

## ***Bracon hebetor*** (Say) (Hymenoptera: Braconidae) erginlerinde konukçu türünün ve besin tipinin ömür uzunluğuna etkisi\*

Eylem AKMAN GÜNDÜZ\*\*

Adem GÜLEL\*\*

### **Summary**

#### **The effect of host species and food types on longevity of *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae)**

Effect of two host species (*Galleria mellonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) and *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) and food types on longevity of parasitoid *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) were investigated under the continuously illuminated laboratory conditions at 26±2 °C temperature and 60±5 % relative humidity.

Adult parasitoids were fed with one of the three different food types containing host larvae, honey solution (50%) and host larvae plus honey solution. It was reported that the food types have effected on the adult longevity. Females fed with all food types lived longer than males. The means of adult longevity of females reared on *G. mellonella* and fed only with host's larvae or 50% honey solutions or host larvae plus honey solution were 29.39, 49.78 and 33.56 days, in males they were 7.22, 25.56 and 26.56 days, respectively. However, the adult longevity for the females reared on *E. kuehniella* and fed with the same three food types were 27.44, 46.22 and 32.56 days, respectively. These values for males were found as 5.56, 25.94 and 25.17 days, respectively.

**Key words:** *Galleria mellonella*, *Ephestia kuehniella*, *Bracon hebetor*

**Anahtar sözcükler:** *Galleria mellonella*, *Ephestia kuehniella*, *Bracon hebetor*

\* Bu çalışma Doktora Tezinin bir bölümü olup, OMÜ Araştırma Projeleri Birimi tarafından F-234 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

\*\* Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 55139 Kurupelit, Samsun  
e-posta: eakman@omu.edu.tr  
Alınış (Received): 19.07.2004

## Giriş

**Bracon hebetor** (Say, 1836) (Hymenoptera: Braconidae), gregar, larval, idiobiont ve ektoparazitoit bir tür olup, konukçu olarak ekonomik yönden oldukça önemli zararlara neden olan lepidopter türlerinin olgun dönem larvalarını tercih etmektedir (Tunçyürek, 1972; Cline et al., 1984; Gül & Gülel, 1995).

Parazitoitlerin zararlılarla savaşta etkili bir şekilde kullanılabilmesi için, söz konusu zararlıların en yaygın olduğu zamanda yeteri kadar bulunmaları veya bu amaçla laboratuvar şartlarında istenilen zaman için kitle halinde üretilip salınmaları gerekir. Bu durumda öncelikle konukçu ve parazitoitin biyolojileri, besinsel ihtiyaçları, iki tür arasındaki etkileşimler çok iyi bilinmelidir (Gülel, 1982; Hentz et al., 1997; Uçkan & Gülel, 2000). Bu ilişki çerçevesinde parazitoit türün gelişme süresi, verimi, eşey oranı ve ömür uzunluğu gibi biyolojik özellikleri ile üzerinde yetiştiği konukçu(lar)dan hangi besin maddelerini hangi oran(lar)da aldığı, bu maddeleri ne amaçlar için nasıl kullandığı, ne kadarını depoladığı önemli konular olmaktadır.

Parazitoitler, ergin öncesi gelişim dönemlerinde konukçuların içinde ya da üzerinde gelişir ve ergin dişi tarafından seçilen konukçu, bu dönemlerdeki tek besin kaynağıdır. Parazitoitin larva dönemi süresince almış olduğu besin, onun daha sonraki gelişim dönemini ve ergin olduktan sonraki bazı fizyolojik aktivitelerini etkilemektedir (Gülel, 1991; Harvey & Gols, 1998; Uçkan & Gülel, 2000).

Parazitoitin larva dönemleri süresince aldığı ve bir kısmını depoladığı besinler yanında ergin olduktan sonra aldığı besin de onun değişik fizyolojik aktivitelerini ve ergin ömrünü etkilemektedir (Collier, 1995; Morales-Ramos et al., 1996; Olson & Andow, 1998; Lauzière et al., 2000). Bu nedenle bu çalışmada, iki konukçu türünden elde edilen **B. hebetor** erginlerinde üç farklı besin tipinin ömür uzunluğuna etkileri araştırılmıştır.

## Materyal ve Yöntem

Denemelerde parazitoit olarak **B. hebetor**, konukçu olarak ise **Galleria mellonella** (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) ve **Ephestia kuehniella** (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae)'nın olgun dönem larvaları kullanılmıştır. Çalışmalar  $26\pm 2$  °C sıcaklık ve %  $60\pm 5$  orantılı nem içeren, sürekli olarak 20 watt'lık floresan ampullerle aydınlatılan laboratuvar ortamında yapılmıştır. Çalışmalara öncelikle belirtilen iki konukçu türünün ve parazitoitin kültürlerinin kurulmasıyla başlanmıştır.

**G. mellonella** kültürünü oluşturmak için laboratuvara getirilen atık petekler ile gelen larvalar kullanılmıştır. Larvalar, balsız petek içeren ve ağzı hava sirkülasyonunu önlemeyecek şekilde bez ile kapatılmış bir litrelik cam kavanozlara konularak  $26\pm 2$  °C' de korunmuştur. Bunlardan elde edilen yeni erginlerle **G. mellonella** kültürleri hazırlanmıştır.

İkinci konukçu tür *E. kuehniella*'nın kültürlerinin oluşturulmasında Erciyes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi'nden sağlanan yumurtalar kullanılmıştır. Bu yumurtalardan elde edilen erginlerle *E. kuehniella* kültürleri önceki türde olduğu gibi hazırlanmış ve larvalara besin olarak steril edilmiş balsız petek yerine mısır unu verilmiştir.

Parazitoit kültürünü oluşturmak için atık peteklerdeki parazitlenmiş *G. mellonella* larvalarından çıkan erginler kullanılmıştır. Bunlar bir erkek bir dişi olacak şekilde, konukçu olarak kullanılacak türe ait bir adet olgun dönem larva ve % 50 oranında seyreltilmiş bal çözeltisi emdirilen nohut büyüklüğündeki pamuk içeren deney tüplerine konulmuştur. Tüplerin ağız kısımları parazitoit ve konukçuların kaçmalarını engellemek için arasına pamuk konulmuş iki katlı tülbentle kapatılmıştır. Her iki konukçuda parazitoitin kültürleri oluşturulmuştur.

Besin tipine bağlı olarak ergin parazitoitlerin ömür uzunluğunun belirlenmesi için, belirli bir konukçu türünden elde edilen ergin parazitoit bireyleri ile her biri bir dişi bir erkek içeren ve toplam altı tüpten oluşan üç farklı grup oluşturulmuştur. Her grupta tüpler ayrı ayrı numaralandırılmıştır. Birinci grupta bulunan ergin parazitoitlere besin olarak üzerinde yetiştikleri konukçu larvası, ikinci gruptakilere bal çözeltisi, üçüncü gruptakilere de hem konukçu larvası, hem de bal çözeltisi verilmiştir. Kullanılan konukçu larvaları ile bal çözeltisi haftada iki kez değiştirilmiştir. Değişirme işi tüplere başlangıçta konulan erginler ölünceye kadar devam etmiştir. Tüpler her gün kontrol edilerek ölenler kaydedilmiştir. Deneme konukçu kültürlerinden farklı zamanlarda alınan konukçular ve bunlardan elde edilen ergin bireyler kullanılarak her konukçu türü için üç kez tekrarlanmıştır.

### **Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi**

İkiden fazla grubun karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (Oneway ANOVA) kullanılmıştır. Bu testten elde edilen sonuçların önemli olması durumunda ortalamalar "Student-Newman-Keul (SNK) Testi" (Sokal & Rohlf, 1981) kullanılarak değerlendirilmiştir. İkili grupların karşılaştırılmasında ise "t testi" kullanılmış ve  $p = 0.05$  güven sınırı esas alınmıştır.

### **Araştırma Sonuçları ve Tartışma**

Konukçu türünün ve besin tipinin *B. hebetor* erginlerinin ömür uzunluğuna etkisi ile ilgili sonuçlar Çizelge 1' de verilmiştir.

Çizelge 1. Konukçu türünün ve besin tipinin **Bracon hebetor** ergin dişi ve erkeklerinde ömür uzunluğuna etkisi

Besin tipi	Eşey	Ergin ömür uzunluğu (Gün) (Ort. ± S.H.)*	
		Konukçu tür	
		<b>G.mellonella</b>	<b>E. kuehniella</b>
Konukçu larvası	Dişi	29.39±2.2aA	27.44±1.8aA
	Erkek	7.22±0.30aC	5.56±0.3bC
Bal çözeltisi	Dişi	49.78±4.3aB	46.22±2.1aB
	Erkek	25.56±2.2aD	25.94±3.1aD
Konukçu larvası+bal çözeltisi	Dişi	33.56±3.2aA	32.56±2.7aA
	Erkek	26.56±2.3aD	25.17±2.6aD

\* Aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar ile aynı sütunda aynı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0.05).

Aynı konukçudan elde edilen ve üç farklı besin tipinden biri ile beslenen ergin dişi ve erkeklerin ömür uzunlukları karşılaştırıldığında, dişilerin erkeklerden daha uzun yaşadıkları görülmektedir (Çizelge 1). Benzer sonuç **Bathyplectes curcilionis** (Thomson) (Hymenoptera: Ichneumonidae) ve **Tachinaephagus zealandicus** (Ashmead) (Hymenoptera: Encyrtidae) ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir (England & Evans, 1997; Ferreira De Almeida et al., 2002). Çizelge 1 incelendiğinde, konukçu dışı besin olarak kabul edilen bal çözeltisinin her iki eşeyde de ömür uzunluğunu arttırdığı görülmektedir. Karbonhidrat bakımından zengin besinle beslenen parazitoitlerin başka besinlerle beslenenlere göre daha uzun yaşadıkları diğer parazitoit türleriyle yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Morales-Ramos et al., 1996; Fadamiro & Heimpel, 2001). Üç farklı besin tipi ile beslenen erginlerin ömür uzunlukları kendi içinde değerlendirildiğinde, erkek ve dişi bireylerde farklılık olduğu görülmektedir. Sadece konukçu larvası ya da konukçu larvası+bal çözeltisi kombinasyonu ile beslenen dişilerin ömür uzunlukları istatistiksel olarak farklı değilken (P>0.05), bal çözeltisi ile beslenenlerde farklı olmuştur (P<0.05). Bu durum konukçu larvasının beslenmeden çok üreme ile ilgili faaliyetlerde kullanılmasından kaynaklanmış olabilir. Buna karşın, yüzde elli oranında sulandırılmış bal ya da konukçu larvası+bal çözeltisi ile beslenen erkeklerin ömür uzunlukları arasındaki fark önemsizken (P>0.05), sadece konukçu larvası ile beslenenlerin ömür uzunlukları bu iki gruptakilerden önemli derecede farklıdır (P<0.05). Parazitoitlerde konukçu bulma ve üreme ile ilgili işlevleri aktif olarak üstlenen dişi birey olduğundan, bal çözeltisi ile ya da bal çözeltisi+konukçu larvası ile beslenen erkeklerin ömür uzunluklarının istatistiksel açıdan önemli derecede farklı olmaması da daha önce ifade edilen bulgularımızı desteklemektedir. **G. mellonella**'dan elde edilen **B. hebetor** dişileri konukçu larvası ile beslendiklerinde ortalama 29.39 gün yaşarken, % 50 oranında sulandırılmış bal çözeltisi ile beslendiklerinde 49.78 gün ve konukçu larvası+bal

çözültisi kombinasyonu ile beslendiklerinde de 33.56 gün yaşamışlardır. Söz konusu değerler erkekler için sırasıyla ortalama 7.22, 25.56 ve 26.56 gün olmuştur. **E. kuehniella**'dan elde edilen parazitoit dişilerinin ömür uzunluğu konukçu larvası ile beslenenler için ortalama 27.44 gün, bal çözültisi ile beslenenler için 46.22 gün ve konukçu larvası+bal çözültisi ile beslenenler için 32.56 gün olurken, aynı besin tipleriyle beslenen erkeklerde, ortalama ömür uzunluğu sırasıyla 5.56, 25.94 ve 25.17 gün olarak belirlenmiştir.

İki ayrı konukçudan elde edilen ve aynı besin tipi ile beslenen erginlerin ömür uzunlukları karşılaştırıldığında, besin olarak sadece gelişimlerini tamamladıkları konukçu türünün larvaları verilen dişilerin ortalama ömür uzunlukları arasındaki fark önemsiz ( $P>0.05$ ) olduğu halde, aynı şartlarda erkeklerde önemlidir ( $P<0.05$ ). İki farklı konukçudan elde edilen ve % 50 oranında sulandırılmış bal çözültisi ya da konukçu larvası+bal çözültisi kombinasyonu ile beslenen ergin dişilerin ve erkeklerin ortalama ömür uzunlukları arasındaki fark önemsizdir ( $P>0.05$ ).

Jervis & Kidd (1986), farklı parazitoit türlerinin beslenme davranışları ile ilgili olarak yapmış olduğu çalışmalarında **B. hebetor**'un synovigenik, otogen bir tür olduğunu ifade etmişlerdir. Synovigenik türlerin erginleri ergin olduklarında ya hiç ya da çok az sayıda yumurtaya sahiptir ve sahip oldukları bu az sayıdaki yumurta henüz olgunlaşmamıştır. Bu nedenle ergin dişinin besini yeni yumurtaların üretimi ve mevcut yumurtaların olgunlaştırılması açısından oldukça önemlidir. Ancak **B. hebetor** ve **Catolaccus grandis** (Burks) (Hymenoptera: Pteromalidae) gibi türlerin dahil olduğu synovigenik ve otogen türlerde (Jervis & Kidd, 1986; Morales-Ramos et al., 1996) dişiler başlangıçta beslenme olmaksızın az sayıda da olsa yumurta bırakabilirler ve bu ilk yumurtalar için gerekli kaynak yağ doku rezervlerinden sağlanmaktadır. Buna karşın, **Exeristes comstockii** (Cress) (Hymenoptera: Ichneumonidae), **Cephalonomia stephanoderis** (Betrem) (Hymenoptera: Bethyridae) gibi anotogen türlerde (Jervis & Kidd, 1986; Lauzière, et al., 2000), dişiler, yumurta bırakmak için konukçuda beslenmek zorundadırlar. Bu türlerde, büyük olasılıkla, larva döneminde alınan metabolik kaynaklar yetersizdir ve dişiler besin ihtiyaçlarını gidermek, oogenezi başlatmak ve devam ettirmek için konukçu hemolimfi ile diğer dokularını tüketirler. Konukçu ile beslenme, yumurta gelişimi için gerekli proteinleri, amino asitleri, tuzları ve vitaminleri sağlaması açısından önemlidir ve parazitoitin çoğunlukla anhidrofik (vitellüs bakımından zengin) yumurta üretimi, sınırlı yumurta depolama kapasitesine sahip olma ve konukçu bulunmadığında yumurtaları absorbe etme özelliği ile ilişkilidir (Jervis & Kidd, 1986; Lauzière, et al., 2000). Bütün otogen türler gibi, **B. hebetor** erginleri de sadece bal, şeker, polen, protein ekstraktları ve bal özü gibi konukçu dışı besinlerle beslendiklerinde de yumurta üretebilirler. Üretilen yumurtaların sayısı, verilen besin tipine bağlı olarak değişmektedir. Ancak, konukçu hemolimfi ile beslendiklerinde verimlilikleri artmaktadır (Jervis & Kidd, 1986).

Konukçu dışı besinler ergin hayatın başlangıç aşamasında, dişilerin ömür uzunluğu üzerinde konukçu ile beslenmeden daha önemli görülmektedir. **B. hebetor** ile yapılmış bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre besin olarak bal çözeltisi kullanıldığında her iki eşeyde de ömür uzunluğu belirgin olarak artmıştır. Bu nedenle bal çözeltisi **B. hebetor** erginlerini laboratuvar koşullarında uzun süre yaşatabilmek açısından oldukça önemli bir besin tipidir. Kitle üretim çalışmalarında konukçu larvası ve bal çözeltisi birlikte verilmelidir. Böylece bal çözeltisi ile parazitoitin yaşaması, konukçu larvası ile de yumurta üretimi ve üreme gibi faaliyetlerin devam ettirilmesi sağlanacaktır.

Otogen ve anotogen türlerde beslenmeye konukçu dışındaki besinlerle başlama ve bunu takiben konukçu ile beslenme, önemli bir avantaj sağlamaktadır (Jervis & Kidd, 1986). Çünkü böylelikle konukçu hemolimfindeki besinler bakım için değil üreme için kullanılmaktadır. Konukçu hemolimfi verimliliği arttırmada etkili iken konukçu dışı besinler ömür uzunluğunu arttırmada daha etkili olmaktadır (Jervis & Kidd, 1986; Morales-Ramos et al., 1996; Lauzière et al., 2000).

Bu çalışmadan elde edilen bulgular, depolarda zararlı lepidopter türleri ile savaşta **B. hebetor** popülasyonunun yeterli olmadığı durumlarda laboratuvar koşullarında kitlesel üretimi açısından önem taşımaktadır. Ancak bu konuda gelecekte yürütülecek çalışmalarla, durumun ayrıntılı olarak irdelenmesi yerinde olacaktır.

## Özet

Bu çalışmada, iki konukçu türü **Galleria mellonella** (L., 1758) ve **Ephestia kuehniella** (Zeller, 1879)'nin ve besin tipinin parazitoit **Bracon hebetor** (Say, 1836) erginlerinin ömür uzunluğuna etkisi araştırılmıştır. Denemeler,  $26 \pm 2$  °C sıcaklık, %  $60 \pm 5$  orantılı nem içeren ve sürekli olarak aydınlık koşulların bulunduğu laboratuvar koşullarında yapılmıştır.

Ergin parazitoitler, konukçu larvası, bal çözeltisi (%50), konukçu larvası+bal çözeltisi olacak şekilde üç farklı besin tipinden biri ile beslenmiştir. Besin tipinin, ergin ömür uzunluğunu etkilediği belirlenmiştir. Dişiler, her üç besin tipinde de erkeklerden daha uzun yaşamışlardır. **G. mellonella** üzerinde yetiştirilen ve denenen üç besinden, konukçu larvası, bal çözeltisi ya da konukçu larvası+bal çözeltisinden biri ile beslenen dişilerin ortalama ergin ömür uzunluğu sırasıyla 29.39, 49.78 ve 33.56 gün; erkeklerde ise 7.22, 25.56 ve 26.56 gün olarak belirlenmiştir. Buna karşılık, **E. kuehniella** üzerinde yetiştirilen ve aynı üç besin tipi ile beslenen dişilerde, ortalama ergin ömür uzunluğu sırasıyla 27.44, 46.22 ve 32.56 gün, erkeklerde ise sırasıyla 5.56, 25.94 ve 25.17 gün olarak belirlenmiştir.

## Teşekkür

**E. kuehniella** kültürünün oluşturulmasındaki katkılarından dolayı Erciyes Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim üyesi Prof. Dr. Aydın Tunçbilek'e çok teşekkür ederiz.

## Yararlanılan Kaynaklar

- Cline, L. D., J. W. Press & B. R. Flaherty, 1984. Preventing the spread of the Almond Moth (Lepidoptera: Pyralidae) from infested food debris to adjacent uninfested packages, using the parasite *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). **J. Econ. Entomol.**, **77** (2): 331-333.
- Collier, T. R., 1995. Host feeding, egg maturation, resorption, and longevity in the parasitoid *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.**, **88** (2): 206-214.
- England, S. & E. W. Evans, 1997. Effects of Pea Aphid (Homoptera: Aphididae) honeydew on longevity and fecundity of the Alfalfa Weevil (Coleoptera: Curculionidae) parasitoid *Bathyplectes curculionis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Environ. Entomol.**, **26** (6): 1437-1441.
- Fadamiro, H. Y. & G. E. Heimpel, 2001. Effects of partial sugar deprivation on lifespan and carbohydrate mobilization in the parasitoid *Macrocentrus grandii* (Hymenoptera: Braconidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.**, **94** (6): 909-916.
- Ferreira De Almeida, M. A., A. Pires Do Prado, & C. J. Geden, 2002. Influence of temperature on development time and longevity of *Tachinaephagus zealandicus* (Hymenoptera: Encyrtidae), and effects of nutrition and emergence order on longevity. **Environ. Entomol.**, **31** (2): 375-380.
- Gül, M. & A. Gülel, 1995. Parasitoid *Bracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae)' un biyolojisi ve konukçu larva büyüklüğünün verim ve eşey oranı üzerine etkisi. **T. J. of Zool.**, **19**: 231-235.
- Gülel, A., 1982. Studies on the biology of the *Dibrachys boarmiae* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitic on *Galleria mellonella* (L.). **Z. Ang. Ent.**, **94**: 138-149.
- Gülel, A., 1991. Doğal besin kalitesindeki değişikliklerin parazitoid *Dibrachys boarmiae*' nin verim ve ergin boyuna etkileri. **Doğa Tr. J. of Zool.**, **15**: 289-295.
- Harvey, J. A. & G. J. Z. Gols, 1998. The influence of host quality on progeny and sex allocation in the pupal ectoparasitoid, *Muscidifurax raptellus* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Bull. Entomol. Res.**, **88**: 299-304.
- Hentz, M., P. Ellsworth & S. Naranjo, 1997. Biology and morphology of *Chelonus sp. Nr. curvimaculatus* (Hymenoptera: Braconidae) as a parasitoid of *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.**, **90** (5): 631-639.
- Jervis, M. A. & N. A. C. Kidd, 1986. Host-feeding strategies in Hymenopteran parasitoids. **Biol. Rev.**, **61**: 395-434.
- Lauzière, I., G. Pérez-Lachaud & J. Brodeur, 2000. Effect of female body size and adult feeding on the fecundity and longevity of the parasitoid *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyridae). **Ann. Entomol. Soc. Am.**, **93** (1): 103-109.
- Morales-Ramos, J. A., M. G. Rojas & E. G. King, 1996. Significance of adult nutrition and oviposition experience on longevity and attainment of full fecundity of *Catolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.**, **89** (4): 555-563.
- Olson, D. M. & D. A. Andow, 1998. Larval crowding and adult nutrition effects on longevity and fecundity of female *Trichogramma nubilale* Ertle and Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Environ. Entomol.**, **27** (2): 508-514.

- Sokal, R. R. & F. J. Rohlf, 1981. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research, W. H. Freeman and Co., New York.
- Tunçyürek, C. M., 1972. ***Bracon hebetor*** (Say) (Hymenoptera: Braconidae) ile ***Cadra cautella*** (Walk) ve ***Anagasta kuehniella*** (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae)' ye karşı biyolojik savaş imkanları üzerinde araştırmalar, Teknik Bülten No: 20, Bornova Zirai Mücadele Araştırma Ens., İzmir.
- Uçkan, F. & A. Gülel, 2000. ***Apanteles galleriae*** Wilkinson (Hym.; Braconidae)' nin bazı biyolojik özelliklerine konukçu türün etkileri. **Tr. J. of Zool.**, **24**: 105-113.