlarının bir endoparazitoid hymenopter türü olan *Pimpla turionellae* L. erkek larvalarının gelişme hızı ve sentezledikleri protein miktarı üzerine etkileri, larvaların kimyasal yapısı bilinen sentetik besinler kullanılarak aseptik koşullarda beslemek suretiyle incelenmiştir. İzolösin, lösin ve metiyoninin larvaların gelişim hızı ve protein sentezi üzerinde kalitatif ve kantitatif olarak kritik bir etkiye sahip olduğu, izolösin ve lösinin besindeki oranının %50 artırılması, metiyoninin %50 azaltılması ile hem gelişme hızı hem de protein sentezi üzerinde değişik etkiler yaptığı gösterilmiştir. Arjinin, histidin, lizin, fenilalanin, treonin, triptofan ve valinin kalitatif ve kantitatif olarak kritik etkisi olmadığına ve kontrol besindeki oranlarının optimal kabul edilmesine gerektiğine karar verildi.

Anahtar kelimeler: Gelişme, *Pimpla turionellae*, protein sentezi, temel amino asitler.

Effects of essential amino acids on development and synthesised protein amount of male larvae of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)

Abstract: Effects of different essential amino acids ratios on the rate of development and the percentage of synthesised protein amount on the male larvae of endoparasitoid hymenopterous, *Pimpla turionellae* L. were investigated by using chemically defined synthetic diets under aseptic conditions. It was shown that the amino acids isoleucine, leucine and methionine had a qualitatively and quantitatively critical effect on the developmental rate and protein synthesis increased after increasing the rate of isoleucine and leucine by 50% and decreasing the rate of methionine by 50%, however decreased both the development date and protein synthesis. It was decided that arginine, histidine, lysine, phenylalanine, threonine, tryptophan and valine had no critical qualitative or quantitative effect and that their rates in the control diet should be assumed optimal.

***Corresponding author's:**

Mehmet SULANÇ
Cukurova University, Faculty of Arts and
Sciences, Department of Biology, 01330
Sarıçam, Adana, Turkey.
✉: msulanc@cu.edu.tr

Keywords: Development, essential amino acids, *Pimpla turionellae*, synthesised protein.

GİRİŞ

Böcekler için geliştirilen kimyasal yapısı belirli sentetik besinler, bu canlıların kalitatif ve kantitatif besinsel ihtiyaçlarını doğru bir şekilde saptamayı mümkün kılması yanında bilinmeyen besin bileşenlerinin metabolik

olaylar üzerine yaptığı ve açıklanması zor olan etkileri de minimuma indirmektedir.

Bu konuda fitofaj böcekler ile yapılan çok sayıda araştırma bulunduğu halde entomofaj böcekler ile yapılan çalışmalar hızla sürdürülmektedir (Thompson, 1976a; Thompson, 1976b; Thompson, 1986; Dadd, 1985; Chen, 1985; Thompson & Lee, 1994; Richards & Edwards,

1999; Assar vd., 2010). Entemofaj böceklerin günümüzde gereksinimi giderek artan biyolojik savaşındaki önemli yerleri nedeniyle, bu grubun besinsel gereksinimlerinin, konak-parazitoid ilişkilerinin ve bu ilişkilerde rol oynayabilecek metabolik olayların iyi bir şekilde anlaşılmasının önemini arttırmaktadır.

Parazitik hymenopter türlerinin de biyolojik savaşında kullanılabilirliği son zamanlarda bu böceklere karşı ilgiyi arttırmış ve bu gruba giren bazı böcek türleri için kimyasal yapısı bilinen sentetik besinler geliştirip kullanılarak bu besinlerdeki bileşenlerden bazılarının yaşama ve gelişme (Yazgan, 1981; Yazgan, 1982; Çelik, 1984), yumurta bırakma ve üreme (Emre, 1988; Emre & Yazgan, 1990), glikojen biyosentezi (Yanikoğlu, 1985), vitamin biyosentezi (Sulanç & Emre, 2000) ve protein biyosentezine (Sulanç & Yazgan, 1990) kalitatif ve kantitatif etkileri incelenmiştir.

Pimpla turionellae L. bir endoparazitoid türüdür ve bu böceğin ergin evreye kadar olan kalitatif amino asit gereksinimleri, temel ve temel olmayan amino asit karışım oranları ile sadece temel amino asitlerden oluşan bir karışımın değişik oranlarının etkileri (Çelik, 1984), karbonhidrat gereksinimleri ve değişik karbonhidratların larval evrede yaşama, gelişme ve glikojen sentezine etkileri (Yanikoğlu, 1985), tween 80, yağ asidi karışımı ve inorganik tuzların gelişme ve yaşama süresine etkileri (Yazgan, 1981), aspartik asit, glutamik asit ile bunların amidlerinin (Sulanç & Yazgan, 1990) ve inorganik tuzların (Sulanç vd., 1992) larvaların gelişme ve sentezledikleri protein miktarına kalitatif ve kantitatif etkileri araştırılsa da böceği *in vitro* yetiştirmede gereksinim duyulan dengeli bir besinin geliştirilmesinde açıklığa çıkarılması gereken daha birçok önemli konunun bulunduğu görülmektedir.

Böceklerdeki metabolik olayları, sadece temel besin bileşenleri olarak ifade edilen karbonhidratlar ve yağlar gibi enerji oluşturan maddeler etkilemeyip birinci derecede yapısal bir işleve sahip protein ve amino asitler gibi besin bileşenleri de etkilemektedir. Besinsel bileşenlerin, özellikle temel amino asitlerin metabolik olaylara etkileri üzerindeki çalışmalar parazitik hymenopter türlerinde son derece sınırlıdır. Bu nedenle bu gruba giren böcekler hakkında bazı genellemeler yapabilmek için bu tür çalışmalara gereksinim vardır. Bu tür çalışmalar şüphesiz konak-parazitoid ilişkilerinin anlaşılmasına da büyük ölçüde katkıda bulunacaktır. Örneğin parazitik bir hymenopter türü olan *Devorgilla canescens* (Grav.) dişi bireylerinin yumurta bırakmak için parazitlenmiş ve parazitlenmemiş konaklar arasındaki ayırımı özellikle lösin olmak üzere konak hemolenfindeki diğer bazı amino asit düzeylerine bağlı yaptıklarını göstermişlerdir (Fisher & Ganesalingam, 1970).

Bu çalışmada kimyasal yapısı bilinen sentetik besinler kullanılarak temel amino asitlerin erkek *P. turionellae* larvalarının gelişme hızı ve sentezledikleri protein miktarına kalitatif ve kantitatif etkileri incelenmiştir

MATERYAL VE METOT

Stok Kültür: *P. turionellae*'nin stok kültürü, laboratuvarında 24±1°C sıcaklık, %45±5 bağıl nem ve 14 saat aydınlanma periyodu koşullarında yetiştirildi. Doğal konak olarak büyük balmumu güvesi *Galleria mellonella* L.'nin genç pupları kullanıldı. Yeni erginleşen *P. turionellae* bireyleri ilk günlerde, günde bir saat süreyle bal çözeltisi (%50) ve *G. mellonella* pupu hemolenfi ile beslendi. Parazitlenme sonucu puftan çıkan ergin *P. turionellae* dişileri çiftleştirilmeden ayrı kafeslere alındı ve deneyler sadece bu ergin dişilerin bıraktıkları yumurtaların açılmasından elde edilen erkek larvalarla yapıldı. Bu şekilde devam ettirilen stok kültürden istenen zamanda ve sayıda yumurta veya larva elde edildi.

Deney Besinlerinin Hazırlanması ve Larvaların Beslenmesi: Kimyasal yapısı belli sentetik besinlerin hazırlanması, sterilizasyonu ve deney tüplerine dağıtılmasında Yazgan (1972, 1981) tarafından geliştirilen yöntemler ve teknikler kullanıldı. *G. mellonella* pupuna bırakıldıktan 24 saat sonra diseksiyonla çıkartılarak NaCl çözeltisi (%0,8) içine alınan ve gelişmiş embriyoya sahip yumurtalar Yazgan, (1972) tarafından geliştirilen teknikle sterilize edildi.

Yumurtadan yeni çıkmış ve henüz besin almamış larvalar, steril koşullarda içinde yaklaşık 0,3 ml besin bulunan 10x75 mm ölçülerindeki deney tüplerine tek tek konuldu ve tüplerin ağzı lastik mantar ile kapatıldı. İçindeki besine larva aşılardan deney tüpleri, hergün binoküler mikroskopta yapılan kısa bir gözlem periyodu hariç deney sonuna kadar karanlıkta tutuldu. Denemen her besin için üç tekrar yapıldı ve her tekrarda 10 larva kullanıldı. Besine aşılandıktan sonra ilk 48 saat içinde ölen ve mikroorganizmalar tarafından kirletilen tüplerdeki larvalar değerlendirilmedi. Sentetik besinlerle yapılan beslenme deneyleri stok kültür ile aynı laboratuvar koşullarında yürütüldü.

Kontrol Besinin Hazırlanması: Beslenme deneylerinde kontrol besini olarak kullanılan kimyasal yapısı belli sentetik besinin bileşimi Tablo 1'de görülmektedir.

Temel Amino Asitleri İçeren Besinlerin Hazırlanması: *P. turionellae* için temel olan 10 amino asitin kontrol besindeki miktarının artan ve eksilen oranlarındaki etkilerinin incelendiği deney serisinde her amino asit için üçer besin olmak üzere toplam 30 besin hazırlandı. Bu amaçla her amino asit için 3 ayrı oran

denenmiştir. Bunlar sırasıyla 1/2, 1/1.(Kontrol), ve 3/2 si şeklindedir. Bu oranlar her amino asit için ilgili çizelgede belirtilmiştir.

Bütün besinlerde denenen temel amino asitlerin azalan veya artan miktarları glisin miktarını arttırmak veya azaltmak suretiyle ayarlanmış olup glisin oranındaki değişiklik dışında diğer bütün besinsel bileşenler kontrol besindekilerle aynıdır.

Tablo 1. *P. turionellae* larvalarını beslemek için kullanılan kimyasal yapısı belirli sentetik besinin bileşimi.

Table 1. Composition of synthetic nutrient with certain chemical structure used to feed *P. turionellae* larvae.

Besin Bileşeni	mg/100ml Besin	Besin Bileşeni	mg/100ml Besin
L-Aminoasit Karışımı	6250,00	Lipid Karışımı	295,99
Alanin	312,50	Kolesterol	72,9167
Arjinin-HCl	381,25	Linoleik asit	3,6372
Aspartik asit	400,00	Linolenik asit	13,5330
Fenilalanin	418,75	Oleik asit	5,4253
Glisin	487,50	Palmitik asit	0,3559
Glutamik asit	656,25	Stearik asit	0,1215
Hidroksiprolin	106,25	Tween 80	200,0000
Histidin-HCl	150,00		
İzölösün	325,00	Suda Çözünen Vitaminler	251,80
Lizin	362,50	Askorbik asit	9,3947
Lösün	481,25	Biyotin	0,0336
Metiyonin	187,50	Folik asit	0,1007
Prolin	468,75	İnozitol	15,0987
Serin	418,75	Ca-Pantotenat	2,4829
Sistin-HCl	81,25	Kolin klorür	218,0921
Tirozin	218,75	Nikotinik asit	5,0329
Treonin	337,50	Pridoksin-HCl	0,2516
Triptofan	87,50	Riboflavin	1,1743
Valin	368,75	Tiamin-HCl	0,1342
İnorganik Karışımı	390,00	Diğerleri	4306,94
CaCl ₂	19,08	Agar	625,00
CoCl ₂ .6H ₂ O	3,01	Glukoz	3000,00
CuSO ₄ .5H ₂ O	3,50	Ribonükleik asit	293,13
FeCl ₃ .6H ₂ O	11,22	Potasyum hidroksit (2N)	364,00
K ₂ HPO ₄	234,07	Potasyum fosfat (2N)	24,81
MgSO ₄ .7H ₂ O	82,08		
MnSO ₄ .H ₂ O	0,25		
Na ₂ HPO ₄ .12 H ₂ O	32,34	Damıtık Su	Toplam Hacim
ZnCl ₂	4,45		100 ml oluncaya kadar

Yaş Ağırlığa Göre Total Protein Yüzdesi Tayini;

Total Protein Tayininde Kullanılan Örnekler: Total protein tayini sentetik besinlere aşılardan ve aşılamaı takiben 12.günde geçtikleri evreye bakılmaksızın deney tüplerinden çıkartılan larvalarda yapıldı. Deney tüplerinden saf su ile çalkalayarak bir filtre kâğıdı üzerine alınan larvaların üzerindeki besin artıkları yine saf su ile yıkanarak temizlendi. Yıkanmış larvaların vücut yüzeyindeki su, filtre kâğıdı ile alındıktan sonra tartılan larvalar 5 ml %10 'luk triklorasetik asit (TCA: Merck, extra pure) çözeltisi içeren deney tüplerine aktararak öldürüldü ve homojenizasyona kadar +4 °C 'de saklandı.

Proteinin Özütleme ve Tayini: Larvalar 24.000 devir/dakika'da Ultra Turrax (IKA-T25) homejenizatörde 10 dakika süre ile homojenleştirildi. Elde edilen homojenat 3500 devir/dakika'da her biri 15 dakika olmak üzere iki defa santrifüjlendi (Hettich:Universal-1200). Her santrifüjleme sonunda ayrılan süpernatant

atılarak ortamdaki glikojenin uzaklaştırılması sağlandı (Roe vd., 1961). Daha sonra elde edilen çökelti üzerine 5 ml etil alkol (%96) ilave edilerek 3500 devir/dakika'da santrifüjlendi ve süpernatant uzaklaştırıldı. Lipidlerin uzaklaştırılması için yapılan bu işlem üç defa tekrarlandı. Son santrifüjleme işleminden sonra protein içerikli çökelti, etüvde 37°C'de 24 saat süre ile bekletilerek alkolü uçuruldu.

Elde edilen protein içerikli örnek bir saat camında ezilerek karıştırıldı ve saf su ile toplam hacim 5 ml olacak şekilde bir çözelti hazırlandı. Örneklerdeki protein miktarını tayin etmek için "Kantitatif Biüret Testi" (Plummer, 1971) uygulandı. Bu amaçla 2 ml örnek üzerine 3 ml biüret ayırıcı eklendi ve oluşan karışım etüvde 37 °C de 15 dakika bekletildi. Daha sonra örnekler 3500 devir/dakika'da santrifüjlenerek süpernatant kısım spektrofotometre tüplerine aktarıldı ve ölçümler Bausch and Lomb: Spectronic 20 marka spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda yapıldı. Örnekte bulunan total protein konsantrasyonunu hesaplamak için , saf yumurta albümini ile hazırlanan standartlardan elde edilen $Y = 0,086 X + 0,038$ "Regresyon" doğrusu kullanıldı.

Verilerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi:

Denenen besinlerin etkileri, böceğin gelişme hızı (12.günde beşinci evreye geçen ortalama larva yüzdesi) ve total protein yüzdesi (12.günde yaş ağırlığa göre birey başına düşen ortalama protein yüzdesi) saptanmak suretiyle hesaplandı. Verilerin analizinde SPSS 21.0 paket program kullanılmış ve Varyans Analizi ile Student-Newman Keul's Test (SNK)" testleri uygulanmıştır (Sokal & Rohfl, 1995). Ortalamalar arası fark 0,01 olasılık seviyesinde "F"değerinden büyük olduğu zaman önemli kabul edildi.

BULGULAR

Farklı oranlarda temel amino asit içeren besinlerin *P.turionellae* larvalarının gelişme hızı ve sentezlenen protein yüzdesine etkileri Tablo 2'de görülmektedir.

Kontrol besinindeki arjinin oranını %50 eksilterek ve %50 arttırarak hazırlanan besinler arasında gerek gelişme hızı gerekse yaş ağırlığa göre birey başına düşen ortalama protein yüzdesi açısından önemli bir fark bulunmamıştır. Yüzde elli azaltılan yani %0,191 oranında arjinin içeren besinde larvaların büyük bir kısmı 12.günde beşinci evreye geçmeyi başarmışlardır. Kontrol besinindeki %50 si oranında artmış arjinin içeren besinde ise larvaların gelişme hızı kontrol besini ile saptanan gelişme hızına benzediği gibi sentezlenen protein yüzdesi bakımından da önemli bir fark bulunmamaktadır.

Kontrol besinine göre histidin oranı %50 oranında eksiltelen ve arttırılan yani %0,075 ve %0,225 oranında histidin içeren besinlerde larvaların gelişme hızı

yavaşlamış ve bu iki besinde larvaların sadece %80 ile %85 'i 12.günde beşinci evreye geçebilmişlerdir. Bu besinlerde beslenen larvaların gelişme hızı birbirine benzer olup, kontrol besini ile beslenenler ile aralarında istatistik fark bulunmuştur. Gelişmedeki bu farklılara rağmen saptanan protein yüzdesi önemli düzeyde etkilenmemiştir.

Tablo 2. Temel aminoasit oranlarının *P. turionellae* larvalarının gelişme hızı ve sentezlenen protein yüzdesine etkisi.

ORT. ± S.H.: Üç tekrarın Ortalaması ± Standart Hata, * : Kontrol Besini
F: Amino asitlerin istatistik analizleri ayrı ayrı yapılmış, aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklıdır, P<0.01.

Table 2. The effect of basic amino acid ratios on the growth rate of *P. turionellae* larvae and the percentage of synthesized protein.

ORT. ± S.H.: Mean ± Standart Errors of Mean, *: Control diet
F: Statistical analysis of amino acids made separately, data shown with different letters are significant at the P<0.01 level.

Besindeki Aminoasit Yüzdesi	Başlangıç Larva sayısı	5. evreye geçen larva yüzdesi (ORT. ± S.H.) F	Ortalama yaş ağırlık (mg)	Yaş ağırlığına göre protein yüzdesi (ORT.±S.H.) F
Arjinin				
0,191	27	92,13 ± 3,95 a	19,57	1,07 ± 0,12 a
0,381*	27	100,00 ± 0,00 a	20,69	1,16 ± 0,16 a
0,572	26	100,00 ± 0,00 a	21,54	1,28 ± 0,20 a
Histidin				
0,075	25	89,57 ± 2,48 a	20,12	1,02 ± 0,03 a
0,150*	27	100,00 ± 0,00 b	21,23	1,25 ± 0,10 a
0,225	26	85,47 ± 2,76 a	20,89	1,06 ± 0,15 a
İzolösin				
0,163	27	83,80 ± 4,42 a	20,08	1,08 ± 0,05 a
0,325*	26	100,00 ± 0,00 b	21,56	1,14 ± 0,04 a
0,488	25	100,00 ± 0,00 b	23,26	2,36 ± 0,28 b
Lösin				
0,241	25	75,93 ± 0,93 a	19,08	1,09 ± 0,18 a
0,481*	28	100,00 ± 0,00 b	22,56	1,20 ± 0,38 a
0,722	27	100,00 ± 0,00 b	24,96	2,43 ± 0,32 b
Lizin				
0,181	25	92,13 ± 3,95 a	23,82	1,48 ± 0,16 a
0,362*	26	100,00 ± 0,00 a	22,79	1,19 ± 0,14 a
0,543	26	63,20 ± 0,93 b	16,28	0,68 ± 0,12 b
Metiyonin				
0,094	27	100,00 ± 0,00 a	23,21	2,13 ± 0,21 b
0,187*	27	100,00 ± 0,00 a	20,61	1,16 ± 0,02 a
0,281	26	50,50 ± 3,67 b	13,28	0,45 ± 0,13 c
Fenilalanin				
0,209	26	80,57 ± 2,48 a	19,98	1,02 ± 0,08 a
0,418*	28	100,00 ± 0,00 b	21,36	1,18 ± 0,11 a
0,627	25	100,00 ± 0,00 b	21,28	1,04 ± 0,06 a
Treonin				
0,169	24	100,00 ± 0,00 a	22,55	1,09 ± 0,13 a
0,337*	26	100,00 ± 0,00 a	22,18	1,17 ± 0,08 a
0,506	26	100,00 ± 0,00 a	21,25	1,28 ± 0,09 a
Triptofan				
0,044	23	100,00 ± 0,00 a	20,86	1,12 ± 0,10 a
0,087*	25	92,13 ± 3,95 a	22,26	1,20 ± 0,09 a
0,131	24	100,00 ± 0,00 a	21,08	1,26 ± 0,04 a
Valin				
0,184	23	83,80 ± 4,42 a	20,91	1,11 ± 0,14 a
0,386*	23	100,00 ± 0,00 b	22,15	1,15 ± 0,05 a
0,552	24	100,00 ± 0,00 b	22,06	1,31 ± 0,18 a

İzolösin oranı %0,163 olan besindeki larval gelişme hızı, kontrol besini ve %0,488 oranında izolösin içeren besine göre yavaş olmuştur. İzolösinin %50 oranında azaltıldığı besindeki larvaların %83'ü beşinci evreye geçtikleri halde %50 oranında artırıldığı besindeki larvaların tamamı 12.günden evvel beşinci evreye geçmişlerdir. İzolösinin %50 oranında azaltıldığı besin ile kontrol besini ve %50 oranında artırılmış izolösin içeren besinler arasında gelişme hızı açısından önemli farklar bulunmaktadır. Larvaların sentezledikleri protein yüzdeleri açısından ise %0,163 oranında izolösin içeren besin ile

kontrol besini arasında fark bulunmamakla beraber, %0,488 oranında izolösin içeren besin ile kontrol besini arasında oldukça önemli bir fark bulunmaktadır. Kontrol besininde sentezlenen protein yüzdesi 1,14 olduğu halde, artırılan besinde 2,36 gibi bir değere ulaşmıştır.

Benzer şekilde lösin oranındaki değişiklikler de böceğin gelişme hızı ve sentezlediği protein yüzdesine etkileri bakımından önemli farklar göstermiştir. Larval gelişme hızı %0,241 oranında lösin içeren besinde kontrol besini ve %0,722 oranında lösin içeren besine göre yavaşlamıştır. Besindeki %0,241 oranındaki lösin, larvaların %75,93'ünün 12.günde beşinci evreye geçmelerini sağladığı halde, lösin oranı %0,722'ye artırıldığı zaman larvaların tümü 12.günde beşinci evreye geçebilmiştir. Lösin miktarı %50 oranında azaltılan besin ile kontrol besini ve lösinin %50 oranında artırıldığı besinler arasında larval gelişme açısından önemli fark bulunmuştur. Sentezlenen protein yüzdeleri açısından da %0,722 oranında lösin içeren besinden elde edilen değer, kontrol besininkinden ve azalan oranda lösin içeren besininkinden oldukça büyük olup, istatistik bakımından da oldukça önemlidir (Tablo 2.).

Kontrol besinindeki lizin oranının %50 azaltılması gelişme hızını ve sentezlenen protein yüzdesini önemli sayılabilecek ölçüde etkilemediği halde %50 oranında artırılması gelişme hızını ve sentezlenen protein yüzdesini önemli ölçüde azaltmıştır.

Metiyonin oranının %50 azaltılarak (%0,094) hazırlanan besindeki larval gelişme hızı kontrol besine göre çok hızlı bir şekilde gerçekleşmiş olup, yaş ağırlık artışı ile birlikte birey başına sentezlenen protein yüzdesinin de 2,13'e yükselmesine neden olmuştur. Halbuki kontrol besinde bu süre içindeki sentezlenen protein yüzdesi 1,16'dır. Metiyoninin %50 oranında artırıldığı (%0,281) besinde ise larval gelişme hızı %50,50 olup, bu gelişmeye paralel olarak sentezlenen protein yüzdesi de 0,45 olarak bulunmuştur. Azaltılan ve artırılan besinler arasında kontrol besine göre sentezlenen protein yüzdesi açısından önemli farkların bulunduğu Tablo 2.'de açıkça görülmektedir.

Fenilalanin oranının yarıya indirildiği besindeki larval gelişme hızı, kontrol besin ve fenilalanin oranının %50 oranında artırıldığı besinlerdekine göre gecikmiştir. Fenilalanin miktarının azaltıldığı besindeki larval gelişme %80 civarında olup bu oran kontrol besinine ve artırılan besindeki larval gelişmeye göre istatistik bakımından önemli bulunmakla beraber, larvaların sentezledikleri protein yüzdeleri açısından ne azaltılan ne de artırılan besinlerde kontrol besinine göre önemli bir fark bulunmamaktadır.

Treonin ve triptofanın kontrol besinindeki oranlarının %50 azaltıldığı ve aynı oranda artırıldığı besinlerde kontrol besinine göre gerek larval gelişme ve

gerekse sentezlenen protein yüzdesi bakımından önemli farklar bulunmamaktadır.

Denenen valin oranlarının değişik iki konsantrasyonu larvaların sentezledikleri protein yüzdelere etkileri bakımından kontrol besini ile aynı etkiyi yapmaktadır. Ancak larval gelişme hızı açısından ise bu oranların etkileri arasında bazı önemli farklılıklar mevcuttur. Valin oranının yarıya indirildiği besinde 12.günde beşinci evreye geçen larva oranı %83,80 olup bu oran kontrol besini ve valin oranının artırıldığı besine göre oldukça düşüktür. Bununla birlikte, besindeki valin miktarının yarı yarıya artırılması larval gelişme hızı üzerine pozitif bir etki yapmamıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu araştırmada endoparazitik bir hymenopter türü olan *P. turionellae* larvalarının gelişmesine ve sentezlenen protein miktarına temel amino asitlerin her birinin farklı oranlarının kalitatif ve kantitatif etkileri ele alınmıştır.

Parazitik hymenopterlerde döllenmemiş yumurtalardan erkek bireyler meydana gelmektedir. Birçok böcek grubunda olduğu gibi parazitik hymenopterlerde de dimorfizm görülmektedir. Larval evrede erkek ve dişi bireyleri ayırt etmek mümkün olmadığından deneylerde dimorfizmden ortaya çıkabilecek sorunları ortadan kaldırmak amacıyla büyüklükleri az çok birbirine yakın olan larvalar kullanılmıştır. Bu özellikteki larvaları elde etmek için böceğin partenogenez özelliğinden yararlanılmış yani bütün deneylerde çiftleşmemiş dişilerden elde edilen yumurtalardan çıkan larvalar kullanılmıştır. Yapılan ön çalışmalar bu tür larvaların özellikle protein analizi için oldukça homojen özelliklere sahip son derece kullanışlı örnekler olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Temel amino asitlerin farklı oranlarının *P. turionellae* larvalarının gelişme ve sentezlenen protein miktarına en iyi etkiyi kontrol besinine göre %50 oranında artırılmış izolösün ile lösün ve %50 oranında azaltılmış metiyonin yapmıştır. *P. turionellae*'nin kalitatif amino asit ihtiyaçları ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre (Çelik, 1984), böcek için temel olduğu saptanan amino asitler arjinin, histidin, izolösün, lösün, lizin, metiyonin, fenilalanin, treonin, triptofan ve valin olarak bulunmuştur. *P. turionellae*'nin kalitatif amino asit ihtiyacının serbest yaşayan böceklerinkine benzemesi, "parazitik hymenopter larvalarının kalitatif bakımdan diğer böceklerle benzediği" (Yazgan, 1972) görüşünü desteklemektedir.

Besinlerdeki temel amino asitlerden herhangi birinin oranının azaltılması veya artırılması genelde *P. turionellae* larvalarının dördüncü veya beşinci evreye geçişini engellemişlerdir. Bu durum böceğin polifaj bir

endoparazit olma özelliğinden kaynaklanabilir. *P. turionellae* larvaları değişen temel amino asit oranlarına genel olarak bir tolerans göstermekle beraber, amino asitlerin bireysel kantitatif etkileri birbirleriyle karşılaştırıldığında bazı ayrıcalıklar olduğu görülür. Bu ayrıcalıklar dikkate alındığında, temel amino asitleri *P. turionellae* larvalarının gelişme ve protein sentezine kantitatif etkileri bakımından iki gruba ayırmak mümkündür.

Birinci gruba kantitatif bakımdan kritik önemi olan temel amino asitler dahil edilmiştir ki bunlar izolösün, lösün ve metiyonindir. Diğer gruba ise kantitatif bakımdan kritik önemi olmayan temel amino asitler dahil edilmiş olup bunlar da arjinin, histidin, lizin, fenilalanin, treonin, triptofan ve valindir. Besindeki izolösün oranı %50 oranında artırıldığı zaman sentezlenen protein yüzdesi artmıştır. Besindeki lösün oranının da %50 artırılması sentezlenen protein yüzdesini izolösüne benzer şekilde etkilemiştir. Benzer şekilde yüksek orandaki amino asitlerin tüm canlı türleri ve böceklerde sinirsel iletim, fosfolipit sentezi, enerji üretimi ve morfojenetik süreçler gibi metabolik olaylarda olumlu etkileri olduğu da (Chen, 1985; Assar vd., 2010) gösterilmiştir. Bu iki amino asitin kontrol besinindeki oranının ayrı ayrı %50 oranında artırılması aynı zamanda larval gelişmeyi de olumlu yönde etkilemiştir. Bu sonuçlar Yazgan, (1981) tarafından *P. turionellae* larvaları için geliştirilen sentetik besindeki izolösün ve lösün oranının böceğin ihtiyaç duyduğu optimum miktarın altında olduğu kanısını uyandırmaktadır. Böceğin amino asit metabolizmasında izolösün ve lösünün çok önemli bir rol oynadığını ortaya çıkaran bu sonuçlar aynı zamanda parazitik hymenopterler için geliştirecek sentetik besinlerde bu iki amino asitin üzerinde dikkatle durulması gereken birer besin bileşenleri olduğunu açıkça göstermektedir. Fisher ve Ganesalingam, (1970), parazitik bir hymenopter olan *D. canescens*'in parazitlenmiş ve parazitlenmemiş konaklar arasındaki farkı parazitlenmeden sonra konak hemolenfinde kaybolan lösün ve diğer bazı serbest amino asitlere göre anladığını göstermiş olmaları, konak hemolenfinde parazitlenme sonucu açılan larvaların lösüne ne kadar ihtiyaç gösterdiklerinin anlaşılması açısından son derece önemlidir. Arthur vd., (1972), lösünün *I. conquisitor*'de yumurta bırakmayı en fazla uyaran amino asitlerden biri olduğunu belirtmişlerdir. Sunulan çalışma izolösün ile lösünün *P. turionellae* larvalarının beslenmesinde ve total protein sentezinde önemli bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. Bütün bu bilgiler, izolösün ile lösünün parazitik hymenopterlerin yaşamında çok değişik işlevlere sahip olabileceği konusunda fikir vermektedir. Nitekim serbest yaşayan bazı böcek türlerinde izolösün ve lösün arasında uygun bir dengenin mevcut olduğu ve bu iki amino asitten birinin besindeki konsantrasyonu optimum değerinin altında

olduğu zaman diğerinin konsantrasyonundaki artışın büyüme geciktirdiğini göstermiştir (Davis,1973). Bulgularımıza göre *P. turionellae* larvalarının beslenmesinde lösün ve izolösün arasında bir denge mevcut ise de bu denge büyük bir olasılıkla uygun değildir.

P. turionellae için kritik önemi olan diğer bir temel amino asit de metiyonindir. Metiyoninin oranı kontrol besinindeki oranının yarısına indirildiği zaman gelişme hızı olumlu yönde etkilendiği gibi sentezlenen protein yüzdesi de artmaktadır. Bu amino asitin kontrol besinindeki oranı %50 arttırıldığı zaman ise larval gelişme ve sentezlenen protein yüzdesi olumsuz yönde etkilenmiştir. Bu sonuçlar kontrol olarak kullanılan besindeki metiyonin oranının optimum miktarın üstünde olduğunu ve bu amino asitin kantitatif etkisini daha larval gelişme evreleri sırasında gösterdiğini işaret etmektedir. Artan metiyonin oranları *Oryzaephilus surinamensis* (L.)’de pup evresi sonrasındaki yaşamayı azaltmıştır (Davis, 1961a). Bu sonuçlar bulgularımızla uygunluk göstermektedir. Elde edilen verilere göre kontrol besinindeki metiyonin oranı *P. turionellae* larvalarının normal gelişme ve protein sentezini karşılayacak düzeyde olmakla beraber, besindeki metiyonin oranının %50 azaltılmasının larvaların gelişme ve sentezledikleri protein yüzdeleri üzerine daha iyi bir etki yaptığı açıktır. Benzer sonuçların Çelik (1984) tarafından *P. turionellae*’nın kantitatif temel amino asit ihtiyaçları üzerine yaptığı çalışmadan da elde edilmesi, bu üç amino asitin kontrol besinindeki miktarlarının optimum sınırların civarında olmadığını göstermektedir.

İkinci gruba giren ve *P. turionellae* için kantitatif bakımdan kritik önemi olmayan temel amino asitler olarak gruplandırığımız amino asitlerin kontrol besinindeki oranının %50 arttırılması veya azaltılması genellikle önemli sayılabilecek bir etki yapmamıştır. Bu durum, kontrol besininin bu amino asitler bakımından iyi dengelendiğini ve böceğin bu amino asitlere geniş sınırlar içinde tolerans gösterebildiğini işaret etmektedir. Bu amino asitlerden treoninin *P. turionellae* üzerindeki etkileri, çalışılan diğer böcekler ile karşılaştırıldığında böceğin bu amino asitin değişik oranlarına karşı fazla uygun olmayan *O. surinamensis*’e (Davis, 1972) benzediğini ortaya çıkartmaktadır.

Spesifik olarak endoparazitik böcek türlerinde konakçı plazmasındaki protein ve amino asitlerin yaygın olarak kantitatif ve kalitatif değişiklikler göstermesi (Thompson & Lee, 1994; Richards & Edwards, 1999), bu farklılıkların amino asitlerde yüksek bir değişkenlik, beslenme farklılıkları ve böceklerin gelişim evresi ile ilişkili olup olmadığının belirsiz oluşu (Chang, 2004) da besinsel dengenin kurulmasının zor olduğunu göstermekle birlikte, L-arjinin, L-histidin, L-izolösün, L-lösün, L-lyzin, L-methinonin, L-fenilalanin, L-triptofan, L-threonin ve L-

valinin tüm böcekler için gerekli temel amino asitler olduğu (Thompson, 1976a; Chang, 2004) bulunmuştur.

Sonuç olarak *P.turionellae* larvalarının normal gelişmelerini ve gerekli vücut proteinlerini daha kısa bir sürede sentezleyebilmelerini sağlamak amacıyla böceği larval evreden itibaren beslemek için kullanılacak kimyasal yapısı belirli sentetik besinlerde, elde ettiğimiz bulguların kullanılmasının yararlı olacağı ve böcek tarafından sentezlenen protein miktarının ele alınmasının bu tür çalışmalarda verilerin değerlendirilmesinde iyi bir kriter olacağı görüşündeyiz.

TEŞEKKÜR

Sunulan çalışmanın her aşamasında değerli katkılarını esirgemeyen merhum Prof. Dr. Şevki Yazgan Hocam’ı minnetle anıyorum

KAYNAKLAR

- Arthur, A.P., Hegdekar, B.M. & Batsch, W.W. (1972).** A chemically defined synthetic medium that induces oviposition in the parasite *Itopectis conquisitor* (Hymenoptera: Ichneumonidea). *Canada Entomology*, **104**, 1251-1258.
- Assar, A.A., Abo El-Mahasen, M.M., Khalil, M.E. & Mahmoud, S.H. (2010).** Biochemical effects of some insect growth regulators on the house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, **2**, 33-44.
- Chang, C.L. (2004).** Effect of amino acids on larvae and adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **97**, 529-535.
- Chen, C.P. (1985).** Amino Acid and Protein Metabolism. In: Kerkut, G. A., Gilbert, L. I. (Eds.). *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology*. Pergamon Press, Oxford, 177-199.
- Çelik, S. (1984).** *Pimpla turionellae* L (Hymenoptera: Ichneumonidae)’nın kantitatif ve kantitatif Amino asit ihtiyaçları. *Doğa Bilim Dergisi*, **A2**, **8(3)**, 321-329.
- Dadd, R.H. (1985).** Nutrition: Organisms. In *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Ed. by Kerkut, G.A. and Gilbert, L.I., **8**, 313-390. Pergamon Press, Oxford.
- Davis, G.R.F. (1961a).** Sulfur-containing amino acids in the nutrition of the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae). *Journal Nutrition*, **75**, 275-279.

- Davis, G.R.F. (1972).** Quantitative requirements of the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* for dietary glycine and L-threonine. *Journal of Insect Physiology*, **18**, 1287-1294.
- Davis, G.R.F. (1973).** Quantitative requirements of the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* for dietary L-isoleucine and L-valine. *Journal of Insect Physiology*, **19**, 1657-1661.
- Emre, İ. (1988).** Meridik bir besinin *Pimpla turionellae* L (Hymenoptera: Ichneumonidae) ergin dişilerinin yumurta verimine etkisi. *Doğa Turk Biyoloji Dergisi*, **12**(2), 101-105.
- Emre, İ. & Yazgan, Ş. (1990).** Besin bileşenlerinin *Pimpla turionellae* L (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nin üremesi üzerine etkileri. *Doğa Turk Journal of Biology*, **14**, 96-104.
- Fisher, R.C. & Ganesalingam, V.K. (1970).** Changes in the composition of host hemolymph after attack by an insect parasitoid. *Nature*, **227**, 191-192.
- Plummer, D.T. (1971).** *An Introduction of Practical Biochemistry*, McGraw-Hill Book Comp., pp 369.
- Richards, E.H. & Edwards, J.P. (1999).** Parasitism of *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera, Noctuidae) by the ectoparasitoid wasp *Eulophus pennicornis*, results in the appearance of a 27 kDa parasitism-specific protein in host plasma. *Insect Biochemistry & molecular Biology*, **29**, 557-569.
- Roe, H.J., Batley, J.M., Gray, R.R. & Robinson, J.N. (1961).** Complete removal of glycogen from tissues by extraction with cold trichloroacetic acid solution. *Journal of Biological Chemistry*, **236**, 1224-1246.
- Sulanç, M., Emre, İ. & Yazgan, Ş. (1992).** İnorganik tuzların erkek *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvalarının gelişmesine ve sentezledikleri protein miktarına kalitatif ve kantitatif etkileri. *Doğa Turk Journal of Zoology*, **16**, 92-100.
- Sulanç, M. & Yazgan, Ş. (1990).** Aspartik asit, Glutamik asit ve amidlerinin (Asparajin, Glutamin) *Pimpla turionellae* L (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvalarının gelişme ve sentezlenen protein miktarına etkileri. *Ç.Ü.Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **4**(2), 97-107.
- Sulanç, M. & Emre, İ. (2000).** Effects of B group vitamins and choline chloride on the development and protein synthesis in the male larvae of *Pimpla turionellae* L (Hym., Ichneumonidae). *Journal of Applied Entomology*, **124**, 151-153.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1995).** *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*, 3rd edition. W.H. Freeman and Co., New York, p. 887.
- Thompson, S.N. (1976a).** The amino acid requirements for larval development of the hymenopterous parasitoid *Exeristes roborator* Fabricius (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, **53A**, 211-213.
- Thompson, S.N. (1976b).** Effects of dietary amino acid level and nutritional balance on larval survival and development of the parasite *Exeristes roborator*. *Annals of the Entomological Society of America*, **69**, 835-838.
- Thompson, S.N. (1986).** Nutrition and in vitro culture of insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, **31**, 197-219.
- Thompson, S.N. & Lee, R.W.K. (1994).** Glucose metabolism in an insect, *Manduca sexta*, and effects of parasitism. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1200**, 322-330.
- Yanikoğlu, A. (1985).** Bazı karbonhidratların *Pimpla turionellae* L (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nin glikojen sentezine etkileri. *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, **3**, 205-210.
- Yazgan, Ş. (1972).** A chemically defined synthetic diet and nutritional requirement of the endoparasitoid *Itopectis conquisitor* (Hymenoptera). *Journal of Insect Physiology*, **18**, 2123-2141.
- 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., Zeitschrift für angewandte Entomologie, **91**, 433-441.
- Yazgan, Ş. (1982).** Effects of dietary fatty acids on development and survival of *Itopectis conquisitor* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Communications de la Faculte des Sciences de L'Universite d'Ankara, Serie C*, **26**, 1-8.