

ZİRAİ MÜCADELE İLÂÇLARININ LABORATUARDA  
DENENME TEKNİKLERİ

Talip ÖDEN

Yazı İngilterede Rothamsted Experimental Station'daki Bioassay mevzuunda altı aylık çalışmaları ihtiva etmektedir. Çalışma süresince bir çok laboratuvarlar ziyaret edilmiş ve bioassay mevzuunda kullanılan teknik ve metotlar yerlerinde görülmüş, izahat alınmış ve denemeler yapılmıştır. Bioassay metotları arasında her laboratuvarın kabul edeceği standart bir metot görülmemiştir. Laboratuvarlar mevcut imkânlarına göre en uygun metotları kullanmaktadırlar. Laboratuvarımız henüz başlangıçta olduğu için mümkün olduğu kadar çok ve çeşitli metotlar görülmesine çalışılmıştır. Ancak bu suretle bize en uygun olan metotlar seçilebilecektir.

Yazıda metodların teferruatından ziyade ana hatları ve kritik noktaları belirtilmiştir.

**BİYOLOJİK DENEMELERDE NAZARİ İTİBARA ALINACAK HUSUSLAR.**

Zirai mücadele ile ilgili biyolojik denemelerin neticeleri sonuç olarak pratiğe intikal ettirilme gayesine matuf olduğundan, denemeler ne kadar ihtimamla yapılır ve en küçük teferruatlar bile nazarı itibara alınırsa neticeler o kadar sıhhatli olur.

İnsektisidlerin biyolojik olarak kıymetlendirilmelerinde şu noktalara dikkat edilmelidir:

1 — Denemeler o şekilde hazırlanmalı ki elde edilen neticelerin sıhhati istatistik metotlarla kontrol edilebilsin.

2 — Denemelerin hangi şartlar altında yapıldığı bütün teferruatı ile not edilmelidir.

3 — Neticelerin, meselâ dolgu maddesinin toksisitesinden, böceklerin gıdasız kalmasından veya deneme tekniğinden değil, tatbik edilen ilâç dolayısıyla elde edildiğinden emin olmak için her denemeye kontroller ithal edilmelidir.

4 — Böcek popülasyonlarındaki tabii varyasyon dolayısı ile vuku bulacak farkı, hakiki toksisite farklarından ayırmak lâzımdır. Bunun için her deneme kafi miktarda tekerrürleri ihtiva etmeli ve bu tekerrürlerde uygun şekilde randomize edilmelidir.

5 — Bir böcek nevi üzerinde iki veya daha fazla ilâçların tesirinin mukayesesi mevzu bahis olmadığı zaman, mümkün olduğu hallerde denemeler ilâçların böcek nevelerine karşı tesirlerindeki farkı belirtmek için muhtelif nevi veya ırklar üzerinde yapılmalıdır.

6 — Her böceğe veya böcek grubuna tatbik edilen ilâç miktarı, bütün deneme boyunca bilinmeli ve tekerrür edilebilmelidir. İnsektisidlerin nisbi toksisitesini tayin, ancak onların aktif maddeleri tatbik edildiği zaman mümkün olur. Bu suretle deneme böceklerinin muayyen yerlerine eşit miktarlarda ilâçlar tatbik edilir. Bazı muayyen tekniklerde ilâçlanacak satha tatbik edilen zehir miktarının bütün deneme boyunca sabit olduğundan emin olmak lâzımdır.

7 — Tatbik zamanında ilâcın fiziki durumu ve yapısı ve böcekle temasta bulunduğu zaman içinde vukubulacak değişmeler araştırılmalı ve biyolojik kıymetlendirme yapılırken nazari itibare alınmalıdır.

8 — Böceklerin ilâçla temasta bulunduğu müddet her deneme için standardize edilmeli, reaksiyon için müsaade edilen zaman (muayene zamanı) ilâcın böcek üzerindeki tesirini gayet iyi belirtecek şekilde olmalıdır. İlâçla temasta bırakma zamanı ile reaksiyon zamanının tesiri her ilâç ve kullanılan her böcek için araştırılmalıdır. İlâcın böcek üzerindeki tesirini belirten hususlar bütün deneme boyunca sabit tutulmalıdır.

9 — Mümkün oldukça bir ilâç benzer kimyevi yapıdaki standart insektisid ile mukayese suretile kıymetlendirilmelidir.

10 — Laboratuvar denemeleri mümkün oldukça pratik kontrol denemeleri ile ilgili olmalı ve mümkünse kullanılacak böceklerde mücadelesi arzu edilen böcekler olmalıdır. Laboratuvar teknikleri ile pratik şartlar arasındaki büyük farklar, neticeleri kıymetlendirirken hatırlanmalıdır.

11 — Fumigant, mide, kontak olarak, birlikte tesirler dolayısıyla meydana gelecek karışık durumlarda nazari itibare alınmalıdır.

12 — Deneme böcekleri ile ilgili aşağıdaki şartlar ilâçlamadan evvel ve sonra standardize edilmeli, bütün deneme boyunca not edilmeli ve deneme ile ilgili raporlarda belirtilmelidir: Yaş, cinsiyet, inkişaf durumu, bir nevi içindeki ırk, gıdalanma durumu, denemeye hazırlanma ve yetiştirme teknikleri, popülasyon yoğunluğu, ısı, rutubet vs. hastalıklı böcek popülasyonları denemeleri için uygun değildir.

13 — Denemelere canlı nebatlar ithal edildiği zaman nebat varyasyonunun tesiri araştırılmalı ve hatırda tutulmalıdır. Bilhassa böcek gıdası olarak kullanıldığı zaman nebata tesir eden şartlara dikkat etmelidir.

14 — Tohumlarla yapılan toksisite denemelerinde tohumun rutubet muhtevasının toksikanta tesir ettiği bilinmelidir.

#### DENEME HAŞERELERİNİN TEMİN YOLLARI.

Insektisidlerin biyolojik olarak kıymetlendirmelerinde, bilhassa göz önünde tutulacak nokta inanılır neticeler elde etmek olmalıdır.

Denemeler esas olarak ilâç ve bu ilâcın üzerine tatbik edildiği böcekleri ihtiva eder. Her ikisinde veya yalnız birisinde vukubulacak değişmeler neticelere tesir eder ve yalnız hükümler verdirebilir. Bu bakımdan ilâç ve böceği mümkün olduğu kadar standardize etmelidir.

**Deneme ve kullanılacak böcekler şu yollardan temin edilir :**

##### 1 — Dışardan (Tarladan) :

Bu durumda deneme ya tarlada veya tarladan toplanan böceklerle laboratuvarda yapılır. Deneme tarlada yapıldığı zaman ilâcın toksisitesi muhit şartlarının ve böcek popülasyonundaki varyasyonların tesiri altındadır. Muhit tesirleri (Suhunet, yağış, rüzgâr vs.) kontrol edilemeyeceğinden denemenin başından sonuna kadar bunların not edilmeleri ve kıymetlendirmede nazari itibara alınması lâzımdır. Bir çok ilâçlar üzerine suhunetin tesiri ihmal edilemeyecek kadar fazladır. Meselâ: Isının DDT üzerine negatif bir tesiri olduğu bilinen bir gerçektir. Sabah ve akşam üzeri DDT ile aynı mevzuu üzerinde yapılan iki ayrı deneme 24 veya 48 saat sonra yapılacak sayımlarda farklı neticeler verir. Böceklerin inkişaf devrelerinin muhtelif durumlarında olmaları ve her haşere arasındada farklar bulunması sebeble böcek ilâcın üzerine doğrudan doğruya tesir eder. Mümkün olduğu kadar haşerenin homogen bulunduğu yerlerde deneme açılmalı. Tekerrürleri mümkün olduğu kadar tarlanın muhtelif yerlerine dağıtmalı ve sayımları yapılırken tamamen bitaraf davranarak tarlanın her tarafında bu iş yapılmalıdır. İlâcın fazla düştüğü yerlerde, beslenmenin iyi olduğu ve nebat örtüsünün zayıf veya kuvvetli olduğu kısımlarda yapılacak bir sayım yalnız hükümler verdirir. Sayımlar neticesi böceğin her inkişaf devresine ait olmak üzere ayrı ayrı not edilmelidir, ve hatta mümkünse cinsiyet üzerinde tesir de nazari dikkate alınmalıdır.

Dışarıdan toplanarak laboratuvarda deneme mevzuu olacak haşerelerde yeknesaklık birinci duruma nazaran daha iyidir. Toplama haşerenin tipine bağlı olarak el veya uygun aletlerle yapılır.

##### 2 — Laboratuvardan:

Laboratuvarda yetiştirilerek denemede kullanılan haşereler daha homogen olup, bunlarla yapılacak denemelerde daha sıhhatli neticeler alınabilir. Laboratuvarda böcek yetiştirirken bilinmesi lâzım gelen hususlar şunlardır :

- a) Haşerenin biyolojisi hakkında önceden bir bilgiye sahip olmak,
- b) Eğer çok hususi maksatlarda kullanılacaksa, memlekette ekonomik önemi olan bir haşere olması,

- c) Hayat devresinin mümkün olduğu kadar kısa olması,
- d) Fazla miktarda nesil verebilmesi,
- e) Bütün bir mevsim boyunca gıdası temin edilebilecek haşere olması,
- f) Hastalıklara karşı mukavim olması,
- g) Laboratuvar aletleriyle üzerinde çalışılmaya uygun olması,
- h) Diapause devresi uzun süren veya diapause'ünü kırması güç olan bir haşere olmamalıdır.

### 3 — Dışardan ve laboratuvar:

Bazı hallerde haşere her hangi bir devresinde tarladan toplanarak laboratuvarında ikinci bir devresi elde edilir ve denemede kullanılır. Meselâ yumurtaların toplanarak laboratuvarında inficardan sonra larf veya nimf'ler üzerinde, pup toplanarak erginler üzerinde deneme yapılması gibi.

#### BÖCEKLERİ DENEMELERE HAZIRLAMA.

Böceğin denemeye hazırlanması onların toplanmasıyla başlar. Çok çeşitli toplama cihazları vardır. En basiti penslerdir. Bazı böcekler ışığa doğru hareket ettiklerinden bu gibi böcekler için bir ışık kaynağı atraktiv olarak kullanılabilir.

Tüpler içine emmek suretile toplama en çok kullanılan usullerden biridir. Laboratuvarımızda da bu tarz toplama kullanılmaktadır. Emme ağız veya bir motor suretile yapılabilir. Bilhassa dikkat edilecek husus, kuvvetli emme dolayısıyla böceğin toplama tüpüne çarparak zarara uğramamasına dikkat etmektir.

Beslenme durumu bakımından denenecek böceklerin standart kılınması için bir müddet aç bırakılmaları uygun olur. Aç bırakma müddeti böcek tipine göre değişir. Meselâ, bir ilâcın mide zehiri olarak kıymeti araştırılacak denemelerde aç bırakma müddeti o şekilde olmalıdır ki verilecek olan zehirli gıdayı iştahla ve süratle yiyebilmelidir.

Bazan denemeden evvel böceklerin saklandığı suhunet ve rutubetin, denemenin sonraki kısımlarına tesir edebileceği hatırlanmalıdır. Deneme için kafes veya kavanozlardan toplanan böceklerde ilk yakalananlar ile son yakalananlar arasında, neticeye tesir edebilecek bir fark olabileceği göz önünde tutulmalı ve bunlar tekerrürler ve denemeler arasında uygun şekilde dağıtılmalıdır. İlâç tatbiki esnasında böcekleri hareketsiz tutmak lâzımdır. Bu, çok şekillerde yapılır. Mevcut imkân ve böcek tipine bağlı olarak bu metodlar değişir. Sıfırın altındaki derecelerde böcekler hareketsiz kalırlarsada sığa maruz kaldıklarında kısa zamanda eski haline dönerler. Bu bakımdan soğutmak suretile böcekler hareketsiz bırakılırlarsa, bu soğutma bütün tatbikat boyunca devam etmelidir. Soğutmadan sonra sığa getirildikleri zaman böcekler üzerinde su damlaları meydana gelebilir ve bu da kontak zehirlerin toksisitesine tesir edebilir. Vakum vasıtasıyla ince bir cam boru ucunda da böcek hareketsiz tutulabilir. Karbon dioksit veya eter ile balyılmak suretile hareketsiz bırakma en fazla kullanılan usullerdendir. Bun-

ların deneme materyalleri üzerine zararlı bir tesiri olup olmadığı ön denemelerle tespit edilmelidir.

#### İLÂCIN TATBİK ŞEKİLLERİ VE HER METOTDA NAZARİ İTİBARA ALINACAK HUSUSLAR.

İlâcın tatbik şekli deneme haşeresine, ilâcın şekline ve araştırma mevzuuna göre değişir. Denemeye başlamadan evvel bütün bunların gözden geçirilmesi, planlanması elzemdir. Yapılacak deneme ile hangi bilinmeyi çözmeye çalışılacağını, hangi sorulara cevap alacağını daha başlangıçta tesbit etmek gerektir. Sorular ve problemler başlangıçta tesbit edilirse bunların haline yarıyacak yollar ve metotlar kolayca planlanabilir. Alınan neticelere, yani cevaplara göre sorular yaratılırsa başlangıçta işe daha neyin halledileceği bilinmeden başlanmış olur ki, bu zaman ve malzemenin kaybı demektir.

İlâçların tatbik şekilleri (laboratuvarda), kullanılan aletler ile nazari itibare alınacak hususlar ve tatbik imkânları aşağıda belirtilmiştir.

##### 1 — Püskürtme (Mayiler):

Mayi ilâçların püskürtme suretile laboratuvarda denemelerinde bir çok aletler kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygın olan potter tower İngiltereye ısmarlanmış ve gelmiştir. Bu aletle yalnız düz sathlar (Petri yaprak, vs.) ilâçlanabilir. Doğrudan doğruya nebatları ilâçlamada, çeşitli tipte turne-table'ler kullanılmaktadır. Laboratuvarımıza uygun bir tip Zirai Donatım Kurumu Atölyesinde yapılmaktadır. Her labratuvarın imkânlarına göre değişik tiplerde yapabileceği püskürtme aletlerinde, şu hususlarda dikkat edilmelidir.

1 — Alet yeknesak ve küçük limitler dahilinde tekrar edilebilecek deposit verebilecek şekilde yapılmalıdır.

2 — Bütün püskürtme aletlerinde depodaki ilâç ile ilâçlanan satha düşen ilâcın fiziki yapısı ve kimyevi terkibi arasında fark olabileceği hatırlanmalıdır. Meselâ ilâç, atomize edici memeden geçerken kırılabilir. Zerreler veya emülsiyon olma derecesi değişebilir. Ve gene bütün püskürtme metotlarında uçucu metaryallerin bir kısmı kaybolabilir.

3 — Meme veya atomizör kullanıldığı zaman bunların şekli ilâç depositinin dağılmasına tesir eder. Yeknesak bir deposit verecek ilâçlama tekniğini seçmek şarttır.

4 — Sath gerilimini ve mayinin viskozitesini değiştiren bütün faktörler, püskürtmede kullanılan basınç ve ilâçlama müddeti zerre büyüklüğüne ve depositin ağırlığına tesir eder. Bütün bu faktörlerin standardize edilmesi veya bu varyasyonlar için bir limit tayin etmek lüzumludur.

5 — İlâçlanan sathın yapı ve şeklindeki varyasyonlar depositin bu sath üzerinde dağılışına tesir eder.

6 — Bir çok direkt püskürtme tekniklerinde ısı ve nisbi rutubetteki küçük değişmeler ilâç depositinin üzerine önemli derecede tesir etmezler.

## 2 — Tozlama:

Toz ilâçların doğrudan doğruya laboratuvarında denemesi çok az yapılmaktadır. İngilteredeki çalışma esnasında bize uygun bir alet görülememiştir. Umumiyetle toz ilâçların aktif maddeleri uygun bir eritici ile ekstrakt edilerek bu ekstraktla muhtelif şekillerde çalışılmaktadır. Halihazırda laboratuvarımızda basit bir tozlama cihazı varsada, maalesef tatmin edici neticeler alınmamıştır. Tekemmül ettirilmesine çalışılacaktır.

Tozlama metodlarında dikkat edilecek hususlar şunlardır:

1 — Taşıyıcı veya dolgu maddesi, aktif maddenin toksisitesine ve depositin miktarına tesir eder. Değişik taşıyıcıların sebep olduğu varyasyonlar bilinmeli veya bütün deneme boyunca aynı formülasyon kullanılmalıdır.

2 — İlâçlanan sath elde edilen depositin göreceği işe tesir eder. Bu umumiyetle ilâçlanan satha konan böceğin hareketlerine sathın tesiri dolayısıyladır.

3 — Tozun atılmasında kullanılan basınç veya vakum kontrol edilebilmelidir. Basınç veya vakum'da varyasyonlar tozun çökmesinde varyasyonlara sebep olur.

4 — Tozun rutubet miktarı deposit miktarına ve toksisiteye tesir eder. Mümkün olan yerlerde bu standardise edilmelidir.

5 — Nebatlar toz ilâçla ilâçlandığı zaman toz bulutuna maruz bırakma müddeti yaprakların alt ve üst sathlarındaki nisbi deposite tesir eder.

6 — Tozun formüle edildiği metot onun toksisitesine tesir edebilir. (Meselâ bazı hallerde dolgu maddesinin kuru toz ilâçla karıştırılması ile bir eriticide eridilmiş olan ilâca ilâve edilmesi arasında fark vardır.)

## 3 — Topikal Tatbik:

Bu metodun esası ölçülmüş bir damla ilâcı her böcek üzerine ayrı ayrı tatbik etmektir. Toksikoloji çalışmalarında çok kullanılan bu teknik, bütün diğer metotlara nazaran daha sıhhatli neticeler verir. İlâcın bu şekilde tatbiki için kullanılan en basit yol küçük bir tel halkasını ilâç mahlülüne batırmak ve teşekkül eden ilâç zarını böceğe tatbik etmektir. İkinci bir yol kılçal bir boruya genişliği bilindiğinden böceğe tatbik edilen ilâç hesaplanabilir. Fakat bu gün en çok kullanılan alet bir enjektörle buna bağlı bir micrometerdir. İlâç micrometerin çevrilmesi suretile enjektörün ucundaki iğneden damlar. Bu çevirme el ile olduğu gibi otomatik olarak ta yapılabilir. Laboratuvarımızda micrometerli enjektörlerden mevcut olup, bunları otomatik olarak çalıştıracak mekanizma yaptırılmaktadır. Alet hazır olduğu zaman santimetre küpün onbinde biri kadar bir ilâç damlasını böceğe tatbik etmek imkânına sahip olacağız. İlâçların biyolojik olarak kıymetlendirilmelerinde her böceğin aldığı ilâç miktarını bilmek doz veya konsantrasyon üzerinde çalışmaktan daha önemlidir. Bu metod bu hususu diğer metotlara nazaran daha iyi sağ-

lar. Topikal tatbik suretile kısa zamanda fazla böcek ilâçlanabilir çok az bir böceğe ve ilâca ihtiyaç vardır.

Bu metodla çalışırken şu hususlara dikkat etmelidir:

1 — İlâç böceğe tatbik edilirken soğutma veya bir gaz ile hareketsiz tutulduklarından, ilâcın toksisitesi üzerine bayıltma metodunun tesiri araştırılmalıdır.

2 — İlâç böceğe tatbik edilirken, tatbik edildiği yer bilhassa ilâcın tesirinin süratına tesir eder. Bunun için ilâcın tatbik yeri denemelerde standardize edilmelidir.

#### 4 — Enjeksiyon:

Metodun esası ilâcın böcek vücudu içine enjekte edilmesidir. Kullanılan alet micrometerli enjektörlerdir. Topikal tatbik'e ilâve olarak şunlar ilâve edilebilir:

1 — İlâcın içinde eritildiği eritici enjeksiyondan sonra ilâcın böcek içinde dağılışına tesir eder.

2 — Enjeksiyon için kullanılan iğnenin sebep olduğu zarar araştırılmalıdır.

#### 5 — Batırma:

Metodun esası böcekleri veya yaprakları kısa bir müddet için ilâç mahlüllerine batırmaktan ibarettir. En basit alet olarak cam veya uygun kaplar kullanılır. Hazırlanan mahlül bu kaplara dökülür ve materyal mahlül içine batırılır. Batırma esnasında boğulma suretile ölüm çok nadir durumlarda olur. Bu umumiyetle nazari itibare alınmaz. Ovicide'lerin denenmesinde, yumurtaları ilâç mahlulüne batırmak suretile yapılabilir.

İngiltere'de Rothamsted Experimental Station'de kullanılan batırma aletinin özel karıştırma cihazı vardır ve mahlülün ısısı da otomatik olarak sabit tutulmaktadır. Laboratuvarımızda bu metotla yapılan denemelerde geniş beherler kullanılmaktadır.

Batırma suretile yapılan denemelerde aşağıda belirtilen kısımlar önemlidir:

1 — Batırma müddeti ölüme ve neticelerin doğruluğuna tesir eder.

2 — Böcekler süspansiyon veya emülsiyonlara batırıldığı zaman mayinin karıştırılması önemlidir.

3 — Süspansiyonlarda kristal şekli ve büyüklüğü toksisiteye tesir eder.

4 — İlâcın eritildiği veya emülse edildiği suyun pH'sı materyalin ionize olma abiliyetine tesir suretile toksisite üzerinde müessir olur.

## 6 — Fumigasyon:

Doğrudan doğruya gazların veya fumigant olarak tesir eden katı insektisidlerin diğer tesir tarzlarından ayrı olarak fumigant özelliklerini tayinde kullanılan cihazlar muhtelif tiptedirler. Bunların bir kısmı şişe, kavanoz veya cam veyahut metalden yapılmış muhtelif şekilde kaplardır ve bunlara ilâç ya tartılarak veyahutta vakum veya tazyik suretile konur. İkinci tiptekilerin şekilleri ve yapıları aynen yukarıdakiler gibidir. Fakat bunların içine gaz bir çok tüplerden geçirilerek muayyen miktarda konur. Üçüncü tiptekiler büyük kabine ve tanklardır ki bunlarda ısı ve rutubet kontrol edilebilir. Bütün tekniklerde esas ilâcın doğrudan doğruya deneme materyali (böcek, yumurta vs.) temasını önlemektir. Laboratuvarımızda fumigant tesirleri araştırmada kullanılacak uygun bir cihaz yoktur. Ağı gayet iyi kapalı kavanozlar kullanılabilir.

Fumigantın cihaz içinde iyi dağılmaması duvarlarda absorbe gibi bir çok sebebler dolayısı ile hesap edilen konsentrasyon ile hakiki konsentrasyon arasında fark olacağı hatırlanmalıdır. Neticeler üzerine ısı ve konsentrasyon - zaman münasebetinin tesirli olduğuda nazarı itibara alınmalıdır.

## 7 — Gıda Veya İçecek Suyu Karıştırma:

İlâçların mide yolu ile toksik kıymetlerinin araştırılması onların gıdalara veya suya ilâveleri metodları ile yapılır. Mide zehirleri mayi, toz veya sistemik olarak denenebilirler. Yaprak yiyen böcekler için en uygun metod "Sandiwich" metodudur. Yaprak, mayi veya toz ilâçlar ile ilâçlanır, bu yapraktan yuvarlak bir parça kesilerek üzeri ilâcsız yuvarlak bir yaprak parçası ile kapatılır ve böceğe yedirilir.

İkinci bir usul de üzeri düz bir satıhla kapatılan ilâçlı yaprağın haşereye yedirilmesidir.

Kanallar veya küçük tüpler içinde ilâçlı yaprakla temas etmeden larfları yaprağı yemeğe zorlamak İngilterede kullanılan metodlar arasındadır.

Anbar zararlıları için gıdalarını ilâçla karıştırma, ev sineği meyve sineği vs. gibi böcek kültürlerinin gıdalarına ilâç ilâvesi de mide zehirlerinin biyolojik kıymetlendirmelerinde kullanılan metodlardır.

Elma iç kurdu için laboratuvarda çeşitli metodlar kullanılmakta ise de, esas aynı olup hepsi ilâçlanmış elma üzerine inficar etmiş larfı koymayı ihtiva etmektedirler.

Bütün mide zehirleri tekniklerinde şu esaslar nazarı itibare alınmalıdır.

1 — Teknik, kontakt ve fumigant tesiri asgariye indirecek şekilde olmalıdır.

2 — Böceğin yediği gıda (yaprak vs.) miktarını sıhhatli olarak ölçülebilece bir metod kullanılmalıdır.

3 — Zehir, gıda vasatına ilâve edildiği zaman vasatın gıda kıymeti elde edilen neticelere tesir edebilir. Mümkün olduğu kadar gıdanın terkibi standardize edilmelidir.



## BİOASSAYIN KULLANILDIĞI MAKSATLAR.

Zirai Mücadele ilâçlarının laboratuvarında denenmesi bir çok maksatlar için yapılmaktadır.

### 1 — Bakiye Tayinleri:

Hemen hemen bütün insanların ve evcil hayvanların istifadesine arzedilen nebatlar üzerinde Zirai Mücadele ilâçlarının geniş miktarda kullanılması ve bunların büyük bir kısmının sıcak kanlı canlılara zehirli olması, ilâç bakiyelerinin tayinlerini mecburi kılmıştır. Bakiyelerin tayinleri esas olarak kimyevi metodlarla yapılmakta ve bioassay metodlarıyla tayin bir yardımcı metod olarak kullanılmaktadır. İlâç nebat içinde veya üzerinde toksik maddelere parçalandığı zaman kimyevi metodlarla tayinin zor olması, her ilâç için özel analiz metodu olmaması veya bunların fazla ekipman ve ayaraçlara lüzum göstermesi bioassay metodlarıyla analizi uygun kılar. Bioassay metodu ile analizin en büyük mahzuru her ilâç için özel bir tayin metodu olmayıp, ancak nebatteki mevcut toksik maddeleri belirtmesidir. Nebat birden fazla ilâçla ilâçlandığı zaman veya materyalin geçmiş durumu hakkında bir bilgiye sahip olunmazsa biyolojik yol ile tayini imkânsızdır.

Biyolojik yol ile tayinin esası, ilâçlanmış nebatı ve bundan elde edilen ekstraktı böceklerle temasta tutmak ve elde edilen neticeleri, içine bilinen miktarda ilâç ilâvesi ile hazırlanan standarttan elde edilen neticelerle mukayese etmektir.

#### a) Kullanılan Metodlar:

**Süspansiyon** ilâçlı nebatın elde edilen ekstraktın sulu mahlülü içine sivrisinek larfı, balık vs. gibi canlıların ilâvesi ve muayyen müddet sonra kontrolleri yapılarak standard ile mukayese edilmesidir. Bu metod ile çok küçük miktardaki ilâçlar tayin edilebilir. Bazen ekstrakt edilebilen nebat kısımları (yağ, boya vs.) deneme organizmine toksik olabileceğinden ekstraktın bu maddelerden temizlenmesi şarttır. Deneme haşeresi olarak bu gün en çok sivrisinek larfı kullanılmaktadır. Bu iş için lüzumlu cihazlar laboratuvarımız için yaptırılmış olup denemeler yapılmaktadır.

#### **Kuru Film:**

Ekstraktan uygun bir satıh üzerinde uçurulması ile elde edilen kuru filme deneme haşerelerinin ilâvesidir. Uçurma petride, kavanozda veya küçük tüpler içinde yapılabilir. İlâçtan gayri ekstrakt edilen maddeler ilâcı örtterek hassasiyeti azaltabilirler, böyle hallerde ekstraktı temizleme ve saflaştırma şarttır.

#### **Besleme:**

Her hangi bir ekstraksiyon yapmadan ilâçlı nebat üzerinde haşerelerin doğrudan doğruya beslenmesidir. Nebat iyice ezildikten sonra karıştırılır veya bakiye sütte aranılırsa böceklerin bunlar üzerinde beslenmelerine müsaade

edilir. Standart'lar aynı maddelere bilinen miktarda ilâçların ilâvesi ile yapılır ve standardın verdiği ölüm, numuneninki ile mukayese edilerek bakiye miktar bulunur.

#### **Enzimatik:**

Organik fosforlu insektisidler kolinesteres'a mani olurlar, bundan faydalanılarak çok az miktardaki bakiyeler tayin edilebilir.

Organik fosforlu insektisidle muamele edilen kolinestreasın bir kısmı değişir ve bir kısmı değişmez, değişmeyen kısım *Acetylcholine* ile muamele edildiği zaman *choline* ve *asetik asit* teşekkül eder. Böylece değişen pH yardımı ile bakiye tesbit edilir.

#### **b — Kullanılan Organizmalar:**

Bakiye analizlerin de kullanılan organizmaların ilâçlara karşı çok hassas olmaları lâzımdır. Kullanılan organizmalar şunlardır.

##### **Ev Sineği (*Musca domestica*):**

Yetiştirilmesi gayet kolaydır. Hayat devresi kısadır. Laboratuvarımızda, henüz yetiştirmiyoruz. Fakat istenildiği zaman yetiştirilebilir. Kuru film ve besleme metodları ile yapılan denemelerde kullanılır. İlâcın nevine, deneme metoduna, böceğin yaş, cinsiyet ve elde edilen ekstaktın temizlenme derecesine bağlı olarak tayin edilebilecek miktar değişir.

##### **Sivri Sinek Larfı:**

Bakiye analizinde kullanılan organizmalar içinde insektisidlere karşı en hassas olanıdır. Laboratuvarımızda *Aedes aegypti* yetiştirilmekte ve analizlerde larfları kullanılmaktadır. Bilhassa bu larflarla çalışırken temizliğe çok dikkat etmeli ve kapların ilâçlarla bulaşmalarını önlemelidir. Sivrisinek larflarının ışıktan uzaklaşma hususiyeti canlı ve tesire uğramışları tefrikte işe yaramaktadır. Bizde bu metodu kullanmaktayız.

##### **Meyve Sineği:**

(*Drosophila melanogaster* Meig.) Bir çok gıdalar üzerinde kolaylıkla yetişir. Laboratuvarımızda buğday unu, agar agar, maya ve şekerden yapılan gıdada yetiştirilmektedir. Hayat devresi kısa, çalışması kolay ve bol nesil verdiği için bioassay için gayet uygundur. İlâçlara karşı reaksiyon cinsiyete göre değiştiğinden denemelerde erkekler veya eşit miktardaki erkek dişi karışımı kullanılır.

Kuru film ve besleme metodları ile yapılan denemelerde kullanılır.

##### **Diğer Organizmalar:**

Yukardaki haşerelerden başka daha bir çok organizmalarda bakiye tayinlerinde kullanılmaktadır. Laboratuvarımız yalnız sivrisinek larfı ile meyve sineği üzerinde çalışmaktadır. Kullanılan bütün canlılarda aranacak husus ilâçlara çok hassas olması ve laboratuvarında yetiştirmeye uygun olmasıdır. Bu canlılarla 1 ppm.in çok altındaki ilâç bakiyeleri tayin edilebilir. Kullanılan

diğer organizmler şunlardır: *Artemia salina*, *Daphnia magna*, *Daphnia pulex*, *Lebister reticulatus*.

## 2 — İLÂÇLARIN - FORMÜLASYONLARIN - METODLARIN MUKAYESESİ.

Bioassayın ikinci bir kullanma sahası da değişik kimyevi terkipteki ilâçların veya aynı bir ilâcın muhtelif formülasyon tiplerinin biyolojik olarak kıyasetlendirilmesi ve ilâç tatbik metodlarının mukayesesidir. İlaçların mukayeseli olarak denemelerinde mümkünse aktif maddeler elde edilmeli ve bunlarla hazırlanacak mahlül, süspansiyon veya tozlar denemede kullanılmalıdır. İlaçlar değişik formülasyon tiplerinde olur ve dolgu maddelerinin aktivite üzerindeki tesiri bilinmezse elde edilen neticelerin doğrudan doğruya aktif maddeye bağlanması doğru olmaz.

Bir ilâç muhtelif şekilde formüle edilir. Ve bunlar her zaman aynı toksisiteyi göstermezler. Formülasyon tipleri şunlardır:

### 1 — Solüsyon:

Bu en basit formülasyon tipidir, ve insektisidin bir eritici içinde eritilmesi suretile hazırlanır. Pratikte umumiyetle ucuz eriticiler kullanılır. Solüsyonların içlerindeki aktif madde azdır. Meselâ % 5 gibi ve nakliyatta fazla yer tuttuklarından pratikte pek kullanılmazlar.

### 2 — Emülsiyon:

Emülsiyon bir mayinin onunla karışmayan ikinci bir mayi içinde dağılmasıdır. Meselâ su ile yağ birbiriyle karışmaz fakat bunların içine emülse edici bir madde ilâve edilirse su zerreleri yağ ve emülse edici maddeler tarafından sarılarak bir emülsiyon husule gelir. Emülsiyon ilâçlar toksikant + eritici + Emülse edici maddenin ilâvesile yapılır ve kullanılacağı zaman su ilâve edilir. Emülsiyon ilâçlarda önemli olan nokta, ilâcı meydana getiren maddelerin birbiri ile uygun düşecek şekilde seçilmesidir. Birbirine uygun olmayan maddelerle hazırlanan ilâçlar çabuk bozulur.

### 3 — Islanabilir Tozlar (Wettable Powder):

Islanabilir tozlar su ile karıştırıldığı zaman ilâcı teşkil eden maddeler su içinde erimizler, dağılırlar yani ilâç zerreleri su içinde asılı gibi dururlar. Bu ilâçlar insektisid kristallerini dolgu ve bir ıslatma maddesi ile karıştırmak suretile yapılır.

### 4 — Tozlar:

İki şekilde yapılırlar:

- İlaç ve dolgu maddesi ayrı ayrı öğütülerek karıştırılır.
- İlaç uçucu bir eritkende eritilir ve dolgu maddesi içine püskürtülür sonra eritken uçurular.

Bioassayın bu kullanma sahasındaki metodlar böceğin hususiyetlerine, ilâcın tesir tarzına, formülasyon tipine göre değişir. İlaçlar çeşitli yollardan böceklere tesir edebilir. Mide yolu ile çok toksik olan bir ilâç kontak yol ile

az toksik veya durum bunun tamamen akside olabilir. Denemelerde mümkün oldukça ayrı ayrı tesir şekillerini belirtecek metodlar kullanılmalı, bir tesir şekli araştırılırken diğerinin tesirleri asgaride tutulmalıdır.

İlaçların tesir tarzı ile bunlar için kullanılacak metodların çeşitleri şunlardır:

#### **1 — Kontak Tesir:**

Mayilerin kontak tesirini araştırmak için en iyi metod topikal tatbiktir. Emülsiyon ve solüsyonlar petri, kavanoz vs. satırlara püskürtme aletleri ile veya bir pipet vasıtası ile tatbik edilir ve kuruduktan sonra böcekler ilâve edilir. Fümigant tesiri azaltmak için ağızları açık tutulur, tülbent veya bir huni ile kapatılabilir. Gıda verilecekse ilâçsız olması şarttır. Batırma metodları da kontak tesirin tayininde kullanılabilir. Filtre kâğıtlarının püskürtme veya pipet ile ilâçlandıktan sonra ya petrilere tabanına konarak veya üstüvane şeklinde bükülerek kullanılmasında mümkündür. Süspansiyonların laboratuvarında püskürtme sureti ile tatbiki zordur. Mümkün olmadığı zaman hazırlanacak mahlüle böcekleri batırma veya bir Buhner hunisine filtre kâğıdı koyduktan sonra suspansiyon bunun üzerine dökülür ve emme suretiyle suya süzülerek, filtre kâğıdı üzerinde bir insektisid tabakası elde edilir ki, buda böceklerle temas ettirilir. Satırlar tozlama aleti yardımı ile ilâçlanarak tozların kontak tesirleri araştırılır.

#### **2 — Mide Yolu ile Tesir:**

Gıdalara ilâç ilâvesi suretile yapılır. Böcek gıdayı yerken ilâçla temas etmesini önlemek lâzımdır. Yenen gıda veya ilâç miktarı da doğru olarak hesap edilebilmelidir. Bu ağırlık veya satır üzerinden yapılabilirse, en uygunu bilhassa gıda olarak yaprak kullanılmışsa satır üzerinden ölçmektir. Bir çok metodlar arasında en basiti yaprağı milimetrik kâğıt üzerine koyarak yenen kısmı hesap etmektir. İlaçların yaprağına tatbiki evvelce görülen metodlardan biri ile yapılabilir.

#### **3 — Teneffüs Yolu ile Tesir:**

Toz veya mayi ilâç fumigasyon odasına küçük bir tüp içinde asılmak suretile konursa kontakt tesir önlenir.

#### **4 — Sistemik Tesir:**

Sistemik tesirler nebat, toprağına veya tohumlara ilâcın tatbik suretile yapılır. Sistemik ilâcın nebat içindeki hareketi, ilâcın köklere veya yalnız nebatın bir tarafına verilmesile denenir. Toprağın üzeri kapanmak suretile fumigant tesir önlenir.

### **3 — İLÂÇLARIN TOKSİSİTESİNE TESİR EDEN FAKTÖRLER VE BUNLARIN ARAŞTIRILMASI.**

İlaçların toksisitesine tesir eden faktörlerin araştırılmasında bahsi geçen metodlar arasından en uygun olanı kullanılır. Bütün deneme boyunca metodu sabit tutmak ve değişken olarak araştırılacak faktörleri kullanmak lâzımdır.

Meselâ ısının tesiri araştırılacaksa bütün böcekleri aynı metotla ilâçlamak ve ondan sonra muhtelif ısılarda tutarak netice elde edilmelidir. İlâç ayrı ayrı metotlarla tatbik edilirse neticelerin ısıdan dolayı olduğu hakkında bir şüphe meydana gelir.

İlâçların aktivitesine şu faktörler tesir eder:

#### 1 — Böceğin Biyolojisi:

İlâçların tesirini çoğaltmada haşerelerin biyolojisini bilmek muvaffakiyetli bir mücadele için şarttır. İlâçların geniş mikyasta kullanılışından sonradır ki bizim böcek biyolojisine ait az bilgimiz olduğu anlaşılmiştir. Meselâ sivrisineklerin bazı çeşitleri vardır ki hiç evden içeri girmezler, dışarda beslenirler, bu durumda evin iç kısmının ilâçlanması bir mana ifade etmez. Yaprağın alt sathında yaşayan böcekler için alt sathlar ilâçlanmalıdır. Böceğin hangi devresinin ilâca daha hassas olduğunu bilmek lâzımdır. Umumiyetle en mukavim devre pup devresidir. Sonra larf ve ergin gelir. Erginlerde de kütükilin iyice teşekkül etmediği devre en hassas devredir. Cinsiyet de ilâcın tesirinde rol oynar. Umumiyetle dişiler erkeklere nazaran daha mukavimdirler.

#### 2 — Besleme Durumu:

İyi beslenen böcekler daha mukavimdirler.

#### 3 — İlâcın Formülasyon Şekli:

Formülasyon şekli ilâcın toksisitesine tesir eder. Hatta farklı yollarla ve yardımcı maddelerle hazırlanan aynı bir formülasyon şekli de değişik toksisite gösterebilir.

#### 4 — İlâcın Tatbik Edildiği Sath:

İlâcın tatbik edildiği sathın ilâcın aktivitesine olan tesiri büyüktür. Meselâ pürüzlü bir satha tatbik edilecek bir emülsiyonun sath tarafından absorbe edilmesi ve aktif maddenin alt kısımlarda olması daima mümkündür. Tüylü veya tüysüz yapraklara da yapılan tatbikatlar farklı neticeler verebilir. Tüylü yapraklarda ilâç zerrelere tüyler arasına düşerki bu kısımlarla böcek temas etmeyebilir.

#### 5 — Muhit Faktörleri:

Muhit şartlarının (ısı, rutubet, rüzgâr, yağış, vs.) ilâcın aktivitesi üzerine tesiri önemlidir. Uçucu ilâçlar yüksek ısıda çabuk uçacaklarından tesirleri de kısa sürer. Rutubet ısı kadar önemli değildir. Fakat sathların ilâcı absorbe etmesine yardım eder. Isı ilâcın tatbikinden sonra da aktivite üzerine tesir eder. İlâçlamadan sonra ısının tesiri en iyi D D T üzerinde görülürki bu tesir negatiftir. Organik forforlu ilâçlar ve d i e l d r i n gibi insektisidlere ısının tesiri pozitiftir. BHC ye ısının tesiri böceğin nevine göre değişir bazen pozitif bazen negatif olabilir.

Bioassayın kullanıldığı bir sahada ilâç karışımlarının tesirini tayin etmektir.

İlâç karışımları şu şekillerde tesir edebilir.

**1 — Müstakil Tesir:**

Karışımı teşkil eden maddeler böceğin ayrı kısımlarına tesir eder. Böcek birinci veya ikinci ilâcın tesirinden ölebilir.

**2 — Benzer Tesir:**

Karışımı teşkil eden maddeler aynı fizyolojik noktaya tesir ederler ve böcek iki ilâcın tesirinden ölür. İlâçlar aynı noktaya tesir ettiklerinden, muayyen nisbet dahilinde biri diğerinin yerine kaim olabilir.

**3 — Sinergist Tesir:**

Karışımı teşkil eden maddelerin benzer tesirin teorik neticesinden daha fazla bir ölüm gösteren tesir şeklidir. Aksi durum antagonizm'dir.

**4 — MUKAVEMET VE HASSASİYET**

Uzun zaman aynı haşere üzerinde aynı ilâcın veya ilâç grubunun kullanılması, o haşereye ilâca karşı bir mukavemet kazandırabilir. Memleketimizde uzun zamandan beri geniş mikyasta mücadele yapıldığı halde bu mevzu üzerinde pek durulmamıştır. İngiltere de mukavemeti meydana getiren sebepler üzerinde geniş araştırmalar yapılmaktadır.

Mukavemetle ilgili denemeler için haşereler dışardan toplanarak aynı nevin hassaslarile mukayeseli tecrübeler yapılır. Veya böceğin kaç nesil ve hangi tatbikat şartları altında mukavemet kazandığını tayin için böcekler laboratuvarda ağır bir ilâç baskısı altında tutulur.

İlâç tatbiki popülasyonun % 75-90 öldürecek şekilde ayarlanır ve canlı kalanlardan elde edilen yeni nesillerde de aynı muameleye devam edilir. Yeni nesiller, ilâçlanmamış nesillerle mukayese edilerek mukavemet hakkında bir fikir elde edilir.

**KIYMETLENDİRME METODLARI.**

Eskiden beri kullanılan metod elde edilen ölümün yüzde olarak ifade şeklidir. Fakat bu şekilde ifade edilen neticeler daha başka işlemlere tabi tutulmadıkça, bilhassa ilâçların mukayeseli denemelerinde hangi ilâcın ne kadar daha iyi veya fena olduğu hakkında bir fikir vermez. Şimdi en çok kullanılan metod aynı ölümü veren dozların birbirile mukayesesidir. Denemeler çeşitli dozlarla yapıldığı için mukayesesi yapılacak ölümü veren doz miktarı (Ekseriya % 50 ölüm alınmaktadır.) istatistiki metodlarla bulunmakta hata sınırları tesbit edilmekte ve mukayeseleri yapılmaktadır. Değişken olarak doz kullanıldığı gibi, ilâçla temasta bırakma müddeti, böceğin ağırlığı veya diğer faktörler veya bunların kombinasyonları kullanılabilir.

İlâç karışımlarının tesir tarzları istatistik metodlarla tayin edilmekte ve ancak ondan sonra müstakil, benzer veya sinergist olup olmadığına karar verilmektedir.

**Summary:**

**The General Biological testing methods of pesticides in the Laboratory conditions.**