



Devamlı Aydınlık ve Devamlı Karanlığın *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae)'da Değişik Yaştaki Erginlerin Total Lipit Miktarına Etkisi

Yeşim KOÇ

Sinop Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı, Sinop- Türkiye, y.siya@hotmail.com

Evrım SÖNMEZ

Sinop Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı, Sinop- Türkiye, esonmez@sinop.edu.tr

Received: November 11, 2012; Reviewed: April 19, 2013; Accepted: November 26, 2013

Özet *Achroia grisella* (küçük kovan güvesi) arıcılıkta peteklere zarar veren bir türdür. Bu türün larvaları kovanlarda ciddi zararlara yol açarlar. Bu böceklerle yapılacak mücadelede ve laboratuvar çalışmalarında biyolojik özelliklerinin bilinmesi önemlidir. Fotoperiyot canlılarda birçok metabolik ve fizyolojik faaliyeti etkiler. Bu çalışmada, devamlı aydınlık (DA) ve devamlı karanlığın (DK) farklı yaşlardaki *A. grisella* (küçük kovan güvesi) erginlerinin total lipit miktarına etkisi araştırıldı. Denemeler 28 ± 2 °C ve % 65 ± 5 nisbi nem içeren laboratuvar şartlarında yapıldı. Analizler için stoklanan örneklerdeki total lipit miktarının belirlenmesinde Van Handel [16]'ın geliştirmiş olduğu yöntem esas alındı. Farklı fotoperiyot rejimleri 40 wattlık floresans ampullerle sağlandı. Her iki fotoperiyot rejiminde 100 mg ergindeki lipit miktarı her iki eşeyde de yaşla birlikte azalma gösterdi. Her iki fotoperiyot rejiminde yetiştirilen erginlerde dişilerin total olarak erkeklerden daha fazla lipit içerdiği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: *Achroia grisella*, fotoperiyot, total lipit miktarı, ergin yaşı

Effects of Continuous Light and Darkness on the Total Lipid Amounts of *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae)'s Different Ages Adults

Abstract *Achroia grisella* is a harmful species for combs and it's larvae are known as causing serious damages in beekeeping. It is important to know the biological characteristics of this insect for biological control and laboratory studies. Photoperiod affects many metabolic and physiological activities of organisms. In this study, were investigated the effect on the amount of total lipid in continuous light and continuous darkness in *A. grisella* that different age. Studies were carried out under the laboratory conditions at 28 ± 2 °C temperature and 65 % ± 5 relative humidity. Illumination was done with 40 W fluorescent bulbs in different photoperiod regimes. Calculating the amount of lipids for analysis, van Handel (1985) test was used. Both females and males, the amounts of lipids decreased as the adult aging. Results from this study is show that increase of dark period, caused decrease amounts of lipids. The amount of lipid in females is more than those observed for males.

Keywords: *Achroia grisella*, photoperiod, total lipid amount, adult age

1. GİRİŞ

Fotoperiyot canlılardaki birçok faaliyeti etkilediği gibi, temel besin maddelerinin miktarlarını da etkileyen çevresel bir faktördür [1-4]. Canlılar için çok önemli temel besin maddelerinden biri olan lipitler, böceklerde yumurta üretiminde kullanıldıkları gibi, metabolize edildiklerinde, karbohidrat ve proteinlere göre daha fazla enerji verdiklerinden, böceğin enerji ihtiyaçlarını gidermek için de kullanılmaktadır. [5-7]. Böceklerde ergin evre süresince kullanılan lipit ihtiyacı, ergin öncesi gelişim döneminde depolanan lipitlerden, besinle alınan lipitlerden ya da lipogenesis ile yeni sentezlenen lipitlerden karşılanır. *Achroia grisella* (küçük kovan güvesi) arıcılıkta peteklere zarar veren bir türdür. Bu böcek ile yapılacak mücadelede ve laboratuvar çalışmalarında biyolojik özelliklerinin bilinmesi önemlidir. Larvaları arı kovanlarındaki petekler üzerinde balmumu ve polen ile beslenir. Özellikle zayıf veya ölü arı popülasyonunun bulunduğu ve depolanmış boş peteklere yumurta bırakarak, üzerlerinde hızla gelişirler. Petekte tüneller açarak ve ağ oluşturarak zarar verir ve kalitesini düşürür. Normal şartlarda güve larvası birkaç hafta içinde peteğe tamamen zarar verir. Kozmopolit bir zararlı olması nedeni ile *A. grisella* dünya üzerinde pek çok araştırma laboratuvarında biyolojik mücadele çalışmaları amacı ile deney hayvanı ve üzerinde parazitoidlerin yetiştirildiği konak tür olarak kullanılmaktadır. [8-10]. *A. grisella* 'ya benzer özelliklere sahip olan ve kovanlarda zarara neden olan bir başka lepidopter türü büyük kovan güvesi *Galleria mellonella*, üzerinde çok sayıda çalışmanın yapıldığı, laboratuvar şartlarında kolaylıkla kültüre alınabilen ve farklı çalışmalar için deney hayvanı olarak kullanılan bir konaktır. Bu tür ile ilgili fotoperiyodun lipit miktarına etkisi ile ilgili çalışma yapılmıştır. Yapılan araştırmalarda *A. grisella* ile ilgili devamlı aydınlık ve devamlı karanlık şartların farklı yaşlardaki ergin üzerine lipit miktarıyla ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızda devamlı aydınlık ve devamlı karanlığın *A. grisella* da değişik yaştaki erginlerin total lipit miktarına etkisi araştırılmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

Denemeler 28 ± 2 °C ve % 65 ± 5 nisbi nem içeren laboratuvar şartlarında yapıldı. Böceklerin beslenmesinde, balsız petekler kullanıldı. Böcekler devamlı aydınlık (24A:0K) ve devamlı karanlık (0A:24K) şartlarda yetiştirildi. Farklı fotoperiyot rejimleri 40 wattlık floresans ampullerle sağlandı. Yaş grupları olarak 1, 5 ve 15 günlük bireyler kullanıldı. Bu erginler ağızları hava sirkülasyonunu önlemeyecek şekilde bez ile kapatılan, cam kavanozlara konularak, stok kültürler kuruldu. Böceklerin beslenmesinde, balsız petekler kullanıldı. Her gün kontrol edilerek, gerekli olduğu kadar, petek verildi. Kavanozlarda gelişen larvaların, pupa haline geçmesine kolaylık sağlamak için, kavanozların içine, katlanmış kağıt parçaları konuldu. Belirtilen üç yaş grubu için, işlemler popülasyondan farklı zamanlarda alınan örneklerle, üç defa tekrarlandı. Her analizde için, belirli bir yaş grubu için toplam 15 adet ergin böcek tartılarak, 1,5ml lik ependorf tüplerinde -50 °C'de analiz aşamasına kadar stoklandı. Analizler için stoklanan örneklerdeki total lipit miktarının belirlenmesinde van Handel [11]'in geliştirmiş olduğu yöntem esas alındı. Analiz aşamasına kadar -50 °C 'de ependorf tüp içerisinde saklanan ve ağırlıkları belirlenen her bir örneğin üzerine 2ml sodyum sülfat çözeltisi ilave edildi. Örnekler bu çözelti içinde 8000 devir/dakikada yedi dakika homojenize edildi. Örnekler sonra 8ml kloroform: metanol (1:2) karışımı ilave edildi. Tüpler kapatılıp karıştırıldıktan sonra 16000 devir/dakikada iki dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda oluşan süpernatanttan 200µl alınarak bir tüpe aktarıldı. Bu tüpler içlerindeki çözeltilerin tamamen buharlaşması için 90 °C 'deki su banyosunda ısıtıldı. Tüplerde kalan lipit çökeleğinin üzerine 40µl konsantre sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek tüpler karıştırıldı ve iki dakika 90 °C 'deki su banyosunda ısıtıldı. Daha sonra buzda soğutulan her bir tüp üzerine 960µl vanilin-fosforik asit reaktifi ilave edilerek, tüpler 30 dakika oda sıcaklığında bırakıldı ve bir renk oluşumu sağlandı. Son olarak tüpler karıştırıldı ve tüplerin absorbans değerleri spektrofotometrede 525 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Okunan absorbans değerleri standart grafikte değerlendirildi ve lipit miktarı belirlendi.

Elde Edilen Verilerin İstatiksel Olarak Değerlendirilmesi: Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 15.0 paket programı kullanıldı. 1, 5 ve 15 günlük dişiler ve erkeklerin total lipit miktarı arasındaki farkların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde ikiden fazla grubun

karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandı. Bu testten elde edilen sonuçların önem seviyeleri 'Tukey' testi kullanılarak değerlendirildi. Aynı yaştaki dişi ve erkeklerin total lipit miktarı arasındaki farkların ikili grup karşılaştırılmasında ise 'Bağımsız İki Örneklem t-Testi (independent samples t-test)' kullanıldı. Değerlendirilmelerde 0.05 güven sınırı esas alındı.

3. BULGULAR

Devamlı Aydınlık (DA) ve Devamlı Karanlığın (DK) *A. grisella*'da değişik yaştaki erginlerin total lipit miktarına etkisi ile ilgili sonuçlar Tablo 1, Şekil 1 ve 2'de verilmiştir. Her iki fotoperiyot rejiminde 100 mg ergindeki lipit miktarı her iki eşeyde de yaşla birlikte azalma gösterdi. DA şartlarda 100 mg ergindeki lipit miktarı bir gün yaşlı dişi bireylerde 4,35 mg olurken, 5 gün yaşlı bireyde 3.19, 15 gün yaşlı bireyde 1.44 olarak tespit edildi. Bir gün yaşlı erkek bireyde ise lipit miktarı 4.25 iken, 5 gün yaşlı bireyde 3.16, 15 gün yaşlı bireyde ise 1,08 mg olmuştur. DK şartlarda yetiştirilen 1, 5 ve 15 gün yaşlı dişi bireylerdeki lipit miktarı sırasıyla 2.83, 2.15 ve 1.08 iken, erkeklerde sırasıyla 2.43, 1.94 ve 0.99 mg olarak tespit edilmiştir.

Tablo 1. Devamlı Aydınlık (DA) ve Devamlı Karanlığın (DK) *A. grisella*'nın birey başına düşen total lipit miktarına etkisi.

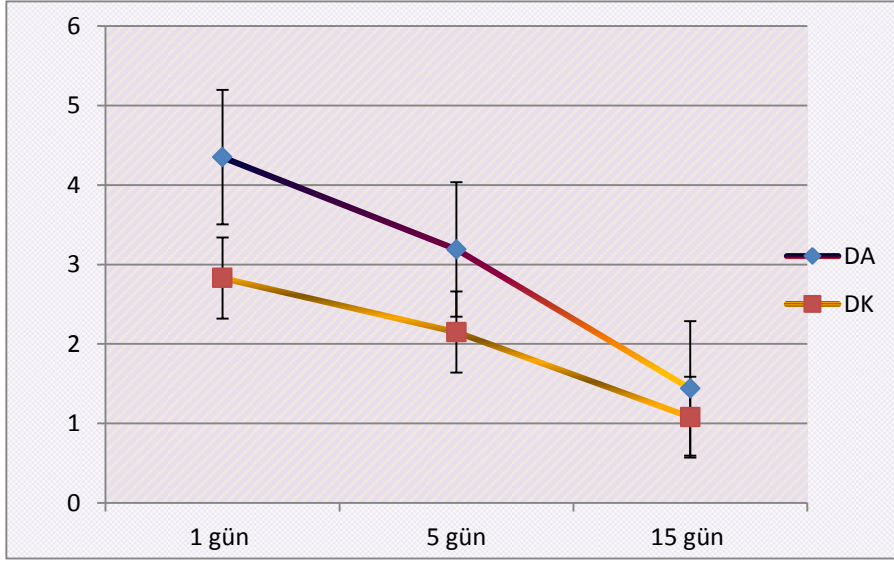
Ergin Yaşı (gün)	DA			DK		
	Total lipit miktarı (mg)			Total lipit miktarı (mg)		
	Ortalama±S.H.			Ortalama±S.H.		
	♀	♂	*	♀	♂	*
1	4.35±0.20	4.25±0.49		2.83±0.37	2.43±0.90	
	Aa	Ca	p<0.05	Ba	Da	p<0.05
5	3.19±0.38	3.16±0.75		2.15±0.41	1.94±0.15	
	Ab	Cb	p>0.05	Ba	Db	p>0.05
15	1.44±0.31	1.08±0.17		1.08±0.15	0.99±0.40	
	Ac	Cc	P<0.05	Ab	Cc	p>0.05

*Aynı yaştaki dişi ve erkeklerde birey başına düşen ortalamalar arasındaki farkın önem kontrolünü göstermektedir. p>0.05 önemsizdir.

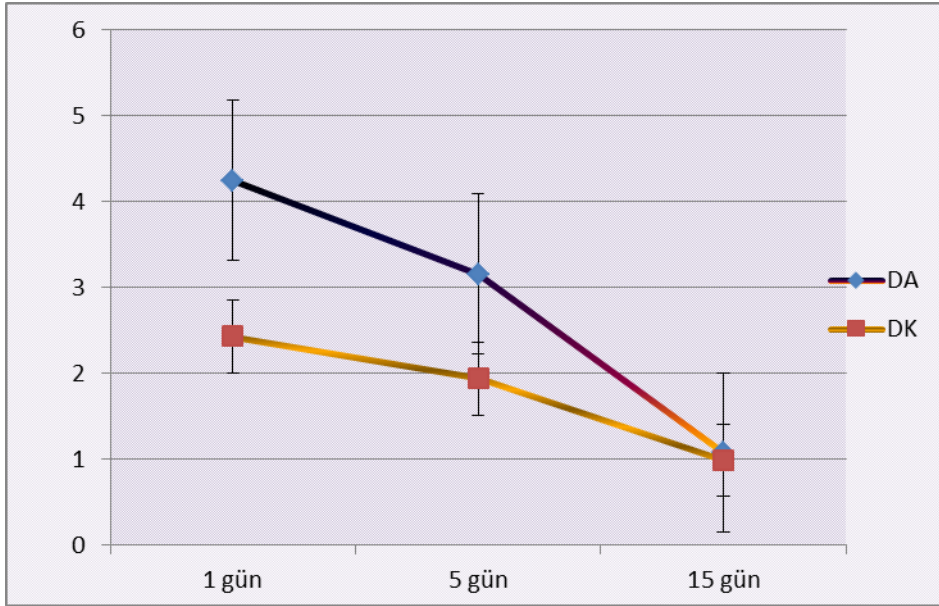
Aynı sütunda aynı küçük harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir p>0.05

Aynı satırdaki aynı eşeye ait aynı büyük harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

A ve B harfleri dişiler için, C ve D harfleri erkekler için kullanılmıştır.



Şekil 1. *A. grisella* dişilerinde Devamlı Aydınlik (DA) ve Devamlı Karanlık (DK) şartlarında birey başına düşen total lipit miktarı (mg).



Şekil 2. *A. grisella* erkeklerinde Devamlı Aydınlik (DA) ve Devamlı Karanlık (DK) şartlarında birey başına düşen total lipit miktarı (mg).

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Fotoperiyodun canlılardaki birçok metabolik ve fizyolojik faaliyeti etkilediği bilinmektedir [12-14]. Bu çalışmada farklı fotoperiyotlarda yetiştirilen *A. grisella* erginlerinde yaşa bağlı olarak lipit miktarında değişiklikler gözlemlendi. DK şartlarda yetiştirilen erginlerdeki lipit miktarının DA şartlarda yetiştirilenlere göre daha az olduğu tespit edildi. Ergin evrede kullanılan lipitlerin, ergin öncesi dönemde depolanan lipitlerden karşılandığı bilinmektedir. Çalışmamızda *A. grisella* erginlerinde yaş artışı ile lipit miktarındaki

belirgin düşüş lipit sentezi yoluyla lipit stoklarının yenilenememesinden, yeteri kadar karbohidrat bulamayan erginlerde öncelikle lipitlerin kullanılmasından ve örneğin dişilerde yumurta üretimi gibi eşeye bağlı aktiviteler için lipitlerin kullanılmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. [14]'e göre yaş artışıyla lipit miktarında meydana gelen azalma, yağ dokusundaki değişikliklerden de ileri gelir. Araştırmamızda lipit miktarıyla ilgili olarak tespit edilen durum ayrıca erkek ve dişi arasındaki farklar birçok çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir [15], [16]. Böceklerde özellikle ergin hayatın başında eş bulma, çiftleşme, yumurta bırakma davranışları için yüksek enerjiye ihtiyaç vardır. Birçok böcek türünde yaşla birlikte lipit miktarının azaldığı tespit edilmiştir [17]. Bu çalışmada da farklı fotoperiyot şartlarında lipit miktarındaki farklar, böceklerin günlük aktivite ve metabolizmasındaki farklılara ve enerji ihtiyacının farklılığına dayanabilir. DK şartlarda, uzun gün şartlarından daha az miktarda lipit bulunması, metabolik baskılanmaya bağlı olup, daha az tercih edilen fotoperiyot şartlarında, madde miktarında meydana gelen artışın, üreme aktivitesinin düşüklüğüyle meydana gelen metabolik baskılanma sonucu olduğu düşünülebilir. Fotoperiyodun lipit miktarına yaptığı etkinin, gelişim, yumurta verimi ve üreme yüzdesiyle ilişkili olduğu yapılan bazı çalışmalarla tesbit edilmiştir [18-20].

5. KAYNAKLAR

- [1] Hodkova, M., Berkova, P. & Zahradnickova, H. (2002) Photoperiodic Regulation of the Phospholipid Molecular Species Composition in Thoracic Muscles and Fat Body of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera) Via an Endocrine Gland, Corpus Allatum. *Journal of Insect Physiology*, 48(11): 1009-1019.
- [2] Morita, A., Soga, K., Hoson, T., Kamisaka, S. & Numata, H. (1999) Changes in Mechanical Properties of the Cuticle and Lipid Accumulation in Relation to Adult Diapause in the Bean Bug, *Riptortus clavatus*. *Journal of Insect Physiology*, 45, 3, 241-247.
- [3] Shuxia, Y. & Adams, T.S. (2000) Effect of Pyriproxyfen and Photoperiod on Free Amino acid Concentrations and Proteins in the Hemolymph of Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Insect Physiology*, 46, 10, 1341-1353.
- [4] Walton, J.C., Weil, Z.W. & Nelson, R.J. (2011) The influence of photoperiod on behavior, endocrine, and immune function. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 32, 302-319.
- [5] Giron, D. & Casas, J. (2003) Lipogenesis in Adult Parasitic Wasp. *Journal of Insect Physiology*, 49, 141-147.
- [6] Kumar, D., Misiura, A. & Singn, A.K. (2004) Stage and Sex Dependent Changes in the Lipid Profile of *Psyderrous koenigii* (Heteroptera: Pyrrhocoridae) During Development. *International Journal of Tropical Insect Science*, 24, 3, 236-241.
- [7] Warburg, M.S. & Yuval, B. (1996) Effects of Diet and Activity on lipid levels of adult mediterranean fruit flies. *Physiological Entomology*, 21, 151-158.
- [8] Akbay, R. (1985) Arı ve İpekböceği Yetiştirme. A.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Notu, Ankara, 122 s.
- [9] Collins, R.D., Jang, Y., Reinhold, K. & Greenfield, M.D. (2000) Quantitative Genetics of Ultrasonic Advertisement Signalling in the Lesser Waxmoth, *Achroia grisella* (Lepidoptera:Pyralidae). *Heredity*, 84,73-80.
- [10] Nurullahoğlu, Z.U. (2003) *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae) Larva ve Pupunun Yağ Asidi Bileşimi. *Selçuk Üniversitesi, Fen –Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 2, 75-78.
- [11] van Handel, E. (1985) Rapid Determination of Total Lipids in Mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1, 302-304.
- [12] Chocorosgui, V.R. & Panizzi, A.R. (2003) Photoperiod Influence on the Biology and Phenological Characteristics of *Dichelops melacanthus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Brazilian Journal of Biology*, 6, 4, 655-664.
- [13] El-Aw, M.A. (2003) Effect of Host Plant, Photoperiod, Day Time, Developmental Stage and Sex on Protein Patterns and Esterase Inhibition Heads of the Cotton Leafworm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Agricultural Research*, 48,1, 89-52.
- [14] Moribayashi, A., Kurahashi, H., Sugie, H., Katagiri, C. & Tsuchida, K. (2003) Lipids and Ecdysteroids on the Ovarian Growth of the Adult Blow Fly, *Aldrichina grahami*. *The Japan Society of Medical Entomology and Zoology*, 54, 1, 65-71.
- [15] Rockstein, M., & Miguel, J. (1974) *Aging in Insect in ' Physiology of Insecta'*, Second Edition, Academic Press, New York, 478 pp.

- [16] Zera, A., Mole, S., & Rokke, K. (1994) Lipid, Carbohydrate and Nitrogen Content of Long and Short Winged *Gryllus firmus*: Implications for the Physiological Cost of Flight Capability. *Journal of Insect Physiology*, 40, 1037-1044.
- [17] Jacome, I., Aluja, M., Liedo, P. & Netsel, D. (1995) The Influence of Adult Diet and Age on Lipid Reserves in the Tropical Fruit Fly *Anastrepha serpentina* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Physiology*, 41, 12, 1079-1086.
- [18] Bailey, E. (1975) *Biochemistry of Insect Flight*. In ' *Insect Biochemistry and Function* ', Chapman and Hall, London, 282 pp.
- [17] Watanabe, M. (2000) Photoperiodic Control of Development and Reproductive Diapause in the Leaf Beetle *Ophraella communa* LeSage. *Entomological Science*, 3, 2, 245-253.
- [20] Niva, C.C. & Takeda, M. (2003) Effects of Photoperiod, Temperature and Melatonin on Nymphal Development, Polyphagism and Reproduction in *Halyomorpha halys* (Heteroptera: Pentatomidae). *Zoological Science*, 20, 8, 963-970.