

**Orijinal araştırma (Original article)**

***Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının hemolenfindeki toplam protein, lipit ve karbonhidrat miktarlarına parazitlenme sonrası geçen süre ve sıcaklığın etkisi<sup>1</sup>**

The effects of temperature and time after parasitization on total amount of protein, lipid and carbohydrate in hemolymph of host larvae, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)

**Ali BOZ<sup>2\*</sup>**

**Adem GÜLEL<sup>2</sup>**

**Summary**

The effects of the temperature (18, 25 and 32°C) and time after parasitization (1, 5 and 8 days) on total protein, lipid and carbohydrate contents in hemolymph of flour moth *Ephestia kuehniella* Zeller 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) larvae parasitized by *Venturia canescens* (Gravenhorst 1829) (Hymenoptera: Ichneumonidae) were investigated. Colorimetric techniques were used to determine total protein, lipid and carbohydrate concentrations. Experiments were carried out under the constantly illuminated laboratory at three different temperatures (18, 25 and 32°C) and 65±5% relative humidity conditions.

It was established that depending on time after parasitization total hemolymph protein concentrations in the parasitized host larvae were increased but total carbohydrate and lipid concentrations were decreased with regard to control group. In the parasitized host larvae, hemolymph protein and carbohydrate concentrations were increased but lipid concentrations were not changed depend on temperatures.

**Key words:** *Venturia canescens*, *Ephestia kuehniella*, hemolymph, protein, lipid

**Özet**

Parazitoit *Venturia canescens* (Gravenhorst 1829) (Hymenoptera: Ichneumonidae) tarafından parazitlenen un güvesi, *Ephestia kuehniella* Zeller 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) larvalarının hemolenfindeki toplam protein, lipit ve karbonhidrat miktarları üzerine parazitlenme sonrası geçen süre (1, 5 ve 8 gün) ve sıcaklığın (18, 25 ve 32°C) etkileri araştırıldı. Toplam protein, lipit ve karbonhidrat konsantrasyonlarının belirlenmesinde kolorimetrik yöntemler kullanıldı. Denemeler üç farklı sıcaklıkta (18, 25 ve 32°C), %65±5 bağıl nem ve sürekli aydınlık olan laboratuvar şartlarında yapıldı.

Parazitlenen konukçu larvalarının hemolenfindeki protein konsantrasyonunun parazitlenme sonrası geçen zamana bağlı olarak kontrol grubuna göre arttığı, fakat toplam lipit ve karbonhidrat miktarlarının azaldığı tespit edildi. Parazitlenmiş konukçu larvalarında sıcaklığa bağlı olarak protein ve karbonhidrat konsantrasyonlarının arttığı, ancak lipit miktarının değişmediği tespit edildi.

**Anahtar sözcükler:** *Venturia canescens*, *Ephestia kuehniella*, hemolenf, protein, lipit

<sup>1</sup> Bu çalışma, yüksek lisans tez çalışmasından üretilmiş olup 23–27 Haziran 2008 tarihinde Trabzon'da düzenlenen Türkiye 19. Biyoloji Kongresi'nde poster bildiri olarak sunulmuş ve özet olarak basılmıştır

<sup>2</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 55139, Kurupelit, Samsun

\* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: aliboz@omu.edu.tr

Alınış (Received):20.04.2011 Kabul ediliş (Accepted): 17.08.2011

## Giriş

Parazitoitler ergin öncesi gelişimlerini konukçu üzerinde tamamlayan ergin evrelerinde serbest yaşayan böceklerdir. Bunlar; konukçu larvaları besin kaynağı ve larval gelişimlerini tamamlama ortamı olarak kullanırlar (Quicke, 1997). Parazitoit erginleri, larvalarının konukçudan en üst düzeyde yararlanmalarını sağlamak için konukçularının metabolizmasında (Consoli & Vinson, 2004), davranışında (Brodeur & Boivin, 2004), hormonal sisteminde (Cole et al., 2002) ve savunma sisteminde (Nappi et al., 2004) önemli değişikliklere ve düzenlemelere neden olurlar.

Konukçunun parazitoit larvaları için besinsel olarak uygun hale getirilmesi, parazitoit etkisi ile konukçu metabolizmasının değişmesiyle sağlanır (Consoli et al., 2005). Parazitlenme sonrası konukçu metabolizmasında meydana gelen değişimler parazitoit türüne göre değişebilir (Thompson, 2001). *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) larvaları, *Cardiochiles nigriceps* (Viereck) (Hymenoptera: Braconidae) ile parazitlendikleri zaman hemolenf trehaloz konsantrasyonu değişmediği halde, *Microplitis croceipes* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) tarafından parazitlendikleri zaman trehaloz konsantrasyonunun üç kat artması konukçu metabolizmasında meydana gelen değişmelerin parazitoit türüne bağlı olduğunu göstermektedir (Dahlman & Vinson, 1975).

Bischof & Ortel (1996) *Glyptapanteles liparidis* (Bouché) (Hymenoptera: Braconidae) ile parazitlenen *Lymantria dispar* (Linnaeus 1758) (Lepidoptera: Lymantriidae) larvalarının hemolenfindeki toplam protein miktarının arttığını, lipit miktarının değişmediğini, fakat vücut dokularındaki lipit miktarının azaldığını tespit ederek parazitlenmenin ortaya çıkardığı metabolik etkilerin konukçunun farklı vücut kısımlarında farklı olduğunu göstermişlerdir.

Parazitlenmiş konukçulardaki hemolenf protein miktarlarındaki artışlar *Apanteles congregatus* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) ile parazitlenen *Manduca sexta* (Linnaeus 1763) (Lepidoptera: Sphingidae) larvalarında (Beckage et al., 1989) ve diğer birçok böcek türünde de tespit edilmiştir (Consoli et al., 2005; Richards et al., 2005).

Böcekler ektotermik (poikilotermik) canlılar olduklarından bunların davranışları, gelişimleri, metabolik ve yaşamla ilgili fizyolojik aktiviteleri çevre sıcaklığından önemli derecede etkilenir (Beck, 1983; Huey et al., 1991). Endoparazitoitlerin larval gelişimi aynı zamanda konukçularının buldukları ortam sıcaklığı tarafından da etkilenir. Genel olarak böceklerde düşük sıcaklıklarda gelişim hızı düşer, erginleşme süresi uzar ve ergin vücut büyüklüğü artar. Buna karşılık yüksek sıcaklıkta aksi durumlar ortaya çıkar (Eliopoulos & Stathas, 2003). Ergin parazitoitlerde vücut büyüklüğü yağ rezervleri ile doğrudan ilişkili olduğundan, bunlarda vücudun küçülmesi enerji rezervlerinin azalmasına neden olur. Yüksek sıcaklıklarda parazitoitlerin ergin öncesi gelişim sürelerinin kısa olması konukçularından besinsel olarak daha az faydalanmalarına yol açar (Colinet et al., 2007). Diğer taraftan sıcaklık değişimleri, konukçunun parazitoite besin oluşturan iç ortamında da değişikliklere neden olabilir (Thomas & Blanford, 2003; Rahman et al., 2007).

*Venturia canescens* (Gravenhorst 1829) (Hymenoptera: Ichneumonidae) soliter, koinobiont, larval endoparazitoittir. Bu tür depo ürünlerine zarar veren *Ephestia kuehniella* Zeller 1879 (Lepidoptera: Pyralidae) dahil bir çok güve türünün farklı larva evrelerini parazitleyebilmektedir (Eliopoulos & Stathas, 2003; Roberts et al., 2004; Eliopoulos & Stathas, 2005). Söz konusu parazitoitin bazı biyolojik özellikleri yeteri kadar çalışılmıştır (Harvey et al., 2001; Özkan & Gürkan, 2001, 2002) Fakat bu türün konukçu metabolizmasını değiştirmesiyle ilgili yeterli çalışma yoktur. Bu nedenle bu çalışmada parazitoit tarafından konukçu metabolizmasının değiştirilmesiyle ilgili çalışmalara ve parazitoit-konukçu ilişkilerinin değerlendirilmesine katkı sağlamak amacıyla, sıcaklığın ve parazitlenmeden sonra geçen sürenin konukçu hemolenfindeki toplam protein, lipit ve karbonhidrat miktarlarındaki değişimlere etkisi ele alınacaktır.

## Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada parazitoit olarak bir günlük *V. canescens* ergin dişileri, konukçu olarak un güvesi *E. kuehniella*'nın son evre larvaları kullanılmıştır.

Konukçu olarak kullanılan *E. kuehniella* stok kültürleri Gündüz & Gülel (2004)'in yöntemi esas alınarak, mısır unu içeren ve ağzı hava sirkülasyonunu önlemeyecek şekilde bez ile kapatılmış bir litrelik cam kavanozlarda  $25 \pm 2$  °C de,  $65 \pm 5$  bağıl nem ve sürekli aydınlık olan laboratuvar şartlarında kurulmuştur.

Parazitoit *V. canescens* stok kültürleri üç farklı sıcaklık (18°C, 25°C, 32°C),  $65 \pm 5$  bağıl nem ve sürekli aydınlık olan ortamda 12 cm' lik plastik petri kaplarında kurulmuştur.

## Hemolenf Örneklerinin Alınması ve Biyokimyasal Analizler

Hemolenfteki toplam protein, lipit ve karbonhidrat analizlerinde, bir günlük parazitoit erginleri tarafından parazitlenen, son evre konukçu larvaları kullanılmıştır. Konukçuların parazitlenmesi, parazitoitlerin parazitlenme davranışları (cocking) gözlenerek tespit edilmiş ve parazitoitler 24 saat boyunca konukçularla tutulmuştur. Çalışılacak belirli bir sıcaklık derecesi (18, 25 veya 32°C) için petri kaplarında hazırlanan konukçular, parazitlendikten sonra çalışılan sıcaklık derecesinde, içerisinde mısır unu bulunan petrilere 1, 5 veya 8 gün muhafaza edilmiştir. Belirtilen şekilde parazitlenip bekletilen konukçu larvalarından hemolenf almak için larvaların üçüncü ön bacak bölgesi ince uçlu bir iğne yardımıyla delinmiştir. Bu delikten çıkan hemolenf damlacığı kapillar cam boru ile çekilerek daha önceden içerisine birkaç fenilthioüre kristali eklenmiş ve buzda soğutulmuş ependorf tüplerine konulmuştur. Toplanan hemolenf örneklerindeki hücreleri uzaklaştırmak için örnekler +4°C 10000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası ependorf tüplerinde toplanan plazma daha önceden buzda soğutulmuş başka ependorf tüplerine alınmıştır. Hücresel elemanları ayrılmış olan hemolenf örneklerini içeren ependorflar etiketlenerek -80°C de ultra derin dondurucuda analiz yapılınca kadar saklanmıştır.

## Toplam Protein Miktarının Tayini

Toplam protein miktarını tayinde Lowry et al. (1951) tarafından geliştirilen yöntem esas alınmıştır. Analiz için -80°C de stoklanmış olan hemolenf, laboratuvarda buz içerisinde alınarak sıcaklığın 0°C' ta yükselmesi için bir süre beklenmiştir. Sonra her ependorf tüpüne 1µl hemolenf konulup üzerine 125 µl çalışma tamponu [1,754g. NaCl, 200ml fosfat tamponunda eritilmiştir (Fosfat tamponu: 174,2mg K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 136,1mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 200ml saf suda çözülmüştür) ve 2N NaOH ile pH'sı 7.4' e ayarlanmıştır] ilave edilerek örnekler +4°C de 3500 devir/dakikada 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda tüpte oluşan süpernatantın 100µl' si alınarak Lowry metodu uygulanmış ve spektrofotometrede 695nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur. Okunan absorbans değerleri siğir serum albümini kullanılarak çizilen protein standart grafiğinden yararlanılarak değerlendirilmiştir.

## Toplam Lipit ve Karbonhidrat Miktarının Tayini

Toplam lipit ve karbonhidrat miktarının belirlenmesinde Olson et al. (2000)' in van Handel (1985a; 1985b)' den modifiye ettikleri yöntem kullanılmıştır. Analiz aşamasına kadar -80°C de saklanan hemolenf örneği buz içerisinde alınarak sıcaklığın 0°C'ta yükselmesi için bir süre beklenmiştir. Sonra, her ependorf tüpüne 1µl hemolenf, 50µl %2'lik sodyum sülfat çözeltisi ve 450µl kloroform-metanol (1:2) karışımı ilave edilerek tüp içeriğinin karışması sağlanmıştır. Karışım 14000 devir/dakikada iki dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda oluşan süpernatanttan 200µl alınarak bir tüpe aktarılmıştır. Tüp, içerindeki çözeltilerin tamamı buharlaşınca kadar 90°C'deki su banyosunda ısıtılmıştır. Tüpte kalan lipit kalıntısının üzerine 40µl konsantre sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek karıştırılmış ve iki dakika 90°C'deki su banyosunda ısıtılmıştır. Daha sonra buzda soğutulan tüp içerisine 960µl vanilin-fosforik asit reaktifi ilave edilerek, tüp 30 dakika oda sıcaklığında bırakılmış ve bir renk oluşumu sağlandıktan sonra tüp karıştırılarak, tüpün

absorbans değeri spektrofotometrede 525nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur. Okunan absorbans değerleri, mısır yağı kullanılarak çizilen lipid standart grafiğinden yararlanılarak değerlendirilmiştir.

Toplam karbonhidrat miktarının belirlenmesinde lipid analizi için hazırlanan ependorf tüplerindeki süpernatanttan alınan 200µl'lik örnekler kullanılmıştır. Tüp içerisine konulan bir örnek 90°C'deki su banyosunda içinde yaklaşık 50µl çözelti kalana kadar ısıtılmıştır. Daha sonra su banyosundan çıkarılan tüp içerisine 950µl antron reaktifi eklenerek 90°C'deki su banyosunda 15 dakika bekletilmiş ve renk oluşumu gözlenmiştir. Daha sonra tüpdeki örneğin absorbans değerleri 625nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur.

### Elde Edilen Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Verilerin istatistiksel analizleri Windows için SPSS (ver.10) paket programı kullanılarak yapılmıştır. İki gruba karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) kullanılmıştır. Bu testten elde edilen sonuçların önemli olması durumunda ortalamalar "Student-Newman-Keuls (SNK) Testi" kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçların değerlendirilmesinde  $\alpha=0.05$  güven sınırı esas alınmıştır.

### Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Parazitoit *V. canesens* tarafından parazitlenen *E. kuehniella* larvalarının hemolenfindeki toplam protein, lipid ve karbonhidrat miktarında sıcaklığa ve parazitlenme sonrası geçen süreye bağlı olarak meydana gelen değişimler Çizelge 1, 2 ve 3' de verilmiştir. Karşılaştırmalarda kontrol grubu olarak 25°C' da yetiştirilen parazitlenmemiş larvaların ortalama hemolenf değerleri esas alınmıştır.

Çizelge 1. *Ephestia kuehniella* larvalarının hemolenfindeki toplam protein miktarına parazitlenme sonrası geçen süre ve sıcaklığın etkisi

Parazitlenme sonrası geçen süre (gün)	Parazitlenme Sonrası Sıcaklık		
	18 °C	25 °C	32 °C
0 (kontrol)**	82,20±1,06 aA	82,20±1,06 aA	82,20±1,06 aA
Protein (µg/ml hemolenf) (Ort±SH)*			
1	86,51±0,76 bA	91,63±1,08 bB	89,88±0,93 bB
5	86,34±0,85 bA	96,55±1,23 cB	100,90±1,38 cC
8	94,38±1,02 cA	99,95±1,13 dB	109,05±1,18 dC

\* Her biri 15 örneklilik 3 tekrarın ortalamasıdır.

\*\* Kontrol grubu 25°C' de yetiştirilen parazitlenmemiş larva.

Aynı sütunda aynı küçük harfi taşıyan ortalamalar ve aynı satırda aynı büyük harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0,05).

SH: Standart Hata.

Çizelge 1'den görüleceği gibi kontrol grubuna göre parazitlenmiş konukçularda hemolenfteki toplam protein miktarı artmıştır. Parazitlenmeden bir gün sonra 18°C' da larvaların hemolenfindeki toplam protein miktarı 86,51 µg/ml olduğu halde, aynı sıcaklıkta parazitlenmeden beş ve sekiz gün sonra sırasıyla 86,34 ve 94,38 µg/ml olmuştur. Kontrol grubuna göre bu değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05) (Çizelge 1). Çalışılan diğer iki sıcaklıkta (25 ve 32°C) da 18°C' da olduğu gibi hemolenfteki toplam protein miktarı parazitlenmeden sonra geçen süreye bağlı olarak artmıştır (Çizelge 1).

Parazitlenmiş konukçularda hemolenfteki toplam protein miktarı sıcaklığa bağlı olarak da değişmiştir (Çizelge 1). Genel olarak parazitlendikten sonra geçen belirli bir sürede sıcaklık arttıkça hemolenfteki toplam protein miktarı artmıştır. Yüksek sıcaklıktaki artış, düşük sıcaklıktakine göre daha fazla olmuştur. Konukçu larvalarının parazitlenme sonrası ilk günde 18, 25 ve 32°C deki hemolenf protein

değerleri sırası ile 86,51, 91,63 ve 89,88 µg/ml' dir. Bu ortalamalardan 18°C ile diğerleri arasındaki fark önemli ( $P<0.05$ ) olduğu halde, 25 ve 32°C arasındaki fark önemsizdir ( $P>0.05$ ) (Çizelge 1). Hemolenfteki toplam protein miktarı parazitlenmeden sonraki beşinci ve sekizinci günlerde sıcaklıktaki artışa paralel olarak artmıştır (Çizelge 1). Parazitlenme sonrası beşinci günde ve sekizinci günde 18, 25 ve 32°C deki hemolenf protein değerleri arası farklar önemlidir ( $P<0.05$ ) (Çizelge 1).

Çizelge 2. *Ephestia kuehniella* larvalarının hemolenfindeki toplam lipit miktarına parazitlenme sonrası geçen süre ve sıcaklığın etkisi

Parazitlenme sonrası geçen süre (gün)	Parazitlenme Sonrası Sıcaklık		
	18 °C	25 °C	32 °C
0 (kontrol)**	13,05±0,57 bA	13,05±0,57 cA	13,05±0,57 cA
Lipit (µg/ml hemolenf) (Ort±SH)*			
1	9,59±0,56 aA	8,33±0,62 aA	8,55±0,38 aA
5	9,38±0,3 aA	8,56±0,29 aA	9,48±0,37 abA
8	10,36±0,3 aA	10,70±0,47 bA	10,81±0,70 bA

\* Her biri 8 örneklik 3 tekrarın ortalamasıdır.

\*\* Kontrol grubu 25°C' de yetiştirilen parazitlenmemiş larva.

Aynı sütunda aynı küçük harfi taşıyan ortalamalar ve aynı satırda aynı büyük harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $P>0,05$ ).

SH: Standart Hata.

Çizelge 2'den çalışılan tüm sıcaklıklarda kontrol grubuna göre parazitlenmiş olan konukçu larvalarının hemolenfindeki toplam lipit miktarının düştüğü, görülmektedir. Tüm sıcaklıklarda parazitlendikten sonraki ilk beş günde toplam lipit miktarında ortaya çıkan düşme daha fazla, sekizinci günde daha az olmuştur. Parazitlenmeden bir ve sekiz gün sonra 18°C' da larvaların hemolenfindeki toplam lipit miktarı sırasıyla ortalama 9,59 ve 10,36 µg/ml olmuştur. Bu değerler arasındaki fark önemsizdir ( $P>0.05$ ), fakat bu değerler ile kontrol grubu değeri arasındaki fark önemlidir ( $P<0.05$ ) (Çizelge 2). Çalışılan sıcaklıklardan 25 ve 32°C da 18°C' dan farklı olarak bir ve sekizinci günlerin toplam lipit miktarları arasındaki farklar da önemli ( $P<0.05$ ) olmuştur.

Parazitlendikten sonra geçen belirli bir sürede, sıcaklık arttıkça hemolenfteki toplam lipit miktarı önemli derecede değişmemiştir (Çizelge 2). Parazitlenme sonrası ilk günde, 18 ve 32°C de, hemolenfteki toplam lipit değerleri sırası ile 9,59 ve 8,55 µg/ml' dir. Bu ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $P>0.05$ ) (Çizelge 2). Hemolenfteki toplam lipit miktarı parazitlenmeden sonraki beşinci ve sekizinci günlerde de sıcaklıktaki artışa paralel olarak önemli derecede değişim göstermemiştir ( $P>0.05$ ) (Çizelge 2).

Çizelge 3. *Ephestia kuehniella* larvalarının hemolenfindeki toplam karbonhidrat miktarına parazitlenme sonrası geçen süre ve sıcaklığın etkisi

Parazitlenme sonrası geçen süre (gün)	Parazitlenme Sonrası Sıcaklık		
	18 °C	25 °C	32 °C
0 (kontrol)**	42,56±0,93 cA	42,56±0,93 bA	42,56±0,93 cA
Karbonhidrat (µg/ml hemolenf) (Ort±SH)*			
1	40,30±0,93 cA	44,17±0,58 bB	44,73±0,64 cB
5	29,59±0,91 aA	30,03±0,67 aA	36,37±0,74 aB
8	35,06±0,53 bB	31,17±0,83 aA	38,67±0,77 bC

\* Her biri 10 örneklik 3 tekrarın ortalamasıdır.

\*\* Kontrol grubu 25°C' de yetiştirilen parazitlenmemiş larva.

Aynı sütunda aynı küçük harfi taşıyan ortalamalar ve aynı satırda aynı büyük harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir ( $P>0,05$ ).

SH: Standart Hata.

Çizelge 3'den karbonhidrat miktarının parazitlenme sonrası geçen süreye ve sıcaklığa bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Çalışılan tüm sıcaklıklarda parazitlenmeden bir gün sonra hemolenfteki karbonhidrat miktarı kontrol grubuna göre önemli bir değişim göstermediği halde ( $P>0.05$ ), beşinci ve sekizinci günlerde azalarak önemli değişim göstermiştir ( $P<0.05$ ) (Çizelge 3).

Genel olarak parazitlendikten sonra geçen belirli bir sürede, sıcaklık arttıkça hemolenfteki toplam karbonhidrat miktarı artmıştır. Yüksek sıcaklıktaki artış, düşük sıcaklıktakine göre daha fazla olmuştur (Çizelge 3). Parazitlenme sonrası ilk günde 18 ve 32°C deki hemolenf karbonhidrat değerleri sırası ile 40,30 ve 44,73  $\mu\text{g/ml}$ ' dir. Bu ortalamalar arasındaki fark önemlidir ( $P< 0.05$ ) (Çizelge 3). Hemolenfteki toplam karbonhidrat miktarı parazitlenmeden sonraki beşinci ve sekizinci günlerde de 18°C' da olduğu gibi sıcaklıktaki artışa paralel olarak önemli derecede artmıştır (Çizelge 3).

Parazitlenme sonrası konukçu hemolenf ve vücut dokularındaki metabolitlerde meydana gelen değişme konukçunun evresine, parazitoitin soliter veya gregar olmasına (Rivers et al., 1998) parazitlenmeden sonra geçen süreye (Thompson, 1986; Beckage & Kanost, 1993), ve parazitoit türüne göre farklı olabilmektedir (Thompson, 2001; Consoli & Vilson, 2004). Değişik parazitoit-konukçu türleri ile yapılan çalışmalarda, parazitlenme sonrası konukçu hemolenf ve vücut dokularındaki, protein, lipit ve karbonhidrat miktarlarında konukçuya, parazitoite ve sıcaklığa bağlı olarak değişikliklerin meydana geldiği tespit edilmiştir (Thompson, 1983; Zhang et al., 1997; Hochuli et al., 1999; Hochuli & Lanzrein, 2001; Nakamatsu & Tanaka, 2004; Nurullahoğlu et al., 2004; Richards et al., 2005).

Bischof & Ortel (1996) *G. liparidis* ile parazitlenen konukçu *L. dispar* larvalarında, Beckage et al. (1989) *A. congregatus* ile parazitlenen *M. sexta* larvalarında, diğer birçok araştırmacı (Zhang et al., 1997; Hochuli et al., 1999; Hochuli & Lanzrein, 2001; Nakamatsu & Tanaka, 2003; Consoli et al., 2005; Richards et al., 2005) değişik böcek türlerinde parazitlenme sonrası hemolenfteki protein miktarının arttığını göstermişlerdir. Parazitoit *V. canescens* ile parazitlenen *E. kuehniella* larvalarında yapılan bu çalışmada da parazitlenen konukçu larvalarının hemolenfindeki toplam protein miktarının arttığının tespit edilmesi (Çizelge 1) diğer araştırmacıların sonuçlarına paralellik göstermektedir. Günümüzde konukçuların, parazitoit etkisine karşı tepki olarak parazitoite özel proteinler (PÖP)'ler oluşturdukları ve oluşturulan bu PÖP'ler ile hemolenflerindeki protein miktarını değiştirdikleri bilinmektedir (Beckage & Kanost, 1993; Consoli et al., 2005). *Venturia canescens* (Gravenhorst) ile parazitlendikten sonra *E. kuehniella* larvalarının hemolenfindeki protein miktarının artması da, konukçunun parazitoit yumurta veya larvasına karşı tepkisi sonucu ortaya çıkmış olabilir. Ayrıca parazitlenmeden sonra geçen süre arttıkça, parazitoit larvalarının konukçu dokuları ile beslenmeye başlaması sonucu oluşan hasarlar nedeniyle protein sentezinin tetiklenmiş olması da hemolenfteki protein miktarını artırmış olabilir. Parazitlenen konukçunun hemolenfindeki protein miktarının sıcaklık arttıkça artması, böcek metabolizmasının belirli bir sınıra kadar sıcaklığa paralel olarak artmasından kaynaklanır.

Lipitler böceklerin birçoğunda enerji kaynağı, yapısal eleman ve hormon öncüleri olarak kullanılırlar (Stanley-Samuels et al., 1988; Giron & Casas, 2003). Lipitler vücutta değişik bölgelerde depolanırlar. Yumurtadaki lipitler gelişmekte olan embriyonun enerji ihtiyaçlarını karşılamada önemli rol oynar. Parazitoitlerin ergin evrede kullandıkları lipitler genel olarak larval gelişimleri sırasında depoladıkları lipitler veya ergin evrede aldıkları besinlerdeki lipitlerdir (Giron & Casas, 2003). Parazitlenmenin parazitoit türüne ve konukçu evresine bağlı olarak konukçu lipit metabolizmasını değiştirdiği tespit edilmiştir (Thompson, 1983; 2001). Bischof & Ortel (1996) parazitlenmenin hemolenf ve vücut dokularındaki lipit miktarını farklı etkilediğini ileri sürmüşlerdir. Parazitoit *V. canescens* ile yapılan bu çalışmamızda çalışılan tüm sıcaklıklarda kontrol grubuna göre parazitlenmiş olan konukçu larvalarının hemolenfindeki toplam lipit miktarının düştüğü, fakat parazitlenme sonrası geçen belirli bir sürede sıcaklık artışına paralel olarak önemli derecede değişmediği görülmüştür (Çizelge 2). Tüm sıcaklıklarda parazitlendikten sonraki ilk beş günde toplam lipit miktarında ortaya çıkan düşme daha fazla, sekizinci günde daha az olmuştur (Çizelge 2).

Bu sonuç Bischof & Ortel (1996)' in *L. dispar* larvalarıyla yaptıkları çalışma sonuçlarına zıttır, fakat metabolik değişikliklerin konukçuya ve onu parazitleyen parazitoite göre değişebildiği göz önüne alındığı zaman (Thompson, 2001) *V. canescens*' te elde edilen sonuç şaşırtıcı olmayacaktır. Elzinga et al. (2003) parazitlendikten sonra yaşayan, hatta larval gelişimlerini belirli bir döneme kadar devam ettiren konukçu türlerinde, parazitlenme sonrası besin tüketiminin azaldığını tespit etmişlerdir. Parazitlenmiş konukçunun bu durumu kendisindeki bazı besin rezervlerinin daha kısa sürede bitmesine, bazı ürünlerin sentezinin azalmasına neden olabilir. *Venturia canescens* (Gravenhorst) ile parazitlenen *E. kuehniella* larvalarının hemolenfindeki lipit miktarının düşmesi de konukçu larvalarının mevcut lipit rezervlerini koruyamamış olmasından ortaya çıkabileceği gibi, parazitlendikten sonra lipit sentezini yeteri kadar yapamamalarından da kaynaklanmış olabilir.

Karbonhidratlar da lipitler gibi böceklerin enerji ihtiyaçlarının karşılanmasında önemli rol oynar. Böceklerde hemolenfte en fazla yer alan karbonhidrat trehalozdur. Trehaloz, tıpkı insan kanındaki kan şekeri olan glikoz gibi, böcek hemolenfinin şekeridir. Hemolenfteki toplam karbonhidrat miktarı beslenmeye, gelişim evresine, aktiviteye ve parazitlenmeye bağlı olarak değişmektedir (Thompson, 1985). Parazitlenmenin farklı türlerde hemolenfteki karbonhidrat miktarını farklı şekilde etkilediği tespit edilmiştir (Dahlman & Vinson, 1976; Thompson, 1986; Thompson & Lee, 1993; Bischof & Ortel, 1996; Schopf & Nussbaumer, 1996; Thompson, 2001;). *Venturia canescens* (Gravenhorst) ile yaptığımız bu çalışmada parazitlenen konukçu larvalarının hemolenfindeki karbonhidrat miktarının parazitlendikten sonraki birinci günde kontrol grubuna göre genel olarak arttığı, beşinci ve sekizinci günlerde azalmalar gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 3). Genel olarak parazitlendikten sonra geçen belirli bir sürede sıcaklık arttıkça hemolenfteki toplam karbonhidrat miktarı artmıştır. Yüksek sıcaklıktaki artış, düşük sıcaklıktakine göre daha fazla olmuştur (Çizelge 3).

Parazitlenmeden sonraki birinci günde çalışılan tüm sıcaklıklarda kontrol grubuna göre hemolenf karbonhidrat miktarında önemli bir değişimin olmaması, muhtemelen parazitoit yumurtalarının çoğunun ilk gün açılmamış olması nedeniyle, az sayıdaki larvanın tüketiminin çok fazla olmamasından kaynaklanabilir. Buna karşılık parazitlenmeden sonraki beşinci günde hemolenfdeki karbonhidrat miktarının azalması, muhtemelen parazitoit larvalarının konukçu dokuları yerine, karbonhidratları kullanmış olmalarından ortaya çıkabilir. Buna karşılık sekizinci günde parazitoit larvaları konukçunun iç organlarıyla beslenmeye başlamış olabileceğinden konukçu hemolenfindeki karbonhidrat miktarı tekrar yükselmiş olabilir (Çizelge 3).

Sonuç olarak parazitlenme konukçu metabolizmasında birtakım kalitatif ve kantitatif değişiklikler meydana getirir. Bu değişiklikler konukçuyu parazitoitin gelişimi için daha uygun hale getirmeye yöneliktir. Söz konusu değişiklikler konukçu ile parazitoit arasındaki ilişkileri değerlendirmede önemli rol oynar. Konukçu hemolenf veya vücut dokularındaki çeşitli maddelerin miktarlarındaki ve çeşidindeki değişiklikler izlenerek, parazitoit-konukçu arasındaki karmaşık ilişkiler ağı ve bu ağa çevresel faktörlerin etkisi değerlendirilebilir. Bunun sonucunda elde edilen verilere göre biyolojik mücadelede ajan etkinliği değerlendirilerek gerekli yönlendirmeler yapılabilir.

### Yararlanılan Kaynaklar

- Beck, S. D., 1983. Insect thermoperiodism. Annual Review of Entomology, 28: 91-108.
- Beckage, N. E., D. J. Nesbit, B. D. Nielsen, K. D. Spence & M. A. E. Barman, 1989. Alteration of hemolymph polypeptides in *Manduca sexta* larvae parasitized by *Cotesia congregata*: A two-dimensional electrophoretic analysis and comparison with major bacteria induced proteins. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 10 (1): 29-45.
- Beckage, N. E. & M. R. Kanost, 1993. Effects of parasitism by the braconid wasp *Cotesia congregata* on host hemolymph proteins of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 23 (5): 643-653.

- Bischof, C. & J. Ortel, 1996. The effects of parasitism by *Glyptapanteles liparidis* (Braconidae:Hymenoptera) on the hemolymph and total body composition of gypsy moth larvae (*Lymantria dispar*, Lymantriidae: Lepidoptera). *Parasitology Research*, 82 (8): 687-692.
- Brodeur, J. & G. Boivin, 2004. Functional ecology of immature parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 49: 27-49.
- Cole, T. J., N. E. Beckage, F. F. Tan, A. Srinivasan & S. B. Ramaswamy, 2002. Parasitoid–host endocrine relations: Self-reliance or co-optation? *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32 (12): 1673-1679.
- Colinet, H., G. Boivin & T. Hance, 2007. Manipulation of parasitoid size using the temperature-size rule: fitness consequences. *Oecologia*, 152 (3): 425-433.
- Consoli, F. L. & S. B. Vinson, 2004. Host regulation and the embryonic development of the endoparasitoid *Toxoneuron nigriceps* (Hymenoptera: Braconidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 137 (4): 463–473.
- Consoli, F. L., S. L. Brandt, T. A. Coudron & S. B. Vinson, 2005. Host regulation and release of parasitism-specific proteins in the system *Toxoneuron nigriceps*–*Heliothis virescens*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 142 (2): 181-191.
- Dahlman, D. L. & S. B. Vinson, 1975. Trehalose and glucose levels in the hemolymph of *Heliothis virescens* parasitized by *Microperis eroceipes* or *Cardiochiles nigriceps*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 52 (4): 465-468.
- Dahlman, D. L. & S. B. Vinson, 1976. Trehalose level in the hemolymph of *Heliothis virescens* parasitized by *Campoletis sonorensis*. *Annals of the Entomological Society of America*, 69 (3): 523-524.
- Eliopoulos, P. A. & G. J. Stathas, 2003. Temperature-dependent development of the koinobiont endoparasitoid *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae): Effect of host instar. *Environmental Entomology*, 32 (5): 1049-1055.
- Eliopoulos, P. A. & G. J. Stathas, 2005. Effects of temperature, host instar, and adult feeding on progeny production by the endoparasitoid *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Environmental Entomology*, 34 (1): 14-21.
- Elzinga, J. A., J. A. Harvey, & A. Biere, 2003. The effects of host weight at parasitism on fitness correlates of the gregarious koinobiont parasitoid *Microplitis tristis* and consequences for food consumption by its host, *Hadena bicruris*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 108 (2): 95–106.
- Giron, D. & J. Casas, 2003. Lipogenesis in an adult parasitic wasp. *Journal of Insect Physiology*, 49 (2): 141–147.
- Gündüz, N. E. A. & A. Gülel, 2004. *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) erginlerinde konukçu türünün ve besin tipinin ömür uzunluğuna etkisi. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 28 (4): 275-282.
- Harvey, J. A., I. F. Harvey & D. J. Thompson, 2001. Lifetime reproductive success in the solitary endoparasitoid, *Venturia canescens*. *Journal of Insect Behavior*, 14 (5): 573-593.
- Hochuli, A., R. Pfister-Wilhelm & B. Lanzrein, 1999. Analysis of endoparasitoid-released proteins and their effects on host development in the system *Chelonus inanitus* (Braconidae)- *Spodoptera littoralis* (Noctuidae). *Journal of Insect Physiology*, 45 (9): 823-833.
- Hochuli, A. & B. Lanzrein, 2001. Characterization of a 212 kD protein, released into the host by the larva of the endoparasitoid *Chelonus inanitus* (Hymenoptera: Braconidae) *Journal of Insect Physiology*, 47 (11): 1313–1319.
- Huey, R. B., L. Patridge, & K. Fowler, 1991. Thermal sensitivity of *Drosophila melanogaster* responds rapidly to laboratory natural selection. *Evolution*, 45 (3): 751-756.
- Lowry, O. H., N. J. Rose Brough, A. L. Farr, & V. J. Randall, 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275.
- Nakamatsu, Y. & T. Tanaka, 2003. Venom of ectoparasitoid, *Euplectrus* sp. near *plathypenae* (Hymenoptera: Eulophidae) regulates the physiological state of *Pseudaletia separata* (Lepidoptera: Noctuidae) host as a food resource. *Journal of Insect Physiology*, 49 (2): 149-159.
- Nakamatsu, Y. & T. Tanaka, 2004. Correlation between concentration of hemolymph nutrients and amount of fat body consumed in lightly and heavily parasitized hosts (*Pseudaletia separata*). *Journal of Insect Physiology*, 50 (2-3): 135-141.
- Nappi, A. J., L. Kohler, & M. Mastore, 2004. Signaling pathways implicated in the cellular innate immune responses of *Drosophila*. *Invertebrate Survival Journal*, 1 (1): 5-33.
- Nurullahoğlu, Z. Ü., F. Uçkan, O. Sak, & E. Ergin, 2004. Total lipid and fatty acid composition of *Apanteles galleriae* and its parasitized host. *Annals of the Entomological Society of America*, 97 (5):1000-1006.



- Olson, D. M., H. Fadamiro, J. G. Lundgren, & G. E. Heimpel, 2000. Effects of sugar feeding on carbohydrate and lipid metabolism in a parasitoid wasp. *Physiological Entomology*, 25 (1): 17-26.
- Özkan, C. & M. Gürkan, 2001. Behavioral responses to parasitized and unparasitized hosts of *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 25 (3): 175-181.
- Özkan, C. & M. Gürkan, 2002. Konukçu yaşının soliter koinobiont endoparazitoid olan *Venturia canescens* (Grav.) (Hymenoptera: Ichneumonidae)' in bazı biyolojik özellikleri üzerine etkileri. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 26 (2): 83-91.
- Quicke, D. L. J., 1997. *Parasitic Wasps*. Chapman & Hall, Cambridge University Press, London, 470 pp.
- Rahman, M. M., H. L. S. Roberts & O. Schmidt, 2007. Factors affecting growth in the koinobiont endoparasitoid *Venturia canescens* in the flour moth *Ephesia kuehniella*. *Journal of Insect Physiology*, 53 (5): 463-467.
- Richards, E. H., B. Manderyck, & J. P. Edwards, 2005. Partial amino acid sequence and physiological effects of a 27 kDa parasitism-specific protein present in the plasma of parasitized *Lacanobia oleracea* (Noctuidae). *Physiological Entomology*, 30 (4): 362-371.
- Rivers, D. B., M. A. Pagnotta, & E. R. Huntington, 1998. Reproductive strategies of three species of ectoparasitic wasps are modulated by the response of the by host *Sarcophaga bullata* (Diptera:Sarcophagidae) to parasitism. *Annals of the Entomological Society of America*, 91 (4): 458-465.
- Roberts, H. L. S., O. Trüe, & O. Schmidt, 2004. The development of the endoparasitoid wasp *Venturia canescens* in superparasitised *Ephesia kuehniella*. *Journal of Insect Physiology*, 50 (9): 839-846.
- Schopf, A. & C. Nussbaumer, 1996. Influence of parasitism by *Glyptapanteles liparidis* (Hym., Braconidae) on the hemolymph carbohydrate and glycogen content of its host larva, *Lymantria dispar* (Lep., Lymantriidae). *Journal of Applied Entomology*, 120 (1-5): 357-362.
- Stanley-Samuels, D. W., R. A. Jurenka, C. Cripps, G. J. Blomquist & M. DeRenobles, 1988. Fatty acids in insects: Composition, metabolism, and biological significance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 9 (1): 1-33.
- Thomas, M.B. & S. Blanford, 2003. Thermal biology in insect-parasite interactions. *Trends in Ecology and Evolution*, 18 (7): 344-350.
- Thompson, S. N., 1983. The influence of nutrient-deprivation and parasitization by the insect parasite, *Hyposoter exiguae* on the total body lipid composition of *Trichoplusia ni*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 75 (3): 489-493.
- Thompson, S. N., 1985. Metabolic integration during the host associations of multicellular animal endoparasites. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 81 (1): 21-42.
- Thompson, S. N., 1986. Effect of the insect parasite *Hyposoter exiguae* (Viereck) on the carbohydrate metabolism of its host, *Trichoplusia ni* (Hübner). *Journal of Insect Physiology*, 32 (4): 287-293.
- Thompson, S. N., 2001. Parasitism enhances the induction of glucogenesis by the insect, *Manduca sexta* L. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 33 (2):163-173.
- Thompson, S. N. & R. W. K. Lee, 1993. Metabolic fate of alanine in an insect, *Manduca sexta*: Effects of starvation and parasitism. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1157 (3): 259-269.
- Van Handel, E., 1985a. Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1 (3): 299-301.
- Van Handel, E., 1985b. Rapid determination of total lipids in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1 (3): 302-304.
- Zhang, D., D. L. Dahlman & U. E. Jarlfors, 1997. Effects of *Microplitis croceipes* teratocytes on host haemolymph protein content and fat body proliferation. *Journal of Insect Physiology*, 43 (6): 577-585.

