

İpekböceği (*Bombycidae: Bombyx mori*)'nde Juvenil ve Ekdizon Hormonları Uygulaması Sonucu Olası Değişimler

Gamze TURGAY İZZETOĞLU *  Ferda ÖZKORKMAZ * Özlem ZEKA * Ayla ÖBER *

* Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı, İzmir - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): 2009/043-A

Özet

İpekböceğinin, *Bombyx mori*, tam metamorfoz göstermesi endokrin sistemin kontrolünde gerçekleşmektedir. Bu sistemin hormonları canlının değişik yaşam evrelerini yönlendirmektedir. Endokrin sisteme ait yapılardan corpora allata (CA) juvenil hormon, protorasik bez ise ekdizon hormonu salgılamaktadır. Çalışmada; bu iki hormonun farklı miktarlarının (1. doz: 0.45 ml, 2. doz: 0.90 ml) ipekböceğinin farklı evrelerindeki (4. larval evrenin 0 ve sonuncu günleri ile 5. larval evrenin 0, 3 ve sonuncu günleri) etkilerine bakılmıştır. Uygun kültür odası koşullarında yetiştirilen, dut yaprakları ile düzenli beslenen larvaların hemolenfleri alınmıştır. Bu hemolenf, deneyde oluşturulan 3 gruptan kontroller hariç diğer ikisine iki farklı doz halinde verilmiştir. Böcekler ergin hale gelinceye kadar larvaların ağırlık-boy, kozaların ağırlık-boy-çap ve pupaların ağırlıkları ölçülmüştür. Gruplar arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla ölçümlerden elde edilen değerler %5 hata payı (P) verilerek tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi uygulanmıştır (P<0.05). Bu teste göre; juvenil ve ekdizon hormonlarının farklı miktarlarının, farklı larval evrelerine uygulanması sonucunda bir takım farklılıklar saptanmıştır. En fazla farklılık koza ağırlık, çap ve boylarında bulunduğundan juvenil hormonun ipek bezinin yapısında ve dolayısıyla kozada, ekdizon hormonunun ise pupa ağırlığında etkili olduğu söylenebilir.

Anahtar sözcükler: *Bombyx mori*, Gelişim evreleri, Juvenil hormon, Ekdizon hormonu

Effects of Juvenile and Ecdysone Hormones Treatments in Silkworm (*Bombycidae: Bombyx mori*)

Summary

Silkworm, *Bombyx mori*, goes through complete metamorphosis under control of endocrine system by hormones which guide various life stages of silkworm. Corpora allata (CA) and prothoracic gland concerning the endocrine systems secrete juvenile and ecdysone hormones, respectively. In this study, effects of the two hormones at different amounts (1st dose: 0.45 ml, 2nd dose: 0.90 ml) and stages (0 and last days of 4th instar; 0, 3rd and last days of 5th instar) were investigated. Hemolymphs of larvae fed orderly with mulberry leaf in suitable culture room were removed. The treatment consisted of the control, juvenile and ecdysone hormones groups. The hemolymph was applied as two different doses to groups of juvenile and ecdysone hormones. Weight-length of larvae, weight-length-diameter of cocoon and weight of pupae were measured until adult stages. In order to determine differences among groups, the data were evaluated with one way analysis of variance (ANOVA) (P<0.05). The results show that treatments of different amounts of juvenile and ecdysone hormones to instars caused significant differences in cocoons (weight-length-diameter), which may explain that these hormones affect the structure of silk gland at the cocoon and the weights at pupae.

Keywords: *Bombyx mori*, Growth stages, Juvenile hormone, Ecdysone hormone

GİRİŞ

Evcil ipekböceği *Bombyx mori* eskiden günümüze birçok araştırmaya konu olmuştur. Holometabol bir lepidopter olan ipekböceği yumurta, larva, pupa ve ergin gibi birbirine göre çok farklılıklar gösteren gelişim evrelerini içermektedir ^{1,2}.

Böcekler yaşamlarının değişik evrelerinde büyümelerini durduran ya da hızlandıran hormonların denge tutulmasıyla normal bir gelişme göstermektedirler. Gelişme esnasında görülen metamorfoz olayı nörosekresyon hücrelerine bağlı olarak endokrin



İletişim (Correspondence)



+90 232 3884000/1791



gamze.turgay@ege.edu.tr

sistemin kontrolü altında değişik yollar izleyerek gerçekleşmektedir ³.

Böceklerin endokrin sistemlerinde nörosekresyon hücreleri, nörohemal organlar ve endokrin bezler bulunmaktadır. İpekböceğinde subözofagial ganglionun nörosekresyon hücreleri farklı yapıda birçok hormon salgılayarak, nörohemal organ olan corpora cardiaca (CC) da bu hücrelerin salgılarını depolayarak kalp ve diğer organların çalışmasını kontrol etmektedir

Çoğu böcekte olduğu gibi ipekböceğinde de protorasik bez ve corpora allata (CA) endokrin bezler olarak görev almaktadır. Protorasik bez hemolenfe ecdysone hormonu salarak larvaların deri değiştirme safhalarını ve pupal evreye geçmelerini yönlendirmektedir. Korpora allata ise, ekdizon hormonuna antagonist aktivite gösteren juvenil hormon kaynağını oluşturan bir çift bez yapısındadır ⁴. Böcek yaşamında düzenleyici bir role sahip olan juvenil hormonun bilinen iki fonksiyonu; birçok böceğin ergininde yağ dokusu tarafından vitellojenin sentezlenmesini uyarması ve holometabol böceklerin son larval evrelerinde protorasikotropik hormon (PTTH) salınımını engellemesidir. Son larval evrede PTTH'in salınımının engellenmesi ise hemolenften juvenil hormon tamamen kayboluncaya kadar deri değişiminin durması anlamına gelmektedir. Yani PTTH'in salınmasını, hemolenfte bulunan ve düzenleyici bir rol oynayan juvenil hormon engellemektedir. Juvenil hormonun varlığı larval evrelerin normal sürelerinin uzamasına neden olurken, yokluğunda gelişimde bir diğer basamağa geçilebilmektedir.

Juvenil hormon, ipekböceğinin larval evrelerinde deri değişiminin gecikmesine neden olup, korpus allatum protorasik bez ile birlikte çalışarak larval deri değişimini başlatan nörosekresyon materyalinin salınımını belirlemektedir. Korpora allata, pupal safhanın ortasından sonuna kadar aktif bir salgı görevi üstlenmektedir.

Juvenil hormonun *B. mori*'ye uygulanmasıyla son larval evre süresinin uzadığı saptanmıştır ⁵. Fenoksikarb, metopren ve tiroksin gibi juvenil hormon analoglarının da *B. mori* son larval evresine uygulanmaları sonucu larval periyodu, ipek bezini ve koza ağırlığını etkiledikleri ortaya çıkarılmıştır ^{6,7}. Juvenil hormonun deri değişimi sırasında ekdizonda meydana gelen yapısal değişimleri ve böcek gelişiminde larvadan pupaya geçişi engellediği *Manduca*'da da gösterilmiştir ⁸. Hemolenfte ekdizonda meydana gelen artış ile birlikte morfolojik, karakteristik ve davranışsal değişiklikler başlamakta ve metamorfoz ilerlemektedir ⁹. Yüksek

miktarda juvenil hormon sentezlendiği zaman diğer bir larva dönemine geçiş için larvaya ait kütikula sentezlenmektedir. Juvenil hormon yokluğunda pupa kütikulası oluşturulmadan doğrudan erginin kütikulası da oluşturulabilmektedir ¹⁰. Larvadan pupaya, pupadan ergine geçişte meydana gelen deri değiştirme ise juvenil hormon miktarının düşmesi ve son larval evreye girişle başlamaktadır ¹¹. Mizoguchi ve Kataoka *B. mori* larvalarında protorasik bezini incelemişler ¹², juvenil hormon veya analoglarının uygulanmasının son larval evreden pupal safhaya geçişi engellediğini ve 5. larval evrenin 0. gününde ilk 24 saat içinde yeterli miktarda ekdizon salgılanmadığını ortaya koymuşlardır. Miranda ve ark. *B. mori* larvalarına bir juvenil hormon analogu olan metoprenin ipek üretimine etkisini araştırmışlardır ¹³.

Bu çalışmanın amacı; holometabol gelişim gösteren ipekböceklerinde korpora allatadan salınan juvenil hormon ve protorasik bezden salgılanan ekdizon hormonunun farklı miktarlarının, farklı larval evrelerine uygulanmaları halinde metamorfozdaki değişim olayına etkilerini ayrıca böceğin dış morfolojisinde ve fizyolojik özelliklerinde bir farklılık oluşup oluşmayacağını belirlemektir.

MATERYAL ve METOT

İpekböceğinin Yetiştirilmesi

Kültür odasının kireç badanası ve %3'lük formaldehit ile sterilizasyonu yapılmıştır. İpekböceğinin normal gelişmesi ve besleme için gerekli optimum 25±1°C sıcaklık, yaklaşık %70 nem, hava sirkülasyonu gibi kültür odası koşulları sağlanmış ¹⁴⁻¹⁶, kullanılacak malzemeler sterilize edilmiştir.

Çalışma materyalini oluşturan evcil ipekböceği *Bombyx mori* hibrid yumurtaları Bursa Koza Birlik'ten temin edilmiştir. Yumurtadan çıkan larvaların beslenmeleri için Ege Üniversitesi Kampüsü'ndeki dut ağaçlarının yaprakları kullanılmıştır ¹⁴⁻¹⁶.

Hormonların Eldesi

Hormon eldesi için inkübasyon sonrası beslenmiş larvaların bir kısmı 5. larval evrenin 0. gününde yani juvenil hormonun hemolenfte en yüksek seviyeye ulaştığı günde, bir kısmı da 5. larval evrenin 6. gününde yani ekdizon hormonunun hemolenfte en yüksek seviyeye ulaştığı günde dissekte edilerek hemolenfleri sulandırılmadan ependorf tüplere alınmıştır. Tüpler 5 dak'lık 60°C su banyosunda tutularak melanizasyon

oluşumu engellendikten sonra 5 dak. 18.000 g'de santifüj edilerek hemositlerin uzaklaştırılması sağlanmıştır¹⁷. Böylece hemolenfte yüksek seviyede bulunduğu tahmin edilen juvenil ve ekdizon hormonları doğal yolla elde edilmiş ve kullanılıncaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

Juvenil ve Ekdizon Hormonları Uygulamaları

Kontrol grubu ile juvenil ve ekdizon hormonları uygulama grupları olmak üzere üç grup oluşturulmuştur. Her uygulama grubu için 10 adet larva alınmıştır.

Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmamıştır. -20°C'de saklanan juvenil ve ekdizon hormonlarını içeren hemolenf, 4. larval evrenin 0 ve sonuncu günlerinde, 5. larval evrenin ise 0, 3 ve sonuncu günlerindeki larvalardan 10'ar tane alınarak 7 farklı grup oluşturulup, iki farklı doz halinde verilmiştir (1. doz: 0.45 ml, 2. doz: 0.90 ml) (Tablo 1). Dördüncü larval evrede larva boyutlarının çok küçük olmasından dolayı hemolenf besin olarak verilen yapraklara, 5. larval evrede ise fırça yardımıyla vücut yüzeyine sürülerek difüzyon yoluyla uygulanmıştır. Hormon uygulamasından sonra böcekler ergin oluncaya kadar kontrol grubu ile hormon uygulaması yapılmış larvaların, ağırlık-boy; kozaların, ağırlık-boy-çap; pupaların, ağırlıkları ölçülerek ortalamaları alınmıştır.

Tablo 1. Uygulama grupları

Table 1. Application groups

Hormon uygulanan 4. larval evreye ait günler	Hormon uygulanan 5. larval evreye ait günler
4. larval evre 0. gün	5. larval evre 0. gün
4. larval evre son gün	5. larval evre 3. gün
4. larval evre 0. + son gün	5. larval evre son gün
	5. larval evre 0.+ 3. + son gün

Gruplar arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla ölçümlerden elde edilen değerlere tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi uygulanmıştır. ANOVA testi gözleme ya da deneye dayanan bir çalışmada üç ya da daha fazla ortalamaların eşitliğini varyans analizi ile ortaya koymaktadır. Değerler %5 hata payı (P) verilerek analiz edilmiştir (P<0.05)¹⁸.

BULGULAR

ANOVA testine göre juvenil hormonun 0.45 ml uygulama gruplarında, 4. larval evrede; larva-ağırlık P<0.531, larva-boy P<0.757, koza-ağırlık P<0.00, koza-boy P<0.00, koza-çap P<0.00, pupa-ağırlık P<0.648, 5. larval evrede ise; larva-ağırlık P<0.665, larva-boy P<0.981, koza-ağırlık P<0.705, koza-boy P<0.00, koza-

çap P<0.00, pupa çap P<0.485 sonuçlarına ulaşılmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Juvenil hormonun 0.45 ml'lik uygulama dozu için P değerleri

Table 2. P values for application with 0.45 ml of juvenile hormone

Juvenil hormon (0.45 ml)	Larva-ağırlık	Larva-boy	Koza-ağırlık	Koza-boy	Koza-çap	Pupa-ağırlık
4. larval evre	0.531	0.757	0.000	0.000	0.000	0.648
5. larval evre	0.665	0.981	0.705	0.000	0.000	0.485

Aynı teste göre juvenil hormonun 0.90 ml uygulama gruplarında, 4. larval evrede; larva-ağırlık P<0.481, larva-boy P<0.102, koza-ağırlık P<0.772, koza-boy P<0.00, koza-çap P<0.702 pupa-ağırlık P<0.162, 5. larval evrede ise; larva-ağırlık P<0.232 larva-boy P<0.441 koza-ağırlık P<0.123 koza-boy P<0.00 koza-çap P<0.00 pupa-ağırlık P<0.294 değerleri elde edilmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Juvenil hormonun 0.90 ml'lik uygulama dozu için P değerleri

Table 3. P values for application with 0.90 ml of juvenile hormone

Juvenil hormon (0.90 ml)	Larva-ağırlık	Larva-boy	Koza-ağırlık	Koza-boy	Koza-çap	Pupa-ağırlık
4. larval evre	0.481	0.102	0.772	0.000	0.702	0.162
5. larval evre	0.232	0.441	0.123	0.000	0.000	0.294

ANOVA testine göre; P değerlerinin 0.05'ten küçük olması gruplar arasında farklar olduğunu belirtmektedir. Bu teste göre; 0.45 ml uygulanan juvenil hormonunun 4. larval evrede kozanın ağırlığına, boyuna ve çapına; 0.90 ml de ise sadece kozanın boyuna etki ettiği söylenebilir. Beşinci larval evrede ise 0.45 ml uygulama grubunda sadece kozanın boyuna, 0.90 ml'de ise kozanın boyu ve çapına etki ettiği görülmüştür.

ANOVA testine göre ekdizon hormonun 0.45 ml uygulama gruplarında, 4. larval evrede; larva-ağırlık P<0.020, larva-boy P<0.786, koza-ağırlık P<0.316, koza-boy P<0.200, koza-çap P<0.056, pupa-ağırlık P<0.307, 5. larval evrede ise; larva-ağırlık P<0.304, larva-boy P<0.408, koza-ağırlık P<0.891, koza-boy P<0.599, koza-çap P<0.685, pupa-ağırlık P<0.012 şeklinde değerlendirilmiştir (Tablo 4).

Aynı teste göre ekdizon hormonun 0.90 ml uygulama gruplarında, 4. larval evrede; larva-ağırlık P<0.302, larva-boy P<0.688, koza-ağırlık P<0.000, koza-boy P<0.000, koza-çap P<0.000, pupa-ağırlık P<0.366, 5. larval evrede ise; larva-ağırlık P<0.496, larva-boy P<0.540, koza-ağırlık P<0.222, koza-boy

$P < 0.958$, koza-çap $P < 0.267$, pupa-ağırlık $P < 0.000$ sonuçlarına ulaşılmıştır (Tablo 5). Bu teste göre; 0.45 ml uygulanan ekdizon hormonunun 4. larval evrede larvanın ağırlığını ve kozanın çapını; 0.90 ml'de ise kozanın ağırlık, boy ve çapını etkilediği, 5. larval evrede uygulanan her iki dozda da pupanın ağırlığının etkilendiği belirlenmiştir.

Tablo 4. Ekdizon hormonunun 0.45 ml'lik uygulama dozu için P değerleri

Table 4. P values for application with 0.45 ml of ecdysone hormone

Ekdizon hormonu (0.45 ml)	Larva-ağırlık	Larva-boy	Koza-ağırlık	Koza-boy	Koza-çap	Pupa-ağırlık
4. larval evre	0.020	0.786	0.316	0.200	0.056	0.307
5. larval evre	0.304	0.408	0.891	0.599	0.685	0.012

Tablo 5. Ekdizon hormonunun 0.90 ml'lik uygulama dozu için P değerleri

Table 5. P values for application with 0.90 ml of ecdysone hormone

Ekdizon hormonu (0.90 ml)	Larva-ağırlık	Larva-boy	Koza-ağırlık	Koza-boy	Koza-çap	Pupa-ağırlık
4. larval evre	0.302	0.688	0.000	0.000	0.000	0.366
5. larval evre	0.496	0.540	0.222	0.958	0.267	0.000

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada *Bombyx mori* larvaları üzerinde 4. larval evrenin 0. gününden başlayarak gruplar oluşturulmuş, juvenil hormon ve ekdizon hormonu uygulanan gruplar arasında gelişim farklılıklarını ortaya koymak amaçlanmıştır.

Juvenil hormon ve 20-hydroxyecdysone, böcek büyümesinde ve gelişiminde koordineli olarak çalışmaktadır. Yaşam döngüleri boyunca 4 farklı evre geçiren böceklerde gelişimsel değişim 20-hidroksi ekdizonun juvenil hormon ile etkileşimi sayesinde gerçekleşmektedir¹¹.

Yüksek dozdaki juvenil hormon analoglarının *B. mori* larvalarına uygulanması sonucu son larval evrenin süresinin uzadığı Akai ve ark. tarafından saptanmıştır⁵.

Lepidopter böceklerin bir kısmında juvenil hormon veya analoglarının uygulanmasının son larval evreden pupal safhaya geçişi ertelediği, bunun da juvenil hormonun protorasik bezin işleyişi üzerindeki önemli etkilerinden kaynaklandığı belirtilmektedir¹².

B. mori larvalarına juvenil hormon analoglarından metopren ve tiroksin uygulamaları hemolenfteki

ekdisteroid hormonunun etkisini kısa zamanda çok şiddetli bir şekilde azaltmaktadır. Normal koşullar altında *B. mori*'de son larval evrenin ortalarında korpore allatada juvenil hormon üretimi azalarak bitmektedir. Ancak metopren uygulaması sonucunda hemolenfte juvenil hormon seviyesi yüksek kalmaktadır. Bu nedenle böceğin vücudunda ekdisteroid hormonu normalden farklı bir etkiye sahip olmaktadır. Aynı araştırmacılar, tiroksin uygulamasının da normalde en yüksek seviyeye son larval evrenin yedinci gününde ulaşması gereken hemolenfteki ekdisteroid hormonunun ancak onuncu günde ulaşmasına sebep olduğunu göstermişlerdir. Bunun sonucu olarak da sekiz gün süren son larval evrenin on bir güne uzadığını vurgulamışlardır⁶.

Mamatha ve ark.⁷ *B. mori* kontrol grubu larvalarında 1.59 ± 0.02 g koza ağırlıklarına ulaşılırken, son larval evrede juvenil hormon analoglarından fenoksikarb ve metopren uygulamalarının sonucu koza ağırlıklarında 2.96 ± 0.04 g şeklinde bir artış olduğunu işaret etmişlerdir.

Hemolenfteki ekdisteroid seviyesi yükselmeden önce, ipekböceği beyindeki nörosekresyon hücrelerinin sitoplazmalarında ince salgı granülleri yoğunluğunun, salgının salınımını takip eden günde ise hemolenfteki ekdisteroid seviyesinin yükseldiği tespit edilmiştir. Nörosekresyondaki yoğunluğun çok fazla olduğu dönemde protorasik bez uyarılmadığı için hemolenfteki ekdisteroid seviyesinin düşük kaldığı, bezin uyarılması halinde seviyenin yükseldiği görülmektedir³.

Yüksek miktarda juvenil hormon varlığında diğer bir larva dönemine geçiş için larvaya ait kütikula sentezlenmektedir. Bu larvalarda juvenil hormon yokluğunda ise pupa dönemi atlanarak doğrudan ergin kütikulası yapılmaktadır. Bu yüzden böceklerde PTH düzenlemesi ile deri değiştirme kontrol edilirken, juvenil hormon düzenlemesi ile olgunlaşmanın kontrol edildiği ifade edilmiştir¹⁰.

Shi-Hong ve Yien-Shing, *B. mori*'de in vitro koşullarda yapılan denemelerde juvenil hormon sentez miktarının, 4 ve 5. larval evrelerin baş hemolenfinde bulunan ekdisteroid miktarı tarafından düzenlendiğini, son larval evrenin ilk günlerinde ekdisteroid seviyesinin çok düştüğünü bildirmişlerdir⁴. Aynı araştırmacılara göre korpore allatadan juvenil hormonu üretmesi⁵ larval evrenin ortalarında sona ermektedir.

Juvenil hormon analoglarının *B. mori*'de büyüme

düzenleyici olarak görevleri ve ipek oluşumundaki rolleri araştırılmıştır. Bu kimyasal ürünler yeterli oranlarda uygulandığında son larval evrenin süresinin uzadığı görülmüştür. Miranda ve ark., deri değişiminin de juvenil hormon ve ekdizonun koordineli çalışması sonucu gerçekleştiğini, hormon verilmiş dut yapraklarıyla beslenen örneklerde 5. larval evrenin süresinin 8 günden 12 güne uzadığını bildirmişlerdir ¹³.

Pupal evreye geçişin gerçekleşebilmesi için son larval evrenin ortalarında juvenil hormon miktarı düşmek zorundadır. Juvenil hormon miktarının düşüşüne neden olan faktör korpora allatanın azalan aktivitesidir. Diğer bir deyişle korpora allatada gerçekleşen biyosentetik aktivite larvadan pupaya geçiş sürecinden önce azalmalıdır. İn vitro koşullarda 3 ve 4. larval evreler süresince korpora allatanın iniş çıkışlı aktivitesinin 5. larval evrede düşüş gösterdiği Shi-Hong ve Yien-Shing tarafından saptanmıştır ⁴.

Zhou ve Riddiford'a göre, juvenil hormon deri değişimi sırasında ekdizonda meydana gelen yapısal değişimleri durdurmakta ve böcek gelişmesinde larvadan pupaya geçişi engellemektedir ⁸.

Test edilen ipekböceklerinin genelinde, son larval evrenin beslenme periyodu boyunca düşük PTH miktarları Mizoguchi ve ark.⁹ tarafından gözlemlenmiştir. Araştırmacılar, pupa evresine geçmeden hemen önce PTH miktarında az miktarda bir artış olduğuna ve orta şiddette 2 pik meydana geldiğine de işaret etmektedir.

Deri değişimi juvenil hormon ve ekdizonun koordineli çalışmasıyla gerçekleşmektedir. Yapılan araştırmalarda ipekböceklerinde deri değiştirme PTH salgılanması ile başlamakta, juvenil hormon ve ekdizon hormonu etkisiyle kontrol edilmektedir ^{3,8,19,20}.

B. mori larvalarında endokrin mekanizması 5. larval evrenin erken safhalarında protorasik bez tarafından düzenlenmektedir. Mizoguchi ve Kataoka protorasik bezi incelemişler ve ekdizon hormonunun 5. larval evrenin 0. gününde ilk 24 saat yeterli miktarda salgılanmadığını ortaya koymuşlardır ¹². Fakat sonraki iki gün boyunca salgılama işleminin başladığını ve giderek arttığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada protorasik bezin larval evrelerin 0. günde korpora allata ile birlikte çalışmakta olduğu, fakat en az 8 gün inaktif durumda kaldığı ifade edilmektedir. Dördüncü larval evrenin 3. gününde protorasik bezin larvadan uzaklaştırılmasının ardından 24 saat ekdizon salgılanmasının devam ettiği ancak sonraki 24 saat salgılan-

manın durduğu da işaret edilmektedir. Bu sonuçlar, 4. larval evredeki protorasik bezin negatif geri besleme mekanizması (feed back) sayesinde ekdisteroid tarafından inaktif duruma getirildiği ve böylece inaktif olan protorasik bezin kendiliğinden 5. larval evrenin başlarında tekrar ekdizon salgıladığını göstermektedir. Ancak aynı araştırmacılar tarafından bu salgının juvenil hormon tarafından engellendiği de belirtilmektedir.

Her larval evrenin ikinci yarısında hemolenfteki ekdisteroid miktarının en yüksek seviyeye ulaştığı, hemolenfteki juvenil hormon miktarı sıfıra düştüğü zaman ecdysis (dış derinin atılması) meydana geldiğine işaret edilmektedir. Hemolenfteki ekdisteroid seviyesinin; PTH, juvenil hormon ve ekdisteroidler tarafından düzenlendiği de ifade edilmektedir ¹⁹.

Yapılmış olan bu çalışmada; 0.45 ml ekdizon uygulanan gruplarda her iki larval evrede de bazı farklılıklar ortaya çıkmıştır. Örneğin: 4. larval evrede larva ağırlığına, 5. larval evrede ise pupa ağırlığına ekdizonun etki ettiği görülmüştür. 0.90 ml ekdizon uygulamalarında ise 4. ve 5. larval evreler birlikte incelendiğinde sadece pupa ağırlığında; 4. larval evre incelendiğinde kozanın ağırlık-boy-çap'ında farklılıklar, 5. larval evrede ise sadece pupa ağırlığında bir değişim gözlenmiştir (ANOVA testi ile).

Sonuç olarak; *B. mori* larvaları üzerinde yapılan bu çalışmada juvenil hormon uygulamaları sonucu larval evre süreleri ile son larval evreden pupa evresine geçiş süresinin uzaması, ekdizon hormonu uygulamaları sonucu ise bunun tam tersi olacağı düşünülmüştür. Fakat larval evrelerin gelişim sürelerinde bir değişiklik görülmemiştir. Ancak ANOVA testi sonucu elde edilen verilere göre alınan ölçümlerde ekdizon hormonunun farklı dozlarda pupanın ağırlığına etki ettiği, hatta 2. dozun kozayı da etkilediği söylenebilir. Yapılan deneylerde hormonun besine katılarak ya da difüzyon yoluyla verilmesi sonunda 5. larval evre süresinin 8 günden daha uzun sürmesi beklenirken larval evrenin normal seyrinde gittiği hiçbir değişiklik olmadığı görülmüştür. Ancak diğer bir araştırmada besine katılarak yapılan hormon uygulamasında 5. larval evrenin süresi 8 günden 12 güne yükseldiği bildirilmiştir ¹³. En fazla farklılık koza ağırlık, çap ve boylarında olduğundan juvenil hormonun kozada ve dolayısıyla ipek bezinin yapısında etkili olduğunu, ekdizon hormonunun ise pupa ağırlığında etkili olduğu noktasında pozitif sonuca işaret etmektedir. Bu sonuçlara göre farklılıklar ağırlık artışlarında gözle görülme de istatistik olarak farklı bulunmuştur.

KAYNAKLAR

1. **Demirsoy A:** Yaşamın Temel Kuralları: Entomoloji. Cilt II, Bölüm II, Meteksan, Ankara, 1990.
2. **Parlak O:** İpekböceği biyolojisi yardımcı ders kitabı. Ege Üniversitesi Basımevi, Fen Fakültesi Yayınları, No. 171, İzmir, 2001.
3. **Parlak O, Ünal G:** İpekböceği *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) beyin nörosekresyon hücrelerinde beşinci larval evre süresince hemolenf ekdisteroid değişmelerine bağlı farklılıkların araştırılması. *Tr J Zoology*, 2, 733-737, 1999.
4. **Shi-Hong G, Yien-Shing C:** Regulation of juvenile hormone biosynthesis by ecdysteroid levels during the early stages of the last two larval instars of *Bombyx mori*. *J Insect Physiol*, 42 (7): 625-632, 1996.
5. **Akai H, Kobayashi J, Takabayashi K, Chida I:** Changes of ecdysteroid levels of bombyx larvae after juvenile hormone and ecdysteroid treatments. *J Seric Sci Jpn*, 58 (5): 436-438, 1989.
6. **Ahmad I, Rahayu R, Permana AD, Astari S:** Alteration of ecdysteroid titre by thyroxine and juvenile hormone analogue (methoprene) in *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Biota*, 12 (2): 116-121, 2007.
7. **Mamatha DM, Cohly HPP, Raju AHH, Rajeswara Rao M:** Studies on the quantitative and qualitative characters of cocoons and silk from methoprene and fenoxycarb treated *Bombyx mori* (L) larvae. *Afr J Biotechnol*, 5 (15): 1422-1426, 2006.
8. **Zhou X, Riddiford LM:** Broad specifies pupal development and mediates the "status quo" action of juvenile hormone on the pupal-adult transformation in *Drosophila* and *Manduca*. *Development*, 129, 2259-2269, 2002.
9. **Mizoguchi A, Dedos SG, Fugo H, Kataoka H:** Basic pattern of fluctuation in hemolymph PTTH titers during larval-pupal and pupal-adult development of the silkworm, *Bombyx mori*. *Gen Comp Endocr*, 127, 181-189, 2002.
10. **Tunaz H:** Böceklerde soğuklamanın neden olduğu normalden fazla deri değiştirme mekanizması. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 7 (1): 86-91, 2004.
11. **Dubrovsky EB:** Hormonal cross talk in insect development. *Trends Endocrin Met*, 16 (1): 6-11, 2005.
12. **Mizoguchi A, Kataoka H:** An in vitro study on regulation of prothoracic gland activity in the early last-larval instar of the silkworm *Bombyx mori*. *J Insect Physiol*, 51 (8): 871-879, 2005.
13. **Miranda JE, De Bortoli SA, Takahashi R:** Development and silk production by silkworm larvae after topical application of methoprene. *Sci Agr*, 59 (3): 585-588, 2002.
14. **Shimizu M, Tajima Y:** Handbook of silkworm rearing, Agricultural Technique Manual 1, Fuji Publishing Co., LTD., Japan, 1972.
15. **Anonim:** İpekböcekçiliği ve dutçuluk seminer notları, İpekböcekçiliği Araştırma Enstitüsü Yayınları: 82, Bursa, 1985.
16. **Turgay İzzetoğlu G, Falakalı Mutaf B:** İpekböceği (*Bombycidae: Bombyx mori*)'nin farklı genomik içerikli yumurtalarında vitellin proteini özelliklerinin araştırılması. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1 (1): 23-29, 2008.
17. **Yamashita M, Iwabuchi K:** *Bombyx mori* prohemocyte division and differentiation in individual microcultures. *J Insect Physiol*, 47 (4-5): 325-331, 2001.
18. **Ergün G, Aktaş S:** ANOVA modellerinde kareler toplamı yöntemlerinin karşılaştırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15 (3): 481-484, 2009.
19. **Schmidt-Nielsen K:** Animal Physiology: Adaptations and Environment. 2nd ed., Chapter 12, Cambridge University Press, London, New York & Melbourne, 1979.
20. **Randall D, Burggren W, French K:** Eckert Animals Physiology: Mechanisms and Adaptations, 5th ed., Chapter 9, Freeman Publishing Co., 2002.