

Hyphantria cunea (Drury) (Lepidoptera:Arctiidae) Larvalarının Beslenme ve Gelişimine Mikronutrientlerin Etkisi

Oğuzhan YANAR*, Mahmut BİLGİNER*

* Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kurupelit, Samsun, TÜRKİYE

Sorumlu yazar: oyanar46@gmail.com

Özet

Bu çalışmada *H. cunea* türüne ait larvaların besin tercihini ortaya koymak için Yamamoto (1969) tarafından geliştirilen yapay besin ve bu besindeki makro besinler protein (P) ve karbohidrat (K) içeriklerinin ve mikronutrient vitamin (V) ve Tuz (T) içeriklerinin değiştirilmesi ile elde edilen 8 farklı besin kullanılmıştır.

Tercihsiz beslenme deneylerindeki farklı gıda içeriğine sahip C, G, H, D, E besinlerinde tüketim miktarlarının kontrol grubundan farklı olduğu bulunmuştur. G ve H besinlerinde, tüketim miktarında meydana gelen artış, besinlerde eksik olan tuzun telafi edilmesi için olabilir.

P:K miktarı bakımından farklılık gösteren B, C, G, H, D, E besinlerinde pup ağırlığının kontrol grubuna göre farklı olduğu bulunmuştur. D ve E besinleriyle beslenen larvaların pup ağırlığının azalmasının nedeni tüketilen toplam besin miktarlarının (makronutrient ve mikronutrient) azalması olabilir. B, C, G, H, D ve E besinleriyle beslenen larvaların pup protein miktarlarının kontrol grubundan farklı olduğu görülmektedir.

B, G, H, E, C besinlerinde mikronutrientlerin miktarındaki azalmanın bir etkisi olabilir. C, G, H, D, E ve F besinleriyle beslenen larvalarda kontrol grubuna göre bir farklılık göze çarpmaktadır. Bu farklılıkta dikkati çeken bir başka nokta, bu besin çeşitlerinde pup lipid miktarlarının kontrol grubuna göre azalmış olmasıdır. Bu durum böceklerde gelişimin makro ve mikronutrientlerin bir bileşkesi olduğunu ifade edebilir.

Anahtar Kelimeler: Yapay besin, Mikronutrient, *Hyphantria cunea*, Böcek beslenmesi

Effects of micronutrients in artificial diets on the feeding and development of *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera:Arctiidae)

Absract

In this study, for the purpose of revealing the nutrient preference of larvae belonging to *H.cunea* 8 different nutrients obtained by changing synthetic nutrition developed by Yamamoto (1969) and the macro nutrients protein (P) and carbohydrate (C) ingredients and micro nutrients vitamin (V) and salt (S) ingredients.

It has been found that consumption amount are different from control group in the nutrients C, D, E, G, H which have different nutrition ingredient in non-choice feeding experiments.

The rise in the consumption amount in the nutrients G and H may be because of compensating the salt which is lacking in the nutrients. It has been found that in the nutrients B, C, D, E, G, H which differ in terms of P:K amount, pup weight is different from control group.

The reason for the decrease of pup weight of the larvae feeding with the nutrients D and E may be the decrease of total consumed nutrient amounts. It is seen that pup protein amounts of the larvae feeding with the nutrients B, C, D, E, G and H are different from control group.

There may be an effect of the decrease in the amount of micronutrients in the nutrients B, C, E, G, H. In the nutrients C, D, E, F, G, H nutrients a difference attracts attention compared to control group. An other striking point in this difference is that pup lipid amounts decrease compared to control group in these nutrients. It can be said that the development in insects is a resultant of macro and micro nutrients.

Keywords: Artificial diet, Micronutrient, *Hyphantria cunea*, Insect feeding

Giriş

Çeşitli ve değişen metabolik ihtiyaçlara karşı farklı kimyasal bileşenlerin yerlerinin belirlenmesi, seçilmesi, yenilmesi ve kullanımının dengelenmesi temel bir gıda kontrolü problemidir. Başlıca sorun, sindirilmiş besinlerdeki gıdalar arasındaki ilişkilerin azaltılması ya da engellenmesidir. Meselâ, hayvanların protein gibi gıdaların alımını kontrol edip etmediğini belirlerken, ilgili gıdanın besindeki konsantrasyonunun, besindeki diğer gıdaların oranındaki değişiklik dikkate alınmadan değiştirip değiştirmediğini anlamak zordur (Simpson ve Raubenheimer, 1995).

Hayvanlar gıdasal olarak dengesiz besinlerle beslendiği zaman bazı gıdaları az bazılarını ise fazla yemek durumunda kalırlar. Böyle bir durumda hayvanların bu dengesizliği en aza indirmek için mekanizmalar geliştirdiğine dair güçlü deliller vardır. Gıdasal olarak dengesiz besinlerin yenmesine karar vermek zorunda olan hayvanların yaptığı bu takas bir *uzlaşma kuralı* olarak bilinir (Raubenheimer ve Simpson, 2003).

Makronütrientler olarak protein ve karbonhidratın alım hedefine karşı mineral tuzların alımını içeren çalışmada *L. migratoria*'nın tamamlayıcı besinler arasında besin değiştirme şansı verildiğinde; makronütrientlerin ve tuzların alımını ayarlamaktayken, yalnız dengesiz bir besin ile sınırlandırıldığında ise tuzları ayarlamaktan vazgeçerek öncelikli olarak protein ve karbonhidratı ayarladığı gösterilmiştir (Trumper ve Simpson, 1993).

Böceklerin gelişme sürecinde mikronütrientlerin çok önemli role sahip olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada *Hypantiria cunea* larvalarının beslenme ve gelişiminde mikronütrientlerin etkisi araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Larvaların Elde Edilmesi

H. cunea türüne ait larvalar Terme İlçesi Karapınar Köyünün sahil kesimindeki fındık bahçelerinden elde edilmiş ve laboratuara getirilerek, yukarıda bahsedilen yapay besin ile pup oluncaya kadar beslenmiştir. Daha sonrasında elde edilen puplar, diapozunun kırılması için, iç içe şekilde 5° C'deki buzdolabında 2 ay bekletilmiş sonrasında çıkarılarak, oda sıcaklığına konmuştur. Bu ortamda elde edilen erginler çiftleştirilerek bırakılan yumurtalar elde edilmiştir. Yumurtadan çıkan larvalar ile beslenme deneyine başlanmıştır.

Beslenme Deneyleri

H. cunea türüne ait her bir besin grubu üzerinde toplu şekilde beslenmiştir. Literatürde birçok yayınlarda (Telang ve ark., 2001; Lee ve ark., 2002; Henriksson ve ark., 2003; Lee ve ark., 2004) örtüşecek şekilde son larva evresine gelen larvalar her besin grubunda 10 larva olacak şekilde tek tek plastik kaplara alınarak günlük olarak beslenme deneyine başlanmıştır. Tercihsiz beslenme deneylerinde, hergün yeni besin 0,001 hassasiyetli terazide tartılarak verilmiş ve kalan besinlerin etüvde kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları tartılmış ayrıca her gün larvalardaki ağırlık değişimleri ve dışkıları tartılarak not edilmiş, bu durum larvalar pup oluncaya kadar devam edilmiştir.

Yapay Besin İçerikleri

Bu çalışmada *L. dispar* ve *H. cunea* türlerine ait larvaların besin tercihini ortaya koymak için Yamamoto (1969) tarafından geliştirilen yapay besin ve bu besindeki makro besinler protein (P) ve karbohidrat (K) içeriklerinin ve mikronutrient vitamin (V) ve Tuz (T) içeriklerinin değiştirilmesi ile elde edilen 8 farklı besin kullanılmıştır. Bu çalışmada Protein- karbohidrat ve vitamin-tuz içerikleri farklı besinleri birbirinden ayırabilmek için her besine bir harf sembol verilmiştir. Bu besinler orijinal yapay besin (Yamamoto menüsü) A ile diğer besinler ise B, C, D, E ve F, G, H harfleriyle ifade edilmişlerdir. Yamamoto (1969) tarafından geliştirilen yapay besinde bulunan maddeler protein olarak, kazein; karbohidrat olarak, sakkaroz, torula mayası, mikro gıda olarak, vitamin karışımı, tuz karışımı, kolesterol, buğday kepeği, sorbik asit, metil paraben, keten yağı, agar ve sudur. Bu besin öğelerinin karışımı aşağıda tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Yamamoto yapay besinin içindeki madde miktarları (1 kg için)

Besin maddesi	Miktar
Buğday Kepeği (Wheat germ)	80 g
Kazein (Sigma (C-6554))	30 g
Sükroz	30 g
Torula mayası (Sigma (Y-4625))	16 g
Vitamin karışımı (Vanderzant vitamin mixture Sigma (V-1007))	10 g
Tuz karışımı (Wesson salt mixture Sigma (W-1374))	8 g
Kolesterol (Sigma (C-2044))	0.2 g
Sorbik asit (Sigma (S-1626))	2 g
Metil paraben (Sigma (H- 3647))	1 g
Keten yağı (Sigma (L-3026))	1 ml
Agar	20 g
Su	800 ml

Yamamoto besininin A(P30 : K30) yanı sıra, yukarıda bahsedildiği üzere bu yapay besindeki besin öğelerinden protein ve karbonhidrat miktarları değiştirilerek B, C, D, E, F, G VE H besinleri türetilmiştir. Bu besinlerin protein-karbonhidrat ve vitamin-tuz içerikleri aşağıda tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Sentetik besinlerin protein-karbonhidrat oranları ve vitamin-tuz oranları

Besin Tipi	Protein / Karbonhidrat Oranı (P:C)	Vitamin / Tuz Oranı (V:T)
A	30:30	10:8
B	10:50	10:4
C	50:10	5:8
G	40:20	10:4
H	20:40	5:4
D	15:15	10:8
E	10:20	5:4
F	20:10	5:4

Kloroform ile Lipit Analizi

Yukarıda bahsedilen beslenme çalışmalarının sonucunda elde edilen *H. cunea* türüne ait puplar kurutulmak üzere 50° C’ye ayarlanmış etüve konmuş ve puplar sabit ağırlığa erişinceye kadar etüv içinde tutulmuş kuruduktan sonra çıkarılmış ve yağ içeriklerinin tespit edilmesi için puplara saf kloroform içinden 24 saat tutulmuş ve işlem 3 kez tekrarlanmıştır. Böylece, pup örneklerinden yağ içeriği uzaklaştırılmıştır. Bundan sonra puplar, tekrar etüv içerisine konarak yeniden kurutulmuştur. Sonrasında ise, tartılarak larvaların lipitsiz ağırlıkları not edilmiştir. Lipitsiz hale gelen puplar üzerinde, daha sonraki analizlere başlanmıştır.

Kjeldahl Metodu ile Protein Analizi

Lipitleri alınmış *H. cunea* türüne ait pupların azot tayini semi-mikro Kjeldahl metodu ile Kjeltec Auto 1030 analizörü (Tecator, Sweden) ile yapılmıştır. Bunun için pup örnekleri alınarak konsantré sülfürik asit ve potasyum sülfat-bakır sülfat (95:5) karışımında yağ yakmaya tabii tutulmuş, daha sonra % 40’lık NaOH ilave edilerek distile edilmiş ve çıkan azotlu maddeler % 4’lük borik asit içinde tutulmuştur. Borik asit çözeltisi, daha sonra 0,1 N HCl ile geri titrasyona tabii tutulmuştur (Allen ve ark., 1986). Bu işlem sonunda bulunan % N (Azot) miktarları 6,25 sabitiyle çarpılarak % protein miktarları bulunmuştur (Monk, 1987).

İstatistik Analizler

Bu çalışmada *H. cunea* tercihsiz beslenme deneylerindeki besin gruplarında beslenen larvalardan elde edilen toplam besin tüketimleri, pup ağırlıkları, pup protein ve lipit miktarları ile gelişme süreleri verilerin farklı olup olmadığı ANOVA testi ile belirlenmiş ve türlerin besin tercihinde A besini kontrol grubu olarak kullanıldığı için çoklu karşılaştırmalar da Dunnet testi kullanılmıştır.

Bulgular

ANOVA Dunnet testi sonuçlarına göre besin tüketiminin C ve E besinlerinde kontrol grubuna göre besin tüketiminin azaldığı; G, D ve H besinlerinde beslenen larvaların ise besin tüketiminin arttığı belirlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. *H. cunea* larvalarının tercihsiz beslenme deneylerindeki ortalama besin tüketimi, tüketilen protein ve karbonhidrat miktarı, pup ağırlığı, pup protein ve lipit miktarları (mg)

	Besin Tipleri	N	Besin tüketimi	Tüketilen K	Tüketilen P	Pup ağırlığı	Pup protein miktarı /pup	Pup lipit miktarı /pup
ORTALAMA ± STANDAR HATA	A	10	305,34±5,1	46,18±0,8	46,18±0,8	43,0±3,1	6,2±0,5	12,9±1,1
	B	10	298,12±3,2	75,00±1,1	15,01±0,2	34,8±2,1	7,8±0,5	13,7±0,5
	C	10	262,19±1,8	13,10±0,1	66,3±0,1	27,7±1,5	5,1±0,2	8,4±1,0
	G	10	365,20±1,6	35,55±0,3	71,10±0,6	39,7±2,3	11,1±0,6	11,4±0,8
	H	10	338,53±2,1	68,28±0,2	34,14±0,1	35,3±1,9	5,7±0,2	11,2±0,2
	D	10	344,45±8,6	30,84±0,9	30,78±0,9	38,8±0,5	8,4±1,0	11,7±0,3
	E	10	251,63±1,7	30,19±0,1	15,10±0,04	31,2±0,4	6,7±0,5	9,7±0,7
	F	10	299,30±12,3	17,61±0,9	35,22±1,7	41,7±2,3	10,6±0,3	11,0±0,5
ANOVA	s.d.*		79	79	79	79	79	79
	F		151,75	634,38	494,65	586,13	244,15	356,61
	P		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Dunnet Testi		C, G, D, E <0,001 H <0,05	B, C, G, H, D, E, F <0,001	B,C, G, H, D, E, F <0,001	B, C, G, H, D, E <0,001	B, C, G, D, E,F <0,001 H <0,05	C, G, H, E, F <0,001 D <0,05

*serbestlik derecesi

Tüketilen karbonhidrat miktarının B ve H besinlerinde arttığı; C, G, D, E ve F besinlerinde ise kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı gözlenmiştir (Tablo 3). Tüketilen protein miktarı ise C ve G besinlerinde artmış; B, H, D, E ve F besinlerinde azalmıştır (Tablo 3).

Pup ağırlığının F besininde beslenen larvalar hariç diğer tüm besin tiplerinde beslenen larvalardan oluşan puplarda azaldığı, F besiniyle beslenen larvalardan elde edilen puplarda ise kontrol grubuna göre önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir (Tablo 3).

Pup protein miktarı B, G, D, E ve F besinlerinde artmış; C, H besinleriyle sekonder madde ihtiva eden besinlerde azalmıştır (Tablo 3).

Pup lipit miktarı B besini dışındaki tüm besin tiplerinde beslenen larvalarda azalmıştır. B besini ile beslenen larvaların puplarında kontrol grubuna göre önemli bir farklılık belirlenememiştir (Tablo 3).

Tartışma ve Sonuç

H. cunea larvalarının tercihsiz beslenme deneylerindeki farklı gıda içeriğine sahip C, D, E, G, H besinlerinde tüketim miktarlarının kontrol grubundan farklı olduğu görülmüştür. P:K miktarı farklı olan C besininde kontrol grubuna göre azalma görülmektedir. C besini, protein bakımından zengin, gıdaca dengesiz bir besin olduğu için tüketim miktarında meydana gelen azalma literatürle uygunluk içerisinde (Lee ve ark., 2002; Lee ve ark., 2004).

G ve H besinlerinde, tüketim miktarında meydana gelen artış, besinlerde eksik olan tuzun telafi edilmesi için olabilir (Timmins ve ark., 1988; Slansky ve Wheeler, 1989; Wheeler ve Slansky, 1991; Raubenheimer, 1992; Raubenheimer ve Simpson, 1993). E besinindeki tüketim miktarının azalmasının nedeni ise zor ortam şartlarında (gıda eksikliği) türün geliştirdiği bir adaptasyon olarak düşünülebilir

P:K miktarı bakımından farklılık gösteren B, C, G, H, D, E besinlerinde pup ağırlığının kontrol grubuna göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Yüksek miktarda protein ihtiva eden C besini gibi besinlerde pup ağırlığının artışı literatürdeki sonuçlarla uygunluk içerisinde (Lee ve ark., 2002).

Karbohidrat miktarı fazla olan B besininde pup ağırlığının azalmasının nedeni, larvaların tükettikleri aşırı karbohidratı solunum hızlarını artırarak harcamaları (Lee ve ark., 2002) ya da böceklerin gelişiminde önemli olan tuz miktarının az olmasıyla açıklanabilir. D ve E

besinleriyle beslenen larvaların pup ağırlığının azalmasının nedeni tüketilen toplam besin miktarlarının (makronutrient ve mikronutrient) azalmasından kaynaklanabilir.

B, C, G, H, D ve E besinleriyle beslenen larvaların pup protein miktarlarının kontrol grubundan farklı olduğu görülmektedir. B, G, H, E, C besinlerinde mikronutrientlerin miktarındaki azalmanın bir etkisi olduğu söylenebilir.

Besin çeşitlerine göre dişi larvaların pup lipit miktarlarındaki farklılık incelendiğinde, C, G, H, D, E ve F besinleriyle sekonder madde ihtiva eden besinlerde kontrol grubuna göre bir farklılık göze çarpmaktadır. Bu farklılıkta dikkati çeken bir başka nokta, bu besin çeşitlerinde pup lipit miktarlarının kontrol grubuna göre azalmış olmasıdır. Bu durum böceklerde gelişimin makro ve mikronutrientlerin bir bileşkesi olduğunu ifade edebilir.

Sonuç olarak, gıda dengeleme davranışı, Lepidoptera takımı üyelerinin yanında ratlar, çekirgeler, balıklar gibi birçok canlı grubunda gözlenen bir durumdur (Bernays ve Bright, 2001; Ruohonen ve ark., 2007).

Kaynaklar

- Allen, S.E. , Grimshaw, H.M. , Parkinson, J.A. , Quarmby, C. and Roberts, J.D. 1986. Chemical Analysis. In: Champman, S.B. (eds) Methods in Plant Ecology pp. 411-466. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Bernays E. A. and K. L. Bright 2001. Food choice causes interrupted feeding in the generalist grasshopper *Schistocerca americana*: further evidence for inefficient decision-making Journal of insect physiology, 47, pp. 63-71.
- Henriksson J., E. Haukioja, V. Ossipov, S. Ossipova, S. Sillanpää, L. Kapari and K. Pihlaja 2003. Effects of host shading on consumption and growth of the geometrid *Epirrita autumnata*: interactive roles of water, primary and secondary compounds. Oikos, 103, pp. 3-16.
- Lee K.P., Behmer S.T., Simpson S.J. and D. Raubenheimer 2002. A geometric analysis of nutrient regulation in the generalist caterpillar *Spodoptera littoralis* (Boisduval). Journal of Insect Physiology, 48; pp. 655-665.
- Lee, K. P., Simpson, S. J. and Raubenheimer, D. 2004. A comparison of nutrient regulation between solitary and gregarious phases of the specialist caterpillar, *Spodoptera exempta* (Walker). J. Insect Physiol. 50, pp. 1171-1180.
- Monk, C.D. 1987. Sclerophylly in *Quercus virginiana* Mill, Castanea, 52, 4, pp. 256-261.
- Raubenheimer, 1992. Tannic acid, protein ve digestible carbohydrate: dietary imbalance and nutritional compensation in the African migratory locust. Ecology, 73, pp. 1012-1027.
- Raubenheimer, D. and Simpson, S. J., 1993. The geometry of compensatory feeding in the locust. Animal Behaviour, 45, pp. 953-964.
- Raubenheimer D., and Simpson S. 2003. Unravelling the tangle of nutritional complexity. Wissenschaftskolleg zu Berlin Jahrbuch. Vorträge und Schwerpunkte. Pp. 275-294.
- Ruohonen, K., Simpson, S. J. and Raubenheimer, D., 2007. A new approach to diet optimisation: A re-analysis using European whitefish (*Coregonus lavaretus*). Aquaculture, 267, pp. 147-156.
- Simpson S. J. and D. Raubenheimer 1995. The geometric analysis of feeding and nutrition: a user's guide. Journal of Insect Physiology, 41, pp. 545-553.

- Slansky, F. and Wheeler, G. S., 1989. Compensatory increases in food consumption and utilisation efficiencies by velvetbean caterpillars mitigate impact of diluted diets on growth. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 51, pp. 175-187.
- Telang A., Booton V., Chapman R.F., and D.E. Wheeler 2001. How female caterpillars accumulate their nutrient reserves. *Journal of Insect Physiology*, 47, pp. 1055–1064.
- Timmins, W. A., Bellward, K., Stamp, A. J., Reynolds, S. E., 1988. Food intake, conversion efficiency and feeding behaviour of tobacco hornworm caterpillars given artificial diet varying nutrient and water content. *Physiological Entomology*, 13, pp. 303-314.
- Trumper, S. and Simpson, S. J., 1993. Regulation and salt intake by nymphs of *Locusta migratoria*. *J. Insect Physiol.*, 39, pp. 857-864.
- Wheeler, G. S. and Slansky, F., 1991. Compensatory response of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) when fed water and cellulose-diluted diets. *Physiological Entomology*, 16, pp. 361-374.
- Yamamoto, R. T. 1969. Mass rearing of tobacco hornworm. II. Larval rearing and pupation. *J. Econ. Entomol.*, 62, pp. 1427-1431.