

## ***Aonidiella aurantii* (Hemiptera: Diaspididae) ile Bulaşık ve Temiz Turunçgillerin Salgıladıkları Uçucu Organik Bileşiklerin Belirlenmesi**

**Ahmed ALSABTE<sup>1</sup>, Ali KAYAHAN<sup>1</sup>, İsmail KARACA\*<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta, Türkiye

(Alınış / Received: 31.10.2017, Kabul / Accepted: 18.01.2018, Online Yayınlanma / Published Online: 16.03.2018)

### **Anahtar Kelimeler**

Kabuklubit,  
Turunçgil,  
HS-SPME,  
Gaz Kromatografi (GC),  
VOCs

**Özet:** Bu çalışmada, temiz ve kırmızı kabuklubit (*Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae)) ile bulaşmış olan turunçgiller tarafından salgılanan uçucu organik bileşikler belirlenmek için, gaz kromatografisi (GC) ile birleşmiş olan Katı faz mikro ekstraksiyon (HS-SPME) kullanılarak, biyolojik mücadelede kullanılan çekici ve uzaklaştırıcıların belirlenmesine odaklanılmıştır. Bu çalışmada *A. aurantii* ile bulaşık ve bulaşık olmayan turunçgil bitkilerinde ortaya çıkan kimyasal bileşikler saptanmış ve >80 VOCs (uçucu organik bileşikler) belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre bunlardan dört tanesinin (Limonene,  $\beta$ -Ocimene, *p*-Cymene ve  $\gamma$ -Terpinene) *A. aurantii* bulaşması ile arttığı gözlenirken; dört tanesinde (Farnesene,  $\beta$ -Elemene,  $\beta$ -Bisabolene ve Nerol) azalma gözlenmiştir.

## **Determination of Volatile Organic Compounds Released from Citrus infected and uninfected with *Aonidiella aurantii* (Hemiptera: Diaspididae)**

### **Keywords**

Scale insect,  
Citrus,  
HS-SPME,  
Gas Chromatography (GC),  
VOCs

**Abstract:** This study was focus on identifying attractants and repellents used in biological control to identify the volatile organic compounds VOCs emitted by healthy and infested citrus seedlings with California Red Scale (*Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae)) using headspace solid-phase micro extractions (HS-SPME) combine with gas chromatography (GC). In this research we identified the chemical stimuli emanating from uninfected and infested citrus plant. We identified >80 Volatiles Organic Compounds four of these (Limonene,  $\beta$ -Ocimene, *p*-Cymene and  $\gamma$ -Terpinene) were increased by with California red scale infestation and four (Farnesene,  $\beta$ -Elemene,  $\beta$ -Bisabolene and Nerol) were decreased.

### **1. Giriş**

Turunçgil meyvelerinin insan sağlığı ve beslenmesindeki öneminin gün geçtikçe geniş kitleler tarafından daha iyi anlaşılması, bu meyvelere olan talebin artmasına neden olmuş ve bunun sonucu olarak da turunçgil üretimi dünyada önemli bir ticari boyut kazanmıştır [1]. Kaliforniya kırmızı kabuklubiti turunçgillerin tüm organlarında emgi yaparak üretimde önemli derecede ekonomik zarara neden olmaktadır [2,3]. Üreticiler bu zararıya karşı öncelikle kimyasal savaşa başvurmaktadır. Bu savaşın çevre doğal denge yararlı organizmalar ve insanlara olan olumsuz etkileri herkes tarafından bilinmektedir. Ayrıca kabuklubitlerle kimyasal mücadelede, zararlının sahip oldukları özellikler nedeniyle oldukça zordur. Bu nedenle son dönemlerde bu zararlılara karşı biyolojik mücadele

yöntemleri üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Günümüzde bitki ve böcek ilişkisini konu alan birçok çalışma yapılmış ve yapılmaya da devam etmektedir. Bitkilerin zararlılara karşı verdiği tepki, savunma ya da tolere etme şeklinde olabilmektedir. Bitkiler, zararlılara karşı çok çeşitli morfolojik ve fizyolojik savunma mekanizmasına sahiptir. Bitkilerin savunma reaksiyonunda öncelikle dikkatleri çeken etkenler; toksin, uzaklaştırıcı, beslenmeyi önleyici, sindirim zorlaştırıcı gibi doğrudan kimyasal savunma biçimleri olmuştur. Herbivorların bitkilerde beslenmesi sonucu salınan bileşikler, herbivor varlığını göstermesi açısından güvenilir bir gösterge olup, doğal düşmanların konukçu ve avlarına yaklaşmasını sağlamaktadır [4]. Bu çalışmada *A. aurantii* ile bulaşık ve bulaşık olmayan turunçgil bitkilerinin salgıladıkları uçucu organik bileşikler belirlenmiştir.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. *Aonidiella aurantii* üretimi

Çalışmada besin olarak kullanılan kabuklubit, *Aonidiella aurantii*, Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Biyolojik Mücadele Araştırma ve Uygulama Laboratuvarında yapılan kitle üretimden sağlanmıştır. Bu kabuklubitin üretimi kabak meyveleri üzerinde gerçekleştirilmiş ve *A. aurantii* ile bulaşık olan kabaklar temiz kabakların yanına konularak bulaşma sağlanmıştır.

### 2.2. Turunçgil fidanlarının temin edilmesi

Bu çalışmada kullanılan turunçgil fidanları Antalya İli Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsünden (BATEM) sağlanmıştır. Araştırmada kullanılan fidanların yaşının aynı olmasına dikkat edilmiş ve iki yıllık fidanlar tercih edilmiştir. Turunçgil fidanlarında anaç olarak turunç kullanılmıştır. Seçilen turunçgil türleri, limon, *Citrus limon* (L.) Osbeck (*Batem pınarı*) ve Mandarin, *Citrus reticulata* Blanco (*Okitsu wase*)'dir.

### 2.3. Turunçgil fidanlarının laboratuvarda muhafaza edilmesi

BATEM'den getirilen fidanlar Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Biyolojik Mücadele Araştırma ve Uygulama Laboratuvarına getirildikten sonra, poşetlerinden çıkartılan fidanlar 30 litrelik saksılara alınmıştır. Saksıların içerisi 1:1 oranında toprak torf karşımı ile doldurulmuştur. Fidanlar 25±1 °C sıcaklık ve %65±5 orantılı nem ve uzun gün aydınlatmalı (16:8) koşullara sahip iklim odasına alınmıştır.

### 2.4. Turunçgil fidanlarına *Aonidiella aurantii* bulaştırılması

BATEM'den getirilen fidanlar gerekli bakımları yapıldıktan sonra, *A. aurantii* bulaştırılmak üzere işleme alınmıştır. *A. aurantii* ile bulaşık kabaklar stereo mikroskop (Leica A60) altında alınarak yavru veren dişiler bulunmuştur. Yavru veren dişilerin kabukları kabağa zarar vermeden kaldırılmış ve aktif larva samur fırça yardımıyla turunçgil fidanlarının yapraklarına bırakılmıştır

### 2.5. GC-MS analizleri

Denemede bulaşık olmayan ve 6-10 adet *A. aurantii* ile bulaşık turunçgil yaprakları 500 ml cam şişe içerisine konulmuştur. Şişeye 2 cm çapında delik açılmış ve delik açıldıktan sonra bu çapa uygun tıpa yardımıyla delik kapatılmıştır. Daha sonra tıpa içerisine SPME (Solid Phase Micro Extraction) yerleştirilmiştir. Bu işlemden iki saat sonra SPME şişeden uzaklaştırılmış ve GC-MS cihazının enjeksiyon portuna yerleştirilmiştir. Burada turunçgillerin yaprakları salgıladıkları uçucu

bileşikler belirlenmiştir. *A. aurantii* ile bulaşık ve bulaşık olmayan yapraklar arasındaki uçucu bileşikler karşılaştırılmış ve pik yapan alanlar arasındaki varyans her bileşik için ayrı ayrı analiz edilmiştir. Bu analizlerde *A. aurantii* bireylerinin birinci dölden sonra 15 günlük olan bireylerin olduğu yapraklar tercih edilmiştir.

## 3. Bulgular

SDÜ de Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan GC-MS cihazı yardımıyla temiz ve kırmızı kabuklubit ile bulaşık turunçgil yapraklarının analiz sonuçları aşağıda verilmiştir (Tablo 1).

### 3.1. Temiz mandarin bitkilerinin analiz sonuçları

Temiz mandarin bitkilerinin GC-MS analiz sonuçlarına göre 29 uçucu organik bileşik madde belirlenmiştir. En yüksek oranda belirlenen bileşiklerin sırasıyla  $\beta$ -elemen, Farnesene, *P*-cymene, Caryophyllene,  $\gamma$ -Terpinene ve Limonene olduğu saptanmıştır (Tablo 1).

### 3.2. Temiz limon bitkilerinin analiz sonuçları

Temiz Limon bitkilerinin GC-MS analiz sonuçlarına göre 29 uçucu organik bileşik madde belirlenmiştir. En yüksek oranda belirlenen bileşiklerin sırasıyla Neryl acetate, Limonen, E-Citral, Nerol,  $\beta$ -Bisabolene ve  $\beta$ -ocimene olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1).

### 3.3. Bulaşık mandarin bitkilerinin analiz sonuçları

Bulaşık mandarin bitkilerinin GC-MS analiz sonuçlarına göre 29 uçucu organik bileşik madde belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek oranda belirlenen bileşiklerin sırasıyla *P*-Cymene,  $\gamma$ -Terpinene,  $\beta$ -elemene, Farnesene ve Limonen olduğu saptanmıştır (Tablo 1).

**Tablo 1.** Bulaşık ve bulaşık olmayan turunçgil türlerinde GC-MS analizleri sonuçları

VOCs	Limon		Mandarin	
	Bulaşık olmayan	<i>A.aurantii</i> bulaşık	Bulaşık olmayan	<i>A.aurantii</i> bulaşık
Limonene	10.76	19.61	1.97	4.28
$\beta$ -Ocimene	4.90	6.20	2.44	4.32
$\beta$ -Elemene	0.48	0.00	48	10
Bisabolene	6	2.42	---	---
Nerol	6.16	2.66	---	---
<i>P</i> -Cymene	---	---	5.27	18.40
$\gamma$ Terpinene	---	---	4.83	17.31
Farnesene	0.15	0.32	11.36	5.12

### 3.4. Bulaşık limon bitkilerinin analiz sonuçları

Bulaşık Limon bitkilerinin GC-MS analiz sonuçlarına göre 29 uçucu organik bileşik madde belirlenmiştir. Elde edilen bileşiklerden en yüksek oranda belirlenen bileşiklerin sırasıyla Limonene, Citral, Neral acetate,  $\beta$ -Ociemene, Nerol ve  $\beta$ -bisabolene olduğu saptanmıştır (Tablo 1).

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Kasali vd. [5], yaptıkları çalışmada Mandarin (*Citrus reticulata*) temiz yaprakları GC mass yardım ile test etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre çıkan uçucu organik bileşikler ( $\gamma$ -terpinene, *p*-cymene,  $\beta$ -ocimene, limonene, **b**-pinene, ve  $\alpha$ -pinene) bulunmuştur. Azam vd. [6], Mandarin (*Citrus reticulata*, *Citrus unshiu*)'in iki çeşidini kullandıkları çalışmadaki analiz sonuçlarına göre en çok ortaya çıkan maddelerin limonene,  $\gamma$  ve  $\alpha$ -terpinen,  $\beta$ -ocimene,  $\beta$ -elemene, **b**-cital,  $\alpha$ -cital, *p*-cymene, farnesene ve caryophyllene olduğu belirlenmiştir. Elde ettiğimiz verilerle literatür karşılaştırıldığında GC-MS analizleri sonucunda ortaya çıkan maddelerin benzer oldukları görülmektedir. Filamini vd. [7], yaptıkları çalışmada temiz limon yaprakları GC-MS yardımıyla test edilmiş ve elde edilen maddelerin, neral, limonene,  $\beta$ -ocimene ve trans caryophyllene olduğu belirlenmiştir. Mohammed vd. [8], yaptıkları çalışmalarında *A. aurantii* ile bulaşık ve bulaşık olmayan *Citrus aurantifolia*'nın farkını araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre ortaya çıkan bileşiklerin üçünün (limonene, **b**-pinene, *p*-cymene) *A. aurantii* bulaşması ile arttığını gözlenirken; iki tanesinde (farnesene ve  $\gamma$ -terpinen) azalma tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz verilere bakıldığında benzerlikler görülmektedir. Örneğin çalışmamızda ortaya çıkan bileşiklerin dördünde (Limonene,  $\beta$ -ocimene, *p*-cymene,  $\gamma$ -terpinen) *A. aurantii* bulaşması ile artış gözlenirken; Farnesene ve  $\beta$ -elemen maddelerinde bir düşüş olduğu saptanmıştır. Cevallos-Cevallos vd. [9] yaptıkları çalışmalarda temiz portakal (Valencia) yaprakları ve *Citrus huanglongbing* bulaşık yapraklarla yaptığı analizlere göre limonene, *p*-pinene artarken, ( $\beta$ -elemene, caryophyllene, farnesene) azalma gözlenmiştir. Elde edilen verilere bakıldığında literatürle benzerlikler olduğu gözlenmektedir. Yapılan analizlere göre *A. aurantii* ile bulaşık olan ve bulaşık olmayan turunçgillerin salgıladıkları madde oranlarında değişiklikler görülmektedir. Elde edilen sonuçların bitkilerin zararlılığının etkisini azaltmaya yönelik bir savunma davranışı olduğu ya da zararlı türün doğal düşmanlarını ortama çekici bir etkisinin olduğu düşünülmektedir.

#### Teşekkür

Çalışmayı 5016-YL1-17 No'lu Proje ile maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

#### Kaynakça

- [1] Anonim, 2007. Tarımsal Yapı, 2004. (Üretim, fiyat, değer). T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu Yayını, Ankara, 547s.
- [2] Anonim, 1991. Integrated Pest Management for Citrus. University of California, Statewide integrated pest management Project, Division of Agriculture and Natural Resources, Publication 3303, 145p.
- [3] Kansu, İ. A., Uygun, N., 1980. Doğu Akdeniz Bölgesinde Turunçgil Zararlıları ile Tüm Savaş Olanaklarının Araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları: 141, Bilimsel Araştırma ve İncelemeler, 33, 63 s.
- [4] Tunca, H., Kılınçer, N., Özkan, C., 2011. Bitkiler, Herbivorlar ve Doğal Düşmanlar Arasındaki Trofik İlişkiler Ankara Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi, 3(2), 37-45.
- [5] Kasali, A.A., Lawal, O.A., Abanikannda, O.T., Olaniyan, A.A., Setzer, W.N., 2010. Citrus Essential Oil of Nigeria Part IV: Volatile Constituents of Leaf Oils of Mandarins (*Citrus Reticulata* Blanco) From Nigeria. Records of Natural Products, 4(3), 156-162
- [6] Azam, M., Jiang, Q., Zhang, B., Xu, C., Chen, K., 2013. Citrus leaf volatiles as affected by developmental stage and genetic type. International journal of molecular sciences, 14(9), 17744-17766.
- [7] Flamini, G., Tebano, M., Cioni, P. L., 2007. Volatiles Emission Patterns of Different Plant Organs and Pollen of *Citrus limon*. Analytica Chimica Acta, 589, 120-124.
- [8] Mohammed, K., Agarwal, M., Mewman, J. Ren, Y., 2017. Optimization and Validation for Determination of VOCs from Lime Fruit *Citrus aurantifolia* (Christm.) with and without California Red Scale *Aonidiella aurantii* (Maskell) Infested by Using HS-SPME-GC-FID/MS. World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering, 9(7), 771-775.
- [9] Cevallos - Cevallos, J.M., García - Torres, R., Etxeberria, E., Reyes - De - Corcuera, J.I., 2011. GC - MS Analysis of Headspace and Liquid Extracts for Metabolomic Differentiation of Citrus Huanglongbing and Zinc Deficiency in Leaves of Valencia Sweet Orange from Commercial Groves. Phytochemical Analysis, 22(3), 236-246.