



## Neem as Biopesticide for a Sustainable Environment

Sadettin Ünsal<sup>1,a,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Selçuk University, 42130 Campus/Konya, Turkey

\*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Review Article</i></p> <p>Received : 30/05/2019 Accepted : 05/09/2019</p> <p><b>Keywords:</b> Neem Synthetic pesticide Environmental pollution Plant derived biopesticide Environmental impact</p>	<p>Pesticides have both acute and chronic effects on humans and all other warm blooded living things. In pesticide applications, few of the amount used reaches the target organisms, whereas the rest mixes into the ecosystem and leads to the deterioration of the ongoing natural balance. Therefore, growing attention has been given toward the development of alternate environmentally friendly pesticides/insecticides that would aid an efficient pest management system and also prevent chronic exposures leading to diseases. In this context, plant-derived natural products are considered valuable candidates to reverse this negative trend. Botanical pesticides are relatively safe, degradable, and are readily available sources of biopesticides. Neem is an ideal alternative candidate as a natural non-synthetic plant pesticide. The neem products have been obtained from several species of neem trees in the family Meliaceae. Array of more than 300 bioactive compounds in the neem tree makes it a unique plant with potential applications in pest and vector management. Botanical pesticides, such as neem, have limited persistence in the environment, and ultraviolet light, temperature, rainfall and other environmental factors can degrade neem. Unlike toxic synthetic insecticides, neem materials do not kill the pest, but incapacitate or neutralize it via cumulative behavioural, physiological, and cytological effects. In spite of high selectivity, neem materials affect more than 400 harmful species including insect pests, phytophagous mites, mites, and ticks affecting man and animals, parasitic protozoans, noxious molluscs, plant parasitic nematodes, pathogenic fungi, and harmful bacteria and fungi. Neem ingredients affect insects in various ways such as repellent, antifeedant, toxic, fecundity and growth regulatory effects. This review presents an overview of recent advances in research on the environmental impact of neem products and their use and effectiveness as a biopesticide.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 7(9): 1415-1423, 2019

## Sürdürülebilir Bir Çevre İçin Biyopestisit Olarak Neem

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Derleme Makalesi</i></p> <p>Geliş : 30/05/2019 Kabul : 05/09/2019</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> Neem Sentetik pestisit Çevresel kirlilik Bitkisel kökenli biyopestisit Çevresel etki</p>	<p>Pestisitler, insanlar ve diğer tüm sıcakkanlı canlılar üzerinde hem akut hem de kronik etkilere sahiptir. Pestisit uygulamalarında kullanılan miktarın önemsenmeyecek miktarı hedef organizmalara ulaşırken, geri kalanı ekosisteme karışmakta ve devam eden doğal dengenin bozulmasına yol açmaktadır. Bu nedenle, zararlılarla etkili bir mücadele yönetim sistemine yardımcı olacak ve aynı zamanda hastalıklara yol açan, kronik maruz kalma riskini önleyen alternatif çevre dostu pestisitler/insektisitlerin geliştirilmesine yönelik ilgi artmaktadır. Bu bağlamda, bitkisel kaynaklı doğal ürünler bu olumsuz eğilimi tersine çevirmek için değerli adaylar olarak kabul edilir. Botanik pestisitler nispeten güvenli, bozunabilir ve hali hazırda mevcut olan biyopestisit kaynaklarıdır. Neem sentetik olmayan doğal bir bitkisel kökenli pestisit kaynağı olarak ideal bir alternatif adaydır. Neem ürünleri, Meliaceae familyasındaki birkaç neem ağacı türünden elde edilmektedir. Neem ağacındaki 300'den fazla biyoaktif bileşimin dizisi, onu zararlı ve vektör yönetimindeki potansiyel uygulamalarla eşsiz bir bitki yapar. Neem gibi botanik pestisitler çevrede sınırlı kalıcılığa sahiptir. Ultraviyole ışığı, sıcaklık, yağış ve diğer çevresel faktörler neem'i parçalayabilir. Toksik sentetik insektisitlerin aksine, neem materyalleri zararlıları öldürmez, ancak onları davranışsal, fizyolojik ve sitolojik olarak kümülatif etki yoluyla ya etkisiz hale getirir veya nötralize eder. Neem materyalleri seçicilikleri yüksek olmalarına rağmen, fitofagous akarları, akarları, insan ve hayvanları etkileyen parazitleri, parazitik protozoaları, zararlı yumuşakçaları, bitki paraziti nematodları, patojenik mantarları, zararlı bakteri ve mantarları olmak üzere 400 den daha fazla zararlı böcek türünü etkiler. Neem bileşenleri böcekleri uzaklaştırıcı, beslenmeden kesici, toksik, çoğalma baskılayıcı ve büyüme düzenleyicisi olmak üzere çeşitli şekillerde etkiler. Bu derleme son yıllarda neem ürünlerinin çevresel etkisi ve biyopestisit olarak kullanımları ve etkinliği ile ilgili araştırmalardaki son gelişmelerin genel bir incelemesini sunmaktadır.</p>



## Giriş

Pestisitler, zararlıları uzaklaştırarak, engelleyerek ve yok ederek tarımsal uygulamalardaki üretimi ve verimi artırmak için kullanılan kimyasal maddelerdir (Kumar ve ark., 2012). Bununla birlikte, 1939'da DDT'nin kullanılmaya başlamasından bu yana: sentetik insektisitlerin hem evsel, tarımsal ve orman zararlılarının kontrolü için, hem de insanlarda hastalığa neden olan vektörler için yaygın ve yoğun kullanımı, bu ajanların bazılarının toksisitesi ve çevresel etkisi ile ilgili bazı endişelere neden olmuştur. Geleneksel sentetik insektisitlerin kullanım şekilleri ve doğal özelliklerinden kaynaklı olarak hayvanlar, balıklar, kuşlar, insanlar ve yararlı organizmalarda dahil olmak üzere memelilere karşı toksik olmaları; özellikle üçüncü dünya ülkelerinde; çevre, su ve havanın kirlenmesine neden olan olumsuz etkileri; geleneksel pestisitlere karşı fizyolojik direncin oluşması, yaygınlaşması ve zararlı böcek popülasyonlarının yeniden dirilişi nedeniyle endişelere neden olmuştur (Mulla ve Su, 1999; Ünsal ark., 2004; Ünsal ve Güner, 2016; Ünsal ve Gorer 2018a).

Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP) ve Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) düzenlediği bir rapora göre, pestisitler yaklaşık üç milyon insanın zehirlenmesinden ve dünya çapında her yıl yaklaşık 200.000 ölüme neden olmaktan sorumludurlar. Bu tür vakalar, gelişmekte olan ülkelerde (%95) gelişmiş ülkelere göre daha fazla rapor edilmektedir (WHO, 1990).

Önümüzdeki yakın gelecekte, aslında kullanımda olan pestisitler muhtemelen etkilerini kaybedecektir (WHO, 2012). Özellikle tehlike; sıtma, dang humması, sarı humma ve en son Zika virüsü salgınları dahil olmak üzere yeniden canlanan sivrisinek kaynaklı hastalıklar ile ilgilidir (Benelli, 2015b; Benelli ve Mehlhorn, 2016). Ayrıca, sivrisinek vektörlerinde böcek ilacı direnci ve patojenlerde antimikrobiyal ilaç direnci gelişmiştir. Tüm bunlar, doğal ürün geliştirme konusundaki araştırma ve üretim çabalarına odaklanan yeni nesil pestisitlere ihtiyaç duyulmasına yol açmıştır (Benelli ve ark., 2017).

Son yıllarda, farklı tarımsal sistemlerde etkili zararlı mücadelesi için sentetik böcek ilacı alternatifleri araştırılmıştır. Bunlar arasında, bitkisel kaynaklı ürünlerin çevreye duyarlı olmaları, kalıntı içermemeleri, biyolojik olarak parçalanabilmeleri ve uygun maliyetli oldukları ispatlanmıştır. Bu nedenle, bu ürünlerin kullanılması, bitkiler tarafından üretilen veya savunma amaçlı elde edilen biyolojik aktif maddeleri (fitokimyasallar) mükemmel bir kaynak olarak sağlayan bitki biyoçeşitliliğinin olduğu, gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkelerdeki (Vir, 2007) bilim insanlarının ve politika belirleyicilerinin dikkatini çekmiştir (Gahukar, 2014). Bu şekilde 235 familyaya mensup 2500 üzerindeki bitki türü, farklı zararlılara karşı biyolojik aktiviteye sahiptir (Saxena, 1998; Sevindik ve ark., 2017; Mohammed ve ark., 2018). Botanik pestisitlerin kullanımı artık, hasat üretimini ve çevreyi kimyasal pestisitlerden kaynaklanan kirlilikten korumanın en uygun yollarından biri olarak ortaya çıkmaktadır (Gahukar, 2014). İnsektisidal özellikli ağaç türleri arasında, bu tür botaniklerin en yaygın olarak kullanılanı, dünyadaki yaklaşık 2400 bitki ilacı listesinde en üst sırada bulunan neem bitkisidir (Subbalakshmi ve ark., 2012). Neem ürünleri, 350'den fazla eklembacaklı türüne, 12 nematod türüne, 15 mantar türüne, üç virüs ve iki salyangoz türüne ve bir kabuklu olmak üzere

yaklaşık 400'den fazla hayvan türüne karşı etkilidir (Nigam ve ark., 1994).

Neem ürünleri, Meliaceae familyasındaki çeşitli Neem ağacı türlerinden elde edilmektedir. Bu familyadaki altı tür, bitkisel böcek ilacı araştırmalarına konu olmuştur. Bunlar *Azadirachta indica* (A. Juss.), *A. excelsa* (Jack), *A. siamensis* (Valeton), *Melia azedarach* (L.), *M. toosendan* (Sieb. ve Zucc.) ve *M. volkensii* (Gürke)'dir (Mulla ve Su, 1999). Neem bileşenleri böcekleri çoğunlukla uzaklaştırıcı, beslenmeden kesici, kısırlandırıcı, toksik ve büyüme düzenleyicisi olmak üzere farklı şekillerde etkiler. Bu derleme son yıllarda neem ürünlerinin çevresel etkisi ve biyopestisit olarak kullanımları ve etkinliği ile ilgili araştırmalardaki son gelişmelerin genel bir incelemesini sunmaktadır.

## Neem Ağacının Botanik Tanımı ve Etnobotanik Bilgisi

Neem (*A. indica*)'in kökeni, Mahogany (Maun) cinsi ile aynı olan Meliaceae familyasına aittir. Genellikle 15–20 m yüksekliğe kadar büyüeyebilen ve yaprak dökmeyen bir ağaçtır. İklim ve toprak şartları uygun olduğunda, yaklaşık 20 ila 35 m yüksekliğe ulaşabilmekte ve anıtsal bir ağaca dönüşebilmektedir. Kuzey-Doğu Hindistan ve Burma'ya özgü olduğuna inanılmaktadır. Bu günlerde esas olarak, tüm Hindistan alt kıtası boyunca doğal olarak yetişmektedir (Benelli ve ark., 2017). Doğal olarak Uttar Pradesh, Bihar, Batı Bengal, Orissa, Delhi, Maharashtra, Gujarat, Andhra Pradesh ve Tamil Nadu eyaletlerinde büyür veya yetiştirilir. Neem türleri, Endonezya'nda dahil olduğu eski tropikal bölgelerde de doğal olarak dağılmıştır (Koul ve Wahab 2007). Hindistan ve Endonezya'daki binlerce yıllık varlığından sonra, son zamanlarda neem'in dağılımı, kitlesel yetiştirme yoluyla Amerika'nın subtropikal bölgelerine (Karayip Küba, Orta ve Güney Amerika), Asya (Nepal, Pakistan, Bangladeş, Sri Lanka, Myanmar, Tayland, Malezya, Çin, İran ve Türkiye) hatta Afrika (Kamerun) ve Avustralya'daki Queensland'da kadar genişlemiştir. Neem kumlu, killi, kuru, taşlı ve süzülen topraklarda dahil olmak üzere çoğu toprak tipine toleranslıdır. Onun mükemmel adaptasyon kapasitesinin anahtarı, kapsamlı ve derin kök sistemindedir. Çölleşmeyle mücadele kapasitesi, onu hayat veren bir ağaç yapar (Benelli ve ark., 2017). Neem'in diğer bir hazinesi büyük miktarda üretilen meyvelerinin içindedir. Meyvesi yaklaşık 2 cm uzunluğunda, sarı-yeşil renkli elipsoid biçimlidir. Meyvesi olgunlaştığında; küçük sert çekirdekli, tek bir sert kabuk içerisinde bir veya iki tohum bulundurur. Bir kg neem meyvesi, içerisinde yaklaşık 4000 tohumu bulundurur (Nicoletti ve ark., 2012a; Benelli ve ark., 2017).

Neem'in tanımları olan “doğanın acı nimeti”, “doğanın insanlığa armağanı”, “çoğu durum ağacı”, “arındıran ağaç”, “harika ağaç”, “21. yüzyılın ağacı” ve “küresel sorunları çözmek için bir ağaç” gibi kullanılan ifadeler onun çok yönlü tanımlarıdır. Onun *A. indica* olan botanik adı farsçadan türetilmiş olup, azad darakhtihindi, ifadesi kelimenin tam anlamıyla “Hindistan'ın özgür veya asil ağacı” anlamına gelmekte, bunun anlamı; zararlı, hastalık sorunlarından arınmış olduğunu ve çevreye zararsız olduğunu ifade etmektedir. Neem'in Sanskritleştirilmiş ismi “Arishta”, hastalıktan kurtulma anlamına gelir. Doğu

Afrika Kiswahili dilinde ise neem, 40'dan fazla rahatsızlığın gidericisi anlamına gelen "Mwarubaini" olarak bilinmektedir (Saxena, 2017).

Doğu ülkelerinde neem'in esas olarak sadece çekirdek yağı böcek öldürücü faaliyetleri için düşünülürken, yerel geleneklere göre uygulamada neem'in farklı bölümleri çok çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Neem, çok eski zamanlardan beri Hindistan'daki en kutsal ağaçlarından biridir (Forster ve Moser, 2000). Neem'in manevi anlamı ve tıbbi özellikleri ile derinden iç içe geçmiştir. Bir "mucize ağaç" olarak kabul edilir ve ismi çok sayıda eski metinde ifade edilmektedir. Hint mitolojisine göre, neem ağacının kökeni "Dhanvantri (tıp tanrısı)" ile ilişkilidir. Dhanvantri onu çok fazla hastalığı tedavi etsin diye insanlara lütfetmiştir (Benelli ve ark., 2017). Yüzyıllar boyunca Hindistan'da "gerçeğin sembolü" olduğuna inanılan neem'in, Hindistan yarımadası'ndaki insanların yaşamı ve kültürü ile yakından ilişkili olmuştur. Neem Hintlilerin geçmişlerinde öylesine önemli bir ağaçtırki, Aryanlar ondan Hint tıbbi'nin kutsal kitabı olan Ayurveda'larında bile bahsetmişlerdir (Nicoletti ve ark., 2016b). Yüzyıllar boyunca, neem'in tıbbi önemi hiç bitmemiş ve şimdilerde ise Hintlilerin ve diğer insanların sıradan hayatındaki önemi nedeniyle "Köy Eczanesi" olarak kabul edilmektedir (Kumar ve Navaratnam, 2013). Geleneksel tıbbi bilgilerde onun böcek ve diğer zararlılara karşı kullanımları bildirilmektedir (Bhowmik ve ark., 2010).

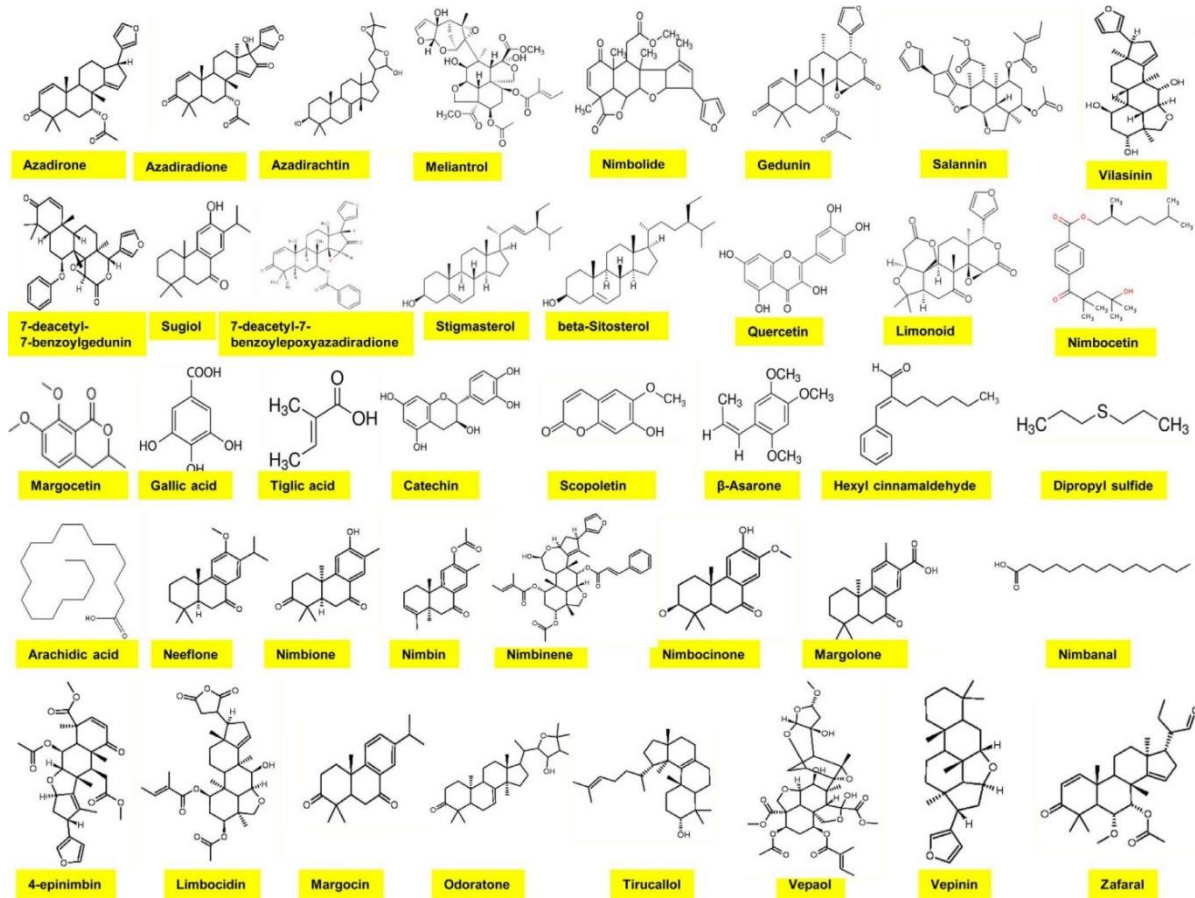
ABD Ulusal Bilim Akademisi, 1992 yılında yayınlanan raporunda: bu inanılmaz ağaç olan neem'i "küresel sorunların çözümünde bir ağaç" olarak tayin ederken, Birleşmiş Milletler neem'i "21. Yüzyılın Ağacı" olarak ilan

etmiştir. Avrupa literatüründe neem "tıbbi malzeme ve her derde deva ilaç olarak kabul edilir" (Tiwari ve ark., 2014).

## Aktif Bileşenler

300'ün üzerinde bileşik, neem'in çeşitli kısımlarından türetilmiştir. Azadiraktin, neem ağacının tamamında, diğer benzer triterpenoidlerle birlikte yağın olarak bulunur, fakat esas olarak, her 1 kg ağacın tohumlarının yağlı ekstraktında 40-90 g azadiraktin bulunur. Tohumlar esas olarak oleik asit (%50-60), palmitik asit (%15-19), stearik asit (%14-19) ve linoleik asit (%8-16) içeren asitli bir tat, kalıcı ve hoş olmayan bir koku ile karakterize edilir. Öte yandan, uçucu yağ kısmı; heksadekanoik asit (%34,0), oleik asit (%15,7), 5,6-dihidro-2,4,6-trietil- (4H) -1,3,5-dithiazin, metil oleat ve eudesm içerir (Khalil, 2013). Neem'den izole edilen biyoaktif bileşikler izoprenoidler ve izoprenoid olmayanlar olarak iki ana sınıfa ayrılır. İzoprenoidler; protomeliasinler, limonoidler, azadiron, gedunin ve onun türevleri olan vilasinin, C-sekomeliasinler, nimbin, salanın, azadiraktin gibi diterpenoidleri ve triterpenoidleri içermektedir (Şekil 1). Oysa İzoprenoid olmayanlar; proteinler (aminoasitler), karbonhidratlar (polisakaritler), sülfürlü bileşikler (flavonoidler, flavonoid glikozitleri, dihidrokolikol, kumarin, tanenler) ve alifatik bileşikler gibi bileşenleri içerir (Biswas ve ark., 2002; Khalil, 2013; Gupta ve ark., 2017).

Neem'in çeşitli kısımlarından çok sayıda bileşik izole edilmiş olsa da, bunlardan sadece çok azının biyolojik aktivitesi çalışılmıştır. Bu biyoaktif bileşiklerin bazılarının yapısı Şekil 1'de sunulmuştur.



Şekil 1 Biyoaktif neem bileşiklerinin yapısı (Gupta ve ark. 2017).  
Figure 1 Structure of bioactive neem compounds (Gupta et al 2017)

## Neem'in Pestisidal Kullanımları

Yaprak, tohum, ağaç kabuğu ve çiçeği oluşturan neem parçaları onun çoğu pestisidal aktivitelerinden sorumlu olan çok sayıda bileşenlere sahiptir (Lokeshwar ve ark., 2011; Chaudhary, 2017). Pestisidal özelliklere sahip bu maddeler neem ağacının tüm parçalarında bulunur. Bu ağaçtan elde edilen tohumların, %40'ı azadiraktin'li yağdan oluşur (Isman ve ark., 1991). Ekstraksiyon yöntemiyle, tohum çekirdeğinden neem yağı çıkarılır. Neem yağı bir düzineden fazla azadiraktin analogu içerir, ancak insektisidal aktiviteye en çok katkıda bulunan azadiraktin'dir. Nimbin, salannin ve bunların türevleri dahil olmak üzere kalan triterpenoidlerin etkinliği çok azdır (Isman, 2006). İlginç bir şekilde neem yağı, memeliler, kuşlar ve balıklar için toksik değildir. Böcekler üzerindeki çoklu etki şekli nedeniyle daha az direnç şansı sergiler. Genel olarak, neem yağı esaslı ürünlerin çok çeşitli tıbbi, veterinerlik ve tarımsal önemi olan zararlılara karşı etkili olduğu ispatlanmıştır, oysa arılar gibi faydalı böcekler etkilenmez (Nicoletti ve ark., 2016b; Chaudhary, 2017). Neem tohum çekirdeklerinden soğuk presleme ile elde edilen neem yağı, yumuşak gövdeli böcekler ve akarlar karşı oldukça etkilidir. Sivrisinekler ile ilgili olarak, *A. indica* yağının emülsifiye edilmiş formülasyonları, aynı zamanda saha koşulları altında, *Aedes*, *Anopheles* ve *Culex* dahil olmak üzere, farklı sivrisinek cinslerine karşı mükemmel bir larvisidal potansiyel göstermiştir (Murugan ve ark., 1996; Anjali ve ark., 2012; Benelli, 2015b; Benelli ve ark., 2017). Neem yağında disülfidin varlığı, onun biyoaktivitesine önemli bir katkıda bulunur. Neem tohumu yağının farklı formülasyonları, zararlı böcekler karşı; larvisidal, ovisidal, böcek büyümesini düzenleyici ve uzaklaştırıcı olarak aktivite sergiler (Chaudhary, 2017). Yaprak bitleri, böcekler, tırtıllar, dantel böcekleri, yaprakçıklar, etli böcekler, sivri böcekler, triperler ve beyazsinekleri içeren 60'tan fazla böcek zararlısı azadiraktin'den etkilenebilir. Böcek büyümesini düzenleyici özellikleri nedeniyle, böceklerin olgunlaşmamış (larval dönem) aşamalarına karşı çok etkilidir. Örneğin, Lepidoptera familyasındaki (güveler ve kelebekler) birçok türün olgunlaşmamış larvaları azadiraktin'e karşı özellikle hassastır (Çizelge 1). Neem ürünleri, süs bitkilerine ek olarak bazı meyveler, otlar ve sebzelerde kullanılmak üzere kaydedilebilir. Yenilebilir ürünler için, bazı neem bazlı ürünler hasat gününe kadar kullanılabilir. Onun insektisidal aktivitesi yaklaşık 100 civarında yayımlanan makalede rapor edilmiştir (Pavela ve ark., 2004, 2009; Nathan ve ark., 2005; Farahna ve ark., 2010; Lucantoni ve ark., 2010; Maciel ve ark., 2010; Howard ve ark., 2011; Kudom ve ark., 2011; Anjali ve ark., 2012; Kumar ve ark., 2012; Kumar ve Navaratnam 2013; Mariani ve Nicoletti 2013; Murugan ve ark., 2016; Unsal ve Guner, 2016; Chaudhary, 2017; Unsal ve Sart, 2018c).

### Etki Şekli

Neem ürünleri, böcekler üzerinde biyolojik aktivite olarak; böcek büyüme düzenleyicisi (insect growth regulation), çoğalmayı baskılayıcı (fecundity suppression), kısırlaştırıcı (sterilization), yumurtlamadan uzaklaştırıcı (oviposition repellency), beslenme engelleyici

(antifeedant), uzaklaştırıcı (repellent), larva öldürücü (larvicidal) ve zehirleyici (toxicidal) gibi çok yönlü değişim etkilerine sahiptir (Mulla ve Su, 1999) (Çizelge 1). Neem'in aktif maddelerinden Azadiraktin, büyüme düzenleyicisi, beslenme engelleyici, çoğalmayı baskılayıcı, uzaklaştırıcı ve diğer pestisidal özelliklere sahip olan kompleks bir limonoiddir. Azadirachtin B, salannin ve nimbin ve diğerleri ile ilgili triterpenoidler, neem'in bitkisel bazı biyoinsektisit özellikli aktif maddeleridir. Böceklerin büyümesini, gelişimini ve beslenmesini engelleyerek etki yaparlar. Bu özelliklerinin yanı sıra istisnai bir botanik kökenli insektisit olarak kabul edilir (Morgan, 2009).

### Böcek Büyüme Düzenleyicisi (Insect growth regulation)

Böcek larvaları beslenir ve büyüdükçe eski derisini değiştirir (ecdysis-moulting). Bu işlem bir enzim olan ecdizon tarafından yönetilir (Unsal, 2018b). Neem bileşenleri, özellikle azadiraktin, larva vücuduna penetre olduğu zaman, ecdizonun aktivitesi baskılanır ve larva deri değiştirmede başarısız olur, larva aşamasında kalır ve sonuçta ölür. Eğer azadiraktin konsantrasyonu yeterince yüksek değilse, larva pupa aşamasına geldikten sonra ölecektir. Konsantrasyon hala daha düşükse, pupadan çıkan ergin, oluşumunun engellenmesiyle %100 kusurlu olacak ve kesinlikle kısır olacaktır (Unsal ve Guner, 2016; Chaudhary ve ark., 2017; Unsal ve Sart, 2018c). Böceklerin veya yiyeceklerinin azadiraktin ile muamelesi doza bağlı bir şekilde büyüme inhibisyonu, malformasyonu ve mortaliteye neden olur. Dolayısıyla larva evrelerinde azadiraktin dozlarının artması şöyle sonuçlanır: (1) ömür ve yumurta bırakma verimliliği azaltılmış yetişkinler, (2) kanatsız erginler veya özürlü kanatlar (3) ecdysis sırasında deri değiştirme sürecini tamamlayamayarak ölen larva veya nimfler (4) başlarında ciddi deformasyonları ve torasik uzantıları olan pupalar, (5) normal instar uzunluğundan hemen sonra deri değiştirmeden hemen önce ölen nimfler veya larvalar, çok uzun bir süre boyunca "yaşlı" larva olarak kalan böcekler (7) ve muamele saatleri içinde ölen böcekler. Bu tür olaylar Lepidoptera, Diptera, Orthoptera, Hemiptera, Coleoptera ve Hymenoptera dahil olmak üzere çok çeşitli böcek taksonları boyunca tarif edilmiştir (Mordue (Luntz) ve Blackwell, 1993). Bu sonuçlar, böcek büyüme düzenleyicileri (IGRs) ile böceklerin muamelesinde gözlenenlere benzer etkilerdir (Mulla ve Su, 1999; Unsal ve ark., 2004; Boulahbel ve ark., 2015; Unsal ve Guner, 2016; Unsal ve Gorer, 2018a; Unsal ve Sart, 2018c).

### Larva Öldürücü (Larvicidal)

Larva öldürücü özellikleri, tarımsal zararlıların kontrolü için neem ürünlerinin kullanımının temel dayanağıdır. Bu etkiler, yağsız neem tohumu çekirdeklerinin metanolik özütleri için rapor edilmiştir. *Hyalomma anatolicum excavatum*'un yumurtalarında, larvalarında ve ergin evrelerinde; özütlerin %1,6; 3,2; 6,4 ve 12,8'lik konsantrasyonlarının uygulanmasında, ilk 7 gün deneme sonrasında yetersiz gelişmiş ve ölmüş larvalar; 15 gün sonra ise yeni yumurtadan çıkan larvaların beslenmemiş şekilleri ve onlara ait erginlerin ölüm oranlarındaki önemli bir artışa neden olan sonuçlar gözlenmiştir (Abdel-Shafy ve Zayed 2002).

Çizelge 1 Neem Ürünlerinden Etkilenen Böcekler (National Research Council, 1992'den uyarlandı)

Table 1 Insects Affected by Neem Products (Modified from National Research Council, 1992)

*Neem'in 400'den fazla böcek türünü etkilediği bilinmektedir. Burada, etkilenen bazı tür örneklerinin çeşitliliği ve etkilenme şekilleri hakkında kısa bilgiler sunulmuştur.*  
*Neem is known to affect more than 400 species of insects. Here, it is presented brief information on the variety of affected some species samplings and the ways in which they are affected.*

Böcek	Etkileri
Mediterranean fruit fly	Büyüme engelleyici, Zehirli
Oriental fruit fly	Pupa gelişimini önleyici, Büyüme geciktirici, Larvalar için zehirleyici
Face fly	Büyüme geciktirici, Zehirli
Horn fly	Uzaklaştırıcı, Büyüme geciktirici, Büyüme engelleyici
Whitefly	Uzaklaştırıcı, Büyüme geciktirici, Beslenme engelleyici
Housefly	Beslenme engelleyici, Deri değiştirmeyi bozucu, Uzaklaştırıcı
Sorghum shoot fly	Beslenme engelleyici
Yellow-fever mosquito	Larva öldürücü, Deri değiştirmeyi bozucu
House mosquito	Larvalar için zehirleyici
Flea	Büyüme geciktirici, Uzaklaştırıcı, Beslenme engelleyici, Büyüme gel. bozucu, Yumurta açılımını engelleyici
Spotted cucumber beetle	Büyüme geciktirici, Beslenme engelleyici
Mexican bean beetle	Büyüme geciktirici, Beslenme engelleyici, Deri değiştirmeyi bozucu
Flea beetle	Beslenme engelleyici
Khapra beetle	Beslenme engelleyici, Deri değiştirmeyi bozucu, Larvalar için zehirleyici
Confused flour beetle	Beslenme engelleyici, Deri değiştirmeyi bozucu, Larvalar için zehirleyici
Japanese beetle	Uzaklaştırıcı, Büyüme geciktirici, Beslenme engelleyici, Büyüme gelişimini bozucu
Red flour beetle	Beslenme engelleyici, Zehirli
American cockroach	Çoğalma ve deri değişimini azaltıcı, Verimli yumurta sayısını düşürücü
Bean aphid	Çoğalmayı azaltıcı, Deri değiştirmeyi bozucu
Rice gall midge	Zehirli
Diamondback moth	Larva ve pupa oluşumunu baskılayıcı, Büyüme geciktirici, Beslenme engelleyici
Webbing clothes moth	Beslenme engelleyici, Deri değiştirmeyi bozucu
Gypsy moth	Büyüme geciktirici, Beslenme engelleyici, Büyüme gelişimini bozucu
Corn earworm	Büyüme geciktirici, Beslenme engelleyici, Deri değiştirmeyi bozucu
Pink bollworm	Büyüme geciktirici, Beslenme engelleyici
Fall armyworm	Büyüme geciktirici, Erginleri uzaklaştırıcı, Beslenme engelleyici, D. D. bozucu, Larvalar için zehirleyici
Tobacco budworm	Beslenme engelleyici
Tobacco hornworm	Beslenme engelleyici, Büyüme gelişimini bozucu, Zehirli
Cabbage looper	Beslenme engelleyici
Leafminer	Büyüme geciktirici, Beslenme engelleyici, Deri değiştirmeyi bozucu, Zehirli
Serpentine leafminer	Kuvvetli pupa öldürücü, Büyüme geciktirici, Beslenme engelleyici, D. D. bozucu, Larvalar için zehirleyici
Brown planthopper	Beslenme engelleyici, Uzaklaştırıcı, Büyüme gelişimini bozucu, Çiftleşme engelleyici ve kısırlaştırıcı
Green leafhopper	Beslenme engelleyici
Migratory locust	Beslenme engelleyici, Toplu yaş. nimfleri yalnızlaştırıcı, Fitnes azaltıcı, Er.'de kanat oluşumunu engelleyici
House cricket	Deri değiştirmeyi bozucu
Large milkweed bug	Zehirli, Büyüme gelişimini bozucu
Mealy bugs	Uzaklaştırıcı, Beslenme engelleyici
Milkweed bug	Son deri değiştirmede deriden kurtulmada zorlaştırıcı, Deri değiştirmeyi bozucu
Fire ant	Beslenme engelleyici, Büyüme gelişimini bozucu
Boll weevil	Beslenme engelleyici
Cowpea weevil	Beslenme engelleyici, Zehirli
Rice weevil	Beslenme engelleyici, Büyüme gelişimini bozucu, Zehirli

*A. indica*'nın, *Aedes aedes aegyptica* (Linnaeus) ve *Culex quinquefasciatus* (Monzon ve ark., 1994; Wandscheer ve ark., 2004), *Drosophila melanogaster*'in üçüncü instar larvaları üzerine etkileri ispatlanmıştır (Mitchell ve ark., 1997). Yağsız neem tohumu çekirdeğinin sulu ekstraktının, dördüncü instar *C. quinquefasciatus* larva ve pupalarında 100 ppm'lik konsantrasyonunda % 100 mortaliteye neden olduğunu (Sagar ve Sehgal, 1996) ancak *anopheline* pupalarının gelişimi üzerine hiçbir

etkisinin olmadığını ifade eden raporlar da vardır (Rao ve ark., 1995).

Sivrisineklerle ilgili olarak, *A. indica* yağının emülsifiye edilmiş formülasyonları, tarla koşullarında, *Aedes*, *Anopheles* ve *Culex* dahil olmak üzere, farklı sivrisinek cinslerine karşı mükemmel bir larvisidal potansiyel göstermiştir (Murugan ve ark., 1996; Anjali ve ark., 2012; Benelli ve ark., 2015b; Benelli ve ark., 2017).

### Uzaklaştırıcı (Repellent)

Farklı neem parçaları ve ürünleri, sivrisinek uzaklaştırıcıları olarak yaygın bir kullanım alanı bulmuştur. Örneğin, *A. indica*'nın yaprak dumanının sivrisinekleri %70'e kadar uzaklaştırdığı tespit edilmiştir (Palsson ve Jaenson, 1999). Bazı raporlarda ise neem yağının da önemli böcek uzaklaştırıcı aktiviteye sahip olabileceğini göstermiştir (Atawodi ve Atawodi, 2009). Shannag ve ark. (2014)'na göre, Azatrol, neem yağı ve saf neem yağının üçlü kombinasyonunun uzaklaştırıcı etkisi, tamamıyla onların kullanılan konsantrasyonuna bağlıdır. Shannag ve ark. (2014), yüksek konsantrasyonlardaki bu üç ürünün, tatlı biber bitkileriyle beslenen yaprak bitlerini uzaklaştırabildiğini göstermiştir.

### Beslenme engelleyici (Antifeedant)

Beslenme engelleyici etkisi genellikle azadiraktin uygulamasının ardından görülen en belirgin ve güçlü bir etkidir. Böceklerdeki beslenme davranışı, böceklerin kimyasal sensörlerinden alınan sinirsel girdilere, örneğin ağız bölümlerindeki tat alıcılarına, tarsi ve ağız boşluğuna bağlıdır. Bu sensörler, merkezi sinir sistemine iletilen bir "duyusal kod" u birleştirir. Beslenmeden uzaklaşmanın azadiraktin'le tezahürü, bu kemoreseptörlerdeki engelleyici hücrelerin uyarılması yoluyla ve "şeker" reseptör hücrelerinin etkisizleştirilmesine bağlı olarak böceklerdeki besleme uyarımının bloke edilmesi yoluyla meydana gelir (Mordue (Luntz) ve ark., 1998). Dahası, azadiraktin sadece deri değiştirme anormalliklerine neden olan peptid hormon salgılamasını engellemekle kalmaz, aynı zamanda kas, yağ ve bağırsak hücreleri dahil böcek dokularında da hasara neden olur (Khalil, 2013). Beslenmeden uzaklaştırmaya ek olarak, azadiraktin enjeksiyonu ayrıca böceğin orta barsağında sindirim sonrası sindirim etkinliğinde bir azalmaya neden olan fizyolojik etkilere yol açar. Fizyolojik olarak bu azalma "sekunder" antioksidan etki olarak bilinir ve hormonal olduğu kadar fizyolojik sistemlerdeki rahatsızlıklardan da kaynaklanır. Bu rahatsızlıklar, böceğin orta barsağı boyunca besin hareketinin engellenmesini ve sindirim enzimlerinin üretimindeki engellenmeyi içerir (Schmutterer, 1985). Nisbet ve ark. (1996) azadiraktin'in bu antifeedant özelliğini vurgulamıştır

Çeşitli ham özütlerin ve neem'in saflaştırılmış fraksiyonlarının aktiviteleri, ekonomik açıdan önemli poliphag zararlısı *Spodoptera litura*'ya karşı değerlendirilmiştir (Jeyasankar ve ark., 2010). Mahsuller neem ürünleriyle muamele edildiğinde böceğin (*S. litura*) besleyici kanalında anti-peristaltik dalga gözlenmiş, böylelikle besleme sırasında böceklerde kusma hissine benzer bir etki yaratmıştır. Bu durum azadiraktin, salanın ve melantriol'ün varlığına bağlanmıştır. Bu algılamadan dolayı böcek neemle muamele görmüş yüzey üzerinde beslenememiş, aynı zamanda yutma kabiliyeti de engellenmiştir.

### Çoğalmayı baskılayıcı ve kısırlaştırıcı (Fecundity Suppression and Sterilization)

Oviposizyon caydırıcılığı, böcek üremesinin kesintiye uğraması da neem türevlerinin (azadiraktin) önemli bir özelliğidir. Ekdisteroid, vitellogenizi düzenleyen hormonlardan biri olduğundan; azadiraktin, beyin-korpus kardiyak kompleksinden PTH ve

allatotropin salınımını inhibe ederek hemolenf ekdisteroid'ünü değiştirebilen bir etkiye sahiptir (Mulla ve Su, 1999). Azadiraktin'in yumurtalık gelişimi, yumurtlama, yumurta canlılığı, yumurtlamadan uzaklaşma, cayma veya yumurta bırakmayı engelleme, ayrıca çiftleşme ve cinsel iletişimin bozulması gibi olumsuz etkileri Orthoptera, Hemiptera, Heteroptera, Coleoptera, Lepidoptera, Diptera ve Hymenoptera'da gözlenmiştir. Buna ilaveten erkek ve dişilerde çiftleşme, cinsel feromonlara cevap verme davranışları ve erkeklerde spermatogenezisin, azadiraktin muamelesinden sonra etkilendiği de gözlenmiştir (Schmutterer 1990: Dhar ve ark., 1996; Mulla ve Su, 1999).

Neem bazlı pestisitlerin, yaprak bitlerinin üreme potansiyeli üzerindeki etkisi; yetişkin olgunlaşması ve yumurta üretimini bozması, aktif bileşen olan azadiraktin tarafından nörosekretör hücrelerin salgılarının bloke edilmesine bağlanmıştır (Vimala ve ark., 2010). Nisbet ve ark. (1994), azadiraktin içeren diyetle beslenen *Myzus persicae*'nin üreme potansiyelinin, ilk 26 saat içinde kontrol diyeti ile beslenen *M. persicae*'nin üreme potansiyelinin yarısından daha az olduğunu gözlemişlerdir.

### Vektör kaynaklı Patojenlerin Gelişimini Engelleme

Sivrisinekler, sıtma, dang ve chikungunya gibi yılda milyonlarca ölüme yol açan ciddi insan hastalıklarına neden olmaktan sorumludur. Botanik kökenli insektisitler, sivrisineklerde sentetik insektisitlere karşı direnç olasılığını en aza indiren çok sayıda bileşen sergilediklerinden giderek daha fazla ilgi çekmektedir (Chaudhary ve ark., 2017). Böyle bir çalışmada, neem yağının sıtmanın kontrolü için çevre dostu bir alternatif olarak potansiyeli araştırılmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki neem yağ formülasyonları *Aedes*, *Anopheles* ve *Culex* gibi sivrisineklere karşı değerlendirilmiştir (Dua ve ark., 2009). Sonuçlarda, 1. gün sonunda *Anopheles*'te % 98.1, *Culex*'te % 95.5 ve *Aedes*'te % 95.1 azalma, 7 gün sonra ise larva kontrolünde % 100 ölüm olarak gözlemlenmiştir. Gösterilen anti-ekdisteroidal aktivite neem yağındaki büyüme inhibisyonu etkisi ile larvaları öldüren azadiraktin varlığından dolayı gerçekleşmiştir (Dua ve ark., 2009).

### Neem'in Çevresel Etkileri

Zayıf biyobozunurluk nedeniyle bazı sentetik böcek ilaçlarının kalıntılarının, bu ürünleri kullananlar için toksik etkileri vardır. Bu nedenle, hedeflenen zararlılara düşük konsantrasyonda aktivite ve seçici toksisite gösteren, ayrıca bitki ve memeliler için düşük toksik etkisi olan, istenilen güven ve ekonomik olarak uygulanabilen aktivitelere sahip, çevresel olarak uyumlu insektisitlere ihtiyaç duyulmaktadır (Khalil, 2013). Neem gibi botanik pestisitler, çevrede sınırlı kalıcılığa sahiptir. Neem sentetik olmayan, doğal bir bitkisel böcek ilacı olarak ideal bir alternatif adaydır. Çevrede kalıcı değildir ve ultraviyole ışığı ve yağışla bozunur. Birçok neem ürünü, düşük memeli toksisitesine sahip olma eğilimindedir. Neem ürünlerinin birçoğunun hızlı bir şekilde bozdukları için, geleneksel pestisitlerin bazılarını kıyasla, hedef olmayan faydalı organizmalar üzerinde daha az etkisi olabilir. Gelişmiş dünyada neem'e olan ilgi; farklı etki biçimlerine sahip olan

neem bazlı zararlı kontrol ürünlerinin sadece zararlılara karşı etkili olmadığı, zararlı direnci problemi oluşturmada, sentetik böcek ilaçlarından daha az eğilimli olduğu gerçeğine bağlanabilir (Saxena, 2017). Yıllar boyunca yapılan çok sayıda araştırma onun pestisidal aktivitesini doğrulamıştır. Genel olarak böcek öldürücü özellikleri, çevresel güvenirliliği, neem ve neem bazlı ürünlerin böcek zararlılarının kontrolü için kamusal kabulü, onun böcek zararlılarına karşı bazı kontrol programlarına alınmasına neden olmuştur (Sharma ve ark., 1993; Su ve Mulla 1998b). Kimyasal olarak sentezlenen ticari pestisitlere karşı ekonomik ve çevre dostu bir alternatiftir (Chaudhary ve ark., 2017). Genel olarak, neem yağı bazlı ürünlerin sivrisineklerde dahil olmak üzere çok çeşitli tıbbi, veterinerlik ve tarımsal önemi olan zararlılara karşı etkili olduğu ispatlanmıştır. Oysa arılar gibi faydalı böceklerin etkilenmediği gözlenmiştir (Nicoletti ve ark., 2016b). Özellikle, deney verilerinin yanı sıra, neem tohumlarından türetilen herhangi bir formülasyonda düşük dozajlarda bile, yaklaşık 400 civarındaki farklı böceğe karşı beslenme engelleyici, çoğalma baskılayıcı, uzaklaştırıcı, kısırlaştırıcı, büyüme gelişim düzenleyici ve larva öldürücü etkileri gözlenmiştir (Abdel-Ghaffar ve ark., 2008, 2009, 2012; Semmler ve ark., 2009; Schmahl ve ark., 2010; Al-Quraishy ve ark., 2011; Mehlhorn ve ark., 2012; Benelli ve ark., 2015b; Benelli ve ark., 2017).

## Sonuçlar

Sürekli olarak sentetik böcek ilacı kullanımıyla ilişkili çevresel riskler; hedef dışı böceklerle minimum etkileri olan, seçici toksisite sağlayan, bitkisel bazlı insektisidal bileşenlerin kullanılmasını teşvik etmiştir. Bitkisel pestisitlerin kullanımı, tarımsal uygulamalara yardımcı olmak için çevre dostu zararlı kontrol stratejisi sunmaktadır. Çeşitli bitkiler arasında, neem türevli insektisitler, bitki özütlerinde ve yağdaki çoklu limonoid'lerin varlığı nedeniyle sadece sürdürülebilir bir zararlı kontrol mekanizması sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda değişik sentetik insektisitlerden kaynaklı bitki hastalığı direncini önleyen ve en çok kabul edilen biyopestisitler olmuştur (Chaudhary ve ark., 2017). Neem ürünleri çevrede parçalanabilir ve hedef olmayan organizmalar için nispeten güvenlidir. Neem ürünlerine karşı direnç vakası rapor edilmemiştir. Direnç eksikliği, içerilen bileşenlerin karmaşıklığından ve böceklerle karşı çoklu hareket tarzından kaynaklanmaktadır (Mulla ve Su, 1999). Neem yağı, keki ve bunların fraksiyonları, önemli arbovirus ve sıtma sivrisinek vektörlerine karşı umut verici şekilde ovisidal, larvisidal, pupisidal ve ovipozisyon engelleyicileri gibi davranırlar. Özellikle, neem bileşenlerinin böceklerle karşı çoklu etki şekli yüzünden sivrisineklerde direncin gelişmesini pek mümkün kılmaz (Benelli ve ark., 2017). Azadiraktin ve neem özlerinden elde edilen diğer biyoaktif bileşikler; beslenmeyi, büyüme-gelişmeyi, üremeyi ve hatta vektör kaynaklı patojenlerin gelişimini etkileyen birçok eylemde bulunabilir. Neem bazlı zararlı kontrol ajanlarının ve gübrelerin kullanılması, pestisit kaynaklı olan tehlikeleri karada ve su kütlelerindeki kirlenmeyi azaltabilir. Üstelik neem, üzerinde yaşayan böceklerden kuşlara ve memelilere kadar çeşitlilik gösteren organizmalar için bitkisel ve hayvansal biyolojik çeşitliliğin zenginleşmesinde de önemli bir rol oynayabilir (Saxena, 2017).

## Kaynaklar

- Abdel-Ghaffar F, Al-Quraishy S, Sobhy H, Semmler M. 2008. Neem seed extract shampoo, Wash Away Louse®, an effective plant agent against *Sarcoptes scabiei* mites infesting dogs in Egypt. *Parasitol Res.*, 104:145–148.
- Abdel-Ghaffar F, Semmler M, Al-Rasheid KAS, Mehlhorn H. 2009. In vitro efficacy of ByeMite® and Mite-Stop® on developmental stages of the red chicken mite *Dermanyssus gallinae*. *Parasitol Res.*, 105:469–471.
- Abdel-Ghaffar F, Al-Quraishy S, Al-Rasheid KAS, Mehlhorn H. 2012. Efficacy of a single treatment of head lice with a neem seed extract: an in vivo and in vitro study on nits and motile stages. *Parasitol Res.*, 110:277–280.
- Abdel-Shafy S, Zayed AA. 2002. In vitro acaricidal effect of plant extract of neem seed oil (*Azadirachta indica*) on egg, immature, and adult stages of *Hyalomma anatolicum excavatum* (Ixodoidea: Ixodidae). *Vet Parasitol.*, 106 (1): 89–96.
- Al-Quraishy S, Abdel-Ghaffar F, Al-Rasheid KAS, Mehlhorn J, Mehlhorn H. 2011. Effects of a neem seed extract (MiteStop®) on mallophages (featherlings) of chicken: in vivo and in vitro studies. *Parasitol Res.*, 110:617–622.
- Anjali CH, Sharma Y, Mukherjee A, Chandrasekaran N. 2012. Neem oil (*Azadirachta indica*) nanoemulsion-a potent larvicidal agent against *Culex quinquefasciatus*. *Pest Manag Sci.*, 68:158–163.
- Atawodi SE, Atawodi JC. 2009. *Azadirachta indica* (neem): a plant of multiple biological and pharmacological activities. *Phytochem Rev.*, 8:601–620. Doi: 10.1007/s11101-009-9144-6.
- Benelli G. 2015b. Research in mosquito control: current challenges for a brighter future. *Parasitol Res.*, 114:2801–2805.
- Benelli G, Mehlhorn H. 2016. Declining malaria, rising of dengue and Zika virus: insights for mosquito vector control. *Parasitol Res.*, 115:1747–1754.
- Benelli G, Canale, A, Toniolo, C, Higuchi, A, Murugan, K, Pavela, R., Nicoletti, M. 2017. Neem (*Azadirachta indica*): towards the ideal insecticide?, *Natural Product Research*, 31:4, 369-386, Doi: 10.1080/14786419.2016.1214834.
- Bhowmik D, Chiranjy B, Yadav J, Tripathi KK, Sampath Kumar KP. 2010. Herbal remedies of *Azadirachta indica* and its medicinal application. *J Chem Pharm Res.*, 2:62–72.
- Biswas K, Chattopadhyay I, Banerjee RK, Bandyopadhyay U. 2002. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Curr Sci.*, 82:1336–1345.
- Boulahbel B, Aribi N, Kilani-Morakchi S, Soltani N. 2015. Activity of neem oil in *Drosophila melanogaster*: toxicity and delayed effect on the progeny. *J. Entomol. Zool.*, 3:306–310.
- Chaudhary S, Kanwar RK, Sehgal A, Cahil DM, Barrow CJ, Sehgal R, Kanwar JR. 2017. Progress on *Azadirachta indica* Based Biopesticides in Replacing Synthetic Toxic Pesticides. *Front Plant Sci.* 8(8):610. Doi: 10.3389/fpls.2017.00610.
- Dhar RH, Dawar S, Garg SE, Basir G, P. Talwar P. 1996. Effects of volatiles from neem and other natural products on gonotrophic cycle and oviposition of *Anopheles stephensi* and *An. culicifacies*. *J. Med. Entomol.*, 33:195-201.
- Du YH, Li JL, Jia R.Y, Yin ZQ, Li XT, Lv C. 2009. Acaricidal activity of four fractions and octadecanoic acid-tetrahydrofuran-3, 4-diyl ester isolated from chloroform extracts of neem (*Azadirachta indica*) oil against *Sarcoptes scabiei* var. *cuniculi* larvae in vitro. *Vet. Parasitol.*, 163:175–178. Doi:10.1016/j.vetpar.2009.04.002.
- Dua VK, Pandey AC, Raghavendra K, Gupta A, Sharma T, Dash AP. 2009. Larvicidal activity of neem oil (*Azadirachta indica*) formulation against mosquitoes. *Malaria J.*, 8:124. Doi: 10.1186/1475-2875-8-124.

- Farahna M, Bedri S, Khalid S, Idris M, Pillai CR, Khalil EA. 2010. Anti-plasmodial effects of *Azadirachta indica* in experimental cerebral malaria: Apoptosis of cerebellar Purkinje cells of mice as a marker. *N Am J Med Sci.*, 2:518–525.
- Forster P, Moser G. 2000. Status Report on Global Neem Usage. Eschborn: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH.
- Gahukar, RT. 2014. Factors affecting content and bioefficacy of neem (*Azadirachta indica* A.Juss.) phytochemicals used in agricultural pest control: A review. *Crop Protection*, 62:93–99.
- Gupta SC, Prasad S, Tyagib AK, Kunnumakkarac AB, Aggarwal BB. 2017. Neem (*Azadirachta indica*): An indian traditional panacea with modern molecular basis. *Phytomedicine*, 34:14–20.
- Howard AFV, Adongo EA, Githure JVJ. 2011. Effects of a botanical larvicide derived from *Azadirachta indica* (the neem tree) on oviposition behavior in *Anopheles gambiae* s.s. mosquitoes. *J Med Plant Res.*, 5:1948–1954.
- Isman M, Koul O, Arnason J, Stewart J, Salloum G. 1991. Developing a neem-based insecticide for Canada. *Mem. Entomol. Soc. Can.*, 123: 39–46. Doi: 10.4039/entm123159039-1.
- Isman MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51:45–66. Doi: 10.1146/annurevento.51.110104.151146.
- Jeyasankar A, Raja N, Ignacimuthu S. 2010. Antifeedant and growth inhibitory activities of *Syzygium lineare* Wall. (Myrtaceae) against *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). *Current Research Journal of Biological Sciences*, 2(3):173-177.
- Khalil MS. 2013. Abamectin and Azadirachtin as Eco-friendly Promising Biorational Tools in Integrated Nematodes Management Programs. *J Plant Pathol Microb.*, 4:174. Doi:10.4172/2157-7471.1000174.
- Koul O, Wahab S. 2007. *Neem: today and in the new millennium*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. ISBN. 1402012292.
- Kudom AA, Mensah BA, Botchey MA. 2011. Aqueous neem extract versus neem powder on *Culex quinquefasciatus*: implications for control in anthropogenic habitats. *J Insect Sci.*, 11:142. Doi:10.1673/031.011.14201.
- Kumar S, Raman RP, Kumar K, Pandey PK, Kumar N, Mohanty S, Kumar A. 2012. In vitro and in vivo antiparasitic activity of azadirachtin against *Argulus spp.* in *Carassius auratus* (Linn. 1758). *Parasitol Res.*, 110:1795–1800.
- Kumar VS, Navaratnam V. 2013. *Neem (Azadirachta indica)*: prehistory to contemporary medicinal uses to humankind. *Asian Pacif J Trop Biomed.*, 3:505–514.
- Lucantoni L, Giusti F, Cristofaro M, Pasqualini L, Esposito F, Lupetti P, Lucantoni L, Yerbanga RS, Lupidi G, Pasqualini L. 2010. Transmission blocking activity of a standardized neem (*Azadirachta indica*) seed extract on the rodent malaria parasite *Plasmodium berghei* in its vector *Anopheles stephensi*. *Malar J.*, 9: 66. Doi:10.1186/1475-2875-9-66.
- Maciel MV, Morais SM, Bevilaqua CM, Silva RA, Barros RS. 2010. In vitro insecticidal activity of seed neem oil on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). *Rev Bras Parasitol Vet.*, 19:7–11.
- Mariani S, Nicoletti M. 2013. Antilarval activity of neem cake extracts against *Aedes albopictus*. *Pharmacol Online.*, 3:122–123.
- Mehlhorn H, Walldorf V, Abdel-Ghaffar F, Al-Quraishy S, Al-Rasheid KAS, Mehlhorn J. 2012. Biting and blood sucking lice of dogs—treatment by means of a neem seed extract (MiteStop®, Wash Away Dog). *Parasitol Res.*, 110:769–773.
- Mitchell MJ, Smith SL, Johnson S, Morgan ED. 1997. Effects of the neem tree compounds azadirachtin, salannin, nimbin, and 6-desacetylnimbin on ecdysone 20-monooxygenase activity. *Arch Insect Biochem Physiol.*, 35(1–2):199–209.
- Monzon RB, Alvior JP, Luczon LL, Morales AS, Mutuc FE. 1994. Larvicidal potential of five Philippine plants against *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Southeast Asian J Trop Med Public Health.*, 25(4):755–759.
- Mordue (Luntz) AJ, Blackwell A. 1993. Azadirachtin: an Update. *J. Insect Physiol.*, 39(11): 903-924.
- Mordue (Luntz) AJ, Simmonds SV, Ley WM, Blaney W, Mordue M, Nasiruddin M, Nisbet AJ. 1998. Actions of azadirachtin, a plant allelochemical, against insects. *Pestic. Sci.*, 54: 277–284. Doi:10.1002/(SICI)1096-9063(199811)54:3<277::AID-PS801>3.0.CO;2-I.
- Morgan ED. 2009. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorg. Med. Chem.*, 17:4096–4105. Doi:10.1016/j.bmc.2008.11.081
- Mohammed FS, Akgul H, Sevindik M, Khaled BMT. 2018. Phenolic content and biological activities of *Rhus coriaria* var. *zebaria*. *Fresen Environ Bull.*, 27(8): 5694-5702.
- Mulla MS, Su T. 1999. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medical and veterinary importance. *J Am Mosq Control Assoc.*, 15:133–152.
- Murugan K, Babu R, Jeyaabalan D, Kumar NS, Sivaramakrisham S. 1996. Antipupal effect of neem oil and neem seed kernel extract against mosquito larvae of *Anopheles stephensi* (Liston). *J Entomol Res.*, 20:137–139.
- Murugan K, Panneerselvam C, Samidoss CM, Madhiyazhagan P, Suresh U, Roni M, Chandramohan B, Subramaniam J, Dinesh D, Rajaganesh R. 2016. In vivo and in vitro effectiveness of *Azadirachta indica*-synthesized silver nanocrystals against *Plasmodium berghei* and *Plasmodium falciparum*, and their potential against malaria mosquitoes. *Res Vet Sci.*, 106:14–22.
- Nathan SS, Kalaivani K, Murugan K. 2005. Effects of neem limonoids on the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston. *Acta Trop.*, 96:47–55.
- National Research Council. 1992. *Neem: A Tree For Solving Global Problems*. National Academy Press, Washington, D.C. ISBN. 0309046866.
- Nicoletti M, Mariani S, Maccioni O, Coccioletti T, Murugan K. 2012a. Neem cake: chemical composition and larvicidal activity on Asian tiger mosquito. *Parasitol Res.*, 111:205–213.
- Nicoletti M, Murugan K, Canale A, Benelli G. 2016b. Neem-borne molecules as eco-friendly control tools against mosquito vectors of economic importance. *Curr Org Chem.* Doi:10.2174/1385272820666160218233923.
- Nigam SK, Mishra G, Sharma A. 1994. *Neem: A promising natural insecticide*, *Appl Bot Abstr.*, 14:35-46.
- Nisbet AJ, Woodford JAT, Strang RHC. 1994. The effects of azadirachtin-treated diets on the feeding behaviour and fecundity of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Entomol. Exper. Appl.*, 71:65–72.
- Nisbet AJ, Nasiruddin M, Walker E. 1996. Differential thresholds of azadirachtin for feeding deterrence and toxicity in locusts and an aphid. *Entomol. Exp. Appl.*, 80:69–72. Doi: 10.1111/j.1570-7458.1996.tb00887.x.
- Palsson K, Jaenson TG. 1999. Plant products used as mosquito repellents in Guinea Bissau. *West Africa Acta Trop.*, 72(1):39–52.
- Pankaj S, Lokeshwar T, Mukesh B, Vishnu B. 2011. Review on *Neem (Azadirachta indica)*: Thousand Problems one Solution. *International Research Journal of Pharmacy*, 2(12):97-102.
- Pavela R, Barnet M, Kocourek F. 2004. Effect of azadirachtin applied systemically through roots of plants on the mortality, development and fecundity of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*). *Phytoparasitica*, 32:286–294.



- Pavela R, Kazda J, Herda G. 2009. Effectiveness of neem (*Azadirachta indica*) insecticides against *Brassicapod midge* (*Dasineura brassicae* Winn.). J Pest Sci., 82:235–240.
- Rao DR, Reuben R, Nagasampagi BA. 1995. Development of combined use of neem (*Azadirachta indica*) and water management for the control of culicine mosquitoes in rice fields. Med Vet Entomol., 9(1): 25–33.
- Sagar SK, Sehgal SS. 1996. Effects of aqueous extract of deoiled neem (*Azadirachta Indica* A. Juss.) seed kernel and karanja (*Pongamia Glabra vent*) seed kernel against *Culex quinquefasciatus*. J Commun Dis., 28(4):260–269.
- Saxena, RC. 1998. Botanical pest control. In: Dhaliwal, G.S., Heinrichs, E.A. (Eds.), Critical Reviews in Insect Pest Management. Commonwealth Publishers, New Delhi, India, pp. 155-179. ISBN. 9780123985293.
- Saxena, RC. 2017. Neem for sustainable pest management and environmental conservation. From: ECHOAsiaNotes(/en/resources/d0eaf359-b4a4-43a1-801b-ab1320c1ba76)AsiaNote Issue #24 (/en/resources/8070b929-59de-4c4c-893d-b5cd97542a41).
- Schmahl G, Al-Rasheid KAS, Abdel-Ghaffar F, Mehlor H. 2010. The efficacy of neem seed extracts (Tresan®, MiteStop®) on a broad spectrum of pests and parasites. Parasitol Res., 107:261–269.
- Schmutterer H. 1985. Which insect pests can be controlled by application of neem seed kernel extracts under field conditions. Z. Angew. Entomol., 100:468–475. Doi:10.1111/j.1439-0418.1985.tb02808.x.
- Schmutterer, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Annu. Rev. Entomol., 35:271–297.
- Semmler M, Abdel-Ghaffar F, Klimper S, Mehlor H. 2009. Nature helps: from research to products against blood-sucking arthropods. Parasitol Res., 105:1483–1487.
- Sevindik M, Akgul H, Pehlivan M, Selamoglu Z. 2017. Determination of therapeutic potential of *Mentha longifolia* ssp. *longifolia*. Fresen Environ Bull, 26(7): 4757–4763.
- Shannag, HS, Capinera JL, Freihat NM. 2014. Efficacy of different neem-based biopesticides against green peach aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). International Journal of Agricultural Policy and Research., 2(2):61–68.
- Sharma VP, Ansari MA, Razdan RK. 1993. Mosquito repellent action of neem (*Azadirachta indica*) oil. J Am Mosq Control Assoc., 9:359–360.
- Su T, Mulla MS. 1998b. Ovicidal activity of neem products (azadirachtin) against *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). J Am Mosq Control Assoc., 14:204–209.
- Subbalakshmi, L, Muthukrishnan, P, Jeyaraman S. 2012. Neem products and their agricultural applications. J. Biopest., 5:72–76.
- Tiwari R, Verma AK, Chakraborty S, Dhama K, Singh SV. 2014. Neem (*Azadirachta indica*) and its Potential for Safeguarding Health of Animals and Humans: A Review. Journal of Biological Sciences, 14:110-123. Doi: 10.3923/jbs.2014.110.123.
- Ünsal S, Ozparlak H, Aktumsek A. 2004. Effects of Diflubenzuron on the Integument of Fifth Instar *Galleria mellonella* Larvae. Phytoparasitica, 32(1):43-51.
- Ünsal S, Güner E. 2016. The Effects of Biopesticide Azadirachtin on the Fifth Instar *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera:Pyralidae) Larval Integument. International Journal of Crop Science and Technology, 2(2): 60-68.
- Ünsal S, Gorer N. 2018a. Effects of Triflumuron on larval integument of sixth instar *Galleria mellonella* (L) (Lepidoptera:Pyralidae). Fresen Environ Bull., 27:5A, 3823-3831.
- Ünsal S. 2018b. A light microscopic study on larval cycle of lepidoptera. Fresen Environ Bull., 27:10, 6924-6932.
- Ünsal S, Sart H. 2018c. Effects of NeemAzal-T/S chitin synthesis inhibitor (CSI) activity against *Galleria mellonella* (L) (Lepidoptera: Pyralidae). Fresen Environ Bull., 27(10):7090-7098.
- Vimala B, Murugani K, Deecaraman M, Karpagam S, Yalakshmi V Sujatha K. 2010. The toxic effect of neem extract, spinosad and endosulfan on the growth of aphids and its predator. Bioscan, 5(3):383-386.
- Vir S. 2007. Neem genetic diversity in India and its use as biopesticide and biofertilizer. Indian J. Plant Prot., 35:185-193.
- Wandscheer CB, Duque JE, da Silva MA, Fukuyama Y, Wohlke JL, Adelman J, Fontana JD. 2004. Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. Toxicon, 44(8):829–835.
- WHO.1990. Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture. Geneva: World Health Organisation. ISBN. 9241561394.
- WHO. 2012. Global Plan for insecticide management in malaria vectors. Geneva: World Health Organisation. ISBN. 9789241564472.