

***Nepeta transcaucasica* Grossh. Esansiyel Yağının Bazı Kültür Bitkileri ve Zararlı Otlar Üzerinde Herbisidal Etkisinin İncelenmesi**

Sinem Karakuş^{1*} Deniz Tiryaki² İhsan Aydın³ Ökkeş Atıcı²

¹Hakkari Üniversitesi, Çölemerik MYO, Hakkari

²Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzurum

³Gümüşhane Üniversitesi Şiran Mustafa Beyaz MYO, Gümüşhane

*e-mail: sinemkarakus@hakkari.edu.tr

Geliş tarihi/Received:02/07/2019

Kabul tarihi/Accepted:25/09/2019

Özet

Nepeta transcaucasica Grossh.'dan ekstrakte edilen esansiyel yağın (EY) bazı kültür bitkileri (*Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*) ve zararlı otların (*Cynodon dactylon*, *Amaranthus retroflexus*, *Onopordium acanthium*) tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerinde herbisidal etkileri araştırılmıştır. EY, *N. transcaucasica*'dan hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilmiş ve bitkilere ait tohumlar 0, 2, 5, 10 ve 20 µL/L EY konsantrasyonlarında Petri ortamında çimlenmeye maruz bırakılmıştır. Tohumların çimlenme yüzdeleri (günlük) ve fidelerin kök-gövde uzunlukları ile kuru ağırlıkları (6. gün) belirlenmiştir. İlave olarak, çimlenmenin 12., 24. ve 72. saatlerinde tohumların endospermlerinde α-amilaz aktivitesi ölçülmüştür. Çalışmada GC/MS ile analiz edilen *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY'nin, en fazla nepetalakton (%93.75) içerdiği belirlenmiştir. EY, tüm konsantrasyonlarında, zararlı ot tohumlarının çimlenmesini hem geciktirmiş hem de önemli oranda inhibe etmiştir. İnhibisyon derecesi artan EY konsantrasyonuna bağlı olarak yükselmiştir. EY uygulamaları, çimlenen zararlı ot tohumlarında fide kök-gövde uzunlukları ve kuru ağırlık üzerinde de güçlü inhibisyona neden olmuştur. Buna karşılık mısır, arpa ve buğday tohumlarının çimlenmesi EY konsantrasyonları ile hafif inhibe olmuştur. EY uygulamaları, zararlı ot tohumlarının α-amilaz aktivitesi üzerinde, çimlenme yüzdesinde olduğu gibi, güçlü inhibisyon yapamamış ve sadece ilk 24. saatte enzimi önemli oranda inhibe etmiştir. Aynı uygulamalar, arpa ve buğday tohumlarında α-amilaz aktivitesini stimüle ederken, mısırdaki hafif inhibisyona neden olmuştur. Sonuçlarımız, *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY'nin çalışılan zararlı otların tarımsal alanlarda mücadelesinde, doğal bir herbisit olarak kullanılabilme potansiyelini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Amilaz, Fitotoksite, Esansiyel yağ, Çimlenme, Biyoherbisit, Allelopati, *Nepeta transcaucasica*

Investigation of Herbicidal Effects of Essential Oil of *Nepeta transcaucasica* Grossh. on Some Cultivated and Weed Plants

Abstract

The herbicidal effects of essential oil (EO) extracted from *Nepeta transcaucasica* Grossh. were investigated on seed germination and seedling growth of some cultivated plants (*Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*) and weeds (*Cynodon dactylon*, *Amaranthus retroflexus*, *Onopordium acanthium*). EO was obtained from *N. transcaucasica* by hydrodistillation and the seeds of the plants were exposed to germination at 0, 2, 5, 10 and 20 µL/L concentrations of the EO in Petri dish. Germination percentage of seeds (daily), the root-stem length and the dry weight of seedlings (day 6) was determined. In addition, α-amylase activity was measured in the endosperm of seeds at 12th, 24th and 72th hours of germination period. In the study, EO of *N. transcaucasica* analyzed by GC/MS was found to contain the most nepetalactone (93.75%). EO, at all concentrations, both delayed and significantly inhibited the germination of weed seeds. The inhibition degree raised depending on the increasing EO concentrations. EO applications also caused a strong inhibition on the root-stem length and dry weight in the germinating weed seeds. In contrast, the germination of corn, barley and wheat seeds was slightly

inhibited by EO concentrations. EY applications did not exhibit a strong inhibition on α -amylase activity of the weed seeds, like in the percentage of germination, and only significantly inhibited the enzyme in the first 24 hours. The same applications stimulated α -amylase activity in barley and wheat seeds while decreased slight in maize. Our results show the potential to be used as a natural herbicide of EO from *N. transcaucasica* for the control of weeds in agricultural areas.

Keywords: Amylase, Phytotoxicity, Essential oil, Germination, Bioherbicide, Allelopathy, *Nepeta transcaucasica*

Giriş

Günümüzde dünya nüfus artışına paralel olarak baş gösteren problemlere çözüm yolları arayışı hızlanmıştır. Bu arayışların en önemlilerinden biri de tarım alanlarından maksimum ürün alınımının sağlanabilmesi yönündedir. Buna bağlı olarak da bitkilerde zararlı organizmalara karşı koruyucu özellikteki çeşitli maddelerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Ancak son yıllarda “pestisit ve herbisitler” genel adıyla anılan bu maddelerin bilinçsiz ve kontrolsüzce kullanılmasından doğan olumsuzluklara sıkça rastlanmaktadır (Çalı, 2005). Pestisit veya herbisit kullanımının tartışılmaz yararlarına karşın etkin denetimden yoksun ve aşırı miktarda uygulanması, çevremizi olduğu kadar sağlığımızı, tarım ürünü ihracatımızı ve dolayısı ile ekonomimizi de olumsuz yönde etkilemektedir (Dereboylu ve Tort, 2010). Günümüzde bu sentetik kimyasalların yerini alabilecek, daha güvenli ve bitkilerde doğal olarak üretilen sekonder metabolitler (allelkimyasallar) tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin doğal süreçte biyolojik parçalanmaları kolay olduğu için hem tüketiciler hem de çevre için daha sağlıklıdır. Son yıllarda bitki fizyologları bu tip bileşikleri üreten yabani veya kültür bitkilerini inceleme ve bitkilerdeki bu doğal sekonder bileşikleri elde edip uygulama yollarını araştırmaktadırlar. Bilim insanları tarafından üretilen bu tarzdaki kimyasal bileşiklerin, biyolojik kontrol amacıyla veya organik tarım açısından doğal herbisit, pestisit, fungusit vb. amaç için kullanılmalarını önerilmektedir (Vyvyan, 2002; Singh ve ark., 2003; Weston ve Duke, 2003).

Nepeta cinsi (*Lamiaceae*) yaygın olarak Orta ve Güney Avrupa, Güney-Batı, Orta ve Güney Asya'ya yayılan yaklaşık 280 türü içerir (Skaltsa ve ark. 2000; Tzakou ve ark., 2000; Mojaba ve ark., 2009). Türkiye'de 22 endemik tür dahil olmak üzere 44 takson ile temsil edildiğini ortaya koymuştur. Endemik ve endemik olmayan türleri, genellikle Doğu Anadolu ve Toros Dağlarında bulunur (Dirmenci, 2005). *Nepeta* türleri yüksek oranda bir esansiyel yağ olan nepetalacton içermesiyle karakterize edilir ve nepetalakton içeren-içermeyenler olarak iki gruba ayrılırlar. Bununla birlikte, temel esansiyel yağ bileşimi içinde bazı farklı *Nepeta* yağları da tespit edilmiştir. Bir çok çalışmada *Nepeta* uçucu yağlarının ana bileşenleri olarak nepetalaktonların trans- ve cis-izomerlerinin olduğu bildirilmiştir (Başer ve ark. 2000, Nestorovic ve ark., 2010).

Nepetalakton doğada birkaç izomerik formu bulunan bir monoterpenoittir. *Trans* ve *cis* izomerleri bazı böceklere karşı oldukça toksiktir ve sivrisinek kovucu özellikleri olduğu gösterilmiştir. Bunlara ilave olarak *Nepeta* türlerinin güçlü antibakteriyel ve antifungal etkileri olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Bu etkinin ana unsuru olarak nepetalaktonun yanı sıra 1,8-Cineol'un da etkiden sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (Mothana, 2012). *Nepeta transcaucasica*'nın antibakteriyel ve antikandidal etkisi olduğu önceden yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Öztürk, 2009, İşcan ve ark., 2011). Toplam esansiyel yağ bileşiminin %97.69'unu temsil eden yirmi yedi bileşik tanımlanmış olup 4 α , 7 α , 7 α β -nepetalakton (1;% 39), 4 α , 7 α , 7 α β -nepetalakton (2;% 28) ve germacren D (3;% 15) ana bileşenlerini oluşturur (İşcan ve ark., 2011). Yapılan

literatür incelemelerine göre, *N. transcaucasica*'nın esansiyel yağ'nın (EY) biyoherbisidal etkisi ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanılmamıştır. *N. transcaucasica*'a ile yapılan çalışmalar ışığında, bu bitkinin biyoherbisidal etkisinin de olabileceği hipotezi ileri sürülmüştür. Bu yüzden çalışmamızda *N. transcaucasica* esansiyel yağ'nın bazı kültür ve zararlı otların (*Zea mays* cv. Arifiye, *Hordeum vulgare* cv. Afsal, *Triticum aestivum* cv. Doğu-88, *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Amaranthus retroflexus* L., *Onopordium acanthium* L.) tohumların çimlenme, fide büyümesi ve amilaz aktivitesi üzerine etkisi belirlenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Bitki Materyallerinin Toplanması

N. transcaucasica Erzurum Horasan İlçe sınırları içerisinde çeşitli bölgelerden çiçeklenme aşamasında toplanmıştır. Arpa (*Hordeum vulgare* cv. Afsal), buğday (*Triticum aestivum* cv. Dogu-88) ve mısır (*Zea mays* cv. Arifiye) tohumları Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden temin edilmiştir. Zararlı otların tohumları ise (*Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Amaranthus retroflexus* L., *Onopordium acanthium* L.) Erzurum İli'nde buğday, arpa ve mısır tarım arazilerinden toplanmıştır. Toplanan *N. transcaucasica* ve zararlı otlar Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ata Herbaryumun'da bulunan bitki örnekleri kullanılarak teşhis edilmiştir.



Şekil 1. *N. transcaucasica*'nın Arazi Görüntüsü

N. transcaucasica'nın Esansiyel Yağının Elde Edilmesi ve Analizi

Bitkilerimiz gölgede iyice kurutulup gövde ve çiçek kısımları ayrıldıktan sonra blender yardımıyla parçalanmış ve literatürde yaygın olan yöntemlerle ile esansiyel yağları elde edilmiştir (Mutlu ve Atıcı, 2009, Singh ve ark., 2009, Mutlu ve ark., 2011). Esansiyel yağlarının analizleri GC/MS yöntemiyle yapılmıştır. Bu işlem Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

***N. transcaucasica*'nın Esansiyel Yağ Ekstraktlarının Hazırlanması**

Elde edilen EY, %0.1 Tween-20 içeren (v/v) steril saf suda 2, 5, 10 ve 20 µl/L konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Biyolojik deneyler boyunca solüsyonlar +4 °C'de muhafaza edilmiştir (Mutlu ve ark., 2011).

Çimlenme Yüzdesinin Belirlenmesi

Tohumlar, ekimden önce %5'lik sodyum hipoklorit içerisinde 5 dk yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra; 0, 2, 5, 10 ve 20 µl/L konsantrasyonlarda *N. transcaucasica* esansiyel yağı içeren iki tabaka steril filtre kağıdı içeren Petri kaplarına ekilmiştir. Küçük tohumlar için 9 mm büyük tohumlar için 12 mm çapındaki cam Petri kapları kullanılmıştır. Dört tekerrür olacak şekilde her bir Petri kabına 20 tohum ekilmiştir. Tohumların çimlenme kriteri olarak küçük tohumlarda 2.5 mm, büyük tohumlarda 5 mm radikula çıkışı baz alınmıştır. Tohumların her gün çimlenme oranları takip edilmekle birlikte 6. günde tohumların % çimlenme oranları belirlenmiştir (Mutlu ve Atıcı, 2009).

Kök ve Gövde Uzunluğu ile Kuru Ağırlık Tayini

Çimlenmenin 6. günü, fidelerin kök ve gövde uzunlukları milimetrik bir cetvelle ölçülerek ortalama kök ve gövde uzunlukları belirlenmiş ve sonra aynı fideler 72 saat boyunca 60 °C'de etüvde inkübe edilerek fide başına düşen kuru ağırlıkları belirlenmiştir (Mutlu ve Atıcı, 2009).

α-Amilaz Enzim Aktivitesi Tayini

Çimlenmeyi takiben 24., 48. ve 72. saatlerde tohum endospermleri enzim aktivitesi ölçümünde kullanılmıştır. Bunun için tohumların endospermleri (0.25 gr), %0.1 PVP, 2 mM EDTA ve 1 mM CaCl₂ içeren 50 mM sodyum asetat (pH 6) tamponu içinde +4 °C'de homojenize edilmiş ve sonra homojenat 15 dakika, 12,000xg ve +4 °C'de santrifüjlenmiştir. Hazırlanan bu enzim özütü, 70 °C'de 10 dk ısıtılarak özütteki β-amilaz inaktive edilmiştir. Oluşan berrak süpernatant, α-amilaz aktivitesinin belirlenmesi için her zaman taze olarak hazırlanmıştır. Aktivite ölçümü için 50 µL ham enzim özütü, 10 mM NaCl ve 20 mM CaCl₂ içeren 50 mM sodyum asetatın (pH 6.0) 650 µL'si ve %0.125'lik soluble nişastanın (50 mM sodyum sitrat içinde; pH 6) 500 µL'si ile karıştırıldıktan sonra, 30 °C'de 20 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon, karışım üzerine 5 mL iyot/iyodür çözeltisi (% 0.5 I₂ ve % 5 KI) ilave edilerek durdurulmuş ve mavi rengin absorbansı 620 nm'de ölçülmüştür. Kör örnek için aynı işlemde enzim özütü yerine aynı miktar saf su kullanılmıştır (Gupta ve Wagle, 1980). Enzim aktivitesi hesaplanırken, 620 nm'de absorbansta %10'luk bir azalma için gereken enzimin aktivitesi, bir enzim ünitesi (EU)/mL olarak ifade edildi ve bulgular EU/gr doku olarak sunulmuştur.

İstatistik Analiz

Her bir grupta altı tekerrürlü yapılan denemelerden elde edilen verilerin istatistik anlamları SPSS (22.0) paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (one-way

ANOVA) ile gerçekleştirilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar ise Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma Testi ($P < 0.05$) kullanılarak yorumlanmıştır.

Bulgular

N. transcaucasica'dan hidrodistilasyon yöntemiyle izole edilen esansiyel yağ GC/MS yöntemiyle analiz edilmiştir. İçeriğinde oransal olarak en fazla nepetalakton (%93.75) bulundurduğu belirlenmiştir (Tablo 1). İşcan ve ark. (2011)'nin yaptıkları çalışmada EY oranı incelendiğinde de en fazla %69.93 oranında nepetalakton bulundurduğu gösterilmiştir. EY'lerin çalışılan tüm konsantrasyonları (2, 5, 10 ve 20 µl/L), *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* tohumlarının çimlenmesini, hem geciktirmiş hem de önemli oranda inhibe etmiştir. Artan EY konsantrasyonuna bağlı olarak inhibisyon derecesi de artmıştır. Örneğin *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* tohumlarının çimlenmesinde 2 ve 5 µL EY ortamında %50'den fazla inhibisyon varken, 10 ve 20 µl EY ortamında çimlenme belirlenmemiştir (tam inhibisyon, Tablo 2). Kök ve gövde büyümesi ve fidelerin kuru ağırlıkları da EY uygulamaları ile azalmış ve konsantrasyon artışıyla düşüş de artmıştır. Örneğin, 5 µl EY uygulamasında *C. dactylon*'un kök ve gövde uzunluğu %20.69 düşmüştür. 10 ve 20 µl EY uygulamaları *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* kök ve gövde büyümesini tamamiyle inhibe etmiştir. Kök ve gövde uzunluğu testlerinin verileri ayrıca çimlenme testlerinden elde edilen bulguları da desteklemektedir (Tablo 2-3-4). Örneğin 10 ve 20 µl EY ortamında *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* tohumlarının çimlenmediği için kök ve gövde uzunluğu ölçülemediği. Buna karşılık EY uygulamaları mısır, arpa ve buğday tohumlarının çimlenmesini kontrollerine göre hafif derecede ($P > 0.05$) düşürmüştür. Çimlenme oranlarındaki bu düşüşler zararlı otlarla kıyaslandığında oldukça önemsiz görülmektedir. Örneğin 20 µl EY ortamında *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* tohumları çimlenmezken, *Z. mays* tohumlarında ancak %4'lük, *H. vulgare* ise %26'lık bir düşüş olmuştur. Aynı fidelerin kök-gövde uzunlukları ve kuru ağırlıkları ise EY'nin yüksek konsantrasyonlarında düşerken, özellikle 2 ve 5 µl EY ortamında her iki parametrede de artışlar belirlenmiştir (Tablo 2-3-4). Örneğin 5 µl EY ortamında *Z. mays* kök-gövde uzunluğu ve kuru ağırlık değerleri kontrole göre %10 artmıştır. α -amilaz aktivitesinden elde edilen bulgular çimlenme, kök-gövde uzunluğu ve kuru ağırlık sonuçlarıyla çok fazla uyumlu olmadığı ($P > 0.05$) belirlenmiştir (Şekil 6 ve 7). Özellikle ilk 24 saatte zararlı otlarda EY uygulaması zararlı otlarda α -amilaz aktivitesini inhibe etmiştir. Ancak 24. ve 72. saatlerde α -amilaz aktivitesinde anlamlı bir inhibisyon belirlenmemiştir. Aynı uygulamalar, arpa ve buğday tohumlarında α -amilaz aktivitesini stimüle ederken, mısırdaki hafif ($P > 0.05$) inhibisyonlara neden olmuştur.

Tablo 1. *N. transcaucasica*'nın esansiyel yağ içeriği

Bileşik adı	RT	Oran (%)
Nepetalactone	31.31	93.75
Caryophyllene Oxide	38.67	1.30
Diğer		4.95

Tablo 2. *N. transcaucasica* esansiyel yağının bazı bitki tohumlarının çimlenmesi (%) üzerine etkileri

	Esansiyel yağ (µL/L)				
	Kontrol (0.0)	2	5	10	20
<i>Z. mays</i>	78 ± 0.6 ^b	80 ± 1.1 ^b	86 ± 0.6 ^a	78 ± 0.6 ^b	75 ± 0.6 ^c
<i>H. vulgare</i>	76 ± 0.6 ^b	77 ± 0.1 ^a	76 ± 0.6 ^b	68 ± 0.6 ^c	56 ± 0.2 ^d
<i>T. aestivum</i>	85 ± 0.2 ^b	86 ± 0.6 ^{ab}	87 ± 0.1 ^a	73 ± 0.2 ^c	35 ± 1.1 ^d
<i>C. dactylon</i>	89 ± 0.6 ^a	80 ± 0.6 ^b	75 ± 0.1 ^c	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>A. retroflexus</i>	89 ± 0.1 ^a	40 ± 0.6 ^b	35 ± 0.3 ^c	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>O. acanthium</i>	64 ± 1.1 ^a	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir (p<0.00).

Tablo 3. *N. transcaucasica* esansiyel yağının çimlenen bitki tohumlarının kök uzunluğu (cm/bitki) üzerine etkileri

	Esansiyel yağ (µL/L)				
	Kontrol (0.0)	2	5	10	20
<i>Z. mays</i>	4.9 ± 0.02 ^c	6.4 ± 0.06 ^b	8.0 ± 0.06 ^a	3.7 ± 0.03 ^d	3.5 ± 0.1 ^e
<i>H. vulgare</i>	7.3 ± 0.01 ^{ab}	8.1 ± 0.1 ^a	6.0 ± 0.02 ^{bc}	5.4 ± 0.03 ^c	5.0 ± 0.06 ^d
<i>T. aestivum</i>	5.1 ± 0.03 ^c	6.3 ± 0.06 ^b	7.3 ± 0.03 ^a	4.6 ± 0.02 ^d	3.4 ± 0.03 ^e
<i>C. dactylon</i>	2.9 ± 0.2 ^a	2.5 ± 0.01 ^b	2.3 ± 0.01 ^b	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>A. retroflexus</i>	3.6 ± 0.03 ^a	3.5 ± 0.02 ^b	3.2 ± 0.03 ^c	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>O. acanthium</i>	2.6 ± 0.03 ^a	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir (p<0.00).

Tablo 4. *N. transcaucasica* esansiyel yağının çimlenen bitki tohumlarının gövde uzunluğu (cm/bitki) üzerine etkileri

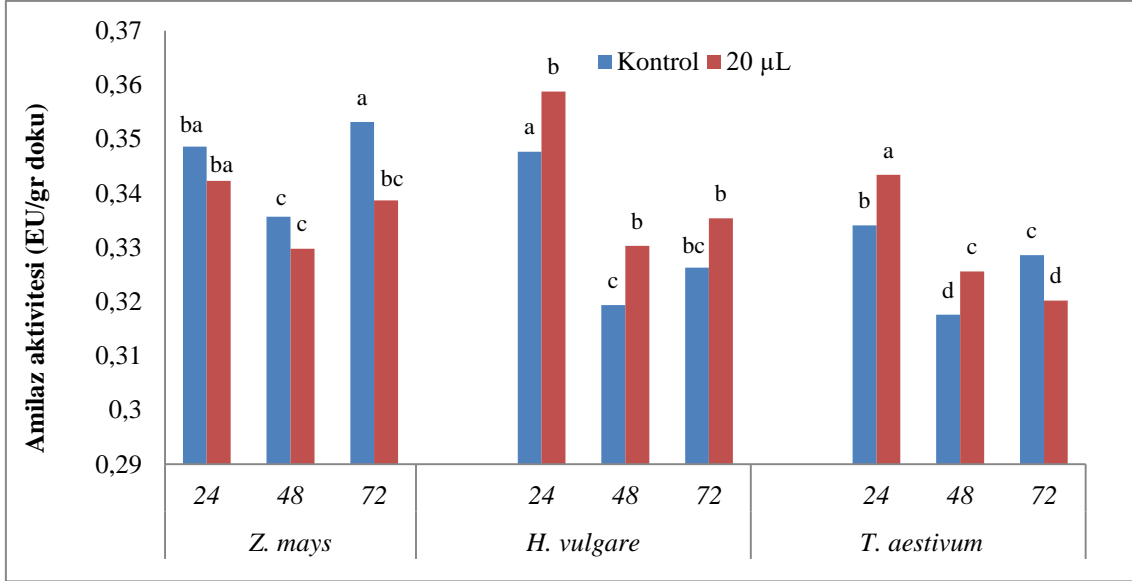
	Esansiyel yağ (µL/L)				
	Kontrol (0.0)	2	5	10	20
<i>Z. mays</i>	3.2 ± 0.01 ^c	3.9 ± 0.01 ^b	4.8 ± 0.01 ^a	1.7 ± 0.03 ^d	1.5 ± 0.01 ^e
<i>H. vulgare</i>	4.7 ± 0.02 ^c	8.7 ± 0.06 ^a	6.9 ± 0.02 ^b	3.3 ± 0.06 ^d	2.1 ± 0.06 ^e
<i>T. aestivum</i>	9.2 ± 0.02 ^b	9.0 ± 0.03 ^a	6.8 ± 0.03 ^c	3.9 ± 0.02 ^d	2.1 ± 0.11 ^e
<i>C. dactylon</i>	2.0 ± 0.03 ^a	1.9 ± 0.01 ^b	1.8 ± 0.02 ^c	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>A. retroflexus</i>	3.4 ± 0.01 ^a	3.2 ± 0.01 ^b	2.9 ± .01 ^c	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>O. acanthium</i>	2.1 ± 0.01 ^a	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir (p<0.00).

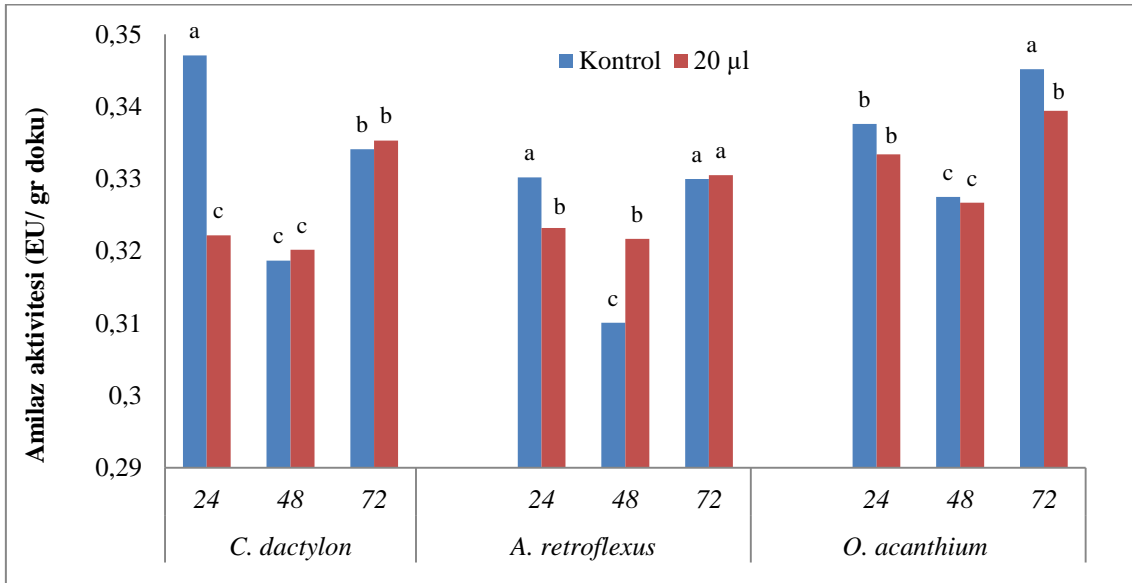
Tablo 5. *N. transcaucasica* esansiyel yağının çimlenen bitki tohumlarının fide kuru ağırlığı (gr/bitki) üzerine etkileri

	Esansiyel yağ (µL/L)				
	Kontrol (0.0)	2	5	10	20
<i>Z. mays</i>	0.52 ± 0.02 ^b	0.6 ± 0.00 ^a	0.63 ± 0.01 ^a	0.47 ± 0.00 ^c	0.4 ± 0.01 ^d
<i>H. vulgare</i>	0.52 ± 0.01 ^c	0.6 ± 0.01 ^a	0.58 ± 0.01 ^b	0.48 ± 0.01 ^d	0.4 ± 0.1 ^e
<i>T. aestivum</i>	0.42 ± 0.00 ^b	0.52 ± 0.01 ^a	0.38 ± 0.01 ^c	0.3 ± 0.00 ^d	0.28 ± 0.01 ^d
<i>C. dactylon</i>	0.24 ± 0.01 ^a	0.23 ± 0.01 ^a	0.21 ± 0.01 ^b	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>A. retroflexus</i>	0.23 ± 0.01 ^a	0.24 ± 0.01 ^a	0.20 ± 0.01 ^b	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
<i>O. acanthium</i>	0.26 ± 0.01 ^a	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Aynı satırdaki farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir (p<0.00).



Şekil 2. Farklı Konsantrasyonlarda *N. transcaucasica* esansiyel yağının çimlenen bazı kültür bitki tohumlarının α -amilaz aktivitesi üzerine etkisi. Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir ($p < 0.00$).



Şekil 3. Farklı Konsantrasyonlarda *N. transcaucasica* esansiyel yağının çimlenen bazı zararlı ot tohumlarının α -amilaz aktivitesi üzerine etkisi. Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir ($p < 0.00$).

Tartışma ve Sonuç

Son elli yıldan beri sentetik kimyasalların tarımsal uygulamalarda yoğun kullanılması, çevre ve insan sağlığı açısından telafisi çok zor sorunlara neden olmaktadır. Bu nedenle günümüzde çevreye dost ve insan sağlığı için daha düşük riskler oluşturan biyolojik kaynaklı organik kimyasalların araştırılması ve kullanılması yaygınlaşmaktadır (Daferera ve ark., 2002, Weston ve Duke, 2003). Bunlar içerisinde en önemli yaklaşımlardan biri, bitki sekonder metabolitleri olarak değerlendirilen allelokimyasallardır. Bu bileşiklerin biyopestisit veya biyoherbisit amaçlı etkilerinin

yanında doğada biyobozunurlukları çok hızlı ve toksisiteleri oldukça düşüktür. Bu kapsamda mevcut çalışmada *Nepeta transcaucasica*'dan elde edilen esansiyel yağın (EY) bazı tarımsal bitkiler (*Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*) ve bu bitkilerin ekildikleri alanlarda yaygın olan zararlı otlar (*Cynodon dactylon*, *Amaranthus retroflexus*, *Onopordium acanthium*) üzerinde biyoherbisidal etkisi araştırılmıştır. Erzurum Horasan İlçe sınırları içerisinde toplanan *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY'nin içeriği incelendiğinde (Tablo 1), en yüksek oranda (%93.75) nepetalakton olduğu belirlenmiştir. Benzer olarak bazı çalışmalarda da *Nepeta* türlerinin EY'lerinde en fazla *trans*- ve *cis*- nepetalakton izomerleri taşıdığı belirlenmiştir. Örneğin Ağrı Doğubayazıt'ta toplanan *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY incelendiğinde de en fazla %69.93 oranında nepetalakton bulundurduğu gösterilmiştir (İşcan ve ark. 2011). Monoterpenler çoğunlukla lipofiliktir ve hücre membranlarının akışkanlığını artırır, membran yapısını tahrip eder ve metabolizmada önemli enzimlerin aktivitelerini inhibe ederler (Sikkema ve ark. 1995, Inderjit ve Callaway, 2003; Turina ve Perillo, 2003). Bu nedenle, yapılan çalışmada EY'nin herbisit etkisi, bu faktörlerin bir veya daha fazlası üzerindeki etkisine dayandırılabilir. *N. transcaucasica*'nın belirlenen biyoherbisidal etkisi en yüksek oranda içerdiği nepetalaktan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmada çimlenme deneylerinden elde edilen veriler değerlendirildiğinde, *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY, zararlı otlardan *C. dactylon*, *A. retroflexus*, *O. acanthium* bitkilerinin tohum çimlenmesi ve fide büyümesini önemli seviyede inhibe etmiştir (Tablo 2, 3, 4). Hatta *A. retroflexus* ve *O. acanthium* otlarının tohum çimlenmesi 2 µl /L EY uygulamasında sırasıyla %60 ve %100 inhibe olmuştur. EY konsantrasyon artışıyla çimlenme inhibisyonu daha da yükselmiş ve 10 µl /L EY uygulamalarında tüm zararlı otların çimlenmeleri %100 inhibe olmuştur. Çimlenen bu tohumların kök-gövde uzunluğu ve kuru ağırlık verileri çimlenme verileriyle örtüşmektedir. Bu bulgulara göre *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY çalışılan zararlı otların çimlenmesini ve fide büyümesini (kök-gövde uzunluğu ve kuru ağırlığı) inhibe ederek güçlü biyoherbisidal etki göstermiştir. Birçok çalışmada monoterpenlerden zengin olan esansiyel yağların, yabancı otların çimlenmesi üzerinde güçlü inhibe edici etkilere sahip olduğu bildirmiştir (Abraham ve ark. 2000, Angelini ve ark. 2003, Singh ve ark. 2004, Zunino ve Zygadlo, 2004, Kordali ve ark., 2007). Çalışmamızda aynı EY uygulamaları kültür bitkilerinin (*Z. mays*, *H. vulgare* ve *T. aestivum*) çimlenme ve fide büyümeleri üzerinde önemli bir inhibisyon göstermemiştir (Tablo 2, 3, 4). Hatta 10 µl /L EY uygulamasında zararlı otların çimlenmeleri %100 inhibe olurken, çalışılan kültür bitkilerinde ise çimlenme aynı uygulama ile ancak %25-30 oranında inhibe olmuştur. Bu davranış bir herbisit için çok istenen ve önemli seçici bir özelliktir. Çünkü tarla şartlarında uygulanan herbisitlerden kültür bitkileri üzerinde değil zararlı otlar üzerinde etkili olmaları genel beklenen bir özelliktir. Yapılan çalışmada ayrıca *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY'nin zararlı otların gelişimini inhibe edici etkisi gözlenirken, kültür bitkilerinde gövde uzaması ve kuru ağırlık üzerinde iyileştirici etkisi bulunmuştur. Bazı bitkilerden elde edilen allelokimyasalların tarımsal bitkilerde tohum çimlenmesi üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmazken, aynı bitkilerin büyüme ve gelişmesini artırabildikleri ileri sürülmüştür (Macias ve ark., 1999). Benzer olarak Mutlu ve Atıcı (2009) yaptıkları çalışmada, *N. meyeri* bitkisinden elde ettikleri EY'nin, kültür bitkilerinin kök uzamasını uyardığını, yabancı otların ise inhibe ettiğini bulmuştur.

Çalışmamızda zararlı otlar üzerinde biyoherbisidal etkisi belirlenen EY'nin, tohumlarda çimlenmenin stimülasyonu ve endospermdeki yedek besinlerin embriyoya mobilizasyonunda önemli rol oynayan α -amilazın aktivitesi üzerindeki etkisi de

belirlenmek istenmiştir. Bulgulara göre *N. transcaucasica*'dan elde edilen EY, zararlı ot tohumlarının çimlenme sürecinde α -amilazın aktivitesini önemli oranda inhibe edemediği belirlenmiştir. EY'nin inhibisyon etkisi özellikle çimlenmenin ilk 24. saatinde belirgindir. Ancak, çalışılan diğer saatlerde ise EY'nin bu etkisi çok açık olmadığı görülmektedir. Bu nedenle EY'nin zararlı otların çimlenmelerini engelleme etkisi, amilaz aktivitesi dışında giberellin sentezi, amilazın transkripsiyonu veya diğer metabolik yollar üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Muhtemelen DNA sentezinin inhibisyonu, mitokondri gibi bazı organellerin metabolik işlevlerinde düşüş veya mitokondri ve çekirdeği çevreleyen zarların bozulmasından da kaynaklanmaktadır (Zunino ve Zygadlo, 2004, Nishida ve ark., 2005, Kordali ve ark., 2007). Ancak çalışmamızda EY uygulaması, özellikle arpa ve buğday tohumlarında amilaz aktivitesini düşürmemiş ve hatta çimlenmenin ilk 24 saatinde aktiviteyi artırdığı belirlenmiştir (Şekil 2). Bu bitkilerin amilaz aktivitesi verileri çimlenme bulgularıyla örtüşmektedir. Bulgularımız EY'nin zararlı ot tohumları üzerinde çimlenme inhibisyonu etkisini, kısmen amilaz aktivitesi üzerinde olsa da, daha çok diğer metabolik yollar üzerinde gerçekleştirdiğini göstermektedir. Bir allelokimyasal bir bitki türüne olumsuz, bir diğerine ise olumlu etki gösterebilir.

Sonuçta çalışma, *N. transcaucasica* esansiyel yağı içinde çalışılan zararlı otlar için biyoherbisidal bileşiklerin bulunduğunu ve bu allelokimyasalların yabancı otların kontrolünde kullanılabilme potansiyelinin olduğu göstermiştir. Buna karşılık aynı EY çalışılan kültür bitkileri üzerinde anlamlı biyoherbisidal etki göstermemiştir. Bu durum, *N. transcaucasica* esansiyel yağın kültür bitkilerindeki diğer kimyasallarla olumlu etkileşme göstermesinden kaynaklanabilir. Gelecek çalışmalarda bu olumlu etkinin nedenleri daha ayrıntılı bir şekilde çalışılacaktır. Bu çalışmada ilk defa *N. transcaucasica* esansiyel yağının allelopantik etkisi ortaya konmaya çalışılmıştır.

Kaynaklar

- Abraham, D., Braguini, W. L., Kelmer-Bracht, A. M., Ishii-Iwamoto, E.L. (2000). Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. *Journal of Chemical Ecology*, 26, 611-624.
- Angelini, L.G., Carpanese, G., Cioni, P. L., Morelli, I., Macchia, M. and Flamini, G. (2003). Essential oils from mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6158-6164.
- Başer, K. H. C., Kırimer N., Kürkçüoğlu M., Demirci B. (2000). Essential oils of *Nepeta* species growing in Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 36(4), 356.
- Çalı, İ. Ö. (2005). Cyprodinil uygulamasının domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) polenin morfolojisi ve fertilitesi üzerine etkileri, *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 26(1), 26-34.
- Daferera, D. J., Basil, N. Z., Polissiou, M. G. (2002). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* sub sp. *Michiganensis*. *Crop Protection*, (22), 39-44.
- Dereboylu, A. E., Tort, N. (2010). Bazı aktivatör ve fungusit uygulamalarının *Cucumis sativus* L. (hıyar) bitkisinde verim-kalite üzerine etkisi. *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 31(1), 30-42.
- Dirmenci, T. 2005. A new subspecies of *Nepeta* (Lamiaceae) from Turkey. *Bot J Linn Soc*, 147, 229–233. doi:10.1111/j.1095-8339.2005.00355.

- Gupta, K, Wagle, D. S. (1980). Changes in antinutritional factors during germination in *Phaseolus mungoreous*, and *Phaseolus aureus* (T₁). *J Food Sci*, 45, 395–397.
- Inderjit Callaway, R. S. (2003). Experimental designs for the study of allelopathy. *Plant and Soil* 256, 1-11.
- İşcan, G., Bülent Köse, Y., Demirci, B., Hüsnü Can Başer, K. (2011). Anticandidal activity of the essential oil of *Nepeta transcaucasica* Grossh. *Chemistry & Biodiversity*, 8, 2144-2148.
- Kordali, S., Cakir, A. and Sutay, S. (2007). Inhibitory effects of monoterpenes on seed germination and seedling growth. *Zeitschrift Fur Naturforschung Section C-A Journal Of Biosciences*, 62, 207-214.
- Macias, F. A., Oliva, R. M., Varela, M., Torres, A. and Molinillo, M. G. (1999). Allelochemicals from sunflower leaves cv. Peredovick. *Phytochemistry* 52, 613-621.
- Mojaba, F., Nickavara, B., Tehrania, H. H. (2009). Essential oil analysis of *Nepeta crispa* and *N. menthoides* from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 43-46.
- Mothana, R. A. (2012). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of nepeta deflersiana growing in Yemen. *Records of naturel products*,6(2), 189-193.
- Mutlu, S. Atıcı, Ö. (2009). Allelopathic effect of *Nepeta meyeri* Benth. extracts on seed germination and seedling growth of some crop plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 89-93.
- Mutlu, S. Atıcı, Ö., Esim, N., Mete, E. (2011). Essential oils of catmint (*Nepeta meyeri* Benth.) induce oxidative stress in early seedlings of various weed species. *Acta Physiologiae Plantarum*,33(3), 943-951.
- Nestorovic, J., Mistic, D., Siler, B., Sokovic, M., Glamoclija, J., Ciric, A., Maksimovic, V., Grubisic D. (2010). Nepetalactone content in shoot cultures of three endemic *Nepeta* species and the evaluation of their antimicrobial activity. *Fitoterapia*, 81 (6), 621-626.
- Nishida, N., Tamotsu, S., Nagata, N., Saito, C., Sakai, A. (2005). Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 31, 1187- 1203.
- Öztürk, A. (2009). In vitro Antibacterial activities of *Nepeta transcaucasica*. *Asian Journal of Chemistry*, 21(8), 6440-6444.
- Skaltsa, H. D., Lazari, D. M., Loukis, A. E., Constantinidis, T. (2000). Essential oil analysis of *Nepeta argolica* Bory & Chaub. subsp. *argolica* (Lamiaceae) growing wild in Greece. *Flavour and Fragrance Journal*, 15, 96-99.
- Sikkema, J. J., De Bont, A. M., Poolman, B. (1995). Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews*, 59, 201-222.
- Singh, H. P., Batish D. R., Kohli R. K. (2003). Allelopathic interactions and allelochemicals. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22, 239-311.
- Singh, H.P., Batish, D.R., Kaur, S., Vaid, S., Kohli, R. (2004). Weed suppressing ability of some monoterpenes. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 111, 821-828.
- Singh, H. P., Kaur, S., Mittal, S., Batish, D. R., Kohli, R. K. (2009). Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibits plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage. *Journal of Chemical Ecology*, 35, 154-162.

- Tzakou, O., Harvala, C., Galati, E. M., Sanogo, R. (2000). Essential oil composition of *Nepeta argolica* Bory et Chaub. subsp. *argolica*. *Flavour and Fragrance Journal*, 15, 115-118.
- Turina, A. V., Perillo, M. A. (2003). Monoterpenes affect chlorodiazepoxide- micelle interaction through micellar dipole potential modifications. *Biochimica et Biophysica Acta* 16, 112-120.
- Vyvyan, J. R. (2002). Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron*, 58, 1631-1646.
- Weston, A. L. Duke S. O. (2003). Weed and crop allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22, 367-389.
- Zunino, M. P., Zygadlo, J. A. (2004). Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize. *Planta*, 219, 303-309.