
***Verbascum cheiranthifolium* Boiss. var. *asperulum* (Boiss.) Murb., *Achillea filipendulina* Lam. ve *Salvia limbata* C.A.Mey. Ekstraktlarının *Zea mays* L. ve *Portulaca oleraceae* L. Tohumlarında α -Amilaz Aktivitesi Üzerine Allelopatik Etkisi**

Ömer Bingöl^{1*}, Peyami Battal²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Bölümü, Van, Türkiye

²Gazi Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek yüksekokulu, Ankara, Türkiye

*e-mail: omerbingol@yyu.edu.tr

Geliş tarihi/Received:04/03/2020

Kabul tarihi/Accepted:25/03/2020

Özet

Bu çalışmada *Verbascum cheiranthifolium* var. *asperulum*, *Achillea filipendulina* ve *Salvia limbata* bitkilerine ait ekstraktların, *Portulaca oleraceae* (semiz otu) ve *Zea mays* (mısır) tohumlarındaki allelopatik etkileri araştırıldı. Bu amaçla tohumlarda çimlenme sırasında meydana gelen α -amilaz aktiviteleri incelendi. Bitkilerin allelopatik potansiyellerinin belirlenmesi için su ve metanol ekstraktları kullanıldı. Su ve metanol ekstraktlarının mısır ve semizotu tohumlarına uygulamasında, artan ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak amilaz aktivitesinin azaldığı gözlemlendi. Semizotu tohumlarının mısır tohumlarına oranla daha fazla etkilendiği belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçların geliştirilmesi durumunda, bu ekstraktların doğal herbisit olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Allelopati, α -amilaz, Doğal herbisit

Allelopathic Effect of *Verbascum cheiranthifolium* Boiss. var. *asperulum* (Boiss.) Murb., *Achillea filipendulina* Lam. and *Salvia limbata* C.A.Mey. Extracts on α -Amylase Activity in *Zea mays* L. and *Portulaca oleraceae* L. Seeds

Abstract

In this study, the allelopathic effects of *Verbascum cheiranthifolium* var. *asperulum*, *Achillea filipendulina* and *Salvia limbata* extracts were investigated on *Portulaca oleraceae* (purslane) and *Zea mays* (maize) seeds. For this purpose, α -amylase activities were examined during germination process. Water and methanol extracts were used to determine the allelopathic potential of plants. In application of water and methanol extracts to seeds, amylase activity decreased due to increased extract concentration. It was determined that purslane seeds are more affected than corn seeds. It is concluded that these extracts, if the results obtained from the study are developed, can be used as a natural herbicide.

Keywords: Allelopathy, α -amilaz, Natural herbicide

Giriş

Yaşayan her organizma çevresinde bulunan canlılar ile etkileşim halindedir, biyoloji alanında yapılan çalışmalar, farklı habitatlarda yaşayan türlerin birbirleri ve çevresindeki türler ile olan etkileşim mekanizmasının anlaşılmasına imkân

sağlamaktadır. Bitki türleri, yaşamlarını devam ettirebilmek için değişen çevre koşullarına karşı farklı adaptasyonlar geliştirmekte ve etrafında bulunan türlere üstünlük sağlamaktadırlar. Ortamda ekonomik açıdan değeri olmayan veya istenmeyen bir türün hızlı yayılışı, istenen türlerin gelişmesini engelleyebilmektedir ki bu durum popülasyonu hızla artan insanoglu için istenmeyen bir durumdur. İlk etapta, istilacı olarak görülen bu türler ile sentetik herbisitler yoluyla mücadele edilmiş, ancak herbisite dirençli yabancı otların sayısındaki artış ve ekolojik zararları, alternatif yabancı ot stratejilerinin tasarlanmasına neden olmuştur. Son yıllarda allelopatik çalışmalar, yabancı bitkilerin istilası ve yayılmasını etkileyen önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir (Kruse ve ark.,2000).

Alternatif ve biyolojik mücadele olarak bilinen allelopati olayı aslında çok eski bir çalışma alanıdır. İlk kez M.Ö. eski Yunan devrinde Theoprastus allelopati için “fitotoksite” terimini kullanmıştır ancak bilimsel olarak yapılan ilk tanımlama 1937 yılında Hans Molisch tarafından “Aynı habitatı paylaşan bitkilerin, biri tarafından salınan maddelerin diğer bitki ve mikroorganizmaların gelişimini engelleyen doğa olayı” olarak tanımlamıştır. Allelopati terimi için yapılan son tanımlama ise sadece bitkileri değil aynı zamanda diğer canlı gruplarını da kapsamaktadır. Bu bağlamda uluslararası allelopati topluluğu (International Allelopathy Society) 1996 yılında allelopatiyi “Bitkiler, mikroorganizmalar, virüsler ve mantarlar tarafından üretilen sekonder metabolitlerin, biyolojik sistem ve tarım alanlarındaki pozitif veya negatif etkileri” olarak tanımlamıştır (Torres ve ark., 1996).

Allelopati olayında kilit nokta, bitkiler tarafından çevreye salınan ve bilimsel olarak “allelokimyasallar” olarak tanımlanan sekonder maddelerdir ancak asıl araştırılması gereken, bitkilerin bu maddeleri neden ve hangi şartlar altında salgıladıklarıdır. Allelokimyasallar olarak tanımlanan bitki salgıları, diğer canlı varlıkların büyüme, davranış ve popülasyon biyolojisini etkileyen kimyasal maddelerdir. Son yıllarda, özellikle biyoteknoloji, kimya ve biyoloji alanındaki bilimsel gelişmeler ile allelokimyasalların çalışma ve tanımlama alanı önemli ölçüde genişlemiştir. Allelokimyasallar ile yapılan çalışmalar, bitkisel üretimin artırılması, bitki koruma ve biyolojik kontrol gibi farklı uygulama alanlarının yanı sıra özellikle istilacı zararlı yabancı otların önlenmesi konusunda alternatif bir strateji olarak büyük bir öneme sahiptir.

Allelokimyasallar; bitkinin kök, gövde, yaprak, polen, tohum ve çiçek gibi farklı kısımlarından sentezlenir ve kök sızıntısı, toprak üstü kısımlardan süzülme, buharlaşma ve çürüme gibi farklı yollar ile çevrelerine salgılanırlar (Rice, 1984). Bitkilerdeki allelokimyasal konsantrasyonları ve toksisite değerleri, farklı doku ve organlar arasında bile değişkenlik gösterebilir (Ferguson ve Rathinasabapathi, 2012). Allelokimyasalların hücre bölünmesi, iyon ve su alınımları, fitohormon metabolizması, solunum, fotosentez, enzim fonksiyonlarını ve hatta gen ekspresyonunu etkilediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Singh ve Thapar, 2003; Inderjit ve Duke, 2003).

Allelopatik araştırmalar ile yapılan çalışma metotlarının genel tartışma konusu, ekolojik mekanizmalar üzerindeki etkisinin gösterilmesidir. Buradaki en önemli etki tarımsal araştırmalardaki yabancı ot kontrol mekanizmasıdır. Bu amaçla yüksek oranda allelopatik içeriği olan türlerin kullanılması, hedef bitkilerin uygulama bitkilerine olan hassasiyetleri, farklı ortam şartlarındaki allelopatik etkinin değerlendirilmesi ve alternatif bir yabancı ot metaboliti olarak kullanılması konuları öncelikli olarak göz önünde bulundurulmaktadır. Allelopati olayına tarımsal açıdan bakıldığında, asıl amacın herbisitlere alternatif olabilecek çevre dostu ürünlerin ortaya çıkarılmasıdır.

Çalışmaların temel prensibi, hedef yabancı otlara etkili olabilecek ancak kültür bitkilerine olumsuz etki göstermeyen ve arazi çalışmalarında da uygulanabilirliği olan bitkiler bulabilmektir.

Zirai ekim alanlarında, su ve mineral maddeler için rekabet halinde bulunan yabancı otlar ürünün gelişmesine, verimine ve kalitesine olumsuz yönde etki etmektedir. Yabancı ot mücadelesi için çevreye zararları bilinen sentetik herbisitlere alternatif bir yol olarak düşünülen allelopatinin çimlenme fizyolojisine olan etkileri araştırılmalıdır. Allelopatik potansiyele sahip olan bitkiler hedef tohumlara uygulandığında suyun tohuma girişi, enzim aktivitesi (proteaz, lipaz, α -amilaz) ve enerji üretimi gibi temel olayları etkileyerek tohumların çimlenmesini ya engeller veya geciktirir. Genellikle engelleyici etkiler görülmekle birlikte bazı durumlarda teşvik edici etkilerde görülmektedir (Han ve ark., 2008). Kök ucundaki büyümeyi özellikle de hücre bölünmesini engelleyerek çimlenmenin gecikmesine neden olmaktadır (Black, 1989). Bitkilerdeki allelokimyasalların yabancı ot ve kültür bitkileri üzerine olan etkilerini birlikte değerlendirebilmek için tohum çimlenme olayının ayrıntıları ile incelenmesi gerekmektedir.

Allelokimyasallar tohum çimlenmesini etkileyen faktörlerden biridir. Allelokimyasalların çimlenme üzerine etkilerini belirlemek için, çimlenme önemli rol oynayan α -amilaz enzim aktivitesinde meydana gelen değişimlerinde belirlenmesi gerekmektedir. Bitkilerin tohumları karbonhidrat ve protein gibi maddeleri kotiledon ya da endospermelerinde depo ederler (Bewley ve Black, 1994). Tohumlar çimlenmeye başladıkları zaman ihtiyaç duydukları enerjiyi bu depo maddelerin yıkımından elde ederler (Subbarao ve ark., 1998). Çimlenme olayının devam etmesi için embriyonun enerji ihtiyacı için kullandığı karbonhidrat ve şekerlerin sürekli olarak parçalanması gerekmektedir. Tohumlarda karbonhidratların depo formu nişastadır ve embriyo bu formda karbonhidratları kullanamamaktadır (Ricard ve ark., 1998; Guglielminetti ve ark., 2000). Bu nedenle çimlenmenin başlamasıyla beraber depo maddelerini embriyonun kullanabileceği forma dönüştüren hidrolitik enzimlerin sentezi uyarılır (Uriyo, 2001). Çimlenmede rol oynayan hidrolitik enzimlerin en önemlilerinden biri α -amilazdır. α -amilaz çimlenme süresince nişastanın şekerlere parçalanmasında rol oynar (Perata ve ark., 1997; Vartapetian ve Jackson, 1997).

Bu nedenle α -amilaz miktarındaki değişim tohumun çimlenme hızını etkileyeceğinden, çalışmada çimlenen tohumların α -amilaz enzim aktivitesi araştırılmıştır. Bu amaçla, allelopatik özelliğe sahip olduğu düşünülen 3 farklı familyaya ait 3 bitki taksonunun (*Verbascum cheiranthifolium* Boiss. var. *asperulum* (Boiss.) Murb., *Achillea filipendulina* Lam. ve *Salvia limbata* C.A.Mey.) α -amilaz aktivitesi üzerine allelopatik etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın amacı; bu 3 taksonun farklı ekstraktlarının mısır ve semizotu tohumlarının çimlenmesinde etkili olan α -amilaz aktivitesi üzerine etkilerini belirleyerek, alternatif bir mücadele modeli ortaya koymaktır.

Materyal ve Yöntem

Bitkilerin allelopatik potansiyellerinin belirlenmesi amacı ile bitkilerin metanol ve su ekstraktlarının dört farklı konsantrasyonu % 3, 5, 7 ve 9 kullanılmıştır. Kullanılan bu ekstraktların yabancı ot *Portulaca oleraceae* (semizotu) ve kültür bitkisi *Zea mays* (mısır) tohumlarının çimlenmeleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Verbascum cheiranthifolium var. *asperulum* bitkisi Van'ın Başkale ilçesinden, 1833 m'de, *Achillea filipendulina* Hakkari'nin Yüksekova ilçesinden, 1750 m ve *Salvia limbata* ise yine Van'ın Başkale ilçesinden 1850 m yükseklikte toplanmıştır. Bitkilerin teşhisi Van YYÜ Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yapılmıştır.

Çalışmada hedef bitki materyali olarak; OSSK 602-Hibrit mısır (*Zea mays*) çeşidi ve mısır bitkisinde verim azalmasına neden olduğu bilinen semizotu (*Portulaca oleracea*) yabancı bitki tohumları ile çalışılmıştır. Mısır tohumları Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nden, semizotu tohumları ise ticari olarak temin edilmiştir.

Araziden toplanan bitkilerin laboratuvar ortamına alınması

Arazi çalışmalarında farklı lokalitelerden bez torbalar içerisinde getirilen bitkiler, toz ve kontaminasyonları uzaklaştırmak için önce musluk suyu ile daha sonra saf su ile yıkandı. Araziden getirilen bitkilere karışmış olan, farklı bitki türleri tek tek ayıklandı. Laboratuvar ortamında kurutma kâğıtları üzerine serilen bitkiler havada kurumaya bırakıldı. Bitkilerin alt kısımlarındaki kurutma kâğıtları gün aşırı değiştirilerek, nem ve küflenmeyi önlemek amacıyla da bitkiler her gün alt üst edildi. Laboratuvar ortamında 10 gün boyunca kurutulan bitkilerin toprak üstü (gövde+yaprak) kısımları ve kökler ayrılarak, toprak üstü kısımları laboratuvar blenderinde toz haline getirildi. (Türker ve ark., 2008).

Çimlenme denemesinin kurulması

Bitki ekstraktlarının tohum çimlenmesi üzerine etkileri araştırılmadan önce hem kültür bitkisi hem de yabancı ot tohumlarına etki edecek konsantrasyonlar bulunmaya çalışıldı. Çimlenme denemesi uygulanması için bitkilerin metanol ve su (saf su) ekstraktları hazırlandı. Çalışmaya geçilmeden önce her bitki için en uygun konsantrasyonun belirlenmesi amacı ile ön denemeler yapıldı. Ön deneme çalışmalarında, % 0.5-12 arasındaki her konsantrasyon değerleri iki hedef tohuma uygulandı. Ön denemeler sonucunda, % 3-5-7 ve 9'lük konsantrasyonların kullanılmasına karar verildi. Bu amaçla bitkilerin saf su ve metanol ekstraktları 24 saat boyunca 200 rpm'de çalkalayıcıda bekletildi.

Çalkalama süresi sonunda, ekstraktlar 4 kat tülbent bezinden geçirildikten sonra 4000 rpm'de santrifüj edildi. Tüm bitkiler için % 9'lük stok solüsyon hazırlanmış ve ekstraktlar kendi çözenleri ile stok solüsyondan seyreltildi (Ashrafi ve ark., 2008). Saf su ile hazırlanan su ekstraktları direkt olarak kullanıldı, metanol ekstraktları ise evaporatörde uçurulduktan sonra su fazına alarak kullanıldı. Bu şekilde ekstraktlar hazırlandıktan sonra çimlenme uygulamasına geçildi (Jefferson ve Pennacchio, 2003).

Çimlenme denemesi için 9 cm çaplı petri kapları kullanıldı. Çalışmada kullanılan petri kapları ve kurutma kâğıtları otoklavda 121 °C'de 30 dakika bekletilerek steril edildi. Tohumların sterilizasyonu için ise semizotu % 1'lik, mısır tohumları ise % 2'lik hipoklorit (NaClO) solüsyonu içerisinde 5 dakika bekletildi. Tohumlar petri kaplarına yerleştirilmeden önce boyutlarına bağlı olarak her petri kabına mısır için 8, semizotu için ise 200 tohum yerleştirildi. Petri kaplarının alt kısımlarına steril çift kat kurutma kâğıdı yerleştirilerek tohumlar içerisine bırakıldı. Tohumların üzerlerine hazırlanan ekstraktlardan belirlenen konsantrasyonlarda (% 3-5-7 ve 9) saf su ve metanol ekstraktları ilave edildi. Kontrol grupları için aynı miktarda saf su kullanıldı. Ekstraktlar

otomatik pipetler yardımı ile petri kaplarına ilave edildi ve petri kaplarının etrafları kontaminasyon ve nem kaybını önlemek için parafilm ile kaplandı (Oyun, 2006).

Su ve metanol ekstraktlarının çimlenme uygulaması iklim dolabında 27 ± 2 °C’de on saat aydınlık (5000 lux) ve 14 saat karanlık fotoperiyot ile 7 gün boyunca bekletildi. İklim dolabının sıcaklık ve fotoperiyot şartları tüm hedef tohumların optimum çimlenme istekleri araştırıldıktan sonra ortalama değerler olarak hesaplandı. Her uygulama 3 tekerrürlü olacak şekilde denemeler kuruldu.

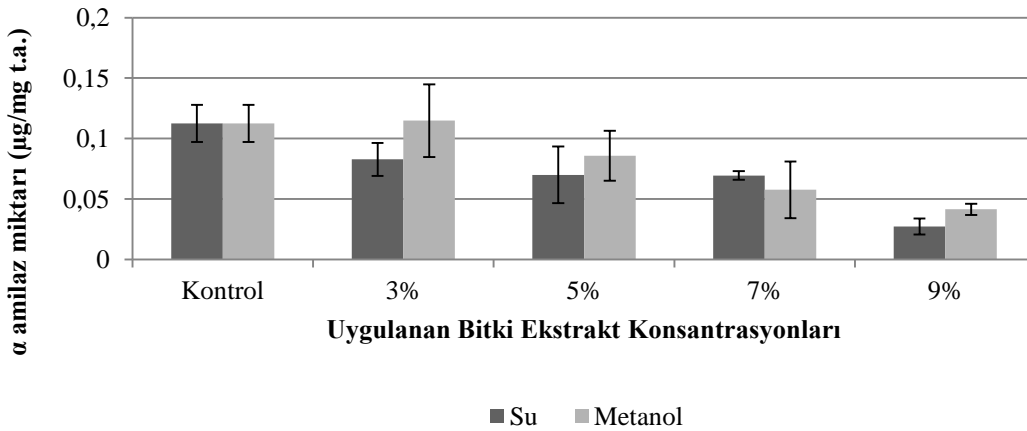
Amilaz Aktivitesinin Belirlenmesi

α -amilaz aktivitesi Jones ve Varner’a (1967) göre yapıldı. Uygulama yapılan tohumlardan belirli miktarda alınarak, 0.1 M sodyum asetat tamponu (pH: 4.8) ile ezildi, ezilen tohumlar iki kat filtre kağıdı ile süzülükten sonra 2000 g’de 10 dakika santrifüj edildi ve elde edilen supernatantlar enzim ekstraktı olarak kullanıldı. Tüm uygulama işlemleri 0-4 °C’de gerçekleştirildi. Reaksiyon ortamı için 1 ml sodyum asetat tamponu, 0.1-0.5 ml enzim ekstratı ve 1 ml nişasta çözeltisi kullanıldı. Bu karışım hazırlanarak 10 dakika bekletilmiş ve oluşan reaksiyon ortamına 3 ml 0.05 N HCL eklenmesi ile reaksiyon durduruldu. Bu işlem sonunda elde edilen absorbans değerleri 620 nm dalga boyunda okundu. Elde edilen absorbans değerleri amilaz aktivitesinin belirlenmesi için kullanıldı. (Gupta ve Wagle, 1980).

Bulgular ve Tartışma

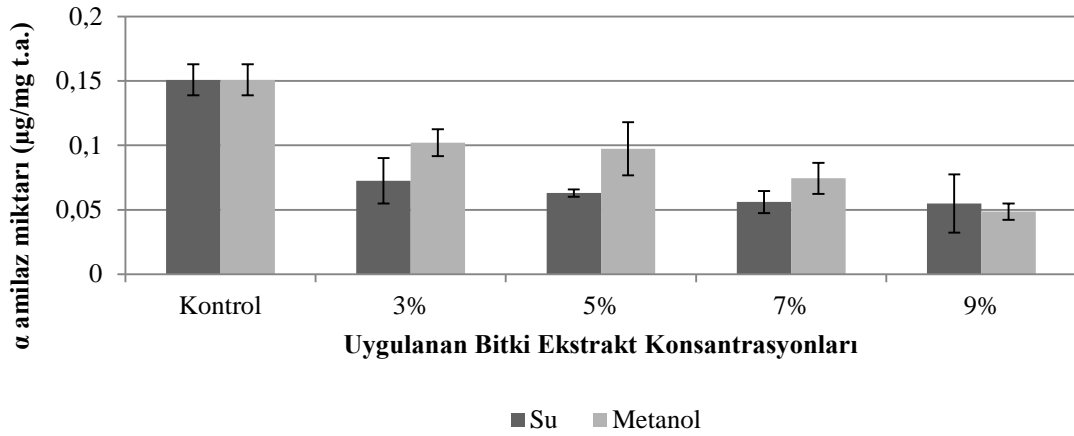
Verbascum cheiranthifolium var. *asperulum* su ve metanol ekstraktlarının amilaz miktarı üzerine etkisi

Verbascum cheiranthifolium var. *asperulum* su ekstraktı uygulanan mısır tohumlarında amilaz miktarları değerlendirildiğinde kontrole oranla belirgin bir düşüşün olduğu, %3, %5 ve %7 ekstrakt uygulamalarında önemli bir farkın olmadığı ve %9’luk ekstrakt uygulamasında en düşük amilaz değerinin olduğu tespit edildi. *Verbascum cheiranthifolium* metanol ekstraktı uygulanan mısır tohumlarında ise %5 ekstrakt uygulamasından itibaren belirgin bir düşüş olduğu belirlendi. %9 ekstrakt uygulamasında ise en düşük amilaz seviyesi tespit edildi (Şekil 1).



Şekil 1. *Verbascum cheiranthifolium* var. *asperulum* su ve metanol ekstraktlarının mısır tohumlarındaki amilaz miktarı üzerine etkisi.

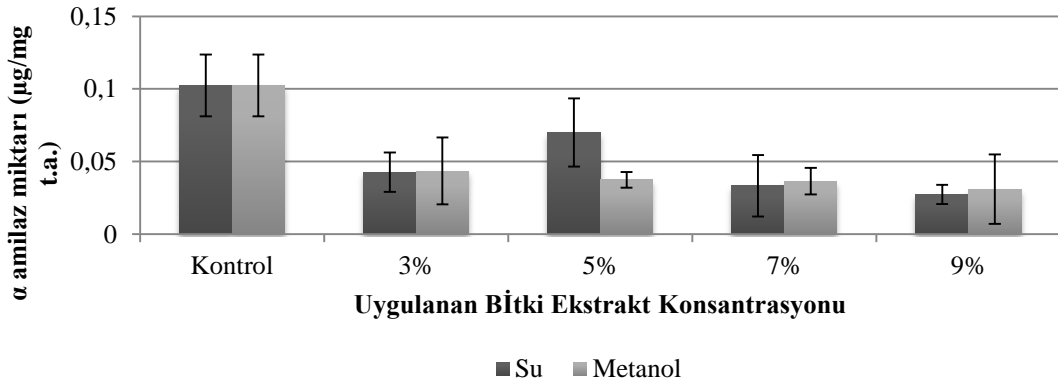
Verbascum cheiranthifolium var. *asperulum* su ekstraktı uygulanan semizotu tohumlarında amilaz değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ilk konsantrasyon olan %3'lük ekstrakt uygulamasından itibaren amilaz değerinin belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi ve %9'lük ekstrakt uygulamasında en düşük seviye (0,054 $\mu\text{g}/\text{mg}$) tespit edildi ($P<0.01$). *Verbascum cheiranthifolium* var. *asperulum* metanol ekstraktı uygulanan semizotu tohumları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ilk konsantrasyon olan %3'lük ekstrakt uygulamasından itibaren belirgin şekilde azalma gözlemlendi ve %9'lük ekstrakt uygulamasında en düşük seviyede olduğu (0,048 $\mu\text{g}/\text{mg}$), tespit edildi (Şekil 2).



Şekil 2. *Verbascum cheiranthifolium* var. *asperulum* su ve metanol ekstraktlarının semizotu tohumlarındaki amilaz miktarı üzerine etkisi.

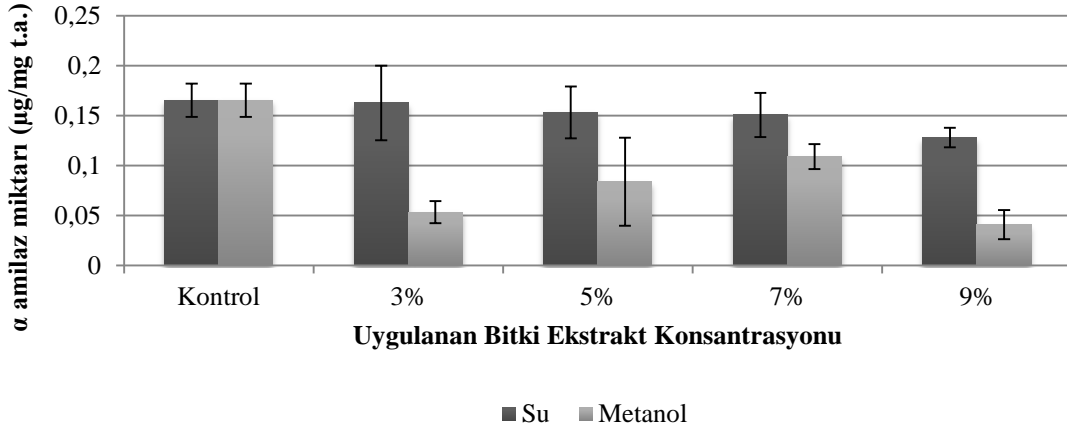
Achillea filipendulina su ve metanol ekstraktlarının amilaz miktarı üzerine etkisi

Achillea filipendulina su ekstraktı uygulanan mısır tohumları kontrol gurubuyla karşılaştırıldığında tüm ekstrakt konsantrasyonlarında bir azalmanın olduğu belirlenmiştir. %5 ekstrakt konsantrasyonunda amilaz miktarının %3'ten fazla olduğu ve en düşük aktivitenin %9 ekstrakt konsantrasyonunda (0,027 $\mu\text{g}/\text{mg}$) olduğu tespit edildi. *Achillea filipendulina* metanol ekstraktı uygulanan mısır tohumlarında artan ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak amilaz miktarının belirgin bir şekilde azaldığı ve en düşük değer (0,03 $\mu\text{g}/\text{mg}$) %9 ekstrakt konsantrasyonunda olduğu saptandı (Şekil 3).



Şekil 3. *Achillea filipendulina* su ve metanol ekstraktının mısır tohumlarındaki amilaz miktarı üzerine etkisi.

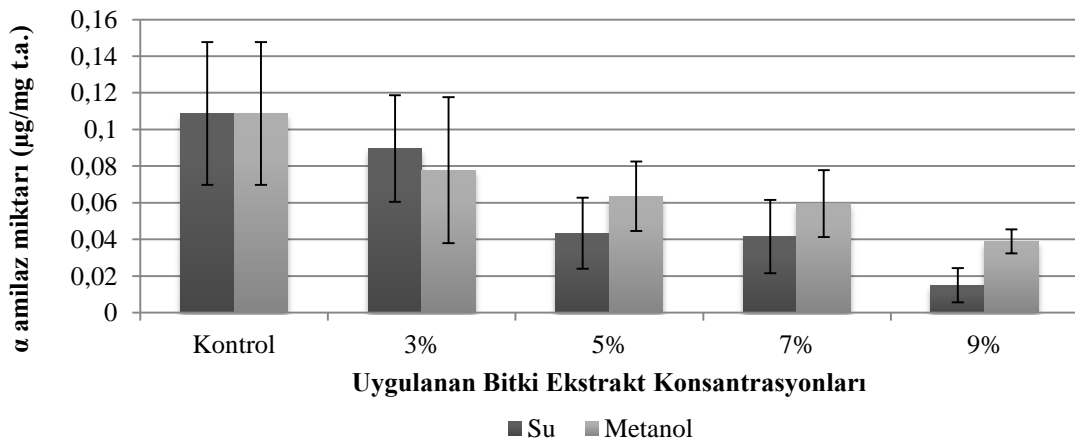
Achillea filipendulina su ekstraktı uygulanan semizotu tohumlarında kontrolle uygulamalar arasında belirgin bir fark olmadığı ancak azda olsa artan konsantrasyona bağlı olarak amilaz miktarının azaldığı ve en düşük miktarın %9 uygulamasında olduğu tespit edildi. *Achillea filipendulina* metanol ekstraktı uygulanan semizotu tohumlarının tüm ekstrakt uygulamalarında amilaz miktarının azaldığı gözlemlendi ancak %3 ekstrakt uygulamasında belirgin bir düşüş olduktan sonra %5 ve %7 ekstrakt uygulamalarında %3'e göre amilaz miktarının arttığı ve en düşük miktarın %9 ekstrakt uygulamasında olduğu tespit edildi (Şekil 4.).



Şekil 4. *Achillea filipendulina* su ve metanol ekstraktının semizotu tohumlarındaki amilaz miktarı üzerine etkisi.

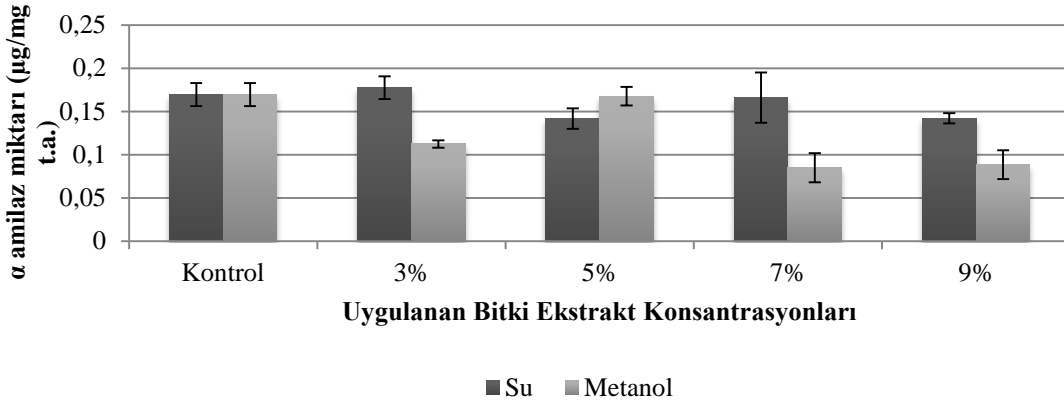
Salvia limbata su ve metanol ekstraktlarının amilaz miktarı üzerine etkisi

Salvia limbata su ekstraktı uygulanan mısır tohumlarında kontrolden itibaren uygulanan ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak amilaz miktarının azaldığı, özellikle %9 ekstrakt konsantrasyonunda amilaz miktarının belirgin bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. *Salvia limbata* metanol ekstraktı uygulanan mısır tohumlarında artan ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak amilaz miktarının azaldığı ve en düşük değerinin %9 ekstrakt uygulamasında olduğu tespit edildi (Şekil 5).



Şekil 5. *Salvia limbata* su ve metanol ekstraktının mısır tohumlarındaki amilaz miktarı üzerine etkisi.

Salvia limbata su ekstraktı uygulanan semizotu tohumlarında kontrol ve uygulama grupları arasında önemli bir fark gözlenmezken en düşük değer %5 ve %9 ekstrakt konsantrasyonlarında gözlemlendi. *Salvia limbata* metanol ekstraktı uygulanan semizotu tohumlarında kontrol ve %5 ekstrakt uygulamalarında belirgin bir fark olmamasına rağmen diğer uygulamalarda amilaz değerinin azaldığı, %7 ve %9 ekstrakt uygulamalarında en düşük amilaz miktarları tespit edildi (Şekil 6).



Şekil 6. *Salvia limbata* su ve metanol ekstraktının semizotu tohumlarındaki amilaz miktarı üzerine etkisi.

Bitkilerden salınan allelokimyasalların genel bir etki şekli bulunmamaktadır. Allelokimyasallara maruz kalan hedef bitkiler ile su stresi benzer tepkiler göstermektedir. Bu durum allelokimyasal uygulamasının stres benzeri durumları ortaya çıkardığı sonucunu ortaya koymaktadır. Ancak stres durumu ile allelopati karşılaştırıldığında, allelokimyasalların farklı enzim sistemlerine farklı derecelerde etki ettiği görülmüştür (Romero ve ark., 2005). Bu kapsamda allelokimyasalların farklı enzim sistemlerini farklı biyokimyasal aşamalarda etkilemesi toksisite derecesinin bir ölçüsü olarak görülmektedir. Bazı bitkiler α -amilaz işlevini durduran inhibitörler sentezlerler. Bu durumu özellikle herbivor saldırısı olduğu zamanlarda gerçekleştirirler (Taiz ve Zeiger, 2008).

α -amilaz enziminin, çimlenme sırasında nişastayı parçalayarak enerji kaynağı olarak kullanılacak şekerlere dönüştürdüğü bilinmektedir. Bitkilerde α -amilaz enzim sentezini uyaran ve olayları transkripsiyonel seviyede düzenleyen maddenin GA₃ hormonu olduğu belirtilmiştir (Ritchie ve Gilroy, 1998). Çimlenme mekanizmasının devam etmesi için α -amilaz enziminin varlığı oldukça önem arz etmektedir. Bitki çimlenme sırasında enerjiye ihtiyaç duymakta ve bu enerji endospermdeki nişastanın parçalanmasından elde edilmektedir. Endospermdeki stok nişastanın, hidrolitik aktivitelerle parçalanma işini yüklenen enzimin birçok bitkide α -amilaz enzimi olduğu bilinmektedir (Beck ve Ziegler, 1989).

Allelopatik çalışmalarda inhibisyonun derecesi büyük oranda konsantrasyona ve kullanılan solvent türüne bağlı olarak değişir (Jefferson ve Pennacchio, 2003). Genel olarak inhibisyonun derecesi konsantrasyon artışına paralel olarak artmaktadır (Daizy ve ark., 2002; Han ve ark., 2008; Jinhu ve ark., 2012; Wang ve ark., 2017). Çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edildi. Konsantrasyon artışına bağlı olarak çimlenmede etkili olan α -amilaz seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir. Çimlenme meydana gelmeyen durumlarda ekstraktların GA₃ sentezini engellediği düşünülmektedir.

Rhus typhina'nın su solventi ile kırmızı ve yeşil yapraklarından hazırlanan ekstraktların, artan ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak tohum çimlenmesi ve büyümesini önemli ölçüde inhibe etmektedir (Wang ve ark., 2017). Çalışmamızda da benzer olarak; *Verbascum* su ve metanol ekstraktlarının mısır ve semizotu tohumlarına uygulamasında artan konsantrasyon artışına bağlı olarak tohum çimlenme ve büyümesinde etkili olan α -amilaz seviyesinin azaldığı ve su ekstraktının metanol ekstraktından daha etkili olduğu tespit edilmiştir. *Achillea*'nın su ve metanol ekstraktlarının mısır tohumlarına uygulamasında, %3'lük konsantrasyondan itibaren ani bir düşüşün olduğu belirlenmiştir. Ancak aynı bitkinin su ekstraktının semizotu tohumlarına uygulamalarında ise α -amilaz aktivitesinde sadece %9'luk konsantrasyonda azalma gerçekleştiği tespit edilmiştir.

α -amilaz aktivitesinin kök gelişimi ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Noguchi ve ark., 2010). Benzer durum kök gelişiminin çok az olduğu *Salvia* bitkisi ile yapılan uygulamalarda da görülmüştür. α -amilaz aktivitesi ile GA₃ konsantrasyonu arasında kolerasyon olduğu bilinmektedir. GA₃ seviyesinin azalmasına neden olan allelokimyasallar dolaylı olarak α -amilaz aktivitesini azalmaktadır (Beri ve Gupta, 2007; Noguchi, 2008). α -amilaz çimlenme sırasında depo karbonhidratlarının çözünebilir şekerlere dönüşmesine neden olduğundan bu enzim seviyesindeki azalma solunum metabolizmasını, direkt olarak ta çimlenmeyi etkilemektedir (Noguchi ve Macias, 2005).

Metanol solventi ile hazırlanan orman pirinci ekstraktları, diklorometan ve hexan ile hazırlanan orman pirinci solvent ekstraktlarından daha etkilidir (Sitthinoi ve ark., 2017). Bizim çalışmamızda ise genel olarak su ekstraktının metanol ekstraktından daha etkili olduğu tespit edilmiş ancak *Achillea* ve *Salvia* ekstraktı uygulanan semizotu tohumlarında metanol ekstraktının su ekstraktından daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Sonuçlar

Çimlenme çalışmalarında kullanılan bitki ekstraktları çimlenme basamaklarından herhangi biri veya birkaçına etki ederek çimlenmenin engellenmesine neden olabilir. Ekstrakt uygulaması sonucu meydana gelebilecek engelleyici veya teşvik edici her türlü etki, hedef tohumun geçirgenliğine, direnç ve hassasiyetine bağlı olduğu kadar kullanılan ekstraktın alındığı bitki türüne ve konsantrasyonuna bağlı olarak da değişkenlik göstermektedir. Genel olarak bitki ekstraktındaki konsantrasyon artışının, tohum çimlenmesini daha fazla engellediği düşünülmektedir, ancak bazı durumlarda tamamen bir engelleme yerine çimlenmeyi geciktirici etkiler de görülebilir

Yapılan çalışmada üç farklı bitkinin α -amilaz aktivitesi üzerine allelopatik etkileri çalışılmıştır. *Verbascum*, *Achillea* ve *Salvia* bitkilerine ait su ve metanol ekstraktlarının semizotu ve mısır tohumlarında α -amilaz aktivitesini artan konsantrasyona bağlı olarak azalttığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında bu bitkilere ait ekstraktların doğal mücadele amaçlı kullanılabilmesi mümkündür. Ancak tüm bu sonuçlar neticesinde allelokimyasalların hedef bitkiye, hedef dokuya ve nihayet hedef hücreye nasıl etki ettiği halen sır olarak kalmaktadır. Çalışma bitkileri üzerinde daha ayrıntılı ve hassas çalışmalar yapılması durumunda, doğaya uygulanabilirlik açısından bu bitkilerden fayda görüleceği öngörülmektedir.

Teşekkür

Bu araştırmayı, 20011-FBE–D007 proje kapsamında, maddi yönden destekleyen Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Beck, E., Ziegler, P. (1989). Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol Plant Mol. Biology*, 40: 95-117.
- Beri, V., Gupta, R. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors neostigmine and physostigmine inhibit induction of alpha-amylase activity during seed germination in barley, *Hordeum vulgare* var. Jyoti. *Life Sciences*, 80: 2386-2388.
- Bewley, J.D., Black M. (1994). *Seeds: Physiology of Development and Germination*. 2nd ed. (pp 1-31).New York and London, Plenum Press.
- Black, M. (1989). *Seed research-past, present and future*. In: Taylorson, R.B. (Ed.), Recent Advances in the Development and Germination of Seeds. Plenum, New York, pp. 1-6.
- Corcuera, L.J., Argandona, V.H. & Zúniga, G.E. (1992). Allelochemicals in wheat and barley: role in plant-insect interactions. *In Allelopathy. Basic and applied aspects* (Editör: S. J. H. Rizvi and V. Rizvi). Chapman & Hall, London. 119-127.
- Daizy, R.B., Singh, H.P., Kohli, R.K., Saxena D.B., Kaur, S. (2002). Allelopathic effects of parthenin against two weedy species, *Avena fatua* and *Bidens pilosa*. *Environmental and Experimental Botany*, 47: 149-155.
- Ferguson, J.J., Rathinasabapathi, B. (2012). How plants suppress other plants. *African Traditional Herbal Research Clinic*, 7(3): 15-17.
- Guglielminetti, L., Busilacchi, H.A., Alpi, A. (2000). Effect of anoxia on amylase induction in maize caryopsis. *J. Plant Res.*, 113:185-92.
- Gupta, K.S., Wagle,D.S. (1980). changes in antinutritional factors during germination in *Phaseolus mungo* and *Phaseolus aureus*. *J. Food Sci.*, 45: 394-397.
- Han, C., Pan, K., Wu, N., Wang, J., Li, W. (2008). Allelopathic effect of ginger on seed germination and seedling growth of soybean and chive. *Scientia Horticulturae*, 116: 330-336.
- Inderjit., Duke S.O. (2003). Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*, 217: 529-539.
- Jefferson, L.V., Pennacchio, M. (2003). Allelopathic effects of foliage extracts from four Chenopodiaceae species on seed germination. *Journal of Arid Environments*, 55: 275-285.
- Jinhu, M., Guofang, X., Wenxiu, Y., Leilei, M., Mei, G., Yuguo, W., Yuanhuai, H. (2012). Inhibitory effects of leachate from *Eupatorium adenophorum* on germination and growth of *Amaranthus retroflexus* and *Chenopodium glaucum*. *Acta Ecologica Sinica*, 32: 50-56.
- Kruse, M., Strandberg, M., Strandberg, B. (2000). *Ecological Effects of Allelopathic Plants – a Review*. National Environmental Research Institute, Technical Report No: 315, Silkeborg, Denmark. 66.

- Noguchi, H.K., Macias, F. A. (2005). Effects of 6-methoxy-2-benzoxazolinone on the germination and α -amylase activity in lettuce seeds. *Journal of Plant Physiology*, 162: 1304-1307.
- Noguchi, H.K. (2008). Effects of four benzoxazinoids on gibberellin-induced α -amylase activity in barley seeds. *Journal of Plant Physiology*, 165: 1889-1894.
- Noguchi, H.K., Macias F. A., Molinillo, J.M.G. (2010). Structure-activity relationship of benzoxazinones and related compounds with respect to the growth inhibition and α -amylase activity in cress seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 50989: 1-5.
- Oyun, M.B. (2006). Alleopathic potentialities of *Gliricidia sepium* and *Acacia auriculiformis* on the germination and seedling vigours of *Mizae (Zea mays L.)* *American Journal of Agricultural and Biological Science*, 1(3): 44-47.
- Perata P., Guglielminetti, L., Alpi, A. (1997). Mobilization of endosperm reserves in cereal seeds under anoxia. *Ann. Bot-London*, 79: 9-56.
- Ricard, B., Van Toai, T., Chourey, P., Saglio, P. (1998). Evidence for the critical role of sucrose synthase for anoxic tolerance of maize roots using a double mutant. *Plant Physiol.*, 116: 1323-1331.
- Rice, E. L. (1984). *Allelopathy*. Second edition. Academic Press. Orlando. 422.
- Ritchie, S., Gilroy, S. (1998). Gibberellins: regulating genes and germination. *New Phytol*, 140: 363-383.
- Romero, T.R, Nieto, S.S., Badillo, A.S., Anaya, A.L., Ortega, R. C. (2005). Comparative effects of allelochemical and water stress in roots of *Lycopersicon esculentum* Mill. (Solanaceae). *Plant Science*, 168:1059-1066.
- Singh N.B., Thapar R. (2003). Allelopathic influence of *Cannabis sativa* on growth and metabolism of *Parthenium hysterophorus*. *Allelopathy J.*, 12: 61-70.
- Sitthinoi, P., Lertmongkol, S., Chanprasert, W., Vajrodaya, S. (2017). Allelopathic effects of jungle rice [*Echinochloa colona* (L.) Link] extract on seed germination and seedling growth of rice. *Agriculture and Natural Resources*, 51(2): 74-78.
- Subbarao, K.V., Datta, R., Sharma, R. (1988). Amylases synthesis in scutellum and aleurone layer of maize seeds. *Phytochemistry*, 49:657- 666.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2008). *Plant Physiology*. 0-87893-823-0. Sinauer Associates, Inc., Publishers. 690.
- Torres, A., Oliva, R. M., Castellano, D., Cross, P. (1996). A Science of the Future. *First World Congress on Allelopathy*. (University of Cadiz). Spain, Cadiz. 278.
- Türker M., Battal, P., Açar, G., Şahin, M., Erez, M. E., Yıldırım, N. (2008). Allelopathic effects of plants extracts on physiological and cytological processes during maize seed germination. *Allelopathy*, 21 (2): 493-499.
- Uriyo, M.G. (2001). Changes in enzyme activities during germination of cowpeas (*Vigna unguiculata*, cv. California blackeye). *Food Chem.*, 73:7- 10.
- Vartapetian, B.B., Jackson, M.B. (1997). Plant adaptations to anaerobic stress. *Ann. Bot-London*, 79:3-20.
- Wang, C., Zhou, J., Jiang, K., Liu, J. (2017). Differences in leaf functional traits and allelopathic effects on seed germination and growth of *Lactuca sativa* between red and green leaves of *Rhus typhina*. *South African Journal of Botany*, 111: 17-22.