



## Süne, *Eurygaster integriceps*'in Put. (Heteroptera: Scutelleridae) Diyapoz Öncesi ve Diyapoz Sonrası Erginlerinden Hazırlanan Fosfolipit Altsınıflarının Yağ Asidi Bileşiminindeki Değişiklikler

Mehmet BAŞHAN<sup>1</sup>, Mehmet Cemal TALAY<sup>2</sup>, Vedat KARACA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü DİYARBAKIR, <sup>2</sup>Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü DİYARBAKIR, <sup>3</sup>Zirai Araştırma Enstitüsü DİYARBAKIR

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-1228-9548>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-5864-1500>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-1144-047X>

✉: mehmetbashan@gmail.com

### ÖZET

Bu çalışmada, süne, *Eurygaster integriceps*'in diyapoz öncesi ergin ve diyapoz sonrası erginlerinin fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilinositol (PI) ve fosfatidilserin (PS) gibi fosfolipit (PL) altsınıflarının yağ asidi kompozisyonundaki değişiklikler araştırılmıştır. Fosfolipit alt sınıflarının ayrılmasında İnce Tabaka Kromatografisi tekniği, yağ asitlerinin analizinde ise Gaz kromatografi cihazı kullanılmıştır. *Eurygaster integriceps*'in PL altsınıflarında gözlenen dominant yağ asitleri, doymuş yağ asitlerinden (SFA) palmitik asit (16:0), tekli doymamış yağ asitlerinden (MUFA) oleik asit (18:1n-9) ve çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) linoleik asit (18:2n-6) idi. Diyapoz öncesi ve diyapoz sonrası erginlerin PC, PE ve PS fraksiyonlarının yağ asidi içeriğindeki değişikliklerin benzer olduğu bulunmuştur. Diyapoz sonrası erginlerin bu fraksiyonlarında 16:0, 18:0 ve  $\Sigma$ SFA yüzdeleri diyapoz öncesi erginlere oranla daha düşük; ancak 16:1n-7,  $\Sigma$ MUFA, 18:2n-6 ve  $\Sigma$ PUFA ise daha yüksek olarak bulunmuştur. Sünenin diyapoz sonrası bireylerin PE ve PC fraksiyonlarındaki 18:1n-9 düzeyi, diyapoz öncesi bireylerden önemli derecede daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Diyapoz sonrası erginlerin tüm PL altsınıflarındaki doymamış yağ asitlerinin doymuş yağ asitlere oranı (UFA/SFA), diyapoz öncesi erginlerden daha yüksek bulunmuştur.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 06.02.2020

Kabul Tarihi : 09.04.2020

#### Anahtar Kelimeler

Süne

Diyapoz öncesi ve sonrası Erginler  
Fosfolipit altsınıfları

## The Changes in Composition of Phospholipid Subclasses Fatty Acids Prepared from Prediapausing and Postdiapausing Adults of Sunn Pest, *Eurygaster integriceps* Put. (Heteroptera: Scutelleridae)

### ABSTRACT

In this study, the changes in fatty acid composition of phospholipid (PL) subclasses such as phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylinositol (PI), and phosphatidylserine (PS) of pre-diapausing and post-diapausing adults of sunn pest *Eurygaster integriceps* were investigated. Thin Layer Chromatography technique was used to separate phospholipid subclasses and Gas Chromatography equipment was used for the analysis of fatty acids. The dominant fatty acids observed in PL subclasses of *E. integriceps* were palmitic acid (16:0) among saturated fatty acids (SFAs), oleic acid (18:1n-9) among monounsaturated fatty acids (MUFAs) and linoleic acid (18:2n-6) among polyunsaturated fatty acids (PUFAs). It was found that the changes in fatty acid compositions from the PC, PE and PS fractions of prediapausing and postdiapausing adults were similar. In these fractions of postdiapausing adults, the percentages of 16:0, stearic acid (18:0) and  $\Sigma$ SFA were lower than in prediapausing adults; however, palmitoleic acid (16:1n-7,  $\Sigma$ MUFA, 18:2n-6 and  $\Sigma$ PUFA were higher. The level of oleic acid in PE and PC fractions of postdiapausing individuals of the *E. integriceps* was determined to be significantly higher than prediapausing individuals. The ratio of unsaturated fatty acids to

### Research Article

#### Article History

Received : 06.02.2020

Accepted : 09.04.2020

#### Keywords

Sunn pest

Prediapausing and postdiapausing  
Adults

Phospholipid subclasses

saturated fatty acids (UFA / SFA) in all PL subclasses of postdiapausing adults was found to be higher than those of prediapausing adults.

**To Cite :** Başhan M, Talay MC, Karaca V 2020. Süne, *Eurygaster integriceps*'in Put. (Heteroptera: Scutelleridae) Diyapoz Öncesi ve Diyapoz Sonrası Erginlerinden Hazırlanan Fosfolipit Alt sınıflarının Yağ Asidi Bileşiminindeki Değişiklikler. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 23 (5): 1314-1321. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.685815.

## GİRİŞ

“Soğuğa karşı tolerans” (İngilizce Rapid cold-hardening, RCH), böceklerin soğuk iklim koşullarına dayanıklılığını belirten bir süreçtir. Soğuğa tolerans gösterenlerin çoğu Diptera, Coleoptera, Lepidoptera ve Hymenoptera gibi yüksek organizasyonlu ordolara ait böceklerdir (Sinclair ve ark., 2003). Diyapozun tetiklenmesi ile soğuğa tolerans arasında net bir bağlantı vardır. Kimi böcekler yaşamlarının belli dönemlerinde özellikle kış aylarında mevsimsel olarak soğuğa tolerans gösterirler. Bu süreçte böceklerin vücudunda, donmayı önleyen, hücre ve dokuları koruyan gliserol, sorbitol ve inositol gibi düşük molekül ağırlıklı kriyoprotektantlar birikir (Salt, 1961; Lee, 2010). Şeker alkoller dışında böceklerin kan şekeri olan trehaloz (Thompson, 2003) ile bir amino asit olan prolinin kriyoprotektant olarak fonksiyon gördüğü belirlenmiştir (Kostal ve ark., 2011).

Hücre zarları, özellikle soğuğa duyarlı oldukları için, mevsimsel soğuğa tolerans mekanizmaları, membran modifikasyonlarını kapsamaktadır. Soğuğa karşı tolerans mekanizmalarından homeoviskoz adaptasyonu gereğince organizmalar, düşük sıcaklıklarda membran akışkanlıklarını uygun bir düzeyde tutmak için zar bileşimlerini çeşitli şekillerde ayarlamaktadır (Sinensky, 1974; Kostal, 2010). Hücre zarındaki doymamış yağ asitlerinin (UFA) oranı arttırılarak membran akışkanlığı arttırılabilir. Örneğin, *Eurosta solidaginis*'de, membran UFA'ların oranı sonbahar boyunca % 50 düzeyinde artmıştır (Bennett ve Lee, 1997). Kısa zincirli yağ asitlerinde erime noktası uzun zincirli yağ asitlerine oranla daha düşük olduğu için, kimi böcek türlerinde 16 karbonlu yağ asitlerinin 18 karbonlulara oranı artmıştır (Michaud ve Denlinger, 2006; Tomcala ve ark., 2006). Ayrıca fosfolipitlerin (PL) kuyruk kısmındaki yağ asitlerinin pozisyonları da membran akışkanlığını etkilemektedir. *sn-2* pozisyonundaki yağ asidi, lipit tabakasına daha iyi gömüldüğü için, *sn-1*'deki yağ asidine oranla membran akışkanlığı üzerinde daha büyük bir etkiye sahiptir. Bundan dolayı *Drosophila melanogaster*'de PL alt sınıflarından fosfatidiletanolamin (PE) ile birlikte *sn-2* pozisyonundaki doymamış bir yağ asidi olan linoleik asit (18:2n-6) miktarı soğuğa uyum esnasında artmıştır (Overgaard ve ark., 2008). Et sineği *Sarcophaga crassipalpis*'in diyapozlu evresinde de PE'nin % 16 düzeyinde arttığı bildirilmiştir (Michaud ve Denlinger, 2006).

Ülkemizin her yerinde dağılım gösteren süne, salgınlar yapan, erken dönemde tahıllardaki özsuyu

emerek başağın oluşmasını önleyen önemli bir tahıl zararlısıdır. Kışlamış olan böceklerin bıraktığı yumurtalardan çıkan nimfler, beş dönem geçirdikten sonra yeni nesil erginleri oluştururlar. Buğdayda beslenen erginler kış mevsimini dağlarda geçirirler. Kışlak yerlerinde diyapoz halinde bulunurlar. Havaların ısınmasıyla kışlaktan inen süneler tahıllara zarar verirler.

Daha önce yapılan çalışmada, sünenin yumurta, nimf, yeni nesil ergin (YNE) ve diyapozlu gibi başlıca gelişim evrelerinin PL ve triaçilgliserol fraksiyonlarındaki yağ asidi analizi yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre yeni nesil erginlere oranla diyapozlu böceklerde doymuş yağ asitlerinden palmitik asit (16:0) ve tekli doymamışlardan oleik asit (18:1n-9) yüzdesi artmış, çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) 18:2n-6 düzeyinde ise önemli oranda azalma kaydedilmiştir (Bashan ve ark., 2002). Böceklerde hem değişik gelişim safhaları hem de diyapoz olayı sadece total PL yağ asidi içeriğini değil, PE, fosfatidilkolin (PC), fosfatidilinositol (PI) ve fosfatidilserin gibi PL alt sınıflarının da hem miktarını hem de yağ asidi bileşimini etkilemektedir (Furusawa ve ark., 1994; Hodkova ve ark., 1999; Kostal ve ark., 2003).

Bu çalışmada sünenin PL alt sınıflarına diyapozun etkisini belirlemek amacıyla diyapoz öncesi ergin (DÖE) ile diyapoz sonrası erginlerin (DSE), PE, PC, PI ve PS gibi PL alt sınıflarının yağ asidi bileşimi araştırılmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Örneklerin Toplanması

Süne örnekleri nisan 2017 ve temmuz 2017 tarihlerinde Diyarbakır'a bağlı Karacadağ'daki buğday tarlalarından toplanmıştır. Toplanan örnekler kloroform-metanol (2:1) karışımına konularak analiz edilinceye kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

### Lipit Ekstraksiyonu ve Fosfolipit Alt sınıflarının Ayrılması

Böcekler, yüksek devirli homojenizatör kullanılarak, kloroform-metanol (2:1 v/v) karışımında parçalanmıştır (Folch, 1957). Karışıma aşırı doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidasyonunu önlemek için bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), lipit fazının ayrılması için ise % 0.88'lik KCl çözeltisi eklenmiştir. Fosfolipit alt sınıflarının ayrılmasında ince tabaka kromatografi (TLC) tekniği kullanılmıştır. Plakalar

Silica gel 60G (Merck) kullanılarak hazırlanmıştır. Fosfolipit alt sınıflarının ayrılmasında Vaden ve arkadaşlarının (2005), yöntemi kullanılmıştır. Plakalar, içinde kloroform/etanol/su/trietilamin (30:35:7:35, v/v) karışımının bulunduğu yürütücü tank içerisine bırakılmış ve PL alt sınıflarının birbirinden ayrılması sağlanmıştır. Havada kurutulan plakalara PL alt sınıflarının görülmesi için 2'7' dikloroflorosein püskürtülmüştür.

### Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

Fosfolipit fraksiyonlara ait bantlar plakalardan kazandıktan sonra 4 ml metanol ile 4-5 damla sülfürik asit damlatılarak 2 saat süreyle geri soğutucu altında 85 °C'de ısıtılmıştır. Çözelti soğuduktan sonra, hekzan kullanılarak metil esterleri ekstrakte edilmiştir. Yağ asidi metil esterlerinin analizi için alev iyonlaştırıcı detektöre (FID) sahip gaz kromatografi cihazı kullanılmıştır.

### Gaz Kromatografi Koşulları

Yağ asidi metil esterlerinin analizi, Shimadzu GC 2010 Plus model Gaz Kromatografi cihazında, alev iyonizasyon dedektörü (FID) ve DB-23 (Bonded 50 % cyanopropyl) (J & W Scientific, Folsom, CA, USA) kapiller kolon (30m x 0.25mm iç çapı x 0.25µm film kalınlığı) kullanılarak yapılmıştır. Dedektör sıcaklığı: 250°C; enjektör sıcaklığı: 250°C; enjeksiyon: Split-model 1/20. Gaz akış hızları: Taşıyıcı gaz: 30 ml'lik kolon için helyum 0.5 ml/dk; hidrojen: 30 ml / dk; kuru hava: 400 ml/dk. Kolon (fırın) sıcaklığı: 170 °C da, bekleme süresi, 2 dakika; 210 °C'ye 2 °C/dakika, bekleme süresi 20 dakika; toplam analiz süresi: 42 dakika. Örnek, alete 1 mikrolitre enjekte edilmiştir.

Yağ asitlerinin teşhisinde, standart olarak yağ asitlerinin metil esterleri karışımı (Sigma-Aldrich Chemicals) kullanılmıştır. Yağ asitleri metil esterlerinin kromatogramları ve toplam yağ asitleri miktarları bilgisayarda GC Solution (Versiyon 2.4) bilgisayar programı ile elde edilmiştir. Analiz edilen örneklerin kromatogramındaki pikler, standarttaki tüm yağ asitlerinin metil esterlerinin alıkonma zamanları ile karşılaştırılarak teşhis ve tespit edilmişlerdir. Sonuçlar kalitatif değer olarak % yağ asidi üzerinden verilmiştir.

### Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Yağ asitleri yüzdelere karşılaştırılmasında SPSS bilgisayar programı kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen tüm veriler üç tekrarın ortalamasından elde edilmiştir. Yağ asidi metil esterlerinin gaz kromatografik analizlerinde, diyapoz öncesi ve sonrası döneme ait üçer numune ayrı ayrı enjekte edilerek aynı yağ asidine ait üç değer ortalaması alınmıştır. Her PL alt sınıfının yağ asidi yüzdelere karşılaştırılmasında *t* testi kullanılmıştır.

Ortalamalar arası farkı saptamak için Duncan'ın (1955) "Multiple Range" testi kullanılmıştır. Yapılan istatistikler sonucu, veriler P<0.05 düzeyinde olduğu zaman farkların önemli olduğu kabul edilmiştir.

### BULGULAR ve TARTIŞMA

Süne *E. integriceps*'in DÖE ve DSE gibi değişik gelişim evrelerinde PC, PE, PI ve PS gibi PL alt sınıflarının yağ asidi analizinde doymuş yağ asitlerinden (SFA) miristik asit (14:0), pentadekanoik asit (15:0), palmitik asit (16:0) ve stearik asit (18:0); tekli doymamış yağ asitlerinden (MUFA) palmitoleik asit (16:1n-7) ile oleik asit (18:1n-9); çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) 18:2n-6, α- linolenik asit (18:3n-3), araşidonik asit (AA, 20:4n-6) ve eikosapentaenoik asit (EPA, 20:5n-3) olmak üzere toplam on farklı yağ asidi belirlenmiştir. Doymuş yağ asitleri arasında 16:0 ve 18:0'ın, MUFA'lardan 18:1n-9'un, PUFA'lardan 18:2n-6'nın dominant olduğu görülmüştür (Çizelge 1). Bu verilerin diğer heteropter (Spike ve ark., 1991; Bashan ve ark., 2002; Bashan ve Cakmak, 2005) ve böceklerin çoğu için (Stanley-Samuelson ve ark., 1988) genel olduğu söylenebilir. Thompson (1973), 1970'li tarihlere kadar yapılan konu ile ilgili çalışmaları derlemiş ve böceklerin total lipit analizlerinde 18:3n-3'ün ötesinde yağ asidine yer vermemiştir. Stanley-Samuelson ve Dadd (1983), böcek dokularının lipitlerinde 20 karbonlu yağ asitlerinin olabileceğini ileri sürmüşlerdir. O tarihten sonra böceklerin testis, ovaryum ve yağ dokularının özellikle PL fraksiyonunda eikosatrienoik (20:3n-6), AA ve EPA gibi 20 karbonlu PUFA'lar tespit edilmiştir (Stanley-Samuelson ve ark., 1988). Eikosanoitlerin öncül maddeleri olan bu bileşenlerin sucül böceklerde (Hanson ve ark., 1985) ve karnivor türlerde (Stanley – Samuelson ve ark., 1988) daha fazla oranda oldukları bildirilmiştir. Araştırmada PL alt sınıflarında AA ve EPA gibi PUFA'lar oldukça az düzeyde tespit edilmiştir. Bunun nedeni, sünenin fitofaj bir böcek olması ve böceğin doğal besin kaynağında anılan bileşenlerin olmamasıdır.

### Süne, *E. integriceps*'in PC Yağ Asidi Yüzdelere DÖE ve DSE Evrelerindeki Değişimi

Süne, *E. integriceps*'in DÖE ve DSE gibi gelişim evrelerindeki PC yağ asidi analizi Çizelge 1'de verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi diyapoz öncesi erginlere oranla diyapoz sonrası (diyapoz geçirmiş) erginlerde SFA'lardan 16:0, 18:0 ve bu bileşenlerden dolayı ΣSFA'nın azaldığı, buna karşılık 16:1n-7 ve 18:1n-9 ve bunlara bağlı olarak ΣMUFA ile 18:2n-6, 18:3n-3 ve bu yağ asitleri nedeniyle ΣPUFA'nın arttığı saptanmıştır. Ayrıca bu bileşenlerden dolayı DSE'lerde, DÖE'lere göre UFA/SFA oranı 10.24; PUFA/SFA oranı ise 9.93 kat artmıştır. Diyapoz öncesi erginlerle karşılaştırıldığında, DSE'lerde SFA'lardan 16:0 oranı 6.90 kat, 18:0'ın da 9.88 kat azaldığı, buna

karşılık DÖE'lerde % 40.11 olan 18:2n-6'nın yaklaşık % 40 artarak % 55.94'e yükseldiği tespit edilmiştir (Çizelge 1). Homoptera ordosundan Gümüşi Yaprak Beyaz Sineği *Bemisia argentifolii* ile yapılan çalışmada PC fraksiyonunun 3. ve 4. evre nimflerinde 18:2n-6 % 40, ergin böceklerde ise % 58 olarak bulunmuştur (Buckner ve Hagen, 2003).

Fosfatidilkolin, birkaç doku dışında, böcekler dahil çoğu metazoanın baskın bir PL sınıfıdır. Birçok böcekte total PL'nin % 80-85'ini PE ve PC oluşturur (Fast, 1966; Slachta ve ark., 2002; Kostal ve ark., 2003). Böceklerden Diptera ve afitlerde PE'nin PC'den daha fazla olduğu ve total PL'lerin % 60-80'ini oluşturduğu görülmüştür. Coleopterlerde her iki sınıf genellikle eşit düzeyde bulunur ve PC/PE oranı bire yakındır. Lepidopter, orthopter ve hymenopterlerin çalışılan türlerinin çoğunluğunda ise PC yüzdesi PE'den yüksek bulunmuştur (Fast, 1971). Bir homopter olan *B. argentifolii* nimflerinde PC, PE'den yaklaşık iki kat fazla olup PC/PE oranı 1.97 olarak saptanmıştır (Buckner ve Hagen, 2003). Çalışmada PL altsınıflarının yüzde oranları tespit edilmemiş ancak yaptığımız TLC işleminde PC ve PE'ye ait bantların PI ve PS'ye oranla daha geniş olduklarını ve süne PC bantının PE'den biraz daha geniş olduğunu söyleyebiliriz. Böceklerde PL altsınıfları yüzdesi sabit değildir, çevre sıcaklığına bağlı olarak artmalar meydana gelebilmektedir. Düşük sıcaklıklarda PE miktarının ve dolayısıyla PE/PC oranının arttığı saptanmıştır (Los ve Murata, 2004; Michaud ve Denlinger, 2006; Colinet ve ark., 2016).

Fosfatidilkolinler; membranların başlıca bileşeni olup, *D. melanogaster*'de lipit damlacıklarının yüzeyinin yaklaşık % 25'ini oluşturmaktadırlar (Pol ve ark., 2014). Bu damlacıklar; triaçilgliseroller gibi nötral lipitlerin temel hücre içi yağ depoları olup (Suzuki ve ark., 2011), diyapozdaki böceklerin uzun süreli enerji depolamasında önemli bir rol oynarlar (Arrese ve Soulages, 2010). Soğuğa adaptasyona bağlı olarak PL altsınıflarında doymamış yağ asitlerinde artış saptanmıştır (Hazel, 1995; Cossins ve ark., 2002). Benzer bulgu çalışmada da elde edilmiştir. Sünenin PC alt sınıfında diyapoz sonrası erginlerde diyapoz öncesine göre UFA/SFA oranı 10.24; PUFA/SFA oranı ise 9.92 kat artmıştır. Süne diyapozlu böceklerin PC yağ asitlerinden doymamış yağ asitlerinden özellikle 18:2n-6'nın çok fazla olmasının nedeni bu bileşenin soğuk kış dönemlerinde hücre zarının bütünlüğünün korunmasına yönelik bir adaptasyon olabilir. Ayrıca elde ettiğimiz verilere dayanarak PC fraksiyonunun *sn-1* pozisyonunda 16:0'ın, *sn-2* pozisyonunda da 18:2n-6'nın olduğunu söyleyebiliriz.

### Süne, *E. integriceps*'in PE Yağ Asidi Yüzdelerinin DÖE ve DSE Evrelerindeki Değişimi

Böceğin diyapoz öncesi ve sonrası erginlerindeki PE yağ asidi değişimlerinin PC fraksiyonundaki

değişimlere oldukça benzer olduğu görülmektedir. Çizelge 1'de de görüldüğü gibi DÖE'lere oranla diyapoz sonrası böceklerde baskın SFA'lardan 16:0 ve 18:0 yüzdeleri önemli oranda azalırken MUFA'lardan 16:1n-7 ve PUFA'lardan 18:2n-6 artış göstermiştir. Diyapoz öncesi % 21.88 olan 16:0, diyapoz sonrası % 3.30'a; 18:0 ise % 18.50'den % 1.59'a düşmüştür. Buna karşılık diyapoz öncesi % 1.43 olan 16:1n-7, diyapoz sonrası % 8.60'a; 18:2n-6 ise % 32.50'den % 62.75'e artmıştır. Bu bileşenlere bağlı olarak, DÖE'lerle karşılaştırıldığında diyapoz sonrası sünelerde  $\Sigma$ SFA'nın yaklaşık 7 kat azaldığı;  $\Sigma$ PUFA'nın ise 1.8 kat, UFA/SFA oranının 11.5 kat, PUFA/SFA oranının 12.5 kat arttığı görülmektedir (Çizelge 1). Fosfatidilkolin fraksiyonundan farklı olarak diyapoz sonrası PE'de 18:1n-9 artmamış, bu bileşenin her iki dönemdeki yüzdeleri birbirlerine yakın bulunmuştur. Bir diğer göze çarpan bulgu da tüm evrelere bakıldığında PE'deki 18:0 oranının PC'dekinden daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Gümüşi Yaprak Beyaz Sineği *B. argentifolii* 4. ve 5. evre nimflerinin PE fraksiyonunda 18:2n-6 % 34, ergin böceklerde ise % 48 olarak tespit edilmiştir (Buckner ve Hagen, 2003). Süne ve Gümüşi Yaprak Beyaz Sineği *B. argentifolii*'den elde edilen ortak bulgu, böceklerin nimf ve erginlerinin PC ve PE fraksiyonlarında dominant yağ asidi olarak 18:2n-6'nın olması, her iki böceğin PE fraksiyonunda baskın doymuş yağ asidinin 18:0 olmasıdır.

Fosfolipit altsınıflarının zarlardaki yerleşimi, elektrik yükleri ve komformasyonları farklılık gösterir. Örneğin, PC zarın dış kısmında PE ve PI, zarın stoplazmaya bakan tarafında bulunurlar. Fosfatidilkolin ve PE nötr; PS ve PI negatif yüklü PL'lerdir. Fosfatidiletanolamin ve PS konik, PC ve PI ise silindirik şekillidir. Fosfatidiletanolamin miktarının düşük sıcaklıkta arttığı belirlenmiştir (Michaud ve Denlinger, 2006; Colinet ve ark., 2016). Soğukta PE'nin artmasının nedeni, silindirik şekilli PC'ye oranla, konik şekilli PE'nin membranın lamel fazında daha az paketlenmesinden kaynaklanmaktadır (Gurr ve Harwood, 1991; Hazel, 1995). Böylece düşük sıcaklıklarda membranların jel fazına geçişini önlenmekte (Tomcala ve ark., 2006), sıcaklığın membran viskozitesinde oluşturduğu değişiklikler giderilmektedir (Hazel, 1995).

Daha önce yapılan çalışmalarda, soğuk ortamda PL altsınıflarının doymamış yağ asitlerinde artış görülmüştür (Hazel, 1995; Cossins ve ark., 2002). Deneysel olarak soğuk ortama maruz bırakılan *D. melanogaster*'de PE alt sınıfında 18:2n-6 yüzdesinde artış saptanmıştır (Overgaard ve ark., 2008). Çalışmada PC alt sınıfında olduğu gibi PE'de de toplam doymamış yağ asidi yüzdesinin diyapoz sonrasında arttığı, diyapoz öncesine oranla diyapoz sonrası sünelerde bireysel yağ asitlerinden 16:0, 18:0 gibi SFA'ların azaldığı, ancak MUFA'lardan 16:1n-7 ile

PUFA'lardan 18:2n-6'nın ise önemli oranda arttığı belirlenmiştir. Sünenin PE alt sınıfının yağ asiti profilinde oluşan bu değişikliğin diyapozdan kaynaklandığını ve böceğin soğuk kış şartlarında membran bütünlüğünü korumak ve düşük sıcaklığa tepki için geliştirdiği homeoviskoz adaptasyon süreçlerinden biri olduğunu söyleyebiliriz.

### Süne, *E. integriceps*'in PI Yağ Asidi Yüzdelerinin DÖE ve DSE Evrelerindeki Değişimi

Böceğin diyapoz öncesi ve sonrasında PI yağ asiti değişimlerine bakıldığında doymuş yağ asitlerinden 16:0 ve 18:0'ın ve dolayısıyla  $\Sigma$ SFA'nın DSE'lerde azaldığı ancak bu azalmanın PC ve PE kadar çok yüksek oranda olmadığı görülmüştür. Bir diğer önemli bulgu da diyapoz öncesi evrede % 20,91 olan 18:1n-9'un diyapoz sonrası böceklerde yaklaşık üç kat artarak % 59,31'e ulaşması ve diyapoz öncesi sünelerde % 45,60 olan 18:2n-6'nın diyapoz sonrası yarı yarıya azalarak % 22,74'e düşmesidir. Linoleik asit nedeniyle diyapoz öncesi erginlerde, diyapoz sonrası olanlara oranla  $\Sigma$ PUFA yüzdesi iki kat artış göstermiştir. Ancak 18:1n-9 düzeyi diyapoz sonrası üç kat arttığı için diyapoz öncesi bireylerde 3,63 olarak belirlenen UFA/SFA oranı diyapoz sonrası sünelerde artarak 6,10'a yükselmiştir (Çizelge 1).

Diğer hayvanlarda olduğu gibi böceklerde de PI, PC ve PE'ye oranla hücre zarlarında çok daha az miktarda bulunmaktadır. Meyve sineğinin tüm vücut ekstraktında PI % 4-5 olarak bulunmuştur (Colinet ve ark., 2016). Negatif yük taşıyan bu PL alt sınıfı, eikosanoidlerin öncül maddesi olan AA kaynağıdır. Laboratuvar ortamına alıştırma (acclimation) deneyleri; diğer PL alt sınıflarına oranla PI alt sınıfının çevresel sıcaklığa daha az bağlı olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, PI alt sınıfının; sıcaklık adaptasyonunda ve membran fonksiyonunda PE ve PC den farklı rollere sahip olduğunu göstermektedir (Käkelä ve ark. 2008). Verilerimiz bu bulguyu desteklemektedir. Örneğin sünenin DSE'lerinin PC, PE ve PS fraksiyonlarında ortak olarak 18:2n-6 önemli düzeyde artarken, aynı yağ asidi PI fraksiyonunda oldukça azalma göstermiştir (Çizelge 1). Fosfatidilinositol, daha çok ökaryotlarda endositoz ve eksositoz mekanizmalarıyla hücre sinyalizasyonunda (haberleşmesinde) önemli rol oynamaktadır (Gardocki ve ark. 2005).

### Süne, *E. integriceps*'in PS Yağ Asidi Yüzdelerinin DÖE ve DSE Evrelerindeki Değişimi

Doymuş yağ asitlerinden 16:0 ve 18:0'ın ve dolayısıyla  $\Sigma$ SFA'nın diyapoz sonrası erginlerde azaldığı, dominant MUFA'lardan 18:1n-9 yüzdesinin her iki evrede yakın olduğu; dominant çoklu doymamışlardan 18:2n-6'nın diyapoz sonrası erginlerde üç kat, bu yağ asidine bağlı olarak aynı dönemde  $\Sigma$ PUFA'nın 2,74 kat artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu verilerden dolayı diyapoz sonrası böceklerde  $\Sigma$ UFA yüzdesi ile

UFA/SFA ve PUFA/SFA oranının önemli oranda arttığı görülmüştür (Çizelge 1).

## SONUÇ

Süne, *E. integriceps*'in DÖE ve DSE gelişim evrelerinde PE, PC, PI ve PS gibi PL alt sınıflarının yağ asiti içeriğinde bazı ortak değişimler saptanmıştır. Dört alt sınıfta da SFA'lardan 16:0 ve 18:0'ın, MUFA'lardan 18:1n-9'un ve PUFA'lardan 18:2n-6'nın sünenin tüm gelişim evrelerinde dominant bileşenler olduğu görülmüştür. Diyapoz öncesi ve DSE'ler karşılaştırıldığında diyapoz sonrası dönemde major SFA'lardan 16:0 ve 18:0'ın azaldığı, PI dışında diğer alt sınıflarda ise dominant PUFA'lardan 18:2n-6'nın arttığı tespit edilmiştir. Artma ve azalma oranlarının farklı olduğu görülmüştür. Örneğin PC'de 16:0, 6,9 kat, PE'de 6,63 kat, PS'de ise 3,02 kat, PI'da ise sadece % 22,48 oranında azalmıştır. Diyapoz sonrası erginlerin PC'sinde 18:2n-6, % 39,46, PE'de % 92,95, PS'de % 200 oranında artış göstermiştir. Diğer alt sınıflardan farklı olarak PI'da 18:2n-6 DSE'lerde, diyapoz öncesindekilere oranla azalmıştır (Çizelge 1). Ancak bu alt sınıfta diğer doymamış yağ asitlerinden 18:1n-9'un diyapoz sonrası sünelerde aynı dönemde üç kat artması; tüm alt sınıflarda DÖE'lere oranla diyapoz geçirmiş böceklerde toplam doymamış yağ asitlerinin artmasına, doymuş yağ asitlerinin ise azalmasına neden olmuştur. Tüm bu veriler, sünedeki diyapozun PL alt sınıfı yağ asidi kompozisyonuna etki ettiğini ve diyapozun böcekte total doymamış yağ asitlerinde artmaya, doymuş yağ asitlerinde ise azalmaya neden olduğunu göstermektedir. Fosfolipit alt sınıflarından PC, PE ve PS'de doymamışlığı arttıran bileşenin çoklu doymamış yağ asitlerinden 18:2n-6, PI'da ise tekli doymamışlardan 18:1n-9 olduğu görülmüştür. Bu yağ asitlerine bağlı olarak dört PL alt sınıfta da diyapoz sonrası evrede  $\Sigma$ UFA yüzdesi ile UFA/SFA oranının arttığı saptanmıştır (Çizelge 1). Diyapoz geçirmiş sünelerde doymamış yağ asitleri yüzdelerinin artması, buna karşılık, doymuş olanların azalmasının nedeni, böceğin soğuk kış şartlarında membranın akıcılığını korumaya yönelik bir adaptasyondan dolayı olabilir.

## TEŞEKKÜR

Çalışmayı maddi kaynak sağlayarak destekleyen (Proje No: FEN. 18.002 ) Dicle üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (DÜBAP) Koordinatörlüğüne çok teşekkür ederiz.

## Çıkar çatışması beyanı

Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

## Yazar Katkı Oranları

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağladıklarını beyan ederler.

Çizelge 1. Süne *Eurygaster integriceps*'in fosfolipit altımsınıflarının yağ asidi yüzdelerinin diyapoz öncesi ve sonrası evrelerindeki değişimi

Yağ asidi	PC		PE		PI		PS	
	D.Ö.E. (ORT±S.H)*	D.S.E. (ORT±S.H)*	D.Ö.E. (ORT±S.H)*	D.S.E. (ORT±S.H)*	D.Ö.E. (ORT±S.H)*	D.S.E. (ORT±S.H)*	D.Ö.E. (ORT±S.H)*	D.S.E. (ORT±S.H)*
14:0	1.08±0.08a	0.29±0.02b	0.91±0.05a	0.26±0.02b	1.58±0.07a	0.26±0.02b	3.82±0.20a	0.72±0.05b
15:0	0.18±0.02a	0.08±0.01b	0.19±0.02a	0.80±0.04b	0.16±0.01a	0.02±0.02b	0.34±0.04a	0.09±0.02b
16:0	19.53±0.85a	2.83±0.12b	21.88±0.87a	3.30±0.17b	13.34±0.55a	10.34±0.43b	27.85±1.40a	9.21±0.52b
18:0	9.88±0.57a	1.00±0.06b	18.50±0.83a	1.59±0.10b	5.11±0.29a	3.23±0.15b	15.04±0.65a	6.55±0.32b
∑SFA	30.67±1.32a	4.20±0.22b	41.48±2.14a	5.95±0.42b	20.19±0.98a	13.85±0.62b	47.05±2.43a	16.57±0.083b
16:1n-7	6.30±0.30a	10.70±0.48b	1.43±0.12a	8.60±0.44b	2.91±0.18a	0.68±0.08b	1.05±0.05a	5.62±0.33b
18:1n-9	19.10±0.94a	26.83±1.23b	20.36±1.10a	21.29±1.11a	20.91±1.08a	59.31±1.86b	27.00±1.25a	28.01±1.39a
∑MUFA	25.40±1.22a	37.53±1.72b	21.79±1.04a	29.89±1.43b	23.82±1.20a	59.99±2.13b	28.05±1.32a	33.63±1.65b
18:2n-6	40.11±1.96a	55.94±2.48b	32.52±1.51a	62.75±2.38b	45.60±2.30a	22.74±1.92b	15.69±0.82a	47.32±2.14b
18:3n-3	0.65±0.06a	1.22±0.06b	1.73±0.12a	1.00±0.07b	1.97±0.22a	0.75±0.09b	0.16±0.01a	0.54±0.08b
AA	0.18±0.01a	0.08±0.02b	1.20±0.04a	0.12±0.02b	0.25±0.02a	0.20±0.04a	1.12±0.03a	0.19±0.04b
EPA	1.59±0.08a	0.35±0.04b	0.15±0.02a	0.17±0.03a	1.80±0.07a	0.91±0.08b	0.85±0.04a	0.78±0.12a
∑PUFA	42.53±2.20a	57.59±2.83b	35.60±1.52a	64.04±2.79b	49.62±2.56a	24.60±1.83b	17.82±0.82a	48.83±2.33b
∑UFA	67.93±2.53a	95.12±3.86b	57.39±2.68a	93.93±3.32b	73.44±2.64a	84.59±3.26b	45.87±2.32a	82.46±3.17b
∑n-3	2.24±0.15a	1.57±0.08b	1.88±0.13a	1.17±0.10a	3.77±0.22a	1.66±0.16b	1.01±0.06a	1.32±0.09b
∑n-6	40.29±2.12a	56.02±2.53b	33.72±1.52a	62.87±2.48b	45.85±2.16a	22.94±1.25b	16.81±0.72a	47.51±2.86b
UFA/SFA	2.21	22.64	1.38	15.78	3.63	6.10	0.97	4.97
PUFA/SFA	1.38	13.71	0.85	10.76	2.45	1.77	0.37	2.94
n-3/n-6	0.05	0.03	0.05	0.02	0.08	0.07	0.060	0.03

Her fosfolipit altımsınıflarının diyapoz öncesi ve sonrası erginlerinin yağ asidi yüzdesi kendi arasında değerlendirilmiştir.

\*Her veri 3 tekrarın ortalamasıdır. Her tekrarda 3 enjeksiyon yapılmıştır.

§ Her satırda aynı harflerle belirlenen veriler P>0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir.

S.H.: Standart hata, SFA: Doymuş Yağ Asitleri, MUFA: Tekli Doymamış Yağ Asitleri,

UFA: Doymamış Yağ Asitleri, PUFA: Aşırı Doymamış Yağ Asitleri.

D.Ö.E. :Diyapoz Öncesi Ergin

D.S.E. :Diyapoz Sonrası Ergin

## KAYNAKLAR

- Arrese EL, Soulages JL 2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annual Review of Entomology*, 55: 207–225.
- Bashan M, Akbas H, Yurdakoc K 2002. Phospholipid and triacylglycerol fatty acid composition of major life stages of sunn pest, *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutelleridae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 132: 375–380.
- Bashan M, Cakmak O 2005. Changes in composition of phospholipid and triacylglycerol fatty acids prepared from prediapausing and diapausing individuals of *Dolycoris baccarum* and *Piezodorus lituratus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 95: 575–579.
- Bennett VA, Lee RE 1997. Modeling seasonal changes in intracellular freeze-tolerance of fat body cells of the gall fly *Eurosta solidaginis* (Diptera, Tephritidae). *Journal of Experimental Biology*, 200: 185–192.
- Buckner JS, Hagen MM 2003. Triacylglycerol and Phospholipid Fatty Acids of the Silverleaf Whitefly: Composition and Biosynthesis. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 53: 66-79.
- Colinet H, Renault D, Javal M, Berková P, Šimek P, Košťál V 2016. Uncovering the benefits of fluctuating thermal regimes on cold tolerance of *Drosophila* flies by combined metabolomic and lipidomic approach. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1861: 1736–1745.
- Cossins AR, Murray PA, Gracey AY, Logue J, Polley S, Caddick M, Brooks S, Postle T, Maclean N 2002. The role of desaturases in cold-induced lipid restructuring. *Biochemical Society Transactions*, 30: 1082–1086.
- Duncan DB 1955. Multiple Range and Multiple F-Test. *Biometrics*, 11, 1-5.
- Fast PG 1966. A comparative study of phospholipids and fatty acids of some insects. *Lipids*, 1: 209–215.
- Fast PG, 1971. Insect lipids. *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids*, 11: 179-142.
- Folch J, Lees M, Sladane-Stanley GHA. 1957. Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal Biological Chemistry*, 226: 497-509.
- Furusawa T, Nishida M, Narutaki A 1994. Changes in fatty acid composition of phosphoglycerides during the diapause and embryonic development of the Japanese oak silkworm, *Antheraea yamamai*. *Journal of Sericultural Science of Japan*, 63: 57–63.
- Gardocki ME, Jani NJ, Lopes M 2005. Phosphatidylinositol biosynthesis: biochemistry and regulation, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1735: 89–100.
- Gurr MI, Harwood JL 1991. *Lipid Biochemistry*. Chapman & Hall, London. 387 p.
- Hanson BJ, Cummins KW, Cargill AS, Lowery RR 1985. Lipid content, fatty acid composition and the effect of diet on fats of aquatic insects. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 80B: 257–276.
- Hazel JR 1979. Influence of thermal acclimation on membrane lipid composition of rainbow trout liver. *American Journal of Physiology*, 236: 91–101.
- Hazel JR 1995. Thermal adaptation in biological membranes: is homeoviscous adaptation the explanation? *Annual Review of Physiology*, 57: 19–42.
- Hodkova M, Simek P, Ckova HZ, Novakova O 1999. Seasonal changes in the phospholipids composition in thoracic muscles of a heteropteran, *Pyrrhocoris apterus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 4: 367–376.
- Käkelä R, Mattila M, Hermansson M, Haimi P, Uphoff A, Paajanen V, Somerharju P, Vornanen M 2008. Seasonal acclimatization of brain lipidome in a eurythermal fish (*Carassius carassius*) is mainly determined by temperature, *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 294: R1716–R1728.
- Kostal V 2010. Cell structural modifications in insects at low temperatures. *Low Temperature Biology of Insects*. (ed. by D. L. Denlinger and R. E. Lee), Cambridge University Press, U.K. 116–140.
- Košťál V, Berkova P, Simek P, 2003. Remodelling of membrane phospholipids during transition to diapause and cold-acclimation in the larvae of *Chymomyza costata* (Drosophilidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 135: 407–419.
- Kostal V, Korbelova J, Rozsypal J, Zahradníčková H, Cimlová J, Tomčala A, Šimek P 2011. Long-term cold acclimation extends survival time at 0 °C and modifies the metabolomic profiles of the larvae of the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *PLoS ONE*, 6, e25025.
- Lee RE 2010. A primer on insect cold tolerance. *Low Temperature Biology of Insects* (ed. by D. L. Denlinger and R. E. Lee) Cambridge University Press, U.K. pp. 3–34.
- Los DA, Murata N 2004. Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes Biochim*, 1666: 142–157.
- Michaud MR, Denlinger DL 2006. Oleic acid is elevated in cell membranes during rapid cold-hardening and pupal diapause in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Journal of Insect Physiology*, 52: 1073–1082.
- Overgaard J, Tomcala A, Sørensen JG, Holmstrup M, Krogh PH, Simek P, Košťál V 2008. Effects of acclimation temperature on thermal tolerance and membrane phospholipid composition in the fruit fly

- Drosophila melanogaster*. Journal of Insect Physiology, 54: 619–629.
- Pol A, Gross S P, Parton RG 2014. Biogenesis of the multifunctional lipid droplet: Lipids, proteins, and sites. Journal of Cell Biology, 204: 635–646.
- Salt RW 1961. Principles of insect cold-hardiness. Annual Review of Entomology, 6: 55–74.
- Sinclair BJ, Addo-Bediako A, Chown SL 2003 Climatic variability and the evolution of insect freeze tolerance. Biological Reviews, 78: 181–195.
- Sinensky M 1974. Homeoviscous adaptation – homeostatic process that regulates viscosity of membrane lipids in *Escherichia coli*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 71: 522–525.
- Slachta M, Berkova P, Vambera J, Kostal V, 2002. Physiology of cold-acclimation in non-diapausing adults of *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera). European Journal of Entomology, 99: 181–187.
- Spike BP, Wright RJ, Danielson SD, Stanley DW 1991. The fatty acid compositions of phospholipids and triacylglycerols from two chinch bug species *Blissus leucopterus* and *B. iowensis* (Insecta: Hemiptera: Lygaeidae) are similar to the characteristic dipteran pattern. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 99B: 799–802.
- Stanley-Samuels DW, Jurenka RA, Cripps C, Blomquist GJ, de Renobales M 1988. Fatty acids in insects: composition, metabolism, and biological significance. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 9: 1–33.
- Stanley-Samuels DW, Dadd RH 1983. Long chain polyunsaturated fatty acids: Patterns of occurrence in insects. Biochemistry, 13: 549-558.
- Suzuki M, Shinohara Y, Ohsaki Y, Fujimoto T 2011. Lipid droplets: Size matters. Journal of Electron Microscopy, (Tokyo). 60: 101–116.
- Thompson SN 1973. A review and comparative characterization of the fatty acid compositions of seven insect orders. Comparative Biochemistry and Physiology, 45: 467–482.
- Thompson SN 2003. Trehalose – the insect ‘blood’ sugar. Advances in Insect Physiology, 31: 205–285.
- Tomcala A, Tollarova M, Overgaard J, Simek P, Kostal V 2006. Seasonal acquisition of chill tolerance and restructuring of membrane glycerophospholipids in an overwintering insect: triggering by low temperature, desiccation and diapause progression. Journal of Experimental Biology, 209: 4102–4114.
- Vaden DL, Gohil VM, Gu Z, Greenberg ML 2005. Separation of yeast phospholipids using one-dimensional thin-layer chromatography. Analytical Biochemistry, 338: 162-164.