



## *Malacosoma neustria* Larvalarına Farklı Sekonder Maddelerin Sinerjistik Etkisi

Oğuzhan Yanar\*

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 55139 Samsun, Türkiye

### MAKALE BİLGİSİ

#### Araştırma Makalesi

Geliş 26 Ocak 2018  
Kabul 13 Eylül 2018

**Anahtar Kelimeler:**  
*Malacosoma neustria*  
Tanik asit  
Gallik asit  
*p*-Kumarik asit  
Yapay diyet

\*Sorumlu Yazar:

E-mail: oyanar46@gmail.com

### Ö Z

Bu çalışmada polifag bir tür olan *Malacosoma neustria*'nın son larva döneminde toplam diyet tüketim miktarı, pupa ağırlıkları, pupaların lipid ve protein miktarları ve gelişme sürelerine sekonder maddelerin sinerjistik etkisi araştırılmıştır. Kontrol diyetine farklı konsantrasyonlarda (%1, 3, 5) tanik asit, galik asit ve *p*-Kumarik asit katılarak 9 diyet hazırlanmıştır. Kontrol diyetine %3 konsantrasyonda tanik asit, galik asit ve *p*-Kumarik asit katılarak ikili kombinasyonlu 3 diyet hazırlanmıştır. Üçlü kombinasyonda bir diyet yapılarak toplamda 14 diyet ile tercihsiz beslenme deneyi yapılmıştır. Lipit miktarının belirlenmesinde kloroform kullanılmıştır. Protein analizi semi-mikro Kjeldahl metodu ile Kjeltac Auto 1030 analizörü (Tecator, Sweden) ile yapılmıştır. İstatistik analizlerde ANOVA-Dunnet testi kullanılmıştır. Kontrol grubuna göre hem tanik asit hem de *p*-Kumarik asit içeren diyetlere ilave edilen madde konsantrasyonu arttıkça, *M. neustria* larvalarının toplam diyet tüketim miktarlarında, pupa protein ve lipid miktarlarında azalma olduğu bulunmuştur. Gallik asit ilave edilen diyetlerde gallik asit konsantrasyonu arttıkça toplam tüketim miktarının arttığı belirlenmiştir. Diyete ilave edilen tanik asit konsantrasyonu arttıkça gelişim süresinin uzadığı bulunmuştur. Bu çalışmada kullanılan sekonder maddelerin ilgili konsantrasyonlarına ve kombinasyonlarına larvaların dirençli olduğu ve pupa dönemine ulaşabildikleri gözlemlenmiştir.

Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 6(10): 1463-1468, 2018

### The Synergistic Effect of Different Secondary Compounds on *Malacosoma neustria* Larvae

### ARTICLE INFO

#### Research Article

Received 26 January 2018  
Accepted 13 September 2018

**Keywords:**  
*Malacosoma neustria*  
Tannik acid  
Gallik acid  
*p*-Coumaric acid  
Artificial diet

\*Corresponding Author:

E-mail: oyanar46@gmail.com

### ABSTRACT

In this study, synergistic effects of secondary compounds on the total diet amount of consumption, pupae weights, lipid and protein amounts of pupae, and growth periods at the final larva stage of *Malacosoma neustria*, which is a polyphagous species, were investigated. 9 diets were prepared by adding tannic acid, gallic acid and *p*-Coumaric acid at different concentrations (1, 3, 5%) in the control diet. 3 diets with double combination were prepared by adding tannic acid, gallic acid and *p*-Coumaric acid at 3% concentration in control diet. 1 diet with triple combination was prepared and total of 14 diet with non-preferred nutrition experiments were conducted. Chloroform was used in determining the amount of lipid. Protein analysis was performed with a semi-micro Kjeldahl method using a Kjeltac Auto 1030 analyser (Tecator, Sweden). ANOVA-Dunnet test was used in statistical analyses. In comparison with the control group, the total consumption of *M. neustria* larvae and the amounts of pupa protein and lipid were found to decrease as the concentration of substance added to diets containing both tannic acid and *p*-Coumaric acid increased. In gallic acid supplemented diets, it was determined that when the gallic acid concentration increased, the total consumption amount also increased. As the concentration of tannic acid added to the diets increased, the development time was found to be prolonged. It has been observed that the larvae had resistance against the related concentrations and combinations of secondary compounds used in this study and they could reach the pupae stage.

DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v6i10.1463-1468.1820>

## Giriş

Hayvanların dörtte üçten fazlası herbivordur. Bu nedenle, bu canlılar ekosistemin yapısını ve fonksiyonunu şekillendirmede önemli bir rol oynarlar (Huntly, 1991; Cebrian, 2004). Herbivorlar bitkileri tüketerek bitkilerin dağılımlarında ve bolluklarında güçlü bir etkiye sahiptirler (Houlahan ve Findlay, 2004; Xiong ve ark., 2008). Bitkiler ve herbivorlar arasındaki etkileşimler yalnızca bitki popülasyonlarının yapı ve dinamiklerini etkilemez, aynı zamanda besin ağı ve besin döngüleri sayesinde ekosistemin yanı sıra komünite kompozisyonunu ve çeşitliliği de etkiler (Jiang ve ark., 2005).

Bitkiler, primer bileşiklerin yanı sıra bir dizi sekonder metabolit de üretmektedir. Bitkiler, organizmaların üremelerine, gelişmelerine, büyümelerine doğrudan katkı sağlayan fakat türlerin hayatta kalmalarını, gelişmelerini, davranışlarını etkileyen ve sekonder metabolit olarak bilinen kimyasalları içermektedirler. Bu kimyasallar genellikle primer metabolit ürünlerin sentez ürünleridir (Whittaker, 1970). Bu savunma metabolitleri ya inaktif formlarda depolanırlar ya da böcek ya da mikroorganizma saldırısı sırasında indüklenirler. Sekonder metabolitler yalnızca farklı streslerden bitkileri korumazlar, aynı zamanda bitkilerin fitnessini de arttırmazlar (War ve ark., 2012).

Tanen terimi tanik asit (TA) için genellikle bir sinonim olarak kullanılmaktadır. Birçok polifenole benzer olarak, tanik asidin antioksidan (Lopes ve ark., 1999; Ferguson, 2001; Wu ve ark., 2004; Andrade ve ark., 2005), antimutajenik (Ferguson, 2001; Horikawa ve ark., 1994; Chen ve Chung, 2000) ve antikanserijenik özelliklere (Horikawa ve ark., 1994; Athar ve ark., 1989; Gali ve ark., 1992; Nepka ve ark., 1999) sahip olduğu gösterilmiştir. Gallik asit ve türevleri bitkiler âleminde yaygın şekilde bulunmaktadır ve bundan dolayı bitki sekonder polifenolik metabolitleri olarak doğal antioksidanların büyük bir familyasını temsil ederler (Lu ve ark., 2006). *p*-Kumarik asit, lignin biyosentezinde bir ara maddedir ve angiosperm bitkilerde geniş dağılım gösterir (Berenbaum, 1982). *p*-Kumarik asit esterleşmiş biçimde ya da serbest asit şeklinde çoğu meyvelerde, sebzelerde ve otsu bitkilerde bulunmaktadır (Mussatto ve ark., 2007). *p*-Kumarik asit koruyucu kimyasal özelliği ve antioksidan özelliğinden dolayı büyük öneme sahiptir (Torres ve Rosazza, 2001).

Türkçede yüzük keleşliği olarak bilinen *Malacosoma neustria* (Linnaeus, 1758), Çin, Kore, Japonya, Avrupa, Rusya gibi ülkelerde oldukça geniş bir alanda yayılış göstermektedir. Dişiler ergin dönemde erkeklerden daha iri yapılıdır. Çiftleştikten kısa bir süre sonra dişiler 15-400 kadar yumurtayı cila benzeri bir maddeyle birbirlerine yapıştırarak, daire şeklinde dize ederler. Larvalar siyah şeritler ile ayrılan beyaz, grimsi mavi ve kiremit rengi bantlara sahiptir. Yumurtadan çıkan larvalar bitki üzerinde toplu halde beslenirler. Larvalar ilerleyen larva dönemlerinde tek olarak beslenmeye devam ederler. *M. neustria* farklı familyalardan birçok bitki ile beslenen polifag bir türdür.

Bu çalışmanın amacı farklı sekonder maddelerin ve bu maddelerin kombinasyonlarının *M. neustria* larvalarına olan sinerjistik etkilerinin araştırmaktır. Yani sekonder maddelerin bir arada bulduklarında ortaya çıkan etkinin yalnızca buldukları etkiden bir farkının olup olmadığını ortaya çıkarmaktır.

## Materyal ve Metot

### Larvaların Elde Edilmesi

*Malacosoma neustria* larvaları 2017 yılı Haziran ayında Samsun İli Bafra İlçesi Cernek Gölü etrafındaki *Hippophae rhamnoides* bitkisi üzerinden toplanmıştır.

### Beslenme Deneyleri

Son larva evresine gelene kadar larvalar stok kültür oluşturularak beslenmiştir. Literatürdeki yayınlarla (Lee ve ark., 2002; Henriksson ve ark., 2003; Lee ve ark., 2004) uyumlu şekilde son larva evresine gelen larvalar her diyet grubunda 10 larva olacak şekilde tek tek plastik kaplara alınarak gün aşırı olarak beslenme deneyine başlanmıştır. Bu beslenme deneylerinde, gün aşırı olarak yeni diyet  $\pm 0,001$  gram hassasiyetli terazide tartılarak 10 larvanın tüketebileceği günlük tüketimden daha fazlası 5-7 arasında değişen miktarlarda verilmiş ve kalan diyetlerin etüvde kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları tartılmış ayrıca gün aşırı larvalardaki ağırlık değişimleri ve dışkıları tartılarak not edilmiş ve bu işlemler larvalar pupa oluncaya kadar devam edilmiştir.

### Yapay Diyet İçerikleri

Bu çalışmada farklı sekonder maddelerin ve bunların farklı kombinasyonlarının *M. neustria* larvalarının büyüme ve gelişmesine üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla farklı içeriklerde yapay diyetler hazırlanmıştır. Larvaları beslemek amacıyla Yamamoto (1969) tarafından geliştirilen yapay diyet kontrol diyeti olarak kullanılmıştır. Yamamoto (1969) yapay diyetinde bulunan maddeler (Tablo 1) buğday ruşeymi, protein olarak, kazein; karbohidrat olarak, sakkaroz, torula mayası, vitamin karışımı, tuz karışımı, kolesterol, sorbik asit, metil paraben, keten yağı, agar ve sudur.

Tablo 1 Yamamoto yapay diyetinin içindeki madde miktarları (1 kg için)

Table 1 The amounts of compounds in Yamamoto artificial diet

Diyet maddesi	Miktar
Buğday Ruşeymi (Wheat germ )	80 g
Kazein (Sigma (C-6554))	30 g
Sükroz	30 g
Torula mayası (Sigma (Y-4625))	16 g
V-1007	10 g
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

V-1007: Vitamin karışımı (Vanderzant vitamin mixture Sigma),

W-1374: Tuz karışımı (Wesson salt mixture Sigma)

Kontrol diyeti içerisine çalışmanın amacına uygun olarak sekonder maddelerden tanik asit (TA), gallik asit (GA) ve *p*-Kumarik asit (PKA) kullanılarak diyetler hazırlanmıştır. Kontrol diyetine farklı konsantrasyonlarda (%1, 3, 5) tanik asit, galik asit ve *p*-Kumarik asit katılarak 9 diyet hazırlanmıştır. Kontrol diyetine %3 konsantrasyonda tanik asit, galik asit ve *p*-Kumarik asit katılarak ikili kombinasyonlu 3 diyet hazırlanmıştır.

Üçlü kombinasyonda (TA+GA+PKA) bir diyet yapılarak toplamda 14 diyet ile tercihsiz beslenme deneyi yapılmıştır. Diyet içerikleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2 Diyet tipleri ve diyet içerikleri  
Table 2 Diet types and contents

Diyet Tipi	Diyet İçeriği
A	Kontrol Diyeti (KD)
B	KD + %1 TA
C	KD + %3 TA
D	KD + %5 TA
E	KD + %1 GA
F	KD + %3 GA
G	KD + %5 GA
H	KD + %1 PKA
K	KD + %3 PKA
L	KD + %5 PKA
M	KD + %3 TA + %3 GA
N	KD + %3 TA + %3 PKA
P	KD + %3 GA + %3 PKA
R	KD + %3 TA + %3 GA + %3 PKA

#### Kloroform ile Pupaların Lipit İçeriğinin Belirlenmesi

Yukarıda bahsedilen beslenme çalışmalarının sonucunda elde edilen *M. neustria* türüne ait pupalar kurutulmak üzere 50°C’ye ayarlanmış etüve konulmuş ve pupalar kuruyana kadar (sabit ağırlığa erişinceye kadar) yaklaşık 10 gün etüv içinde tutulmuş, kuruduktan sonra çıkarılmış ve yağ içeriklerinin tespit edilmesi için pupalar kloroform içinde 24 saat tutulmuş ve işlem 3 kez tekrarlanmıştır. Böylece, pupa örneklerinden yağ içeriği uzaklaştırılmıştır. Bundan sonra pupalar, tekrar etüv içerisine konarak yeniden kurutulmuştur. Sonrasında ise, tartılarak pupaların lipitsiz ağırlıkları not edilmiştir. Bu verilerden pupaların yüzde lipit miktarları hesaplanmıştır (Simpson, 1983).

#### Kjeldahl Metodu ile Pupaların Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Lipitleri alınmış *M. neustria* türüne ait pupaların azot tayini semi-mikro Kjeldahl metodu ile Kjeltex Auto 1030 analizörü (Tecator, Sweden) ile yapılmıştır. Bunun için pupa örnekleri alınarak konsantre sülfürik asit ve potasyum sülfat-bakır sülfat (95-5) karışımında yaş 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).

#### İstatistiksel Analizler

Bu çalışmada *M. neustria* larvalarının beslenme deneylerindeki diyet gruplarında beslenen larvalardan elde edilen toplam tüketim miktarları, pupa ağırlıkları, pupa protein ve lipit miktarları ile gelişme süreleri verilerinin farklı olup olmadığı ANOVA testi ile belirlenmiş ve Dunnet testi kullanılmıştır. Bu testler için SPSS 17 versiyonu kullanılmıştır.

## Bulgular ve Tartışma

Toplam tüketim miktarları kontrol diyetine göre diğer diyet gruplarında beslenen larvalarda (B diyeti hariç) istatistiksel olarak farklıdır. Kontrol grubuna göre, tanik asit, gallik asit ve *p*-Kumarik asidin üç farklı konsantrasyonu (%1, 3 ve 5) dikkate alındığında, üç sekonder maddenin *M. neustria* larvalarının toplam tüketim miktarına etkisinde farklılık olduğu görülmektedir. Kontrol grubuna göre hem tanik asit hem de *p*-Kumarik asit içeren diyetlere ilave edilen madde konsantrasyonu arttıkça, *M. neustria* larvalarının toplam tüketim miktarlarında azalma olduğu; bunun aksine, gallik asit ilave edilen diyetlerde gallik asit konsantrasyonu arttıkça toplam tüketim miktarının arttığı bulunmuştur. (Tablo 3)

Tanik asit, gallik asit ve *p*-Kumarik asidin üçü de fenolik bileşik olmasına rağmen bu etki şeklindeki farklılık önemlidir. Elde edilen bu sonuç, literatürde kimyasal yapılarına ve fizikokimyasal çevrelerine (örneğin, pH, redoks potansiyeli, oksidazların konsantrasyonları, oksidantlar ve antioksidantlar) bağlı olarak alınan fenolikler tarafından oynanan fizyolojik roller değişmektedir (Larson, 1995; Metadiewa ve ark., 1999; Sugihara ve ark., 1999; Galati ve ark., 2002; Sakihama ve ark., 2002; Hagerman ve ark., 2003) ifadesini desteklemektedir.

Yüzde 5 Tanik asit içeren diyet ile beslenen larvalardan en düşük toplam tüketim miktarının elde edilmesi literatürde daha önce yapılan çalışmalarda bulunan sonuçlarla (Simpson ve Raubenheimer, 2001; Hemming ve Lindroth, 1995; Hemming ve Lindroth, 2000; Yanar, 2007) uyumludur. Toplam tüketimin azalmasının nedeni, tanik asidin doğrudan beslenmeyi caydırıcı özelliğinden kaynaklanabilir (Simpson ve Raubenheimer, 2001).

Sekonder maddelerin ikili ve üçlü kombinasyonları olan diyetlerde toplam tüketim miktarları, kontrol grubuna göre farklıdır. M ve P diyetleri ile beslenen larvaların toplam tüketim miktarları kontrol grubundan fazladır. C diyeti ile beslenen larvalardan elde edilen toplam tüketim miktarı kontrol grubuna göre az iken, M diyetinde iki sekonder maddenin (tanik asit ve gallik asit) sinerjistik etkisiyle tüketim miktarının kontrol grubuna göre daha fazla olması dikkat çekicidir. Yine benzer şekilde, P diyeti ile beslenen larvalarda tüketim miktarı kontrol grubuna göre fazla iken, K diyeti ile beslenen larvalarda tüketim miktarının az olması önemlidir. Bu da gallik asidin, besine ilave edilen diğer sekonder maddelere göre beslenmeyi arttırıcı yönde özellik gösterdiğini göstermektedir. Özellikle M, N, P ve R diyetleriyle beslenen larvalarda bulunan bu sonuçlar, sinerjistik etkinin farklı olduğu anlamına gelebilir.

Tanik asit içeren diyetlerle beslenen larvaların pupa ağırlıkları kontrol grubuna göre farklıdır. Simpson ve Raubenheimer (2001) *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) ile yaptıkları çalışmada, tanik asitli diyetlerle beslenip pupa olan çekirgelerde tanik asit miktarının arttıkça pupa ağırlığının düştüğünü ortaya koymuşlardır. Yanar (2007) tanik asitli diyetlerle beslenen *Hyphantria cunea* (Drury, 1773) larvalarının pupa ağırlıklarının diğer diyet gruplarıyla beslenip pupa olan larvalara göre düşük çıktığını bulmuştur. Yapılan bu iki çalışma sonunda

bulunan sonuçlar bizim sonuçlarımızla örtüşmektedir. Burada en düşük pupa ağırlığı N diyeti ile beslenen larvalarda bulunmuştur. Burada önemli olan M ve P diyetleriyle beslenen larvaların pupa ağırlıklarında kontrol grubuna göre bir farklılık olmamasına rağmen, bu diyetlerin içerdiği sekonder maddelerin tekli konsantrasyonları ile beslenen larvaların kontrol diyetine göre istatistiksel olarak farklı olmasıdır ki bu da bize sinerjistik etkinin yani sekonder maddelerin bir arada etkilerinin tek başlarına yaptıkları etkidene farkını göstermektedir.

Sekonder madde içeriğindeki farklılıkların *M. disstria* larvalarının besin tercihini ve performansını açık şekilde değiştirdiği de yapılan daha önceki çalışmalar ile gösterilmiştir (Hemming ve Lindroth, 1995; Hemming ve Lindroth, 2000). Kontrol grubuna kıyasla en yüksek pupa ağırlıkları E, F ve G diyetleriyle beslenen larvaların pupalarında bulunmuştur. Pupaların ağırlıklarının küçük oluşu erginlerin yavru üretme oranını (fecundite) etkileyebilmektedir (Honek, 1993). Gallik asitli diyetlerle beslenen larvalarda ağırlıkların yüksek oluşu fecunditeyi olumlu etkileyebilir.

Tablo 3 *Malacosma neustria* larvalarının beslenme deneylerinden elde edilen toplam tüketim miktarı, pupa ağırlığı, pupa protein miktarı, pupa lipid miktarı ve gelişme süresi (Ortalama ± standart hata)

Table 3 The total consumption amounts, pupal weight, pupal protein amount, pupal lipid amounty obtained from *Malacosoma neustria* and their development time (Mean±standart error)

Diyet tipleri	TTM (mg)	PA (mg)	PPM (mg)	PLM (mg)	GS (gün)
A	164,1±0,1	31,8±0,7	18,3±0,2	10,9±0,2	3,8±0,1
B	163,1±1,4	27,7±0,2	17,1±0,1	9,5±0,1	4,1±0,1
C	151,5±1,4	24,8±0,2	16,0±0,1	8,3±0,1	4,7±0,2
D	126,8±1,4	25,1±0,2	15,2±0,1	4,3±0,1	4,9±0,1
E	182,8±0,1	35,5±0,2	19,2±0,1	11,7±0,1	4,0±0
F	203,1±3,1	35,6±0,2	20,4±0,1	13,0±0,2	4,1±0
G	221,3±0,9	35,5±0,2	19,8±0,1	12,5±0,2	4,0±0,1
H	151,5±1,4	31,1±0,7	18,0±0,2	6,9±0,1	4,2±0,2
K	147,9±0,1	28,7±0,2	17,1±0,2	4,9±0,1	4,2±0,1
L	140,5±0,1	29,2±0,6	16,4±0,2	4,6±0,1	3,9±0,1
M	179,7±0,1	31,6±0,6	19,0±0,1	11,3±0,1	5,0±0,1
N	154,1±0,1	20,6±0,1	16,3±0,1	4,3±0,1	3,9±0
P	175,4±1,3	30,5±0,6	18,2±0,2	9,1±0,1	4,2±0,1
R	149,1±1,0	25,2±0,2	17,3±0,1	5,3±0,1	5,0±0
sd*	139	139	139	139	139
F	429,1	119,4	163,5	685,9	15,2
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ANOVA Dunnet testi	C<0,001	B<0,001	B<0,001	B<0,001	B<0,001
	D<0,001	C<0,001	C<0,001	C<0,001	E<0,001
	E<0,001	D<0,001	D<0,001	D<0,001	F<0,001
	F<0,001	E<0,001	E<0,001	E<0,001	G<0,001
	G<0,001	F<0,001	G<0,001	F<0,001	H<0,001
	H<0,001	G<0,001	K<0,001	G<0,001	K<0,001
	K<0,001	K<0,001	L<0,001	H<0,001	L<0,001
	L<0,001	L<0,001	M<0,001	K<0,001	N<0,001
	M<0,001	N<0,001	N<0,001	L<0,001	P<0,001
	N<0,001	R<0,001	R<0,001	N<0,001	
P<0,001			P<0,001		
R<0,001			R<0,001		

TTM: Toplam tüketim miktarı (mg), PA: Pupa ağırlığı (mg), PPM: Pupa protein miktarı (mg), PLM: Pupa lipid miktarı (mg), GS: Gelişme süresi (gün), \*sd: Serbestlik Derecesi

Pupa protein miktarı, kontrol grubuna göre F, H ve P diyetleriyle beslenen larvalar dışında istatistiksel olarak farklıdır. Pupa protein miktarının kontrol grubuna göre yüksek olduğu değerler gallik asit içeren diyetlerle beslenen larvalarda bulunmuştur. P diyetiyle beslenen larvalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir farklılık yokken, F besiniyle beslenen larvalarda da istatistiksel olarak farklılık olmaması fakat K besini ile beslenenlerde istatistiksel farklılık olması sinerjistik etkinin önemini göstermektedir. Üçlü kombinasyonda (R diyeti) ise kontrol grubuna göre pupa protein miktarının düşük olması ise diyetin içinde bulunan tanik asit ve *p*-Kumarik asidin negatif etkisinin gallik asidin pozitif

etkisine üstün geldiği söylenebilir. Larva evresinden ergin evreye taşınan depo proteinleri, ergin herbivor böceklerde özellikle sınırlı azot tüketiminden dolayı erginlerde önemli rol oynayabilir (Hahn, 2005). Bu yüzden diyetlerdeki gallik asit, protein depolamada tür için avantaj olabilir. Tanik asit ve *p*-Kumarik asit ise diyetlerde artan konsantrasyonlara azalan pupa protein miktarı şeklinde karşılık vermiştir. Hâlbuki tanik asitli diyet ile beslenen *L. migratoria* larvalarının, tanik asitsiz diyetlerle beslenenlere göre pupa protein miktarlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Simpson ve Raubenheimer, 2001). Bu çalışmada pupa protein miktarının diğer sekonder maddelere göre tanik asit ve *p*-

Kumarik asit içeren diyet gruplarında düşük olması tanik asit ve *p*-Kumarik asidin daha güçlü olumsuz etkiye sahip olmasından dolayı olabilir.

Pupa lipit miktarı, M diyeti dışında diğer diyet gruplarında kontrol grubuna göre farklıdır. Tanik asit içeren diyet gruplarında pupa lipit miktarı kontrol grubuna göre azalmıştır. Simpson ve Raubenheimer (2001) *L. migratoria* ile yaptıkları çalışmada tanik asidin diyetlerdeki karbonhidratların vücutta yağlara dönüşmesini engellemediğini tespit etmiştir. Yanar (2007) *H. cunea* ile yaptığı çalışmada elde edilen bu sonuçlarla benzer şekilde diyetteki tanik asidin karbonhidratların yağa dönüşmesini etkilediğini göstermiştir. Ayrıca diyete ilave edilen artan konsantrasyonda *p*-Kumarik asit de pupa lipit miktarını düşürmektedir. M diyetiyle beslenen larvaların pupa lipit miktarının kontrol grubuna göre farklı olmaması dikkat çekicidir. Oysaki C diyetiyle beslenen larvalarda pupa lipit miktarı azalırken, F diyetiyle beslenenlerde pupa lipit miktarı artmıştır. İki sekonder maddenin bir arada bulunduğu M diyetiyle beslenen larvalarda farklılık olmaması sinerjistik etkinin farkını ortaya koymaktadır. Bunun yanı sıra, 3 sekonder maddenin bir arada bulunduğu R diyetiyle beslenen larvalarda ise pupa lipit miktarının azalması ve M diyetiyle bulunan sonuçlardan farklı olması üçlü sinerjistik etkinin nasıl değiştiğini gösterebilir. Pupa lipit miktarının kontrol grubuna göre en fazla olduğu diyetler ise gallik asit içeren diyetlerde bulunmuştur. Bu sonuç, gallik asidin etkisini yüksek konsantrasyonlarda gösterebildiği anlamına gelebilir.

Kontrol grubundan farklı olarak en uzun gelişme süreleri M ve R diyetleriyle beslenen larvalardan elde edilmiştir. Simpson ve Raubenheimer (2001) *L. migratoria* ile yaptıkları çalışmada diyetlere tanik asit ekleyerek beslenen larvalarda larva evresinin uzadığını bulmuşlardır. Gelişme süresinin uzamasının besin arama ve beslenme sırasında doğal düşmanlarla karşılaşma şansının artması (Bernays, 1997) ya da gelişme ve beslenmenin uzamasıyla birlikte avlanma/parazitizm riskinin artması (Moran ve Hamilton, 1980; Loader ve Damman, 1991; Benrey ve Denno, 1997) bu tür için de geçerlidir. Burada dikkat çekici sonuç M ve R diyetleriyle beslenen larvalarda da gelişme süresinin artmasıdır. Bu iki diyetle tanik asidin sinerjistik etkide gallik asit ve *p*-Kumarik aside göre daha güçlü bir etkiye sahip olduğu söylenebilir. Gelişme süreleri içerisinde diğer bir dikkat çekici sonuç ise kontrol diyeti ile beslenen larvaların gelişme sürelerinin diğer diyet gruplarıyla beslenen larvaların gelişme sürelerinden kısa olmasıdır. Bu da bize, çalışmamızda kullandığımız sekonder maddelerin hem tekli konsantrasyonlarda hem de sinerjistik etkide gelişme süresi üzerinde negatif etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada kullanılan farklı sekonder maddelere karşı türün tepkisi belirlenmiş, kullanılan sekonder maddelerin ilgili konsantrasyonlarına ve kombinasyonlarına larvaların dirençli olduğu ve pupa evresine ulaşabildikleri gözlenmiştir. Bitki fenoliklerinin herbivorlara karşı kimyasal savunmada önemli bir rol oynadığına inanılmasına rağmen, böcekler üzerinde onların özel fizyolojik etkileri değişebilir (Harborne, 1991; Appel, 1993). *M. neustria* larvalarının da fizyolojik olarak sekonder maddelere karşı dirençli olduğu

söylenebilir. Ayrıca bu çalışmada kullanılan sekonder maddelerin ikili ve üçlü kombinasyonlarıyla beslenen larvalardan elde edilen sonuçlar, sinerjistik etkinin farklı olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak polifag tür olan *M. neustria* larvalarının beslenme ve sekonder maddelere karşı geniş bir ekolojik hoşgörülüğe sahip olduğu söylenebilir. Sekonder maddelere karşı geniş bir ekolojik hoşgörülüğe sahip olmaları bu türlerle mücadelenin de zor olduğu anlamına gelmektedir. Yapılan daha önceki çalışmalar çoğunlukla tek başına bir sekonder etkisini ortaya koymaya yönelik çalışmalardır. Bu çalışmada bulduğumuz sekonder maddelerin birlikte etkilerinin önemli bir zararlı olan *M. neustria* üzerindeki etkilerinin farkı, bu türle mücadelede izlenecek yola katkıda bulunabilir. Gelecekte özellikle kültür bitkileri için üretilecek mücadele ajanlarının planlamasında bu çalışma farklı bir bakış açısı kazandırabilir.

### Teşekkür

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında desteklenmiştir.

### Kaynaklar

- Allen SE, Grimshaw HM, Parkinson JA, Quarmby C, Roberts JD. 1986. Chemical analysis. (Chapman SB). Methods in Plant Ecology. Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp. 411-466.
- Andrade RG, Dalvi LT, Silva JMC, Lopes GKB, Alonso A, Hermes-Lima M. 2005. The antioxidant effect of tannic acid on the in vitro copper-mediated formation of free radicals. Archive of Biochemistry and Biophysics, 437: 1-9. DOI: 10.1016/j.abb.2005.02.016
- Appel H. 1993. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. Journal of Chemical Ecology, 19: 1521-1552.
- Athar M, Khan WA, Mukhtar H. 1989. Effect of dietary tannic acid on epidermal, lung, and forestomach polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism and tumorigenicity in Sencar mice. Cancer Research, 49: 5784-5788.
- Benrey B, Denno RF. 1997. The slow-growth-high-mortality hypothesis: a test using the cabbage butterfly. Ecology, 78: 987-999.
- Berenbaum M. 1982. Coumarins and Caterpillars: a Case for Coevolution. Evolution, 37: 163-179.
- Bernays EA. 1997. Feeding by lepidopteran larvae is dangerous. Ecological Entomology, 22: 121-123.
- Cebrian J. 2004. Role of first-order consumers in ecosystem carbon flow. Ecology Letters, 7: 232-240. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2004.00574.x
- Chen SC, Chung KT. 2000. Mutagenicity and antimutagenicity of tannic acid and its related compounds. Food and Chemical Toxicology, 38: 1-5.
- Ferguson LR. 2001. Role of plant polyphenols in genomic stability. Mutation Research /Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 475: 89-111. DOI: 10.1016/S0027-5107(01)00073-2
- Galati G, Sabzevari O, Wilson JX, O'Brien PJ. 2002. Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of foodary flavonoids and other polyphenolics. Toxicology, 177: 91-104.
- Gali HU, Perchellet EM, Klish DS, Johnson JM, Perchellet JP. 1992. Hydrolyzable tannins: potent inhibitors of hydroperoxide production and tumor promotion in mouse skin treated with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in vivo. International Journal of Cancer, 51: 425-432. DOI: 10.1002/ijc.2910510315

- Hagerman AE, Dean RT, Davies MJ. 2003. Radical chemistry of epigallocatechin gallate and its relevance to protein damage. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 414: 115-120.
- Hahn DA. 2005. Larval nutrition affects lipid storage and growth, but not protein or carbohydrate storage in newly eclosed adults of the grasshopper *Schistocerca americana*. *Journal of Insect Physiology*, 51: 1210-1219.
- Harborne JB. 1991. *Flavonoid Pigments*. (Rosenthal GA, Berenbaum MB). *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*. Vol I. Academic Press, New York. pp. 389-429.
- Hemming JDC, Lindroth RL. 1995. Intraspecific variation in aspen phytochemistry-effects on performance of gypsy moths and forest tent caterpillars. *Oecologia*, 103: 79-88.
- Hemming JDC, Lindroth RL. 2000. Effects of phenolic glycosides and protein on gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) and forest tent caterpillar (Lepidoptera: Lasiocampidae) performance and detoxication activities. *Environmental Entomology*, 29: 1108-1115.
- Henriksson J, Haukioja E, Ossipov V, Ossipova S, Sillanpa AS, Kapari L, Pihlaja K. 2003. Effects of host shading on consumption and growth of the geometrid *Epirrita autumnata*: interactive roles of water, primary and secondary compounds. *Oikos*, 103: 3-16.
- Honek A. 1993. Intraspecific variation in body size and fecundity in insects-a general relationship. *Oikos*, 66: 483-492.
- Horikawa K, Mohri T, Tanaka Y, Tokiwa H. 1994. Moderate inhibition of mutagenicity and carcinogenicity of benzo[a]pyrene, 1,6-dinitropyrene and 3,9-dinitrofluoranthene by Chinese medicinal herbs. *Mutagenesis*, 9: 523-526.
- Houlahan JE, Findlay CS. 2004. Effect of invasive plant species on temperate wetland plant diversity. *Conservation Biology*, 18: 1132-1138. DOI: 10.1111/j.1523-1739.2004.00391.x
- Huntly N. 1991. Herbivores and the dynamics of communities and ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 22: 477-503. DOI: 10.1146/annurev.es.22.110191.002401
- Jiang H, Cai YL, Li K, Wang H, Wang L. 2005. Intensity and patterns of leaf area eaten of *Lithocarpus glaber* by insects, at Tiantong Forest Park, Zhejiang, China. *Journal of Ecology*, 24: 989-993.
- Larson RA. 1995. Antioxidant mechanisms of secondary natural products. (Ahmad S). *Oxidant-induced Stress and Antioxidant Defenses in Biology*. Chapman and Hall, New York. pp. 210-237.
- Lee KP, Raubenheimer D, Simpson SJ. 2004. The effects of nutritional imbalance on compensatory feeding for cellulose-mediated foodary dilution in a generalist caterpillar. *Physiological Entomology*, 29: 108-117.
- Lee KP, Behmer ST, Simpson SJ, Raubenheimer D. 2002. A geometric analysis of nutrient regulation in the generalist caterpillar *Spodoptera littoralis* (Boisduval). *Journal of Insect Physiology*, 48: 655-665.
- Loader C, Damman H. 1991. Nitrogen content of food plants and vulnerability of *Pieris rapae* to natural enemies. *Ecology*, 72: 1586-1590.
- Lopes GKB, Schulman HM, Hermes-Lima M. 1999. Polyphenol tannic acid inhibits hydroxyl radical formation from Fenton reaction by complexing ferrous ions. *Biochimica Biophysica Acta*, 1472: 142-152. DOI: 10.1016/S0304-4165(99)00117-8
- Lu Z, Nie G, Belton PS, Tang H, Zhao B. 2006. Structure-activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives. *Neurochemistry International*, 48: 263-274. DOI: 10.1016/j.neuint.2005.10.010
- Metadiewa D, Jaiswal AK, Cenas N, Dickancaite E, Segura-Auilar J. 1999. Quercetin may act as a cytotoxic prooxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 107-116.
- Monk CD. 1987. Sclerophylly in *Quercus virginiana* Mill. *Castanea*, 52: 256-261.
- Moran N, Hamilton WD. 1980. Low nutritive quality as defense against herbivores. *Journal of Theoretical Biology*, 86: 247-254.
- Mussatto SI, Dragone G, Roberto IC. 2007. Ferulic and *p*-coumaric acids extraction by alkaline hydrolysis of brewer's spent grain. *Industrial Crops and Products*, 25: 231-237.
- Nepka C, Sivridis E, Antonoglou O, Kortsaris A, Georgellis A, Taitzoglou I, Hytiroglou P, Papadimitrou C, Zintzaras I, Kouretas D. 1999. Chemopreventive activity of very low dose dietary tannic acid administration in hepatoma bearing C3H male mice. *Cancer Letters*, 141: 57-62. DOI: 10.1016/S0304-3835(99)00145-7
- Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC, Yamasaki H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*, 177: 67-80.
- Simpson SJ. 1983. Changes during the fifth instar of *Locusta migratoria* in the rate of crop emptying and their relationship to feeding and food utilization. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 33: 235-243. DOI: 10.1111/j.1570-7458.1983.tb03263.x
- Simpson SJ, Raubenheimer D. 2001. The geometric analysis of nutrient-allelochemical interactions: a case study using locusts. *Ecology*, 82: 422-439.
- Sugihara N, Arakawa T, Ohnishi M, Furuno K. 1999. Anti- and pro-oxidative effects of flavonoids on metal-induced lipid hydroperoxide-dependent lipid peroxidation in cultured hepatocytes loaded with  $\alpha$ -linolenic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 27: 1313-1323.
- Torres J, Rosazza JPN. 2001. Microbial transformations of *p*-coumaric acid by *Bacillus megaterium* and *Curvularia lunata*. *Journal of Natural Products*, 64: 1408-1414.
- War AR, Paulraj MG, Ahmad T, Buhroo AA, Hussain B, Ignacimuthu S, Sharma HC. 2012. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant Signaling and Behavior*, 7: 1306-1320. DOI: 10.4161/psb.21663
- Whittaker RH. 1970. The biochemical ecology of higher plants. (Sondheimer E, Simeone JB). *Chemical Ecology*. Academic Press, Boston. pp. 43-70.
- Wu LT, Chu CC, Chung JG, Chen CH, Hsu LS, Liu JK, Chen SC. 2004. Effects of tannic acid and its related compounds on food mutagens or hydrogen peroxide-induced DNA strands breaks in human lymphocytes. *Mutation Research*, 556: 75-82. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2004.07.004
- Xiong W, Yu D, Wang Q, Liu CH, Wang LG. 2008. A snail prefers native over exotic freshwater plants: implications for the enemy release hypotheses. *Freshwater Biology*, 53: 2256-2263. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2008.02058.x
- Yamamoto RT. 1969. Mass rearing of tobacco hornworm. II. Larval rearing and pupation. *Journal of Economic Entomology*, 62: 1427-1431. DOI: 10.1093/jee/62.6.1427
- Yanar O. 2007. Meşe güvesi *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae) ve Amerikan Beyaz Kelebeği *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctidae)'da besin seçimi ve gelişimine etki eden kimyasal faktörlerin geometrik analizlerle belirlenmesi. Doktora tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Üniversitesi. 84s