

Böceklerin salgıladığı tatlımsı maddenin özellikleri ve ölçüm metotları

Cemile KURAN*

Summary

The composition of honeydew and its measurement techniques

Honeydew which is very rich of some organic compounds, contains amino acids, sugar components and nitrogen compounds as well. It is excreted by insects in very limited amount which can be quantified by several special technics; namely, filter paper method, gravimetric measurements, volumetric method and colour intensity measurement.

Giriş

Tatlımsı madde üretimi en çok Aphididae, Aleyrodidae familyaları ve Coccoidea (Homoptera) üst familyasında görülmektedir. Üretilen bu salgının olumlu ve olumsuz yönleri vardır. Olumlu yönü karıncalara besin teşkil ediyor olması ve arıları çekerek tozlaşmaya yardımcı olmasıdır. Olumsuz yönü ise, salgıya yol açan türün konukçusunda aşırı derecede beslenerek bitkiyi sömürmesi ve ürünün pazar değerini düşürmesidir.

Tatlımsı maddenin kimyasal kompozisyonu kromatografik yöntemlerle veya asit-enzim hidrolizi yöntemi kullanılarak ortaya konmaktadır (Lombard et al., 1987). Ancak salgılanma mekanizmasına ilişkin bilgiler tam anlamıyla yeterli değildir. Salgılanan tatlım-

* E. Ü. Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 35100 Bornova, İzmir
Alınış (Received) : 22.02.1995

sı madde miktarının çok az ve üreten objenin yani böceklerin de çok küçük olmaları nedeniyle, bu konuda çalışmak oldukça zor ve zahmetlidir.

Böceklerin besinden yararlanma yüzdelerini saptamada kullanılan kıstaslardan biri, dışkının ve üretilen tatlımsı madde miktarının ölçümüdür. Bu yüzden üretilen tatlımsı maddeye ilişkin çalışmalar giderek önem kazanmaktadır.

Böceklerde tatlımsı madde salgılanma mekanizması

Homoptera takımında bulunan böceklerin çoğunda sindirim sisteminin değişmesiyle filtre odası denilen özel bir kısım meydana gelmiştir. Bu sistemde birbirinden farklı iki boru birbirine yaklaşarak bir doku ile bağlanmıştır. Filtre odasında mesenteron'un iki uzantısı ile proctodaem'un ön kısmı bulunur. Filtre odası, vücut içine alınan fazla miktardaki bitki özsuyunun eliminasyonuna izin veren bir organdır. Burada besindeki fazla su ve eriyebilir karbonhidratlar, besinden süzülür ve tatlımsı madde olarak dışarıya atılır. Böceklerde tatlımsı madde üretimi osmotik basıncı ayarlayarak, böceğin iç çevresini ve elektrolitik dengesini düzenlemesine yardımcı olur.

Tatlımsı maddenin salgılanma mekanizması yeteri kadar incelenmemiştir. Tatlımsı madde üretimine ilişkin fiziksel mekanizmalar üzerinde, daha detaylı çalışmalara, bu durumu açıklığa kavuşturmak açısından ihtiyaç vardır.

Böceklerde tatlımsı maddenin salgılanma miktarı ile hava sıcaklığı arasında pozitif bir ilişki vardır. Buna ilişkin bir çalışma Dreistadt (1987) tarafından yapılmıştır. *Liriodendron tulipifera* L. (Magnoliaceae)'da beslenen *Illinoia liriodendri* (Monell) (Homoptera, Aphididae) ağacın altından yürüyerek geçen kişileri rahatsız edecek biçimde yoğun tatlımsı madde akımına neden olmaktadır. Araştırmacı Mayıs ve Eylül ayları boyunca 8 m boyundaki, 12 ağaçta, 24 saat boyunca, 07-11, 11-15, 15-19 ve 19-07 saatleri arasındaki 4 periyotta tatlımsı madde salgılanmasını izlemiştir. Sonuçta tatlımsı madde salgılanmasının en yüksek 11 ile 15 saatleri arasında, en düşük ise 19 ile 07 arasında olduğunu saptamıştır.

Tatlımsı maddenin kimyasal kompozisyonu

Organik maddelerce çok zengin olan tatlımsı maddelerin karbonhidrat kompozisyonları son yüzyılın başından beri incelenmektedir.

Teknik ilerledikçe tatlımsı maddeden oligosakkaritler izole edilmektedir. Melezitoz (Berthelot, 1859), erloz (Gray and Fraenkel, 1953), maltosukroz ve maltotriosukroz (Wolf and Edwart, 1955), İami-nari-bioz, turanoz ve erioz (Basden, 1967), kritoz ve lasioz (Basden, 1972) ilk kez izole edilen oligosakkaritlerdir. Bunların hepsinin flöem'deki bitki özsu şekerlerinden, böceklerdeki sindirim enzimleri-nin faaliyetleri sonucunda üretildiği kayıtlıdır (Basden, 1972).

Homoptera takımı, Callaphididae familyasına bağlı olan 4 tür ***Myzocallis castanicola*** Bac., ***Tuberculatus borealis*** Krz., ***Betulaphis helvetica*** H.R.L., ***Betulaphis quadrituberculata*** (Kalt.)'nin salgıladıkları tatlımsı maddenin karbonhidrat içeriği, ince-tabaka ve gaz-sıvı kromatografisi ile analiz edilmiştir. 4 türde de ortak olarak fruktoz, glukoz, sukroz, maltoz, turanoz, trehaloz, melibioz, raffinoz ve melezi-toz bulunmuştur. ***M. castanicola*** ve ***B. tuberculata***'nın salgıladıkları tatlımsı maddenin, trisakkarit kısmının ana komponentinin melezi-toz olduğu ve analiz edilen callaphidid tatlımsı maddelerindeki karbonhidratların nitelik olarak birbirine çok benzer olduğu sap-tanmıştır.

Bu durum tahminen, çalışan yaprakbiti türlerinin sindirim enzimlerinin aynı olmasından kaynaklanmaktadır. Bununla beraber, nicelik olarak birbirlerinden oldukça ayrıcalıklar göstermektedirler (Lombard et al., 1987).

Pekan ceviz ağaçlarında beslenen 3 yaprakbiti türünün, salgıladıkları tatlımsı maddelerin nicelik olarak birbirlerinden farklılık gösterdiği Tedders and Wood (1987) tarafından saptanmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda ***Monellia caryella*** (Fitch) (Homoptera, Aphididae)'nın, ***Monelliopsis pecanis*** Bissel (Homoptera, Aphididae)'den yaklaşık 9 kat daha fazla, ***Melanocallis caryaefoliae*** (Davis) (Homoptera, Aphididae)'den ise, yaklaşık 13 kat fazla tatlımsı madde salgıladığı ortaya konmuştur. Ancak ***M. caryaefoliae***'nin popülasyonunun düşük olmasına rağmen bitkide klorizise neden olarak daha zararlı olduğu bildirilmektedir.

Tatlımsı maddenin bileşimini oluşturan kimyasal maddelerle, konukçu bitkiden ekstrakte edilen maddeler arasında benzerlik söz konusudur. Buna benzer bir çalışma, Campbell (1986) tarafından yapılmıştır. ***Sorghum bicolor*** (L.) (Gramineae)'da beslenen ***Schizaphis graminum*** (Rondani) (Homoptera, Aphididae)'un salgıladığı tatlımsı maddenin % 50'den fazla oligosakkaritlerden meydana geldiği ve diğer yarısının da yaprakbiti için tipik olan diğer düşük karbonhidratlar-dan oluştuğu saptanmıştır. Olgosakkaritlerin nötr şeker ve uronik asit kompozisyonu konukçu bitkiden ekstrakte edilen pektik maddeleriyle

benzerlik göstermektedir. Sorghum yapraklarının enine kesitleri, pektik boyar maddeleriyle muamele edilmiş ve flöem'de yüksek konsantrasyonda pektik maddeler bulunmuştur. **S. graminum** konukçusunda en çok flöem'de beslenmektedir ve böceğin salya bezlerinde polisakkaritleri polimerize edecek polisakkaraz enzimleri vardır. Bu nedenle yaprakbitinin tatlımsı maddesinde kendisinin sentezleyemediği, bitki orijinli asidik oligosakkaritlere rastlanmıştır.

Nilaparvata lugens (Stal) (Homoptera, Delphacidae)'in çeltikte beslenirken salgıladığı tatlımsı madde, renk yoğunluğu metodu kullanılarak Paguia et al. (1980) tarafından analiz edilmiştir ve sonuçta 8 aminoasit saptanmıştır. Bunlar; tirozin, valin, alanin, glisin-serin-glutamik asit, aspartik asit ve asparagin'dir. Özellikle aspartik asit, glisin-serin-glutamik asit ve alanin yüksek miktarda elde edilmiştir.

Böceklerde enzimler, metabolize yolları ve bitkilerin özsu kompozisyonları tam anlamıyla bilinmediği için, tatlımsı maddeye ilişkin bazı konular kesin olarak ortaya konamamıştır. Tatlımsı maddenin organik yapısıyla ilgili bilgiler bulunmakla beraber, inorganik yapısı ve içerdiği su miktarına ilişkin hiçbir bilgiye rastlanmamış olması dikkat çekicidir.

Salgılanan tatlımsı maddeyi ölçüm metotları

A. Filtre kağıdı metodu

Sogawa and Pathak (1970) tarafından yapılan araştırmada **N. lugens**'in salgıladığı tatlımsı madde, alt yüzü filtre kağıdı ile kaplanan kültür kafesinde toplanmıştır. Böcek bütün gece beslendikten sonra, filtre kağıdında biriken tatlımsı madde % 0,001'lik ninhidrin aseton solusyonu ile muamele edilip daha sonra 100°C'de 5 dakika tutularak, tatlımsı maddenin mor veya pembe renge boyanıp boyanmadığı gözlenmiştir. Eğer boyanma varsa bu, tatlımsı maddenin aminosit içerdiği anlamına gelmektedir. Salgı miktarını kesin bir değerde elde etmek için, ninhidrin'e pozitif tepki veren alanlar (mm²) ölçülür.

Filtre kağıdı yönteminin daha az laboratuvar aleti kullanılarak diğer yöntemlerden daha basit olduğu ve güvenilir sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Paguia et al., 1980).

B. Gravimetrik metot

Bu metotta filtre kağıdında boyanan alanlar kesilip, herhangi bir çözücü sıvının içine atılır. Sıvının içinde boyalı alan çözüldükten sonra, liofilizatörde ani soğuk şoku ile sıvı buharlaştırılarak uzaklaştırılır. Geriye kalan maddenin ağırlığı mg olarak ölçülür.

C. Volumetrik metot

Filtre kağıdı metotundan biraz daha değişiklik yapılarak, kültür kafesinin alt yüzüne, taze tatlımsı madde sağlamak amacıyla parafilm serilir. Parafilm tatlımsı maddenin niteliğini bozmaz ve minimum derecede buharlaşma sağlar. Yeterli miktarda tatlımsı madde toplandığında, mikropipet yardımıyla alınarak ölçüm yapılır. Fakat bu, oldukça zor ve az hassas bir ölçüm yöntemidir. Tatlımsı maddedeki aminoasit ve şekerlerin konsantrasyonu beslenme derecesi ile ilişkili olduğu için, buharlaşmanın minimum bile olması hatalı sonuçlar yaratabilir.

D. Renk yoğunluğu metodu

Bu metot tatlımsı maddedeki aminoasit ve şeker konsantrasyonunu saptamak için kullanılmaktadır. Volumetrik metottan daha kesindir. Tatlımsı madde toplamak amacıyla kafesin alt yüzüne parafilm yerine, plastikten kesilmiş tabaka konmaktadır. Bu tabaka üzerinde biriken tatlımsı madde çökeltisine, 10 mikrolitre saf su eklenerek bir solusyon elde edilir. Aminoasit konsantrasyonunu saptamak için bu solusyon örneğinden 1 mikrolitre alınarak, 200x25 mm boyutundaki çizgili filtre kağıdına püskürtülerek dağılımı gözlenir. Daha sonra filtre kağıdı % 0,0014'lik ninhidrin aseton solusyonu ile muamele edilerek 100°C'de 5 dakika bekletilir.

Şeker konsantrasyonunu belirlemek için ise, solusyondan alınan başka bir 1 mikrolitrelik örneğin, filtre kağıdındaki dağılımı gözlendikten sonra % 2'lik anilinhidroklorid-etilalkol ile muamele edilerek, 100°C'ta 15-20 dakika bekletilir.

Ninhidrin ile muamele edilen filtre kağıdı, tatlımsı madde içindeki aminoasit konsantrasyonuna bağlı olarak, açıktan koyuya doğru mor renk vermektedir. Anilin ile muamele edilen filtre kağıdının ise, şeker konsantrasyonuna bağlı olarak, açıktan koyuya doğru kahverengi renk verdiği saptanmıştır (Paguia et al., 1980).

Ninhidrin ve anilinhidroklorid'li kağıtların analizleri ayrı ayrı densitometer denen bir cihazla yapılmaktadır. Aminoasitlerin kağıttan tek tek ayrımı için ise kağıt kromatografisi yönteminin kullanıldığı aynı araştırmacı tarafından bildirilmektedir.

Özet

Böcekler tarafından salgılanan tatlımsı madde organik maddelerce çok zengindir ve bol miktarda aminoasitler, şekerler ve diğer azotlu bileşikleri içermektedir. Az miktarlarda salgılanan tatlımsı madde miktarı filtre kağıdı metodu, gravimetrik metot, volumetrik metot ve renk yoğunluğu metodu kullanılarak ölçülmektedir.

Literatür

- Baden, R., 1967. The occurrence and composition the of *Eriococcus coriaceus* (Mask.). **Proc. Linn. Soc. N.S.W.**, **92**: 222-226.
- Baden, R., 1972. A series of oligosaccharides, occurring in the honeydew of insects based on Turanose. **Proc. Linn. Soc. N.S.W.**, **97**: 95-97.
- Berthelot, M., 1859. Novvells Recherches Sur Les Crops Analogues au Sucre de Canne. **Annls. Chim. Phys. III.**, **55**: 269-296.
- Driestadt, S.H., 1987. Monitoring of honeydew excretion in the field as a method of sampling *Illinoia liriodendri* (Hom., Amphididae) infesting *Liriodendron tulipifera*. **J. Econ. Ent.**, **80**: 380-383.
- Gray, H.E. and G. Fraenkel, 1953. Fructomaltose, a recently discovered trisaccharide isolated from honeydew. **Science N.Y.**, **118**: 304-305.
- Lombard, A., M. Buffa, A. Patetta, A. Manino and F. Marletto, 1987. Some aspects of the carbohydrate composition of Callaphidid honeydew. **J. of Apicultural Research**, **26** (4): 233-237.
- Paguaia, P., M.D. Pathak and E.A. Heinrichs, 1980. Honeydew excretion measurement techniques for determining differential feeding activity of biotypes of *Nilaparvata lugens* on rice varieties. **J. Econ. Entomol.**, **73**: 35-40.
- Tedders, W.L. and B. Wood, 1987. Field studies of three species of aphids on pecan: An improved cage for collecting honeydew and glucose-equivalents contained in honeydew. **J. Entomol. Sci.**, **22** (1): 23-28.
- Wolf, J.P. and W.H. Ewart, 1955. Carbohydrate composition of the honeydew of *Coccus hesperidum* L. evidence for the existence of two oligo saccharides. **Arch. Biochem. Biophys.**, **58**: 365-372.