



Araştırma Makalesi/Research Article

**Domates Yaprak Güvesi *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) ‘nin Farklı Biyolojik Dönemlerinde Protein İçeriği ve Protein Fraksiyonlarındaki Değişimin İncelenmesi**

Akın Kuyulu<sup>1</sup> Hanife Genç<sup>1\*</sup> Fatih Kahrıman<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ÇOMÜ Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 17100/Çanakkale

<sup>2</sup>ÇOMÜ Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 17100/Çanakkale

\*Sorumlu Yazar: hgenc@comu.edu.tr

Geliş Tarihi: 14.06.2017

Kabul Tarihi: 27.07.2017

**Öz**

Domates yaprak güvesi, *Tuta absoluta* (Meyrick) son yıllarda ülkemizde domatesin en önemli zararlılarından birisi haline gelmiştir. Bu çalışmada, domates yaprak güvesinin larva, pupa, ergin gibi farklı biyolojik dönemlerdeki protein içeriği ve protein fraksiyonlarındaki değişim incelenmiştir. Örnekler, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Böcek Moleküler Biyolojisi Laboratuvarı’nda 4 yıldır devamlı olarak yetiştirilen laboratuvar kolonisinden elde edilmiştir. Farklı biyolojik dönemlerdeki örneklerin protein içerikleri Bradford yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Protein fraksiyonlarının ayrımı, %12’lik Sodyum Dodecyl Sulphate Poliakrilamid Jel (SDS-PAGE) ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, domates yaprak güvesinin farklı biyolojik dönemlerdeki protein içeriğinin önemli şekilde değiştiği belirlenmiştir. En yüksek protein miktarı %9.41 ile ergin erkek bireylerde belirlenirken, en düşük protein miktarı %5.19 ile II. dönem larvalarda tespit edilmiştir. SDS-PAGE analizi sonucunda elde edilen jel görüntüsünden, boyutlara ayrılan protein fraksiyonlarının moleküler ağırlıkları yaklaşık 49 kDa ile 265 kDa arasında değiştiği saptanmıştır. Tespit edilen bantlar arasında 69 kDa moleküler ağırlığa sahip bant tüm biyolojik dönemlerde belirlenmiştir. Çalışma sonuçları doğrultusunda, domates yaprak güvesinin farklı biyolojik dönemlerinin, farklı protein içeriklerine sahip olduğu tespit edilmiştir. **Anahtar Kelimeler:** *Tuta absoluta*, Domates yaprak güvesi, Bradford, SDS-PAGE, Protein

**Abstract**

**Investigation of Protein Content and Protein Fractions Changes in Different Biological Stages, Tomato Leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)**

Tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) has become one of the most important pests of tomato in our county in recent years. In this study, protein contents and protein fractions changes of tomato leafminer were determined during different biological stages such as larvae, pupae and adult. The samples were obtained from laboratory colony, continuously reared for 4 years in Insect Molecular Biology Laboratory, Faculty of Agriculture, Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale Province, Turkey. Protein contents of samples in different biological stages were determined using the Bradford method. To separate protein fractions, by 12% Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel (SDS-PAGE) analysis was performed. As a result of the study, it was determined that the content of protein in different biological stages of the tomato leafminer was significantly changed. The highest amount of protein was 9.41% in adult male individual, while the lowest amount of protein was 5.19% in II. instars. The gel image obtained from SDS-PAGE analysis, it was determined that the molecular weights of the protein fractions separated in size varied from about 49 kDa to 265 kDa. Among the bands detected, a band of 69 kDa molecular weight was determined at all biological stages. In results, it was determined that different biological stages of tomato leafminer had different protein contents.

**Keywords:** *Tuta absoluta*, Tomato leaf miner, Bradford, SDS-PAGE, Protein

**Giriş**

Domates yaprak güvesi, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) Güney Amerika orijinli önemli bir tarımsal zararlıdır (Souza ve ark.,1964). Zararlının ana konukçusu domates (*Solanum lycopersicum*) olmakla birlikte, biber (*Capsicum* spp.), patlıcan (*Solanum melongena*), patates (*Solanum tuberosum*) ve fasulye (*Phaseolus vulgaris*) gibi birçok kültür bitkisinde önemli zararlara sebep olmaktadır. Uygun şartlar sağlandığında yılda 12’ye kadar döl vermesi ve oligofag bir tür olması sebebiyle birçok ülkede hızlı bir şekilde yayılmıştır. Ülkemizde, ilk kez 2009 yılında Çanakkale (Batakovası) ve İzmir (Urla)’ da tespit edildikten sonra aynı yıl içerisinde domates üretim alanlarında önemli ürün kayıplarına neden olmuştur (Kılıç, 2010). Domates güvesinin larvaları, bitkinin çiçek, dal



ve meyvesinde zarar yapmasının yanında, genellikle domates yapraklarının iki epidermis tabakası arasındaki mezofil dokusunda beslenmektedir. Burada oluşturduğu geniş ve düzensiz galeriler ile bitkinin fotosentez miktarı azalarak, ürünün pazar değerini olumsuz yönde etkilemektedir (Pereyra ve Sánchez, 2006; Desneux ve ark., 2011; Krechemer ve ark., 2017). Zararlıının kontrolünde yaygın olarak kimyasal insektisit uygulamaları ile birlikte biyolojik mücadele ve feromon tuzak yöntemleri de kullanılmaktadır.

Zararlılarla daha etkin mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi için vücutlarındaki protein, yağ ve karbonhidrat gibi biyomoleküllerin değişimi hakkında incelemeler yapılmaktadır. Proteinler birçok canlıda olduğu gibi böceklerde de hayatsal faaliyetlerin ve fizyolojik olayların merkezinde yer almaktadır. Böceklerin çoğu iyi bir gelişim sağlayabilmek için en uygun protein seviyesine ihtiyaç duymaktadır. Konukçularındaki ve yapay diyetlerindeki nicel ve nitel değişimler, besinlerinin karbonhidrat, lipid ve proteine dönüşüm oranlarını etkilemektedir (Nash ve Chapman, 2014). Gelişme sırasındaki protein miktarındaki farklılıklar, gelişme oranlarını, toplam ağırlığını, ergin ömrünü, üreme kapasitesini ve çiftleşme sıklığını etkileyebilmektedir (Stearns, 1992; Simpson ve Raubenheimer, 1993; Nijhout, 2003a ve 2003b).

Farklı böcek türlerinde protein ve yağ gibi biyomoleküllerin değişimi birçok çalışmaya konu olmuştur. Nestel ve ark., (2004)'de Akdeniz meyve sineği (*Ceratitis capitata* Wiedemann) üzerinde yaptıkları çalışmada, Akdeniz meyve sineği larvalarını, düşük, orta ve yüksek seviyede sükröz içeren meridik diyet ile beslemişlerdir. Farklı kompozisyondaki meridik larva diyetlerinin, pupa ve ergin dönemlerindeki protein ve yağ değerlerine etkisini araştırmışlardır. Yapılan analizler sonucunda, düşük, orta ve yüksek sükrözla beslenen larvaların, pupa dönemlerinde sırasıyla 71,5±41,2 µg, 98,8±25,1 µg ve 143,2±47,5 µg protein içerdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca yüksek sükrözde beslenen larvaların ise pupa döneminde beslendikleri meridik diyet tiplerinden önemli derecede etkilendiğini tespit etmişlerdir. Yılmaz ve ark., (2009)'da doğal ve laboratuvar koşullarında beslenen zeytin sineği (*Bactrocera oleae* Gmelin) erginlerindeki protein konsantrasyonlarını belirlemişlerdir. Doğadan ve laboratuvardan elde edilen erginlerin toplam protein miktarları sırasıyla 209,22±0,005 mg/mL ve 209,83±0,002 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Yılmaz ve Genç, (2014) 'da zeytin fidan tırtılının (*Palpita unionalis* Hübner) bazı biyolojik dönemlerinin toplam protein miktarlarını belirlemişlerdir. Zeytin fidan tırtılının, VI. dönem larva (1,65±0,19 mg/mL), V. dönem larva (1,90±0,32 mg/mL), pupa (2,21±0,23 mg/mL), erkek (1,30±0,22 mg/mL) ve dişi (1,42±0,07 mg/mL) bireylerinin toplam protein içeriklerinde önemli farklar olduğunu tespit edilmiştir. Damos ve ark, (2015)'de yaptıkları bir çalışmada, şeftali güvesi (*Anarsia lineatella* Zeller) larvalarını genç sürgün yapraklarında, genç meyvelerde ve yapay diyet üzerinde yetiştirmişler ve pupa dönemine ulaştıklarında karbonhidrat, yağ, glikojen ve protein miktarları arasındaki farklılıkları araştırmışlardır. Şeftali güvesi pupaları üzerinde toplam protein miktarını, yapay diyet (66,4±4,8 µg/mg), genç şeftali meyvesinde (%6,7) ve genç sürgün yapraklarında (%7,7) olarak belirlemişlerdir.

Böcek türlerinde protein miktarı ile protein bant fraksiyonlarının değişimi konusunda Sing ve ark, (2012)'de balık yemi olarak kullanılan ve protein kaynağı bakımından önemli olan *Chrysomya megacephala* Fabricius 'nın hayvan yemi olarak kullanım potansiyelini araştırmak amacıyla Lowry, Biuret ve Bradford metodları kullanmışlardır. Bu metodlar arasında en hassas olarak 8 µg/ml'e kadar protein konsantrasyonlarını ayırabilen en etkili yöntemin Bradford metodu olduğunu tespit etmişlerdir. Farklı PBS solüsyonlarında ve %1 lik SDS varlığında veya yokluğunda, santrifüj sonrası boya veya santrifüj öncesi boya kullanımı gibi farklı teknikler test edilmiştir. *Chrysomya megacephala* özütlerine SDS-PAGE analizi sonucunda, 17 kDa ve 83 kDa arasında değişen küçük ve orta boyutlarında bantlar elde etmişlerdir.

Böceklerin konukçu bitki ya da yapay diyetler üzerinde beslenmeleri sonrasında toplam protein içeriklerinin belirlenmesi konusunda yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olduğu görülmüştür. Bununla birlikte böceklerin farklı biyolojik dönemlerinin protein fraksiyonlarının belirlenmesi konusunda ise yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır.

Çalışmanın amacı, laboratuvarda doğal konukçusu üzerinde beslenen domates yaprak güvesinin farklı biyolojik dönemlerindeki protein içeriği ve protein fraksiyonlarındaki değişimin incelenmesidir.



## **Materyal ve Yöntem**

### **Laboratuvar Kolonisinin Oluşturulması**

Çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü ve Tarla Bitkileri Bölümü Laboratuvarlarında yürütülmüştür. Domates bitkileri, ticari tohumlar kullanılarak içerisinde toprak bulunan saksılar içerisinde yetiştirilmiştir. Çalışmada kullanılan domates yaprak güvesi örnekleri, kontrollü koşullar altında,  $24\pm 2$  °C sıcaklık, % 60±5 orantılı nem ve 16:8 fotoperiyotta yetiştirilen domates yaprak güvesi laboratuvar kolonisinden 50 ergin bireyden oluşmaktadır. Bu bireyler koloniden ayrılarak ergin yetiştirme kafesi (30×17cm) içerisine aktarılmıştır. Erginlerin yumurta bırakması için ergin kafeslerine su içinde taze domates dalları ve erginlerin beslenmesi için ise pamuğa emdirilmiş %10 şeker çözeltisi konulmuştur. Kafesteki yumurta bırakılan domates yaprakları alınarak uçları nemli pamuk ile sarılmış ve sonra yumurtanın açılması ve larva gelişimi için Tupperware® kap (30×18×7cm) içerisine koyulmuştur. Kap içinde gelişen pupalar, ergin çıkışı için ergin yetiştirme kafesi (30×17cm) içerisine transfer edilerek deney için laboratuvar kolonisi oluşturulmuştur.

### **Örneklerin Hazırlanması**

Bradford metodu (Bradford, 1976) 'na göre protein analizinin gerçekleştirilmesi için domates yaprağı ve farklı biyolojik dönemlere ait domates yaprak güvesi örnekleri hazırlanmıştır. Saksılar içerisinde yetiştirilen taze domates yaprakları alınarak porselen havan içerisinde sıvı azot yardımıyla iyice ezilmiştir. Ezilen yapraklardan 100 mg tartılarak eppendorf tüpler içerisine aktarılmıştır. Domates yaprak güvesi laboratuvar kolonisinden elde edilen I. , II. ve III. dönem larvalar, Genç (2016)'ya göre cinsiyetleri belirlenen pupalar ve erginlerden 10–35 mg arasında tartılarak eppendorf tüpler içerisine aktarılmıştır. Hazırlanan örnekler laboratuvar analizlerinde kullanıncaya kadar -20 °C' de saklanmıştır.

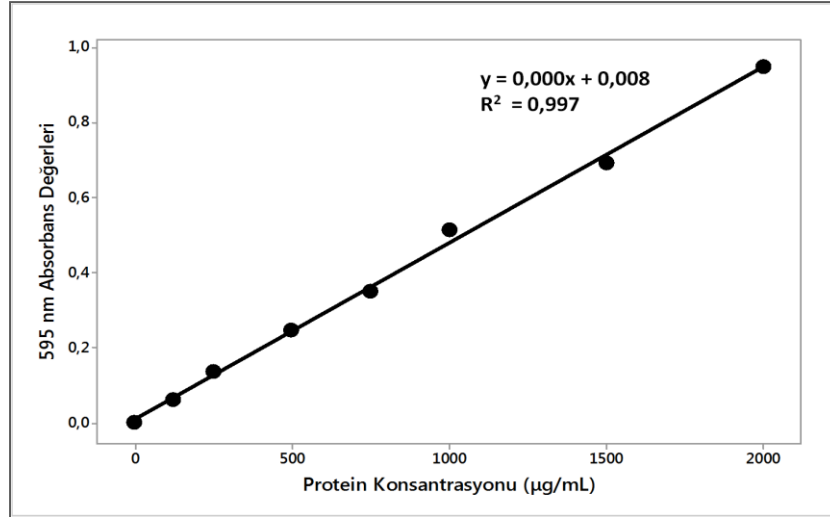
### **PBS Tamponun Hazırlanması ve Örneklerin Homojenizasyonu**

Hazırlanan örneklerin homojenizasyon işlemleri amacıyla 1X Sodyum Fosfat Tamponu (PBS) hazırlanmıştır. Bunun için çeşitli ticari firmalara ait NaCl, KCl,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  kimyasalları hassas terazide sırasıyla 8g, 2g, 1,150 g ve 2g tartılmış ve ardından cam şişe içerisine koyularak ağırlık/hacimce 1 litreye tamamlanmıştır. PBS tamponunun pH'ı 7,4 olarak belirlenmiş ve + 4 °C' de saklanmıştır. Hazırlıklar tamamlandıktan sonra eppendorf tüplerin içindeki örneklerin üzerine mikropipet yardımıyla + 4 °C 1,2 ml PBS tamponu ilave edilmiş ve uyumlu ezici çubuklar yardımıyla iyice ezilmiştir. Örnekler -20 °C ' de 30 dakika bekletildikten sonra vorteks uygulanmış ve +4 °C' de 5000 g de 10 dakika santrifüj edilmiştir.

### **Örneklerin Protein İçeriklerinin Belirlenmesi**

Konsantrasyonları bilinmeyen proteinlerin tahmininde en küçük kareler analizi ile kalibrasyon eğrisi oluşturmak için 2 mg/ml Bovine Serum Albumin (BSA) (Sigma-Aldrich) içeren protein standardı kullanılmış ve 8 farklı konsantrasyonda (0 µg/ml, 125 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml, 1000 µg/ml, 1500 µg/ml, 2000 µg/ml) protein standart serisi hazırlanmıştır. Bu serisinin hazırlanışı 1ml Standart Assay (Quick Start™ Bradford Protein Assay) yöntemine uygun hacimler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

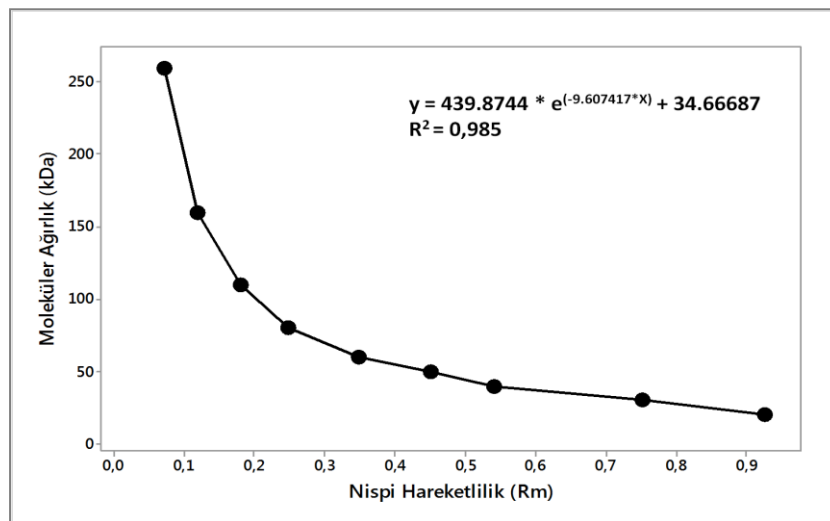
Hazırlanan BSA standardı ve homojenize edilen domates yaprakları ve domates güvesi örneklerinin supernatant (üst faz) kısmından 20 µl alınarak plastik küvetlere aktarılmış ve üzerlerine Comassie Brilliant Blue içeren 1 ml Bradford solüsyonu (Sigma-Aldrich) ilave edilmiştir. Comassie Brilliant Blue' nun proteinlere bağlanması için kısa bir şekilde vorteks uygulanmıştır. Örnekler 5 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra, spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda absorbans değerleri belirlenmiştir. BSA standardı vasıtasıyla kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve örneklerin konsantrasyonları belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. 595 nm dalga boyunda ölçülen BSA protein standart eğrisi.

### SDS-PAGE Yönteminin Uygulanması

SDS-PAGE analizleri Laemmli (1970) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Öncelikle %12 (w/v) poliakrilamid jel hazırlanmıştır. Farklı biyolojik dönemlerin homojenatlarından 250 µl alınmış ve yükleme tamponundan da 250 µl ilave edilerek eppendorf tüp içerisinde vorteks edilmiştir. Daha sonra 95 °C’ de 5 dk sıcak su banyosunda bekletilmiştir. Örnekler 3000g’ de 5 dk santrifüj edilmiştir. Moleküler ağırlıkları 20-260 kDa arasında değişen önceden boyanmamış SDS-PAGE protein standardı (Invitrogen) örneklerin major polipeptidlerin moleküler ağırlığının belirlenmesinde kullanılmıştır. Marker protein ve domates yaprak güvesi örneklerinden, Hamilton mikro şırınga yardımıyla 10 µl alınarak poliakrilamid jel üzerindeki kuyucuklara yüklenmiştir. 140 V’da yaklaşık olarak 12 saat boyunca elektroforez uygulanmıştır. Elektroforez tamamlandıktan sonra jel Comasseie Brilliant Blue (Sigma-Aldrich) içeren boyama solüsyonu içerisinde bir gece boyanmıştır. Daha sonra fazla boyanın uzaklaştırılması için, jel yıkama çözeltisine alınmış ve çalkalayıcıda bantlar görünür hale gelinceye kadar 50 rpm’de çalkalanmıştır. Farklı biyolojik dönemlerin moleküler ağırlıklarının (kDa) yanı sıra standart proteinlerin Nispi Hareketliliği (Rm), izleme boyası bromofenol mavisıyla boyanan protein bantları arasındaki koşma mesafesine bölünerek belirlenmiştir. Standart proteinlerin, molekül ağırlığı ve nispi hareketliliği arasındaki standart eğri, regresyon ile elde edilerek protein bantlarının moleküler ağırlıkları belirlenmiştir. Protein ağırlık standardı yardımıyla oluşturulan moleküler ağırlık ve nispi hareketlilik arasındaki regresyon grafiği Şekil 2’te sunulmuştur. Bu eğriden yararlanılarak örneklerde tespit edilen bantların moleküler ağırlıkları (kDa) hesaplanmıştır.



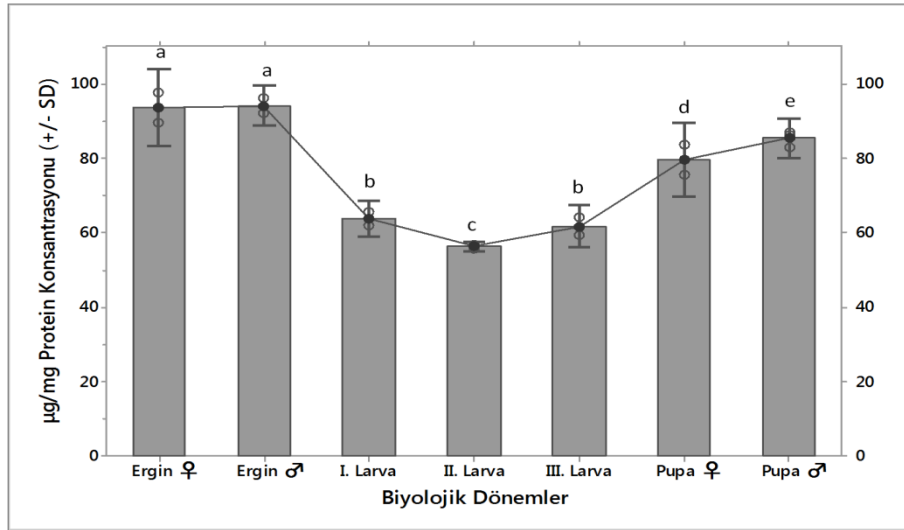
Şekil 2. Protein bantlarının rölatif mobilite ve moleküler ağırlıkları ile oluşturulan standart eğrisi.

### İstatistik Analizler

Protein miktarının belirlenmesinde kullanılan örnekler tamamen tesadüfi olarak seçilerek 3 tekrerrör olarak deneme yürütülmüştür. Domates yaprak güvesinin farklı biyolojik dönemlerden elde edilen protein konsantrasyonları  $\mu\text{g}/\text{mL}$  olarak elde edilen veriler  $\mu\text{g}/\text{mg}$  çevrilmiştir. Ardından veriler, Levene ve Anderson-Darling testi ile sırasıyla homojenlik ve normallik testine tabi tutulmuştur. Testler sonucunda, farklı biyolojik dönemlerin grup ortalamalarının karşılaştırılmasında Tek Yönlü ANOVA varyans analizi uygulanmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılık  $P \leq 0,05$  önem seviyesine göre LSD çoklu karşılaştırma testiyle belirlenmiştir. İstatistik analizler Minitab 17 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Farklı biyolojik dönemlerin Nispi Hareketliliği ve Moleküler ağırlığının tespitinde Gel Analyzer 2010 programın kullanılmıştır.

### Bulgular ve Tartışma

Domates yaprak güvesinin larva gelişme dönemlerinin, cinsiyetlerine göre ayrılmış pupa ve ergin dönemlerinin ve doğal konukçusu taze domates yaprağının protein miktarları belirlenmiştir. Kalibrasyon eğrisinin çizilmesi sonucunda elde edilen verilerde, domates yaprak güvesinin farklı biyolojik dönemlerindeki protein ortalamaları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ) (Şekil 3). Bununla birlikte, larva dönemleri ve cinsiyetler arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. Domates yaprak güvesinin, I. , II. ve III. dönem larvaların protein miktarlarının ortalamaları sırasıyla  $63,66 \pm 1,91 \mu\text{g}/\text{mg}$ ,  $56,19 \pm 0,50 \mu\text{g}/\text{mg}$  ve  $63,34 \pm 3,76 \mu\text{g}/\text{mg}$  olarak belirlenmiştir. Larva gelişmesi sırasında, I. ve III. dönem larvalara göre II. dönem larvalarda önemli farklılıklar belirlenmiştir ( $P < 0,05$ ). Dişi ve erkek pupaların protein miktarlarının ortalamaları sırasıyla  $79,60 \pm 4,06 \mu\text{g}/\text{mg}$  ve  $85,29 \pm 2,21 \mu\text{g}/\text{mg}$  olduğu ve pupa cinsiyetleri arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir ( $P < 0,05$ ). Dişi ve erkek erginlerin protein miktarlarının ortalamaları sırasıyla  $93,57 \pm 4,17 \mu\text{g}/\text{mg}$  ve  $94,10 \pm 2,12 \mu\text{g}/\text{mg}$  olduğu ve ergin cinsiyetleri arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır ( $P > 0,05$ ). Taze domates yaprağının protein miktarının ortalaması  $103,60 \pm 0,52 \mu\text{g}/\text{mg}$  olarak tespit edilmiştir.

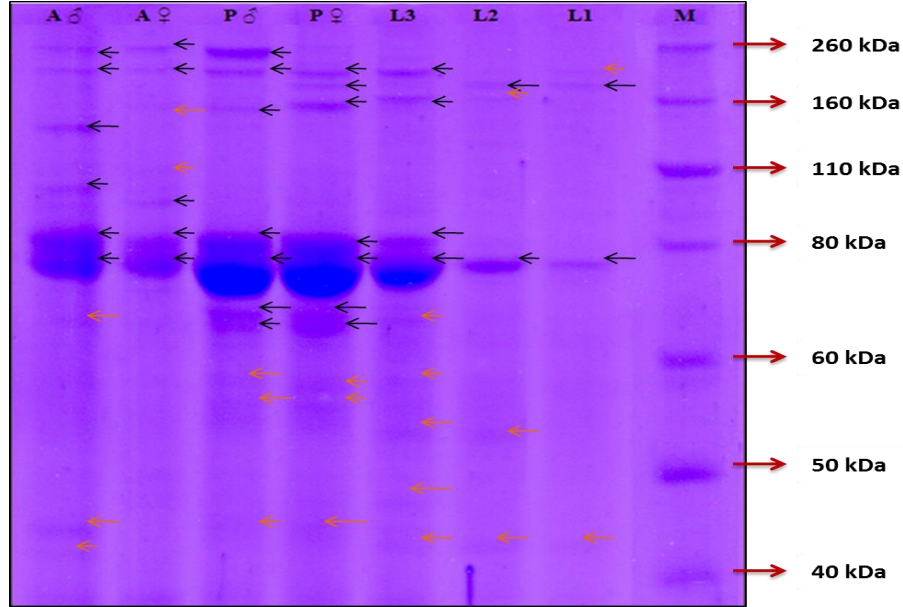


Şekil 3. Farklı biyolojik dönemlerdeki domates yaprak güvesinin protein içerikleri.

Böceklerde protein içeriği konusunda yapılan oldukça az çalışma bulunmaktadır. Yaptığımız literatür araştırması sonucunda, böceklerin farklı biyolojik dönemlerinin protein miktarlarının belirlenmesi üzerine bir çalışmaya rastlamadık. Ancak, farklı besin konukçularında veya farklı yapay diyetler üzerinde beslenen bazı böcekler üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Nestel ve ark, (2004) 'de yaptıkları bir çalışmada, Akdeniz meyve sineği, *Ceratitis capitata* Wiedemann 'nın düşük, orta ve yüksek miktarda sükröz içeren larva diyetlerinde beslenmesi sonucu, bu diyetlerin larvadaki protein miktarına etkisini araştırmışlardır. Düşük, orta ve yüksek sükrözle beslenen larvaların, pupa döneminde sırasıyla protein miktarlarının  $71,5 \pm 41,2 \mu\text{g}$ ,  $98,8 \pm 25,1 \mu\text{g}$  ve  $143,2 \pm 47,5 \mu\text{g}$  olarak tespit etmişlerdir. Çalışmamız sonucunda elde edilen protein miktarıyla benzer sonuçlar elde edilmiştir. Damos ve ark, (2015)'de, şeftali güvesi, *Anarsia lineatella* Zeller 'nin larvalarını yaprak, meyve ve yapay diyet üzerinde yetiştirerek, pupa dönemleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Protein konsantrasyonları bakımından

genç sürgünle beslenen larvalar pupa olduklarında protein içeriklerinin  $66,4 \pm 4,8$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada domates yaprak güvesi dişi pupaların protein içeriği  $79,60 \pm 4,06$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  ve erkek pupaların ise  $85,29 \pm 2,21$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  olarak tespit edildi. Böylece şeftali güvesi pupalarının protein miktarları ile bu çalışma sonuçlarını desteklemektedir.

Çalışmada, domates güvesinin direkt protein miktarlarının belirlenmesinin yanında, farklı biyolojik dönemlere ait proteinlerin SDS-PAGE analizi ile jel görüntüsü elde edilerek (Şekil 4.) aynı zamanda farklı biyolojik dönemlerinde bulunan protein desenlerinin moleküler ağırlıkları (kDa) ve nispi hareketlilikleri ( $R_m$ ) belirlenmiştir.



Şekil 4. Poliakrilamid jelde (%12) (SDS-PAGE) domates yaprak güvesinin farklı biyolojik dönemlerinin bant fraksiyonları (M: marker protein, A♂: ergin erkek, A♀: ergin dişi, P♂: erkek pupa, P♀: dişi pupa, L3: III. Dönem larva, L2: II. dönem larva, L1: I. dönem larva).

Şekil 4’de görülebileceği gibi, domates yaprak güvesinin farklı biyolojik dönemleri arasında çeşitli büyüklükte protein bant desenleri oluşmuştur. Siyah okla gösterilen bantlar dikkate alınan ve turuncu okla gösterilenler ise dikkate alınmayan protein bantlarını göstermektedir. Bu çalışmada densitometrik ölçümler yapılmamış olsa da bazı bantların daha yoğun olduğu açıkça görülmektedir. Yoğunluk farklarını dikkate alındığında özellikle 80 kDa ağırlığa sahip bant bölgesinde tespit edilen fraksiyonların, farklı biyolojik dönemlerde miktarlarının değiştiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte protein bantlarının yoğunluğuna dayanarak, bazı protein bantlarının tüm biyolojik dönemlerde var olan fraksiyonlar olduğu, diğerlerinin ise her dönemde sentezlenmeyen protein fraksiyonları olduğu görülmektedir.

Oluşturulan standart eğri yardımıyla, *T. absoluta* ‘nın farklı biyolojik dönemlerinde tespit edilen protein bantlarının moleküler ağırlıkları ve nispi hareketlilikleri Çizelge 1’de gösterilmiştir. Domates yaprak güvesinde belirlenen protein bantların moleküler ağırlıklarının yaklaşık 49 kDa ve 265 kDa arasında değiştiği görülmektedir. Yaklaşık 69 kDa moleküler ağırlığa sahip bir bant, tüm biyolojik dönemlerde tespit edilmiştir (Çizelge 1). Bu sonuçlar doğrultusunda, protein fraksiyonlarının biyolojik gelişme dönemlerine göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Domates yaprak güvesi örneklerinde, moleküler ağırlığı düşük olan zayıf ve ince bantlar elde edilirken, moleküler ağırlığı yüksek olan yüksek yoğunluklu bantlar gözlenmiştir.



Çizelge 1. Domates yaprak güvesinin farklı biyolojik dönemlerin moleküler ağırlıkları (kDa) ve nispi hareketlilikleri (Rm).

Bantlar	Moleküler Ağırlık (kDa)(Rm)	L1	L2	L3	P♀	P♂	A♀	A♂
1.	265 (0,067)	-	-	-	-	+	+	+
2.	222 (0,089)	-	-	+	+	+	+	+
3.	199 (0,103)	+	+	-	+	-	-	-
4.	174 (0,119)	-	-	+	+	+	-	-
5.	154 (0,136)	-	-	-	-	-	-	+
6.	100 (0,198)	-	-	-	-	-	+	+
7.	76 (0,245)	-	-	+	+	+	+	+
8.	69 (0,267)	+	+	+	+	+	+	+
9.	57 (0,313)	-	-	-	+	+	-	-
10.	49 (0,371)	-	-	-	+	+	-	-

### Sonuç ve Öneriler

Farklı biyolojik dönemlerdeki domates yaprak güvesinin protein içerikleri ve protein fraksiyonlarındaki değişiminin incelendiği bu çalışmada, elde edilen veriler kapsamında en yüksek protein miktarının erkek erginlerde (% 9,41), en düşük protein miktarının ise II. dönem larvalarda (%5,19) olduğu belirlenmiştir. Larvaların gelişme dönemleri arasında ve pupa cinsiyetleri arasındaki farklar önemli bulunmuştur. Bununla birlikte, domates yaprak güvesinin farklı biyolojik dönemlerinde protein içerikleri önemli şekilde değişmektedir. SDS-PAGE analizi sonucunda elde edilen protein fraksiyonlarının ağırlıkları yaklaşık 49 kDa ve 265 kDa arasında değiştiği tespit edilmiştir. Yaklaşık 69 kDa moleküler ağırlığa sahip bandın tüm biyolojik dönemlerde görüldüğü belirlenmiştir. Protein fraksiyonları da biyolojik dönemlere göre farklılık göstermektedir. Domates yaprak güvesinin farklı biyolojik dönemlerinden elde edilen bu protein fraksiyonlarındaki farklılıkların kapsamlı şekilde araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Diğer taraftan böceklerin farklı biyolojik dönemlerinde diğer depo molekülleri olan yağ ve karbonhidrat oranlarının da karşılaştırılması yararlı bulgular sağlayabilir.

### Kaynaklar

- Bajonero, J.G., Parra, J.R.P., 2017. Selection and suitability of an artificial diet for *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) based on physical and chemical characteristics. *Journal of Insect Science*. 17(1): 1–8.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72(1–2): 248–254.
- Damos, P.T., Papadopoulou, N.T., Rigas, A., Savopoulou-Soultani, M., 2011. Energetic loads and informational entropy during insect metamorphosis: Measuring structural variability and self-organization. *Journal of Theoretical Biology*. 286: 1–12.
- Desneux, N., Luna, M.G., Guillemaud, T., Urbaneja, A. 2011. The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: the new threat to tomato world production. *Journal of Pest Science*. 84(4): 403–408.
- Genc, H., 2016. The tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae): pupal key characters for sexing individuals. *Turkish Journal of Zoology*. 40(5): 801–805.
- Kılıç, T., 2010. First record of *Tuta absoluta* in Turkey. *Phytoparasitica*. 38(3): 243–244.
- Krechmer, F.S., Foerster, L.A., 2017. Development, Reproduction, Survival, and Demographic Patterns of *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae) on Different Commercial Tomato Cultivars. *Neotropical Entomology*. 1–7.
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680–685
- Nash, W. J., Chapman, T., 2014. Effect of dietary components on larval life history characteristics in the Medfly (*Ceratitis capitata*: Diptera, Tephritidae). *PloS One*. 9(1): e86029.
- Nestel, D., Nemny-Lavy, E., Chang, C.L., 2004. Lipid and protein loads in pupating larvae and emerging adults as affected by the composition of Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) meridic larval diets. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 56(3): 97–109.
- Nijhout, H.F., 2003a. The control of body size in insects. *Developmental Biology*. 261(1): 1–9.



- Nijhout, H.F., 2003b. Development and evolution of adaptive polyphenisms. *Evolution & Development*. 5(1):9–18.
- Pereyra, P.C., Sánchez, N.E., 2006. Effect of two solanaceous plants on developmental and population parameters of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology*. 35(5), 671–676.
- Simpson, S.J., Raubenheimer, D., 1993. A multi-level analysis of feeding behaviour: the geometry of nutritional decisions. *Phil. Trans. Roy. Soc. B*. 342:381–402.
- Sing, K.W., Sofian-Azirun, M., Tayyab, S., 2012. Protein analysis of *Chrysomya megacephala* maggot meal. *Animal Nutrition and Feed Technology*. 12(1): 35–46.
- Souza, J. C., Reis, P.R., de Padua Nacif, A., Gomes, J. M., Salgado, L.O., 1983. Controle da traça-do-tomateiro. Histórico, reconhecimento, biología, prejuízos e controle. Belo Horizonte, Brazil: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, 15.
- Stearns, S.C., 1992. The evolution of life histories. Oxford Univ. Press, London.
- Yılmaz, Ç., Genç, H., Akı, C., 2009. Doğadan ve laboratuvarından elde edilen zeytin sineği (*Bactrocera oleae*) erginlerindeki toplam protein konsantrasyonlarının belirlenmesi. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi, Van 15-18 Temmuz 2009. 44p.
- Yılmaz, Ç., Genç, H., 2014. Zeytin Fidan Tırtılı (*Palpita unionalis* Hubner) (Lepidoptera:Pyralidae) bireylerdeki toplam protein miktarının belirlenmesi. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, Antalya 3-5 Şubat 2014, 136 p.