

ERZİNCAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TRANS-PİNOCARVEOL KİMYASALININ *Avena fatua* L.
(POACEAE) ve *Sinapis arvensis* L. (BRASICACEAE) TÜRLERİ
ÜZERİNE BİYOHERBİSİDAL POTANSİYELİNİN
BELİRLENMESİ**

Halil İbrahim TÜRKÖĞLU

BİYOLOJİ ANABİLİMDALI

ERZİNCAN
2016

Her Hakkı Saklıdır

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı : Halil İbrahim TÜRKOĞLU

İmza

:

Halil İbrahim Türkoğlu



"*Trans-pinocarveol* kimyasalının *Avena fatua* L. (Poaceae) ve *Sinapis arvensis* L. (Brassicaceae) türleri üzerine biyoherbisidal potansiyelinin belirlenmesi" adlı Yüksek Lisans tezi, Erzincan Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Halil İbrahim TÜRKÖĞLU

Danışman

Prof. Dr. Ali KANDEMİR



Prof. Dr. Ali KANDEMİR danışmanlığında, Halil İbrahim TÜRKOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma 28.10.2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ali KANDEMİR

İmza: 

Üye : Doç. Dr. Aykut SAĞLAM

İmza: 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Etem OSMA

İmza: 

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

28/10/2016



Prof. Dr. Ali SÜLÜN
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TRANS-PİNOCARVEOL KİMYASALININ Avena fatua L. (POACEAE) ve Sinapis arvensis L. (BRASICACEAE) TÜRLERİ ÜZERİNE BİYOHERBİSİDAL POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ

Halil İbrahim TÜRKOĞLU

Erzincan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ali KANDEMİR

Bu çalışmada, saf olarak temin edilen *trans*-pinocarveol kimyasalının belli konsantrasyonlarda (0, 10, 25, 50, 100, 200 ve 300 μ M) hazırlanan çözeltileri bir monokotil (*Avena fatua*L. / Poaceae) ile bir dikotil (*Sinapis arvensis* L. / Brassicaceae) yabancı ot tohumunun bulunduğu ortama ilave edildi. Bitkilere ait tohumlar, *trans*-pinocarveol'un bulunduğu ortamda çimlenmeye bırakıldı. Bu kimyasalın 5. gün tohum çimlenme inhibisyonu (%) 3. gündeki tohumlarda hidrolitik enzimlerin (α -amilaz, β -amilaz ve proteaz) aktivitesi ve α -amilazın doğal-PAGE ile belirlenen izoenzimleri üzerine etkisi belirlendi. *Trans*-pinocarveol muamelesi ile hem *A. fatua* hemde *S. arvensis* tohumlarında konsantrasyon artışına bağlı olarak çimlenme oranında kontrole göre önemli oranda inhibisyon belirlendi. *Trans*-pinocarveol hidrolitik enzimlerin hepsinin (α -amilaz, β -amilaz ve proteaz) aktivitesinde önemli derecede bir inhibisyona sebep olduğu belirlendi. *Trans*-pinocarveol'nun farklı konsantrasyonlarında çimlenmeye bırakılan *A. fatua* ve *S. arvensis* tohumlarının konsantrasyon artışına bağlı olarak çimlenme oranı ile erken fide gelişim parametrelerinde (taze ve kuru ağırlık ile kök-gövde uzunlukları) kontrole göre, önemli oranda inhibisyon belirlendi. Çimlenmenin 3. gününde *in vivo* olarak ölçülen α -amilaz, β -amilaz ve proteaz aktivitesi düşerken bu enzimlerin *in vitro* aktivitelerine bu maddenin herhangi bir etkisi belirlenemedi. Ayrıca *trans*-pinocarveol muamelesi ile hem *A. fatua* hemde *S. arvensis* tohumlarında konsantrasyon artışına bağlı olarak protein içeriği ile çözünür şeker oranında artış belirlendi. α -amilazın doğal-PAGE profilinde de spektrofotometrik enzim aktivitesine paralel sonuçlar elde edildi. Bu çalışmayla, allelopatik özelliğe sahip bitkilerin esansiyel yağları içerisinde bulunan *trans*-pinocarveol kimyasalının komşu bitkilerin tohum çimlenmesi sürecindeki etkili hidrolitik enzimlerin aktivitesini düşürerek çimlenme inhibisyonuna sebep olduğu ileri sürülmektedir.

2016, 67sayfa

Anahtar Kelimeler: Allelopati, *Avena fatua*, Biyoherbisit, Çimlenme Fizyolojisi, *Sinapis arvensis*, *Trans*-pinocarveol

ABSTRACT

Master Thesis

**DETERMINATION OF BIOHERBICIDAL POTENTIAL of *TRANS*-PINOCARVEOL ON
Avena fatua L. (POACEAE) AND *Sinapis arvensis* L. (BRASICACEAE)**

Halil İbrahim TÜRKOĞLU

Erzincan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Ali KANDEMİR

In this study, we investigated the phytotoxicity of *trans*-pinocarveol against a monocot grassy (*Avena fatua*) and one broad-leaved (*Sinapis arvensis*) weeds in terms of germination and root and coleoptile/hypocotyl growth. *Trans*-pinocarveol (10, 25, 50, 100, 200 and 300 μ M) was evaluated for phytotoxicity in a dose-response manner under laboratory conditions. After 5 days, final germination, coleoptile/hypocotyl and root length, dry matter weight of the seedlings was calculated. In addition, the activity of enzymes about the germination process (α -amylase, β -amylase and protease) in seed endosperms and isoenzymes of α -amylase with natural-PAGE was determined. *Trans*-pinocarveol inhibited the germination, length of root and coleoptile/hypocotyl, dry matter weight of root, coleoptile/hypocotyl of test weeds in a dose-response manner. *Trans*-pinocarveol also inhibited the germination process enzymes (α -amylase, β -amylase and protease). The inhibitory effect of *trans*-pinocarveol was greater for *S. arvensis* than *A. fatua* and more pronounced at increasing concentrations of *trans*-pinocarveol in the petri. The present study shows that *trans*-pinocarveol might be a potent phytotoxic substance in the essential oils of *N. meyeri* plant well known allelopathical properties. Thus, this phytotoxic substance might play important roles in the allelopathy of *N. meyeri* plants through the growth inhibition of neighboring plant species. Therefore, *trans*-pinocarveol can be explored as a bioherbicide under sustainable weed management. Our results can also contribute to research related to weed control in agriculture applications. Our findings will both fill in the big gap in the elemental sciences and lead to the detection of active substance or substances as pure that cause this inhibition, production and then lead to its use agricultural areas. As organic agriculture gains importance and will develop in time, the importance of this study will be understood better.

2016,67 pages**Keywords:** Allelopathy, *Avena fatua*, Bioherbicide, Germination Physiology, *Sinapis arvensis*, *Trans*-pinocarveol

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunulan bu çalışma Sayın Prof. Dr. Ali KANDEMİR yöneticiliğinde gerçekleşmiştir. Tez konumun belirlenmesinden, araştırmaların planlanmasına ve sonuçların tartışılmasına kadar her an bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen başta danışmanım Sayın Prof. Dr. Ali KANDEMİR olmak üzere Erzincan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalında görev yapan öğretim elemanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında bölüm imkânlarından faydalanmamı sağlayan Biyoloji Bölümü Başkanı Sayın Prof. Dr. Salih DOĞAN'a, yardım ve desteklerini gördüğüm Dr. Hüseyin KANBUR, Betül ÖNEL, Yrd. Doc. Dr. İhsan AYDIN, Dr. Deniz TIRYAKI, Samed ŞİMŞEK ve S.Sevde İLHAN'a, çalışmalarım sırasında bölüm imkânlarından faydalanmamı sağlayan Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Başkanı Sayın Prof. Dr. Ökkeş ATICI 'ya teşekkürler ederim.

Sadece yüksek lisans çalışmalarım sırasında değil, bütün hayatım boyunca maddi, manevi her zaman beni destekleyen ve yanımda olan, hiçbir zaman sevgi ve desteklerini esirgemeyen annem-babam Nezihe-Hasan TÜRKOĞLU ile kardeşim Harun Reşit TÜRKOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, FEN-A-090614-0087 no'lu Erzincan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi olarak desteklenmiş ve Erzincan Üniversitesi Fen-Fakültesi Bitki Biyolojisi Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Desteklerinden dolayı Erzincan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Halil İbrahim TÜRKOĞLU

Ekim, 2016

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
3. MATERYAL ve METOD.....	24
3.1. Bitki Materyali	25
3.2. Çimlenme Yüzdesi (%) Belirlenmesi	25
3.3. Kök Uzunluğu (mm) Belirleme.....	27
3.4. Gövde Uzunluğu (mm) Belirleme	27
3.5. Kök Yaş Ağırlığı (mg) Belirleme.....	27
3.6. Gövde Yaş Ağırlığı (mg) Belirleme	27
3.7. Kök Kuru Ağırlığı (mg) Belirleme.....	28
3.8. Gövde Kuru Ağırlığı (mg) Belirleme	28
3.9. Alfa Amilaz (α -amilaz) Aktivitesinin Belirlenmesi	29
3.10. Beta Amilaz (β -amilaz) Aktivitesinin Belirlenmesi	29
3.11. Protein Miktarının Belirlenmesi	29
3.12. İndirgen Şeker Tayini.....	30
3.13. Poliakrilamid Jel Elektroföresi (PAGE) ile İzoenzimlerin Belirlenmesi	31
3.14. İstatistik Analiz.....	32
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	33
4.1. <i>Trans</i> -pinocarveolün Çimlenme ile Erken Gelişim Parametrelerine Etkisi ...	33
4.2. <i>Trans</i> -pinocarveolün Çimlenme Sırasında Etkili Hidrolitik Enzimlere Etkisi	34
4.3. <i>Trans</i> -pinocarveolün Çimlenme Sırasında Etkili Hidrolitik Enzimlerin Substrat ve Ürünlerine Etkisi.....	34

5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	52
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ	67



SİMGELER ve KISALTMALAR

ACC	: 1-aminosiklopropan 1-karboksilat
APX	: Askorbat peroksidaz
AsA	: Askorbik asit
BCA	: Bişinkonik asit
BVOCs	: Biyojenik uçucu organik bileşikler
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
E.Ü.	: Enzim ünitesi
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
GA	: Giberellik Asit
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSSG	: L-Glutasyon okside
kDA	: Kilo dalton
LPO	: Lipid peroksidasyon
MDA	: Malondialdehid
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
mM	: Milimolar
NADPH	: β-Nikotinamid adenin dinükleotid
NBT	: Nitroblue tetrazolium klorür
OH [•]	: Hidroksil radikali
POX	: Peroksidaz
PVP	: Polivinilpirrolidon
RNA	: Ribonükleik Asit
ROT	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Devir/dakika
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiobarbutirik asit
TCA	: Trikloroasetik asit

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. Bitkilerde üretilen allelokimyasallar ve salınım yolları	2
Şekil 1.2. Sekonder metabolitlerin biyosentez yolları (Taiz ve Zeiger'den 2008).....	4
Şekil 1.3. Terpenlerin biyosentezi (Taiz ve Zeiger'den, 2008).....	7
Şekil 1.4. <i>Nepeta meyeri</i> 'nin farklı yerlerde doğal habitatında çekilmiş fotoğrafları.	10
Şekil 1.5. <i>Trans</i> -pinocarveol'un kimyasal yapısı	13
Şekil 1.6. Tohum çimlenme sürecindeki fizyolojik ve biyokimyasal aşamalar ve çimlenmenin baskılandığı muhtemel basamaklar.....	14
Şekil 4.1. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının <i>A. fatua</i> tohumlarının günlük çimlenme oranı (%) üzerine etkisi.....	32
Şekil 4.2. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının <i>S. arvensis</i> tohumlarının günlük çimlenme oranı (%) üzerine etkisi	36
Şekil 4.3. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının 5. gündeki çimlenme oranı (%) üzerine etkisi.....	37
Şekil 4.4. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının total fide büyüme oranı (%) üzerine etkisi	38
Şekil 4.5. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının gövde/koleoptil uzunluk oranı (%) üzerine etkisi	39
Şekil 4.6. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının kök büyüme oranı (%) üzerine etkisi	41
Şekil 4.7. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının gövde-koleoptil taze ağırlık oranı (%) üzerine etkisi.....	42
Şekil 4.8. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının kök taze ağırlık oranı (%) üzerine etkisi	43
Şekil 4.9. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının gövde-koleoptil kuru ağırlık oranı (%) üzerine etkisi.....	44
Şekil 4.10. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının kök kuru ağırlık oranı (%) üzerine etkisi	45
Şekil 4.11. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının tohum α -amilaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi.....	46
Şekil 4.12. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının tohum α -amilaz izoenzim profili üzerine etkisi.....	47

Şekil 4.13. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının tohum β -amilaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi.....	48
Şekil 4.14. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının tohumdaki çözünür şeker oranı (%) üzerine etkisi.....	49
Şekil 4.15. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının tohum proteaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi.....	50
Şekil 4.16. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının tohumlardaki protein oranı (%) üzerine etkisi.....	51



ÇİZELGELER LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1. Allelopatik bitkilerin esansiyal yağlarındaki trans-pinocarveol içeriği..	12
Çizelge 4.1. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının <i>A. fatua</i> tohumlarının günlük çimlenme oranı (%) üzerine etkisi.....	32
Çizelge 4.2. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının <i>S. arvensis</i> tohumlarının günlük çimlenme oranı (%) üzerine etkisi.....	36
Çizelge 4.3. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının 5. gündeki çimlenme oranı (%) üzerine etkisi.....	37
Çizelge 4.4. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının total fide büyüme oranı (%) üzerine etkisi.....	38
Çizelge 4.5. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının gövde ve koleoptil büyüme oranı (%) üzerine etkisi.....	39
Çizelge 4.6. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının kök büyüme oranı (%) üzerine etkisi ..	41
Çizelge 4.7. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının gövde-koleoptil taze ağırlık oranı (%) üzerine etkisi.....	42
Çizelge 4.8. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının kök taze ağırlık oranı (%) üzerine etkisi	43
Çizelge 4.9. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının gövde-koleoptil kuru ağırlık oranı (%) üzerine etkisi.....	44
Çizelge 4.10. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının kök kuru ağırlık oranı (%) üzerine etkisi	45
Çizelge 4.11. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının tohum α -amilaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi.....	46
Çizelge 4.12. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının tohum β -amilaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi.....	48
Çizelge 4.13. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının tohumdaki tohum çözünür şeker oranı (%) üzerine etkisi.....	49
Çizelge 4.14. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının tohum proteaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi.....	50

Çizelge 4.15. <i>Trans</i> -pinocarveol kimyasalının tohumlardaki protein oranı (%) üzerine etkisi.....	51
Çizelge 5.1. <i>Trans</i> -pinocarveol ile kontrole göre 5. günde parametrelerdeki % değişim.....	54

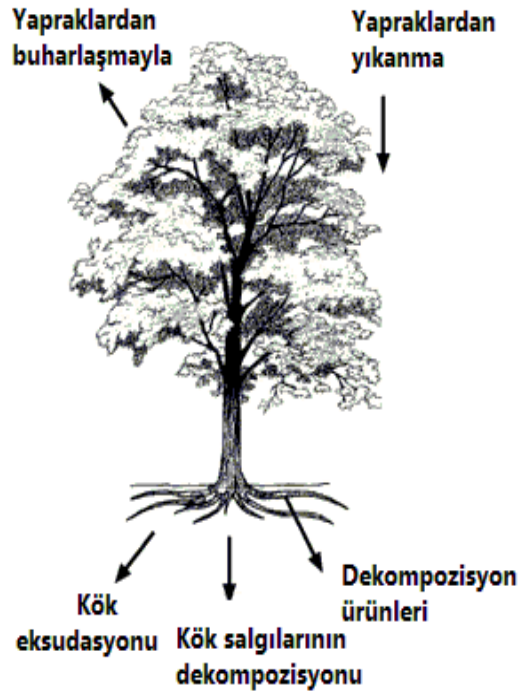


1. GİRİŞ

Yirminci yüzyılın başında dünya nüfusu 5,5 milyara ulaşmıştır. Dünyanın şu anki nüfusu yaklaşık 7,3 milyardır. Birleşmiş Milletler verilerine göre nüfusun 2050 yılında 9,7 – 10 milyar olma ihtimali öngörülmektedir (National Geographic 2016). Nüfusun hızla artmasına paralel olarak kişi başına düşen işlenebilir tarım arazisi ise günden güne azalmaktadır (Mutlu 2009). Son dönemlerde modern tarımın gelişmesiyle, global besin üretimi bir ölçüde artırılmıştır. Bunun yanında birçok biyotik faktörse (böcekler, mantar, bakteriler, virüsler ve yabancı otlar gibi) tarımsal üretiminin düşmesine önemli oranda sebep olmaktadır. Bu faktörlerin en önemlilerinden biri de tarla zararlısı yabancı otlardır (Singh vd. 2006). Zararlı otlarla mücadele yetiştirilen ürünlere ve toprağa verdiği zarardan dolayı tarımsal açıdan büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle son 60 yıldır bilimsel araştırmalar sentetik herbisitlerin (2,4-D, amitrol ve atrazin vb.) üretimi üzerine yoğunlaşmıştır. Günümüzde sentetik kimyasal madde yüzlerce zirai ilaç (herbisit, fungusit ve pestisit) devamlı bir şekilde üretilmekte ve zirai alanlarda yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Fakat modern tarımda bu tarz sentetik maddelerin geniş çapta ve yoğun olarak kullanılması başta çevre kirliliği ve insan sağlığı (kanserojenik ve mutajenik etki gibi) açısından büyük bir sorun haline gelmiştir (Kozak 1996). Saydığımız bu sakıncalar, kullanılan bu kimyasalların çoğunun sentetik olarak üretilmeleri ve biyolojik parçalanmalarının çok zor veya bazen imkânsız olmasına bağlıdır. Diğer taraftan bitkilerde doğal yollarla sentezlenen yani biyolojik kaynaklı sekonder kimyasal bileşikler ise, biyolojik parçalanabilirlikleri mümkün ve kolay olduğu için hem tüketiciler hem de çevre için daha sağlıklı ve güvenilirdir (Weston ve Duke 2003; Kocaçalışkan 2004). Bu yüzden son yıllarda bitki fizyologları bu tip kimyasalları üreten yabancı ve kültür bitkilerini inceleme ve bu bitkilerdeki doğal kimyasalları bu alanda uygulama yollarını araştırmaktadırlar. Bu sentetik maddelerin meydana getirdiği çevre kirliliğine bir alternatif olarak bitkisel doğal sekonder metabolit ürünlerin (allelokimyasallar) kullanılması daha sağlıklı ve güvenilir olacaktır. Çünkü çevredeki ömürleri kısa olduğundan birikim yapmazlar, doğal olduklarından insan ve hayvan sağlığını olumsuz etkilemezler (Weston ve Duke

2003). Son yıllarda bitkilerden salgılanan bu tarzda doğal kimyasal bileşikler, biyolojik kontrol amacıyla veya organik tarım açısından doğal herbisit, fungusit ve pestisit olarak kullanılmaktadır (Singh vd. 2003, 2006, 2009).

Allelopati, bir bitki tarafından oluşturulan veya salıverilen doğal kimyasal bileşiklerin (allelkimyasal) başka bitkilerin büyüme ve gelişmesini olumlu ya da olumsuz yönde etkilemesi olarak bilinmektedir (Kocaçalışkan, 2004). Olay, kısaca bitkiler arasında kimyasal etkileşim olarak kabul edilmektedir. Allelopatik etkiye sahip olan maddelere de allelokimyasal denilmektedir. Allelopatik etkinin başlıca olumsuz belirtileri, büyüme ve fotosentez veriminin düşmesi, klorozis, absisyon, kuruma, besinleri alamama ve ölüm olabilmektedir. Allelokimyasal bileşikler bir bitkinin köklerinden veya yapraklarından üretilip salınabilir. Eğer kökten salınmışsa doğrudan toprağa, yapraklardan salınmışsa yağmur vb. sonucu toprağa ulaşmaktadır. Bazıları ise yapraklardan uçucu bileşikler olarak salınır ve hedef bitkilere ulaşır (Şekil 1.1).

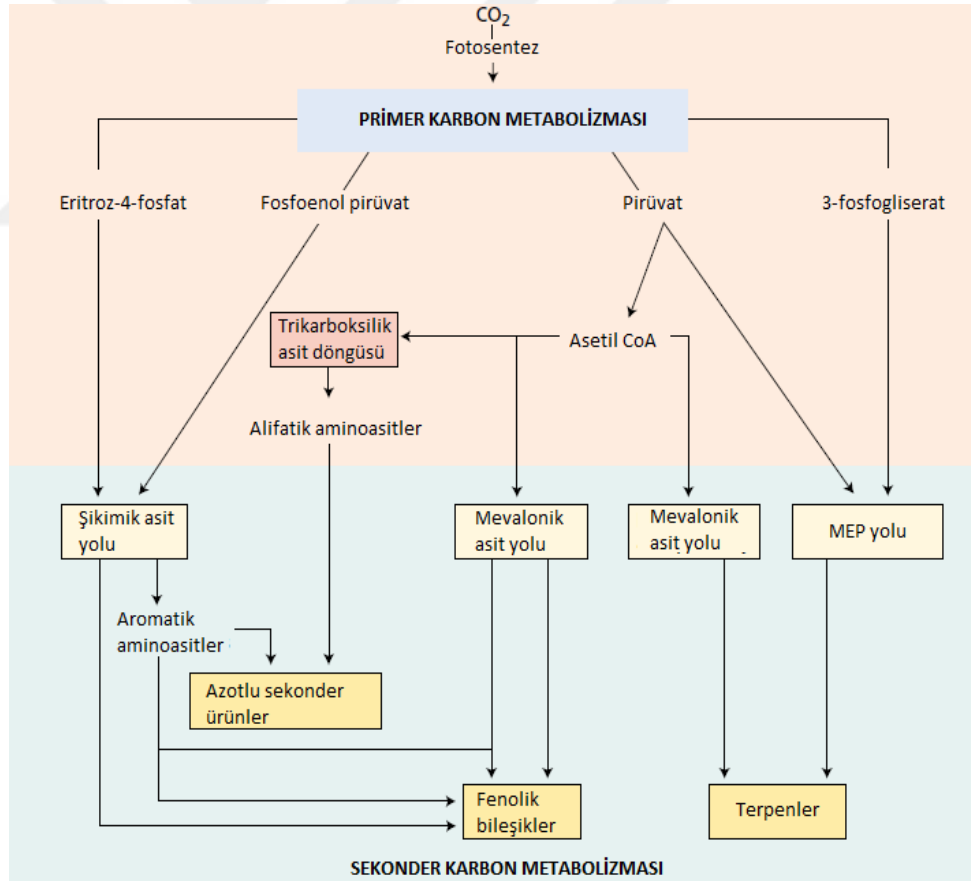


Şekil 1.1. Bitkilerde üretilen allelokimyasallar ve salınım yolları

Günümüzde çevresine allelokimyasal maddeleri salarak yakın veya uzak çevresindeki bitki ve hayvanları etkileyen (allelopatik etkileşim) birçok bitki belirlenmiştir. Bunlar içerisinde kültürü yapılan bitkilerin yanında yabani ve hatta tarım açısından zararlı bitkiler de tespit edilmiştir (Kocaçalışkan 2004). Kültürü yapılan bitkiler içerisinde en önemlileri ve en çok araştırılanları ceviz, pirinç, yonca, arpa ve turpgil bitkileridir. Ceviz ağacı yapraklarının, juglon (5-hidroksi naftakinon); yonca kök ve yapraklarının saponin (medikagenik asit glikozitleri); pirinç, arpa ve turpgillerin ise bazı önemli fenolik bileşikleri çevreye yaydıkları bulunmuştur. Bu bitkilerin salgıladıkları özel allelokimyasalların çevrelerindeki birçok bitkinin gelişmesini olumsuz ya da olumlu etkilediği belirlenmiştir (Hale ve Orcutt, 1987; Salisbury ve Ross, 1994; Macias vd. 1999, Mutlu ve Atici, 2009). Bunlara ilave olarak bazı yabani bitkilerde de önemli allelokimyasallar tespit edilmiş ve bunların etkileri çalışılmıştır. Örneğin, kuşkonmaz, mimosa, macaranga, hardal ve neem bitkilerinde de herbisit, pestisid ve fungusit olarak kullanılacak allelokimyasallar belirlenmiştir (Vyvyan 2002, Noguchi 2003, Singh vd. 2003). Literatürde çok sayıda allelopatik bitki belirlenmiş ve birçoğunda sentezlenen allelokimyasallar elde edildikten sonra doğal herbisit veya pestisit olarak zirai amaçla kullanıldıkları rapor edilmiştir (Kocaçalışkan, 2004).

Bitkiler büyüme ve gelişmeleri sırasında onları herbivor ve patojenlere karşı savunan, farklı stres koşullarından bitkilerin zarar görmeden geçirmesini sağlayan hatta bazen bitkilerin büyüme ve gelişmelerinde kilit rol oynayan hormon yapısında olabilen çok sayıda ve çeşitli bileşikler üretirler. İşte bu moleküller sekonder metabolitler olarak adlandırılırlar. Sekonder metabolitler bitkiler aleminde sınırlı dağılım gösterirler. Bu özellik bu bileşikleri primer metabolitlerden ayırır. Zira, sekonder metabolitlere çoğu kez sadece belli bir tür yada yakın türler arasında rastlanırken, primer metabolitler bitkiler aleminin tüm bireylerinde bulunur. Bitkisel kökenli sekonder metabolitler; terpenler, fenolik ve azotlu bileşikler olmak üzere üç ana gruba ayrılırlar. Bu gruplar kimyasal olarak birbirinden farklıdır. (Taiz ve Zeiger, 2008).

Bitkilerde sekonder metabolitler, primer metabolizmanın karbohidrat, protein ve lipid yıkım ürünlerinden sentez edilmektedir. Hidrofilik olanlar genellikle vakuolde depo edilirken lipofilik olanlar reçine kanalı, latisifer, trikoma ve kutikula birikim gösterebilmektedir (Harborne ve Williams, 2000). Sekonder metabolitler azotlu bileşikler, fenolik bileşikler ve terpenler olmak üzere üç ana gruba ayrılırlar. Azotlu içeren bileşikler ve fenolik bileşikler eritroz-4-fosfat ile fosfoenol pirüvatı kullanarak şikimik asit yolundan sentezlenirken, terpenik bileşikler ise pirüvat veya fosfogliseratı kullanarak mevalonik asit ya da MEP yolundan sentezlenirler (Şekil 2.2).



Şekil 1.2. Sekonder metabolitlerin biyosentez yolları (Taiz ve Zeiger'den 2008)

Sekonder metabolitlerin stres koşullarında üretimi bitkiyi bu olumsuz koşullardan korumak için artar (Ramakrishna ve Ravishankar, 2011). Bitkiler, yaşadıkları çevrelerde yaşamlarının her döneminde büyüme ve gelişme şanslarını sınırlayıcı pek çok olumsuz şartlara maruz kalarak strese girebilirler. Son zamanlarda kuraklık stresinin etkisiyle bitkideki sekonder madde seviyesinin arttığını gösteren çok sayıda çalışma vardır (Nowak vd. 2010; Nik vd. 2008; Singh-Sangwan vd. 1994; Farhoudi vd. 2014; Khorasaninejad vd. 2011).

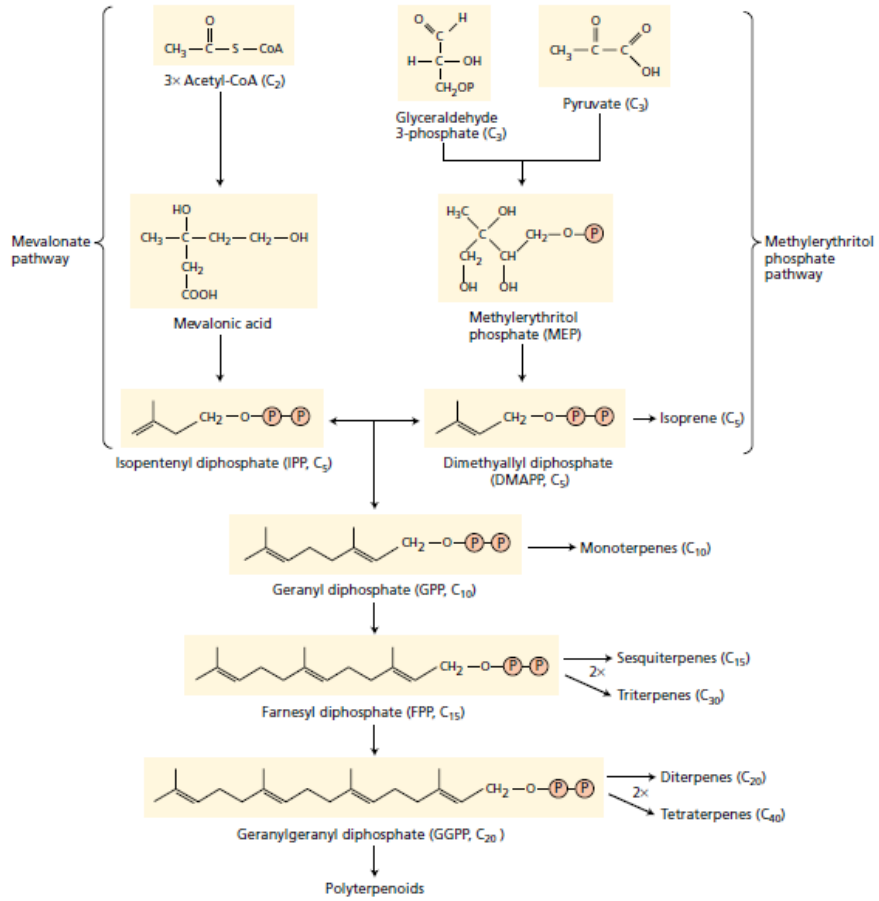
Esansiyal yağlar veya diğer bir tabirle biyojenik uçucu organik bileşikler (BVOCs), bitkilerin yaprak, çiçek, kök, gövde gibi farklı kısımlarında bulunurlar ve bitkinin özel yağ hücrelerinde, yağ geçitlerinde veya salgı tüylerinde depolanırlar (Sangwan vd. 2001). Uçucu yağlar bitkilerden genel olarak çeşitli damıtma yöntemleriyle elde edilirler (Tanker ve Tanker, 2003). Bitkilerde uçucu yağlar % 0,001-25 oranında bulunurken, bitkinin kuru kısımlarında yer alırlar. Tüm lipofil çözücülerde (petrol eteri, kloroform, benzen, eter vs.) iyi çözünürler. Buna karşın suda çok az çözünürler (1/200 oranında) ancak bu çözünme bile kokularının suya geçmelerine yeter.

Uçucu yağlar genel olarak renksiz veya açık sarı renklidir (Tanker, 1976). Uçucu yağlar yağ asidi trigliserit yapısında değildirler. Ancak ışık ve hava karşısında zamanla oksitlenir ve reçineleşirler. Yine sulu etanolde çözünebilme özelliği bu yağları sabit yağlardan ayıran diğer önemli bir farklılıktır (Ceylan, 1997). Uçucu yağlar, bitkilerden elde edildiklerinde kimyasal olarak saf olmayıp birçok bileşen içermektedirler. Bazen bir uçucu yağ türünde 100 ayrı madde saptanabilmektedir (Sotomayor vd. 2004; Şahin Başak, 2008). Uçucu yağ taşıyan bitkiler, daha çok sıcak iklim bölgelerinde yetişmektedir. Tropik ve subtropik bölgelerde ılıman iklim kuşağının sıcak bölgelerinde bulunmaktadır. Dünya florasında geniş bir yayılışa sahip olan uçucu yağ bitkilerinin sayısı 3000'den fazladır ve 100 kadar familya ile temsil edilirler (Mammadov, 2014).

Bitkiler izoprenler, terpenler, alkanlar, alkenler, alkoller, esterler, karboniller ve asitler gibi birçok bileşiği içine alan uçucu biyogenik organik ucu bileşikleri üretirler (Kreuzwieser vd. 1999; Peñuelas ve Llusia 2001). En yaygın bulunan BVOCs uçucu izoprenoitlerdir. Bitki terpen konsantrasyonları genellikle kuru ağırlığın yaklaşık %1-2 sidir. Fakat bazı durumlarda bitkinin kuru ağırlığının % 15-20 sine kadar ulaşabilir (Ross ve Sombrero 1991; Langenheim 1994). Fakat terpenleri depolamayan bitkiler bu maddeleri ürettikten hemen sonra yayarlar (Loreto vd. 2001). Terpenleri depolayan bitkilerde bu maddelerin ana fonksiyonu patojenlere, herbivorlara ve yaralanmalara karşı savunmadır. Depolamayan bitkilerde izoprenotlerin üretimi oksidatif stresten kaçınmak ve hücre mebran hasarını önleyerek yüksek sıcaklıkta fotosentez yapmaya yardım eder. Bu durum termotoleransla bağlantılı olabilir (Peñuelas ve Llusia 2002; Sharkey vd. 2001). Üstelik bazı yeni çalışmalar BVOCs'nin polinatör ve herbivor avcılarını cezbederek bitkilerin diğer organizmalarla iletişimini sağladığını rapor etmişlerdir (Peñuelas vd. 1995; Peñuelas ve Llusia 2003, 2004).

Her uçucu yağ taşıyan bitkinin kendine özgü kokusu ve aromaterapik özellikleri, o uçucu yağı oluşturan maddelerin kombinasyonu ve derişimlerine bağlıdır (Carrapiso vd. 2002). Uçucu yağların en önemli kısımları bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan terpenik bileşikler ve bu bileşiklerin yüksek homologlarıdır. Monoterpenler 10 karbon atomu içerirken, bunların yüksek homologları olan seskiterpenler 15, diterpenler 20, triterpenler 30, tetraterpenler 40, politerpenler ise 40'tan fazla karbon atomu içermektedirler. Tüm bu moleküllerin oluşumundaki yapıtaşısı ise 5 karbona sahip izopren'dir ve buda hemiterpen olarak adlandırılır (Caldefie-Chezet, 2006; Taiz ve Zeiger, 2008; Mammadov, 2014). Tüm terpenler, izopentanın dallanmış karbon iskeletine sahip beş karbonlu birimlerden oluşurlar. Terpenler yüksek sıcaklıklarda bozunarak izoprenleri oluşturdukları için temel yapısal birimleri bazen izopren birimleri olarak adlandırılırlar (Taiz ve Zeiger, 2008). İzotopik olarak işaretlenmiş deneyler, izopren karbonunun fotosentez sonucu yeni üretilen ara maddelerden geldiğini göstermiştir (Delwiche ve Sharkey 1993; Karl vd. 2002; Schnitzler vd. 2004). ¹³C işaretli izoprenler, izoprenlerin fotosentez ara ürününden başka bir karbon

kaynağından çok düşük bir yüzde ile sentezlendiğini gösterir (Affek ve Yakir 2003). Muhtemel olan üretimin ise kloroplast içine alınan sitosolik pirüvata glyceraldehyde-3-phosphate (GAP) ve 1-deoxy-D-xylulose-4-phosphate (DOXP)'ın katılmasıyla 1-deoxy- D-xylulose-4-phosphate/2-C-methylerythriol 5-phosphate (DOXP/MEP) yolunda ilk ara ürün olan plastidine meydana gelmesi şekliyle olmalıdır. Fakat fotosentez inhibe olduğunda bu alternatif karbon kaynağının katkısı artar (Lichtenthaler 2007).



Şekil 1.2. Terpenlerin biyosentezi (Taiz ve Zeiger'den, 2008)

Terpenlerin biyosentezinde iki metabolik yol bulunur. Bu yollardan en iyi bilineni olan mevalonik asit metabolik yolunda üç asetil-CoA molekülü adım adım birleşerek mevalonik asiti oluşturur (Şekil 1.3). Bu altı karbonlu anahtar ara ürün daha sonra fosforile, dekarboksile ve dehidrate olarak izopentenil difosfat'ı (IPP) meydana

getirir. IPP'nin terpenlerin aktifleşmiş beş karbonlu yapı taşıdır. Son yıllarda IPP'nin kloroplast ve diğer plastitlerde çalışan ve bir seri farklı tepkime içeren metil eritrol fosfat (MEP) adlı yolla glikoliz veya fotosentetik karbon indirgenme döngüsünün ara ürünlerinden oluşabileceği anlaşılmıştır (Lichtenthaler, 1999). Tüm ayrıntıları tam olarak aydınlatılmamakla beraber burada gliseraldehit-3-fosfat ve pirüvattan gelen iki karbon atomunun birleşmesi sonucu IPP'ye dönüşecek bir ara ürün oluşur (Taiz ve Zeiger, 2008). Terpenler halkalı, düz zincirli veya kısmen halkalı ve kısmen düz zincirli bileşikler olabilirler. Yeryüzündeki en yaygın doğal ürün grubu olan terpenlerin tanımlanan sayısı günümüzde 30.000'i geçmiştir. Terpenler doğada genellikle hidrokarbonlar, alkoller ve glikozidleri, eterler, aldehytler, ketonlar karboksilik asitler ve esterleri olarak gözlenirler (Breitmaier, 2006; Mammadov, 2014).

Bitkilerde terpenlerin üretimi hem biyotik hemde abiyotik şartlardan etkilenebilir (Peñuelas ve Llusia, 2003). En önemlileri, sıcaklık (Tingey vd. 1980), ışık (Banthorpe ve Njar 1984), CO₂konsantrasyonu (Peñuelas ve Llusia 1997), toprakta mineral (Schonwitz vd. 1991) ve suyun fazlalığı (Kainulainen vd. 1992) gibi abiyotik faktörlerdir. Sıcaklık artışı, ısı alınımla enzimatik aktivitelerini artırıp, terpen buhar basıncını yükseltip salınım yollarının direncini düşürerek çoğu terpenin salınım oranını ve üretimini maksimuma çıkarır (Tingey vd. 1991; Loreto vd. 1996; Peñuelas ve Llusia 2001). Terpen konsantrasyonlarının kuraklık durumunda genellikle arttığı bilinmektedir (Hodges ve Lorio 1975; Kainulainen vd. 1992; Llusia ve Peñuelas 1998; Turtola vd. 2003). Ancak terpen konsantrasyonları su stresi şiddetli olduğunda azalabilir (Llusia ve Peñuelas 1998; Bertin ve Staudt 1996).

Alleopatik bitkilerlerin alleopatik etkileşimdeki rolleri ile ilgili çalışmalar daha çok çimlenme ve bitki büyüme parametreleri (kök-gövde uzunluğu, kuru ağırlık gibi) üzerine yoğunlaşmıştır. Çünkü alleopatik stresin önemli bir belirteci olan çimlenme inhibisyonu, bu açıdan önemli bir fizyolojik parametredir (Singh vd. 2003, 2006, Mutlu ve Atici 2009). Normal bir çimlenmede suyun tohum testasından girmesiyle

embriyoda gibberellin (GA) seviyesi artar. GA hormonu DNA üzerinde endospermdeki nişastanın basit şekerlere hidrolizini sağlayan α -amilaz enziminin transkripsiyonunu artırır. Daha sonra üretilen bu enzimin katalitik aktivitesiyle endospermde depolanmış haldeki nişasta, glukoz gibi basit şekerlere hidroliz olarak embriyoya taşınır ve burada metabolik aktivitelerin gerçekleşmesi için gerekli olan enerjinin (ATP) üretiminde kullanılır. Metabolik faaliyetlerin artmasına paralel olarak hücre bölünmesi gerçekleşir ve ilk olarak embriyonun radikula kısmı tohum kabuğunu delerek dışarı çıkar bu olaya çimlenme denir. Allelopatik strese maruz kalan tohumlarda çimlenme ya gerçekleşmez veya gecikir. Burada çimlenmenin gerçekleşmemesi veya gecikmesinin sebebi tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu araştırma ile çimlenmenin hangi aşamada baskılandığı da ortaya konarak temel bilimler açısından önemli bir boşluk doldurulacaktır.

Nepeta meyeri, Doğu Anadolu Bölgesi'nin kırsal kesiminde (Erzurum-Kars) yetişen 25-50 cm yükseklikte, kuvvetli kokulu ve tek yıllık otsu yabancı bir bitkidir. Yaptığımız çok sayıda arazi gözlemlerine göre *N. meyeri*'nin bulunduğu çevreye bazı doğal kimyasal bileşikler (allelokimyasallar) yaydığı ve bu şekilde çevresindeki birçok yabancı bitkinin büyüme ve gelişmesini olumsuz etkilediği ve böylece çevresinde diğer bitkilerin yaşayamadığı bir inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir (Şekil 1.4). *Nepeta* cinsinin Türkiye'deki revizyonu ile ilgili bir çalışmada da *N. meyeri* dışında hiçbir *Nepeta* türünün allelopatik özelliğinden bahsedilmemektedir (Dirmenci 2003). Bölgemizde değişik birçok *Nepeta* türü üzerinde yaptığımız çok sayıda arazi gözlemlerinde de bu özellik (allelopatik) diğer *Nepeta* türlerinde gözlemlenmemiştir.

Bu çerçevede *N. meyeri* bitkisinin salgıladığı sekonder metabolit olan bu allelokimyasalların doğal herbisit (biyoherbisit) olarak kullanılıp kullanılmayacağına araştırılması büyük önem arz etmektedir. Son yıllarda bitkilerde salgılanan bu tarzda doğal kimyasal bileşiklerin, biyolojik kontrol amacıyla veya organik tarım açısından doğal herbisit, fungusit ve pestisit olarak

kullanılmasına yönelik çalışmalar mevcuttur (Singh vd. 2003, 2006, 2009). *N. meyeri*'nin de bu amaçlardan özellikle doğal herbisit üretimi için önemli potansiyel bir bitki olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 1.3. *Nepeta meyeri*'nin doğal habitatında çekilmiş fotoğrafları

Arazi şartlarında etrafındaki yabancı otların gelişimini engelleyerek oluşturduğu inhibisyon zonu açıkça görülmektedir (Fotoğraflar: Mutlu ve Atıcı, 2008, 2011).

N. meyeri ile yaptığımız ön laboratuvar çalışmalarında ise bu bitkiden elde edilen su ekstraktlarının bazı kültür bitkilerinin (arpa, buğday vb.) çimlenme, büyüme ve gelişme üzerinde olumlu veya olumsuz etki yapabildiği belirlenmiştir (Mutlu ve Atıcı, 2009). Daha sonra *N. meyeri*'den salınan esansiyel yağların allelopatik potansiyelleri, bazı zararlı otlar üzerinde çalışılmış ve bu çalışmamızdan da *N. meyeri*'nin esansiyel yağlarının çalışılan zararlı otların çoğunun çimlenme ve büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur (Mutlu vd. 2010). Bu çalışmalardan sonra, tarafımızdan *N. meyeri*'nin allelopatik potansiyele sahip bir bitki olduğu ve bu özelliğinin ortaya çıkmasında esansiyel yağlarının etkili olduğu tezi ileri sürülmüştür. Ancak, bu çalışmalarda *N. meyeri*'nin salgıladığı esansiyel yağlar içerisindeki allelokimyasalların etki mekanizmaları kısıtlı imkânlardan dolayı belirlenememiştir. Esansiyel yağlar içerisinde bulunan biyoherbisit potansiyelli kimyasalların belirlenmesi ve tanımlanması için yaptığımız bu çalışmalardan daha ileri çalışmalar

yapılması gerekmektedir. Aksi durumda bu bitkinin esansiyel yağlarının sadece allelopatik veya biyoherbisidal olarak kullanılabilir bir potansiyele sahip olduğunu söylemekten ileri gidilemez. Daha sonra bu inhibisyona *N. meyeri*'den salınan esansiyel yağların etkili olabileceğini düşünerek bu yağların total olarak uygulanması ile bazı önemli tarla zararlısı yabancı otların çimlenme, kök ve gövde uzunluğu ve kuru ağırlığını inhibisyonu (Mutlu vd. 2010) ile oksidatif stres parametreleri (antioksidan enzim seviyeleri, lipid peroksidasyon seviyesi, hidrojen peroksit miktarı gibi) (Mutlu vd. 2011) üzerindeki etkileri ayrıca bu yabancı otların DNA'larında sebep olduğu genotoksik etkileri belirlenmiştir (Kekeç vd. 2012).

Bitkiler yaşadıkları ekolojik koşullar itibariyle farklı stres faktörleriyle karşılaşabilirler. Stres, biyotik ve abiyotik faktörlerin kendi metabolizmalarında gerçekleşen biyokimyasal ve fizyolojik olaylarda farklı değişimleri meydana getirmesi veya organizmada ciddi zararlara neden olan hasar oluşturma kapasitesi olarak tanımlanabilir (Levitt, 1980). Ayrıca stres terimi, büyüme, gelişme ve üretim için genetik potansiyelin ifadesini olumsuz şekilde etkileyen herhangi bir çevresel faktörü veya bunların etkileşimlerini içermektedir (Jones, 1984; Yıldız ve Terzi 2007).

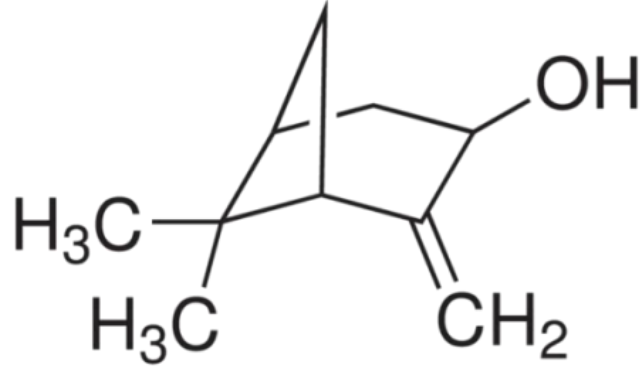
Fiziksel stresler	Kimyasal stresler	Biyolojik stresler
Kuraklık	Hava kirliliği	<u>Rekabet</u>
Sıcaklık	<u>Allelokimyasallar</u>	<u>Allelopati</u>
Radyasyon	Besinler (inorganik mad.)	Simbiyosis
Sel	Pestisitler, toksinler	İnsan tahribi
Makineler, elektrik	Tuzlar	Hastalık etkenleri
Manyetik alan, rüzgâr	Toprağın pH' ısı	Ekleme Bacaklılar

Şekil 1.5. Bitkilerin maruz kaldıkları stres çeşitleri (Kocaçalışkan 2004)

Bitkiler streslere karşı, birçok mekanizmanın yanında, biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmalarını devreye sokarak cevap verirler. Bu mekanizmaların tepkileri sınırlı olması nedeniyle bitkiler daha fazla olumsuz şartlara karşı sınırlı bir cevap kapasitesine sahiptirler (Salisbury vd. 1992, Hale vd. 1987).

Çizelge 1.1. Allelopatik bitkilerin esansiyel yağlarındaki trans-pinocarveol içeriği

Allelopatik Bitki Adı	(E)- pinocarveol içeriği (%)	Kaynaklar
<i>Nepeta meyeri</i>	0.44	Mutlu vd. 2010
<i>Nepeta meyeri</i>	0.4	Esmaeili vd. 2006
<i>Eucalyptusspathulata</i>	3.3	Zhang vd. 2010
<i>Eucalyptus dundasii</i>	2.8	Zhang vd. 2012
<i>Eucalyptus salubris</i>	2.9	Zhang vd. 2012
<i>Eucalyptus spathulata</i>	2.4	Zhang vd. 2012
<i>Eucalyptus brockwayii</i>	1.8	Zhang vd. 2012
<i>Eucalyptustereticornis</i>	1.1	Kaur vd. 2011
<i>Eucalyptus astringens</i>	7.7	Elaissi vd. 2012
<i>Eucalyptus diversifolia</i>	7.0	Elaissi vd. 2012
<i>Eucalyptus dundasii</i>	3.7	Elaissi vd. 2012
<i>Eucalyptus falcate</i>	26.0	Elaissi vd. 2012
<i>Eucalyptus gomphocephala</i>	12.3	Elaissi vd. 2012
<i>Eucalyptus kitsoniana</i>	21.7	Elaissi vd. 2012
<i>Eucalyptus lehmannii</i>	1.0	Elaissi vd. 2012
<i>Eucalyptus leucoxydon</i>	4.7	Elaissi vd. 2012
<i>Eucalyptus platypus</i>	8.3	Elaissi vd. 2012
<i>Eucalyptus polyanthemus</i>	1.5	Elaissi vd. 2012
<i>Eucalyptus populifolia</i>	6.7	Elaissi vd. 2012
<i>Eucalyptus erythrocorys</i>	1.63	Ghnaya vd. 2013
<i>Artemisia annua</i>	10.9	Juteau vd. 2002
<i>Artemisia herba-alba</i>	16.9	Dob ve Benabdelkader 2006
<i>Artemisia fragrans</i>	2.7	Delazar vd. 2007
<i>Artemisia austriaca</i>	2.2	Delazar vd. 2007
<i>Achillea frangractissima</i>	6.8	El-Shazly vd. 2003
<i>Achillea lingulata</i>	4.4	Stojanovic vd. 2001



Şekil 1.6. *Trans*-pinocarveol'un kimyasal yapısı(Sigma-Aldrich)

Bu çalışma öncesinde yapılan literatür taramaları sonucu *N. meyeri* ile allelopatik özelliğe sahip olduğu bilinen diğer bazı türlerin (*Eucalyptus*, *Artemisia*, *Achillea* gibi) esansiyal yağları içerisinde ortak olarak bulunan allelopatik (herbisidal) potansiyelli hangi allelokimyasallar bulunduğu kıyaslanmış ve *trans*-pinocarveol'un tüm bu allelopatik bitkilerin hepsinde bulunduğu gözlenmiştir (Çizelge 1). Bu çalışmada belirlenen bu kimyasalın (*trans*-pinocarveol) allelopatik etkiyi oluşturup-oluşturmadığının ortaya konması ve biyoherbisidal etki mekanizmalarının ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

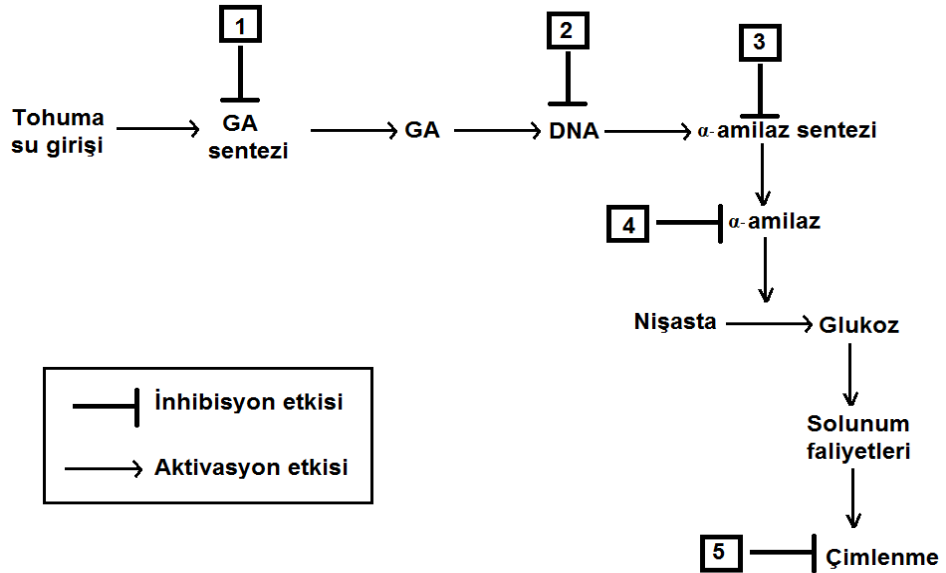
Trans-pinocarveol kimyasalının hem kültür hem de bazı önemli zararlı otlar üzerinde allelopatik ve biyoherbisidal etkilerini belirlemek amacıyla bu kimyasalın çimlenme sürecine, fidelerin büyüme ve gelişmesine etkilerinin fizyolojik ve biyokimyasal olarak ortaya konması hedeflenmiştir.

Herbisidal maddelerle ilgili çalışmalar daha çok çimlenme ve bitki büyüme parametreleri (kök-gövde uzunluğu, kuru ağırlık gibi) üzerine yoğunlaşmıştır. Çünkü herbisidal etkinin önemli bir belirteci olan çimlenme inhibisyonu, bu açıdan önemli bir fizyolojik parametredir (Singh vd. 2003, 2006). Herbisitlere maruz kalan tohumlarda çimlenme ya gerçekleşmez veya gecikir. Burada çimlenmenin gerçekleşmemesi veya gecikmesinin sebebi tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu

araştırma ile çimlenmenin hangi aşamada baskılandığı da ortaya konarak temel bilimler açısından önemli bir boşluk doldurulmuştur.

Çalışmanın 1. basmağında, *trans*-pinocarveol çimlenme ortamına değişik konsantrasyonlarda (kontrol ile her bir madde için literatürde bir herbisit için en sık kullanılan ve dereceli olarak artan 4 konsantrasyon) ilave edilerek;

- Tohumlarının çimlenme yüzdesi (%) değerlerine (5),
- α -amilaz aktivitesine (4) (*in vitro* ve *in vivo* olarak) ve izoenzim bantlarına etkisine (3),
- Çimlenmede önemli hormonlarının (Gibberellin ve Absisik asit) içsel seviyelerine (1),
- Fidelerinin gelişimi (kök ve gövde uzunluğu ile kuru ağırlık miktarlarına) üzerine etkileri incelenmiştir.



Şekil1.7. Tohum çimlenme sürecindeki fizyolojik ve biyokimyasal aşamalar ve çimlenmenin baskılandığı muhtemel basamaklar

Bu deneylerden alınacak verilere göre, *N. meyeri*'nin herbisidal etki mekanizmasında, çimlenme aşamasının baskılanıp baskılanmadığı ve eğer herhangi bir inhibisyon söz konusuysa bunun çimlenme sürecinin hangi aşamasında olduğu ortaya konmaya çalışılmıştır.

1) *N. meyeri*'nin ve diğer bitkilerin allelopatik özelliğinin esansiyel yağları içerisindeki *trans*-pinocarveol allelokimyasalından kaynaklanıp-kaynaklanmadığını ve bu allelokimyasalın hangi konsantrasyonda herbisidal etkisinin olduğunu belirlemesi sağlanmıştır.

2) Bu allelokimyasalın fizyolojik ve biyokimyasal açıdan da biyoherbisidal etkisinin olup-olmadığı ortaya konmuştur.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bitki türleri arasındaki allelopatik etkileşim, bazı istilacı ve yerli olmayan bitkilerin neden ekstrem derecede baskın olduğu, yerli türleri rekabette ezdikleri ve hatta tek türden oluşan bitki örtüsü oluşturduklarını açıklamak için sıkça kullanılmıştır (Wardle vd. 1993; Dolling vd. 1994; Ridenour ve Callaway 2001). Ancak, bitki istilalarında allelopatik etkileşimin önemli bir rol oynadığına dair ampirik deliller hala şüphelidir. Muhtemel allelokimyasalları test eden kontrollü biyo-ölçümler, allelopatik etkiyi göstermekte sıklıkla başarısız olmuşlardır ve bunlar genellikle yapay olmaları bakımından eleştirilmişlerdir (Williamson 1996; Choesin ve Boerner 1991; Dietz vd. 1996; Conway vd. 2002).

Qasem (2004), Ürdün'de meyve bahçeleri ve ekili tarlalarda istilacı zararlı yabancıotlardan *Lepidium draba* ve *Salvia syriaca*'nın allelopatik aktivitesini araştırmıştır. Buçalışma; havuç, biber, kabak, soğan ve domates üzerine adı geçen bitkilerin kurumuş sürgün artıkları, kök eksüdatları, yaprak süzüntüleri ve uçucu maddelerin farklı laboratuvar ve sera denemeleriyle allelopatik etkisinin olup olmadığını anlamak için yapılmıştır. *Salvia syriaca*'nın taze sürgünlerinden elde edilen uçucu yağlarının çoğunun bitkinin fide büyümesini engellediği ve çimlenmeyi azalttığı belirlenmiş ve heriki bitkinin yaprak süzüntüleri veya kök eksüdatları laboratuvar şartları altında farklıbitkiler üzerine etkili olduğu bulunmuştur. Saksı deneyleri her iki bitkinin yüzeyinden alınan sürgün residülerinin adı geçen bitkilerin fide gelişimini azalttıklarını, tohum çimlenmesini önemli bir biçimde geciktirdiklerini göstermiştir. Yine domates, havuç ve soğanın en fazla etkilendiği kaydedilmiştir. *Lepidium draba*'nın çürümüş rezidülerinin 32 g/kg'da toksik olduğu gözlenmiştir. Ancak, taze materyaller olarak kullanıldıklarında düşük toksisite görülmüştür. Her iki türün yaprak süzüntüleri veya kök eksüdatları toprağa verildiğinde beyaz lahananın ve domatesin fide büyümesini azalttığı kaydedilmiştir. Sonuçlar *Lepidium draba* ve *Salvia syriaca*'nın farklı sebzeler üzerine yüksek oranda allelopatik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

Monoterpenlerin dışsal uygulamalarla farklı bitkiler üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmalar da mevcuttur. Fakat bu çalışmalarda monoterpenlerin biyoherbisidal özellikleri vurgulanmış olup genellikle petri kültür ortamına uygulanarak çimlenme üzerine etkisi ve kök gelişimi parametreleri araştırılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları incelendiğinde; De Almeida vd. (2010), *Raphanus sativus*, *Lactuca sativa* ve *Lepidium sativum* bitkilerine *Hyssopus officinalis*, *Lavandula angustifolia*, *Majorana hortensis*, *Melissa officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Origanum vulgare*, *Salvia officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Verbena officinalis*, *Pimpinella anisum*, *Foeniculum vulgare* ve *Carum carvi* bitkilerinin esansiyel yağlarını 0.06-2.5 µg/ml oranlarında uyguladıkları çalışmalarında *Thymus vulgaris*, *Verbena officinalis*, *Carum carvi* ve *Melissa officinalis* bitkilerinin esansiyel yağları bitkilerin çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine olumsuz etki yaptığını vurgulamışlardır.

De Martino vd. (2010), *Raphanus sativus* ve *Lepidium sativum* bitkilerine 10^{-3} ve 10^{-6} konsantrasyonlarında uyguladıkları (\pm)- β - citronellol, (\pm)-citronellal, (-)- α -pinene, (-)- β -pinene, α -terpinene, γ -terpinene, α -terpineol, 1,8-cineole, citral, thymol, carvacrol, α + β -thujone, camphene, (\pm)-camphor, (-)-borneol, p-cymene, myrcene, menthone, (\pm)-menthol, geraniol, geranyl acetate, linalool, linalyl acetate, (R)-(-)- α -phellandrene, estragole, (R)-(-)- carvon ve limonene monoterpenlerinin çimlenme üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda geraniol, borneol, (\pm)- β -citronellol ve α -terpineol monoterpenlerinin en yüksek konsantrasyonları *Raphanus sativus* çimlenmesini ve fide gelişimini olumsuz etkilerken, Geraniol ve carvone'nun en yüksek konsantrasyonları ise *Lepidium sativum* bitkisinin çimlenmesini ve fide gelişimini olumsuz etkiledi.

Kaur vd. (2011), *Eucalyptus tereticornis* bitkisinin esansiyel analizini yaptıktan sonra majör element olarak belirledikleri α -pinen ve 1,8-cineole esansiyel yağlarını bir tarla yabancı otu olan *Amaranthus viridis* bitkisine 15 cm petri kaplarına 0.5-.5 mL olacak konsantrasyonlarda uygulamışlardır. Artan dozlarda her iki monoterpeninde bitkinin çimlenmesine ve fide gelişimine olumsuz etki yaptığı öne sürülmüştür.

Kordali vd. (2007), *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album* ve *Rumex crispus* yabancı otlarına petri ortamında 10-20 µL uyguladıkları 30 farklı monoterpenin (allo-ocimene, borneol, bornyl acetate, camphene, camphor, 3-carene, carvone, 1,8-cineole, Citronellal, β -citronellene, β-citronellol, dihydrocarvone, fenchol, fenchone, geranyl acetate, isomenthol, limonene, limonene oxide, linalool, linalyl acetate, menthol, menthone, myrcene, nerol, neryl acetate, α-pinene, β-pinene, γ-terpinene, terpinen-4-ol, α-terpineol) bu bitkilerin çimlenmesi ve fide gelişimine etkisi belirlenmiştir. Çalışmalarında özellikle yapılarında oksijen ihtiva eden monoterpenlerin tohumların büyümesi ve gelişmesi üzerine ciddi oranda olumsuz etkilerini kaydetmişlerdir.

Romagni vd. (1999), *Echinochloa crusgalli* ve *Cassia obtusifolia* bitkilerine 10-1000 mg/g 1,4- ve 1,8-cineole monoterpenlerini uygulayarak bitkilerdeki çimlenmeyi takip etmişlerdir. Çalışmalarında ayrıca kök-gövde uzunluğu ve klorofil içeriğini belirlemişlerdir. Sonuç olarak her iki monoterpen de çimlenmeyi ve kök-gövde uzunluğunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Klorofil içeriğinde ise kontrol grubuna göre önemli bir farklılık kaydetmemişlerdir.

Singh vd. (2006), petri ortamında çimlenmeye bıraktıkları *Ageratum conyzoides*, *Chenopodium album*, *Parthenium hysterophorus*, *Malvastrum coromandelianum*, *Cassia occidentalis* ve *Phalaris minör* yabancı otlarına 5-100 µg/g Citronellal monoterpenini uygulayarak kök-gövde uzunluğunu belirlemişlerdir. Ayrıca 6 hafta boyunca yetiştirdikleri *Phalaris minör* ve *Ageratum conyzoides* bitkilerinin yapraklarına 5- 100 µg /g konsantrasyonunda Citronellal uygulayarak bu bitkilerdeki elektrolit sızıntı ve klorofil içeriğini belirlemişlerdir. Çalışmalarında sonuç olarak bu monoterpenin bitkiler üzerindeki fitotoksik etkisini belirlemişlerdir.

Mutlu vd. (2011), *Nepeta meyeri* bitkisinden elde ettikleri esansiyal yağları % 0.01 ve 0.02 oranında petri ortamında yabancı ot olan *Amaranthus retroflexus*, *Bromus*

danthoniae, *Bromus intermedius*, *Chenopodium album*, *Cynodon dactylon*, *Lactuca seriola* ve *Portulaca oleracea* bitkilerine uygulayarak bu bitkilerin çimlenme yüzdeleri, erken fide dönemindeki MDA, hidrojen peroksit ve bazı antioksidan enzim aktivitelerini belirlemişlerdir. Bu bitkinin özellikle yüksek dozu bütün yabancı otların çimlenmesini %100 oranında inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Ayrıca bu bitkinin GS-MS ile esansiyel yağ analizinden çıkan sonuca göre majör esansiyel yağ olarak belirledikleri 4aa, 7a, 7ab-Nepetalactone'nun biyoherbisidal potansiyelde bir kimyasal olabileceği vurgulanmıştır.

Scrivanti vd. (2003), *Tagetes minutaveSchinus areira* esansiyel yağlarının mısır bitkisi üzerine fitotoksik etkisini belirledikten sonra bu bitkilerin esansiyel yağ bileşimindeki majör element olan α -Pinen, ocimen ve limonen monotерpenleri (18 mg/l) yine mısır bitkisine uygulayıp bu bitkideki kök büyüme miktarlarını ve kök dokusundaki MDA içeriğini incelemişlerdir. Tüm monotерpenlerin kök büyümesine ve MDA içeriğine olumsuz etkisi belirledikleri çalışmalarında kök büyümesinde α -Pinen'nin MDA içeriğinde ise ocimen'nin olumsuz etkilerinin daha belirgin olduğunu vurgulamışlardır.

Singh vd. (2009), *Artemisia scoparia* bitkisinin esansiyel içeriğini belirledikten sonra bu esansiyel yağlar içerisinde majör bileşen olan β -Myrcene monotерpeni ve *Artemisia scoparia* bitkisinin esansiyel yağlarını (0.07-0.7 mg/ml) karşılaştırmalı olarak *Avena fatua*, *Phalaris minor* ve *Cyperus rotundus* bitkilerinin büyüme ortamına uygulamışlardır. Çalışmalarında petri ortamında çimlenmeye bıraktıkları bitkilerin çimlenme yüzdeleri, fide kuru ağırlık ve uzunluğu, elektrolit sızıntı, MDA ve içsel hidrojen peroksit miktarlarını belirlemişlerdir. Sonuç olarak uygulanan esansiyel yağların ROS miktarını artırarak fide gelişimini olumsuz etkilediğini kaydetmişlerdir.

Zunino vd. (2004), Mısır bitkisine 1,8-cineole, thymol, geraniol, menthol ve camphor ($1.9-7.4 \text{ mg L}^{-1}$) monoterpenlerini uygulayarak bu monoterpenlerin mısır üzerindeki fitotoksik etkilerini belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında kök uzunluğu ve kuru ağırlığı ve MDA içeriğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak bu monoterpenlerin mısır bitkisi üzerine önemli derecede fitotoksik etki meydana getirdiğini vurgulamışlardır.

Hsiung ve ark. (2013), petri ortamında çimlenmeye bıraktıkları pirinç bitkisine 25-100 μL uyguladıkları myrcene monoterpeninin bitki kök dokularında meydana getirdiği antioksidan enzim değişimlerini elektroforetik olarak inceledikleri çalışmalarında, SOD ve POD izozim bantları konsantrasyon artışı ile daha belirginken CAT bantlarında herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

Ahuja vd. (2015), *Avena fatua* bitkisine 100–1000 μM dozlarda uyguladıkları Eugenol'un kök dokusunda meydana getirdiği oksidatif hasarı belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında; bazı büyüme parametreleri (kök-koleoptil kuru ağırlık ve tohum çimlenme yüzdesi), elektrolit sızıntı, MDA, konjuge diene, ROS'lar (süperoksit anyonu, hidroksi radikali ve hidrojen peroksit) miktarlarının yanı sıra bazı antioksidan enzimlerin (SOD, APX, GPX, CAT ve GR) aktivitelerini belirlemişlerdir. Sonuç olarak Eugenol'un kök dokularında ROS birikiminden kaynaklanabileceği hasarın kök dokularını olumsuz etkileyerek çimlenme ve büyümeyi inhibe ettiğini vurgulamışlardır.

Abraham vd. (2000), mısır bitkisinin çimlenme aşamasında 0.05-10 mM konsantrasyonlarında uyguladıkları 4 farklı monoterpenin (α -pinen, limonen, kamfor, ökaliptol) bu bitkinin çimlenmesine ve kök yaş-kuru ağırlığına olan etkisini inceledikleri çalışmalarında bütün monoterpenler bitki kök büyümesini ve çimlenmesini olumsuz yönde etkilemiştir.

α ve β -pinen monotерpenlerinin dışsal uygulamalarla farklı bitkiler üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmalarda bumaddelerin biyoherbisidal özellikleri vurgulanmış olup genellikle petri kültür ortamına uygulanarak çimlenme üzerine etkisi ve kök gelişimi parametreleri araştırılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları incelendiğinde; Singh vd. (2006) α -pinen monotерpeninin kültür ve yabancı bitkilerindeki fitotoksik etkilerini belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında; *Cassia occidentalis*, *Amaranthus viridis*, *Triticum aestivum*, *Pisum sativum* and *Cicer arietinum* bitkilerini 1-10 mg/ml¹ α -pinen içeren kültür ortamında çimlenmeye bırakmışlardır. Fide haline gelen *Cassia occidentalis* bitkisinin kök dokularında, elektrolit sızıntı, MDA, hidrojen peroksit, prolin miktarlarının yanı sıra bazı antioksidan enzimlerin (SOD, APX, GPX, CAT ve GR) aktivitelerini belirlemişlerdir. Sonuç olarak α -pinen'nin kök dokularında ROS birikiminden kaynaklanabileceği hasarın bitkide büyüme ve çimlenmeyi olumsuz etkilediğini vurgulamışlardır.

Areco vd. (2014) 0.16 mM α ve β -Pinen monotерpenlerinin enantiyomerlerinin (- ve +) mısırın erken büyüme ve çimlenme evresinde etkisini gözlemledikleri çalışmalarında; bazı büyüme parametreleri (kök-koleoptil kuru ağırlık ve uzunluğu), ABA birikimi, toplam fenolik madde, klorofil ve feofitin miktarlarını araştırmışlardır. Çalışmalarında kullanılan bu 4 pinen izomerinin farklı fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaları tetikleyerek bitkide çimlenmeyi ve fide büyümesini olumsuz etkilediğini ifade etmişlerdir.

Porres-Martínez vd. (2014), tıbbi özelliğiyle bilinen *Salvia lavandulifolia* bitkisinin esansiyel yağ komponentlerini tespit ettikten sonra majör element olarak belirledikleri α -pinene ve 1,8-cineole monotерpenlerini kanserli beyin doku hücre kültürüne uygulamışlardır. Çalışmalarında iki monotерpenin antiradikal ve hücre koruyucu etkisini ve SOD, CAT, POD ve GR aktivitelerini elektroforetik yöntemle belirlemişlerdir. Sonuç olarak α -pinene ve 1,8-cineole monotерpenlerinin kanserli

doku hücrelerinde redoks düzenleyici olarak koruyucu etki sağladığını vurgulamışlardır.

Chowhan vd. (2011) pirinç bitkisinin erken büyüme safhasında β -pinen monoterpeninin ml başına 0.08-0.8 mg dozlarının fitotoksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; koleoptil kuru ağırlığı-boy uzunluğu, klorofil, protein ve karbohidrat içeriği ile peroksidaz aktivitesini incelemiştir. Sonuç olarak β -pinen'nin bitkinin erken büyüme safhasında bazı biyokimyasal süreçleri değiştirerek bitki büyümesini olumsuz yönde etkilediğini tespit etmişlerdir.

Chowhan vd. (2013) 0.02-0.8 mg/ml uyguladıkları β -pinen içeren kültür ortamında çimlenmeye bıraktıkları *Cassia occidentalis* bitkisinde büyümenin erken evrensinde bitkide; bitki uzunluğu ve kuru ağırlık, lipid peroksidasyon seviyesi, elektrolit sızıntı, klorofil ve hidrojen peroksit miktarı, POD aktivitesini incelemiştir. Sonuç olarak β -pinen'nin bitkide çimlenmeyi ve fide gelişimini olumsuz etkilediğini rapor etmişlerdir.

Chowhan vd. (2014), hidroponik sistemle yetiştirdikleri buğday bitkisinin erken büyüme safhasında 10-100 μ M β -pinen monoterpenini farklı dozlarda uygulayarak bitkide meydana gelen antioksidan mekanizmadaki değişimleri araştırdıkları çalışmalarında; kök ve koleoptil uzunluğu, elektrolit sızıntı, MDA, süperoksit anyonu, hidrojen peroksit miktarlarını ve bazı antioksidan enzim aktivitelerini belirlemişlerdir. Doz artışına bağlı olarak buğdayda SOD, POD, APX, CAT ve POD aktivitelerinde artışa neden olmuştur. Ayrıca elektrolit sızıntı, MDA, hidrojen peroksit ve süperoksit anyonu miktarının β -pinen uygulaması ile arttığını bildirmişlerdir.

Ilhan (2016) tarafından yapılan bir çalışmada ise saksı ortamında 12 günlük büyüme evresinden sonra kuraklık stresine aklimine edilen buğday fidelerine bu stresin hasar verici etkisini indirmek amacıyla dışsal olarak bitki yapraklarına 1-10 μM konsantrasyonda 100 ml α ve β -pinen monoterenleri uygulanmıştır. Çalışmada bitki büyüme parametreleri olarak; RCW, fide başı kuru ağırlık, klorofil içeriği ve klorofil a/b oranına, Oksidatif stres parametreleri olarak; antioksidan enzimlere (CAT, POD, SOD, APX, GR) ve reaktif oksijen türlerine (H_2O_2 , O_2^\bullet , OH^- ve toplam oksidan içerik), Antioksidan maddelerin rolünü belirlemek için; toplam glutatyon ve askorbik asit, karotenoid içeriği, toplam fenolik madde ve flavonoid, toplam antioksidan kapasite, Osmoprotektanların rolünü belirlemek için; çözünebilir protein ve şeker, indirgen şeker, prolin, miktarlarına, Kuraklık stresine ve bu stresle birlikte uygulanan monoterenlerin koruyucu rollerini protein profili olarak görebilmek için SDS-PAGE elektroforezi yapılmıştır. Sonuçlar için; stres fizyolojisi çalışması alanında yapılan çalışmalarda sekonder metabolitlerin etki mekanizmasını belirleme adına literatürde önemli bir boşluğu gidermesi amacı güdülmüştür.

Allelopatik bitkilerin allelopatik etkileşimdeki rolleri ile ilgili çalışmalar daha çok çimlenme ve bitki büyüme parametreleri (kök-gövde uzunluğu, kuru ağırlık gibi) üzerine yoğunlaşmıştır. Çünkü allelopatik stresin önemli bir belirteci olan çimlenme inhibisyonu, bu açıdan önemli bir fizyolojik parametredir (Singh vd. 2003, 2006, Mutlu ve Atici 2009).

Bu çalışmayla *N. meyeri* bitkisinin güçlü allelopatik potansiyeli ile etrafındaki bitkilerin gelişimini engellemesini kendi ile allelopatik özelliğe sahip diğer bazı önemli türlerin esansiyel yağları içerisinde de bulunan *trans*-pinocarveol ile sağladığı belirlenmiştir. Bu madde bu inhibisyonunu esansiyel yağları içerisinde bulunan *trans*-pinocarveol kimyasalının özellikle tohum çimlenmesi sırasında faaliyet gösteren hidrolitik enzimlerin aktivitesini düşürerek çimlenme inhibisyonuna sebep olduğu ileri sürülmektedir.

Bu araştırma sonuçlarından, *trans*-pinocarveol'un bu bitkilerin allelopatik özelliğinin ortaya çıkmasında önemli rolünün olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu allelokimyasalların potansiyel biyoherbisit olabilme ihtimali de göz ardı edilmemelidir. Tarımsal üretimin en önemli problemlerinin başında gelen yabancı otlarla mücadelede alternatif yeni ufuklar açacağını düşündüğümüz bu çalışmanın önemi zamanla daha da iyi anlaşılacaktır.



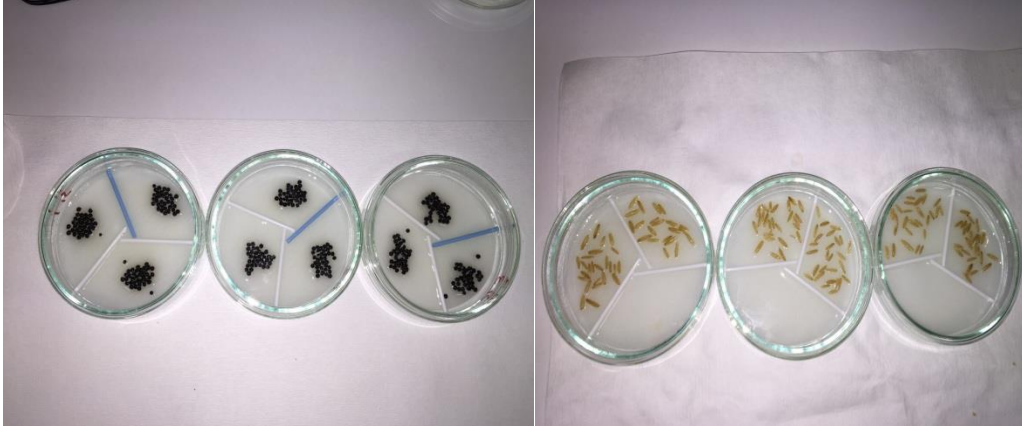
3. MATERYAL ve METOT

3.1. Bitki Materyali

Bu çalışmada materyal olarak; allelopatik özelliği bilinen bitkilerin esansiyal yağları içerisinde ortak olarak bulunan *trans*-pinocarveol kimyasalı kullanıldı. Ayrıca tarımsal alanlarda sıklıkla görülen ve tarım bitkilerin üretimine önemli oranlarda zarar veren yabancı otlardan bir monokotil (*Avena fatua*) ile bir dikotil (*Sinapis arvensis*) olarak tercih edildi (*A.fatua*'nın tohum olarak adlandırılan basit bir meyve olan karyopsis'tir ve bu meyve tipi yaygın bir şekilde tohum olarak adlandırıldığından yapılan çalışmada bu yapı tohum olarak isimlendirilmiştir). Yabancı ot tohumları Haziran-Eylül döneminde tarımsal alanlardan temin edilerek teşhisleri yapıldı. Temin edilen tohumlar laboratuvar koşullarında çimlendirildi.

S. arvensis

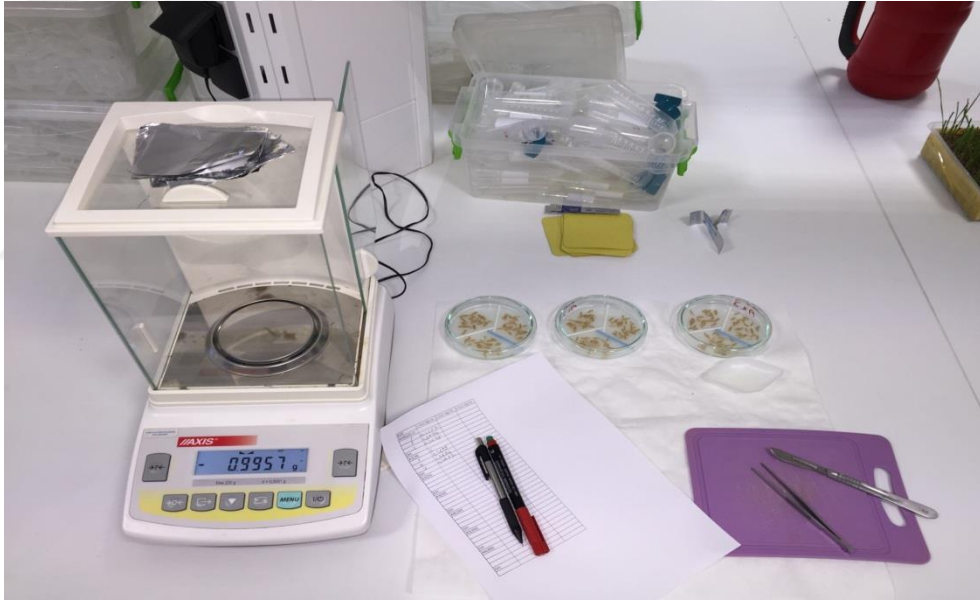
A. fatua



Şekil 3.1. Kullanılan bitki tohumlarının laboratuvar fotoğraflar

3.2. Çimlenme Yüzdesi (%) Belirlenmesi

Yabani otlara ait tohumlar, ekimden önce etanol (%96) ile kısa süreli hızlıca yıkandı ve %5'lik sodyum hipoklorit içerisinde 5 dk. yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra petrilere yerleştirildi. Kontrol ile değişik ardışık konsantrasyonlarda (0, 10, 25, 50, 100, 200 ve 300 μ M) *trans*-pinocarveol kimyasallarına maruz bırakılarak her gün çimlenme oranları takip edildi. 5. günde bu tohumların % çimlenme oranları belirlendi. Buradan elde edilen sonuçlar değerlendirilerek daha sonraki deneylerde hangi konsantrasyonların kullanılacağı belirlendi (Mutlu ve Atıcı 2009).



Şekil 3.2. Çimlenen tohum sayımı ve yaş-kuru ağırlık ölçümü yapılırken çekilen bir fotoğraf

Çimlenme yüzdesi (%) belirlendikten sonra kullanılan kimyasalın çimlenmeye etkisi dışında çimlenen fidelerin gelişimleri (kök uzunluk vb.) üzerine olumlu-olumsuz etkileri olup olmadığı ve biyokimyasal (α -milaz vb.) olarak fidelerin büyüme ve gelişmeleri üzerine etkilerini aydınlatmak için aşağıdaki yöntemler uygulanmıştır.

3.3. Kök Uzunluğu (mm) Belirleme

5. gün sonunda çimlenen fidelerin kök uzunluklarının ölçülmesiyle belirlenmiştir. Ölçülen kök uzunluk değerlerinin tohum sayısına bölünmesiyle uygulama konsantrasyonlarının ortalama uzunluk değerleri belirlenmiştir.

Kök Ortalama uzunluk = (Toplam Kök Uzunluk / Çimlenen tohum sayısı)

3.4. Gövde Uzunluğu (mm) Belirleme

5. gün sonunda çimlenen fidelerin gövde uzunluklarının ölçülmesiyle belirlenmiştir. Ölçülen gövde uzunluk değerlerinin tohum sayısına bölünmesiyle uygulama konsantrasyonlarının ortalama uzunluk değerleri belirlenmiştir.

Gövde Ortalama uzunluk = (Toplam Gövde Uzunluk / Çimlenen tohum sayısı)

3.5. Kök Yaş Ağırlığı (mg) Belirleme

5. gün sonunda kök boy uzunluğu ölçümü yapılan örnekler hassas terazi (hassasiyet 1000'de 1) ile tartılmış ve çimlenen tohum sayısına bölünerek uygulama konsantrasyonlarına göre ortalama yaş kök ağırlıkları belirlenmiştir.

Kök Ortalama Yaş Ağırlık = (Toplam Kök Yaş Ağırlık / Çimlenen tohum sayısı)

3.6. Gövde Yaş Ağırlığı (mg) Belirleme

5. gün sonunda gövde boy uzunluğu ölçümü yapılan örnekler hassas terazi (hassasiyet 1000'de 1) ile tartılmış ve çimlenen tohum sayısına bölünerek uygulama konsantrasyonlarına göre ortalama yaş gövde ağırlıkları belirlenmiştir.

Gövde Ortalama Yaş Ağırlık =(Toplam Gövde Yaş Ağırlık / Çimlenen tohum sayısı)

3.7. Kök Kuru Ağırlığı (mg) Belirleme

5. gün sonunda hasatı yapılmış olan kök örnekleri 75 °C'ye ayarlanan etüv içerisinde 24 saat kurutulmuş ve hassas terazi yardımı ile tartılmış ve çimlenen tohum sayısına bölünerek uygulama konsantrasyonlarına göre ortalama kuru kök ağırlığı belirlenmiştir.

Kök Ortalama Kuru Ağırlık = (Toplam Kök Kuru Ağırlık / Çimlenen tohum sayısı)

3.8. Gövde Kuru Ağırlığı (mg) Belirleme

5. gün sonunda hasatı yapılmış olan gövde örnekleri 75 °C'ye ayarlanan etüv içerisinde 24 saat kurutulmuş ve hassas terazi yardımı ile tartılmış ve çimlenen tohum sayısına bölünerek uygulama konsantrasyonlarına göre ortalama kuru gövde ağırlığı belirlenmiştir.

Gövde Ortalama Kuru Ağırlık =(Toplam Gövde Kuru Ağırlık / Çimlenen tohum sayısı)

3.9. Alfa Amilaz (α -Amilaz) Aktivitesinin Belirlenmesi

α -amilaz aktivite belirlenmesi Muentz(1977) yöntemi kullanılarak yapılmıştır. α -amilaz aktivite tayini, çözülebilir nişasta ve iyot'un substrat olduğu reaksiyonun sonucu olan bileşiğin meydana getirdiği renk farklılığının absorbansının 620 nm 'de (spektrofotometre) ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Aktivite ölçümü için falkon tüpüne; 1 ml 0.1 M, KH_2PO_4 (pH: 7.0) konulduktan sonra, üzerine 0,5 ml enzim ekstraktı ilave edilir ve karışım 25 °C'de 30 dakika inkübe edilir. Daha sonra inkübe edilen karışımın içerisine 1 ml 0,1 M EDTA çözeltisi eklenir. Hazırlanan reaksiyon karışımından 0,2 ml alındı ve 3 ml iodine çözeltisi üzerine eklendi. İodine ve reaksiyon karışımı vortekslenerek 620 nm'de ölçümü yapıldı.

3.10. Beta amilaz (β -amilaz) Aktivitesinin Belirlenmesi

β -amilaz aktivite belirlenmesi Dure (1960) yöntemi kullanılarak yapılmıştır. β -amilaz aktivite tayini için, falkon tüpe 0,7 ml substrat çözeltisi (%0,02 nişasta, 0,067 mM KPO_4 pH:6.0) konuldu üzerine 0,1 ml EDTA eklendi oluşan bu karışım çözeltinin üzerine 0,5 ml enzim ekstraktı eklendi ve 30 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Oluşturulan çözeltinin reaksiyonunu durdurmak için 1ml Dinitro salisilik asit çözeltisi eklendi ve 20 dakika su banyosunda kaynatıldı daha sonra soğuması için 15 dakika +5 °C'de bekletildi. En son üzerine 1 ml saf su konularak vortekslendi ve 560 nm'de absorbansı ölçüldü.

3.11. Protein Miktarının Belirlenmesi

Protein miktarının belirlenmesi Bradford (1976) yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Coomassie Brilliant Blue (CBB) G-250 ile hazırlanan Bio-Rad çözeltisi $\frac{1}{4}$ sulandırılarak, 5 ml tampon içerisine 0.1 ml protein içeren supernatant konuldu.

Blank (kör) için ise 5 ml tampona 0.1 ml saf su eklendi. Bu şekilde hazırlanan örnekler karanlıkta 20 dakika bekletildikten sonra 595 nm dalga boyundaki ölçümleri yapılır. Bu yöntemde bovin serum albuminin (BSA) farklı konsantrasyonlarının 595 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri ölçülerek standart protein eğrisi çizildi ve total çözünebilir protein miktarları belirlenerek (mg protein g⁻¹ T.A.) cinsinden ifade edildi.

3.12. İndirgen Şeker Tayini

Standart Hazırlama

Bu yöntem Ross (1959) ve Kaplankıran (1985)'agöre yapıldı. İçerisinde 0.0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 ve 1 mg D(+) glikoz bulunan 1 ml'lik seri çözeltiler hazırlandı. Standart grafiğin çizilmesi için hazırlanan bu çözeltilerin her birine 3 ml dinitrofenol çözeltisi ilave edildikten sonra 80 °C'ye ayarlı su banyosunda 6 dk. tutuldu. Daha sonra 10 dk. buz banyosunda soğutuldu ve 625 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçüldü. Birinci tüp kör olarak kullanıldı. Standart çözeltiler ile onların absorbansları kullanılarak eğri faktörü ayrı ayrı aşağıdaki formülü kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Eğri faktörü} = \text{Standart konsantrasyonu} / \text{Absorbans}$$

Hesaplanan eğri faktörünün de ortalaması alınarak sabit Kurve Faktörü (KF) değeri elde edildi. Daha sonra bu sabit değer üzerinden numunelerdeki indirgen şeker miktarı;

$$\% \text{ İndirgen şeker (mg/100mg)} = \text{Alet okuması} \times \text{KF} / 0.08 \times 10 \times 1000 \text{ formülü}$$

kullanılarak hesaplandı.

İndirgen Şeker Tayini

Bu yöntem Ross (1959) ve Kaplankıran (1985)'a göre yapıldı. -20 °C' de muhafaza edilen 0.5 g tohum numuneleri 10 ml % 80 lik etanol ile homojenize edildi. Homojenat 6000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernetant kısmından 3'er ml alınıp, 9 ml dinitrofenol çözeltisi ilave edilerek 6 dk. 80 °C' deki su banyosunda bekletildi. Bu süre sonunda 10 dk. buz banyosunda soğutulularak reaksiyonun durması sağlandı. Daha sonra her bir tüp den plastik küvetlere toplam 6 tekerrür olacak şekilde 2 şer ml alınarak absorbans ölçümü yapıldı ve verilen formüle göre % indirgen şeker miktarları belirlendi. Kör olarak ise 3 ml etanol ve 9 ml dinitrofenol karışımı hazırlanarak yukardaki işlem birebir yapıldı. Kör karşılıımı ile spektrofotometre sıfırlanarak absorbans ölçümü gerçekleştirildi.

Çalışmada kullanılan dinitrofenol çözeltisi, A ve B olarak adlandırılan iki farklı çözeltinin karışımı olarak hazırlandı.

3.13 Poliakrilamid Jel Elektroföresi (PAGE) ile İzoenzimlerin Belirlenmesi **İzoenzim için Homojenatın Hazırlanışı**

0.5 gr numune havan içerisinde konulduktan sonra üzerine 10 mL soğuk homojenat tamponu (KH_2PO_4 , pH:7.0) ile homojenize edildi. Daha sonra karışım bir santrifüjtüpüne aktarılarak 15000 x g ve +4 °C'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonucunda elde edilen süpernatant izoenzim ölçümleri için kaynak olarak kullanılmıştır (Angelini vd. 1990).

Alfa Amilaz (α -amilaz) İzoenzimlerinin Belirlenmesi

α -amilaz izoenzimleri için % 5-7.5 kesikli poliakrilamid jel kullanıldı. α -amilaz izoenzimleri V.P.Netsvetaev vd.(2014) tarafından tanımlanan yöntemle belirlendi. Elektroforez sonucunda çıkarılan jel dikkatli bir şekilde Nişasta çözeltisine (% 1'lik çözülebilir nişasta, 0,1 m sodyum asetat tamponu, pH:5,4) alınarak 30 dakika inkübe edildi. Nişasta çözeltisinden çıkarılan jeller 2-3 kez saf sudan geçirilerek jel üzerindeki fazla nişasta çözeltisinin yıkanması sağlandı. En son jeller iyot çözeltisine (İyot çözeltisi: 0,5 g KI ve 260 mg iyot ve 6 g TCA içerir) konularak 45 dakika inkübe edildi ve bantların görüntüsü kaydedildi.

3.14 İstatistik Analiz

Sonuçların karşılaştırılması, Microsoft Excel standart tablo hazırlama ile yapılmış ve istatistik anlamlar, 0.05 hata seviyesinde ki karşılaştırma ile belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada materyal olarak; *trans*-pinocarveol kimyasalı kullanıldı. Ayrıca tarımsal alanlarda sıklıkla görülen ve tarımsal üretimde önemli oranlarda zarar veren yabancı otlardan bir monokotil (*Avena fatua*) ile bir dikotil (*Sinapis arvensis*) olarak tercih edildi. Yabancı ot tohumları da Haziran-Eylül döneminde tarımsal alanlardan temin edilerek teşhisleri yapıldı ve bu bitkilerin tohumları elde edildi.

Yabancı otlara ait tohumlar, ekimden önce etanol (%96) ile kısa süreli hızlıca yıkandı ve %5'lik sodyum hipoklorit içerisinde 5 dk. yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra petrilere yerleştirildi. Kontrol ile değişik ardışık konsantrasyonlarda (0, 10, 25, 50, 100, 200 ve 300 µM) *trans*-pinocarveol kimyasallarına maruz bırakılarak her gün çimlenme oranları takip edildi. 5. günde bu tohumların % çimlenme oranları belirlendi.

Bulgular, çizelgelerde ayrıntılı olarak verilmiş, ayrıca çizelgelerden daha farklı yaklaşımların ve değerlendirmelerin yapılabilmesi için şekillerle de sunulmuştur. Sonuçlar değerlendirilirken ilk olarak kontrol grubu ile konsantrasyon artışına bağlı olarak bakılan parametrelerdeki değimi karşılaştırılmış,daha sonra da bu kimyasalın monokotil ile dikotil bitki üzerine etkisi bu bitki grupları temsil eden bu iki tür üzerinde belirlenmiştir.

4.1. *Trans*-pinocarveolün Çimlenme ile Erken Gelişim Parametrelerine Etkisi

Saf olarak elde edilen *trans*-pinocarveol'nın farklı konsantrasyonlarında çimlenmeye bırakılan *Avena fatua* (Poacea) ve *Sinapis arvensis* (Brasicace) tohumlarının çimlenmesi, kontrole göre, hem gecikmiş hem de önemli oranda ($P<0.05$) inhibe

edilmiştir (Şekil 4.1). İnhibisyon derecesi artan *trans*-pinocarveol konsantrasyonuna bağlı olarak ta artmıştır. Benzer bir durum fide gelişim parametrelerinde de gözlenmiş ve *trans*-pinocarveol'un artan konsantrasyonlarında aynı bitkilerin fidelerine ait kuru ağırlık ve kök-gövde uzunluklarını da önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir (Şekil 4.2-4.10).

4.2. *Trans*-pinocarveolün Çimlenme Sırasında Etkili Hidrolitik Enzimlere Etkisi

Trans-pinocarveol muamelesi ile hem *A. fatua* hemde *S. arvensis* tohumlarında konsantrasyon artışına bağlı olarak hidrolitik enzimlerin hepsinin (α -amilaz, β -amilaz ve proteaz) aktivitesinde önemli derecede bir inhibisyona sebep olduğu belirlendi. Bu maddenin 10 μ M'lık uygulaması ile kontrol şartlarında bulunan *S. arvensis* tohumlarında 2 α -amilaz izoenzim bandının kaybolmasına sebep olurken, *A. fatua* tohumlarında da bulunan 2 bandın konsantrasyon artışına paralel olarak yavaş yavaş kalınlığının azaldığı ve 50 μ M'dan sonra yok olduğu belirlendi(Şekil 4.11, 4.12, 4.13 ve Şekil 4.15).

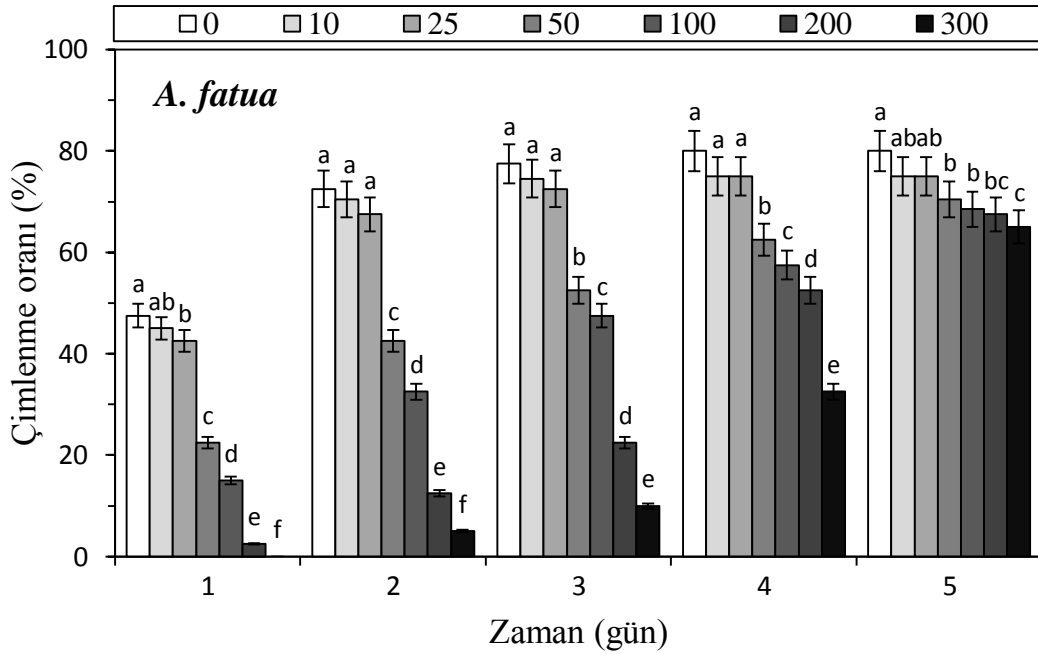
4.3. *Trans*-pinocarveolün Çimlenme Sırasında Etkili Hidrolitik Enzimlerin Substrat ve Ürünlerine Etkisi

Hem *A. fatua* hemde *S. arvensis* tohumlarında *trans*-pinocarveol muamelesi ile konsantrasyon artışına bağlı olarak proteinlerin yıkımında inhibisyon (azalma) görülürken çözülebilir şeker miktarında da konsantrasyon artışına paralel olarak bir düşüş belirlenmiştir (Şekil 4.14 ve Şekil 4.16).

Çizelge 4.1. *Trans*-pinocarveol kimyasalının *A. fatua* tohumlarının günlük çimlenme oranı (%) üzerine etkisi

<i>Trans</i> -pinocarveol (μ M)	Zaman (gün)				
	1	2	3	4	5
0 μ M	48 ^a	73 ^a	78 ^a	80 ^a	80 ^a
10 μ M	45 ^{ab}	71 ^a	75 ^a	75 ^a	75 ^{ab}
25 μ M	43 ^b	68 ^a	73 ^a	75 ^a	75 ^{ab}
50 μ M	23 ^c	43 ^b	53 ^b	63 ^b	71 ^b
100 μ M	15 ^d	33 ^c	48 ^c	58 ^c	69 ^b
200 μ M	3 ^e	13 ^d	23 ^d	53 ^d	68 ^{bc}
300 μ M	0 ^f	5 ^e	10 ^e	33 ^e	65 ^c

*Aynı sütunda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

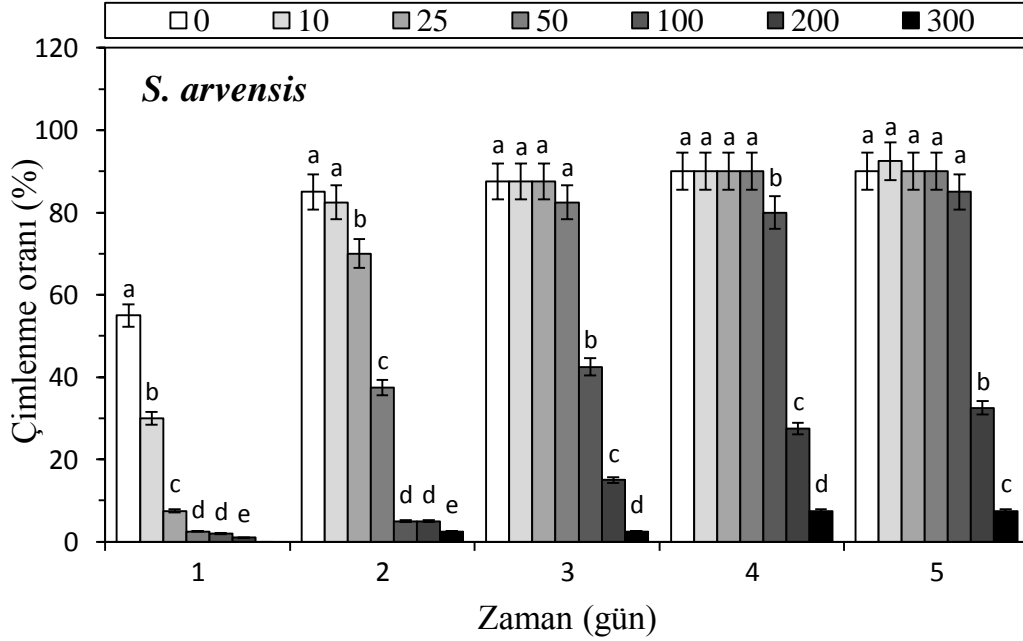


Şekil 4.1. *Trans*-pinocarveol kimyasalının *A. fatua* tohumlarının günlük çimlenme oranı (%) üzerine etkisi

Çizelge 4.2. *Trans*-pinocarveol kimyasalının *S. arvensis* tohumlarının günlük çimlenme oranı (%) üzerine etkisi

<i>Trans</i> -pinocarveol (μ M)	Zaman (gün)				
	1	2	3	4	5
0 μ M	55 ^a	85 ^a	88 ^a	90 ^a	90 ^a
10 μ M	30 ^b	83 ^a	88 ^a	90 ^a	93 ^a
25 μ M	8 ^c	70 ^b	88 ^a	90 ^a	90 ^a
50 μ M	3 ^d	38 ^c	83 ^a	90 ^a	90 ^a
100 μ M	2 ^d	5 ^d	43 ^b	80 ^b	85 ^a
200 μ M	1 ^e	5 ^d	15 ^c	28 ^c	33 ^b
300 μ M	0 ^f	3 ^e	3 ^d	8 ^d	8 ^c

* Aynı sütunda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

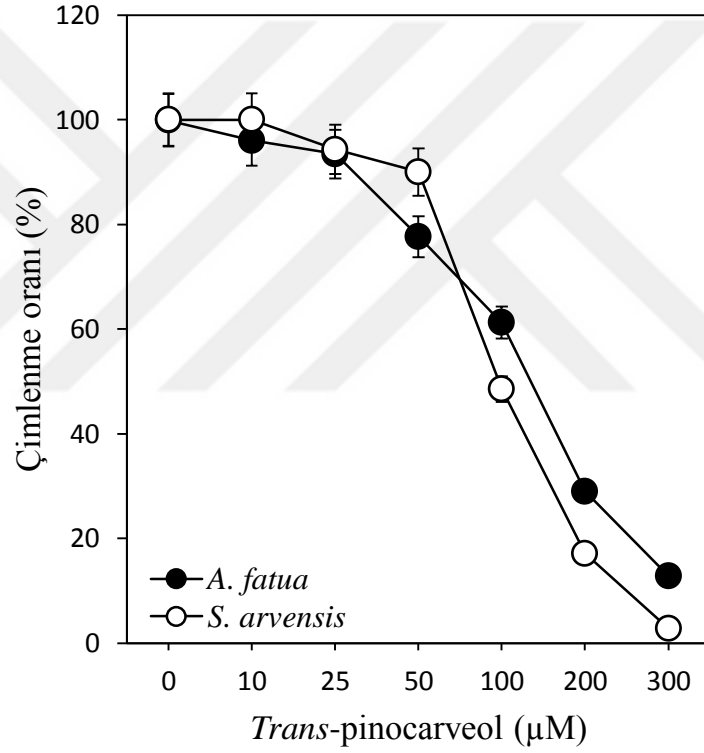


Şekil 4.2. *Trans*-pinocarveol kimyasalının *S. arvensis* tohumlarının günlük çimlenme oranı (%) üzerine etkisi

Çizelge 4.3. *Trans-pinocarveol* kimyasalının 5. gündeki çimlenme oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans-pinocarveol</i> (μM)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^a	96 ^a	93 ^b	78 ^c	61 ^d	29 ^e	13 ^f
<i>S. arvensis</i>	100 ^a	100 ^a	94 ^b	90 ^b	49 ^c	17 ^d	3 ^e

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.



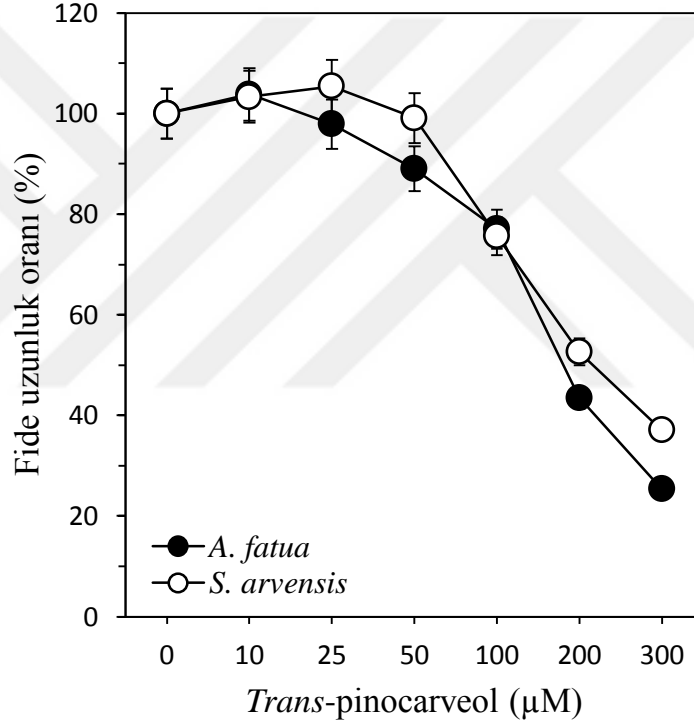
Şekil 4.3. *Trans-pinocarveol* kimyasalının 5. gündeki çimlenme oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının 5. gündeki çimlenme oranı (%) üzerine inhibisyon etkisi Şekil 4.3 ve Çizelge 4.3'te ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. Her iki bitkide de (*Avena fatua* ve *Sinapis arvensis*) düşük konsantrasyonlarda (10 ve 25 μM) önemli bir etki gözlenmezken özellikle 50 μM ve üzerindeki konsantrasyonlarda *trans-pinocarveol* uygulaması ile her iki türde de çimlenmede ciddi bir inhibisyon görülmüştür. 300 μM konsantrasyonda *S. arvensis*'te çimlenme çok az gerçekleşirken *A. fatua*'da ise çok ciddi bir çimlenme inhibisyonu gözlenmiştir.

Çizelge 4.4. *Trans*-pinocarveol kimyasalının total fide büyüme oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans</i> -pinocarveol (μM)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^a	104 ^a	98 ^a	89 ^b	77 ^c	44 ^d	25 ^e
<i>S. arvensis</i>	100 ^b	103 ^a	105 ^a	99 ^b	76 ^c	53 ^d	37 ^e

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.



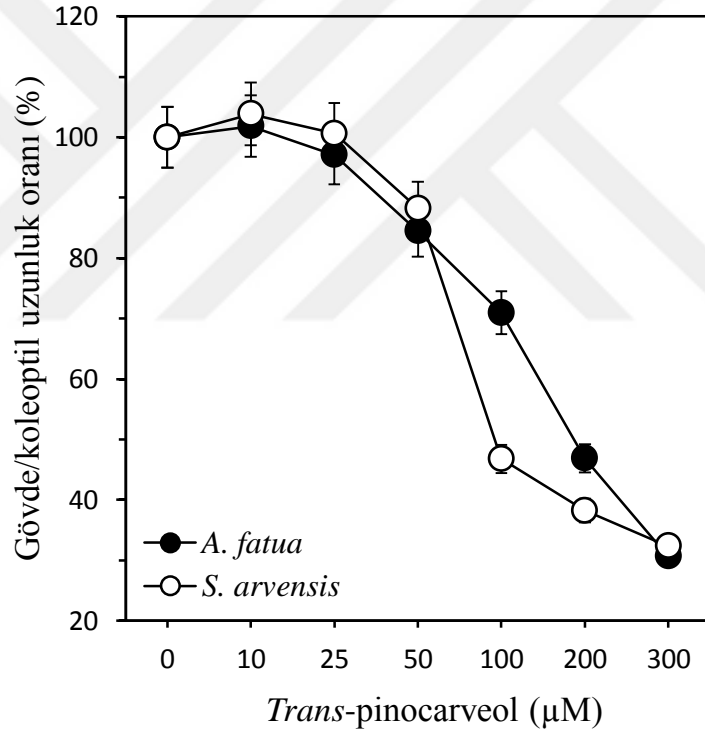
Şekil 4.4. *Trans*-pinocarveol kimyasalının total fide büyüme oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının total fide büyüme oranı (%) üzerine etkisi Şekil 4.4 ve Çizelge 4.4'te ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. *A. fatua* ve *S. arvensis* bitkilerinde düşük konsantrasyonlarda (10 ve 25 μM) kayda değer bir uyarıcı etkisi gözlenmezken 50 μM ve üzerinde ki konsantrasyonlarda ki *trans*-pinocarveol uygulaması ile fide büyüme oranlarında ciddi bir inhibisyon görülmüştür. 300 μM konsantrasyonda *A. fatua* bitkisinin daha çok etkilendiği gözlemlenirken *S. arvensis* ve *A. fatua* bitkilerinde çok az farkla aynı inhibisyon miktarları gözlenmiştir.

Çizelge 4.5. *Trans*-pinocarveol kimyasalının gövde ve koleoptil büyüme oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans</i> -pinocarveol (μM)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^a	102 ^a	97 ^a	84 ^b	71 ^c	47 ^d	31 ^e
<i>S. arvensis</i>	100 ^a	104 ^a	101 ^a	88 ^b	47 ^c	38 ^d	32 ^e

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.



Şekil 4.5. *Trans*-pinocarveol kimyasalının gövde/koleoptil uzunluk oranı (%) üzerine etkisi



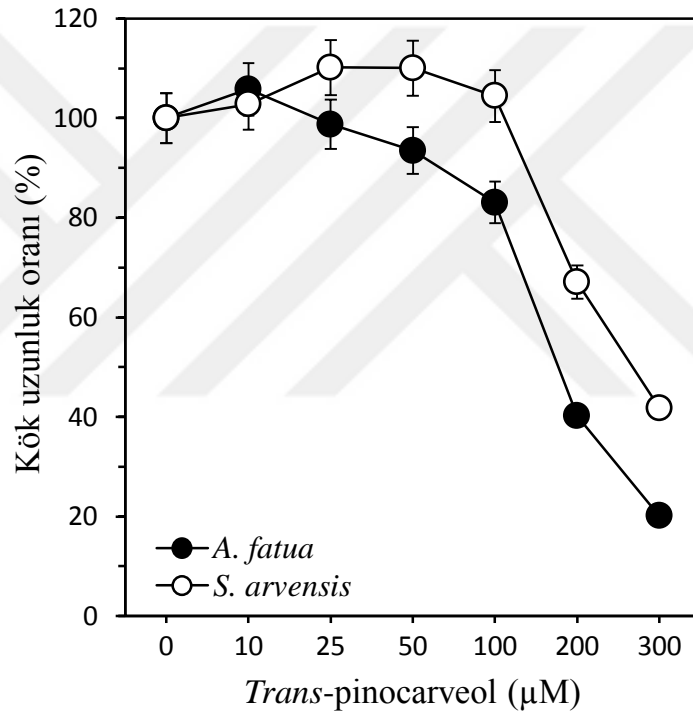
Şekil 4.6. *Trans*-pinocarveol kimyasalının gövde/koleoptil uzunluk üzerine etkisi (soldan sağa doğru konsantrasyonlar 0, 10, 25, 50, 100, 200, 300 μ M)

Trans-pinocarveol kimyasalının gövde ve koleoptil büyüme oranı (%) üzerine etkisi Şekil 4.5–Şekil 4.6 ve Çizelge 4.5’te görülmektedir. *A. fatua* ve *S. arvensis* bitkilerinde düşük konsantrasyonlarda (10 ve 25 μ M) önemli bir etkisi gözlenmezken 50 μ M ve üzerinde ki konsantrasyonlarda ki *trans*-pinocarveol uygulaması ile gövde ve koleoptil büyüme oranlarında ciddi bir inhibisyon görülmüştür. *Trans*-pinocarveol uygulamasında 10 μ M-50 μ M arası konsantrasyonlarda her iki bitkide de benzer etki gözlenirken 100 μ M konsantrasyonda *S. arvensis* bitkisinin *A. fatua*’ya göre daha fazla inhibisyona sahip olduğu gözlenirken 300 μ M konsantrasyonda her iki bitkide de benzer inhibisyon gözlenmiştir.

Çizelge 4.6. *Trans*-pinocarveol kimyasalının kök büyüme oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans</i> -pinocarveol (μM)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^b	106 ^a	98 ^b	93 ^c	83 ^c	40 ^e	20 ^d
<i>S. arvensis</i>	100 ^b	103 ^b	110 ^a	110 ^a	104 ^b	67 ^c	42 ^d

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

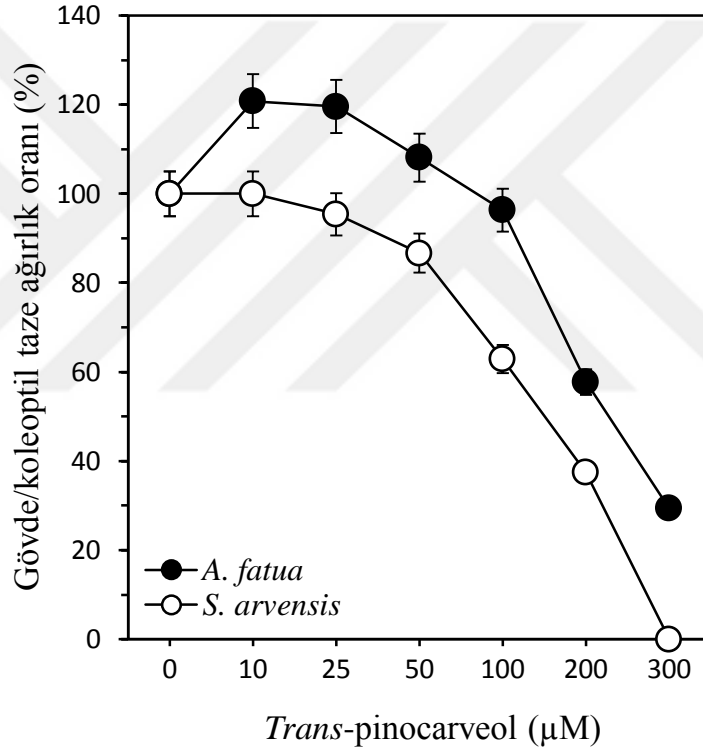
**Şekil 4.7.** *Trans*-pinocarveol kimyasalının kök büyüme oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının kök büyüme oranı (%) üzerine etkisi Şekil 4.7 ve Çizelge 4.6'da ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. *Trans*-pinocarveol kimyasalının 10 μM uygulamasında her iki bitkide de benzer etki gözlenmiştir. *A. fatua* bitkisi 100 μM konsantrasyona kadar inhibisyon miktarında kademeli olarak bir azalma gözlemlenirken *S. arvensis* bitkisinde inhibisyon miktarında önemseneyecek bir değişiklik gözlenmemiştir. *Trans*-pinocarveol kimyasalının 200 μM ve 300 μM konsantrasyonlarında her iki bitkide de (*S. arvensis* ve *A. fatua*) paralel olarak ciddi bir kök büyüme inhibisyonu gözlenmiştir.

Çizelge 4.7. *Trans*-pinocarveol kimyasalının gövde-koleoptil taze ağırlık oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans</i> -pinocarveol (μM)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^c	121 ^a	120 ^a	108 ^b	96 ^c	58 ^d	29 ^e
<i>S. arvensis</i>	100 ^a	100 ^a	95 ^a	87 ^b	63 ^c	37 ^d	0 ^f

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.



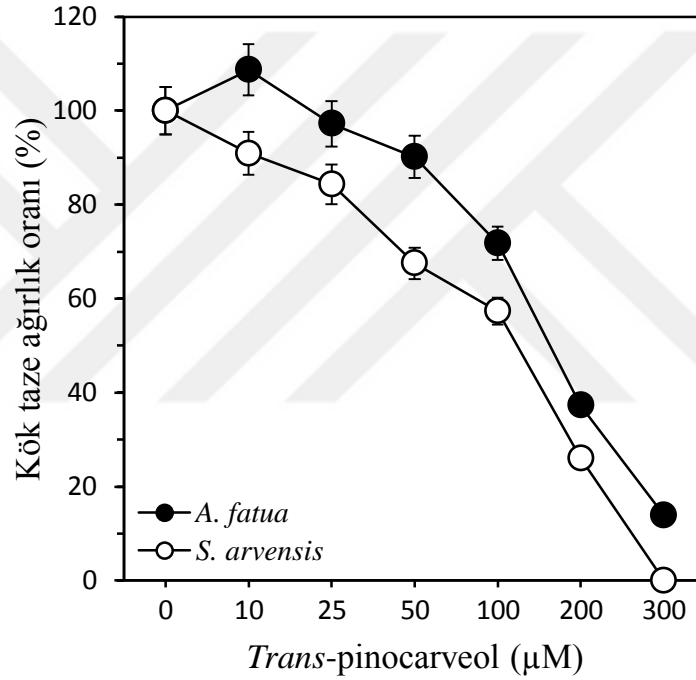
Şekil 4.8. *Trans*-pinocarveol kimyasalının gövde-koleoptil taze ağırlık oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının gövde-koleoptil taze ağırlık oranı (%) üzerine etkisi Şekil 4.8 ve Çizelge 4.7’de ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. *Trans*-pinocarveol kimyasalının *A. fatua* bitkisi üzerine 100 μM konsantrasyona kadar ciddi bir etkisi gözlenmezken *S. arvensis* bitkisinde ciddi bir inhibisyon gözlenmiştir. 100 μM ve üzeri konsantrasyonlarda her iki bitkide paralel olarak gövde-koleoptil taze ağırlık inhibisyon düşüşü gözlenmiştir.

Çizelge 4.8. *Trans*-pinocarveol kimyasalının kök taze ağırlık oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans</i> -pinocarveol (μM)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^b	109 ^a	97 ^b	90 ^c	72 ^d	37 ^e	14 ^f
<i>S. arvensis</i>	100 ^a	91 ^b	84 ^c	67 ^d	67 ^e	26 ^f	0 ^f

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

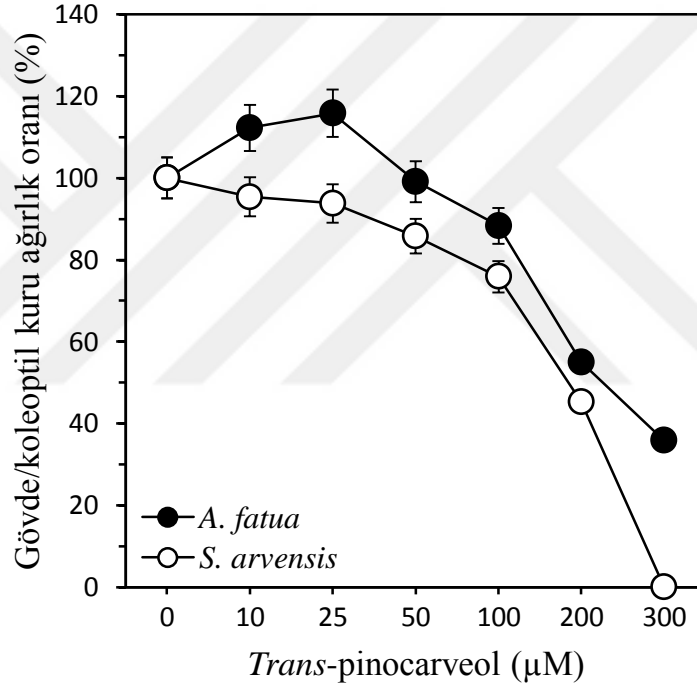
**Şekil 4.9.** *Trans*-pinocarveol kimyasalının kök taze ağırlık oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının kök taze ağırlık oranı (%) üzerine etkisi Şekil 4.9 ve Çizelge 4.8'de ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. *Trans*-pinocarveol kimyasalının *A. fatua* ve *S. arvensis* bitkilerine benzer etki yaptığı gözlenmiştir. 300 μM konsantrasyonda *S. arvensis* bitkisinin kök taze ağırlık inhibisyon oranı maksimum seviyedeysen *A. fatua* bitkisinde çok ciddi kök taze ağırlık inhibisyon oranına sahip olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.9. *Trans*-pinocarveol kimyasalının gövde-koleoptil kuru ağırlık oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans</i> -pinocarveol (μM)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^b	112 ^a	115 ^a	99 ^b	88 ^c	55 ^d	36 ^e
<i>S. arvensis</i>	100 ^a	95 ^a	94 ^a	86 ^b	76 ^c	45 ^d	0 ^e

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.



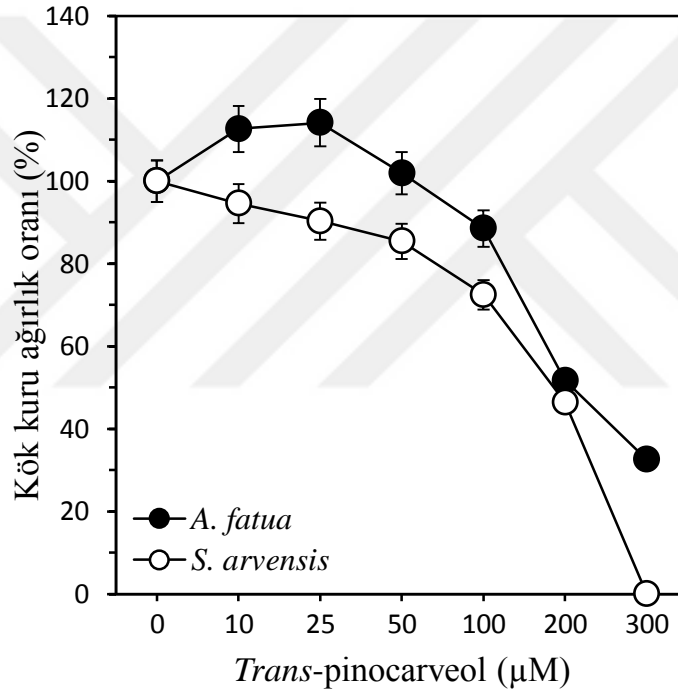
Şekil 4.10. *Trans*-pinocarveol kimyasalının gövde-koleoptil kuru ağırlık oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının gövde-koleoptil kuru ağırlık oranı (%) üzerine etkisi Şekil 4.10 ve Çizelge 4.9'da ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. Her iki bitkide de (*Avena fatua* ve *Sinapis arvensis*) düşük konsantrasyonlarda (10 ve 25 μM) önemli bir etki gözlenmezken özellikle 50 μM ve üzerindeki konsantrasyonlarda *trans*-pinocarveol uygulaması ile gövde-koleoptil kuru ağırlığında ciddi bir inhibisyon görülmüştür. 300 μM konsantrasyonda *S. arvensis* bitkisinde maksimum inhibisyon gözlenirken *A. fatua* bitkisinde % 40 civarında inhibisyon gözlenmiştir.

Çizelge 4.10. *Trans*-pinocarveol kimyasalının kök kuru ağırlık oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans</i> -pinocarveol (μM)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^b	113 ^a	114 ^a	102 ^b	89 ^c	52 ^d	33 ^e
<i>S. arvensis</i>	100 ^a	95 ^a	90 ^b	85 ^b	72 ^c	46 ^d	0 ^f

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.



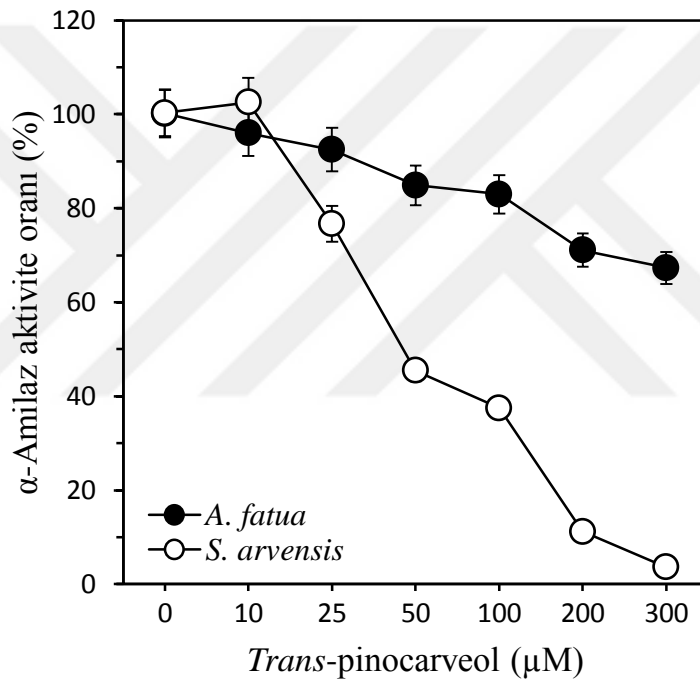
Şekil 4.11. *Trans*-pinocarveol kimyasalının kök kuru ağırlık oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının kök kuru ağırlık oranı (%) üzerine etkisi Şekil 4.11 ve Çizelge 4.10'da ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. *Trans*-pinocarveol kimyasalı hem *S.arvensis* hem de *A. fatua* bitkilerinde 200 μM konsantrasyona kadar benzer etki gözlenirken 200 μM konsantrasyonda her iki bitkide de hemen hemen aynı etki gözlenmiştir.300 μM konsantrasyonda *S.arvensis* bitkisinde maksimum inhibisyon gözlenirken *A. fatua* bitkisinde % 40 civarında inhibisyon gözlenmiştir.

Çizelge 4.11. *Trans*-pinocarveol kimyasalının tohum α -amilaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi

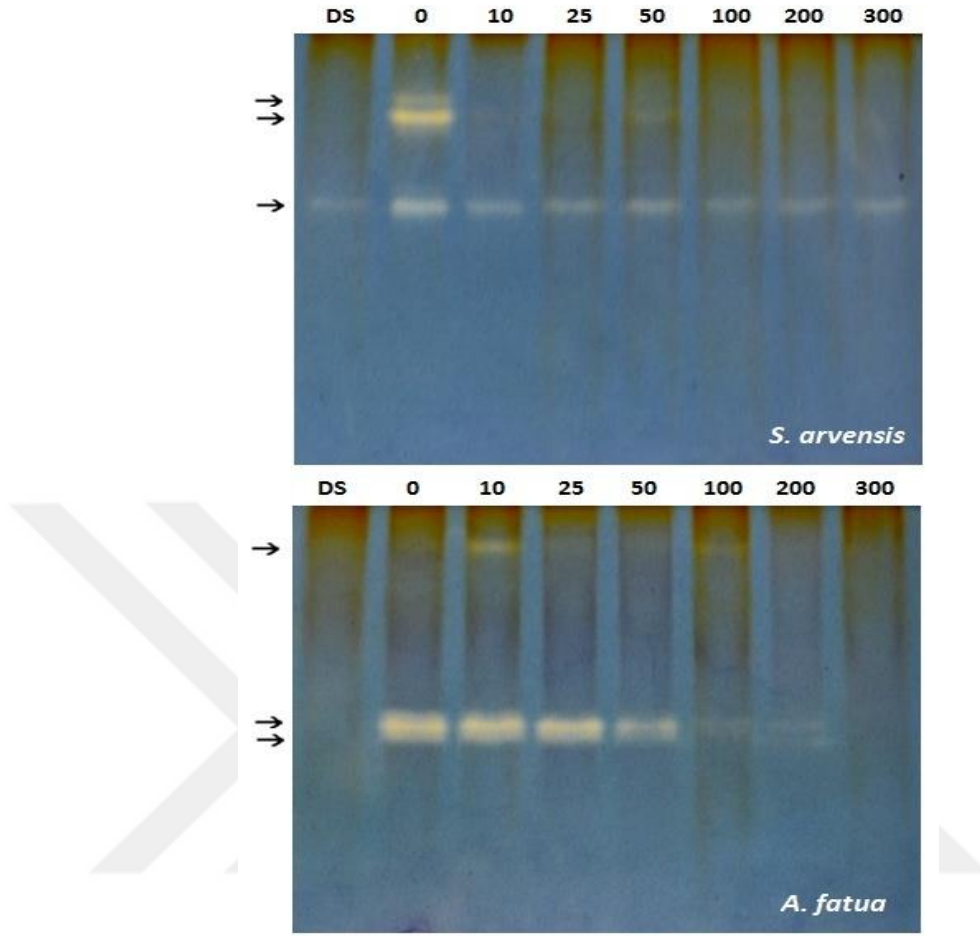
	<i>Trans</i> -pinocarveol (μ M)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^a	96 ^a	92 ^b	85 ^c	83 ^c	71 ^d	67 ^d
<i>S. arvensis</i>	100 ^a	103 ^a	77 ^b	45 ^c	37 ^d	11 ^e	4 ^f

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.



Şekil 4.12. *Trans*-pinocarveol kimyasalının tohum α -amilaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının tohum α -amilaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi Şekil 4.12 ve Çizelge 4.11’de ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. *Trans*-pinocarveol kimyasalı hem *S. arvensis* hem de *A. fatua* bitkilerinde düşük konsantrasyonlarda (10-25 μ M) benzer etki gözlenirken 50 μ M ve üzeri konsantrasyonlarda *A. fatua* bitkisinde % 20’lik bir inhibisyon oranı gözlenirken *S. arvensis* bitkisinde % 100’e yakın bir inhibisyon oranı gözlenmiştir.



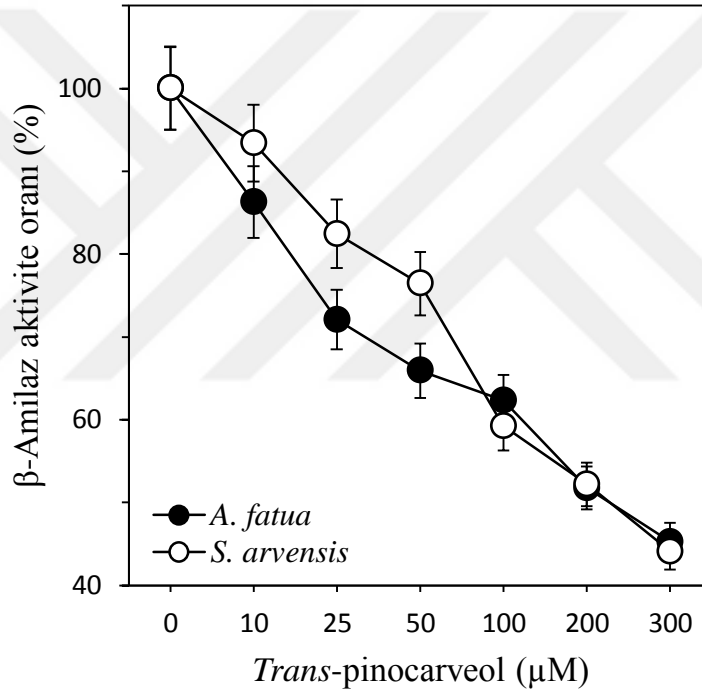
Şekil 4.13. Trans-pinocarveol kimyasalının tohum α -amilaz izoenzim profili üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının tohum α -amilaz izoenzim'i üzerine etkisi Şekil 4.13' de ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. *S. arvensis* bitkisinde kontrol şartlarında 3 bant gözlenirken uygulanan kimyasalın konsantrasyon artışı ile doğru orantılı olarak üste görülen 2 bantın kaybolduğu ve bütün konsantrasyonlarda ortak görülen bantın ise giderek belirginliğini kaybettiği gözlenmiştir. *A. fatua* bitkisinde ise tek bir bant gözlenmiştir (10 μ M konsantrasyonda 2 bant gözlenmiştir). *Trans*-pinocarveol kimyasalının konsantrasyon artışına bağlı olarak bantın belirginliği azalmış 300 μ M konsantrasyonda izoenzim bantının olmadığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.12. *Trans*-pinocarveol kimyasalının tohum β -amilaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans</i> -pinocarveol (μ M)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^a	86 ^b	72 ^c	66 ^d	62 ^d	53 ^e	45 ^f
<i>S. arvensis</i>	100 ^a	93 ^a	82 ^b	76 ^c	59 ^d	52 ^e	44 ^f

* Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.



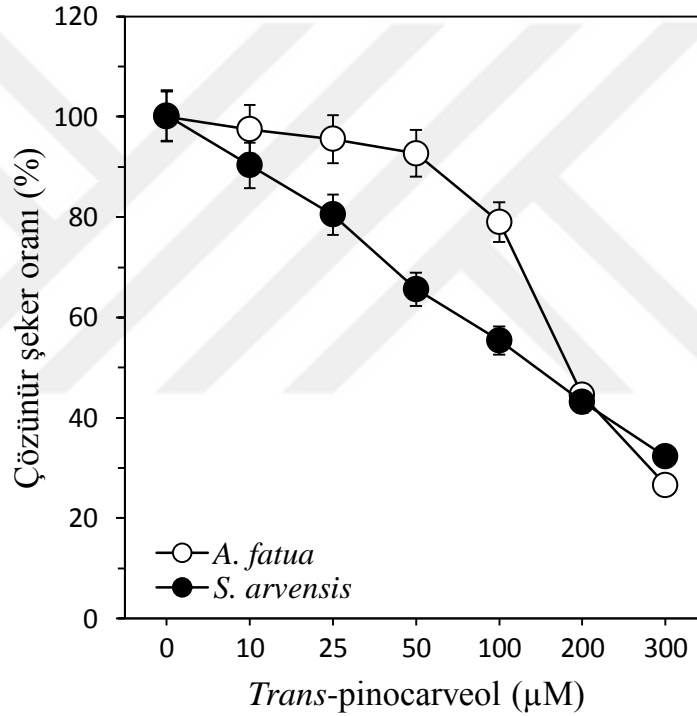
Şekil 4.14. *Trans*-pinocarveol kimyasalının tohum β -amilaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının tohum β -amilaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi Şekil 4.14 ve Çizelge 4.12’de ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. *Trans*-pinocarveol kimyasalının konsantrasyon artışına bağlı olarak her iki bitkide de (*S.arvensis* ve *A.fatua*) β -amilaz aktivitesi oranı birbirlerine paralel olarak azalmış ve benzer etki gösterdiği gözlenmiştir.

Çizelge 4.13. Trans-pinocarveol kimyasalının tohumdaki tohum çözünür şeker oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans-pinocarveol</i> (μM)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^a	97 ^a	96 ^a	93 ^b	79 ^c	44 ^d	27 ^e
<i>S. arvensis</i>	100 ^a	90 ^a	81 ^c	66 ^d	55 ^e	43 ^f	32 ^g

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.



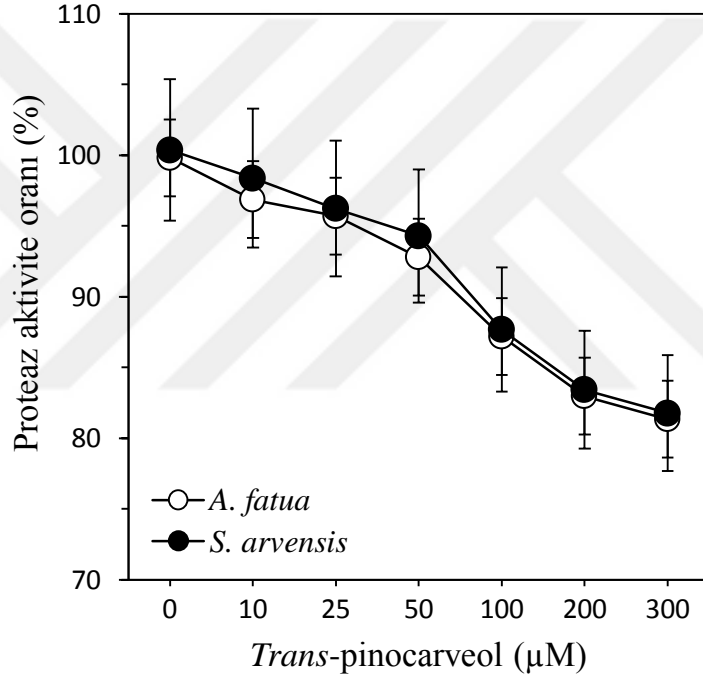
Şekil 4.15. Trans-pinocarveol kimyasalının tohumdaki çözünür şeker oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının tohum çözünür şeker oranı (%) üzerine etkisi Şekil 4.15 ve Çizelge 4.13'te ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. *Trans-pinocarveol* kimyasalının *A.fatua* ve *S.arvensis* bitkilerinde benzer etki gösterdiği gözlenmiştir. *S.arvensis* bitkisi konsantrasyon artışına göre düzenli bir azalış gözlenirken *A.fatua* bitkisi ise 100 μM konsantrasyona kadar çok az inhibisyon gözlenirken 200 μM ve üzeri konsantrasyonda her iki bitkide de aynı etki olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.14. *Trans-pinocarveol* kimyasalının tohum proteaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans-pinocarveol</i> (μM)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	100 ^a	97 ^a	96 ^a	93 ^b	87 ^b	83 ^b	81 ^b
<i>S. arvensis</i>	100 ^a	98 ^a	96 ^a	94 ^b	88 ^b	83 ^b	82 ^b

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.



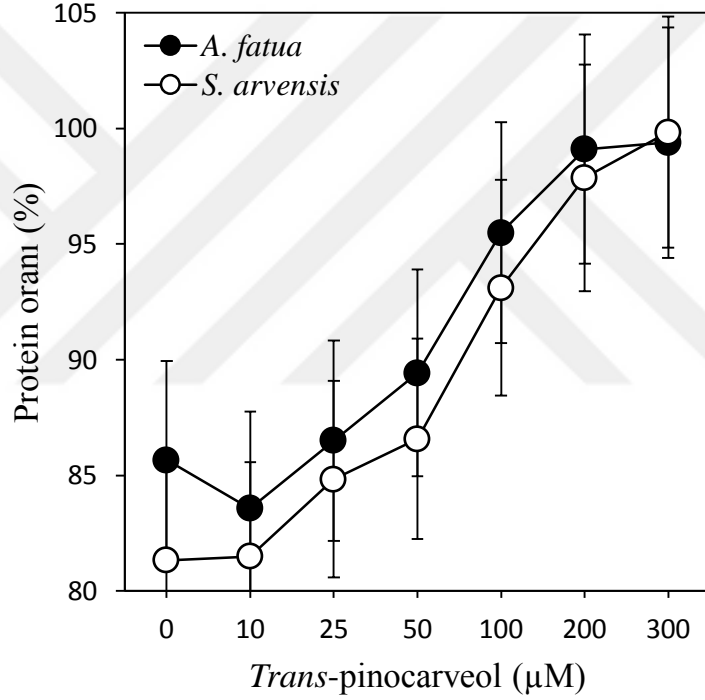
Şekil 4.16. *Trans-pinocarveol* kimyasalının tohum proteaz aktivitesi oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının tohum proteaz aktivitesi oranı(%) üzerine etkisi Şekil 4.16 ve Çizelge 4.14'de ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. *Trans-pinocarveol* kimyasalının konsantrasyon artışına bağlı olarak her iki bitkide de (*S.arvensis* ve *A.fatua*) proteaz aktivitesi oranı birbirlerine paralel olarak azalmış ve benzer etki gösterdiği gözlenmiştir.

Çizelge 4.15. Trans-pinocarveol kimyasalının tohumlardaki protein oranı (%) üzerine etkisi

	<i>Trans-pinocarveol</i> (μM)						
	0	10	25	50	100	200	300
<i>A. fatua</i>	85 ^b	84 ^b	86 ^b	89 ^b	95 ^a	99 ^a	99 ^a
<i>S. arvensis</i>	81 ^b	81 ^b	85 ^b	87 ^b	93 ^a	98 ^a	100 ^a

*Aynı satırda geçerli olmak kaydıyla, aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.



Şekil 4.17. Trans-pinocarveol kimyasalının tohumlardaki protein oranı (%) üzerine etkisi

Trans-pinocarveol kimyasalının tohumlardaki protein oranı(%) üzerine etkisi Şekil 4.17 ve Çizelge 4.15’de ayrıntılı bir şekilde görülmektedir. *Trans-pinocarveol* kimyasalının her iki bitkinin tohumlarında ki protein oranına benzer etkisi olduğu gözlenmiştir. *Trans-pinocarveol* kimyasalının konsantrasyon artışına bağlı olarak her iki bitkide de protein oranının aynı miktarlarda attığı gözlenmiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Herbisitlere maruz kalan tohumlarda çimlenme ya gerçekleşmez veya gecikir. Bu koşullarda çimlenmenin gerçekleşmemesi veya gecikmesinin sebebi tam olarak aydınlatılamamıştır.

Literatür çalışmaların göre değişik bitki türlerinde monoterpen ve esansiyel yağların bitki gelişimi üzerine etkileri incelenmiş ve bu konuda yapılan bazı çalışmaların sonuçları ile bu araştırmanın sonuçları aşağıda tartışılmaya çalışılmıştır.

Kaur vd. (2011), *Eucalyptus tereticornis* türünden elde ettikleri α -pinen ve 1,8-cineole esansiyel yağları bir tarla yabancı otu olan *Amaranthus viridis* bitkisine 15 cm petri kaplarına 0.5-5 mL olacak konsantrasyonlarda uygulamışlardır. Artan dozlarda her iki monoterpeninde bitkinin çimlenmesine ve fide gelişimine olumsuz etki yaptığı öne sürülmüştür. Yürüttüğümüz bu çalışmada kullandığımız her iki bitki türünde de uygulanan *trans*-pinocarveol kimyasalının Kaur vd. tarafından yürütülen çalışmada olduğu gibi artan konsantrasyonlarda çimlenme ve fide büyümesi üzerine olumsuz etki yaptığı görülmüştür.

Mutlu vd. (2011), *Nepeta meyeri* bitkisinden elde ettikleri esansiyel yağları % 0.01 ve 0.02 oranında petri ortamında yabancı ot olan *Amaranthus retroflexus*, *Bromus danthoniae*, *Bromus intermedius*, *Chenopodium album*, *Cynodon dactylon*, *Lactuca seriola* ve *Portulaca oleracea* bitkilerine uygulayarak bu bitkilerin çimlenme yüzdeleri, erken fide dönemindeki MDA, hidrojen peroksit ve bazı antioksidan enzim aktivitelerini belirlemişlerdir. Bu bitkinin özellikle yüksek dozu bütün yabancı otların çimlenmesini %100 oranında inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçlar yaptığımız çalışmanın sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Bunun nedeni olarak ticari olarak elde edilerek kullandığımız *trans*-pinocarveol kimyasalının *Nepta meyeri* bitkisi esansiyel yağlarında da bulunmuş olması etkili olduğu düşünülmektedir.

Romagni vd. (1999), *Echinochloa crusgalli* ve *Cassia obtusifolia* bitkilerine 10-1000 mg/g 1,4- ve 1,8-cineole monotерpenlerini uygulayarak bitkilerdeki çimlenmeyi takip etmişlerdir. Çalışmalarında ayrıca kök-gövde uzunluğu ve klorofil içeriğini belirlemişlerdir. Sonuç olarak her iki monotерpen de çimlenmeyi ve kök-gövde uzunluğunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Yürüttüğümüz bu çalışmada *trans*-pinocarveol kimyasalının artan konsantrasyonlarında kullanılan bitkilerin kök-gövde uzunluğu üzerine olumsuz etkisi (sadece *S. arvensis* tohumlarında 10 µM konsantrasyonda uyarıcı etkisi) gözlemlenmiştir. Romagni vd.'nin yaptığı çalışma ile yaptığımız çalışma arasında benzer sonuçlar bulunmaktadır. İki çalışmada da benzer sonuçların görülme nedeni üç monotерpen 1,4-, 1,8-cineole ve *trans*-pinocarveol maddelerinin kullanılması ile ilişkili olduğu öngörülmektedir.

Singh vd. (2009), *Artemisia scoparia* bitkisinin esansiyel içeriğini belirledikten sonra bu esansiyel yağlar içerisinde majör bileşen olan β-Myrcene monotерpeni ve *Artemisia scoparia* bitkisinin esansiyel yağlarını (0.07-0.7 mg/ml) karşılaştırmalı olarak *Avena fatua*, *Phalaris minor* ve *Cyperus rotundus* bitkilerinin büyüme ortamına uygulamışlardır. Çalışmalarında petri ortamında çimlenmeye bıraktıkları bitkilerin çimlenme yüzdeleri, fide kuru ağırlık ve uzunluğu, elektrolit sızıntı, MDA ve içsel hidrojen peroksit miktarlarını belirlemişlerdir. Sonuç olarak uygulanan esansiyel yağların araştırmamızda da olduğu gibi fide gelişimini olumsuz yönde etkilediğini kaydetmişlerdir. Bu açıdan Singh vd. bu çalışması ile bizim çalışmamız paralellik göstermektedir. Ayrıca Abraham vd. (2000), mısır bitkisinin çimlenme aşamasında 0.05-10 mM konsantrasyonlarında uyguladıkları 4 farklı monotерpenin (α-pinen, limonen, kamfor, ökaliptol) uygulanmasının sonunda benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Bu sonuçlara göre araştırmamızda kullandığımız *trans*-pinocarveol diğer bazı monotерpenlerin diğer monotерpenlerle tohum çimlenmesi ve bitki gelişimi üzerine benzer etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Alleopatik bitkilerlerin alleopatik etkileşimdeki rolleri ile ilgili çalışmalar daha çok çimlenme ve bitki büyüme parametreleri (kök-gövde uzunluğu, kuru ağırlık gibi) üzerine yoğunlaşmıştır. Çünkü alleopatik stresin önemli bir belirteci olan çimlenme inhibisyonu, bu açıdan önemli bir fizyolojik parametredir (Singh vd. 2003, 2006,

Mutlu ve Atici 2009). Bu yüzden literatür taramalarında genellikle çimlenme oranı, kök-gövde uzunluğu, kuru-yaş ağırlık gibi parametrelere rastlanmaktadır. Yürüttüğümüz çalışmada bu parametrelerin yanı sıra çimlenme sırasında tohumdaki depo maddelerinden biri olan nişasta kullanımını sağlayan α - β milaz aktivitelerine, indirgen şeker ve protein miktarlarına da bakılmış ve literatürde bu parametrelere rastlanmamıştır. α - β amilaz aktiviteleri, indirgen şeker ve protein miktarlarına diğer parametrelerle karşılaştırıldığında benzer sonuçlar gözlenmiş ve literatürdeki bu boşluğu doldurur niteliktedir.

Çizelge 5.1. *Trans*-pinocarveol ile kontrole göre 5. günde parametrelerdeki % değişim

PARAMETRE /(μ M)	<i>Avena fatua</i>						<i>Sinapis arvensis</i>					
	10	25	50	100	200	300	10	25	50	100	200	300
Günlük çimlenme	≈	-	-	-	-	-	≈	-	-	-	-	-
Fide büyüme	≈	≈	-	-	-	-	+	+	≈	-	-	-
Gövde-koleoptil büyüme	≈	≈	-	-	-	-	≈	≈	-	-	-	-
Kök büyüme	+	≈	-	-	-	-	≈	+	+	≈	-	-
Gövde-koleoptil taze ağırlık	+	+	+	≈	-	-	≈	≈	-	-	-	-
Kök taze ağırlık	+	≈	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gövde-koleoptil kuru ağırlık	+	+	-	-	-	-	≈	≈	-	-	-	-
Kök kuru ağırlık	+	+	≈	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -amilaz aktivitesi	≈	-	-	-	-	-	≈	-	-	-	-	-
β -amilaz aktivitesi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Proteaz aktivitesi	≈	≈	-	-	-	-	≈	≈	-	-	-	-
Çözünür şeker	≈	≈	-	-	-	-	≈	-	-	-	-	-
Protein	≈	≈	≈	+	+	+	≈	≈	≈	+	+	+

Not: Değerler kontrol ile karşılaştırıldığında (P<0.05) seviyesinde(+);artırıştır, (-);azaltmıştır, (≈);değiştirmemiştir.

Trans-pinocarveol kimyasalının allelopatik etkiyi oluşturun-oluşturmadiğının ortaya konması ve biyoherbisidal etki mekanizmalarının ortaya çıkarılması amacıyla yapılan bu çalışmadan elde edilen araştırma bulguları çizelge 5.1 de özetlenmiştir. Bu çalışmaya göre çizelge 5.1’de dikkate alınarak aşağıdaki sonuçlar sıralanabilir.

1. *Trans*-pinocarveol’ün çimlenme ile gelişim parametreleri üzerine etkisine bakıldığında; çimlenmeye bırakılan *A. fatua* ve *S. arvensis* tohumlarının çimlenmesi, kontrole göre, hem gecikmekte hem de önemli oranda inhibe edilmektedir. Bu durum *trans*-pinocarveol’ün yabancı otlara ait tohumların çimlenmesini engelleyici özelliğinden kaynaklanabilir.
2. *Trans*-pinocarveol muamelesi’nin *A. fatua* ve *S. arvensis* tohumlarında hidrolitik enzimlerin (α -amilaz, β -amilaz ve proteaz) aktivitesinde inhibisyona sebep olduğu belirlendi. Hidrolitik enzimlerin aktivitelerinde meydana gelen düşüş neticesinde besin üretimi azalacağından tohumların gelişmeleri azalmaktadır. Bu sonuç *trans*-pinocarveol’ün yabancı otlara ait tohumların gelişmelerini engelleyici özelliğini göstermektedir.
3. *Trans*-pinocarveol kimyasalının *A. fatua* ve *S. Arvensis* tohumlarındaki α -amilaz enzimi bantlarındaki azalış yukarıdaki sonucu destekler niteliktedir.
4. *Trans*-pinocarveol uygulaması ile *A. fatua* ve *S. Arvensis* tohumlarındaki çözünür şeker oranındaki düşüş, *trans*-pinocarveol’ün tohumun büyüme ve gelişmesi için gerekli bir bileşik olan şekerlerin miktarında meydana getirdiği azalma, bu kimyasalın yabancı otlara ait tohumların gelişmelerini engelleyici özelliğinden kaynaklanabilir.
5. *Trans*-pinocarveol uygulaması *A. fatua* ve *S. arvensis* tohumlarının protein miktarında artışa neden olmuştur. Bu durum, *trans*-pinocarveol’ün *A. fatua* ve *S. arvensis*’te hidrolitik enzimlerden olan proteaz enzimi aktivitesini inhibe etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuçlarımız, hem *trans*-pinocarveol'un biyoherbisidal etki mekanizmasını aydınlatarak bu konudaki temel bilimlerde önemli bir boşluğu doldurmuş hem de daha ileri aşamalarda bu maddenin üretilmesine daha sonra da zirai alanlarda yapılacak çalışmalarla kullanımına öncülük etmektedir.

Bu çalışma ile *trans*-pinocarveol'un herbisidal özelliğinin olup-olmadığının yanı sıra çimlenmenin hangi aşamada baskılandığını da ortaya koyarak, Ülkemizde ve Dünyada tarımsal üretimin en önemli problemlerinden birine (yabancı otlar) alternatif çevreci çözümler sunacaktır. Buna ek olarak bitkisel kaynaklı olup değişik faaliyet alanlarıyla insanlığın kullanımına sunulmayı bekleyen birçok kimyasalın kullanılma alanları için de ufuk kaynağı olacaktır. Ayrıca *trans*-pinocarveol'un herbisidal özelliğinin bilinmesinin yanı sıra, bitkilerdeki etki mekanizmalarının tam olarak ortaya konulacağı, genetik seviyedeki daha ileri çalışmalar ile ABA ve GA hormon analizlerinin incelenerek çimlenme mekanizmasının aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

Abraham D, Braguini WL, Kelmer-Bracht AM, Ishii-Iwamoto EL, “Effects of four monoterpenes on germination, primary growth, and mitochondrial respiration of maize”, *J Chem Ecol* 26:611-623.(2000).

Adams RP, “Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry”. 4th ed. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corp.(2007).

Affek HP, Yakir D, “Natural abundance carbon isotope composition of isoprene reflects incomplete coupling between isoprene synthesis and photosynthetic carbon flow”, *Plant Physiology* 131:1727-1736 (2003).

Ahuja N, Singh HP, Batish DR, Kohli RK, “Eugenol-inhibited root growth in *Avena fatua* involves ROS-mediated oxidative damage” *Pestic Biochem Phys* 118:64-70.(2015).

Angelini R, Manes F, Federico R. “Spatial and functional correlation between diamine-oxidase and peroxidase activities and their dependence upon deetilation and wounding in chick-pea”, *Planta*, 182: 89-96 (1990).

Areco VA, Figueroa S, Cosa MT, Dambolena JS, Zygadlo JA, Zunino MP, “Effect of pinene isomers on germination and growth of maize”, *Biochem Syst Ecol* 55 27–33(2014).

Bajwa R, Nazi I “Allelopathic effects of *Eucalyptus citriodora* on growth, nodulation and AM colonization of *Vigna radiata* (L.) Wilczek”, *Allelopathy J* 15:237–246.(2005).

Banthorpe DV, Njar VCO “Light-dependent monoterpene synthesis in *Pinus radiata* cultures”, *Phytochem*, 23:295-299 (1984).

Batish DR, Singh HP, Kohli RK, Kaur S, “Eucalyptus essential oil as natural pesticide”, *Forest Ecol Manag* 256:2166-2174. (2008).

Batish DR, Singh HP, Setia N, Kaur S, Kohli RK, “Chemical composition and phytotoxicity of volatile essential oil from intact and fallen leaves of *Eucalyptus citriodora*”, *Z Naturforsch*. 61c:465-471.(2006).

Batish DR, Singh HP, Setia N, Kohli RK, Kaur S, Yadav SS “Alternative control of littleseed canary grass using eucalypt oil”. *Agron Sustain Dev*.27:171–177.(2007).

Bertin N, Staudt M., “Effect of water stress on monoterpene emissions from young potted holm oak (*Quercus ilex* L.) trees”, *Oecologia*, 4:456–462 (1996).

Breitmaier, E., “Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones”, *Wiley-VCH*, 1-118, (2006).

Caldefie Carrapiso, A.I., Jurado, A., Timón, M.L., García, C., “Odor-active compounds of Iberian hams with different aroma characteristics”, *J Agric Food Chem.*, 50(22):6453-8. (2002).

Caldefie-Chézet, F., Fusillier, C., Jarde, T., Laroye, H., Damez, M., Vasson, M.P., Guillot, J., “Potential anti-inflammatory effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes”, *Phytother Res.*, 20(5):364-70 (2006).

Ceylan, A., “Tıbbi Bitkiler (Uçucu Yağ Bitkileri)” Cilt II, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını*, No:481, İzmir (1997).

Chowhan N, Singh HP, Batish DR, Kaur S, Ahuja N, Kohli RK “ β -Pinene inhibited germination and early growth involves membrane peroxidation”*Protoplasma* 250:691-700.(2013).

Chowhan N, Singh HP, Batish DR, Kohli RK “Phytotoxic effects of β -pinene on early growth and associated biochemical changes in rice”. *Acta Physiol Plant* 33:2369-2376. (2011).

Chowhan, N., Bali, A.S. Singh, H.P. Batish, D.R. Kohli, R.K. “Reactive oxygen species generation and antioxidant defense system in hydroponically grown wheat (*Triticum aestivum*) upon β -pinene exposure: an early time course assessment”, *Acta Physiol Plant.*, 36:3137-3146 (2014).

Dapkevicius A, Venskutonis R, Van Beek R and LinssenJPH “Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania”. *J Sci Food Agr* 77:140-146.(1998).

De Almeida LFR, Frei F, Mancini E, Martino LD, De Feo V “Phytotoxic activities of Mediterranean essential oils”*Molecules*15:4309–4323.(2010).

De Martino L, Mancini E, De Almeida LFR, De Feo V “The anti-germinative activity of twenty seven monoterpenes”. *Molecules* 15:6630–6637.(2010).

Delazar A, Naseri M, Nahar L, Moghadam SB, Esnaashari S, Nazemiyeh H, Sarker SD “GC-MS analysis and antioxidant activities of essential oils of two cultivated *Artemisia* species”. *Chem Nat Compd* 43: 112-114. (2007).

Delwiche CF, Sharkey TD. “Rapid appearance of ^{13}C in biogenic isoprene when $^{13}\text{CO}_2$ is fed to intact leaves”, *Plant, Cell and Environment* 16: 587-591 (1993).

Devi N. Choesin and Ralph E. J. Boerner Dirmenci T “Taxonomic investigations on *Nepeta* L. (Lamiaceae) species growing in Turkey”. *Ph.D. thesis, Univ Balikesir*, (2003).

DobT, BenabdelkaderT “Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria”. *J Essent Oil Res* 18: 685-690. (2006).

Duke SO, Scheffler BE, Dayan FE “Allelochemicals as herbicides. In: Bonjoch NP, Reigosa MJ (eds) *Physiological aspects of allelopathy*”. *First European OECD Allelopathy*, (2001).

Dure L.S. “ Site of origin and extend of activity of amylases in maize germination ” *Plant Physiology* 35(6) 925-934 (1960)

Elaissi A, Rouis Z, Mabrouk S, Salah KBH, Aouni M, Khouja M L, Farhat F, Chemli R, Harzallah-Skhiri F “Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils from fifteen *Eucalyptus* species growing in the Korbous and Jbel Abderrahman Arboreta (North East Tunisia)”. *Molecules* 17:3044-3057, (2012).

Esmaili A, Rustaiyan A, Masoudi S, Nadji K “Composition of the essential oils of *Mentha aquatica* L. and *Nepeta meyeri* Benth. from Iran”. *J Essent Oil Res* 18: 263-265. (2006).

Farhoudi, R. Lee, D.J. ve Hussain, M. “Mild drought improves growth and flower oil productivity of german chamomile (*Matricaria recutita* L.)”, *TEOP* 17(1):26-31 (2014).

Ghnaya AB, Hanana M, Amri I, Balti H, Gargouri S, Jamoussi B, Hamrouni L “Chemical composition of *Eucalyptus erythrocorys* essential oils and evaluation of their herbicidal and antifungal activities” *J Pest Sci* 86:571-577. (2013).

Hale MG, Orcutt DM “The Physiology of plants under stress. Blackburg”, *Virginia*, p. 206, (1987).

Hale, M.G., Orcutt, D.M. "The physiology of plants under stress", *John Wiley and Sons*, 206p. New York, (1987).

Harborne, J.B. ve Williams, C.A., "Advances in flavonoid research since 1992", *Phytochemistry*, 55:481-504 (2000).

He He, Song Q, Wang Y, Yu S "Phytotoxic effects of volatile organic compounds in soil watertaken from a *Eucalyptus urophylla* plantation". *Plant Soil* 377:203-215.(2014).

Hodges JD, Lorio PL "Moisture stress and composition of xylem oleoresin in loblolly-pine", *For Sci* 3: 283-290 (1975).

Hsiung YC, Chen YA, Chen SY, Chi WC, Lee RH, Chiang TY, Huang HJ "Volatile myrcene inhibits growth and activates defense responses in rice roots". *Acta Physiol Plant* 35:2475-2482.(2013).

Jones, R.A., Qualset, C.O., "Breeding crops for environmental stress tolerance, In: Collins", G.B., Petolino, J.G. (Eds.), Application of genetic engineering to crop improvement", *Dordrecht, Netherlands*, Nijhoff/Junk pp.305-340 (1984).

Juteau F, Masotti V, Bessiere, J M, Dherbomez M, Viano J "Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil" *Fitoterapia* 73:532-535.(2002)

Kainulainen P, Oksanen J, Palomaki V, Holopainen JK, Holopainen T "Effect of drought and waterlogging stress on needle monoterpenes of *Picea abies*". *Can J Bot Rev Can Bot.*, 8:1613-1616 (1992).

Kato-Noguchi H "Allelopathic substance in rice root exudates:rediscovery of momilactone B as an allelochemical". *J Plant Physiol* 161:271-276.(2004).

Kato-Noguchi H, Fushimi Y, Kimura F, Morita M, Suenaga K "Organ-specific-active allelopathic substance in red pine needles". *Plant Growth Regul* 68:171-175(2012).

Kato-Noguchi H, Hamada N, Morita M, Suenaga K A "Novel allelopathic substance, 13-epi-orthosiphon N, in *Orthosiphon stamineus*". *J Plant Physiol* 170:1-5.(2013).

Kato-Noguchi H, Ino T "Possible involvement of momilactone B in rice allelopathy". *J Plant Physiol* 162:718-721(2005).

Kato-Noguchi H, Ino T, Ichii M "Changes in release level of momilactone B into the environment from rice throughout its life cycle". *Func Plant Biol* 30:995-997.(2003).

Kato-Noguchi H, Ino T, Sata N, Yamamura S “Isolation and identification of a potent allelopathic substance in rice root exudates”. *Physiol Plant* 115:401-405.(2002)

Kaur S, Singh HP, Batish DR, Kohli RK “Chemical characterization and allelopathic potential of volatile oil of *Eucalyptus tereticornis* against *Amaranthus viridis*”. *J Plant Physiol* 6:297-302.(2011).

Kaur S, Singh HP, Mittal S, Batish DR, Kohli RK “Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide” *Ind Crops Prod* 32:54-61(2010).

Kecec G, Mutlu S, Alpsoy L, Sakcali MS, Atici O “Genotoxic effects of catmint (*Nepeta meyeri* Benth.) essential oils on some weed and crop plants”. *Toxicol And Health* 29:504-513.(2012).

Khorasaninejad, S., Mousavi, A., Soltanloo, H., Hemmati K., ve Khalighi, A. “The effect of drought stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of Peppermint (*Mentha piperita* L.)”, *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(22):5360-5365 (2011).

Kocaçalışkan, I., *Bitki Fizyolojisi*. 335-336 s., Dumlupınar Üniv. Kütahya.(2004).

Kordali S, Cakir A, Sutay S “Inhibitory effects of monoterpenes on seed germination and seedling growth”. *Z Naturforsch* 62c:207–214.(2007).

Kreuzwieser J, Schnitzler JP, “Steinbrecher R Biosynthesis of organic compounds emitted by plants”, *Plant Biol.*, 2:149-159 (1999).

Langenheim JH., “Higher-plant terpenoids-a phytocentric overview of their ecological roles”. *J Chem Ecol* 6:1223-1280 (1994).

Levitt, J., “Responses of plants to environmental stress, 1. chilling, freezing and high temperature stresses”, pp.361; 607, *Academic Press, Inc.*, 2nd Edition (1980).

Lichtenthaler, H. K. “The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants”, *Annu. Rev.Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50:47-65 (1999).

Llusia J, Penuelas J “Changes in terpene content and emission in potted Mediterranean woody plants under severe drought”, *Can J Bot.*, 8:1366-1373 (1998).

Loreto F, Ciccioli P, Cecinato A, Brancaloni E, Frattoni M, Tricoli D., "Influence of environmental factors and air composition on the emission of alpha-pinene from *Quercus ilex* leaves", *Plant Physiol.*,1:267-275 (1996).

Loreto F, Fischbach RJ, Schnitzler JP, Ciccioli P, Brancaloni E, Calfapietra C., "Monoterpene emission and monoterpene synthase activities in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex* L. grown at elevated CO₂ concentrations", *Glob Change Biol*, 6:709-717 (2001).

Macias, F.A., Oliva, R.M., Varela, R.M., Torres, A., Molinillo, J.M.G., "Allelochemicals from sunflower leaves cv. Peredovick". *Phytochemistry* 52, 613e 621,(1999)

Mammadov, R., "Tohumlu bitkilerde sekonder metabolitler", *Nobel akademik yayıncılık*. 1. baskı. Yayın no; 841. Ankara (2014).

Muentz "Isoenzymes of α -amylase during pod development of field beans"*Phytochemistry* 16(10) 1491-1494 (1977)

Mutlu S, Atici O "Allelopathic effect of *Nepeta meyeri* Benth. extracts on seed germination and seedling growth of some crop plants". *Acta Physiol Plant* 31:89-93.(2009).

Mutlu S, Atici O, Esim N "Bioherbicidal effects of essential oils of *Nepeta meyeri* Benth. on weed spp". *Allelopathy J* 26:291-300.(2010).

Mutlu S, Atici O, Esim N, Mete E"Essential oils of catmint (*Nepeta meyeri* Benth.) induce oxidative stress in early seedlings of various weed species". *Acta Physiol Plant* 33: 943-951.(2011).

Mutlu S, Atici O, Esim N, Mete E.. "Essential oils of catmint (*Nepeta meyeri* Benth.) induce oxidative stress in early seedlings of various weed species", *Acta Physiol Plant*.33:943-951 (2011).

Mutlu S. "Salisilik asidin arpada (*Hordeum vulgare* L.) soğuk toleransını sağlama ve apoplastik ile simplastik proteinler üzerine etkilerinin incelenmesi", *Doktora Tezi*, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum. (2009).

Narwal SS “Allelopathy update, basic and applied aspects, vol 2. Science Publishers, New Hampshire, pp 200-254 native bunchgrass”. *Oecologia* 126, 444–450.(1999).

Netsvetaev VP, Bondarenko LS, Motorina IP. “Polymorphism of alpha-amylase and conjugation in common wheat enzyme types with quantitative traits of plants”. *Cytology and Genetics*, 49:364-371.(2015).

Nik, Z.B., Mirza M., & Ghaffari M., “Effect of drought stress on growth and essential oil contents in *Parthenium argentatum* Gray”. *JEOP* ,11(4):423-429 (2008).

Novak, M., Kleinwachter, M., Manderscheid, R., Weigel, H.J. Selmar, D., “Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*) an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration”, *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 83:133-136 (2010).

Peñuelas J, Llusia J “BVOCs: plant defense against climate warming?”, *Trends Plant Sci.*,3: 105-109 (2003).

Peñuelas J, Llusia J “Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*”, *New Phytol.*,2:227-237 (2002).

Peñuelas J, Llusia J “Effects of carbon dioxide, water supply, and seasonality on terpene content and emission by *Rosmarinus officinalis*”, *J Chem Ecol.*,4:979-993 (1997).

Peñuelas J, Llusia J “Plant VOC emissions: making use of the unavoidable”, *Trends in Ecology and Evolution*, 8: 402-404 (2004).

Peñuelas J, Llusia J “The complexity of factors driving volatile organic compound emissions by plants”, *Biol Plant.*,4:481-487 (2001).

Peñuelas J, Llusia J, Estiarte M “Terpenoids-a plant language”, *Trends in ecology & evolution*,7:289-289 (1995).

Ramakrishna Akula ve Gokare Aswathanarayana Ravishankar “Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants, *Plant Signaling & Behavior*, 6:11, 1720-1731, DOI: 10.4161/psb.6.11.17613(2011).

Ridenour W M ve Callaway R M “The relative importance of” (2001).

Ross JD, Sombrero C “Environmental control of essential oil production in Mediterranean plants. In: Harborne JB Tomas- Barberan FA (eds) Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids”, *Clarendon Press*, Oxford, pp:83-94 (1991).

Şahin Başak, S., “Okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), defne (*Laurus nobilis* L.) ve mersin (*Myrtus communis* L.)’den elde edilen uçucu yağların, α -amilaz ile α -glukozidaza etkisi ve antioksidan özellikleri”, Doktora Tezi, *Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sivas (2008).

Salisbury, F.B., and Ross, C.W., “Plant Physiol. Wadsworth Publishing Company”, California, pp.682, USA.(1992).

Sangwan NS, Farooqi AHA, Shabih F, Sangwan RS “Regulation of essential oil production in plants”. *Plant Growth Regul* 34: 03-21 (2001).

Sasikumar K, Vijayalakshmi C, Parthiban KT “Allelopathic effects of *Eucalyptus* on blackgram (*Phaseolus mungo* L.)”. *Allelopathy J* 9:205-214.(2002).

Schnitzler JP, Graus M, Kreuzwieser J, Heizmann U, Rennenberg H, Wisthaler A., “Contribution of different carbon sources to isoprene biosynthesis in poplar leaves”, *Plant Physiology*, 135: 152-160 (2004).

Schonwitz R, Merk L, Kloos M, Ziegler H “Influence of needle loss, yellowing and mineral-content on monoterpenes in the needles of *Picea abies* (L) Karst”. *Trees Struct Funct.*, 4:208-214 (1991).

Scrivanti LR, Zunino M, Zygadlo. “Tagetes minuta and Schinus areira essential oils as allelopathic agents. Biochemical”, *Systematics and Ecology* 31: 563–572. (2003).

Sefidkon F, Shaabani A “Essential oil composition of *Nepeta meyeri* Benth.from Iran”, *Flavour Frag J*19:236-238.(2004).

Sharkey TD, Chen XY, Yeh S “Isoprene increases thermotolerance of fosmidomycin fed leaves”, *Plant Physiol.*,4:2001-2006 (2001).

Singh HP, Batish DR, Kaur S, Arora K, Kohli RK “ α -Pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots”. *Ann Bot* 98:1261-1269. (2006).

Singh HP, Batish DR, Kaur S, Kohli RK, Arora K. “Phytotoxicity of the volatile monoterpene citronellal against some weeds”. *Zeitschrift für Naturforschung, C* 61: 334–340.(2006).

Singh HP, Batish DR, Kaur S, Vaid S, Kohli RK “Weed suppressing ability of some monoterpenes”. *J Plant Dis Plant Protect* 19:821-828.(2004).

Singh HP, Batish DR, Kohli RK “Allelopathic interactions and allelochemicals: new possibilities for sustainable weed management”. *Crit Rev Plant Sci* 22:239-311.(2003).

Singh HP, Batish DR, Setia N, Kohli RK “Herbicidal activity of volatile essential oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus*”. *Ann Appl Biol* 146:89-94(2005).

Singh HP, Kaur S, Mittal S, Batish DR, Kohli RK “Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibits plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage”. *J Chem Ecol* 35:154–162(2009).

Singh-Sangwan, N., Abad Farooqi, A. H. and Singh Sangwan, R., “Effect of drought stress on growth and essential oil metabolism in lemongrasses”, *New Phytol.*, 128:173-179 (1994).

Sotomayor, J.A., Martínez, R.M., García, A.J., Jordán, M.J., “*Thymus zygis* subsp. *Gracilis* watering level effect on phytomass production and essential oil quality”, *J Agric Food Chem.*, 52(17):5418-5424 (2004).

Taiz, L. ve Zeiger, E., (Çeviri editörü: İsmail Türkan), “Bitki fizyolojisi”, *Palme yayıncılık*. Ankara (2008).

Tanker, M., Tanker, N., “Farmakognozi Cilt II”, *Reman Matbaası*, İstanbul (1976).

Tingey DT, Manning M, Grothaus LC, Burns WF., “Influence of light and temperature on Monoterpene emission rates from Slash Pine”, *Plant Physiol.*, 5:797-801 (1980).

Tingey DT, Turner DP, Weber JA “Factors controlling the emission of monoterpenes and other volatile compounds. In: Sharkey TD, Holland EA, Mooney HA (eds) Trace gas emission by plants”, *Academic Press*, San Diego, pp 93-120 (1991).

TurkeyTurtola S, Manninen AM, Rikala R, Kainulainen P., “Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings”, *J Chem Ecol.*, 9:1981-1995 (2003).

Verdeguer M, Blazquez MA, Boira H “Phytotoxic effects of *Lantana camara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriocephalus africanus* essential oils in weeds of Mediterranean summercrops”. *Biochem Syst Ecol* 37:362-369.(2009).

Vyvyan, J.R.,“Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals”. *Tetrahedron* 58, 1631-1646.(2002).

Weston LA, Duke SO “Weed and crop allelopathy”. *Crit Rev Plant Sci* 22:367-389, (2003).

Yıldız, M. ve Terzi, H. “Bitkilerin yüksek sıcaklık stresine toleransının hücre canlılığı ve fotosentetik pigmentasyon testleri ile belirlenmesi”, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(1-2):47-60 (2007).

Zhang J, An M, Wu H, Liu LD, Stanton R“Chemical composition of essential oils of four *Eucalyptus* species and their phytotoxicity on silverleaf nightshade(*Solanum elaeagnifolium* Cav.) in Australia”. *Plant Growth Regul* 68:231-237.(2012).

Zhang J, An M, Wu H, Stanton R, Lemerle D“Chemistry and bioactivity of *Eucalyptus* essential oils”.*Allelopathy J*25: 313-330.(2010).

Zunino, M.P., Zygadlo, J.A.,“Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize”*Planta* 219, 303–309.(2004).

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Erzincan'da doğdu. İlkokul, orta ve lise öğrenimini Erzincan da tamamladı. 2008 yılında girdiği Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2012 yılında mezun oldu. Ayrıca 2012-2013 yılları arasında adnan Menderes Üniversitesi Eğitim Fakültesinde Pedagojik Formasyon programına katıldı. 2014 yılında Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek lisans öğrenimine başladı ve öğrenimine devam etmektedir.

