



<http://dergipark.gov.tr/anatolianbryology>

DOI: 10.26672/anatolianbryology.331870

Anatolian Bryology
Anadolu Briyoloji Dergisi
Research Article
ISSN:2149-5920 Print
e-ISSN:2458-8474 Online

Cinclidotus pachylomoides (Bryophyta)'in Biber ve Mısır Bitkileri Üzerine Allelopatik Etkileri

*Bengü TÜRKYILMAZ ÜNAL¹, Cemil İŞLEK¹, Tülay EZER², Zeynep DÜZELTEN¹

¹ Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Niğde, Türkiye

² Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Niğde, Türkiye

Received: 31.07.2017

Revised: 14.10.2017

Accepted: 20.10.2017

Öz

Bu çalışmada, *Cinclidotus pachylomoides* Bizot'ın iki farklı çözücüdeki (distile su ve etanol) değişik konsantrasyondaki ekstraktlarının (0, 25 ve 50 mg. mL⁻¹) *Capsicum annuum* L. ve *Zea mays* L. kültür bitkileri üzerine allelopatik etkisi araştırılmıştır. Biber ve mısır bitkilerinde kök-gövde boy, yaş ve kuru ağırlıklarının belirlenmesinin yanı sıra homojen olarak alınan ikincil taze yapraklarından bağıl su içerikleri, fotosentetik pigment miktarları, toplam fenolik miktarları, prolin miktarları, toplam protein miktarları ve antioksidan enzim (SOD, CAT) aktiviteleri incelenmiştir. Sonuç olarak, *C. pachylomoides*'in biber ve mısır bitkileri üzerinde allelopatik etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan Enzimler, Bağıl Su İçeriği, Briyofit, *Capsicum annuum*, Fotosentetik pigmentler, Prolin, Toplam fenolik, *Zea mays*

Allelopathic Effects of *Cinclidotus pachylomoides* (Bryophyta) on Pepper and Corn Plants

*BenguTurkyilmaz Unal¹, Cemil Islek¹, Tulay Ezer² Zeynep Duzelten¹

¹ Nigde Omer Halisdemir University, Arts and Sciences Faculty, Biotechnology Department, Nigde, Turkey

² Nigde Omer Halisdemir University, Arts and Sciences Faculty, Biology Department, Nigde, Turkey

Abstract

In this study, the allelopathic effect of *Cinclidotus pachylomoides* Bizot extracts at two different solvents (distilled water and ethanol) and different concentrations (0, 25 and 50 mg.mL⁻¹) on *Capsicum annuum* L. and *Zea mays* L. culture plants were investigated. In the pepper and corn plants root-shoot height, wet and dry weights were determined. In addition, the relative water contents, photosynthetic pigment amounts, total phenolic amounts, proline amounts, total protein amounts and antioxidant enzyme (SOD, CAT) activities from secondary fresh leaves were examined. As a result, it has been found that *C. pachylomoides* has allelopathic effects on pepper and corn plants.

Keywords: Antioxidant Enzymes, Bryophyte, Relative Water Content, *Capsicum annuum*, Photosynthetic pigments, Proline, Total Phenolics, *Zea mays*

* Corresponding author: bturkyilmaz@nigde.edu.tr

© 2017 All rights reserved / Tüm hakları saklıdır.

To cite this article: Türkyılmaz Ünal B. İşlek C. Ezer T. Düzeltten Z. 2017. Allelopathic Effects of *Cinclidotus pachylomoides* (Bryophyta) on Pepper and Corn Plants. *Anatolian Bryology*. 3(2): 58-67.

1. Giriş

Briyofitler küçük yapılarına rağmen içerdikleri birçok sekonder metabolit sayesinde habitatlarındaki abiyotik ve biyotik etmenlere karşı kendilerini koruyabilmektedirler. Bu sekonder metabolitler çevrelerindeki yüksek yapılı bitkilerin gelişimlerini stimüle ya da inhibe edici etkiler gösterebilmektedir. Huneck ve Schreiber (1972) briyofitlerden elde edilen allelopatik kimyasalların büyüme düzenleyici aktivitesi olduğunu rapor etmişlerdir.

Türkiye'deki *Cinclidotus* P. Beauv. üyeleri çoğunlukla sucul karakterli, reofitik (hızlı akan akarsuyu ya da nehirlerde yaşamayı tercih eden) karayosunu türlerinden oluşmakta olup tamamen veya kısmen suya batık kalkerli kayalar üzerinde ve nadiren de su kenarındaki ağaçların kökleri üzerinde gelişmektedirler (Erdağ ve Kürschner, 2011).

Capsicum annuum, anavatanı Güney Amerika olmakla birlikte ülkemizde Güney Doğu Anadolu bölgesinde tarla tarımıyla, Akdeniz bölgesinde ise seracılıkla üretilen Solanaceae familyasına ait bir türdür. Gıda'nın yanı sıra sağlık, kozmetik, tarım vb. sektörlerde kullanılmaktadır (Şener, 2010).

Kırmızı biberin (*Capsicum annuum*) yapısında %1,5-1,8 acılık veren etken madde kapsaisin, bazı vitaminler, kırmızı karotenoidler, yağ, mineraller ve aromatik bileşikler bulunmaktadır (Romero-Castillo vd., 2015). Antitümoral, antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, immünmodülatör analjezik, ülseri ve obeziteyi engelleyici etkilerinden dolayı kapsaisin dolayısıyla biber üretimi son yıllarda büyük önem kazanmıştır (Maggi vd., 1989; Sun vd., 2016).

Meksika ve Orta Amerika kökenli olduğu bilinen, ülkemizde Kuzey Anadolu boyunca kültürü yapılan mısır bitkisi ise insan beslenmesinde kullanımının yanı sıra hayvan yemi, etanol üretimi, ilaç, tekstil ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır (URL1, 2012).

Bu çalışmada, *Cinclidotus pachylomoides*'in iki farklı çözücüdeki (distile su ve etanol) değişik konsantrasyondaki ekstraktlarının (0, 25 ve 50 mg.mL⁻¹) *Capsicum annuum* (biber) ve *Zea mays* (mısır) kültür bitkileri üzerine allelopatik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

1. Materyal ve Metotlar

Bitkisel materyal olarak bir karayosunu türü olan *C. pachylomoides* ile Maraş-1 biberi (*Capsicum annuum*) ve mısır (*Zea mays*) kültür bitkileri kullanılmıştır. Mısır (*Z. mays*) tohumları Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden, Biber (*C. annuum*) tohumları ise Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilmiştir.

C. pachylomoides Niğde, Çamardı, 37°55'053" K, 35°08'033" D, Kaya üzeri, Islak, 1685m. lokalitesinden 14.08.2015 tarihinde toplanmıştır. Araziden getirilen örnekler flora eserlerinden (Smith, 2004; Cortini Pedrotti, 2006) faydalanılarak teşhis edilmiştir.

1.1. Briyofit ekstraksiyon yöntemi

Toplanan örnekler taş, toprak ve yabancı otlardan temizlenmiş ve distile su ile yıkayıp, laboratuvar ortamında (oda sıcaklığında) kurutma kağıtları üzerine beş gün süreyle serilerek kurutulmuştur. Ekstraksiyon için Onbaşılı vd. (2011)'nin yöntemi uygulanmıştır. Briyofit örnekleri iki farklı çözücüde (distile su ve etil alkol (Sigma-Aldrich)) ekstrakte edilmiştir. Sıvı azot ortamında toz haline getirilmiş örnekler çözücüler içinde 1 saat bekletilmiş, Whatman no:2 filtre kağıdından süzülerek (uçurulma işlemi yapılmaksızın) elde edilen ekstraktlar her saksıya 20 mL ekstrakt (500 mg ve 1000 mg briyofit örnekleri 20 mL çözücü içinde) olacak şekilde deneme serileri kurulan biber ve mısır fidelerine püskürtme yoluyla (foliar olarak yapraktan) uygulanmıştır. Bitkilere püskürtme işlemi tüm yapraklar tamamen ıslanmaya kadar yapılmış, laboratuvar koşullarında rüzgar vb. çevresel faktörler bulunmadığı için ekstraktın yaprağa tutunması için özel bir kimyasal uygulanmamıştır.

1.2. *C. annuum* ve *Z. mays* için yetiştirme, deneme deseni ve örnekleme

Deneme, tesadüf deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. İçlerinde torf bulunan saksılarda açılan yuvalara tohumlardan 3'er adet bırakılarak ekim yapılmıştır. Deneme sabit nem (% 50 ± 5), 16: 8 fotoperiyot ve 23 ± 2 °C sıcaklıkta, bitki büyütme odasında gerçekleştirilmiştir. Tohumlar gün aşırı sulanarak çimlenmeye bırakılmıştır. Fideler 15 günlük olduklarında saksılarda seyreltme yapılmıştır. Fideler 20 günlük olduklarında iki gün ara ile 0, 25 ve 50 mg.mL⁻¹ konsantrasyonlarında briyofit ekstraktları foliar yolla uygulanmıştır. Fideler 30 günlük olduklarında analizler için toplanmıştır.

1.3. Kök ve sürgün boyları, taze-kuru ağırlıklarının belirlenmesi

Hasat sonrası tohumlardan gelişen fideler arasından tesadüfî bloklar deneme desenine göre seçilen 10 fidede kök, sürgün boyları ölçülmüş, daha sonra fideler kök-sürgün ayırım bölgesinden kesilerek kök ve sürgün taze-kuru ağırlıkları ayrı ayrı belirlenmiştir.

1.4. Yaprak bağıl su içeriklerinin belirlenmesi

Bağıl su içeriğinin belirlenmesi için kontrol ve deneme gruplarından 10'ar adet taze biber ve mısır yaprağında yaş ağırlıklar tartılmıştır. Daha sonra turgorlu hale getirebilmek için bu yapraklar +4 °C'de distile su içerisinde 19 saat bekletilmiş, bu

süre sonunda tartılan yapraklar 48 saat süre ile 65-70 °C'lik etüvde kurutulmuştur. Kuru ağırlıkları da alınan yaprakların bağıl su içerikleri aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplanmıştır (Ekanayake vd., 1993).

Bağıl su içeriği (%) = [(Yaş ağırlık-Kuru ağırlık)/(Turgorlu ağırlık-Kuru ağırlık)] x 100

1.5. Fotosentetik pigment madde miktarlarının belirlenmesi

C. pachylomoides ekstraktlarının foliar yolla uygulandığı biber ve mısır bitkilerinin homojen olarak alınan ikincil taze yapraklarından aseton ile elde edilen ekstraktların absorbans değerleri UV spektrofotometrede farklı dalga boylarında (663 nm, 645 nm ve 450 nm) okunmuş, pigment (kla, klb, toplam kl ve karotenoid) miktarlarındaki değişim hesaplanmıştır (Witham vd., 1971).

mg klorofil a/g doku = [12.7 (D663) – 2.69 (D645)] (V/ 1000.W)

mg klorofil b/g doku = [22.9 (D645) – 4.68 (D663)] (V/1000.W)

mg toplam klorofil/g doku =[20.2 (D645) + 8.02 (D663)] (V/1000.W)

mg toplam karotenoid/doku = 4.07 x D450 - (0.0435 x Kla miktarı + 0.367 x Klb miktarı)

Eşitliklerde: D, klorofil ekstraktının belirtilen dalga boylarındaki optik yoğunluğunu (absorbans değerini); V, % 80'lik aseton son hacmini; W, ekstre edilen dokunun gram olarak yaş ağırlığını göstermektedir.

1.6. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Fenolik maddeler, sıvı azotla toz haline getirilmiş fiderlerden metanol kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon oda sıcaklığında çalkalanmak suretiyle yapılmıştır. Fenolik madde miktarı tayini için gallik asit eşleniği olarak da bilinen Folin Ciocalteu reaktifi kullanılmıştır (Singleton vd., 1999). Her 100 µl ekstrakt üzerine 750 µl Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiş, 5 dakika sonra % 6'lık Na₂CO₃ çözeltisinden 750 µl eklenmiştir. 90 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra kör tüpe karşı 765 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Toplam fenolik madde içeriği µg GAE/mL olarak ifade edilmiştir (Gayosa vd., 2004; Singleton ve Rossi, 1965).

1.7. Prolin miktarının belirlenmesi

Prolin konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla Bates vd. (1973)'nin yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, kontrol ve deneme gruplarının her birinden 3 adet 1'er g taze yaprak örneği alınarak 10 ml % 3'lük sülfosalisilik asitle havanda homojenize edilmiş, homojenat mavi bant filtre kağıdından süzölmüştür. Süzöntü 24 saat karanlık ve serin bir ortamda tutulmuş, bu süzöntüden 2 ml alınarak üzerine 2 ml asit ninhidrin ve 2 ml glasiyel asetik asit ilave edilerek 1 saat süreyle 100 °C'de su banyosunda bekletilmiştir. Reaksiyonun

durdurulması için buz banyosu kullanılmıştır. Daha sonra tüplerdeki çözeltiye 4 ml soğuk toluen ilave edilip, karıştırıcı ile karıştırılmış, sıvı fazdan aspire edilen toluen içeren fraksiyonun VIS Spektrofotometrede 520 nm'de absorbansı alınmıştır. Prolin konsantrasyonu kalibrasyon eğrisinden yararlanarak hesaplanmış (kalibrasyon eğrisi için 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 ve 0,5 µmol/prolin içeren standartlar hazırlanmış) ve µmol prolin. g taze ağırlık⁻¹ olarak ifade edilmiştir.

1.8. Toplam protein miktarının belirlenmesi

Toplam protein miktarının belirlenmesi için, kontrol ve uygulama gruplarından 3 tekrarlı olarak alınan 1'er g yaprak örneği, 1 mM EDTA içeren, 5 mL pH 7,8'lik 0,05 M Na-fosfat tamponunda buz banyosu içerisinde ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt 13000 rpm'de soğutmalı santrifüjde 30 dakika süre ile santrifüj edilmiştir.

Kullanılan Bradford (1976) yöntemi, fosforik asitli ortamda proteinlerin Coomassie Brilliant Blue reaktifi ile kompleks oluşturması ve oluşan kompleksin 595 nm'de maksimum absorbans göstermesi esasına dayanmaktadır. Santrifüj işlemi sonrası uygun hacimde alınan süpernatantlara, Coomassie Brilliant Blue protein boyası içeren 1 mL reaksiyon karışımı eklenmiştir. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletilen örneklerin, VIS Spektrofotometre ile 595 nm'deki absorbans değerleri alınmıştır. Elde edilen bu absorbans değerleri, BSA standartları (0,02-0,2 mg/ml) ile oluşturulan kalibrasyon eğrisine uygulanarak örneklerdeki çözünebilir toplam protein miktarı, mg.g yaş ağırlık⁻¹ olarak belirlenmiştir.

1.9. Enzim ekstraktlarının hazırlanması

Enzim ekstraktlarının hazırlanması için biber ve mısır bitkilerinin kontrol ve uygulama gruplarından 1'er g yaprak örneği tartılmıştır. Bu tartımlar süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktivitelerinin belirlenebilmesi amacıyla üçer kez tekrarlanmıştır. 1 g yaprak örneği SOD enzim aktivitesi tayini için 1 mM EDTA içeren, 5 ml pH 7,8'lik 0,05 M Na-fosfat tamponunda; CAT aktivitesi tayini için 1 mM EDTA içeren, 3 ml pH 7,6'lik 0,05 M Na-fosfat tamponunda buz banyosu içerisinde ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstrakt 13000 rpm'de soğutmalı santrifüjde 30 dakika süre ile santrifüj edilmiştir.

1.10. Süperoksit dismutaz enziminin aktivitesinin belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin aktivitesi, Beauchamp ve Fridovich (1971) tarafından belirtilen yöntemle yapılmıştır. Yöntem, 560 nm'de nitroblue tetrazolium'un (NBT) fotokimyasal indirgenmesinin örnekte bulunan SOD enzimi tarafından engellenmesine dayanmaktadır. Reaksiyon karışımı, 50 mM Na-fosfat tamponu (pH

7,8), 33 μM NBT, 10 mM L-Methionine, 0,66 mM EDTA ve 0,0033 mM Riboflavin içermektedir. Süpernatant uygun miktarda seyreltilmiş ve reaksiyon karışımı (3 mL) ilave edilmiştir. Reaksiyonun gerçekleşmesi için bu karışım, 10 dakika $300 \mu\text{mol}^{-1} \text{m}^{-1} \text{s}^{-1}$ ışık şiddeti altında, oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu süre sonunda spektrofotometre ile 560 nm'de örneklerin absorbans değerleri alınmıştır. Enzim aktivitesi, NBT'nin % 50 inhibisyonu için gerekli SOD miktarı, 1 enzim ünitesi olarak hesaplanmıştır. Spesifik enzim aktivitesi, enzim ünitesi $\text{mg protein}^{-1} \cdot \text{g yaş ağırlık}^{-1}$ olarak belirlenmiştir.

1.11. Katalaz enziminin aktivitesinin belirlenmesi

Katalaz (CAT) enziminin aktivite analizi, Bergmeyer (1970) yöntemi uygulanarak yapılmıştır. Yukarıda verilen prosedür uygulanarak elde edilen süpernatantlara, 0,05 M Na-fosfat tamponu (pH 7,0), % 3 H_2O_2 ve 1 mM EDTA ilave edilmiş ve Spektrofotometrede (Shimadzu UV 160A) 240 nm dalga boyunda, 1 dk süre ile H_2O_2 'in tüketilmesine bağlı absorpsiyon değişimi izlenmiştir. Dakikada tüketilen $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ miktarı 1 enzim ünitesi olarak

saptanmıştır. 240 nm'de spesifik enzim aktivitesi, enzim ünitesi $\text{mg protein}^{-1} \cdot \text{g yaş ağırlık}^{-1}$ olarak belirtilmiştir.

2.12. İstatistik analizler

İstatistik analizler Tukey (SPSS 16.0 One-Way Anova) testine göre $p < 0.05$ seviyesinde yapılmıştır (Tukey, 1954). Örnekler üç tekrarlı çalışılmış olup standart sapma değerleri \pm olarak gösterilmiştir.

2. Bulgular

2.1. Kök ve sürgün boyları, taze-kuru ağırlıkları

Büyüme parametreleri incelendiğinde biberde *C. pachylomoides* uygulamaları kontrole oranla kök boyu ve kuru ağırlığında tüm uygulama gruplarında, kök yaş ağırlığında ise 50 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ distile su ve 25 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ etil alkol uygulamaları dışındaki tüm gruplarda artışa neden olurken, sürgün boyu ve yaş ağırlığında tüm uygulama gruplarında, sürgün kuru ağırlığında ise 25 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ etil alkol uygulaması hariç tüm uygulama gruplarında azalma meydana getirmiştir. Mısır bitkisinde ise büyüme parametrelerindeki değerler değişkendir (Tablo 1).

Tablo 1. Farklı çözücü ve konsantrasyonlarda uygulanan *C. pachylomoides* ekstraktının biber ve mısır fidelerinin kök-gövde boyları, yaş ve kuru ağırlıkları üzerine etkisi.

		Kök Boyu (cm)	Sürgün Boyu (cm)	Kök Yaş ağırlığı (g)	Kök Kuru ağırlığı (g)	Sürgün Yaş ağırlığı (g)	Sürgün Kuru ağırlığı (g)
Biber	a	2,833 \pm 1,154 ^x	10,666 \pm 0,29 ^x	0,016 \pm 0,005 ^x	0,001 \pm 0,001 ^x	0,190 \pm 0,017 ^x	0,010 \pm 0,001 ^x
	b	5,166 \pm 1,258 ^x	6,333 \pm 1,040 ^y	0,020 \pm 0,000 ^x	0,004 \pm 0,001 ^x	0,086 \pm 0,015 ^x	0,006 \pm 0,002 ^x
	c	4,500 \pm 1,500 ^x	8,500 \pm 0,500 ^x	0,023 \pm 0,005 ^x	0,004 \pm 0,001 ^x	0,160 \pm 0,036 ^x	0,009 \pm 0,001 ^x
	d	3,833 \pm 0,763 ^x	8,000 \pm 0,866 ^x	0,013 \pm 0,005 ^x	0,002 \pm 0,001 ^x	0,116 \pm 0,032 ^x	0,008 \pm 0,002 ^x
	e	3,666 \pm 1,527 ^x	9,000 \pm 0,500 ^x	0,010 \pm 0,000 ^x	0,002 \pm 0,001 ^x	0,156 \pm 0,055 ^x	0,011 \pm 0,003 ^x
	f	5,000 \pm 0,500 ^x	6,500 \pm 2,179 ^y	0,020 \pm 0,017 ^x	0,003 \pm 0,001 ^x	0,096 \pm 0,081 ^x	0,006 \pm 0,004 ^x
Mısır	a	14,400 \pm 3,595 ^x	38,000 \pm 6,873 ^x	0,122 \pm 0,024 ^x	0,027 \pm 0,007 ^x	1,808 \pm 1,014 ^x	0,134 \pm 0,044 ^x
	b	8,666 \pm 1,527 ^x	41,500 \pm 5,567 ^x	0,206 \pm 0,047 ^x	0,021 \pm 0,005 ^x	1,676 \pm 0,167 ^x	0,127 \pm 0,006 ^x
	c	15,500 \pm 8,638 ^x	38,200 \pm 6,210 ^x	0,326 \pm 0,240 ^y	0,035 \pm 0,017 ^x	1,866 \pm 0,934 ^x	0,133 \pm 0,058 ^x
	d	11,166 \pm 1,892 ^x	39,000 \pm 3,041 ^x	0,190 \pm 0,034 ^x	0,020 \pm 0,007 ^x	1,563 \pm 0,354 ^x	0,098 \pm 0,034 ^x
	e	15,875 \pm 4,404 ^x	33,375 \pm 3,966 ^x	0,250 \pm 0,061 ^x	0,032 \pm 0,007 ^x	1,342 \pm 0,305 ^x	0,101 \pm 0,040 ^x
	f	15,500 \pm 9,836 ^x	38,166 \pm 6,525 ^x	0,136 \pm 0,032 ^x	0,018 \pm 0,007 ^x	1,730 \pm 1,331 ^x	0,118 \pm 0,072 ^x

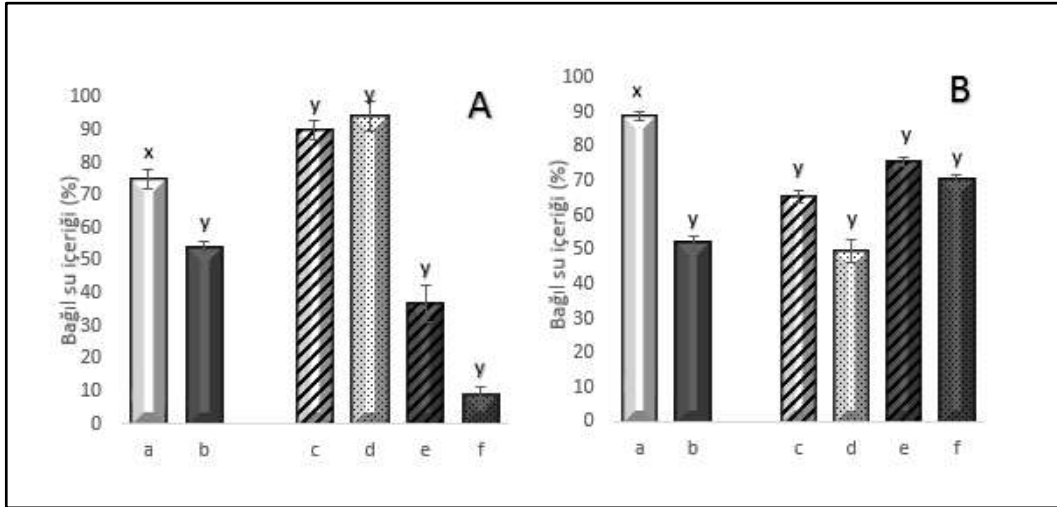
Sütunlardaki aynı harfler (x, y) $p < 0.05$ önemlilik derecesinde farklı değildir (Tukey test)

a: Kontrol, b: Etil alkol, c: 25 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ distile su, d: 50 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ distile su e: 25 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ etil alkol f: 50 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ etil alkol (n=10)

2.2. Yaprak bağıl su içerikleri

Bağıl su içeriği kontrol grubuna oranla biber bitkisinde etil alkol uygulaması yapılan gruplarda azalırken *C. pachylomoides*'in su ekstraktlarının uygulandığı gruplarda artış göstermiştir. En yüksek artış % 158,472 ile *C. pachylomoides* 50 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ distile su uygulamasında saptanmıştır. Mısır bitkisinde ise tüm uygulamalarda kontrole göre bağıl su içeriği azalmıştır (Şekil 1).

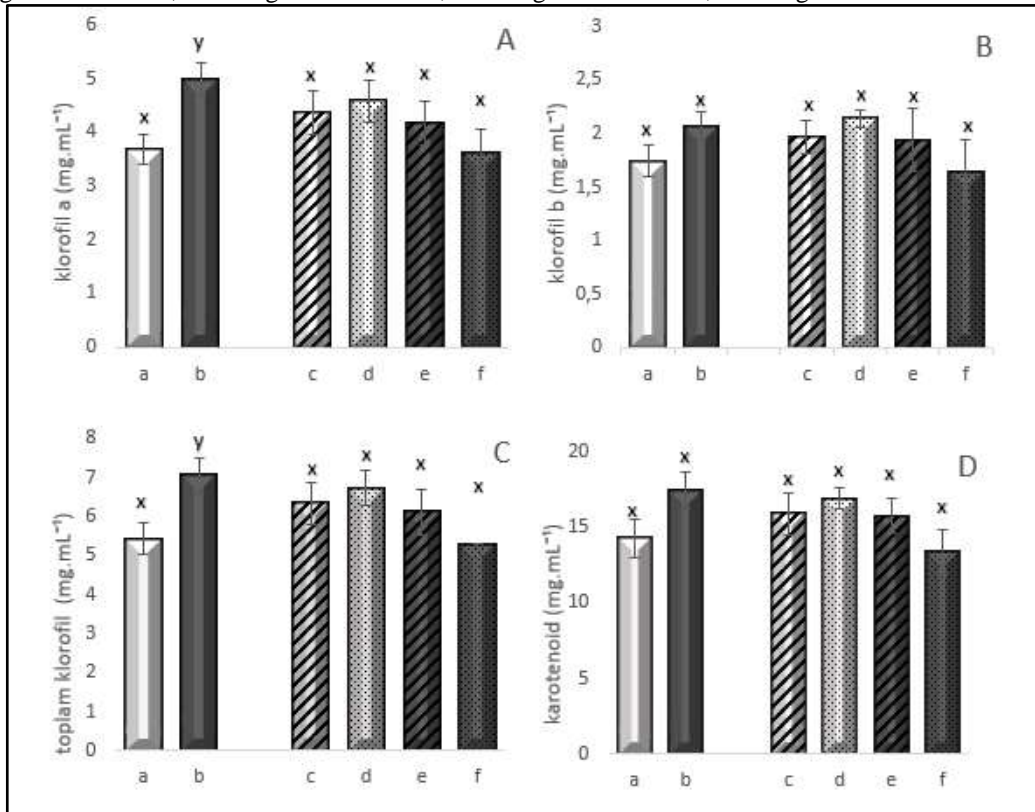
Sütunlardaki aynı harfler (x, y) $p < 0.05$ önemlilik derecesinde farklı değildir (Tukey test) a: Kontrol, b: Etil alkol, c: 25 mg.mL^{-1} distile su, d: 50 mg.mL^{-1} distile su, e: 25 mg.mL^{-1} etil alkol, f: 50 mg.mL^{-1} etil alkol



Şekil 1. Farklı çözücü ve konsantrasyonlarda uygulanan *C. pachylomoides* ekstraktının biber bitkisi (A) ve mısır bitkisi (B) yapraklarının bağıl su içeriği üzerine etkisi (n=10)

2.3. Fotosentetik pigment miktarları

Sütunlardaki aynı harfler (x, y) $p < 0.05$ önemlilik derecesinde farklı değildir (Tukey test) a: Kontrol, b: Etil alkol, c: 25 mg.mL^{-1} distile su, d: 50 mg.mL^{-1} distile su, e: 25 mg.mL^{-1} etil alkol, f: 50 mg.mL^{-1} etil alkol

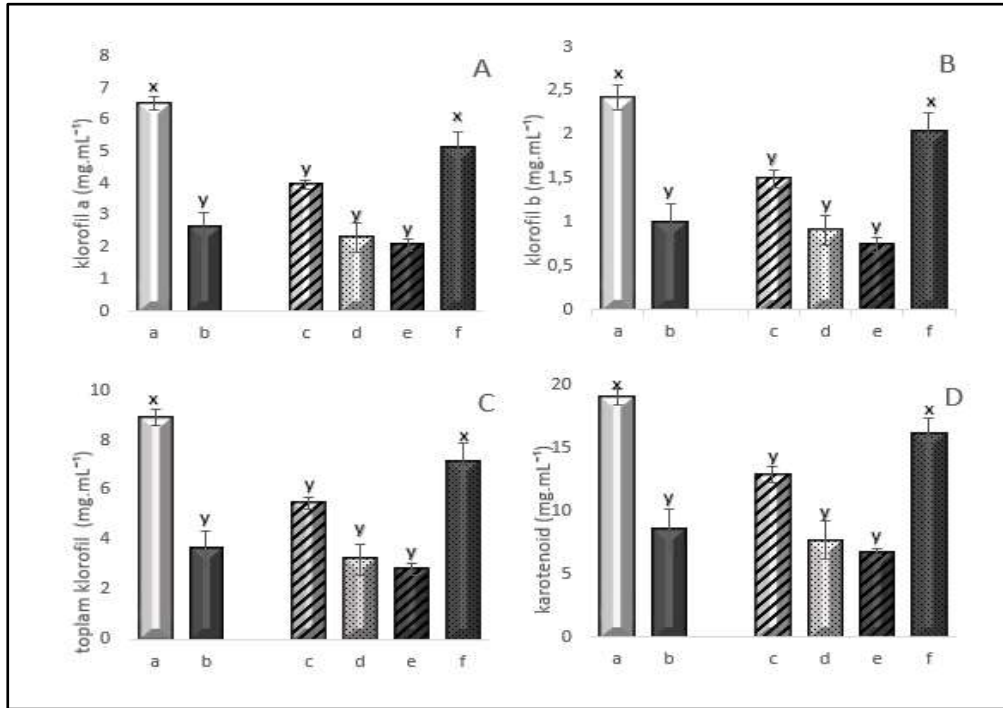


Şekil 2. Farklı çözücü ve konsantrasyonlarda uygulanan *C. pachylomoides* ekstraktının biber bitkisinin fotosentetik pigment miktarları üzerine etkisi (n=3)

Biber bitkisinde 50 mg.mL^{-1} etil alkol grubu hariç tüm uygulama gruplarında k_{la}, k_{lb}, toplam k_l ve karotenoid miktarları kontrole oranla artmıştır. *C. pachylomoides* uygulanan gruplarda en yüksek artışlar % 24,32 ile k_{la}, % 23 ile k_{lb}, % 23,91 ile

toplam k_l ve % 18,40 ile karotenoid miktarlarında 50 mg.mL^{-1} distile su uygulamalarında meydana gelmiştir (Şekil 2).

Sütunlardaki aynı harfler (x, y) $p < 0.05$ önemlilik derecesinde farklı değildir (Tukey test) a: Kontrol. b: Etil alkol. c: 25 mg.mL⁻¹ distile su. d: 50 mg.mL⁻¹ distile su e: 25 mg.mL⁻¹ etil alkol f: 50 mg.mL⁻¹ etil alkol



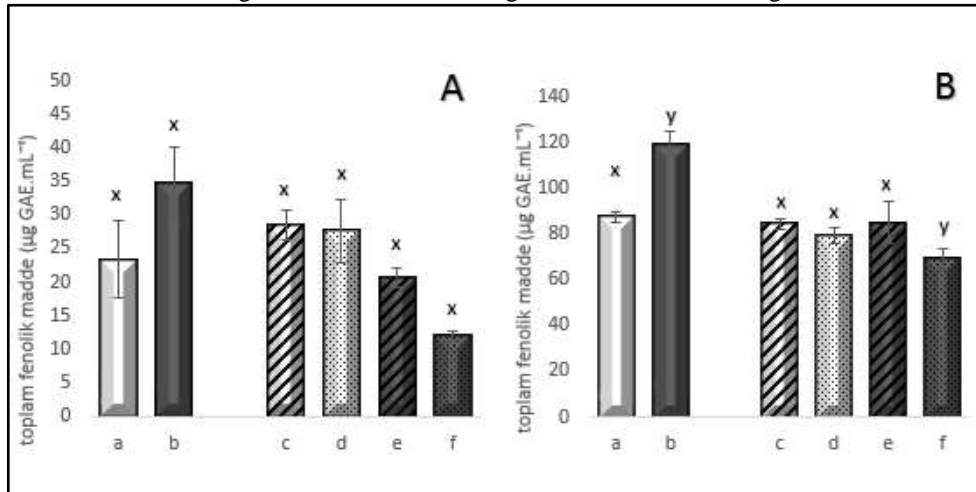
Şekil 3. Farklı çözücü ve konsantrasyonlarda uygulanan *C. pachylomoides* ekstraktının mısır bitkisinin fotosentetik pigment miktarları üzerine etkisi (n=3)

Mısır bitkisinde ise tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna oranla fotosentetik pigment miktarları azalmıştır. En fazla azalmanın (kl a %

68,08; kl b % 69,4; toplam kl % 68,45 ve karotenoid % 64,92) belirlendiği grup 25 mg. mL⁻¹ etil alkol uygulamasıdır (Şekil 3).

2.4. Toplam fenolik madde miktarı

Sütunlardaki aynı harfler (x, y) $p < 0.05$ önemlilik derecesinde farklı değildir (Tukey test) a: Kontrol, b: Etil alkol, c: 25 mg.mL⁻¹ distile su, d: 50 mg.mL⁻¹ distile su, e: 25 mg.mL⁻¹ etil alkol, f: 50 mg.mL⁻¹ etil alkol



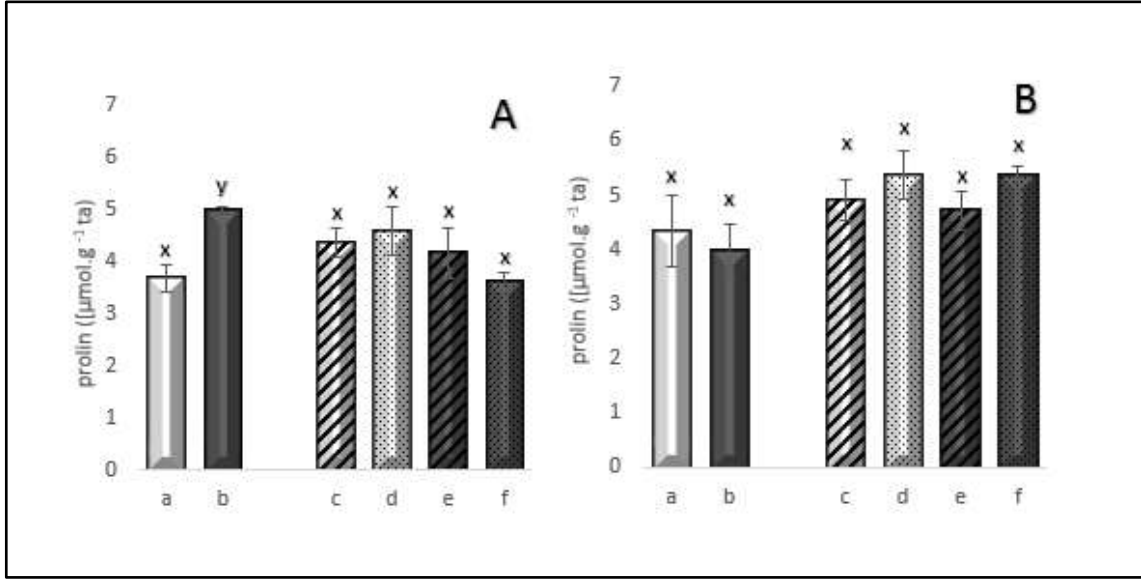
Şekil 4. Farklı çözücü ve konsantrasyonlarda uygulanan *C. pachylomoides* ekstraktının biber bitkisi (A) ve mısır bitkisi (B) yapraklarının toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi (n=3)

Toplam fenolik madde miktarında kontrole göre biber bitkisinde 25 ve 50 mg.mL⁻¹ etil alkol uygulamaları dışındaki tüm uygulama gruplarında, mısır bitkisinde ise yalnız etil alkol uygulama

grubunda artış belirlenmiştir. En yüksek artış her iki kültür bitkisinde de (% 48,91 ile biberde, % 36,127 ile mısırdaki) etil alkol uygulamasında meydana gelmiştir (Şekil 4).

2.5. Prolin miktarı

Aynı harfler $p < 0.05$ önemlilik derecesinde farklı değildir (Tukey test) a: Kontrol, b: Etil alkol, c: 25 mg.mL⁻¹ distile su, d: 50 mg.mL⁻¹ distile su, e: 25 mg.mL⁻¹ etil alkol, f: 50 mg.mL⁻¹ etil alkol



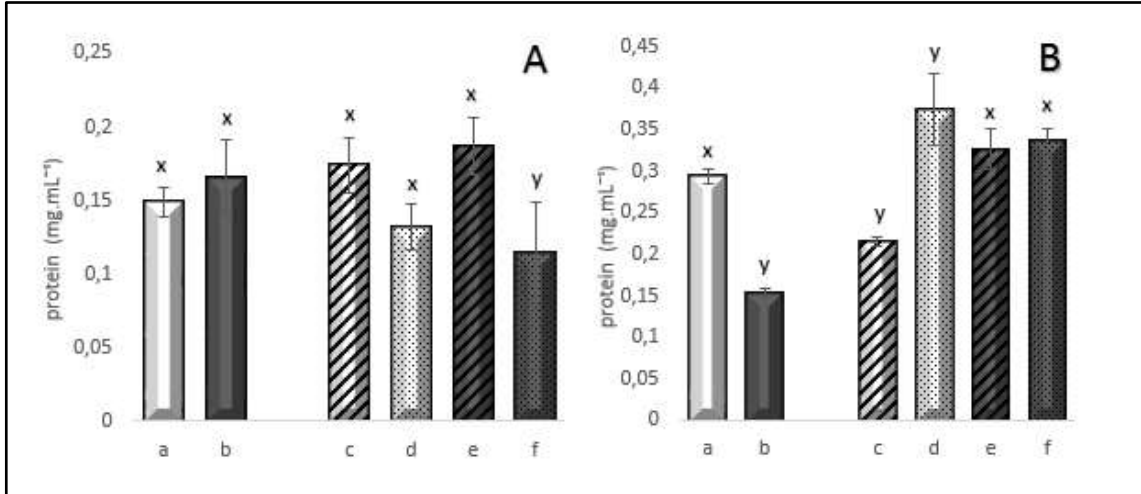
Şekil 5. Farklı çözücü ve konsantrasyonlarda uygulanan *C. pachylomoides* ekstraktının biber bitkisi (A) ve mısır bitkisi (B) yapraklarının prolin miktarı üzerine etkisi (n=3)

Prolin miktarı biber bitkisinde 50 mg.mL⁻¹ etil alkol uygulaması ve mısır bitkisinde yalnız etil alkol uygulaması hariç tüm uygulama gruplarında artmıştır. En yüksek miktarlar biber bitkisinde 4,991

µmol.g⁻¹ t.a. ile etil alkol uygulamasında, mısır bitkisinde 5,361 µmol.g⁻¹ t.a. ile 50 mg.mL⁻¹ distile su ve 50 mg.mL⁻¹ etil alkol uygulamalarında tespit edilmiştir (Şekil 5).

2.6. Toplam protein miktarı

Sütunlardaki aynı harfler (x, y) $p < 0.05$ önemlilik derecesinde farklı değildir (Tukey test) a: Kontrol, b: Etil alkol, c: 25 mg.mL⁻¹ distile su, d: 50 mg.mL⁻¹ distile su, e: 25 mg.mL⁻¹ etil alkol, f: 50 mg.mL⁻¹ etil alkol



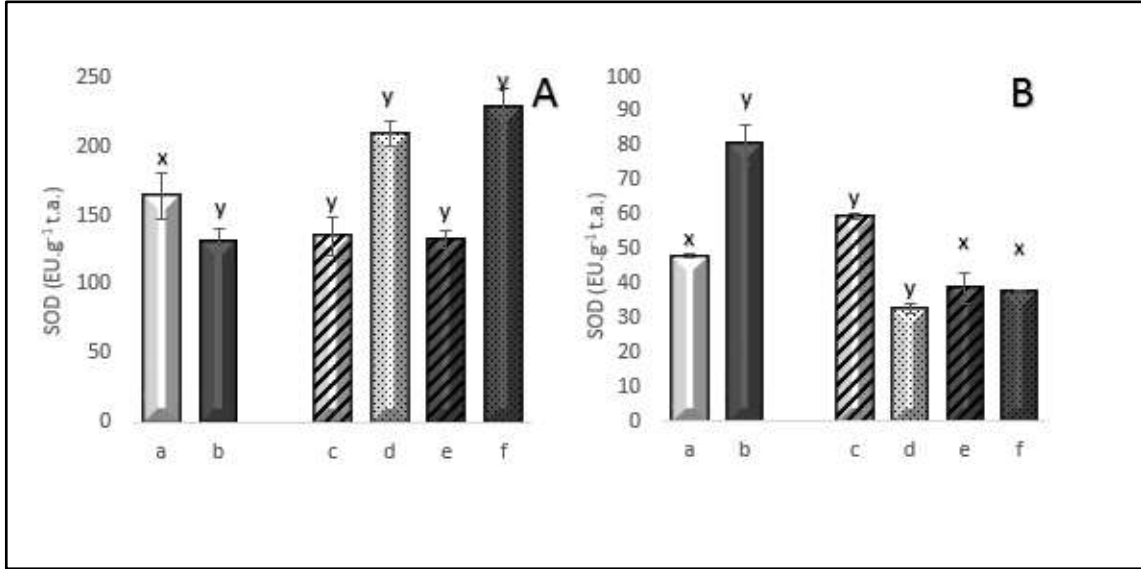
Şekil 6. Farklı çözücü ve konsantrasyonlarda uygulanan *C. pachylomoides* ekstraktının biber bitkisi (A) ve mısır bitkisi (B) yapraklarının toplam protein miktarı üzerine etkisi (n=3)

Protein miktarında biber bitkisinde 50 mg.mL⁻¹ distile su ve 50 mg.mL⁻¹ etil alkol uygulamalarında azalma saptanırken diğer uygulama gruplarında artışlar meydana gelmiştir. En yüksek azalma % 22,82 ile 50 mg.mL⁻¹ etil alkol, artma ise % 25,50 ile 25 mg.mL⁻¹ etil alkol uygulamasındadır. Mısır bitkisinde ise etil alkol ve 25 mg.mL⁻¹ distile su

uygulamaları dışındaki tüm gruplarda artışlar görülmüştür. En yüksek azalma % 47,96 ile etil alkol, en yüksek artma % 27,21 ile 50 mg.mL⁻¹ distile su uygulamasındadır (Şekil 6).

2.7. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Sütunlardaki aynı harfler (x, y) $p < 0.05$ önemlilik derecesinde farklı değildir a: Kontrol, b: Etil alkol, c: 25 mg.mL⁻¹ distile su, d: 50 mg.mL⁻¹ distile su, e: 25 mg.mL⁻¹ etil alkol, f: 50 mg.mL⁻¹ etil alkol

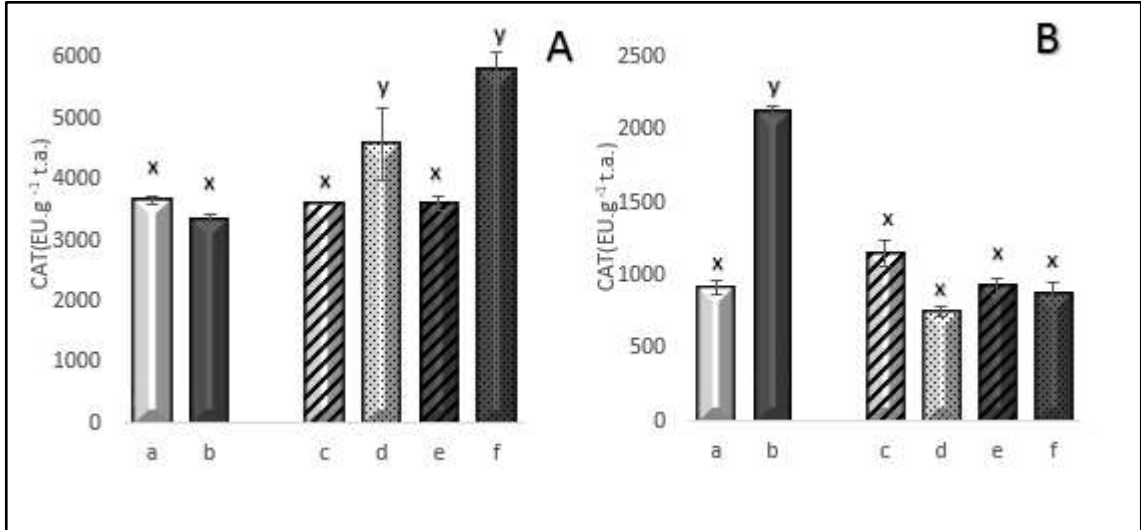


Şekil 7. Farklı çözücü ve konsantrasyonlarda uygulanan *C. pachylomoides* ekstraktının biber bitkisi (A) ve mısır bitkisi (B) yapraklarının SOD aktivitesi üzerine etkisi (n=3)

SOD enzim aktivitesi verilerine bakıldığında kontrol grubuyla kıyaslandığında biber bitkisinde 50 mg.mL⁻¹ distile su ve 50 mg.mL⁻¹ etil alkol uygulamalarında, mısır bitkisinde etil alkol ve 25 mg.mL⁻¹ distile su uygulamalarında artış, diğer gruplarda azalma meydana gelmiştir. CAT enzim

aktivitesi sonuçları da SOD enzim aktivite sonuçlarıyla uyumludur. En yüksek aktivite biber bitkisinde SOD için 228,622 EU.g⁻¹ t.a., CAT için 5826,087 EU.g⁻¹ t.a., mısır bitkisinde ise SOD için 80,764 EU.g⁻¹ t.a., CAT için 2121,46 EU.g⁻¹ t.a.'dır (Şekil 7, 8).

Sütunlardaki aynı harfler (x, y) $p < 0.05$ önemlilik derecesinde farklı değildir a: Kontrol, b: Etil alkol, c: 25 mg.mL⁻¹ distile su, d: 50 mg.mL⁻¹ distile su, e: 25 mg.mL⁻¹ etil alkol, f: 50 mg.mL⁻¹ etil alkol



Şekil 8. Farklı çözücü ve konsantrasyonlarda uygulanan *C. pachylomoides* ekstraktının biber bitkisi (A) ve mısır bitkisi (B) yapraklarının CAT aktivitesi üzerine etkisi (n=3)

3. Tartışma ve Sonuç

Tsubota vd. (2006) *Sphagnum palustre* L., *Dicranum japonicum* Mitt. ve *Hypnum plumaeforme* Wils.'in mercimek fidelerinde büyüme ve gelişmeyi engellediğini saptamıştır. Benzer şekilde *Rhynchosyium pallidifolium* ekstraktının, çim ve

Digitaria sanguinalis (monokotil) ile tere, marul ve yonca (dikotil) gelişimi üzerine engelleyici etkisinin olduğu bilinmektedir (Kato-Noguchi vd. 2010). Ülkemizde doğal olarak yayılış gösteren bazı liken türlerinin etanolik ekstraktlarının ise buğday fidelerinin gelişimi üzerine stimülatör, yüksek

derişimlerinin inhibitör etkisinin olduğu ifade edilmiştir (Uzunkaya, 2015). Büyüme parametrelerine ilişkin verilerimizde de bitki türüne ve uygulanan konsantrasyona bağlı olarak stimüle ya da inhibe edici etki belirlenmiştir.

Allelokimyasalların zararlı etkileri 'Allelokimyasal stres' olarak isimlendirilmekte ve duyarlı bitkilerin klorofil a, klorofil b, toplam kl ve karotenoid miktarlarını düşürebilmektedir (Cruz-Ortega vd., 2002; Singh vd. 2009). Allelokimyasallar genel olarak fotosistemlerin verimliliğini etkilemektedir (Einhelling, 1986). Bu durum için araştırmacılar allelokimyasalların meydana getirdiği klorofil azalışını kısmen ölümcül olmayan klorofil biyosentez yolunun bloklanması veya klorofil bozunmasına neden olan mekanizmanın uyarılmış olmasına bağlamaktadırlar (Erez, 2009). Özellikle fenolik bileşiklerin klorofilin azalmasına neden olan enzimleri hedef aldıkları ve böylece fotosentezi etkilediklerini belirlemişlerdir (Yang vd. 2004).

Chon vd., (2005), allelopatik etkileşimin kullanılan solvante ve hedef bitkinin özelliklerine bağlı olduğunu ifade etmektedir. Elde edilen veriler bu ifadeyi desteklemektedir.

Erez (2009), yaptığı doktora çalışmasında *Amaranthus* bitkisine *Acroptilon repens* uygulamasında, *Portulaca oleracea* bitkisine *Lepidium draba* uygulamasında prolin seviyelerinin arttığını belirlemiştir. Kültür bitkilerinde ise *Pisum sativum* bitkisine *Lepidium draba* ve *Phlomis armeniaca*, *Hordeum vulgare* bitkisinde ise yine *Lepidium draba* uygulamalarında prolin miktarında artış tespit etmiştir.

Elde edilen sonuçlar yapılan uygulamaların prolin aminoasitinin yanı sıra protein biyosentezini de etkilemiş olabileceğini göstermektedir. Gavrillova (1970) *Polytrichum commune* ve *Sphagnum* spp. ekstraktlarının çam ve ladin fidelerinin gelişimini engellerken, melez fidelerinin gelişimini artırdığını belirtmiştir. Büyümenin temeli olan protein sentezinin aynı tür tarafından etkilenen türlerde farklı miktarlarda olabileceği görülmektedir.

Abiotik ve biyotik streslere karşı gelmede bitkiler süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX) ve guaiacol peroksidaz (POX) gibi ROS temizleme enzimleriyle donatılmıştır (Caverzan vd., 2016). Allelokimyasalların neden olduğu reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırmak amacıyla antioksidan enzimlerin üretimini arttırdığı bilinmektedir (Apel ve Hirt, 2004; Niakan ve Saberi, 2008; Niakan vd., 2009; Türkyılmaz, 2013). Özellikle biber bitkisinde yüksek konsantrasyon uygulamalarında antioksidan enzim miktarları artmıştır.

Sonuç olarak, *C. pachylomoides* ekstraktlarının biber ve mısır bitkilerinin büyüme parametreleri ve fizyolojik aktiviteleri üzerinde allelopatik etkiye

sahip olduğu belirlenmiştir. Stimüle ya da inhibe edici etki bitki türüne, uygulanan solvent ve konsantrasyona bağlı olarak değişmektedir. Elde edilen verilerin briyofitlerin kültür bitkileri üzerine allelopatik etkileri konusunda çok az veriye sahip literatüre katkı sağlayacağı kanısındayız. Yapılacak ilave çalışmalarla briyofitlerin tarımsal üretimde stimulant ya da inhibitör olarak kullanımına olanak sağlanacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FEB 2015/20 no'lu proje ile desteklenmiş olup desteğinden dolayı teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Apel K. Hirt H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review Plant Biology. 55, 373-399.
- Bates L.S. Waldern R.P. Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil. 39, 205-207.
- Beauchamp C. Fridovich I. 1971. Superoxide Dismutase: Improved assay and applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry. 44, 276.
- Bergmeyer N. 1970. Methods of enzymatic analysis. Akademie Verlag. Berlin.
- Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry. 72, 248-250.
- Caverzan A. Casassola A. Brammer S.P. 2016. Antioxidant responses of wheat plants under stress. Genetics and Molecular Biology. 39:1, 1-6.
- Chon S.U. Jang H.G. Kim D.K. Kim Y.M. Boo H.O. Kim Y.J. 2005. Allelopathic potential in Lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. Scientia Horticulturae. 106, 309-317.
- Cortini Pedrotti C. 2006. Flora dei muschi d'Italia. Bryopsida (II parte). Delfino A. Editor(s). Medicina Science, Roma. pp. 827-1235.
- Cruz Ortega R. Ayala Cordero G. Anaya A.L. 2002. Allelochemical stress produced by the aqueous leachate of *Callicarpa acuminata*: effects on roots of bean, maize, and tomato. Physiologia Plantarum. 116:1, 20-27.
- Ekanayake I.J. De Datta S.K. Steponkus P.L. 1993. Effect of water deficit stress on diffusive resistance, transpiration and spikelet desiccation of Rice (*Oryza sativa* L.). Annals of Botany. 72, 73-80.
- Einhelling F. 1986. Mechanism of modes of action of allelochemicals. The Sciences of Allelopathy. John Wiley and sons. New york.

- Erdağ A. Kürschner H. 2011. The *Cinclidotus* P. Beauv./*Dialytrichia* (Schimp.) Limpr. complex (Bryopsida, Pottiaceae) in Turkey. *Botanica Serbica*. 35, 13-29.
- Erez M.E. 2009. *Lepidium draba* L., *Acroptilon repens* (L.) DC., *Thymus kotchyanus* Boiss.&Hohen. var. *kotchyanus*, *Inula peacockiana* (Aitch.&Hemsl.) Koravin, *Salvia kronenburgei* Rech. f. ve *Phlomis armeniaca* Wild. Bitkilerinin Allelopatik Potansiyellerinin Araştırılması. Doktora tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Van.
- Gavrillova L.V. 1970. Allelopathic effects of mosses and lichens on the growth processes of conifers. *Fiziot-Biokhim. Osn. Vzaimodeistviya Rast. Filotsenozakh*. 1, 190-194.
- Gayosa C. Pomar F. Merino F. Bernal M.A. 2004. Oxidative metabolism and phenolic compounds in *Capsicum annuum* L. var. *annuum* infected by *Phytophthora capsici* Leon, *Scientia Horticulture-Amsterdam*. 102:1, 1-13.
- Huneck S. Schreiber K. 1972. Wachstumsregulatorische Eigenschaften von Flechten und -Moss - Inhaltsstoffen. *Phytochemistry*. II, 2429-2434.
- Kato-Noguchi H. Seki T. Shigemori H. 2010. Allelopathy and allelopathic substance in the moss *Rhynchostegium pallidifolium*. *Journal of Plant Physiology*. 167,468-471.
- Maggi C. A. Barbanti G. Santicoli P. Beneforti P. Misuri D. Meli A. Turini D. 1989. Cystometric evidence that capsaicin-sensitive nerves modulate the afferent branch of micturition reflex in humans. *The Journal of Urology*. 142:1, 150-154.
- Niakan M. Saberi K. 2009. Effects of Eucalyptus allelopathy on growth characters and antioxidant enzymes activity in *Phalaris* weed. *Asian Journal of Plant Sciences*. 8:6, 440.
- Niakan M. Tajari M. Ghorbanli M.L. 2008. The effect of salinity stress on allelopathic potential of canola by studying some growth factors, chlorophyll a, b amount, antioxidant enzyme and nitrate reductase activity of soybean seedlings in hydroponic culture. *Iranian Journal of Biology*. 21:2, 315-325.
- Onbaşılı D., Altuner E.M. Çelik G.Y. 2011. *Mnium marginatum* özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*. 11:2, 205-208.
- Romero-Castillo R.A. Choudhury S.R. León-Félix J. Pandey S. 2015. Characterization of the heterotrimeric G-protein family and its transmembrane regulator from capsicum (*Capsicum annuum* L.). *Plant Science*. 234, 97-109.
- Singh A. Singh D. Singh N.B. 2009. Allelochemical stress produced by aqueous leachate of *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. *Plant Growth Regulation*. 58:2, 163-171.
- Singleton V.L. Rossi J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16, 144-158.
- Singleton V.L. Orthofer R. Lamuela-Raventós R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299, 152-178.
- Smith A.J.E. 2004. *The Moss Flora of Britain and Ireland*. (Second Edition) Cambridge Univ. Pres. London.
- Sun, F. Xiong, S. Zhu Z. 2016. Dietary Capsaicin Protects Cardiometabolic Organs from Dysfunction. *Nutrients*. 8:5, 174.
- Şener E. Şahin S. 2010. Kapsaisin farmakokinetik, toksikolojik ve farmakolojik özellikleri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 29:2, 149-163.
- Tsubota H. Kuroda A. Masuzaki H. Nakahara M. Deguchi H. 2006. Preliminary study on allelopathic activity of bryophytes under laboratory conditions using the sandwich method. *The Journal of the Hattori Botanical Laboratory*. 100,517-525.
- Tukey J.W. 1954. Some selected quick and easy methods of statistical analysis. *Trans. of New York Acad. Sci*. 88-97.
- Türkyılmaz Unal B. 2013. Effects of growth regulators on seed germination, seedling growth and some aspects of metabolism of Wheat under allelochemical stress. *Bangladesh Journal of Botany*. 42:1, 65-72.
- URL1. Mısır Raporu. Website: <http://uhk.org.tr/> [Erişim Tarihi: 01.03.2014]
- Uzunokya B. 2015. Farklı liken ekstraktlarının ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*) tohumlarının çimlenme ve gelişimleri üzerine allelopatik etkileri. *Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Gaziantep.
- Witham F.H. Blayles D.F. Devlin, R.M. 1971. *Experiments in plant physiology*. Van Nostrand Reinhold Company. New York.
- Yang C.M. Wang M.C. Chang I.F. Chou C.H. 2004. Humic substances affect the activity of chlorophyllase. *Journal Chemistry*. 30, 1051-1059.