ALTI NESİL ALLETHRİN VE PİPERONİL BUTOKSİT İLE SELEKTE EDİLEN BUĞDAY BİTİNİN (CALANDRA GRANARİA (L) DİŞİSİ VE ERKEKLERİ ÜZERİNDE MÜŞAHEDELER

Cevdet SEVİNTUNA

GİRİŞ

Böceklerin insektisitlere karşı mukavim hale gelmeleri üzerinde son zamanlarda yapılan münakaşalarda, Brown'un (1958) iddiası, hakiki mânada mukavemetin böceklerin ilâçlara karşı hassaslıklarının 10 veya 20 defa azalmasıdır. Böceklerin insektisitlere karşı mukavemeti genetik bir hadisedir ve seleksiyon ile meydan gelir. İnsektisitlerin mutagenik olduğu veya böcek lerin öldürücü olmıyan dozlara arz edilmeleri ile mukavemetin meydana geldiği hususlarında delil yoktur. Buna ilâve olarak, Hoskins ve Gordon (bk Brown, 1958 tarafından ortaya atılan «Vigour tolerans» tabi ri vardır ki, bu da ekstra kuvvet dinçlik sebebi ile toleransın artmasını ifade eder. Hakikî mânada mukavemet, doz ölüm regression hatlarının meyillerinin değişmesi ve «Vigour tolerans» ta regression hatlarının meyilleri nin değilde yerlerinin değişmesi şeklinde tarif edilmişlerdir.

Orr (1958) yeni bir çalışmasında Lindane'nin Sitophilus Granarius (L) inMw ırkı üzerinde bir seri nesilleri için tesirlerini tetkik etmiştir. O, buğday bitlerini Lindane ile ilâçlanmış buğday'lar üzerinde yetiştirmiş ve ayni zamanda onları direk olarak pülverize şeklinde ilâçlamıştır. İlâçlanmış buğdaylar üzerinde yetiştirilenlerin inkişaflarında bir duraklama görülmüş fakat pülverize şeklinde ilâçlananlar ise denemelerin sonunda Lindane'ye karşı önemli derecede tolerans kazanmışlardır.

Bugüne kadar, Sitophilus granarius ile umumiyetle tehlikesiz addedilen ilâçlardan biri olan ve ambar zararlıları ile mücadelede kullanılan, Allethrin kullanılarak pek az çalışma yapılmıştır.

Takdim edilen bu yazıda müteakip nesiller için allethrin ve piperonyl butoxide karışımına arz edilen S. granarius GG ırkı (Musgrave ve Miller 1958) ile yapılan denemeler anlatılmıştır.

Bu çalışmanın ilk başlarında S. granarius GG ırkının dişi ve erkeğinin haricî karekterlerden faydalanarak teşhis etme metodu bulunmuştur. Bu metod neşredilmiştir. (Sevintuna ve Musgrave, 1960). Bu buluş ayrı cinsiyetlerin ilâçlara karşı gösterdikleri farklı etkiler üzerinde araştırma yapılmasını mümkün kılmıştır ki, buda diğer böcek türlerinde yapılmıştır. Meselâ (Bruce, 1950, Harrison, 1952, 1954, Pimentel, Schwardt ve Dewey, 1953, 1954, Busvine ve khan, 1955).

Bu çalışmada daha önce MW ırkı ile çalışan Orr (1958) un bulduğu neticelerden geniş çapta istifade edilmiştir.

MATERİYAL VE METHODLAR

İ) Umumi Bilgiler :

Böcekleri ilâçlara arz etmek için kullanılan bir çok teknik ve metodlar tetkik edildikten sonra (Busvine, 1957), basit bir metod olan depozit metodunun, süzme kâğıtları ile kullanılmasına karar verildi. Bu meyanda diğer bir çok tekniklerde denendi.

Denemeler sırasında 2 kontrol nesli kullanıldı. Bunlardan biri normal yetiştirme şartlarında tabii ölüm nispetini tespit için ötekide, kullanılan deneme tekniğinin ilâçtan gayri ölüme yardım edecek veya ölümü intaç edecek faktörlerini tespit etmek içindi.

ii) Kimyevî Materiyal:

Çalışmaların başından sonuna kadar 90 % lık teknik allethrin kullanıldı. Bu insektisit, Nutritional Biochemicals corporation Cleveland, ohio, U. S. A. dan temin edildi. Kullanılan piperonyl butoksitte teknik idi ve terkibi butyl carbitol 6 propyl ether 80 %, diğer maddeler 20 % patent No. su 2485, 681 idi ve Fairfield Chemical Division, Food Machinery and Chemical Corporation, Baltimore, nd. den temin edilmişti. Eritici olarak Canadian Laboratory Supplies Limited, Toranto, Ont, kaynama noktası 55, -55.8°C olan aseton kullanıldı. Piperonyl butoksit ve allethrin 10:1 nispetinde kullanıldı. Meselâ: 11 % solusyon, 10 ml piperonyl butoksite 1 ml. allethrine katılarak bu 11 ml. lik karışım 89 ml. aseton'da eritildi.

3 numaralı Whatman süzme kâğıtları (11 cm. çapında) 2 cm. yüksekliğinde ve 7.63 cm. çapında yüzük şeklinde cam'ların üzerine kondu. İnsektisitin denemeler sırasında kullanılan konsentrasyonundan 2 ml. her süzme kâğıdına merkezinden olmak üzere syringe veya buretle tatbik edildi. Denemeler süresince ısı 24 °C ve nisbî rutubet 60 - 65 % olmak üzere sabit tutuldu ve eritici olarak kullanılan aseton'un uçması için süzme kâğıtları 1 saat yüzük şeklindeki camlar üzerinde bırakıldı.

IV — Biolojikal Materiyal:

a. Böceklerin yetiştirilmesi.

Buğday bitleri, Sitophilus granarius varyetesi Genesee olan Canada buğday üzerinde 500 ml. kapasiteli geniş cam kavanozları içinde yetiştirildiler. Buğday kullanılmadan önce 1,1 kg/cm^2 121°C ta 15 dakika içindeki böcekleri v.s. öldürmek için otoklav edildi. Buğdayın içindeki su miktarını buğday bitlerinin yaşayabilmesi için lüzumlu olan seviyeye (30 %) getirebilmek için, bu otoklav edilmiş buğday geniş cam kavanozları içinde humidorlara konarak 75 % nisbî rutubet ve 27 ± 1 C ta 3 hafta kullanılmadan önce muhafaza edildi. Bu cam kavanozların ağızları tülbent veya plâstikten ince dokulu teller ile kapatıldı.

b. Böceklerin toplanması.

Buğday bitleri, buğdayları bir masa lâmbasının altında kalın bir kâğıt üzerine yayarak toplandı. Buğday bitleri taneleri terk eder etmez 250 ml. lik flask'ların içine emme ile toplandı.

V — Denemeler sırasında kullanılan umumî muameleler:

Denemelerin büyük bir kısmında yaşları bilinen buğday bitleri kullanıldı. Denemelerde böcekler 7 ± 2 gün yaşlı idiler. 2 gün yaşlı dişilerin (5 adet) spermatheca'ları çıkarılıp mikroskopla incelendi ki bunlar bu 2 gün zarfında erkeklerle birlikte idiler ve çiftleşme şansları var idi hiç bir sperma bulunmadı. Bu araştırmadan sonra ergin buğday bitlerinin hayatlarının ilk 2 gününde çiftleşmedikleri neticesine varıldı. Bundan dolayı erkek ve dişiler 2 gün yaşlı iken ayrıldılar ve denemelere kadar ayrı olarak 65 ml. lik cam kavanozlarda 30 gr. buğday ile muhafaza edildiler. Daha önce bahsedilen buğday bitlerinin erkek ve dişilerini teşhis için bulunan metodla 100 böcek 45 dakikada binokuler altında bir fırça ile sırtları üzerine çevrilmek sureti ile teşhis edildiler. Denemeler sırasında böceklerin biribiri üzerine çıkmalarını önlemek için her süzme kâğıdına bir defada 24 böcek kondu.

Bütün denemeler 24 ± 1°C ısı da ve 60 - 65 % nisbî rutubette yapılmıştır. Denemelerden sonra böcekler 65 ml. cam kavanozlarda 30 gm. buğday ile birlikte bilinen muhit şartlarıda (ısı ve nisbî rutubet) 7 gün bekletilmiş ve sonra ölüm sayımları yapılmıştır.

MÜTEAKİP NESİLLER İÇİN İNSEKTİSİTE ARZ EDİLEN BÖCEKLERDE DOZ İLE ÖLÜM ARASINDAKİ MÜNASİBETLER

A — Code:

Neticelerin basit ve kısa bir şekilde ifade edilebilmesi için aşağıdaki rumuzlar kullanılmıştır.

S serisi — Müteakip nesiller için insektisite arz edilen buğday bitleri.
T serisi — S buğday bitlerinin alındığı orijinal ana kültürden, yalnız bunlar insektisite arz edilmeleri hariç S buğday bitlerine yapılan bütün deneme muamelelerine tabi tutuldu. Teknik kontrol.

N serisi — Bunlarda S buğday bitlerinin alındığı orijinal ana kültürden fakat müteakip nesiller için buğday üzerinde yetiştirildi. Bu seri tabii ölüm nisbetini tespit etmek için kullanılan kontroldu. Buğday bitlerinin selekte edilmiş birinci dölleri S_1, T_1, N_1 ikinci dölleri S_2 T_2 N_2 v.s. diye ifade edildi.

İnficar grubu : Bir kültürden muayyen bir zaman içinde inficar eden buğday bitlerine bir inficar grubu dendi. Meselâ 48 saat için de inficar edenlere birinci, müteakip 48 saat içinde inficar edenlere ikinci v.s. inficar grubu dendi.

B — Buğday bitlerinin doz ile ölüm arasındaki münasibetlerini bulmak için yapılan ön denemeler:

7 ± 2 gün yaşlı buğday bitleri ile insektisitin farklı dozları ve farklı arz edilme zamanları kullanılarak bir seri denemeler yapıldı. Denemeler neticesinde Allethrin ve piperonyl butoksit karışımın 44 % konsentrosyonundan 2 ml. lik miktarının süzme kâğıdı üzerindeki depozitine böcekleri 1 saat arz etme müddetinde 50 % ve 1 $^1/_2$ saatte 75 % ölüm verdiği tesbit edildi. Bu neticeler çok tekerrürlü denemelerden sonra alındığı için 50 % ve 75 % ölüm nisbetleri için makûl ve itimat edilir olarak bulundu.

C — Erkek ve dişi buğday bitleri:

Denemeler yaşları farklı olan erkek ve dişi buğday bitleri ile yapıldı. Dişi ve erkekler aynı zamanında aynı süre için ilâçlı süzme kâğıtlarına arz edildi. Dişi ve erkeklerin ölüm nisbetleri arasındaki farkların istatistik metodları ile yapılan hesaplarla önemli oldukları bulundu. (Cochron ve Cox, 1957) denemelerin neticesinde dişilerin yüksek dozlara erkeklerden daha fazla mukavim oldukları bulundu.

D — Seleksiyon seviyesi:

LD_{50} ve LD_{75} olmak üzere iki seleksiyon seviyesi denendi. LD_{75} seleksiyon seviyesi kullanıldığında az sayıda canlı böcek kaldığından bundan vaz geçildi.

E — Müteakip nesillerin insektisit ile seleksiyonu:

a — 2 gün yaşlı iken cinsiyetleri tespit edilen 110 erkek ve 110 dişi evvelce tespit edilen 50 % ölümü verecek doza 7 ± 2 gün yaşlı iken arz edildiler. İlâca arz etme müddeti 50 % ölümü almak bakımından erkekler için 1 saat dişiler için 1 $^1/_4$ saat idi. Çünkü daha önceki denemelerde dişiler insektisite karşı erkeklerden daha mukavim olarak bulunmuşlardır. (S. böcekleri).

b — Denemelerin yapıldığı gün 30 erkek ve 30 dişi böcekki bunlar S böcekleri gibi muameleye tabi tutuldular fakat ilâçlanmamış süzme kâğıtları üzerine kondular bunlar (T. Böcekleri) idi.

c — Cinsiyetleri ayrılmamış 100 böcekte 250 gm. buğday ile büyük cam kavanozda kültüre alındılar, bunlarda (N, böcekleri) idi.

S, buğday bitlerinin dişi ve erkekleri her tekerrürde ilâç depozitesine 20 şer tane olmak üzere ayni zamanda arz edildiler. Erkekler 60 dişiler 75 dakika sonra ilâçlı süzme kâğıtlarından alındılar ve ayrı ayrı olarak (Dişi ve erkek) küçük cam kavanozlarda buğday ile 7 gün muhafaza edildiler. Bu müddet sonunda ölü sayımı yapıldı ve ölüler atıldılar. Netice tablo 1 de verilmiştir.

Bu denemelerden sonra canlı kalan 51 erkek ve 50 dişi buğday biti 65 ml. kapasiteli küçük cam kavanoza 30 gm. buğday ile birlikte kondular. Küçük cam kavanozun kullanılmasından maksat çiftleşme şansını arttırmak içindi. İki gün sonra bunlar 500 ml. kapasiteli içinde 250 gm. buğday bulunan büyük cam kavanozlara nakil edildiler. Ölüm sayımlarının yapıldığı günden 31 gün sonrada bütün buğday bitleri bu cam kavanozdan alınıp atıldılar fakat buğday muhafaza edildi. Bu buğdaydan 7 gün sonra böcekler inficar etmeye başladılar. Bunlar S. neslinin dölü olan S_2 buğday bitleri idi.

T. neslinin dölü olan T_2 buğday bitleri de aynı yolla elde edildi.

N_2 serisi basit olarak yeniden kültüre alınmakla elde edildi.

ii) İkinci nesil (S_2, T_2 ve N_2)

S_2 ve T_2 kültürlerinde inficar eden böceklerin nisbeti arttıkça her iki günde bir buğday bitleri kültürden alındılar. 48 saat içinde inficar eden bu gruplardan inficar grubu ilâca arz edilmek üzere ayrıldılar. Bu gruptaki böceklerin cinsiyetleri 2 gün yaşlı oldukları zaman tespit edildi ve dişi ve erkekler ayrı olarak buğday ile cam kavanozlarda 7 $\pm$ 2 gün yaşlı olana kadar bekletildi. İkinci nesil buğday bitleri ayni birinci nesilde olduğu gibi (S_2 ve T_2) denendiler. Neticeler tablo 1 de verilmiştir.

Denemelerden 7 gün sonra ölüm sayımları yapıldı. Bu S_2 buğday bitlerinden canlı kalan 32 erkek 34 dişi ve T_2 lerde canlı 30 erkek ve 30 dişi ayni S_1 ve T_1 buğday bitleri gibi kültüre alındılar. N_2 buğday bitleride N_1 gibi kültüre alındı. Bu yolla S_3, T_3 ve N_3 nesli olan buğday bitleri elde edildi.

iii) Müteakip nesiller:

Biribirinden farklı inficar gruplarındaki buğday bitlerinin ağırlıklarında farklı olabileceği hususunda bazı deliller vardır.

Richards, 1948) Toksik materyallara karşı böceklerin hassasiyetleri umumiyetle onların vücut ağırlıkları ile alâkalıdır. Bu bakımdan bütün denemelerde ayni inficar grubunun kullanılması alınacak neticelerde homojeniteyi sağlamaya yardım eden bir husustur. Bilinen bu hakikatlere isnat ederek 3. cü, 4 ncü 5. inci ve 6 ıncı nesilleri LD_{50} dozu ile sıhhatli olarak selekte edebilmek için bu nesillerin 2 ci inficar grupları denemelerde kullanılmıştır.

Bu nesillerin ikinci inficar grupları tıpkı ikinci nesilde olduğu gibi denemelere alındılar ve selekte edildiler. Neticeler tablo 1 de verilmiştir. Tablodan görülebileceği veçhile altıncı nesil buğday bitlerinde 50 % ölüm ancak ilâca arz etme müddetini arttırmakla alınmıştır.

ALTI NESİL İNSEKTİSİT İLE SELEKTE EDİLEN BUĞDAY BİTLERİNDE, İNSEKTİSİTE KARŞI HASSASİYETLERİNİN AZALMASINI TESPİT İÇİN YAPILAN DENEMELER

Buğday bitlerinin biribirini takip eden nesiller halinde insektisite arz edilmeleri neticesi mukavim olanlarının selekte edilip edilmediğini tespit etmek için, 2 deneme yapıldı ve bu denemelerde S serisi buğday bitleri farklı dozlara T ve N serisi böcekleri ile arz edildi. Birinci denemede 5 ci nesil ikinci denemede 6 cı nesil buğday bitleri kullanıldı.

İki denemede de ayni metod kullanıldı. Denemeler 3 er tekerrürlü olarak S_5 T_5 ve N_5 buğday bitlerinin üçüncü inficar grupları, ikinci tekerrürde dördüncü inficar grupları üçüncü tekerrürde beşinci inficar grupları kullanıldı. Denemelerde 11 %, 22 % ve 33 % lik olmak üzere 3 doz kullanıldı ve her süzme kâğıdına 1 er ml. tatbik edildi. Bu üç farklı konsentrasyon süzme kâğıtlarına 3 ayrı suretle standart şartlarda tatbik edildi. Buğday bitleri (S, T, N serileri) insektisite 11 $^1/_2$ saat 22 ± 1°C ve 60 - 65 % nispi rutubet altında arz edildiler. Her tekerrürde farklı dozlar süzme kâğıtlarına randomize usulü ile verildi ve bu randomize numaraları randomize tablosundan bir esas dahilinde alındılar (Snedecor 1956). Her tekerrürde her süzme kâğıdı üstüne 6 erkek ve 6 dişi birlikte kondular. Netice olarak topyekûn 324 buğday biti bu denemelerde kullandı. İnsektisite arz edilişten sonra buğday bitleri küçük cam kavanozlarda 30 gm. buğday ile kondular ve ölüm sayımları 7 gün sonra yapıldı. Neticeler Litchfield ve Wılcoxon (1949) un grafik metodu ile analiz edildi ve kıymetlendirildi. Neticeler şekil 1 ve 2 de verilmiştir.

Beş nesil için ilâç ile selekte edilen buğday bitleri, ilâca karşı teknik kontrolden 2.24 defa, tabiî ölüm nispetini tespit etmek için kullanılan kontrolden 1.95 defa daha az hassastılar.

Altı nesil zarfında ilâç ile seleksiyona tabi tutulan buğday bitleri ilâca karşı teknik kontrolden 2.30 defa tabii ölüm nispetini tespit etmek için kullanılan kontrolden 2.03 defa daha az hassastılar. Farkların önemli olup olmadıkları istatistik metodları ile hesaplanmış ve önemli oldukları bulunmuştur.

S_5 T_5 ve N_5 ayrı ayrı S_6, T_6 ve N_6 den oranlı bir nispet dahilinde de çok hassastılar.

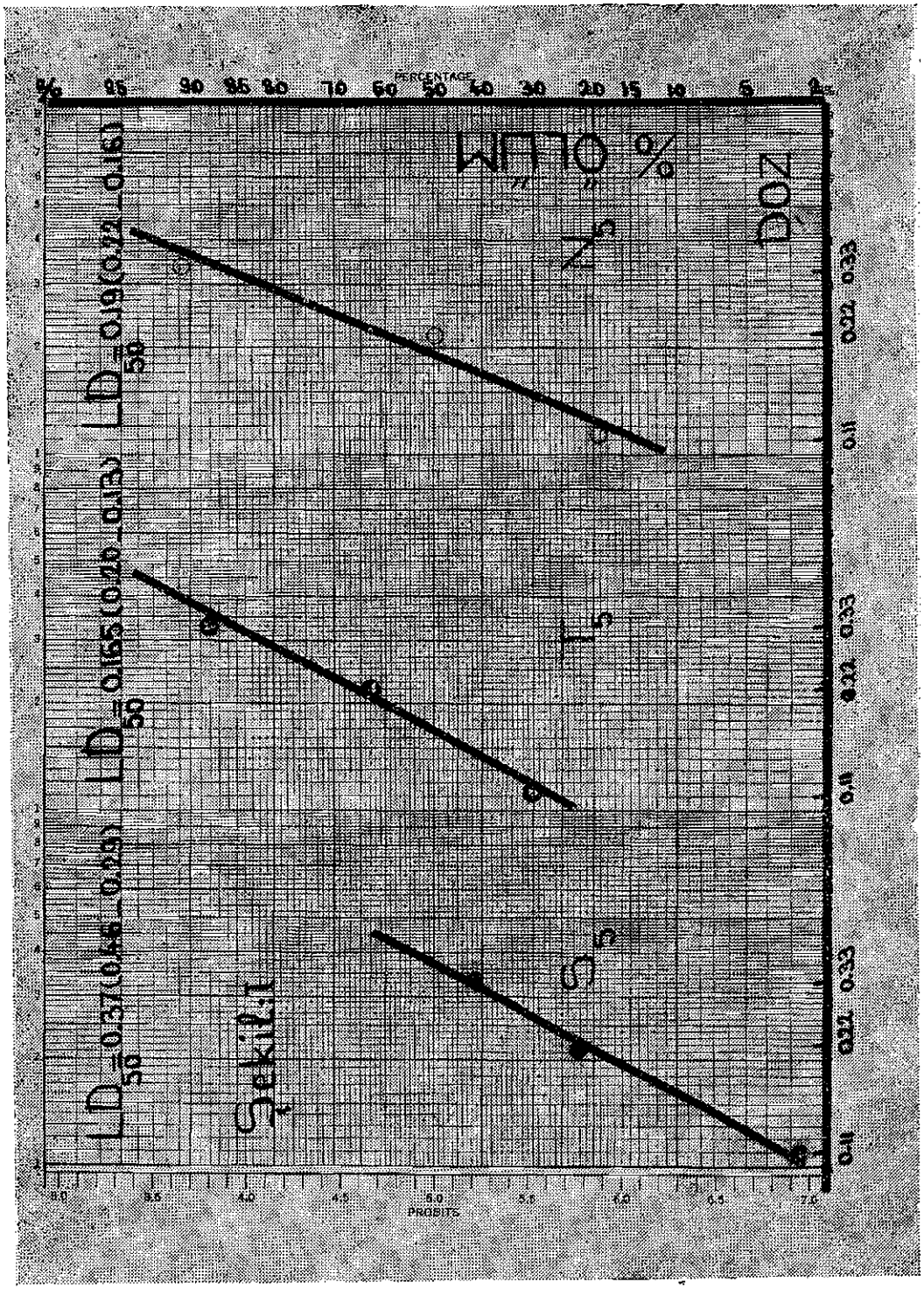
İLÂVE MÜŞAHADELER

i) Buğday bitlerinin ağırlıkları:

Her ne kadar erkek buğday bitleri dişilerden biraz daha ağır olarak bulunmuşlarsada, iki cinsin ağırlıkları arasındaki farkın istatistik metodları ile önemli olmadığı tespit edilmiştir. İnsektisit ile buğday bitkilerinin mumalelerinde ağır olanlarının ilâç ile selekte edildiğine ait bir delilde bulunamamıştır.

TABLO I — MÜTEAKİP NESİLLER ALLETHRİN VE PİPERONİL BUTOKSİT (44 % DOZDAN 2 Ml. HER SÜZME KÂĞIDINDA) İLE SELEKTE EDİLEN SİTOPHILUS GRANARIUS GG IRKININ (S, T ve N, SERİLERİNİN) DENEME NETİCELERİ.

NESİLLER	S_1		T_1		S_2		T_2		S_3		T_3		S_4		T_4		S_5		T_5		S_6		T_6	
Cinsiyet	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
Tekerrür adedi	5	5	2	2	4	4	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	2
Denenen böceklerin yekûnu	110	110	30	30	60	60	30	30	28	32	20	20	40	60	40	40	45	50	40	40	27	26	15	15
Saat olarak ilâca arz etme periyodu	1	1¼	1	1¼	1	1¼	1	1¼	1	1¼	1	1¼	1	1¼	1	1¼	1	1¼	1	1¼	2	2½	2	2½
Canlı kalanların adedi	51	50	30	30	32	34	30	30	15	20	20	20	22	38	40	40	29	36	40	40	12	14	15	15
% ölüm	54	50	0	0	47	44	0	0	47	37	0	0	45	37	0	0	35	28	0	0	63	46	0	0



Litchfield ve Wılcoxon'un grafik metoduyla ilâç ile selekte edilmiş beşinci nesil buğday bitlerinin doz ölüm detayları ilişikteki logaritmik ihtimaller katıdında gösterilmiştir. Dozlar üç tekerrürlüdür. LD_{50} nin fiducal limitleri parantezler içinde her eğrinin üstünde verilmiştir.