

28195

AMİNO ASİT KARIŞIMI VE GLUKOZ
ORANLARININ ENDOPARAZİTOİD PIMPLA
TURIONELLAE L. (HYMENOPTERA:
ICHNEUMONIDAE) 'NİN LARVA SONRASI
GELİŞİMİNE ETKİLERİ

Emine ÇOBANOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
1993
ANKARA

28195

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AMİNO ASİT KARIŞIMI VE GLUKOZ ORANLARININ ENDOPARAZİTOİD
PIMPLA TURIONELLAE L. (HYMENOPTERA: ICHNEUMONIDAE) 'NİN LARVA
SONRASI GELİŞİMİNE ETKİLERİ.


Emine ÇOBANOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

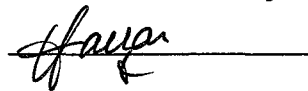
Bu tez 23/11/1993 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (66)
not takdir edilerek oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Şevki YAZGAN



Yrd. Doç. Dr. Sueda ÇELİK



Yrd. Doç. Dr. Hakkı SAYAR

Danışman



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AMINO ASİT KARIŞIMI VE GLUKOZ ORANLARININ ENDOPARAZİTOİD
PIMPLA TURIONELLAE L. (HYMENOPTERA: ICHNEUMONIDAE) NİN LARVA
SONRASI GELİŞİMİNE ETKİLERİ

Emine ÇOBANOĞLU

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr.Şevki YAZGAN
1993, Sayfa:25

Jüri : Prof.Dr.Şevki YAZGAN
Y.Doç.Dr.Süeda ÇELİK
Y.Doç.Dr.Hakkı SAYAR

Amino asit karışımı ve glukoz oranlarının endoparazitoid bir hymenopter türü olan *Pimpla turionellae* L.'nin ergin evreye kadar yaşama ve gelişimine etkileri, larvaları kimyasal yapısı belirli sentetik besinler üzerinde mikropsuz koşullarda beslemek suretiyle incelenmiştir. Glukoz içermeyen ve %1.5 düzeyinde amino asit karışımı kapsayan besinde larvalar yaşayamamış ve gelişmemiştir. Amino asit karışımını %4.5 ve %6.0 oranında kapsayan glukozsuz besinlerde larvalar pup evresine ulaşmayı başarabilmiştir. Yaşama ve gelişme hızı, genel olarak artan amino asit karışımı düzeyi ile artmıştır. Glukoz etkisini ergin olma sırasında göstermektedir. Glukoz ve amino asit karışımı düzeyleri arasındaki denge, larva sonrası yaşama ve gelişmede önemli bir rol oynamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Beslenme, Endoparazitoid, Amino Asit,
Glukoz

ABSTRACT

Masters Thesis

EFFECTS OF THE AMINO ACID MIXTURE AND GLUCOSE LEVELS ON POST-LARVAL DEVELOPMENT OF THE ENDOPARASITOID PIMPLA TURIONELLAE L. (HYMENOPTERA: ICHNEUMONIDAE)

Emine ÇOBANOĞLU

**Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology.**

**Supervisor : Prof.Dr.Şevki YAZGAN
1993, Page:25**

**Jury : Prof.Dr.Şevki YAZGAN
Asst.Prof.Dr.Süeda ÇELİK
Asst.Prof.Dr.Hakkı SAYAR**

Effects of amino acid mixture and glucose levels on survival and complete development of hymenopterous endoparasitoid *Pimpla turionellae* L. were investigated by rearing the newly-hatched larvae aseptically on chemically defined artificial synthetic diets. On a diet without glucose and with 1,5% amino acid mixture larvae were unable to survive and develop. On the diets without glucose and with 4.5% and 6.0% amino acid mixture larvae were able to reach to the pupal stage. Survival and the rate of development in general were increased by increasing levels of the amino acid mixture. Glucose showed its effects during adult emergence. Balance between the amino acid mixture and glucose levels played an important role during post-larval development and survival of the insect.

Key Words: Nutrition, Amino acid, Glucose, Endoparasitoid.

TEŞEKKÜR

Tez konumu veren, çalışmalarımnda gerekli bilgi ve deneyimlerinden faydalanmamı sağlayan ve bu konuda yardımlarını esirgemeyen Hocam Sayın Prof.Dr.Şevki YAZGAN'a şükranlarımı sunarım. Ayrıca laboratuvar çalışmalarım sırasında büyük yardımlarını gördüğüm değerli arkadaşlarım Arş.Gör.Berat Yaşar SARIZ'a, Araş.Gör. Kemal BÜYÜKGÜZEL'e ve Yüksek Lisans öğrencisi Emine FAYDAOĞLU'na teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
I.GİRİŞ.....	1
II-MATERYAL ve METOD.....	5
III-DENEYLER VE SONUÇLAR.....	11
IV-TARTIŞMA.....	15
KAYNAKLAR.....	20
ÖZGEÇMİŞ.....	25

GİRİŞ

Besinsel dengenin böcek beslenmesindeki önemi, araştırmacılar tarafından değişik zamanlarda vurgulanmıştır. (House 1972, 1974, 1977, Dadd 1985, Thompson 1986). Bu denge, parazitik hymenopter türlerinde, aktif beslenme evrelerinde açık bir sindirim sistemine sahip olan böcek türlerine göre daha da büyük bir önem kazanmaktadır (Yazgan 1981).

Yazgan (1972), kimyasal yapısı bilinen sentetik bir besin ortamında beslenen ilk parazitik hymenopter türü olan *Itopectis conquisitor* Say'ın beslenmesinde besinsel dengenin önemine değinmiş ve bu görüş daha sonra diğer araştırmacılar tarafından diğer parazitik hymenopter türleri ile yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (Thompson 1976 a,b, Yazgan 1981, Çelik 1984, Sulanç 1991).

Son yıllarda zararlı böceklerin biyolojik kontrolünde endoparazitoid böceklerden yararlanılması, bunlara karşı olan ilgiyi artırmakta ve parazitik hymenopter türlerinin ekonomik önemini ortaya koymaktadır. Ancak bu böceklerin hayatlarının belirli evrelerinde konaklarına sıkı sıkıya bağlı olmaları, bunların fizyolojileri ile ilgili problemlerin çözümünü de zorlaştırmaktadır (Vinson 1976). Bu nedenle, bu grubun biyokimyasının ve konakla olan ilişkisinin bilinmesi de ayrı bir önem taşımaktadır.

Endoparazitoid bir hymenopter türü olan *Pimpla turionellae* L. larval ve ergin evrelerdeki besinsel ihtiyaçları ile bazı metabolik yönleri, önemli sayılabilecek ölçüde araştırılan iki parazitik hymenopter türünden biridir. (Yazgan 1981, Aksoylar 1982, Yanıkoğlu 1982, 1985, Çelik 1982, 1984, Emre 1988, Emre ve Yazgan 1990, Sulanç ve Yazgan 1991, Sulanç ve Ark. 1992, Sarız 1992, Büyükgüzel 1993). Bu türün diğer besinsel ihtiyaçları yanında amino asit ve karbohidrat ihtiyaçları da kalitatif ve kantitatif olarak incelenmiştir. (Çelik 1982, Yanıkoğlu 1982). Bu çalışmalar, *P.turionellae*'nin de diğer parazitik hymenopter türleri gibi, (Yazgan 1972, Thompson 1976 a,b 1979) yumurtadan ergin evreye kadar gelişebilmek için besininde amino asit karışımına ve karbohidrata ihtiyaç duyduğunu ortaya çıkarmıştır. Besinsel amino asit karışımı, parazitik hymenopter türlerinin tüm gelişme evrelerinde vazgeçilmez besin bileşeni olduğu halde, besinsel karbohidrat ihtiyacı esasen larva sonrası gelişme evrelerinde ortaya çıkmaktadır. *P.turionellae* ile yakın akraba olan *I.conquisitor*'un besininden karbohidrat olarak kullanılan glukozun çıkarılması, böceğin pup evresine kadar gelişimini önemli derecede etkilememiş ancak böceğin ergin evreye geçişini önemli ölçüde etkilemiştir. Bu türde, besinsel karbohidrat eksikliğinin negatif etkilerinin bir dereceye kadar besindeki yağ asitleri tarafından ortadan kaldırıldığı da gösterilmiştir (Yazgan 1972). Amino asitler, parazitik hymenopterlerde konak seçimi (Fisher ve Ganesalingam 1970),

yumurta bırakma (Arthur ve Ark. 1972), üreme (Emre ve Yazgan 1990) ve eşey oranı (Yazgan 1972) gibi olaylarda da etkilidir.

Amino asitler, parazitik hymenopterlerin beslenmesinde sadece bazı biyosentez olayları için yapı taşı olarak iş görmeyip aynı zamanda özellikle larval gelişme evreleri sırasında önemli enerji kaynağı olarak da iş görmektedir. Diğer taraftan bu besin bileşenleri ile besinsel karbohidrat arasında enerji sağlama açısından sıkı bir ilişki bulunmaktadır. Gerek endoparazitoid *I.conquisitor* gerekse ektoparazitoid *Exeristes roborator* (F), larval gelişmeleri sırasındaki enerji ihtiyaçlarını besinsel amino asitlerden karşılayabilmektedirler (Yazgan 1972, Thompson 1976 a,b 1986). *E.roborator*'un besininde enerji kaynağı olarak sadece amino asit karışımı bulunduğu zaman, bu karışımı %6,0 oranında içeren besinlerde, böcek larval gelişmesini tamamlayabilmiştir. Bununla beraber, böceğin besinindeki amino asit karışımı düzeyi %6,0'nın altına düştüğü zaman, normal yaşama için glukozu ihtiyaç duyulmuş ve %1,0 düzeyinde amino asit karışımı içeren ancak karbohidrat olarak glukozu kapsamayan besinde böcek gelişmemiştir. *E.roborator* ile yapılan bu çalışma, parazitik hymenopterlerin larval evrelerdeki gelişmeleri sırasında amino asit karışımı ve glukozun çeşitli oranlarının etkilerini açık bir şekilde ortaya çıkarmakla beraber bu oranların böceğin larva evreleri sonrası gelişme evreleri üzerindeki etkileri hakkında bilgi vermemektedir.

P.turionellae ile yapılan bir çalışmada, dışarıya açılmayan yani kapalı bir barsağa sahip parazitik hymenopter türlerinin besinsel ihtiyaçları hakkında larval evreler sırasında elde edilen verilere dayanarak bir sonuca varmanın bazen yanıltıcı olabileceği vurgulanmıştır (Yazgan 1981). Bu bilgilerden de anlaşılacağı gibi amino asit karışımı ve karbohidrat oranlarının parazitik hymenopter türlerinin larva sonrası evrelerdeki gelişmeyi nasıl etkilediği hala çözüm bekleyen bir husustur.

Bu çalışmada, kimyasal yapısı bilinen sentetik besin ortamlarını kullanmak suretiyle ondokuz amino asitten oluşan bir karışım ile glukozun çeşitli oranlarının *P.turionellae*'nin larva sonrası yaşama ve gelişimine etkileri incelenmiştir.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada kullanılan *Pimpla turionellae* stok kültürü 1975 yılında Yazgan tarafından laboratuvara alınan saf kültürdür. Stok kültürün devamı, ergin *P.turionellae* bireylerini önce musluk suyu ile hazırlanan %50 bal çözeltisi ve daha sonra bal çözeltisine ilaveten gün aşırı büyük balmumu güvesi *Galleria mellonella* L. genç pupları hemolenfi ile beslemek suretiyle sağlanmıştır. Stok kültür, $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, 75 ± 5 bağıl nem ve 14 saatlik bir fotoperiyot uygulanan laboratuvar koşullarında devam ettirildi. Beslenme deneyleri de, stok kültürün devam ettirildiği laboratuvar koşullarında yapıldı. Deneylerde kullanılacak *P.turionellae* larvaları, stok kültürdeki erginlerin *Galleria mellonella* L. pupu hemolenfine bırakılan yumurtaların açılması ile elde edildi.

Beslenme deneylerinde Yazgan (1981) tarafından geliştirilen ve ondokuz amino asit kapsayan sentetik besin, kontrol besini olarak kullanıldı. Kontrol besini ve diğer sentetik besinlerin hazırlanması, sterilizasyonu ve deney tüplerine dağıtılması ile deneylerde kullanılan yumurtaların elde edilmesi ve sterilizasyonunda Yazgan (1972, 1981) tarafından geliştirilen yöntemler uygulandı.

P.turionellae larvalarını in vitro koşullarda yetiştirmek için kullanılan sentetik besinin kimyasal bileşimi Çizelge 1.1'de verilmiştir. Sentetik besinleri hazırlamak için gerekli olan amino asit karışımı, inorganik

Çizelge 1.1. *P.turionellae* larvalarını beslemek için kullanılan kimyasal yapısı belirli sentetik besinin bileşimi

Besin bileşeni	mg/100ml besin	Besin bileşeni	mg/100ml besin
L-Amino asit Karışımı	6250.00	Lipid Karışımı	295.99
Alanin	312.50	Kolestrol	72.0000
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		
Izolösin	325.00	Suda Çöz.vitaminler	251.80
Lizin	362.50	Askorbik asit	9.3947
Lösin	481.25	Biyotin	0.0336
Metiyonin	187.50	Folik asit	0.1007
Prolin	468.75	Inozitol	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 tuz 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)	346.00
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	Damıtık su Toplam Hacim	
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	32.34	100 ml oluncaya kadar	
ZnCl ₂	4.45		

tuz karışımı, B kompleksi vitaminleri çözeltisi ve lipid karışımından her biri, ayrı stoklar halinde önceden hazırlanıp, besin yapılacağı zaman biraraya getirilip karışımı sağlanmıştır.

Sentetik besinde bulunması gereken amino asitlerin besin içinde homojen dağılımını sağlamak amacıyla hassas terazide tartılan amino asitler, bir amino asit değirmeninde öğütülerek, 40 mesh'lik bir elekten geçirilmiştir.

Tuz karışımını hazırlamak için tartılan tuzlar 200ml saf suda eritilip 110°C'lik bir etüvde suyu buharlaşana kadar bekletilmiş ve daha sonra porselen havanda ezilerek homojen bir karışım haline gelmeleri sağlanmıştır.

B kompleksi vitamin çözeltisini hazırlamak için tartılan vitaminler, belirli hacimdeki saf suda çözünüp vitamin çözeltisi elde edilmiş ve vitamin çözeltinin PH'ı 2N K_2HPO_4 ile 6,5 olacak şekilde ayarlanmıştır.

Çizelge 1.1'de içeriği verilen lipid karışımı, bileşenlerin belirli miktarları, belirli hacimdeki kaynar saf suda eritilerek Vir-Tis marka homojenleştiricide 60.000 devir/dakikada, 5 dakika karıştırılmak suretiyle elde edilmiştir.

Amino asitler ve tuzların stok karışımları koyu renkli şişelerde, oda sıcaklığında, lipid karışımı ve vitamin çözeltisi stokları ise +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

Amino asit ve inorganik tuz karışımı ile RNA ve jelleştirici özelliğinden dolayı gerekli olan agar istenilen miktarlarda tartılıp, 250ml'lik ağzı geniş bir balon jöjeye

konmuştur. Bu karışım üzerine önce istenilen hacimde saf su ve daha sonra belirli miktarda lipid karışımı katılmıştır. Bu karışımın pH'ı 2N KOH ile 6,5'a ayarlanmıştır. Lipid karışımı, besin ortamına, 40°C'lik su banyosunda 5 dakika tutulup bir manyetik karıştırıcıda dakikada 60 devirlik bir hızla 5 dakika karıştırıldıktan sonra katılmıştır.

Balon jodedeki tüm karışım, manyetik karıştırıcıda 60 devir/dakikada 5 dakika karıştırıldıktan sonra, cam kabın ağzı alüminyum folyo ile iyice kapatılarak, 121°C sıcaklık ve 15 lb'lik basınçdaki otoklavda 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Otoklavda sterilize edilen sentetik besin bulunan balon jocular, steril bir kabine alınıp ve sıcaklıkları 40°C'ye düştüğü zaman, daha önce sterilize edilmiş vitamin-glukoz çözeltisinden istenilen miktarda katılmıştır. Vitamin-glukoz çözeltisi, istenilen miktardaki glukozu, önceden oda sıcaklığında bekletilen belirli hacimdeki vitamin çözeltisinde çözmek suretiyle elde edilmiştir. Vitamin-glukoz çözeltisi, steril bir Seitz marka filtreden süzölmüştür. Bu şekilde hazırlanan steril vitamin-glukoz çözeltisinin besin ortamına katılmasıyla işlem tamamlanmıştır. Daha sonra besin ortamı, jel oluşturuncaya kadar bekletilmiştir. Jel haline gelen sentetik besin, steril kabinde, steril bir doku homojenleştirici ile karıştırılarak Yazgan (1981) tarafından açıklanan yöntemler ile yaklaşık 0,25 ml'lik miktarlar halinde 10x75 mm'lik deney tüplerine tek tek konularak tüplerin ağzı lastik mantarlar ile kapatılmıştır.

Yumurta veriminin maksimum düzeyde olduğu peryodlardaki *P.turionellae* erginlerinden elde edilen yumurtalar toplanarak sterilize edilmiş, yumurtalardan yeni çıkmış ve henüz besin almamış larvalar, steril koşullarda besin ortamına aşılantmıştır. Aşılant larvaların gelişmeleri, hergün binoküler mikroskopta incelenmiştir. Mikroskoptaki kısa bir gözlem süresi hariç, deney tüpleri, deney sonuna kadar karanlıkta tutulmuştur. Tüm bu işlemler sırasında Yazgan (1972) tarafından geliştirilen teknikler kullanılmıştır.

Denenen her bir besin için 10 larva kullanılmış ve her deney dört defa tekrarlanmıştır.

Aşılama işleminden sonraki 48 saat içinde ölen larvalar ile mikroorganizma gelişen deney tüpündeki larvalar, deney sonuçlarında dikkate alınmamıştır. Ayrıca besin ortamında birinci veya ikinci larval evreden ileriye gidemeyen larvalar, deney dışı bırakılmıştır.

Larval gelişme, besin ortamındaki larvanın ağız parçalarındaki morfolojik değişmeler ve değiştirilen gömlek sayısı dikkate alınarak saptanmıştır. Beşinci safhaya ulaşan ve bir süre sonra besin almayı durduran olgun larvalar, deney tüplerinden çıkarılmış ve saf su ile besin artıklarından temizlenerek larva sonrası gelişimlerini tamamlamak üzere jelatin kapsüllere aktarılmıştır.

Sentetik besinlerin böcekteki etkisi, gelişme hızı ve yaşama dikkate alınarak saptanmıştır. Gelişme hızı için, ortalama larval olgunlaşma, pup ve ergin olma süresi (gün

olarak) dikkate alındı. Yaşama için ise, beşinci evrede yaşayan larva sayısı ile pup ve ergin sayısına (yüzde olarak) bakılarak değerlendirme yapılmıştır.

Gelişme hızı ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde "Varyans Analizi" yöntemi (Snedecor ve Cochran 1967) yaşama ile ilgili verilerin değerlendirilmesinde ise " χ^2 Testi" kullanıldı. Ortalamalar arası fark, 0,05 olasılık seviyesinde, "F" ve " χ^2 "nin değerinden büyük olduğu zaman önemli kabul edildi.



DENEY VE SONUÇLAR

Bu çalışmada, denenen farklı glukoz ve amino asit karışımlarını içeren 16 farklı besin hazırlanmıştır. Farklı glukoz ve amino asit karışımı oranlarının *Pimpla turionellae*'nin yaşama ve gelişmesine etkilerini incelemek için iki grup deney yapılmıştır. Deney grubunun birinde, glukoz içermeyen ancak amino asit karışımını %1,5-%3,0-%4,5 ve %6,0 düzeyinde içeren dört besin ile glukozu %1,0 oranında amino asit karışımını ise, yine %1,5-%3,0-%4,5 ve %6,0 (kontrol besini) düzeyinde içeren sekiz besin hazırlanmıştır. Diğer deney grubunda ise, kontrol besini haricinde, amino asit karışımını önceki grupta açıklanan düzeylerde ancak glukozu %2,0 ve %3,0 oranında kapsayan sekiz ayrı besin denenmiştir.

Glukoz ve amino asit karışımının farklı oranlarının *Pimpla turionellae* larvalarının yaşama ve gelişimine etkileri Çizelge 1.2'de görülmektedir.

Glukoz kapsamayan ve amino asit karışımının denenen en düşük düzeyini yani %1,5 düzeyini içeren besinde larvalar, üçüncü larva evresinden öteye gelişmemiştir. Glukoz içermeyen besindeki amino asit karışımı oranı bir misli artırıldığı zaman yani yüzde 3,0 düzeyine çıkarıldığı zaman larvalar, beşinci larva evresine kadar gelişebilmekte ancak bundan öteye gidememektedir. Yüzde 4,5 ve %6,0 düzeyinde amino asit karışımını içeren glukozsuz besinlerde başlangıçtaki larvaların sırasıyla yaklaşık yüzde 20'si ve

Çizelge 1.2. Farklı glukoz ve amino asit karışımı oranlarının P. turionlaenin yaşama ve gelişimine etkileri.

Besindeki Glukoz: AAK Oranları (%)	Başlan- gıçdaki Larva Sayısı	5.evrede yaşama (%)	5.evreye ulaşma süresi (gün) (Ort ± S.D. **) Y	Pup evresinde yaşama (%)	Pup oluşma süresi (gün) (Ort ± S.D. **) Y	Ergin evrede yaşama (%)	Ergin olma süresi (gün) (Ort ± S.D. **) Y
0:1,50	32	-	-	-	-	-	-
0:3,00	33	54,5	10,3±0,6a	-	-	-	-
0:4,50	30	73,3	10,4±0,1a	20,0	23,6±0,8b	-	-
0:6,00	33	84,8	10,2±0,2a	30,3	23,6±1,2b	-	-
1:1,50	35	51,4	10,6±0,3a	11,4	24,5±1,1b	-	-
1:3,00	33	69,6	10,2±0,2a	30,3	23,2±0,7a,b	9,1	33,3±x
1:4,50	37	72,9	10,2±0,2a	45,9	23,1±0,7a,b	24,3	30,9±1,0b
1:6,00(w)	36	88,8	10,0±0,1a	66,6	21,9±0,5a	52,7	29,1±0,6a
2:1,50	32	62,5	10,4±0,1b	18,7	23,8±1,0c,d	6,2	33,0±z
2:3,00	37	67,6	10,2±0,1b	35,1	23,5±1,1c,d	18,9	31,6±x
2:4,50	33	84,9	10,3±0,2b	45,4	23,0±0,7b,c	24,2	31,0±x
2:6,00	37	94,6	9,7±0,1a	59,4	22,0±0,9a,b	45,9	29,6±0,9b
3:1,50	34	64,7	13,1±0,1d	20,5	29,5±0,6f	5,9	38,0±z
3:3,00	32	84,4	11,3±0,2c	34,3	25,3±0,5e	15,6	34,0±x
3:4,50	33	90,9	11,3±0,2c	54,5	24,6±0,5d,e	30,3	33,7±0,7d
3:6,00	37	91,9	10,6±0,1b	67,5	22,7±0,5a,b,c	56,7	30,8±0,2c
1:6,00(w)	37	89,2	10,0±0,1a,b	70,3	21,7±0,6a	59,4	28,7±0,7a

A.A.K:Amino asit karışımı

* :Dört tekrarın ortalaması

**:Standart sapma

x :Üç tekrarın ortalaması

z :iki tekrarın ortalaması

w :Kontrol besini

y :Aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir. P>0,05

yüzde 30'u pup evresine geçmeyi başarabilmiştir. Ancak bu bireylerden hiç birisi ergin evreye ulaşmayı başaramamıştır. Bu iki besin arasında yaşama ve gelişme açısından istatistiki bakımdan önemli bir fark bulunmamaktadır.

Yüzde 1,0 düzeyinde glukoz ve %1,5 düzeyinde amino asit karışımı kapsayan besinde, başlangıçtaki larvaların yüzde 11,4'ü pup olmayı başarabilmiş ancak bunların hiç birisi ergin olamamıştır. Glukozu %1,0 düzeyinde içeren besinde, amino asit karışımı düzeyinin bir misli artırılması, larvalardan bazılarının ergin evreye ulaşabilmelerini mümkün kılmıştır. Aynı oranda glukoz fakat %4,5 düzeyinde amino asit karışımı içeren besinde ergin olma oranı daha da artmakta yani yaklaşık %9,0'dan %24'e ulaşmaktadır. Glukozu %1,0 düzeyinde fakat amino asit karışımını sırasıyla %4,5 ve %6,0 (kontrol besini) düzeylerinde içeren besinler arasında larval evrelerdeki yaşama ve gelişme açısından istatistiki bakımdan önemli sayılabilecek bir fark bulunmamakla beraber, larva sonrası gelişme evrelerinden özellikle ergin evrede yaşama ve gelişme bakımından önemli farklar bulunmaktadır.

Çizelge 1.2'deki verilerden de anlaşılacağı gibi, %1,0 oranında glukoz içeren besindeki amino asit karışımı düzeyi, kontrol besinindeki düzeyinden yani %6,0'dan %4,5'a düştüğü zaman ergin verimi yaklaşık %50 azalmakta ve ergin olma için geçen ortalama süre uzamaktadır.

Glukozu %2,0 ve %3,0 düzeyinde, amino asit karışımını ise %1,5 düzeyinde kapsayan besinlerle beslenen larvalardan bazıları ergin evreye kadar gelişmelerini tamamlayabilmiş

ancak bu besinlerde pup ve ergin evrelerdeki yaşama oranı, kontrol besinindeki yaşama oranına göre önemli derecede azalmıştır. Bu iki besin, böceğin gelişme hızını, kontrol besinine göre yavaşlatmıştır.

Glukozu %2,0 düzeyinde fakat amino asit karışımı sırasıyla %1,5-%3,0 ve %4,5 oranında içeren besinler arasında ve bu besinlerle kontrol besini arasında, beşinci evreye ulaşma süresi bakımından istatistiki olarak bir fark bulunmamaktadır. Aynı zamanda, glukozu %2,0 düzeyinde ve amino asit karışımını %3,0 ve %4,5 düzeyinde kapsayan besinler arasında larval ve larval sonrası evrelerdeki gelişme bakımından istatistiki bir fark yoktur. Bununla beraber, bu besinlerin her ikisindeki gelişme, kontrol besinindeki gelişmeye göre önemli derecede gecikmiştir.

Yüzde 3,0 glukoz ve %1,5 düzeyinde amino asit karışımı içeren besinde, kontrol besinine göre pup ve ergin olma süreleri uzamıştır. Aynı glukoz oranı ile artan düzeylerde yani %3,0-%4,5 ve %6,0 düzeyinde amino asit karışımı içeren besinlerde, amino asit karışımı oranına bağlı olarak larva evresi ve daha sonraki evrelerdeki gelişme hızı artmaktadır.

Glukozu %2,0 ve %3,0 oranlarında kapsayan besinlerin böceğin larva sonrası evrelerdeki yaşamasına etkisi, genel olarak artan amino asit karışımı düzeyine bağlıdır ve yaşama oranı, amino asit karışımı düzeyine bağlı olarak artmaktadır. Kontrol besini ile bu besindeki amino asit karışımı düzeyine eşit düzeyde amino asit karışımı kapsayan fakat %2,0 ve %3,0 düzeyinde glukoz içeren besinler arasında yaşama bakımından istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamaktadır.

TARTIŞMA

Bu araştırmada, farklı amino asit karışımı ve glukoz oranlarının endoparazitoid *Pimpla turionellae*'nin yumurtadan yeni çıkmış larvalarının ergin evreye ulaşınca kadar gelişimlerine etkileri incelenmiştir.

Parazitik hymenopterlerin amino asit ve karbohidrat ihtiyaçları kalitatif ve kantitatif olarak ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir. *Exeristes roborator* Fabricius (Thompson 1976 a) ve *Pimpla turionellae* (Çelik 1984) larvalarının beslenmesinde diğer böceklerde olduğu gibi (Dadd 1985) on amino asit temel amino asittir. Bununla beraber, bu türlerin normal büyüme ve gelişmelerini tamamlayabilmeleri için besinlerinde on temel amino asite ilaveten temel olmayan amino asitlerin de bulunması gerekmektedir. Yanıkoğlu (1982), farklı gruplara dahil 26 karbohidratın *P.turionellae*'nin yaşama, gelişme ve sentezlenen glikojen miktarına etkilerini incelediği çalışmada, böcek üzerinde en iyi etkiyi glukozun yaptığı sonucuna varmıştır.

Bu çalışmalar, gerek amino asitlerin gerekse karbohidratların parazitik hymenopterlerin beslenmesinde önemli etkilere sahip olduğunu ve bu böceklerin normal ergin bireyler meydana getirmek için besinde, bu besin bileşenlerine mutlak surette ihtiyaç duyduklarını ortaya çıkarmıştır. *E.roborator* ve *P.turionellae* ile yapılan çalışmalar, parazitik hymenopter türlerinde larval

evrelerdeki gelişme sırasında besindeki amino asit karışımı ve glukoz arasındaki ilişkinin bu böceklerin gelişimine etkilerini ortaya çıkarmıştır.(Thompson 1976 b, Sulanç 1991).

P.turionellae larvaları, glukoz içermeyen ancak yeterli ölçüde amino asit karışımı içeren besinlerde, larval evreler arasındaki normal yaşama ve gelişimlerini sürdürebilmişlerdir (çizelge 1.2). Bu sonuçlar, ektoparazitoid *E.robomotor* ile elde edilen sonuçları (Thompson 1976 a) desteklemektedir. Bu sonuçlar aynı zamanda besindeki amino asit karışımının larval büyüme ve gelişme için ihtiyaç duyulan enerjinin büyük bir kısmını karşıladığını da göstermektedir.

E.robomotor'da besinde yağ asidi karışımı bulunmadığı zaman besinsel karbohidrat gereklidir (Thompson 1976 b). Bu türün larvaları, %6,0 düzeyinde amino asit karışımı içeren yağ asitsiz ve karbohidratsız besinde beslendikleri zaman larval gelişmeleri sırasında yüzde 50 ölüm meydana gelmiş buna karşılık yağ asitsiz besin, karbohidrat olarak glukoz, fruktoz veya sükrozdan birini %2,0 düzeyinde içerdiği zaman başlangıçtaki larvaların yüzde 80'i larval gelişimlerini tamamlayabilmiştir. *E.robomotor* ile yapılan bu çalışma, besinsel karbohidratın yağ asitlerinin eksikliğinde larvalar tarafından lipogenez olayında kullanıldığını ortaya çıkarmıştır. *Itopectis conquisitor*'de besinden glukoz veya yağ asitlerinin çıkarılması, larval gelişmeyi etkilememiştir. Ancak bu iki bileşen, besinden beraberce

çıkartıldığı zaman larval gelişme önemli derecede gecikmiştir. Bu bulgulara dayanarak Yazgan (1972) bu böceklerin larval gelişimleri sırasında karbohidratlar ve yağların ilave enerji kaynağı olarak iş gördüklerini ileri sürmüştür. *P.turionalae* ile yaptığımız bu çalışmadan ve daha önceki bir çalışmadan (Sulanç 1991) elde edilen veriler, bu ilave enerji kaynaklarından birinin ancak besinsel bir stres mevcut olduğu zaman kullanıldığını göstermektedir. Diğer taraftan larval gelişme evreleri sırasında son derece pasif bir yaşam tarzına sahip olan parazitik hymenopter türlerinin yağ asitlerini enerji kaynağı olarak öncelikle kullanmaları da muhtemel gibi görünmemektedir.

Besinsel dengenin böcek beslenmesindeki önemi, entomofaj böceklerin larval gelişimleri sırasında iyi bir şekilde incelenmiştir. *Agria housei* (Shewell)'de, %2,0 düzeyinin üstündeki amino asit karışımı düzeylerinin büyüme ve yaşamayı azaltması, diğer besin bileşenlerinin toplam düzeyini artırmak suretiyle giderilebilmiştir. *E.roborator*'da %2,0 düzeyinde glukoz ve triolein içeren besinde, amino asit karışımı düzeyinin %1,0'dan %6,0'ya çıkarılması, larval yaşama ve gelişmeyi önemli derecede etkilememiştir (Thompson 1976 a). Yüzde 6,0 düzeyinde amino asit karışımı içeren besinde, böcek glukoz bulunsun veya bulunmasın gelişmesini tamamlayabilmiştir. Buna karşılık, düşük amino asit karışımı düzeylerinde, maksimum yaşama için glukoz gereklidir ve besinsel glukoz eksikliğinde herhangi bir gelişme meydana gelmemiştir. Bütün durumlarda larval

gelişme zamanı, azalan amino asit karışımı düzeyine bağlı olarak artmış ve neticede glukoz, enerji kaynağı olarak amino asit karışımının yerini tutamamıştır. *I.conquisitor*'de %6,0'nın altındaki amino asit karışımı düzeyleri, larval yaşamayı azaltmıştır (Yazgan 1972).

Parazitik hymenopter türlerinde, besinsel denge, larvaların besin alma davranışını da etkilemektedir. *I.conquisitor*'de, besin bileşenleri bakımından seyreltik besinler ile beslenen larvaların bu bileşenler bakımından konsantre olan besinlerle beslenen larvalara göre, daha fazla besin aldıkları, buna karşılık daha büyük olan bu larvaların ağırlık bakımından konsantre besinlerle beslenen ve daha küçük olan larvaların meydana getirdikleri ergin bireylere göre daha küçük ergin bireyler meydana getirdikleri gösterilmiştir (Yazgan 1972). Benzer gözlemler, *P.turionellae* ile yaptığımız bu çalışmada da yapılmıştır. Yani bozulan besin dengesi, böceğin besin alma davranışını etkilemiştir. Bu gözlemler ve elde edilen deney sonuçları, parazitik hymenopterlerin besinsel denge bakımından yetersiz besinlerden ihtiyaç duyduğu besin bileşenlerini elde edebilmek için daha fazla besin almak veya ortamda fazla miktarda bulunan besin maddelerini dışarıya atabilme şansına sahip olmamasına dayandırılabilir. Çünkü, parazitik hymenopter türleri, aktif besin alma evreleri sırasında kapalı bir sindirim sistemine sahiptirler.

P.turionellae larvaları, %1,0 düzeyinde glukoz buna karşılık amino asit karışımını %3,0-%4,5 ve %6,0 düzeyinde

içeren besinler ile beslendikleri zaman, bu besinlerin larval yaşama ve gelişmeye önemli bir etki yapmadıkları görülmektedir. Buna karşılık, bu besinler arasında özellikle ergin evredeki yaşama ve gelişmeye etkileri bakımından önemli farklar bulunmaktadır (çizelge 1.2). Benzer durum, %2,0 düzeyinde glukoz, buna karşılık %1,5-%3,0 ve %4,5 düzeyinde amino asit karışımı içeren besinler için de geçerlidir. Bütün bunlar dikkate alındığında, parazitik hymenopterlerde besinsel dengenin etkisini, esasen larva sonrası gelişme evrelerinde gösterdiğini ortaya çıkarmaktadır. Bu sonuçlar, aynı zamanda parazitik hymenopterlerin beslenmesinde, sadece larva evrelerindeki verilere dayanılarak böceğin besinsel ihtiyaçları hakkında bir sonuca varmanın yanıltıcı olabileceği görüşünü de (Yazgan 1981) desteklemektedir.

P. turionellae'nin ergin evreye kadar yaşama ve gelişmesine iki önemli besin bileşeninin dengelerinin etkilerini ele aldığımız bu çalışma, bu alanda önemli bir boşluğu doldurmaktadır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, son zamanlarda büyük önem kazanan parazitik hymenopterlerin in vitro kültür teknikleri ile üretiminde (Thompson 1986, Greeny 1986, Grenier et al. 1986) kullanılan ortamların geliştirilmesinde amino asit karışımı (veya protein) ile glukoz arasındaki dengenin öncelikle ele alınması gereken bir husus olduğunu söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

- AKSOYLAR, M.Y., 1982. Endoparazitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvalarının suda eriyen vitamin ihtiyaçları ve biotin, inozitol ve kolin klorürün erginlerin yağ asidi bileşimine kantitatif etkileri (Doçentlik tezi) (Yayınlanmadı) 1-49.
- ARTHUR, A.P., HEGDEKAR, B.M. and BATSCH, W.W., 1972. A chemically defined synthetic medium that induces oviposition in the parasite *Itoplectis conquisitor* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Can. Entomol., 104, 1251-1258.
- BÜYÜKGÜZEL, K., 1993. Bazı antibiyotiklerin endoparazitoid *Pimpla turionellae* L.'nin yaşama ve gelişimine etkileri. (Yüksek lisans tezi), 29s.
- ÇELİK, S., 1982. *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nin kalitatif ve kantitatif amino asit ihtiyaçları. (Doktora tezi), 57s.
- ÇELİK, S., 1984. *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nin amino asit ihtiyaçları, Doğa bilim dergisi, AII 8(3):321-329.
- DADD, R.H., 1985. Nutrition. Organisms in comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. (Ed by Kerkut, G.A. and Glibert, L.I.), 8:313-390 Pergamon Press, Oxford.

- DUNCAN, D.B., 1955. Multiple Range and Multiple F tests. *Biometrics*. 11:1-14.
- EMRE, İ., 1988. Meridik bir besinin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) ergin dişilerin yumurta verimine etkisi. *Doğa Tu.Biyol.D.*, 12(2), 101-105.
- EMRE, İ. ve YAZGAN, Ş., 1990. Besin bileşenlerinin *Pimpla turionellae* L.'nin üremesi üzerine etkileri. *Doğa Tr. J.of Biyology*, 14, 96-104.
- FISHER, R.C. and GANESALINGAM, V.K., 1970. Changes in the composition of host hemolymph after attack by an insect parasitoid. *Nature*, London, 227,191-192.
- GREENY, P., 1986. In vitro culture of hymenopterous larval endoparasitoids. *J.Insect Physiol.* 31, 409-419.
- GRENIER, S., DELOBEL, B. and BONNOT, G., 1986. Physiological considerations of importance to the success of In vitro culture: An overview. *J.Insect Physiol.* 32, 403-408.
- HOUSE, H.L., 1972. Insect Nutrition. In *biology of nutrition*.ed. by R.N. Fiennes, 18, 513-573. *International Encyclopaedia of Food and Nutrition*. Oxford, Pergamon.
- HOUSE, H.L., 1974. Nutrition. In *the physiology of Insecta*, Vol V.Ed.by M.Rockstein. pp, 1-62, Academic Press, New York.
- HOUSE, H.L., 1977.Nutrition of natural enemies. In "Biological Control by Augmentation of Natural

- Enemies" (Ed.by Ridgway, R.L.and Vinson, S.B.), 151-182. Plenum Publishing Corporation.
- SARIZ, B.Y., 1992. Besinsel sterollerin endoparazitoid *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın gelişimine etkileri (yüksek lisans tezi),22s.
- SNEDECOR, G.W and COCHRAN, W.G., 1967. Statistical Methods. 6th ed. Ames. Iowa, USA, Iowa State University Press.
- SULANÇ, M. ve YAZGAN, Ş., 1990. Aspartik asit, glutamik asit ve amidlerinin (asparajin, glutamin) *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvalarının gelişimine ve sentezledikleri protein miktarına etkileri. Ç.Ü.Fen Bilimleri Dergisi, 3,97-107.
- SULANÇ, M., 1991. Çeşitli besin bileşenlerinin erkek *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nın gelişmesine ve sentezlenen protein miktarına kalitatif ve kantitatif etkileri (Doktora Tezi).
- SULANÇ, M., EMRE, İ. ve YAZGAN, Ş., 1992. İnorganik tuzların erkek *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvalarının gelişmesine ve sentezledikleri protein miktarına kalitatif ve kantitatif etkileri. Doğa-Tr.J.of zoology, 16,92-100.
- THOMPSON, S.N.,1976 a. The amino acid requirements for larval development of the hymenopterous parasitoid *Exeristes roborator* Fabricius (Hymenoptera:

- Ichneumonidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, 53A, 211-213.
- THOMPSON, S.N., 1976 b. Effects of dietary amino acid level and nutritional balance on larval survival and development of the parasite *Exeristes roborator*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 69, 835-838.
- THOMPSON, S.N. 1979 a. Effects of dietary glucose on in vivo fatty acid metabolism and in vitro synthetase activity in the insect parasite, *Exeristes roborator* (Fabricius). *Insect Biochem.*, 9, 645-651.
- THOMPSON, S.N., 1979 b. The effects of dietary carbohydrate on larval development and glycogenesis in the parasite, *Exeristes roborator* (Fabricius) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J. Parasitol.* 65, 849-854.
- THOMPSON, S.N., 1986. Nutrition and in vitro culture of insect parasitoids. *Ann. Rev. Entomol.* 31, 197-220.
- VINSON, S.B., 1976. Host selection by insect parasitoids. *Ann. Rev. Entomol.* 21, 109-153.
- YANIKOĞLU A., 1982. Karbohidratların *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvalarının yaşama, gelişme ve glikojen sentezine etkileri. (Doktora tezi), 1-54.
- YANIKOĞLU, A., 1985. Bazı karbohidratların *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nin glikojen sentezine etkileri Ç.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bil. Dergisi, 3, 205-210.

YAZGAN, Ş., 1972. A chemically defined synthetic diet and nutritional requirements of the endoparasitoid *Itoplectis conquisitor* (Hymenoptera). *J. Insect Physiol.*, 18, 2123-2141.

YAZGAN, Ş., 1981. A meridic diet and quantitative effects on tween 80, fatty acid mixtures and inorganic salts on development and survival of the endoparasitoid *Pimpla turionellae* L. *Z. ang. Ent.*, 91, 433-441.

ÖZGEÇMİŞ

Emine Çobanoğlu, 1959 yılı Ankara doğumludur. İlk ve orta öğrenimini Diyarbakır'da tamamladıktan sonra 1976 yılında, A.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yüksek öğrenimine başlamış ve bölümden 1980 yılında mezun olmuştur. Aynı yıl Gümüşhane Öğretmen Lisesi'nde biyoloji öğretmeni olarak göreve başlamış ve burada üç yıl süreyle çalışmıştır. 1983 yılında atandığı Ankara Fen Lisesi'nde, halen biyoloji öğretmenliği görevine devam etmektedir.