

Entomolojik çalışmalarda etiketleme yöntemleri

Feyzi ÖNDER*

Füsun TEZCAN**

Summary

The marking methods in the entomological researches

This paper deals with the different marking techniques used in the entomological researches. These methods are used in studies on the population estimation, behaviour, dispersal, longevity and growth. Group marking methods such as dying, labelling, mutilating, marking with isotopes etc. are usually used for the population estimation and dispersal of insects. By using the individual marking methods such as dying and labelling, it can be obtained some informations on longevity, dispersal, dead and birth rate of insects.

Giriş

Zooloji alanında etiketleme çalışmaları, çok eski tarihlerden bu yana yapılmaktadır. Macfadyen (1963), Borror and Delong (1964), Brower and Zarr (1977) gibi birçok araştırmacı denemeleri sırasında değişik etiketleme yöntemleri kullanmışlardır. Çeşitli amaçlarla etiketlenen hayvanlar arasında balıklar, kuşlar, memeliler, kurbağalar, sürüngenler, yengeçler ve böcekler yer almaktadır.

Bu yazında etiketlemenin entomolojik çalışmalarda sağladığı yararlar ve zamanımıza dek kullanılmış etiketleme yöntemleri toplu bir şekilde anlatılmaya çalışılmıştır.

* E. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, İzmir.

** Bölge Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü, İzmir.

Alınış (Received) : 10.4.1986

Etiketlemenin Entomolojik Çalışmalarda Sağladığı Yararlar

Etiketleme tekniklerini kullanarak bir böceğin dağılması, uçuş mesafesi, yaşam uzunluğu, büyümesi, çifteleşme özellikleri, belirli bir bölgeye ait davranışları, hareketleri, erginlerin yaşlarına bağlı olarak renk ve populasyonlarında görülen sayısal değişiklıkların incelenmesi mümkün olmaktadır.

Belirli bir bölgedeki, belirli bir böcek türünün populasyon tahmininde de etiketleme yöntemlerinden yararlanılmaktadır.

Bir böceğe karşı uygulanacak savaş yönteminin saptanmasında o türde ait biyolojik özelliklerin iyi bilinmesinin büyük önemi vardır. Bir böcek türünün çeşitli devrelerdeki yaşama özelliklerini, kışlama durumunu, bir yerden bir bir yere göç edip etmediğini tam olarak bilmeden, konukçu bitkilerini, parazit ve predatörlerini tanımadan seçilecek savaş yönteminin başarısızlığa uğrayacağı açıklıktır. Bütün bu konularda karanlık kalmış noktalar çeşitli etiketleme yöntemleri kullanılarak aydınlatılabilir.

Etiketleme Yöntemleri

Etiketlemede kullanılan başlıca yöntemler :

1. Grup etiketleme yöntemleri,
2. Bireysel etiketleme olmak üzere iki gruba ayırarak incelenebilir (Southwood, 1966).

1. Grup etiketleme yöntemleri

Grup etiketleme yöntemleri, çok sayıda böceği bir arada aynı yolla işaretleyebilme ilkesine dayanır.

Bu yöntemler de kendi arasında bazı alt gruplara ayrılmaktadır.

a) Boyalarla dıştan etiketleme

Yağlıboya, bu amaçla çok yaygın olarak kullanılan bir boyama materyalidir. Lodos (1953), *Eurygaster integriceps* Put. (Hes.: Scutelleridae)'in uçuş mesafesini saptamak amacıyla yaptığı çalışmada boyama materyali olarak kullandığı Anilin'in *E. integriceps*'in yapısında olmayan kırmızı, yeşil ve beyaz renkleri tercih etmiştir.

Day Glo veya Arap zamkı içeren fluoresant parlak vernikler Çeçe sineklerini, Scarabaeidae türlerini ve Lepidoptera tırtılarını etiketlemede pek çok araştırmacı tarafından kullanılmıştır. Southwood (1966), McDonald (1960)'a atfen, bu materyallerle etiketlenen bireylerin, karanlıktaki tarla-

da 8-10 m yüksekten ultraviyole ışık saçan bir lamba yardımıyle lekeler halinde görülebilceğini bildirir.

Chamberlain et al. (1977), *Haemotobia irritans* (L.) (Dipt. : Muscidae) ile yaptığı denemede fluoresans boyanın % 1'lik solüsyonunu erginler üzerine püskürtmüştür. Kullanılan boyalar ve uygulanan teknik, Hawaii'de *H. irritans*'ın eradikasyonu programında başarıyla kullanılmıştır,

Bunların dışında yansıtıcı boyalar ve aluminyum boyalar da, böcekleri dıştan etiketlemeye kullanılmaktadır.

Yukarıda sözü edilen boyalar, böceklerde iğne, sıvıltılmış kibrit çöpü, kıl ya da ince bir bitki parçası yardımıyla uygulanmışlardır. Day Glo *Schizaphis graminum* (Rond.) (Hom. : Aphididae)'un abdomen'inin üst kısmına deve tüyünden fırçalarla uygulanmakta ve bireylerin normal ölümüne degen boyaya maddesi kalıcılığını sürdürmektedir (Walker et al., 1972).

Schroeder et al. (1972), *Dacus cucurbitae* Coq., *D. dorsalis* Hendel ve *Ceratitis capitata* Wied. (Dipt. : Tephritidae) pupalarını Tinopal'le boyadıktan sonra, erginlerdeki boyanın varlığını bireyleri beyaz filtre kağısına koyarak ve üzerine aseton damlatarak saptamıştır.

Southwood (1966), Norris (1957)'e atfen; Diptera takımının Calypterata alttakımı türleri için kendi kendine işaretleme yönteminin geliştirildiğini bildirmektedir. Bu yöntem'in prensibi; böceğin pupalarını içeren toprağın üzerindeki kum ve fluoresan tozla kaplanması ve böcekler ortaya çıkarırken az miktarda boyanın, böceğin ptilinum kısmına bulaşmasıdır. Ergin bireyin ortaya çıkışından sonra ptilinum baş içine geri çekilir ve toz fluoresan boyaya ptilinal yarıktır kalır. Bu şekilde işaretlenmiş böcekler, ultraviyole lambası altında incelendiklerinde veya asetonlu bir civiyle baş kısmı ezildiğinde bireyin etiketli olup olmadığı kolayca anlaşılır.

b) Boyaların besinlere karıştırılması yoluyla etiketleme

Spodoptera littoralis Boisd. (Lep. : Noctuidae) larvaları, kurutulmuş siğır böbreği, agar, bira mayası ve askorbik asit içeren besin ortamına Calco Oil Blue RA veya Calco Oil N-1700 boyalarının 1-1.5 gr/kg arasında katılmasıyla etiketlenirler (Salama, 1972).

Anthonomus grandis Boh. (Col. : Curculionidae)'in yaklaşık bir milyon ergin bireyi bir defada, larva besinine 550 ppm kadar Calco Oil Red N-1700 boyası eklenebilir (Lindig et al., 1981).

Bu yollarla etiketlenen böcekler ya dışkularının işaretli oluşuya veya kağıt kromatografisi yöntemiyle saptanabilmektedirler.

c) Enjektör kullanarak etiketleme

Bu yöntemde etiketlemeye kullanılacak boyanın maddesi, gömlek değiştirmenin sırasında kaybolmadığından saydam kutikulaya sahip arthropod'larda başarıyla kullanılabilir.

Sparks and Cheatham (1973), *Manduca sexta* (Joh.) (Lep. : Sphingidae)'ya suda eriyebilen boyaların enjeksiyonunun spermatophorların işaretlenmesinde etkili olduğunu ve böceklerde zarar vermediğini saptamıştır.

Johnson (1980) ise *A. grandis* ile yaptığı denemede, enjektörle Calco Oil Red N-1700 boyasını pamuk taraklarının içine enjekte etmiştir. Uygulamadan 21 gün sonra *A. grandis* bireylerinin % 98'inde abdomen'in derisi altında yeterli miktarda boyanın gözle görülebilmiştir.

d) Organların kesilmesi yoluyla etiketleme

Coleoptera takımının Carabidae familyasına bağlı türler elytron'larının oyulması, çizilmesi ve küçük boşluklarının yakılmasıyla; Orthoptera takımına bağlı türler ise, pronotum'un çentilmesi veya tegmina'nın kesilmesiyle işaretlenir (Southwood, 1966).

e) Radyoaktif izotoplarla etiketleme

Ekolojik çalışmalarında radyoaktif izotop maddeler de etiketleme amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan bazı radyoaktif maddeler Cetvel 1'de gösterilmiştir.

Radyoaktif izotoplarla böceklerin etiketlenmesinde iki yöntem uygulanır. Bunlar :

aa) Radyoaktif izotoplarla dıştan etiketleme

Bu yöntemde, radyoaktif Co^{60} ve Ta^{182} en uygun gamma radyasyon kaynakları olarak kabul edilmiştir. Metalik Tantalum'a selüloz boyası veya sekotin tutkalı eklerek, Coccinellidae larvaları ve Pentatomidae türleri etiketlenebilmektedir.

Böcekler, radyoaktif izotoplar içeren solüsyona batırılarak da etiketlenirler. Southwood (1966), Roth and Hoffman (1952)'a atfen; ev sineklerinin, eşek arılarının, çekirgelerin, Cicadellidae ve Coleoptera türlerinin etiketlenmesi için, 5 $\mu\text{c}/\text{ml}$ konsantrasyonda P^{32} içeren solüsyonda bir dakika ıslatılmalarının yeterli olduğunu bildirmektedir.

bb) Radyoaktif izotopların besinlere karıştırılması yoluyla etiketleme

Bu yöntemde, hem larvaların hem de erginlerin besinleri değişik yollarla radyoaktif hale getirilmektedir.

Cetvel 1. Ekolojik çalışmalarında etiketlenmede kullanılan bazı radyoaktif izotoplar ve özellikleri (Southwood, 1966'dan)

İzotop	Sembol	Yarı-ömür (Yaklaşık olarak)	Radyasyonlar ve Enerjiler Beta (max.) (MeV)	Gamma
Karbon-14	C	5760 yıl	0,16	
^x Kobalt-60	Co	5-27 yıl	0,31	1,2
^x Çinko-65	Zn	245 gün	0,33	1,1
^x Altın-195	Au	185 gün		0,1
Kalsiyum-45	Ca	165 gün	0,25	
^x Tantalum-182	Ta	115 gün	0,51 max. aralık 1,2	
Kükürt-35	S	87 gün	0,17	
^x Skandiyum-46	Sc	84 gün	0,36	0,89
Stronsiyum-89	Sr	55 gün	1,50	
Demir-59	Fe	45 gün	0,46	1,2
Fosfor-32	P	14,2 gün	1,71	
İyot-131	I	8 gün	0,61	0,36

^x : Ekolojik çalışmalarında yaygın olarak kullanılan radyoaktif izotoplar.

Akman and Zümreoglu (1973, 1975), *C. capitata* ile yaptıkları çalışmalarla, yapay larva ortamına larvalar olgunlaşıklarında, radyoaktif fosfor (P^{32})'u değişik miktarlarda eklemişler ve 0,1, 1 ve 2 $\mu\text{c}/\text{gr}'$ ı etiketleme açısından yeterli bulmuşlardır.

Alverson et al. (1980), MSCV (Mısır Sarı Cücelik Virüsü)'nin vektörü olan *Graminella nigrifrons* (Forbes) (Hom. : Cicadellidae)'ın konukçu bitkilerine RbCl'ü MSCV'nin dağılımını tahmin etmek amacıyla uygulamışlardır. Vektörlerdeki Rb'nin m.evcudiyeti fluoresans X-ışını ve atom emme spektroskopisi yöntemiyle bulunmuştur.

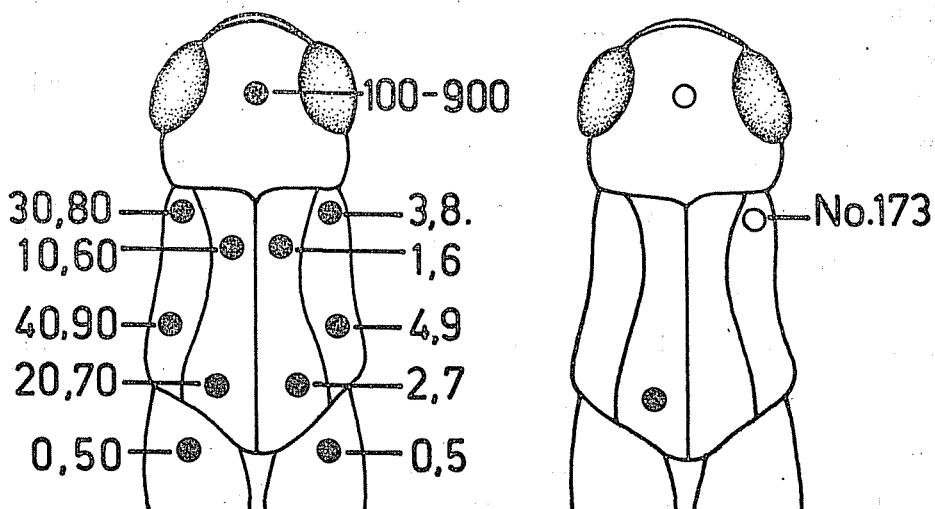
Radyoaktif izotoplarla etiketlenen böceklerin doğada bulunması için Geiger-Müller sayacından veya Otoradyografi yönteminden yararlanılmaktadır.

2. Bireysel etiketleme yöntemleri

Bireysel etiketleme yöntemleriyle populasyondaki her birey ayrı ayrı etiketlenebilir. Böylece, o populasyonun yaşam uzunluğu, dağılması, doğum ve ölüm oranları kolayca hesaplanabilir.

Pek çok böcekte, değişik pozisyondaki lekelerin kombinasyonu ve çeşitli renklerin kullanılmasıyla bireysel etiketlemeler yapılmaktadır.

Southwood (1966), Richards and Waloff (1954)'a atfen; çekirgelerde 999 bireyin etiketlenmesine olanak veren bir sistem geliştirildiğini bildirmektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Çekirgeleri tek tek etiketlemek için geliştirilen bir sistem (Southwood 1966'dan).

Burada thorax'in sağındaki lekeler 1'ler, solundakiler 10'lar, böceğin basındakiler ise 100'ler basamağını göstermektedir. 1-5 ve 10-50 arasındaki sayılar beyaz, 6-10 ve 60-100 arasındaki sayılar kırmızı renkle belirtilmekte ve 10 değişik renk basın etiketlenmesinde kullanılmaktadır. Bunun yanısıra, thorax'taki belli yerler belli sayılar için ayrılarak, 999 bireyin etiketlenmesi mümkün olmaktadır.

Aynı yolla Carabidae türlerinin de 999 bireyi etiketlenebilmektedir.

Bireysel etiketlemede, böcekler parmaklar arasında tutularak etiketleme işlemi yapılmalıdır. Eğer böcekler sayılacak ve yakalanacak kadar çok aktifse, öncelikle hareket edemez duruma sokulmalıdır. Bunun için böcekleri 1-5 °C'lerde tutmak iyi sonuç vermektedir. Ayrıca CO₂, kloroform,

azot ve azot oksit ile de uyuşturma sağlanabilir. Ancak uyuşturucular bazı böceklerin örneğin balarlarının vaktinden önce yaşlanması neden olmakta; CO₂ uygulamasından sonra Diptera takımının Simuliidae familyasına bağlı türlerin dişileri daha fazla yumurta bırakmaktadır. Bu nedenlerle ekolojik çalışmalarda uyuşturucuların kullanılmasından olanaklar ölçüünde kaçınılmalıdır.

Özet

Bir böceğin davranışlarını incelemeye, populasyon tahmininde, zararlı bir böceğe karşı en uygun savaş yöntemini saptamada çeşitli etiketleme yöntemlerinden geniş ölçüde yararlanılmaktadır.

Populasyon tahlimi ve dağılma çalışmalarında grup etiketleme yöntemleri kullanılmaktır; populasyonun yaşam uzunluğunu, doğum ve ölüm oranlarını saptamada ise daha çok bireysel etiketleme yöntemlerinden yararlanılmaktadır.

Bu makalede entomolojik çalışmalarda kullanılan değişik etiketleme yöntemleri hakkında kısa bilgiler verilmektedir.

Literatür

- Akman, K. and A. Zümreoglu, 1973. Preliminary laboratory investigations on the labelling the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata* Wied.) with radioactive phosphorus for biological information in relation to the sterile male method. FAO/IAEA Information circular radiation techniques and their application to insect pests, 16 : 53.
- _____ and _____, 1975. Laboratory investigation on the determination of the minimum radioactive phosphorus dose rate will be used on the labelling the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata* Wied.) for biological information in relation to the sterile male releasing technique. *Ibid.*, 19 : 27.
- Alverson, D. R., I. N. All and P.B. Bush, 1980. Rubidium as a marker and simulated inoculum for the black-faced leaf hopper (*Graminella nigrifrons*) the primary vector of maize chlorotic dwarf virus of corn. *Environ. Entomol.*, 9 (1) : 29-31. (Abstr. in *Ent. Abst.*, 11 (11) : 7980).
- Borror, D. J. and D. M. Delong, 1964. An introduction to the study of insects. Holt, Rinehart and Winston, New York, 819 s.
- Brower, J. E. and J. H. Zarr, 1977. Field and laboratory methods for general ecology. Wm. C. Brown Company publishers, Iowa, 194 s.

- Chamberlain, W. F., J. A. Miller, M. O. Pickens, A. R. Gingrich and C. I. Edwards, 1977. Marking horn flies with fluorescent dyes and other materials. *J. Econ. Ent.*, 70 (5) : 586-588.
- Johnson, W. L., 1980. Marking of boll weevils inside cotton squares with Calco oil red N-1700. *Ibid.*, 73 (5) : 664.
- Lindig, O. H., G. Wiygul, J. E. Wright, J. R. Dawson and J. Roberson, 1981. Rapid method for mass marking boll weevils. *Ibid.*, 73 (3) : 385-386.
- Lodos, N., 1953. Türkiye'de *Eurygaster integriceps* Put'in biyolojisi ve mücadeleni. Türk. Yük. Müh. Bir. Neşr. Sayı 18, 57 s.
- Salama, H. S., 1972. A method of marking the Lepidopterous moth *Spodoptera littoralis* Boisd, for population and dispersal studies (Noctuidae). *Z. Angew. Ent.*, 70 : 217-220.
- Schroeder, W. J., R. T. Cunningham, R. Y. Miyabora and G. J. Farias, 1972: A fluorescent compound for marking Tephritidae (Dip.). *J. Econ Ent.*, 65 (4) : 1217-1218.
- Southwood, T. R. E., 1966. Ecological methods with particular reference to the study of insect population. Butler and Tanner Ltd. Frome and London, 391 s.
- Sparks, M. R. and J. S. Cheatham, 1973. Tobacco hornworm (*Manduca sexta*) (Lep. : Sphingidae) marking the spermatophore with water soluble stains. *J. Econ. Ent.*, 66 (3) : 719 - 722.
- Walker, A. L., D. G. Bottrell and J. R. Cate, 1972. Rapid laboratory identification of instars of the greenbug (*Schizaphis graminum* (Hom. : Aphididae)). *Ibid.*, 65 (1) : 286-287.