

Orijinal araştırma (Original article)

**Farklı nane türlerine ait klonların uçucu yağlarının buğday biti
[*Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae)]'ne
fumigant etkisi**

Fumigant toxicity of different mentha species against granary weevil
[*Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae)].

**Halit ÇAM¹ Ömer Cem KARAKOÇ² Ayhan GÖKÇE^{1*}
İsa TELCİ³ İbrahim DEMİRTAŞ⁴**

Summary

Fumigant toxicities of *Mentha spicata*, *Mentha villosa-nervata*, *Mentha piperita* clones and the main component of these essential oils against granary weevil [(*Sitophilus granarius* L.) (Coleoptera: Curculionidae)] were tested. *Mentha villosa-nervata* essential oil appeared to be the most toxic among the tested oils with 90% mortality. Carvone was the only toxic component of the essential oils and caused 100% mortality in 24 hours. Dose-response bioassay with the most promising *Mentha villosa-nervata*, *Mentha spicata* and carvone exhibited that carvone was the most active with LC₅₀ value of 0.024 µl/ml. This study showed that *M. villosa-nervata* and carvone had potential in control of granary weevil.

Key words: *Sitophilus granarius*, essential oil, carvone, mentha, fumigant toxicity

Özet

Bu çalışmada *Mentha spicata*, *Mentha villosa-nervata* ve *Mentha piperita*'nin klonlarından elde edilen uçucu yağlar ile bu uçucu yağların ana bileşenlerinin buğday biti [*Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae)]'ne olan fumigant etkileri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm uçucu yağlar değişik oranlarda ölümlere neden olurken, en yüksek etki %90 ölüm oranı ile *Mentha villosa-nervata* uçucu yağında belirlenmiştir. Uçucu yağların ana bileşenlerinden menton, limonen, mentol ve karvon arasında en yüksek ölüm oranı karvon'dan elde edilmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında, yüksek fumigant etki gösteren *Mentha villosa-nervata* (klon 1), *M. spicata* (klon 2 ve 9) ve karvon'un buğday biti ile aralarındaki doz-ölüm ilişkileri araştırılmıştır. Test edilen uçucu yağlar ve karvon arasında, en yüksek aktiviteyi 0.024 µl/ml LC₅₀ ile karvon'dan tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, *Mentha villosa-nervata* uçucu yağı ile özellikle karvon'un buğday bitinin mücadelesinde kullanılabilme potansiyelinin bulunduğunu göstermektedir.

Anahtar sözcükler: *Sitophilus granarius*, uçucu yağ, karvon, nane, fumigant toksisite

¹ Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 60250, Taşlıçiftlik, Tokat

² Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 18100, Çankırı

³ Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, 60150, Tokat

⁴ Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, 18100, Çankırı

* Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: ayhan.gokce@gop.edu.tr

Alınış (Received):15.06.2011 Kabul ediliş (Accepted): 11.10.2011

Giriş

Ülkemizin besin ihtiyacını karşılamada önemli bir yere sahip olan buğday, bölgelere göre değişmekle birlikte kısa ve uzun vadeli olarak çeşitli yöntemlerle depolanmaktadır. Tahıl depolarında yeterli koruma önlemlerinin uygulanmaması sebebiyle mikroorganizmalar, kemirgenler ve zararlı böcekler depolanmış ürünlerde büyük kayıplara neden olmaktadır. Modern depolama tekniklerinden hermetik depolama ve havalandırma, değiştirilmiş atmosfer ve çevre uygulamalarının kullanılmadığı ülkelerde, tahıl ve baklagillerdeki böceklerden kaynaklanan kaybın %10-40 civarında olduğu bildirilmektedir (Shaaya et al., 1997). Ülkemiz depolama koşullarında ise bu oran bazı yıllarda % 100'e kadar çıkabilmektedir (Yıldırım et al., 2001).

Bu zararı azaltabilmek amacıyla çeşitli insektisit gruplarından özellikle de organik-fosforlu ve pyretroid grubu insektisitler ile fumigantlar depo zararlısı böceklerle mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek oranda kullanılan insektisitler (organik-fosforular) depolanmış ürün zararlılarının bu kimyasallara dayanıklılık geliştirmesine neden olmaktadır (Lee & Lees, 2001). Zararlıların dayanıklılık geliştirmesi, ürünlerdeki insektisit kalıntısı gibi nedenlerden dolayı, depolanmış ürünlerdeki zararlılara karşı alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi ve uygulamaya aktarılmasına gereksinim duyulmaktadır. Bu alternatif mücadele yöntemleri içinde son yıllarda bitkisel kökenli insektisitler ile ilgili çalışmalar oldukça hız kazanmıştır (Varma & Dubey, 2001; Lee et al., 2001; 2004; Karakoç et al., 2006; Negahban et al., 2007; Rajendran & Sriranjini, 2008; Chu et al., 2010). Özellikle uçucu yağlar ve bu yağların bileşenleri, zararlılar ile mücadelede kullanılan fumigantlar için alternatif olabilecek potansiyel kaynaklar olarak öne çıkmaktadır (Huang & Ho,1998; Varma & Dubey, 2001; Lee et al., 2004; Kordali et al., 2008). Kolaylıkla distile edilebilmesi, memelilerde düşük toksisite göstermesi (bazılarının kanserojen olma potansiyeli bulunmakta), ürünlerde herhangi bir kalıntı bırakmaması (carvacrol hariç) ve depo zararlıları için yüksek toksisiteye sahip olması, uçucu yağların önemli avantajları olarak sıralanmaktadır (Shayaa et al., 1997; Rozman et al., 2006).

Uçucu yağların ilaç, kimya ve kozmetik alanlarında ekonomik öneme sahip olması nedeniyle, birçok ülkede uçucu yağ içeren aromatik ve tıbbi bitkilerin tarımı yapılmaktadır. Ülkemizde de geçmiş yıllardan beri yetiştiriciliği yapılan nane ilaç, gıda ve kozmetik sanayinde oldukça geniş bir kullanıma sahiptir (Özgülven & Kırıcı, 1999) Dünyada nane ve bileşenleriyle ilgili insektisitlere alternatif olan çeşitli çalışmalar da yapılmıştır (Pascual-Villalobos & Robledo, 1998; Lamiri et al., 2001; Clemente et al., 2003).

Bu çalışmada, ülkemizin çeşitli coğrafik bölgelerinden getirilerek Tokat' da yetiştirilen üç nane türüne ait klonlardan elde edilen uçucu yağlar ve bu uçucu yağların ana bileşenlerinin önemli depo zararlılarından buğday biti [*Sitophilus granarius* L.] (Coleoptera: Curculionidae)]' ne olan fumigant etkisi araştırılmıştır. Fumigant etki çalışmalarında yüksek oranda ölümlere neden olan uçucu yağlar ve uçucu yağların ana bileşenlerinden karvon ile buğday biti arasındaki doz-etki ilişkisi incelenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Sitophilus granarius (L.) yetiştirilmesi

Denemede kullanılan buğday biti erginleri Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde bulunan stok kültürlerinden elde edilmiştir. Çalışmada kullanılmak üzere aynı yaşta bireyler elde etmek amacıyla, 5 lt'lik cam kavanozlara 1/3 oranında buğday konulmuştur. Çalışmada kullanılan buğdaylar herhangi bir zararlı enfeksiyonundan temiz hale getirmek amacıyla, çalışmada kullanılmadan hemen önce bir hafta süreyle -20°C'de bekletilmişlerdir. Stok kültürden elde edilen ergin bireyler bu kavanozlara aktararak 48 saat süreyle yumurta bırakmaları sağlanmıştır. Bu süre sonunda, tüm erginler kavanozlardan uzaklaştırılmış ve sadece yumurta ile bulaşık materyalin kalması sağlanarak 27±2°C sıcaklıkta, % 50±10 orantılı nem ve karanlık koşullarda 45 gün süreyle inkübe edilerek çıkan erginler denemelerde kullanılmıştır.

Bitki materyali

Çalışmada kullanılan nane türlerine ait klonlar ve orijinleri Çizelge 1’de verilmiştir. Denemede kullanılan tüm nane türlerinin klonları, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi deneme alanında 2010 yılında yetiştirilmiştir. Temmuz sonunda hasat edilen bitki örnekleri gölgede ve oda sıcaklığında sabit ağırlığa (%11-13 nem) gelinceye kadar kurutulmuştur. Kuruyan bitki materyalleri uçucu yağlar elde edilinceye kadar oda sıcaklığında, karanlık koşullarda ve kese kağıtları içinde saklanmıştır.

Çizelge 1. Denemede kullanılan nane türlerinin klonları ve orijinleri

Türü	Klon no	Orijini
<i>Mentha spicata</i>	K1	Samsun
<i>Mentha spicata</i>	K2	Çorum
<i>Mentha spicata</i>	K3	Manisa
<i>Mentha spicata</i>	K4	Tokat
<i>Mentha spicata</i>	K5	Elazığ
<i>Mentha spicata</i>	K6	Karaman
<i>Mentha spicata</i>	K7	Amasya
<i>Mentha spicata</i>	K8	Tokat
<i>Mentha spicata</i>	K9	Nevşehir
<i>Mentha villosa-nervata</i>	K1	Amasya
<i>Mentha villosa-nervata</i>	K2	Osmaniye
<i>Mentha villosa-nervata</i>	K3	Antalya
<i>Mentha villosa-nervata</i>	K4	Amasya
<i>Mentha piperita</i>	K1	Gaziantep
<i>Mentha piperita</i>	K2	Adana

Uçucu yağların eldesi

Çalışmada kullanılan uçucu yağlar, Telci et al. (2006)’da tanımlanan yöntem ile elde edilmiştir. Elli gram kuru bitki materyali 1000 ml balon jöjelere aktarılmış ve üzerine 500 ml su (1:10) ilave edilerek Neo Clevenger cihazına yerleştirilmiştir. İki saat süreyle distilasyon işlemi devam ettirilmiş ve elde edilen yağlar cam şişelere alınarak çalışmada kullanıncaya kadar 4°C’de buzdolabında saklanmıştır.

Uçucu yağ bileşen analizleri

Farklı nane klonlarının uçucu yağ bileşenleri ve bunların oransal değerleri Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya bölümünde bulunan Gaz Kromatografi (Perkin Elmer 500 GC) cihazı ile belirlenmiştir. Uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla, Gaz Kromatografi - Flame Ionization Detection (GC-FID) sistemi kullanılmıştır. Distilasyon sonucu elde edilen uçucu yağlar 1:10 (v/v) oranında aseton ile seyreltilerek 0.1 µL’lik hacim, cam şırınga ile BPX5 kolona (30m x 0.25mm x 0.25µm film) enjekte edilmiştir. Sistemde taşıyıcı gaz olarak 5 Psi basınçta helyum kullanılmış ve enjeksiyon bloğu sıcaklığı 230 °C, FID dedektör sıcaklığı 250 °C olarak belirlenmiştir. FID kolon sıcaklığı, 50 °C den başlatılmış ve her dakikada 3 °C artırılarak son sıcaklığı 230 °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Örnekler başlangıç sıcaklığında 3 dakika, bitiş sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Bileşenlerin oransal değerleri düzeltme faktörü kullanılmaksızın FID alanına göre % olarak belirlenmiştir.

Uçucu yağ bileşenlerinin belirlenmesi Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) (Perkin Elmer 500 GC) ile yapılmıştır. Bileşenlerin ayırımı için 70 eV iyonizasyon enerjili, elektron iyonizasyon sistemi kullanılmıştır. Örnekler hacimce %10’luk (v/v) olacak şekilde aseton ile seyreltilmiş ve bu örneklerden 1.0 µL hacim, cam şırınga ile BPX5 (30m x 0.25mm x 0.25µm film) kolona enjekte edilmiştir.

Sistemde 1.3 ml/min akış hızında helyum taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. Çalışmada enjeksiyon bloğu sıcaklığı 230 °C, dedektör sıcaklığı 250 °C olarak kullanılmıştır. Elde edilen kütle spektrumları WILLEY ve NIST kütüphanelerinde bulunan bileşenlerin spektrumlarıyla karşılaştırılarak tanımlanmıştır. Aynı zamanda bileşenlerin retention time (RT)'ları, laboratuarda bulunan standart RT değerleri ile karşılaştırılmış ve normal alkanların homolog serilerinin referansı ile hesaplanan retention indeksleri (RI) hesaplanıp karşılaştırılarak da isimlendirmeler teyit edilmiştir.

Nane kemotiplerinin uçucu yağları ve ana bileşenlerinin buğday bitine olan fumigant etkileri

Çalışmada farklı nane kemotiplerinden elde edilen uçucu yağların buğday bitine olan fumigant etkileri araştırılmıştır. Deneme için 10 ml hacimli ve sıkıştırılabilen kapaklı cam tüpler kullanılmıştır. Cam tüpler, steril 5 gr buğday ile doldurulmuş ve her birinin içine 10 adet ergin birey konulmuştur. Whatman filtre kağıdından 10 mm'lik diskler kesilerek bunlar bir toplu iğne ile denemede kullanılan cam tüplerin kapaklarına sabitlenmiştir. Uçucu yağlar veya ana bileşenleri aseton ile %10'luk uçucu yağ/aseton (v/v) karışımı olacak şekilde seyreltilmiş ve bu karışımdan 10 µl'lik hacim, Gilson™ pipet yardımıyla filtre kağıtlarına emdirilmiştir. Emdirme işleminden sonra asetonun uçması için 5 dakika süreyle çeker ocak altında bekletilmiştir. Bu süre sonunda, filtre kağıtları toplu iğne yardımıyla cam tüplerin kapaklarına sabitlenmiş ve kapaklar cam tüplerin üzerine kapatılarak 25° C'de ve karanlık şartlarda 24 saat boyunca iklim odalarında (Sanyo MIR-251) inkübe edilmiştir. Yirmidört saat sonunda meydana gelen ölümler sayılarak kaydedilmiştir. Çalışma tesadüf blokları deneme desenine göre kurulmuştur. Tüm deneme üç kez tekrar edilmiş ve her tekrar da 3 tekerrürden oluşmuştur.

Çalışmanın ikinci kısmında GC-MS ve GC-FID sonucunda belirlenen nane uçucu yağlarının ana bileşenleri menton, limonen, mentol ve karvon'un buğday bitine olan fumigant etkileri araştırılmıştır. Çalışma yukarıda belirtildiği gibi yürütülmüş olup, tesadüf blokları deneme deseni kullanılmıştır. Her bir ana bileşen için her bir tekrarda 3 tekerrür bulunmakta ve tüm deneme 3 defa tekrar edilmiştir.

Nane klonlarının fumigant etkisi

Üç nane klonu (klon 2,4 ve 15) ile en yüksek aktivite gösteren nane uçucu yağının ana bileşeni karvon'la yukarıda ayrıntılı biçimde belirtildiği gibi doz-ölüm çalışmaları yürütülmüştür. Çalışmada ön denemelerle belirlenmiş olan 0.005, 0.01, 0.05, 0,1 ve 0,2 µl/ml 'lik dozlar kullanılmıştır. On mikro litre bu dozları içeren uçucu yağ-aseton karışımları yukarıda belirtildiği gibi filtre kağıtlarına emdirilmiş ve kağıtlar cam tüplerin kapaklarına sabitlenmiştir. Cam tüpler kapatılarak 25°C'de, karanlık şartlarda 24 saat boyunca iklim odalarında inkübe edilmiştir. Meydana gelen ölümler 24 saat sonunda sayılarak kaydedilmiştir. Kontrol de ergin buğday bitleri 10 µl aseton ile muamele edilmiştir. Çalışma tesadüf blokları deneme desenine göre kurulmuştur. Her bir blok test edilen tüm dozlar ve kontrolden oluşmaktadır. Tüm deneme üç kez tekrar edilmiş olup, her tekrar 3 tekerrürden oluşmaktadır.

İstatistiksel analizler

Farklı kemotiplerden elde edilen uçucu yağlar ile uçucu yağların ana bileşenlerinin fumigant etkileri ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Tek-Doz tarama testlerinde elde edilen veriler, ilk olarak % ölüm değerlerine çevrilmiş daha sonra arcsin transformasyonuna tabi tutulmuşlardır (Zar, 1996). Transformasyonu takiben, değerler ile varyans analizi yapılmış, muameleler arasındaki farklılıklar % 5 önem seviyesinde Tukey çoklu karşılaştırma testiyle karşılaştırılmıştır. Tüm istatistiksel analizler MINITAB Release 14 paket programı yardımıyla yürütülmüştür (McKenzie & Goldman, 2005). Doz-ölüm denemesi sonucunda elde edilen veriler Polo-PC probit paket programı (Leora, 1994) yardımıyla analiz edilerek LC₅₀ ve LC₉₀ değerleri ile bu değerlerin güven aralıkları ve slope değerleri belirlenmiştir.

Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Farklı nane türlerine ait klonların buğday bitine olan fumigant etki denemeleri sonucunda, tüm nane türlerinin klonlarının değişen oranlarda ölümlere neden olduğu ve aralarında istatistiksel olarak fark bulunduğu saptanmıştır ($F=16,89$; $s.d.=15,32$; $P<0.05$) (Çizelge 2). En yüksek ölüm oranı %90 ile *M.villosa-nervata*'nın 1 numaralı klonunda belirlenmiş bu değeri sırasıyla % 75'lik ölüm oranı ile *M. spicata* klon 9 ve %71'lik ölüm oranı ile yine *M. spicata*'nın klon 2 izlemiştir. Yüksek etki gösteren bu üç klon arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık bulunmamaktadır ($P>0.05$).

Çizelge 2. Farklı nane türlerine ait klonlardan elde edilen uçucu yağların *Sitophilus granarius*'a olan fumigant etkileri

Muamele	% Ölüm±%SHO*
Kontrol	0,00±0,00e ¹
<i>Mentha spicata</i> K1	63,90±0,90bc
<i>Mentha spicata</i> K2	72,54±0,05ab
<i>Mentha spicata</i> K3	55,02±0,17bcd
<i>Mentha spicata</i> K4	51,67±0,03bcd
<i>Mentha spicata</i> K5	25,00±0,00d
<i>Mentha spicata</i> K6	50,00±0,17bcd
<i>Mentha spicata</i> K7	24,83±0,22cd
<i>Mentha spicata</i> K8	39,95±0,17cd
<i>Mentha spicata</i> K9	75,17±0,22ab
<i>Mentha villosa-nervata</i> K1	90,40±0,25a
<i>Mentha villosa-nervata</i> K2	66,69±0,03ab
<i>Mentha villosa-nervata</i> K3	36,60±0,12bcd
<i>Mentha villosa-nervata</i> K4	44,90±0,68bcd
<i>Mentha piperita</i> K1	36,60±0,12bcd
<i>Mentha piperita</i> K2	58,34±0,03bcd

¹ Aynı sütundaki ortalamaları takip eden farklı küçük harfler, ortalamaların istatistiksel olarak önemli derecede farklı olduğunu gösterir (Anova $P<0,05$, Tukey test).

* SHO=Standart Hata Ortalaması.

Test edilen klonlar arasında en düşük ölüm oranı (%25) *M. spicata*'nın 5 numaralı klonundan elde edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan nane türlerine ait klonların tümü aynı koşullarda yetiştirilerek aynı zamanda hasat edilmiştir. Hasat edilen örnekler benzer işlemlere (kurutma, uçucu yağların distilasyonu) tabi tutulmasına rağmen, içerdikleri farklı kimyasal maddelerin değişen oranlarda fumigant etkilere neden olduğu düşünülmektedir. Benzer sonuçlar farklı araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Don-Pedro, 1996; Lee et al., 2001a,b).

Farklı nane çeşitlerinin klonlarından elde edilen uçucu yağların ana bileşenleri Çizelge 3'de verilmiştir. Araştırmada kullanılan nane çeşitlerine ait klonların uçucu yağ bileşenleri bakımından türler arası ve tür içi farklılıklar belirlenmiştir. GC-FID sonuçlarına göre *M.piperita* yüksek oranda menton ve mentol içerirken, *M. spicata* ve *M. villosa-nervata* da bu iki bileşik oranının ya çok düşük ya da hiç bulunmadığı ortaya konulmuştur. Buna karşılık, bu iki tür de (*M.spicata* klon 4 hariç) daha yüksek oranda karvon içerdiği belirlenmiştir.

Mentha spicata'nın iki farklı kemotipinin bulunduğu, bu kemotiplerden birinci grupta bulunanların (klon 1,2,3,5,6,7,8 ve 9) karvon bakımından zengin olduğu, ikinci grupta yer alan 4 no'lu klonun ise pulegon ve piperiton bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. *M. villosa-nervata* türüne ait 1, 2, 3 ve 4 no'lu klonların tümünde ana bileşen olan karvon'un en yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir. Bu klonlar arasında karvon oranları en yüksek %72 ile 3 no'lu klondan tespit edilmiştir. Diğer önemli bileşenlerin ise limonen ve 1,8 cineol olduğu saptanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalara paralel olarak, *M. piperita* klonlarında en fazla bulunan bileşenler olarak mentol ve menton saptanmıştır (Telci et al., 2011).

Çizelge 3. Farklı nane türlerine ait klonların uçucu yağ kompozisyonları*

Bileşenler	Klonlar															
	<i>Mentha spicata</i>									<i>Mentha villosa-nervata</i>				<i>Mentha piperita</i>		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	1	2	
β-phellandrene	-	-	0,69	-	-	0,47	-	-	0,36	0,39	-	-	0,32	0,22	-	
β-pinene	-	-	1,01	0,86	-	1,08	0,36	-	0,66	0,88	0,39	-	0,31	0,6	0,37	
β-myrcene	1,2	-	0,82	1,01	-	0,62	0,39	-	0,39	0,68	0,34	-	-	0,14	-	
3-octanol	0,35	0,29	-	-	0,27	0,25	0,42	-	0,29	-	-	-	-	0,42	0,39	
α-terpinen	-	-	-	0,29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,13	
D-limonen	5,63	1,12	6,89	5,3	2,72	12,45	5,75	1,16	4,96	6,46	3,53	0,6	4,53	1,11	0,86	
Eucalyptol	5,95	2,05	14,42	5,64	2,46	6,4	6,26	3,93	5,23	7,11	6,41	0,49	5,45	4,91	4,03	
β-ocimene	0,29	-	-	0,47	-	0,24	0,41	-	-	0,63	0,41	-	0,42	0,2	0,16	
γ-terpinene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,21	-	-	-	0,36	
Sabinen hydrate	3,79	2,35	0,97	1,7	2,64	0,91	2,67	1,15	1,34	-	-	3,15	-	3,18	2,27	
Ocimene	4,42	6,66	0,29	-	-	-	-	-	1,18	-	0,21	0,31	-	0,52	0,63	
Menthone	0,42	0,28	-	0,27	-	-	-	0,71	-	1,06	-	-	-	23,9	31,54	
Borneol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,54	0,6	1,17	-	-	
Menthofuran	-	-	0,29	-	0,87	-	-	0,38	-	-	-	-	-	-	-	
Isoborneol	-	0,35	-	1,46	-	-	-	0,68	0,33	-	-	-	-	6,12	-	
Mentol	1,26	0,8	-	0,44	-	-	-	0,67	-	2,12	-	-	-	41,2	23,66	
4-terpineol	1,15	1,36	0,63	0,31	2,04	0,78	1,71	1,8	1,6	-	0,19	0,9	0,2	1,04	1,5	
α-terpineol	-	0,45	1,01	-	0,23	0,21	-	0,92	0,5	0,31	0,3	-	0,24	0,81	0,26	
Dihydrocarveol	2,3	1,12	12,17	-	1,86	4,34	12,1	2,67	-	2,16	-	-	3,46	-	-	
(+)-Dihydro-carvone	2,06	1,83	-	-	3,53	-	-	3,76	3,93	3,78	10,0	3,74	3,68	-	-	
Carvomenthone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,24	-	-	-	-	
Pulegone	-	-	0,3	29,7	4,48	-	0,29	-	-	-	-	-	-	0,23	0,39	
Carvone	47,3	59,35	39,2	0,34	57,6	63,95	45,1	44,9	63,35	48,6	61,9	71,8	64,0	-	-	
Isopiperitenon	-	-	-	0,44	-	-	-	-	-	-	-	0,25	-	0,7	0,69	
Iso-piperitenone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,16	1,21	
p-mentha-3,8-diene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,45	0,32	0,27	0,19	4,37	3,03	
(+)-trans isolimonene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,1	7,12	-	7,48	-	-	
Isolimonene	1,77	0,71	1,96	-	0,43	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	
Piperitone	-	-	0,37	28,08	2,39	0,23	-	-	0,35	-	-	-	-	-	-	
Eugenol	0,96	4,96	0,31	0,31	-	-	-	0,79	0,44	0,74	-	-	-	-	-	
α-copaene	0,41	-	-	0,43	-	-	0,73	-	0,31	-	-	-	-	-	-	
β-bourborene	2,23	1,13	2,18	-	0,35	1,27	3,31	4,47	2,23	1,39	1,55	4,1	1,95	0,4	0,45	
Trans-caryophyllene	5,99	2,56	7,39	-	4,01	1,81	6,69	12,07	3,67	1,61	1,04	4,09	1,4	2,35	2,26	
α-humulone	0,4	-	0,31	6,82	-	-	-	0,53	-	0,45	-	-	-	-	-	
β-cubebene	-	0,32	0,46	0,27	-	-	0,52	0,79	0,32	0,31	0,37	0,29	0,4	-	-	
Germacrene D	2,48	2,58	2,52	-	2,84	1,5	2,73	2,71	1,96	1,61	1,49	3,33	1,1	2,79	3,17	
δ-cadinene	0,28	0,35	0,33	2,89	-	-	0,84	0,67	-	0,46	0,31	0,8	0,37	-	-	
Caryophyllene oxide	0,61	-	0,73	0,39	0,79	-	0,73	1,66	0,59	-	-	0,61	-	1,57	1,77	
α-cadinol	-	-	-	0,41	-	-	-	-	-	-	0,21	-	0,22	-	-	

*Tablodaki değerler maddelerin % oranlarını belirtmektedir.

Her üç türe ait klonlarda yüksek oranda bulunan monoterpenlerden menton, limonen, mentol ve karvon'un buğday bitine olan fumigant etkilerinin sonuçları Çizelge 4'te verilmiştir. Test edilen bu ana bileşenlerden sadece karvonda yüksek oranda ölüm elde edilmiştir (%100). Diğer bileşenlerin ölüm oranının çok düşük olduğu ya da hiç ölüme neden olmadığı tespit edilmiştir. Karvon'dan elde edilen ölüm oranının kontrol ve diğer ana bileşenlerden istatistiksel olarak farklı olduğu saptanmıştır ($F=649,91$; $s.d.=4,10$; $P<0.05$). Çeşitli zararlılara karşı test edilen bitkisel uçucu yağların kimyasal kompozisyonlarında yer alan özellikle monoterpenlerden karvon'un birçok zararlıya karşı yüksek fumigant aktivite gösterdiği çeşitli araştırmacılar tarafından da belirtilmiştir (Dubey et al., 2008; Abdelgaleil et al., 2009; Lopez & Pascual-Villalobos, 2010).

Çizelge 4. Uçucu yağların ana bileşenlerinin *Sitophilus granarius*'a fumigant etkisi

Muamele	% Ortalama ölüm±%Standard Hata Ortalaması
Kontrol	0,00±0,00b ¹
Menton	0,37±0,37b
Limonen	0,00±0,00b
Mentol	0,00±0,00b
Karvon	100,00±0,00a

¹ Aynı sütundaki ortalamaları takip eden farklı küçük harfler, ortalamaların istatistiksel olarak önemli derecede farklı olduğunu gösterir (Anova $P<0,05$, Tukey test).

Tek doz tarama testlerinde yüksek aktivite gösteren *M. spicata* (klon 2 ve 9), *M. villosa-nervata* (klon 1) ve bu uçucu yağların ana bileşenlerinden karvon ile *S. granarius* arasındaki doz-etki denemelerinden elde edilen sonuçlar Çizelge 5'de verilmiştir. Karvon, en yüksek ölüm oranına neden olurken LC_{50} değeri 0.024 $\mu\text{l/ml}$ olarak hesaplanmış ve bu değer test edilen tüm uçucu yağlardan farklı bulunmuştur. Uçucu yağlar arasında en yüksek ölüm oranını *M. villosa - nervata* klon 1'e ait uçucu yağ göstermiş olup LC_{50} değeri 0.074 $\mu\text{l/ml}$ olarak belirlenmiştir. Hesaplanan LC_{90} değerleri karşılaştırıldığında, yine en yüksek etki karvon'da belirlenmiştir. Karvon ve *M. villosa-nervata*'ya ait uçucu yağların LC_{90} değerleri arasında farklılık bulunmazken, karvonun LC_{90} değerinin her iki *M. spicata* klonuna ait uçucu yağların LC_{90} değerlerinden farklı olduğu saptanmıştır. Özellikle *Mentha* cinsine ait türlerin içerdiği monoterpenlerin depo zararlısı türlere karşı yüksek oranda fumigant aktivite gösterdiği daha önce Rajendran & Sriranjini (2008) ve Lopez & Pascual-Villalobos (2010) tarafından da bildirilmiştir. Abdelgaleil et al. (2009), bitkisel uçucu yağların ana bileşenlerinin *Sitophilus oryzae* ve *Tribolium castaneum*'a olan kontak ve fumigant etkilerini araştırmışlar ve yaptıkları çalışmada karvon'un *S.oryzae*'ya en yüksek oranda fümigant etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Çizelge 5. Farklı nane türleri ve uçucu yağ ana bileşeni karvon ile *Sitophilus granarius* arasındaki doz-etki deneme sonuçları

	LC_{50} ($\mu\text{l/ml}$) (Güven Aralığı)	LC_{90} ($\mu\text{l/ml}$) (Güven Aralığı)	Eğim±Standart Hata	χ^2
<i>Mentha spicata</i> K2	0.082 (0.071-0.094)	0,165 (0,139-0,211)	4.25±0.59	5.49
<i>Mentha villosa-nervata</i> K1	0.074 (0.067-0.080)	0,100 (0.091-0,113)	9.72±1.33	3.22
<i>Mentha spicata</i> K9	0.078 (0.064-0.092)	0,142 (0,124-0,213)	4.43±0.62	6.01
Karvon	0.024 (0.019-0.031)	0.072 (0.055-0,104)	2.72±0.28	12.93

Farklı nane türlerine ait klonlardan elde edilen uçucu yağların ülkemizde ve subtropik bölge ülkelerinde depolanmış tahıllarda önemli kayıplara neden olan buğday bitine fümigant etki gösterdiği belirlenmiştir. Yine bu çalışmada uçucu yağ ana bileşenlerinden karvon'un da yüksek oranda fümigant etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bundan sonraki çalışmalarda, yüksek etki gösteren *M. villosa - nervata* ve *M.spicata*'ya ait uçucu yağlar ile uçucu yağ ana bileşenlerinden karvon'un farklı sıcaklıklarda buğday bitine olan fumigant etkileri ile zaman – ölüm [Lethal time (LT₅₀)] ilişkilerinin araştırılması gerektiği düşünülmektedir. Yapılacak olan bu çalışmalar ile *M. villosa- nervata* ve *M.spicata*'ya ait uçucu yağlar ve karvon'un *S.granarius* ile mücadelede kullanılabilme potansiyelinin tam olarak ortaya çıkmasında fayda sağlayacağı şüphesizdir. Şimdiye kadar yapılan çalışmaların pratiğe uygulanamamasının önündeki en büyük engellerden birisi de uçucu yağlarda standardizasyon sağlanmasının güçlüğü olarak ortaya çıkmaktadır. Özellikle disiplinler arası yapılacak olan çalışmalarla bu konuda kaydedilecek olan ilerlemeler, uçucu yağların tarımsal zararlılar ve özellikle de depo zararlıları ile mücadelede kullanılma imkânlarını artıracakı düşünülmektedir.

Yararlanılan Kaynaklar

- Abdelgaleil, S. A. M., M. I. E. Mohamed, M.E.I. Badawy, & S. A. A. El-Arabi, 2009. Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. *Journal of Chemical Ecology*, 35: 518–525.
- Chu, S. S., Q. R. Liu & Z. L. Liu, 2010. Insecticidal activity and chemical composition of the essential oil of *Artemisia vestita* from China against *Sitophilus zeamais*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38 (4): 489-492.
- Clemente, S., G. Mareggiani, A. Broussalis, V. Martino & G. Ferraro, 2003. Insecticidal effects of Lamiaceae species against stored products insects. *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 29: 1-8.
- Don-Pedro, K. N., 1996. Fumigant toxicity of citrus peel oils against adult and immature stages of storage insect pests. *Pesticide Science*, 47 (3): 213–223.
- Dubey, N. K., B. Srivastava & A. Kumar, 2008. Current status of plant products as botanical pesticides in storage pest management. *Journal of Biopesticides*, 1: 182-186.
- Huang, Y., & S.H. Ho, 1998. Toxicity and antifeedant activities of cinnamaldehyde against the grain storage insects, *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Journal of Stored Products Research*, 34 (1): 11-17.
- Karakoç, Ö. C., A. Gökçe & İ. Telci, 2006. Fumigant activity of some plant essential oils against *Sitophilus oryzae* L., *Sitophilus granarius* L. (Col.: Curculionidae) and *Acanthoscelides obtectus* Say. (Col.: Bruchidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 30 (2): 123-135.
- Kordali, S., A. Cakır, H. Ozer, R. Cakmakci, M. Kesdek & E. Mete, 2008. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology*, 99 (18): 8788-8795.
- Lamiri, A., S. Lhaloui, B. Benjilali, & M. Berrada, 2001. Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). *Field Crops Research*, 71 (1): 9–15.
- Lee, S. E., & E. M. Lees, 2001. Biochemical mechanisms of resistance in strains of *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) resistant to malathion and chlorpyrifos-methyl. *Journal of Economic Entomology*, 94 (3): 706-713.
- Lee, B. H., W. S. Choi, S. E. Lee & B. S. Park, 2001a. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the Rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protection*, 20 (4): 317-320.
- Lee, S. E., B. H. Lee, W. S. Choi, B. S. Park, J. G. Kim, & B. C. Campbell, 2001b. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the Rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Pest Management Science*, 57: 548-553.
- Lee, B. H., P. C. Annis, F. Tumaalii & W.S. Choi, 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 40 (5): 553-564.
- Leora Software, 1994. Polo-PC a user's guide to Probit or Logit analysis, 1119 Shattuck Avenue, Berkeley, CA, 94707.

- Lopez, M. D. & M. J. Pascual-Villalobos, 2010. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products*, 31: 284–288.
- Mckenzie, J. D. & R. Goldman, 2005. *The Student Guide to MINITAB Release 14 Manual*. Pearson Education, Boston, MA.
- Negahban, M., S. Moharrampour, & F. Sefidkon, 2007. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 43 (2): 123-128.
- Özgüven, M. & S. Kırıcı, 1999. Farklı ekolojilerde nane (*Mentha*) türlerinin verim ile uçucu yağ oranı ve bileşenlerinin araştırılması. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23: 465–472.
- Pascual-Villalobos, M. J. & A. Robledo, 1998. Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. *Industrial Crops and Products*, 8: 183-194.
- Rajendran, S. & V. Sriranjini, 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Products Research*, 44 (2): 126-135.
- Rozman, V., I. Kalinovic & A. Liska, 2006. "Bioactivity of 1,8-cineole, camphor and carvacrol against rusty grain beetle (*Cryptolestes ferrugineus* Steph.) on stored wheat, 687–694". In: *Proceedings of the Ninth International Working Conference on Stored Product Protection* (Eds.: I. Lorini, B. Bacaltchuk, H. Beckel, D. Deckers, E. Sundfeld, J. P. dos Santos, J. D. Biagi, J. C. Celaro, L.R.D'A. Faroni, L. de O. F. Bartolini, M. R. Sartori, M. C. Elias, R. N. C. Guedes, R.G. De-Fonseca, V. M. Scussel) Brazilian Post-harvest Association, Campinas, Sao Paulo, 1359 pp.
- Shaaya, E., M. Kostjucovski, J. Eilberk & C. Sukprakarn, 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 33 (1): 7-15.
- Telci, I., E. Bayram, G. Yılmaz & B. Avcı, 2006. Variability in essential oil composition of Turkish basil (*Ocimum basilicum* L.). *Biochemical Systematics and Ecology*, 34: 489-497.
- Telci, İ., O. Kacar, E. Bayram, O. Arabacı, İ. Demirtaş, G. Yılmaz, İ. Özcan, Ç. Sönmez & E. Göksu, 2011. The effect of ecological conditions on yield and quality traits of selected peppermint (*Mentha piperita* L.) clones. *Industrial Crops and Products*, 34 : 1193-1197
- Varma, J. & N. K. Dubey, 2001. Efficacy of essential oils of *Caesulia axillaris* and *Mentha arvensis* against some storage pests causing biodeterioration of food commodities. *International Journal of Food Microbiology*, 68 (3): 207-210.
- Yıldırım, E., H. Özbek & İ. Aslan, 2001. *Depolanmış Ürün Zararlıları*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Erzurum, 117 s.
- Zar, J. H., 1996. *Biostatistical Analysis*. 3rd Ed., Prentice Hall Inc. New Jersey, USA.

