T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HERBİSİTLERİN VE SALİSİLİK ASİDİN BUĞDAY YAPRAĞINDAKİ VİTAMİNLER VE AMİNO ASİTLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

MUSTAFA YAMAN

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA PROGRAMI

DANIŞMAN
PROF. DR. BARBAROS NALBANTOĞLU

İSTANBUL, 2015

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HERBİSİTLERİN VE SALİSİLİK ASİDİN BUĞDAY YAPRAĞINDAKİ VİTAMİNLER VE AMİNO ASİTLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Mustafa YAMAN tarafından hazırlanan tez çalışması tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU

Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Emine KARAKUŞ

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç.Dr. Sevnur MANDACI

TÜBİTAK MAM _____

Prof.Dr. Ayşegül PEKSEL

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç.Dr.Esen TAŞĞIN

Bayburt Üniversitesi _____

ÖNSÖZ

Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı Biyokimya Anabilim Dalındaki doktora eğitimim süresince bilgisi, deneyimi ve yardımlarıyla beni yönlendiren, zamanını ve her türlü desteğini esirgemeyen, çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU'na;

Deneysel çalışmalarımı TÜBİTAK MAM Gıda Enstitüsü Beslenme Laboratuvarında yapma imkanı veren yöneticilerime, doktora yapmam konusunda beni teşvik eden ve her konusunda bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım çok değerli çalışma arkadaşım Gül BİRİNGEN LÖKER'e, tez çalışmamın her aşamasında bana desteklerini esirgemeyen çok değerli çalışma arkadaşlarım Şenol ERDOĞAN ve Tamer IŞIK'a sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Kasım, 2015

Mustafa YAMAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ viii

KISALTMA LİSTESİ ix

ŞEKİL LİSTESİ xi

ÇİZELGE LİSTESİ xiv

ÖZET xv

ABSTRACT xvii

BÖLÜM 1

GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1
1.2 Tezin Amacı 9
1.3 Hipotez 9

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER 11

2.1 Buğday Tarımında Mücadele Edilen Yabancı Otlar 14
2.2 Herbisitler 14
2.2.1 ACCase İnhibitörleri 15
2.2.2 ALS İnhibitörleri 16
2.2.3 Fotosistem II İnhibitörleri 16
2.2.4 Fotosentez I İnhibitörleri 17
2.2.5 Glutamin Sentetaz İnhibitörleri 17
2.2.6 PPO İnhibitörleri 17
2.2.7 Karotenoid Biyosentez İnhibitörleri 17
2.3 Herbisitler ve Dayanıklılık 18
2.4 Bitkilerde Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller 18
2.5 Antioksidan Savunma Sistemleri 19
2.5.1 Enzimatik Antioksidanlar 20

2.5.1.1 Süperoksit Dismutaz 20
2.5.1.2 Katalaz 20
2.5.1.3 Askorbat Peroksidaz 21
2.5.1.4 Glutatyon Peroksidaz 21
2.5.1.5 Glutatyon Redüktaz 22
2.5.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar 22
2.5.2.1 E Vitamini 23
2.5.2.2 C Vitamini (L-Askorbik Asit) 24
2.5.2.3 B_1 Vitamini (Tiyamin) 25
2.5.2.4 B_2 Vitamini (Riboflavin) 25
2.5.2.5 B_3 Vitamini (Niyasin) 26
2.5.2.6 B_6 Vitamini 27
2.6 Amino Asitler ve Protein Oksidasyonu 28
2.7 Salisilik Asit 30

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT 32

3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler 32
3.2 Kullanılan Cihaz ve Malzemeler 33
3.2.1 Kromotografik Cihazlar 33
3.2.2 HPLC Kolonlar 33
3.2.3 Kullanılan Diğer Cihazlar 33
3.2.4 Kullanılan Diğer Malzemeler 34
3.3 Çözeltilerin Hazırlanması 34
3.4 Buğdayların Büyütülmesi 37
3.4.1 İklim Kabininde Buğdayların Büyütülmesi 37
3.5 Herbisit ve Salisilik Asit Uygulaması 37
3.6 Analiz Yöntemleri 38
3.6.1 UFLC Yöntemi ile Amino Asit Kompozisyonunun Tayini 38
3.6.2 HPLC Yöntemi ile Triptofan Tayini 40
3.6.3 HPLC Yöntemi ile C Vitamini (L-Askorbik Asit) Tayini 40
3.6.4 HPLC Yöntemi ile Niyasin (Nikotinik Asit, Nikotinamid) Tayini 41
3.6.5 HPLC Yöntemi ile B_1 Vitamini (Tiyamin) Tayini 41
3.6.6 HPLC Yöntemi ile B_2 Vitamini (Riboflavin) Tayini 42
3.6.7 HPLC Yöntemi ile B_6 Vitamini (PL,PN,PM) Tayini 43

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI 45

4.1 Herbisitlere Maruz Kalan Buğday Yapraklarındaki Vitaminlerin Belirlenmesi 45
4.1.1 C Vitamini (L-Askorbik Asit) Sonuçları 45
4.1.2 B_1 Vitamini (Tiyamin) Sonuçları 46
4.1.3 B_2 Vitamini (Riboflavin) Sonuçları 47
4.1.4 Niyasin (Nikotinik Asit, Nikotinamid) Sonuçları 48
4.1.5 B_6 Vitamini (Pridoksal, Pridoksin ve Pridoksamin) Sonuçları 50

4.2 SA ve Herbisit+SA Uygulanan Buğday Yapraklarındaki Vitaminlerin Belirlenmesi 52
4.3 Herbisitlere Maruz Kalan Buğday Yapraklarındaki Amino Asitlerin Belirlenmesi 61
4.3.1 Amino Asit Sonuçları 61
4.3.2 SA ve Herbisit+SA Uygulanan Buğday Yapraklarındaki Amino Asit Sonuçları 70

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE TARTIŞMA 87

5.1 Herbisitlere Maruz Kalan Buğday Yapraklarındaki Vitaminlerin Sonuçları 87
5.1.1 C Vitamini (L-Askorbik Asit) Sonuçları 87
5.1.2 B_1 Vitamini (Tiyamin) Sonuçları 87
5.1.3 B_2 Vitamini (Riboflavin) Sonuçları 87
5.1.4 B_3 Vitamini, Niyasin (Nikotinik Asit, Nikotinamid) Sonuçları 88
5.1.5 B_6 Vitamini, (Pridoksal, Pridoksin, Pridoksamin) Sonuçları 88
5.2 SA ve Herbisit+SA Uygulanan Buğday Yapraklarındaki Vitaminlerin Sonuçları 89
5.2.1 C Vitamini (L-Askorbik Asit) Sonuçları 89
5.2.2 B_1 Vitamini (Tiyamin) Sonuçları 89
5.2.3 B_2 Vitamini (Riboflavin) Sonuçları 90
5.2.4 B_3 Vitamini, (Niyasin) 90
5.2.5 B_6 Vitamini (PL, PN,PM) Sonuçları 91
5.3 Herbisitlere Maruz Kalan Buğday Yapraklarındaki Amino Asitlerin Sonuçları 93
5.3.1 Aspartik Asit Sonuçları 93
5.3.2 Glutamik Asit Sonuçları 93
5.3.3 Lizin Sonuçları 93
5.3.4 Arjinin Sonuçları 94
5.3.5 Histidin Sonuçları 94
5.3.6 Serin Sonuçları 94
5.3.7 Treonin Sonuçları 94
5.3.8 Tirozin Sonuçları 95
5.3.9 Glisin Sonuçları 95
5.3.10 Alanin Sonuçları 95
5.3.11 Fenilalanin Sonuçları 95
5.3.12 Triptofan Sonuçları 96
5.3.13 Prolin Sonuçları 96
5.3.14 İzo-Lösin Sonuçları 96
5.3.15 Lösin Sonuçları 97
5.3.16 Valin Sonuçları 97
5.4 SA ve Herbisit+SA Uygulanan Buğday Yapraklarındaki Amino Asit Sonuçları 97
5.4.1 Aspartik Asit Sonuçları 97
5.4.2 Glutamik Asit Sonuçları 98
5.4.3 Lizin Sonuçları 98

5.4.4 Arjinin Sonuçları 99
5.4.5 Histidin Sonuçları 99
5.4.6 Serin Sonuçları 100
5.4.7 Treonin Sonuçları 100
5.4.8 Tirozin Sonuçları 100
5.4.9 Glisin Sonuçları 101
5.4.10 Alanin Sonuçları 101
5.4.11 Fenilalanin Sonuçları 102
5.4.12 Triptofan Sonuçları 102
5.4.13 Prolin Sonuçları 103
5.4.14 Lösin Sonuçları 103
5.4.15 İzo-Lösin Sonuçları 103
5.4.16 Valin Sonuçları 104
5.5 Tartışma 104

KAYNAKLAR 113

ÖZGEÇMİŞ 125

SİMGE LİSTESİ

da	Dekar
dk	Dakika
cm	Santimetre
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
M	Molar
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
µg	Mikrogram
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
U	Unite

KISALTMA LİSTESİ

APX	Askorbat Peroksidaz
ACCase	Asetil Coa Karboksilaz
Ala	Alanin
ALS	Asetolaktat Sentaz
Arg	Arjinin
Asp	Aspartik Asit
ATP	Adenozin Trifosfat
ETS	Elektron Taşıma Sistemi
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
FMN	Flavin Mono Nükleotid
Glu	Glutamik Asit
Gly	Glisin
GR	Glutatyon Redüktaz
GSH	Glutatyon
GST	Glutatyon S-Transferaz
His	Histidin
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromotografisi
Leu	Lösin
Lys	Lizin
MDA	Malonildialdehit
PDX1	Pridoksal 5-Fosfat Sentaz1
PDX2	Pridoksal 5-Fosfat Sentaz2
Phe	Fenilalanin
PL	Pridoksal
PM	Pridoksamin
PN	Pridoksin
POD	Peroksidaz
PPO	Polifenol Oksidaz
Pro	Prolin
R	Ralon
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RT-PCR	Revers Transckripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SA	Salisilik Asit
SAG	Salisilik Asit-B-Glukozit
Ser	Serin
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAC	Toplam Antioksidan Kapasite
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TBARS	Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeler
Thr	Treonin
TMP	Tiyamin Monofosfat
TPP	Tiyamin Pirofosfat
Trip	Triptofan
Tyr	Tirozin
UFLC	Ultra Hızlı Sıvı Kromotografisi
Val	Valin

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 Fenoxaprop-p-ethyl 16
Şekil 2. 2 Tribenuron-methyl ve Thifensulfuron-methyl 16
Şekil 2.3 Vitaminlerin fotooksidatif streste antioksidan olarak kloroplastlardaki fonksiyonları 23
Şekil 2. 4 E vitamini (α-tokoferol) 24
Şekil 2. 5 C vitamini (L-Askorbik Asit) 24
Şekil 2.6 B_1 vitamini (Tiyamin) 25
Şekil 2.7 B_2 vitamini (Riboflavin) 26
Şekil 2. 8 B_3 vitamini, (Niyasin) (Nikotinamid ve Nikotinik asit) 27
Şekil 2.9 B_6 vitamini 27
Şekil 2.10 Amino asitler 29
Şekil 2.11 Salisilik asit 30
Şekil 4.1 Buğday yaprağındaki C vitamini (l-askorbik asit) HPLC kromatogramı 45
Şekil 4.2 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki askorbik asit sonuçları 46
Şekil 4.3 Buğday yaprağındaki tiyamin HPLC kromatogramı 46
Şekil 4.4 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki tiyamin sonuçları. 47
Şekil 4.5 Buğday yaprağındaki riboflavin HPLC kromatogramı 47
Şekil 4.6 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki riboflavin sonuçları 48
Şekil 4.7 Buğday yaprağındaki niyasin(nikotinik asit, nikotinamid) HPLC kromatogramı 48
Şekil 4.8 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki nikotinik asit sonuçları 49
Şekil 4.9 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki nikotinamid sonuçları 49
Şekil 4.10 Buğday yaprağındaki B_6 vitamini (PL,PN,PM) HPLC kromatogramı 50
Şekil 4.11 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki pridoksal sonuçları 50
Şekil 4.12 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki pridoksin sonuçları 51
Şekil 4.13 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki pridoksamin sonuçları 51

Şekil 4.14 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA ve R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki askorbik asit sonuçları..... 53
Şekil 4.15 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki tiyamin sonuçları.. 54
Şekil 4.16 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki riboflavin sonuçları.. 55
Şekil 4.17 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki nikotinik asit sonuçları..... 56
Şekil 4.18 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki nikotinamid sonuçları..... 57
Şekil 4.19 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki pridoksal sonuçları.. 58
Şekil 4.20 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki pridoksin sonuçları.. 59
Şekil 4.21 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki pridoksamin sonuçları..... 60
Şekil 4.22 Buğday yaprağındaki amino asit kompozisyonu (aspartik asit(1), glutamik asit(2), serin(3), glisin(4), histidin(5), arginin(6), treonin(7), alanin(8), prolin(9), trozin(10), valin(11), izo-lösin(12), lösin(13), fenilalanin(14) ve lizin(15)) UFLC kromatogramı. 61
Şekil 4.23 Buğday yaprağındaki triptofan HPLC kromatogramı..... 61
Şekil 4.24 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki aspartik asit sonuçları..... 62
Şekil 4.25 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki glutamik sonuçları..... 62
Şekil 4.26 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki lizin sonuçları..... 63
Şekil 4.27 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki arjinin sonuçları. 63
Şekil 4.28 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki histidin sonuçları..... 64
Şekil 4.29 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki serin sonuçları..... 64
Şekil 4.30 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki treonin sonuçları..... 65
Şekil 4.31 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki tirozin sonuçları..... 65
Şekil 4.32 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki glisin sonuçları..... 66
Şekil 4.33 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki alanin sonuçları..... 66

Şekil 4.34 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki fenilalanin sonuçları..... 67
Şekil 4.35 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki triptofan sonuçları..... 67
Şekil 4.36 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki prolin sonuçları. 68
Şekil 4.37 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki izo-lösin sonuçları..... 68
Şekil 4.38 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki lösin sonuçları..... 69
Şekil 4.39 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki valin sonuçları..... 69
Şekil 4.40 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki aspartik asit sonuçları.. 71
Şekil 4.41 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki glutamik asit sonuçları..... 72
Şekil 4.42 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki lizin sonuçları.. 73
Şekil 4.43 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki arjinin sonuçları.. 74
Şekil 4.44 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki histidin sonuçları.. ... 75
Şekil 4.45 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki serin sonuçları.. 76
Şekil 4.46 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki treonin sonuçları.. ... 77
Şekil 4.47 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki tirozin sonuçları.. 78
Şekil 4.48 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki glisin sonuçları.. 79
Şekil 4.49 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki alanin sonuçları.. 80
Şekil 4.50 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki fenilalanin sonuçları. 81
Şekil 4.51 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki triptofan sonuçları... 82
Şekil 4.52 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki prolin sonuçları..... 83
Şekil 4.53 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki lösin sonuçları.. 84
Şekil 4.54 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki izo-lösin sonuçları.... 85
Şekil 4.55 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki valin sonuçları..... 86

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2. 1 Türkiye'de tüketilen buğdayın (100 g) ortalama besin değerleri 13
Çizelge 2. 2 Buğday tarımında mücadele edilen yabancı otlar 15
Çizelge 5. 1 Herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki vitaminlerin seviyesindeki değişimler..... 105
Çizelge 5.2 SA uygulananan buğday yapraklarındaki vitaminlerin seviyesindeki değişimler..... 106
Çizelge 5.3 Herbisit+SA uygulanan buğday yapraklarındaki vitaminlerin seviyesindeki değişimler..... 106
Çizelge 5.4 Herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki amino asitlerin seviyesindeki değişimler 109
Çizelge 5.5 SA uygulananan buğday yapraklarındaki amino asitlerin seviyesindeki değişimler..... 110
Çizelge 5.6 Herbisit+SA uygulananan buyday yapraklarındaki amino asitlerin seviyesindeki değişimler 111

ÖZET

HERBİSİTLERİN VE SALİSİLİK ASİDİN BUĞDAY YAPRAĞINDAKİ VİTAMİNLER VE AMİNO ASİTLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Mustafa YAMAN

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU

Herbisitlerin yabancı otları kontrol etmek amacıyla kullanılmasına rağmen yapılan çalışmalarda kültür bitkisinin büyüme ve gelişmesini olumsuz etkilediği bilinmektedir. Herbisitlerin kullanımı sonucu oluşturduğu zararın önlenmesinde antioksidan savunma sistemlerinin görev aldığı bilinmektedir. Yapılan sınırlı sayıdaki çalışmada vitaminlerin de kuvvetli bir antioksidan olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada, herbisitlerin (Ralon ve Granstar) ve salisilik asidin (SA) buğday yaprağındaki vitamin ve amino asit seviyeleri üzerine etkileri incelendi. Çalışmada buğdaylar 15 gün süre ile büyütülerek, yapraklara Ralon(R) (fenoxaprop-p-ethyl), Granstar (%37,5 tribenuron methyl + %37,5 thifensulfuron methyl), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA, 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA püskürtüldü. Yapraklar 24, 48 ve 72 saat sonra kesilerek C, B_1, B_2, B_3, B_6 vitamin ve amino asitlerlerdeki seviyeler incelendi. Çalışmada vitamin ve amino asit analizleri HPLC ve UFLC yöntemleri ile yapıldı.

Ralon ve Granstarın askorbik asit, tiyamin, riboflavin ve niyasin seviyelerinde artma, B_6 vitamini (PL, PN, PM) seviyesinde ise azalma yönünde etkili olduğu görülmüştür. Amino asitlerin seviyelerinde en çok azalmanın Ralonda 1.günde olduğu ve özellikle aspartik asit, glutamik asit, arjinin ve triptofanın daha çok etkilendiği görülmektedir. Ralon ve Grastarın glisin, alanin ve valine genelde etki etmediği de görülmektedir. 0.5

mM SA'nın vitamin ve amino asit seviyelerini artırmada daha etkili olduğu görüldü. Ralonun vitamin ve amino asit seviyeleri üzerindeki olumsuz etkisini SA'nın genelde azalttığı da görüldü. Bizim bu çalışmamızda görüldüğü gibi, SA herbisitlerin vitaminler ve amino asitler üzerindeki olumsuz etkilerini azaltarak kültür bitkisini korumaya çalışmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Herbisit, Salisilik asit, Ralon, Granstar, Vitamin, Amino asit

ABSTRACT

INVESTIGATION OF EFFECTS OF HERBICIDES AND SALICYLIC ACID ON THE VITAMINS AND AMINO ACIDS IN WHEAT LEAF

Mustafa YAMAN

Department of Chemistry

Biochemistry Program

Ph.D. Thesis

Adviser: Prof. Dr.Barbaros NALBANTOĞLU

Although herbicides are used to control weeds, it is established that they adversely influence the growth and development of the culture plant. It is known that antioxidant defense systems take charge in the prevention damage caused by the utilization of herbicides. It was observed based on a limited number of studies that vitamins are also strong antioxidants.

This study examinated the effects of herbicides (Ralon and Granstar) and salicylic acid (SA) on the vitamins and amino acids in wheat leaves. Wheats were grown for 15 days period and their leaves were sprayed with Ralon(R) (fenoxaprop-p-ethyl) and Granstar (37,5% tribenuron methyl + 37,5% thifensulfuron methyl), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA, 5 SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA and R+5 mM SA. The leaves were cut out after 24, 48 and 72 hours and levels of vitamin C, B_1 B_2 B_3, B_6 and amino acids were analyzed. Vitamin and amino acid analysis were performed with HPLC and UFLC methods.

It was found based on the data obtained that Ralon and Granstar increased the levels of vitamin C, B_1, B_2 and B_3, but decreased all three forms (PL,PN,PM) of vitamin B_6. It was found that the greatest reduction in the level of amino acids occurred on the 1st day in Ralon, in particular, aspartic acid, glutamic acid, arginin and tryptophan were

more affected. It was observed that Ralon and Granstar geneally did not affect glycine, alanine and valine. 0.5 mM SA showed to be more effective to increase the vitamin and amino acid levels. It was seen that SA generally reduced negative impact of Ralon on the vitamin and amino acid levels. As showns in our study, SA works to protect the crops by decreases the negative effects of herbicides on vitamins and amino acids.

.

Keywords: Herbicide, Salicylic acid, Ralon, Granstar, Vitamin, Amino acid

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Buğday bitkisinde (*Triticum aestivum*) isoproturon herbisiti (0-20 mg/kg) verildiğinde büyüme ve antioksidan enzim aktivitelerindeki değişim incelenmiştir. İsoproturon düşük konsantrasyonda verilmesine rağmen buğdayda fiziksel büyüme parametleri olan gövde ve yaprakta hasara neden olmuştur. Herbisit konsantrasyonu arttıkça klorofil miktarının azaldığı da görülmüştür. Bunun yanında tiyobarbitürik asit (TBA) seviyesindeki artışın buğdayın oksidatif strese girdiğini göstermiştir. Herbisitin oluşturduğu oksidatif stres sonucu SOD, POD, CAT ve APX seviyelerinde artış olmuş, CAT dışında en yüksek enzim aktivitesi (10 mg/kg) herbisit uygulamasında görülmüştür. Yüksek konsantrasyonda herbisit verildiğinde (20 mg/kg) antioksidan enzim aktivitelerinin düştüğü görülmüştür [1].

Buğday (*Tiriticum aestivum, cv.* Yanmai 13) isoproturan herbisitinin (IPU) (0, 2, 4, 6, 8 ve 10 mg/kg, toprak) bulunduğu ortama ekilmiş ve 4 gün sonra 6 gün boyunca farklı konsantrasyonlar da SA püskürtülmüştür. IPU konsantrasyonu arttıkça yaprakta uzama, kuru ağırlığında ve klorofil miktarında azalma olmuş, TBARS ise gövde ve yaprakta artmıştır. IPU 4 mg/kg olduğunda farklı konsantrasyonlarda SA (0, 5, 10, 20 ve 30 mg/L) püskürtülmüş, sadece 5 mg/L SA'nın bitkinin kök ve gövdesinde IPU'nun vermiş olduğu zararı düşürmüştür. IPU ile birlikte SA konsantrasyonu arttıkça kök ve gövde hasarı da artmıştır. IPU verildiğinde CAT dışında, POD, SOD, APX, GST ve GR enzim aktiviteleri artmıştır [2].

Farklı konsantrasyonlar da chlorimuron-ethyl herbisiti içeren toprakta buğday bitkisi

(*Triticum aestivum*) iklim kabinlerinde 10 gün büyütüldükten sonra, 0., 1., 2., 3. ve 4.günlerde yapraklar kesilmiş, POD, SOD, MDA ve çözünenebilen protein seviyeleri incelenmiştir. 1. günde kesilen yapraklarda ve köklerde oksidatif stres sonucu oluşan MDA seviyesinin arttığı görülmüştür. 300 µg/kg herbisit içeren toprakta büyütülen yapraklarda ise klorofil miktarında önemli düşüşler olduğu tespit edilmiştir. 0-150 µg/kg herbisit içeren toprakta 1.gün sonunda bitki köklerindeki POD aktivitesindeki düşüş yapraklara göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Diğer günlerde ise kök ve yaprakta POD aktivitesinde önemli ölçüde artışlar olduğu görülmüştür. SOD aktivitesi 5 µg/kg herbisit içeren toprakta 1. ve 2.gün azalırken 3. ve 4. günde kontrol seviyesine yaklaşmıştır. Yüksek konsantrasyon (150 ve 300 µg/kg) herbisit içeren toprakta hem kök hem de yaprakta SOD aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Çözünebilen protein miktarında ise 5-150 µg/kg arasındaki toprakta artış olduğu bulunmuştur [3].

Tuz ve bor'un ayrı ayrı veya beraber bulunduğu ortamda buğday (*Tiriticum aestivum* L.) yaprağında oluşturduğu oksidatif stres sonucu yaş ağırlık, kuru ağırlık, TAC (toplam antioksidan kapasite), CAT and GR antioksidan aktivitelerindeki değişim incelenmiştir. Yapraklar, 2.5 mM bor (kontrol), 75 mM NaCl, 200 bor veya 75 mM NaCl+200 mM borun bulunduğu ortamda 6 hafta büyütülmüştür. Tuz stresine maruz kalan yapraklarda yaş ağırlık, kuru ağırlık ve su içeriğini azalırken diğer tüm antioksidan enzimlerin aktivitelerinin arttığı görülmüştür. Tek başına bor verildiğinde yapraklarda lekeler meydana gelmiş fakat diğer büyüme parametrelerinde bir değişim olmadığı görülmüştür. Bor ve tuzun beraber verildiğinde ise toplam yaş ağırlığın sadece tuza göre karşılaştırıldığı da daha fazla olduğu bulunmuştur [4].

İki farklı buğday türü, (*Triticum durum* Desf. cv Wercenis) ve (*Triticum aestivum* L. cv, HD1220), kontrollü ortamda 10 gün süre ile büyütüldükten sonra üç gruba ayrılmış, 1. grup kontrol, 2. gruba chevalier herbisiti (330 g ha^{-1}, 0.6 mg/saksı) ve diğer gruba ise 1.5, 2 ve 2.5 kat herbisit verilmiştir. Toplam protein, MDA, klorofil, karotenoid, gövde ve yaprak ağırlığının yanında GSH ve GST enzimlerindeki değişim incelenmiştir. Chevalier verildiğinde, Wercenis türü buğday yaprağında toplam ağırlığın %31.2, gövdede ise %19.2 oranında azaldığı görülmüştür. HD1220 buğdayın da ise yaprakta toplam ağırlığın 27%, gövdede ise 29.2% azaldığı görülmüştür. Her iki buğday türünde de oksidatif stres sonucu ROT seviyesi arttığından dolayı toplam klorofil(a+b) ve

karotenoid miktarının herbisit konsantrasyona bağımlı olarak azaldığı görülmüştür. Toplam protein miktarındaki en fazla artış Wercenis türü buğdayda olduğu görülmüştür. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA ise herbisit konsantrasyonuna bağımlı olarak HD1220 türünde daha fazla artmıştır. GSH ve GST enzim seviyelerinde ise en fazla artış Wecenis'te olduğu görülmüştür [5].

Fenoxaorop herbisitinin mısır bitkisi (*Zea mays*) üzerideki etkileri incelenmiştir. Çalışmada, kontrollü ortamda büyütülen 9-10 günlük mısır bitkisine yapraktan üç farklı konsantrasyonda 1.25 $x10^{-3}$, 2.5 $x10^{-3}$ ve 5.0 $x10^{-3}$ M'lık fenoxaorop verilmiş, 24, 48 ve 96 saat sonra yapraklar kesilmiştir. Aynı şekilde bitki kökleri 0, 2.5 ve 5 µM'lık fenoxaorop ile muamele edilmiştir. Yapraktan herbisit verildiğinde, konsantrasyon arttıkça sürgün ağırlığında azalma olmuş, köklerin büyümesinde ise herhangi bir olumsuz etki görülmemiştir. Köklere, 2.5 µM fenoxaorop verildiğinde %49 oranında köklerin büyümesi engellemiştir. 5.0 $x10^{-3}$ M'lık fenoxaorop uygulandığında 96 saat sonunda toplam serbest aminoasit miktarında %84, histidin'de % 225, arjininde %522, alanin, izo-lösin, serin, fenilalanin seviyesinde ise yaklaşık %100 oranında bir artış olduğu görülmüştür. Ayrıca, yapraktan 5.0 $x10^{-3}$ M'lık herbisit uygulandığında DNA seviyesinde %62 'lik bir artış olduğu bulunmuştur [6].

Pigment üretiminde kullanılan *Anabaena sp*. GO10 test organizması kontrollü ortamda cyhalofod buthyl (6.25-400 mg/l) ve fenoxaprop-p-ethly (6.25-100 mg/l) herbisitleri içeren ortamda 30 gün süre ile büyütülmüş ve klorofil, beta-karoten, fikosiyanin ve allofikosiyanin seviyeleri incelenmiştir. 6.25-mg/l fenoxaprop-p-ethly herbisiti verildiğinde klorofoil, beta-karoten, fikosiyanin ve allofikosiyanin seviyeleri artmış, herbisit konsantrasyonu arttığında ise azalmıştır. 25 mg/l cyhalofod buthyl 'de ise bütün pigmentlerde maksimum artış olduğu görülmüş ancak konsantrasyon arttıkça azaldığı tespit edilmiştir [7].

Farklı türlerde buğday (*Triticum aestivum* L.) ve arpa (*Hordeum vulgare* L.) bitkileri kontrollü şartlarda 0.5, 1, 1.5 ve 2 M tribenuron-methyl herbisiti bulunduğu ortamda büyütülmüş, GST ve protein değişimleri incelenmiştir. 12 gün sonunda kesilen buğday (*Triticum aestivum L. cv.* Izgi-2001*, Triticum aestivum L. cv.* Alpu-2001) ve arpa (*Hordeum vulgare L. cv*. Bilgi-91*, Hordeum vulgare L. cv.* Kalayci-97) bitkilerdeki kök ve

gövdede GST enzim aktivitesinin arttığı görülmüştür. Maksimum GST enzim aktivitesi 1.5 M'lık herbisit uygulamasında *Triticum aestivum L. cv.* Izgi-2001'nin köklerin de görülmüştür. Toplam protein miktarında en fazla artış ise 1.5 M'lık herbisit uygulamasında *Hordeum vulgare L. cv.* Bilgi-91'de görülmüştür. Kalaycı-97 türünde ise kontrole göre gövde de %75 oranında azalma olduğu tespit edilmiştir [8].

Normal ve düşük sıcaklıkta büyütülen kışlık buğday (*Triticum aestivum cv.* Doğu-88) yapraklarında donma toleransı ve oksidatif enzim aktiviteleri üzerine düşük sıcaklık ve SA muamelerinin etkileri incelenmiştir. Eksojen SA (0.01, 0.1 ve 1 mM) , düşük sıcaklık (15/10 ^{o}C'deki) ve normal şartlarda (15 ve 30 günlük) büyütülen yapraklardaki donma hasarını azaltmıştır. 45 günlük yapraklardaki CAT, POX ve PPO enzim aktiviteleri 30 günlük yapraklara göre karşılaştırıldığında daha fazla olduğu bulunmuştur. SA ve soğuk uygulaması kontrole göre karşılaştırıldığında CAT aktivitesi düşerken, POX, PPO aktivitesi her iki uygulamada da artmıştır. Soğuk+SA uygulamasında ise CAT ve POX aktiviteleri düşmüş, PPO aktivitesi ise artmıştır. Bu verileri göre eksojen SA'nın soğuk şartlarının vermiş olduğu olumsuz etkileri azalttığı görülmüştür [9].

Nicotiana tabacum cv. 'Burley 21' patojen *pseudomonas pv. phaseolicola'*ya maruz kaldığında vitamin B6'nın sentezinde görev alan iki genin (*PDX1* ve *PDX2*) traskripsiyon seviyesinde bir azalma olduğu görülmüş, yapraklara 2-5 mM arasında SA ve 1 mM metil jasmonate püskürtüldüğünde 6-24 saat arasında bu iki genin yeniden kontrol seviyesine geldiği görülmüştür. Yapraklara 100 mM'lık vitamin B6'nın pridoksin formu püskürtüldüğünde ise patojenin neden olduğu olumsuz etkiler azalmıştır. Çalışmada, vitamin B6'nın $^{1}O_2$ ve $O_2^{\bullet-}$ radikallerini etkisiz hale getirmesinin yanında, lipid peroksidasyonunu engelleyen kuvvetli bir antioksidan olduğu da görülmüştür. Aynı çalışmada, ortama belirli miktarda vitamin B6'nın pridoksin, pridoksal ve pridoksamin formları verildiğinde, en fazla antioksidan aktiviteyi pridoksal'ın gösterdiği tespit edilmiştir [10].

Azotobacter chroococcum 'H23' ve *Azotobacter vinelandii* 'ATCC 12837'nin bulunduğu hücre kültürü ortamına üç farklı kosantrasyonda (10, 50 ve 100 μg/ml^{-1}) simazine herbisiti verilmiş ve B grup vitaminlerin (tiyamin, niyasin, pantetonik asit, siyanokobalamin ve biotin) azotlu ve azotsuz ortamda değişimleri incelenmiştir. H23'ün

ortamda herbisit olmasına rağmen büyümesinin devam ettiği görülmüştür. ATCC 12837'in bulunduğu ortamda herbisit konsantrasyonuna bağımlı olarak tiyamin seviyesi artmış, niyasin seviyesinde ise bir değişim olmamıştır. Azotsuz ortamda ATCC 12837'de pantotenik asit seviyesinde bir değişim olmamasına rağmen, azotlu ortamda herbisit konsatrasyonuna bağımlı olarak düştüğü tespit edilmiştir. Azotlu ortamda, H23'de ise 50 ve 100 $\mu g/ml^{-1}$ oranında herbisit verildiğinde pantotenik asit seviyesinde artış olduğu görülmüştür. ATCC 12837'de herbisit konsatrasyonuna bağımlı olarak siyanokobalamin seviyesinde değişiklik olmamış, azotlu ortamda H23'de herbisit konsatrasyonuna bağımlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Azotsuz ortamda ATCC 12837'ye 100 $\mu g/ml^{-1}$ herbisit verildiğinde biyotin seviyesinde artış olmuş, azotlu ortamda ise düştüğü görülmüştür. H23'de ise her iki ortamda da biyotin seviyesinin azaldığı görülmüştür [11].

Arabidopsis thaliana'da, tuz (50 mM, NaCl), soğuk, yüksek ışık şiddeti, sıcaklık osmotik ve 0.25 mM paraquat herbisit streslerinde tiyamin seviyeleri incelemiştir. Sıcaklık dışında tüm streslerde toplam tiyamin miktarında artış olmuş, en fazla değişim tiyaminin aktif formu olan TPP'de görülmüştür. TPP'deki en fazla artış paraguat herbisitinde 1.75 kat ve tuz da ise 2.2 kat olmuş, osmotik ve soğuk stresinde ise artış kontrole göre 1.4 kat olduğu görülmüştür. Bütün streslerde TPP'nin yanında serbest tiyamin ve tiyamin TMP seviyelerinde TPP'ye paralel artış olduğu da görülmüştür. Paraguat herbisitinin neden olduğu oksidatif streste tiyaminin sentezinde rol oynayan 4 enzimin transkripsiyon seviyeleri RT-PCR ile incelenmiş ve kontrole göre karşılaştırıldığında 6 kat artış ile TPK geninde olmuş, HMP-P sentaz, HET-P ve TMPPase/HMP-P kinaz genlerinde ise 3-4 kat arası artış görülmüştür. Yüksek ışık şiddetinde ise tiyaminin her üç formunda da artmış olmasına rağmen ortamdan stres faktörü uzaklaştığında tiyamin, TMP ve TPP'nin seviyeleri kontrole yaklaşmıştır. Yüksek ışık şiddetindeki tiyamin seviyesindeki artış tuz ve paraguatın neden olduğu artışa göre daha fazla (2.9 kat) olduğu bulunmuştur. Ayrıca, tiyamin dışarıdan ekzojen olarak (0-200 µM) arasında verildiğinde, paraguat herbisitinin neden olduğu protein oksidasyonunu engellediği de görülmüştür [12].

Arabidopsis thaliana kontrollü ortamda büyütülmüş ve farklı oksidatif streslere maruz kaldıklarında vitamin B6'daki değişimler incelenmiştir. 2, 4 ve 8. haftalarda soğuk,

kuraklık ve tuz stresi uygulandıktan sonra 1., 2. ve 4. haftalarda, UV stresi uygulandıktan 6., 12. ve 24. saatlerde yapraklar kesilmiş, PL, PM, PN, PLP, PMP ve PNP'deki değişimler incelenmiştir. Soğuk stresinde PLP ve PL seviyesi 1.5 ile 2 kat arasında artmış, 7. gün sonunda toplam B_6 vitamininin kontrole yaklaştığı görülmüştür. UV stresinde ise, en fazla artış PLP ve PN'de 1.5 ile 2.5 kat arasında olmuş, 24. saat sonunda kontrol örneğe yaklaşmıştır. Tuz stresinde ise PMP seviyesi kontrole göre düşmüş, PLP formunda ise 1.5 ile 2 kat arasında artmıştır. Kuraklık stresinde en fazla artış PN'de olmuş, PM ise kontrolün altında kaldığı görülmüştür. Sonuç olarak vitamin B6'nın tüm formlarında artış ve azalışlar olmasına rağmen bu değerlerin zamanla kontrol seviyesine yaklaştığı görülmüştür [13].

Atriplex hortensis tuz stresinde 30 süre ile büyütülmüş, her 3-4 günde bir 20, 40 ve 60 mM NaCl tuz çözeltileri verilmiş, beta-karoten, tiyamin, riboflavin ve askorbik asit değişimleri incelenmiştir. Beta-karoten ve askorbik asit miktarı tuz konsantrasyonu na paralel olarak artmıştır. Düşük konsantrasyonda tuz verildiğinde ise tiyamin ve riboflavin seviyesinde bir değişim olmamış, konsantrasyon arttıkça tiyamin ve riboflavin miktarı azalmıştır [14].

İki farklı mısırda (*Zea mays L*.) (S-2002, sultan), sıcak stresinde niyasin ve riboflavin değişimleri incelemiştir. Her iki mısırda da 6 gün boyunca sıcaklık stresi uygulandığında S-2002'nın sultana göre daha hassas olduğu görülmüştür. Her iki mısırda da MDA ve H_2O_2 seviyelerinde de artış olmuştur. Niyasin seviyesinde bir farklılık görülmemiş, askorbik asit ve riboflavin önemli ölçüde artmıştır. Bu çalışmada vitaminlerin oksidatif streste önemli bir rolünün olduğu düşünülmüştür [15].

Kuraklık stresinde yetiştirilen tütün bitkisine (*Nicotiana benthamiana*) 4 hafta sonra 5 gün (0, 4, 20, 100 ve 500 µM) riboflavin çözeltisi verilmiş ve antioksidan enzim aktiviteleri incelenmiştir. Düşük ve orta konsantrasyonda verilen riboflavin bitkide oluşan oksidatif stresi azaltmada etkili olurken, yüksek konsatrasyonun ise bitkiye olumsuz etkisi olmuştur. Düşük konsantrasyon riboflavin uygulamasında SOD, CAT, APX ve GR seviyeleri artmıştır. Yüksek konsantrasyon riboflavin uygulamasında ise klorofil seviyesinde azalma olduğu görülmüştür [16].

Hardal ve buğday bitkisine sırayla 10^{-5}, 10^{-4} ve 10^{-3} M'lık SA verildiğinde, en iyi verim

10^{-5} SA'da görülmüştür. Tuz stresinde ise her iki bitkide de 10^{-3} M'lik SA'nın oluşan stresi azaltmada 10^{-5} ve 10^{-4} M'lık SA'ya göre daha etkili olduğu bulunmuştur. Tuz stresine maruz kalmış buğdayda, Shakirova vd. [19], yulafta (Ananieva vd. [20] ve havuçta, Eraslan vd. [21], 0.05 M ile 0.5 mM'lık SA verildiğinde oluşan stresi azaltmada etkili olduğu görülmüştür [17], [18].

Sera ortamında tuz stresine maruz kalmış biber bitkisi yapraklarına iki hafta içinde toplamda üç kez 10^{-6} M ve 10^{-4} M SA püskürtülmüş, ürünün kalitesi ve verimi üzerine çalışma yapılmıştır. 10^{-6} M'lık SA verildiğinde yaprakların daha iyi bir görünüme sahip olmasının yanında kuru ağırlığın, bitki üzerindeki ürün sayısı ve ortalama ürün ağırlığında artış olduğu bulunmuştur. Ayrıca C vitamini seviyesinde %88, karotenoidlerde ise %41'lik bir artış olduğu tespit edilmiştir. Düşük konsantrasyon SA (10^{-6} M)'da antioksidan enzimlerden peroksidaz seviyesinde azalma olduğu da görülmüştür [22].

Vallisneria natans (Lour.) Hara bitkisine SA, kurşun (Pb) veya SA+Pb içeren solüsyonlar yapraklar kesilene kadar her iki günde bir verilmiş ve bitkideki bazı elementler ve enzimlerdeki değişim incelenmiştir. 100 mM SA, 50 mM Pb, 10 mM SA + 50 mM Pb veya 100 mM SA+ 50 mM Pb verildiğinde, klorofil (a + b) miktarının azaldığı, MDA seviyesinin ise arttığı görülmüştür. SA tek başına verildiğinde Mn ve Ca seviyesinde bir değişim olmamış, Cu, Zn, Fe ve P seviyeleri ise kontrole göre azaldığı görülmüştür. SA+Pb birlikte verildiğinde SA bitkinin Pb alımını engellemiş olduğu görülmüştür. SA, Pb'nin neden olduğu oksidatif stres sonucu oluşan MDA seviyesini ise dengelemiştir. 100 mM SA verildiğinde Pb veya Pb'siz ortamda NADH oksidaz, non-protein thiols, karotenoid ve askorbik asit seviyeleri düşmüş, askorbik asidin okside formu olan dehidroaskorbik seviyesi ise arttırmıştır. Tek başına SA'nın, askorbat peroksidaz enzim aktivitesini düşürdüğü, katalaz ve peroksidazı ise arttırdığı görülmüştür. SA, Pb ile birlikte verildiğinde ise katalaz aktivitesini arttırmış, askorbat peroksidaz ve peroksidaz aktivitesinde bir değişim olmamıştır. Bu verilere göre, SA Pb alımını engellerken bitkinin alması gereken ideal mineral seviyesini de dengelemiştir. Düşük konsantrasyonda (10 mM) SA tek başına verildiğinde askorbik asit miktarında artış olduğu, yüksek konsantrasyonda (100 mM) verildiğinde ise düştüğü görülmüştür [23].

Başka bir çalışmada, kanola bitkisi, (*Brassica napus* L.), yetiştirilmesinde kullanılan napropamide herbisiti ve SA'nın etkileri incelenmiştir. Çalışmada, 8 mg kg^{-1} napropamide herbisit içeren toprağa bitki ekilmiş ve farklı konsantrasyonlarda herbisit, SA ve SA+herbisit verilmiştir. 0, 2, 4, 8, 12, and 16 mg L^{-1} napropamide herbisiti uygulandığında konsantrasyon arttıkça kök ve filiz kısmında kuru ağırlığın azalmış olduğu görülmüştür. Tiyobarbitürat reaktif maddeler (TBARS) seviyesinde ise artış olmuştur. SA'nın herbisit ile birlikte farklı konsantrasyonlarda (0.05, 0.1, 0.2 ve 0.4 mM) bitkiye verildiğinde olumlu etkisi olmuştur. 0.05-0.1 mM SA verildiğinde TBSAR seviyesinin kontrole yaklaşmış olduğu görülmüştür. SA, oksidatif stres sonucu oluşan $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 seviyesi de azaltmıştır. Aynı zamanda, SA stres sonucu artan SOD, CAT ve APX seviyesini düşürmüş, POD ve GST aktivitesini ise arttırmıştır. Jel elektroforez (PAGE) ile yapılan sonuçlarda CAT, SOD ve POD ile benzer sonuçlar elde etmiştir. Tek başına SA verildiğinde ise büyüme ve antioksidan enzim parametrelerinde çok fazla bir değişim görülmemiştir [24].

Bluegrass (*Poa pratensis L.)* bitkisinde kadminyum(Cd) stresinde SA'nın rolü incelenmiştir. 5 hafta süre ile büyütülen bitkilere 0, 5, 10, 50 mM Cd ile birlikte 500 mM SA 7 gün süre ile verilmiştir. Cd ile birlikte 500 mM SA verildiğinde Cd'nin seviyesinde azalma olmuş, klorofil, büyüme ve bazı elementlerin (K, Ca, Mg ve Fe) seviyesinde de artışlar olmuştur. Ayrıca Cd'nin oksidatif stres sonucu oluşturduğu MDA ve H_2O_2 seviyesini azaltmada SA'nın olumlu bir etkiside görülmüştür [25].

Clethodim herbisiti püskürtülen mısır (*Zea mays L.*) yapraklarında SA'nın etkisi incelenmiştir. Bitki yapraklarına herbisit verildiğinde sarı ve kahverengi renk oluştuğu gözlenmiştir. Herbisit verilmeden 3 gün önce 1 mM'lık SA püskürtüldüğünde yapraklarda herhangi bir renk oluşmamış, oksidatif stres sonucu oluşan MDA ve H_2O_2 seviyesinde de bir değişim görülmemiştir. 200-1000 ppm arasında herbisit verildiğinde POD aktivitesi 2-3 kat artmış, SA tek başına ya da herbisit ile birlikte verildiğinde ise %150 artmıştır. Ayrıca SA, APX ve SOD enzim aktivitesini kontrol seviyesine yaklaştırmıştır [26].

Tuz stresinde yetiştirilen buğdaya (*Triticum aestivum L., Mv Emma*) SA verildiğinde CAT ve POX enzim sevilerindeki değişim incelenmiştir. SA verildiğinde bitkideki kök ve

gövdedeki yaş ve kuru ağırlık miktarı artmıştır. Tek başına tuz veya tuz+SA verildiğinde kök ve yaprakta CAT seviyesi azalmıştır. POX aktivitesi ise CAT'dan farklı olarak tuz konsantrasyonuna bağımlı olarak artmış ve maksimum aktivite ise SA+tuz (120 mM)'da görülmüştür. Tuz stresinde, H_2O_2 oksidatif strese bağımlı olarak artmış, tuzun yanında SA verildiğinde ise bu artış daha az olmuştur [27].

1.2 Tezin Amacı

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin bitkilerin büyüme ve gelişmesini olumsuz etkilediği bilinmektedir. Bu stres faktörlerinden biri de yabancı otları kontrol etmek için kullanılan herbisitlerdir. Herbisitlerin oluşturduğu oksidatif strese karşı cevap mekanizmasında enzimatik antioksidan savunma sistemlerinden SOD, POX, CAT ve APX gibi enzimlerin aktivitelerinde artış ve azalışlar olduğu bilinmektedir. Sınırlı sayıdaki çalışmada vitaminlerin de kuvvetli bir antioksidan olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın birinci amacı, etki mekanizmasına göre iki tür herbisitin, Ralon (fenoxaprop-p-ethyl, ACCase inhibitörü) ve Granstar (%37,5 tribenuron methyl + %37,5 thifensulfuron methyl, ALS inhibitörü), buğday yaprağındaki vitaminleri ve amino asitleri nasıl etkilediği incelenecektir. İkinci amacı ise, eksojen SA'nın herbisitlerin vitaminler ve amino asitlere olan etkisinde düzenleyici bir rolünün olup olmadığı araştırılacak ve bu sonuçlara göre de SA'nın uygun etkili dozu belirlenecektir. Üçüncü amacı ise, olumlu sonuçlar alınırsa, tarla şartlarında buğdayın herbisit zararlarından korunabilmesi için SA kullanımı da tavsiye edilecektir. Böylece, bu çalışma sonuçlarına göre önerilecek SA uygulaması buğdayın ürün miktarı ve kalitesinde katkıda bulunacaktır. Ayrıca, bu tez çalışması herbisitlerin vitaminler ve amino asitler üzerinde etkisi ile ilgili bugüne kadar yapılmış en kapsamlı çalışma olacağından literatüre yeni bilgi sağlamasıyla da bundan sonra yapılacak birçok çalışmaya da ışık tutacaktır.

1.3 Hipotez

Buğday yetiştirilmesinde kullanılan birçok herbisitin buğdayın verim ve kalitesinde kayıplara neden olduğu bilinmektedir. Herbisitlerin neden olduğu oksidatif strese cevap mekanizmasında birçok antioksidan enzimin seviyesinde değişiklikler olduğu

görülmüştür. Fakat bu cevap mekanizmasında kuvvetli bir antioksidan olduğu bilinen C ve B grup vitaminlerin nasıl etkilendiği ile ilgili sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Ayrıca, sınırlı sayıdaki çalışmada herbisitlerin toplam proteini ve bazı serbest amino asitleri olumsuz etkilediği de görüşmüştür. Fakat toplam amino asit kompozisyonun nasıl etkilendiği konusunda yeterli ve kapsamlı bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Eksojen SA'nın bitkilerde oksidatif stresi azaltmasının yanında ürünün verim ve kalitesinde olumlu etkileri görülmüştür. Çalışma kapsamında kullanılacak olan Ralon ve Granstar herbisitlerin buğday yaprağındaki C ve B grup vitaminler ile birlikte amino asitlerin seviyelerini nasıl etkilediği bilinmemektedir. Bu tez çalışması ile etki mekanizmasına göre bu iki herbisitin buğday yaprağındaki vitaminlerin ve amino asitlerin seviyelerini nasıl etkilediği belirlenecektir. Ayrıca, bu iki herbisitin neden olduğu oksidatif stresi azaltmada eksojen SA'nın rolü olup olmadığı da araştırılacaktır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

Bitkiler yaşamları süresince kuraklık, tuzluluk, sıcak, soğuk, kimyasallar, bakteri, virüs ve besin eksikliği gibi birçok abiyotik ve biyotik stresler ile karşılaşmasından dolayı normal büyümeleri ve gelişimleri olumsuz yönde etkilenir [28]. Bitkilerin gelişimini etkileyen en önemli faktörlerden biri de yabancı otlardır. Yabancı otlar kültür bitkileriyle su, mineral, besin maddeleri ve yer bakımından rekabete girmesiyle verim ve ürün kaybına neden olurlar [29]. Yabancı otların vermiş olduğu zararları engellemek için çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Kimyasal yöntemler kolay uygulanabilir ve ucuz olduğu için en çok tercih edilen yöntemlerdendir. Kimyasal yöntemlerden biri olan pestisitler tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de halen kullanılan vazgeçilmez unsurlardandır. Tarım uygulamalarında yabancı otlarla mücadelede en çok kullanılan pestisitler arasında herbisitler yer almaktadır. Dünya'da kullanılan tarım ilaçlarının gruplara göre dağılımında herbisitler, % 47'lik bir pay ile ilk sırada yer alırken, bunu % 29 ile insektisitler izlemekte, fungisitlerin ise % 19'luk bir payı bulunmaktadır [30]. Ülkemizde ise 2011 yılı verilerine göre; 18.123 ton ile fungisitler ilk sırada yer almaktadır. Bunu, 7.406 ton ile herbisitler ve 6.119 ton ile insektisitler izlemektedir [31].

Kimyasal yöntemlerin başında yer alan herbisitler organik moleküller olup, uygulanmasındaki kolaylık, sonucun hemen alınması ve ürünün birçok döneminde kullanılabilmesi nedeniyle yabancı ot mücadelesinde en çok kullanılan yöntemlerdendir. Ancak herbisitlerin kullanımı ürün kayıplarının yanında toprakta ve sularda kalıntı sorunları gibi birçok çevresel sorunları da beraberinde getirmiştir. Yanlış

ve aşırı dozda herbisit kullanımı; yabancı otların zamanla herbisitlere karşı dayanıklılık kazanması sonucu ürün kayıplarına yol açar. Gelişmiş ülkelerde, herbisit kullanımı kontrollü ve bilinçli bir şekilde yapılmakta, riskli herbisitlerin kullanımı ciddi şekilde kısıtlanmakta, insan ve çevre sağlığı açısından uygun alternatif yöntemler önerilmektedir [32].

Ülkemiz bulunduğu coğrafik konumu ve iklim farklılığından dolayı zengin tarımsal ürünlerine sahiptir. Özellikle taze sebze, meyve ve tahıllar gibi bazı ürünlerini ihraç ederek önemli gelir elde etmekteyiz. Başta ihraç ürünlerimiz olmak üzere tarımsal üretimimizde bilinçli ve denetimli pestisit kullanımı özellikle kalıntı sorununun önüne geçebilmek için son derece önemlidir. Bu ürünlerimiz üzerindeki pestisit kalıntıları, insan sağlığı için çok önemli sorun oluşturduğu gibi, ülkemizin ihracatına da önemli engeller çıkartmaktadır. Ülkemizden AB'ye gönderilen gıda ve yemlerin standartlara uygun olmayan parti sayısı oldukça yüksektir. AB'ye ihraç edilen ürünler arasında Türkiye uygun bulunmayan parti sayısı yönünden 2008 yılında 125 ülke arasında 2. sırada yer almıştır [33].

Dünyada en çok üretilen tarım ürünlerinden buğday, birçok ülkenin temel beslenmesinde ve ticaretinde önemli bir yere sahip olan kültür bitkisidir. Türkiye'de kalori tüketiminin %47,9'u buğdaydan yapılan ekmek ve diğer ürünlere dayanmaktadır [34]. Ülkemizde TÜBİTAK tarafından oluşturulan ulusal gıda kompozisyon veri tabanında (turkomp.gov.tr) ekmeklik buğdayın (*Triticum aestivum*) besin değerleri Çizelge 2.1'de verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi önemli bir protein ve karbonhidrat kaynağının yanında buğday, günlük beslenmede alınması gereken birçok vitamin ve mineralleri de önemli miktarda içermektedir [35].

Dünyada, buğday ekim alanları 1999-2009 yılları arasındaki veriler incelendiğinde %0,5'lik bir artışla 225 milyon/ha'dır. Dünyada buğday üreten ülkeler arasında ekim alanı %12,6'lık oranla ilk sırayı Hindistan alırken, bu ülkeyi sırayla Rusya %11,81, Çin %10,74 ve %8,95 ile ABD izlemektedir. Türkiye ise yaklaşık 8 milyon/ha ekim alanı ile %3,56'sını oluşturmaktadır. Bugün ülkemizde ekili-dikili tarım alanlarının yaklaşık %50'sinde hububat, bunun 1/3'ünde ise sadece buğday üretilmektedir [36]. 1999 yılında yıllık buğday üretimi Dünyada 587 milyon ton iken 2009 yılında ise 681 milyon

Çizelge 2. 1 Türkiye'de tüketilen buğdayın (100 g) ortalama besin değerleri

Bileşen	**Birim**	**Ortalama**	**Minimum**	**Maksimum**
Enerji	kcal	335	327	343
Protein	g	11,3	10,2	12,59
Azot	g	1,94	1,75	2,16
Yağ, toplam	g	1,64	1,36	1,88
Karbonhidrat	g	62,48	59,03	65,5
Lif, toplam diyet	g	12,66	9,43	16,73
Demir, Fe	mg	4,16	3,17	6,81
Fosfor, P	mg	268	261	287
Kalsiyum, Ca	mg	45	25	54
Magnezyum, Mg	mg	119	102	133
Potasyum, K	mg	389	349	406
Sodyum, Na	mg	7	4	14
Çinko, Zn	mg	2,81	1,82	5,63
Tiamin	mg	0,461	0,411	0,513
Riboflavin	mg	0,112	0,101	0,132
Niasin	mg	5,673	5,525	5,861
B-6 vitamini, toplam	mg	0,323	0,259	0,355
Folat, gıda	µg	38	28	48
Triptofan	mg	184	143	212
Treonin	mg	283	42	543
Izolosin	mg	415	273	513
Lösin	mg	837	594	1005
Lizin	mg	629	255	991
Metiyonin	mg	236	210	284
Sistin	mg	81	57	115
Fenilalanin	mg	585	402	682
Tirozin	mg	385	195	521
Valin	mg	507	372	600
Arjinin	mg	454	88	565
Histidin	mg	241	140	278
Alanin	mg	467	261	654
Aspartik asit	mg	457	191	639
Glutamik asit	mg	2205	1682	2797
Glisin	mg	557	471	667
Prolin	mg	1011	725	1609
Serin	mg	460	294	543

Kaynak: turkomp.gov.tr [35].

ton olmuştur. Dünyadaki buğday üreticisi ülkelere bakıldığında en fazla üretim %16.9 ile Çin, %11.9 ile Hindistan, %9.1 ile Rusya, %8.8 ile ABD izlemektedir. Türkiye ise yıllık

%3.1'lik buğday üretimi yapan Ukrayna'nın ardından 20 milyon ton buğday ile 11. sırada yer almıştır. Buğday verimi dünyada 1999 yılında 275 kg/da iken 2009 yılında ise 302 kg/da olmuştur. Dünya buğday üretimi bakımdan 6. sırada yer alan Almanya'da ise ortalama verim 780kg/da'dır. Türkiye'de ise verim 256 kg/da verim ortalaması ise Dünya ortalamasının çok altında kalmaktadır. 1999 yılında ortalama verim 192kg/da iken 2009 yılında 256 kg/da'dır. Ülkemizde üretilen buğdayın kalitesinin düşük olmasından dolayı son 20 yıl içinde 30 milyon ton buğday ithal etmiştir [37].

2.1 Buğday Tarımında Mücadele Edilen Yabancı Otlar

Tarım alanlarında yabancı otların rekabet güçleri kültür bitkisine göre daha fazla olduğundan bitki zayıf kalmakta ve verim kayıplarına neden olmaktadır. Dünyada yabancı otların tarım ürünlerine vermiş olduğu zarar %15-20 arasındadır. Ülkemizde ise yabancı otların kültür bitkilerine vermiş olduğu zarar ortalama %20-35 olarak kabul edilmektedir [38]. Çukurova bölgesinde yapılan bir çalışmada, $m^{2'}$de üç adet *Avena sterilis L.* (yabani yulaf) bitkisinin bulunması buğdayın boyu, verim ve bin dane ağırlığını etkilediği belirlenmiştir [39]. Buğday tarımında verimi ve kaliteyi düşüren başlıca yabancı otlar Çizelge 2.2 'de verilmiştir. Kara ve Erdiler [40], Trakya bölgesinde yapmış oldukları çalışmada çiftçilerin en çok tanıdıkları yabancı otlarI sırayla, yabani yulaf, karaçim, papatya, yabani hardal, kuşotu, pıtrak, darıcan, bakla, tarla sarmaşığı, tilki kuyruğu, ayrık ve yavşan olarak bulmuşlardır.

2.2 Herbisitler

Herbisitler organik moleküller olup yabancı otları kontrol etmek amacıyla kullanılmaktadır. Fakat herbisitler bu olumlu yanına rağmen ekosistemde, özellikle tarım ve sularda, istenmeyen kalıntı oluşumuna neden olmaktadır [41],[42],[43],[44]. Bunun yanında bitkinin büyümesinde, kalitesinde ve ürün veriminde olumsuz etkileri de olmaktadır [45],[46],[47]. Herbisitler bitkide solunum, fotosentez, protein ve lipit sentezine üzerine etki ederek, bitkinin devam eden fizyolojik ve biyokimyasal işlevlerini bozar ve bitkinin ölümüne neden olur. Etki mekanizmalarına göre herbisitler aşağıda verilmiştir.

Çizelge 2. 2 Buğday tarımında mücadele edilen yabancı otlar

Geniş Yapraklılar	**Dar Yapraklılar**
Abutilon theophrastii (Hint keneviri)	Alopecurus myosuroides (Tilki kuyruğu)
Acroptilon repens (Kekre, Acımık)	Avena sterilis (Kısır yabani yulaf, Şifan)
Amaranthus albus (Horoz ibiği)	Avena fatua (Yabani yulaf, Şifan)
Bifora radians (Kokar ot, Rakı otu)	Bromus tectorum (Püsküllü çayır)
Boreava orientalis (Sarı ot, Sarı çiçek, Kırşahak)	Cynodon dactylon (Köpek dişi ayrığı)
Chenopodium album (Ak kaz ayağı, Ak pazı, Sirken)	Digitaria sanguinalis (Tüylü şeytan otu, Çatal otu)
Cirsium arvense (Köy göçüren)	Echinochloa colonum (Benekli darıcan)
Convolvulus arvensis (Tarla sarmaşığı, Çit sarmaşığı)	Echinochola crus-galli (Darıcan)
Galium aparine (Yapışkan otu, Dil kanatan)	Lolium temulentum (Delice)
Lactuca serriola (Dikenli yabani marul, Yağ marulu)	Phalaris brachystachys (Kuş yemi)
Matricaria chamomilla (Sahici papatya, Tıbbi papatya)	Phalaris canariensis (Uzun başaklı kuş yemi)
Papaver rhoeas (Gelincik)	Phalaris paradoxa (Yumuşak başaklı kuş yemi)
Raphanus raphanistrum (Yabani turp)	Poa annua (Tek yıllık salkım otu)
Sinapis arvensis (Yabani hardal)	Seteria viridis (Yeşil cin darısı)
Solanum nigrum (Köpek üzümü)	Sorghum halepense (Kanyaş, Geliç)

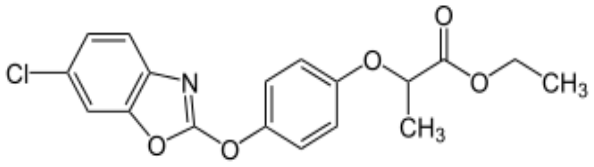
Kaynak: (Avcı, 2007) [38].

2.2.1 ACCase İnhibitörleri

Aryloxyphenoxypropionate (FOPs) ve cyclohexanedione (DIMs) grubu herbisitler yağ asitleri sentezinde görev alan asetil CoA karboksilaz (ACCase) enzimini inhibe ederler. Enzimin inhibe olmasıyla fosfolipidler oluşamayacağından yeni hücre membranının oluşması da engellenmiş olur ve bitki büyümesi durur [48],[49].

Bu grup inhibitörlerinden olan phenoxy grubu herbisitler, buğday ekim alanlarında yabani yulaf (*Avena sterilis*), tilki kuyruğu (*Alopecurus myosurodies*) ve kuş otu (*Phalaris paradoxa*) gibi yabancı otların kontrolünde kullanılmaktadır [38].

Çalışma kapsamında kullanılan Ralon (Fenoxaprop-p-ethyl, Şekil 2.1), herbisiti bu grup herbisitlerden olup buğdayda yabancı otlara karşı mücadelede kullanılmakdır.

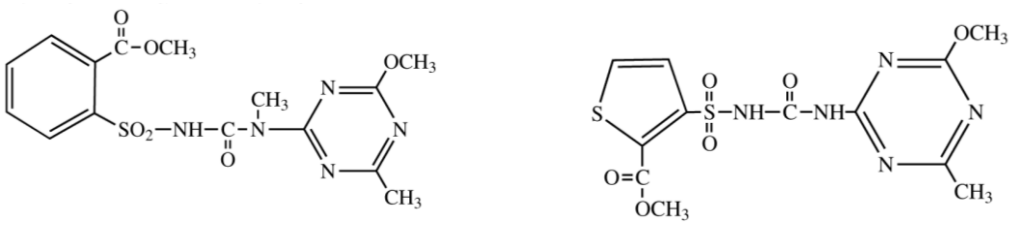


Şekil 2.1 Fenoxaprop-p-ethyl

2.2.2 ALS İnhibitörleri

Imidazolinones, pyrimidinylthiobenzoates, sulfonylaminocarbonyltriazolinones, sulfonylureas ve triazolopyrimidines grubu herbisitler asetolaktat sentaz (ALS) enzimini inhibe etmektedirler. Enzimin inhibe olmasıyla dallı-zincirli amino asitler olan izo-lösin, lösin, ve valin sentezini engellenmektedir [50]. Sulfonylurea grubu herbisitlerinden tribenuron-methyl herbisiti buğday ekim alanlarında gelincik (*papaver rhoeas*), dil kanatan (*galium aparine*), köy göçüren (*circium arvense*), papatya (*matricaria chamomilla*) ve yabani hardal (*sinapis arvensis*) gibi yabancı otların kontrolünde kullanılmaktadır [38].

Çalışma kapsamında kullanılan Granstar (%37,5 Tribenuron methyl + %37,5 Thifensulfuron methyl, Şekil 2.2) herbisiti bu grup herbisitlerden olup buğdayda yabancı otlara karşı mücadelede kullanılmakdır.



Şekil 2. 2 Tribenuron-methyl ve Thifensulfuron-methyl

2.2.3 Fotosistem II İnhibitörleri

Phenylcarbamates, pyridazinones, triazines, triazinones, uracils (grup C1 (5)), amides, ureas (C2 (7)), benzothiadiazinones, nitriles ve phenylpyridazines grubu herbisitler thylakoid membranında D1 proteini ile etkileşerek, elektron-transport zincirinde, QA'dan QB'ye elektron aktarımını engellemesiyle ATP ve NADPH'ın üretilmemesine neden olur. Bunun sonucunda CO_2 döngüsü devam edemez [51].

2.2.4 Fotosentez I İnhibitörleri

Bipyridyliums herbisiti fotosentez I'de elektron alarak indirgenir ve herbisit radikali oluşturmaktadır. Oluşan radikal moleküler oksijeni süperoksit radikaline dönüştürmektedir. Süperoksit radikali süperoksit dismutaz (SOD)'ın bulunduğu ortamda reaksiyona girerek H_2O_2'yi oluşur ve süperoksitler ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur. Oluşan hidroksil radikali doymamış yağları, membran yağ asitleri ve klorofili parçalamaktadır. Ayrıca aynı radikaller lipid radikallerini üretir ve oluşan lipid radikaller oksijenle reaksiyona girerek lipid hidroperoksitleri oluşturur [52].

2.2.5 Glutamin Sentetaz İnhibitörleri

Phosphinic asit (PA) glutamin sentetaz enzimini inhibe etmektedir. Glutamin sentetaz enzimi glutamat ve amonyağı (NH_3) glutamine çevirmektedir. Amonyak hücreleri parçalamakta ve fotosistem I and fotosistem II reaksiyonlarını inhibe etmektedir [53],[54].

2.2.6 PPO İnhibitörleri

Diphenylether (DE), n-phenylphthalimide (NP) ve ary triazinone (AT) grubu herbisitler photoporphyrinogen oxidase (PPO) enzimini inhibe etmektedirler. (PPO) enzimi klorofil ve hemoglobin biyosentezinde görev almaktadır. PPO'nun inhibe olmasıyla hücrede serbest radikaller oluşur ve hücre membranının parçalanmasına neden olur [55].

2.2.7 Karotenoid Biyosentez İnhibitörleri

Amides, anilidex, furanones, phenoxybutan-amides, pyridiazinones, ve pyridines grubu herbisitler karotenoid biyosentezinde görevli olan phytoene desaturase enzimini inhibe etmektedir. Sağlıklı bitkilerde karotenoidler tarafından $^1O_2$ elimine edilmektedir. Karotenoid biyosentezinin durmasıyla $^1O_2$ seviyesi artacağından protein ve lipidler oksidasyona uğrar ve hücrenin normal işlevi bozulur [56],[57].

2.3 Herbisitler ve Dayanıklılık

Herbisitlere dayanıklılık, hedef yabancı ota karşı üst üste uzun yıllar aynı etkili maddelerin kullanılması, yüksek doz uygulanması gibi nedenlerle ortaya çıkan bir olgudur. Yapılan çalışmalar irdelendiğinde; Triazin grubu, ACCase inhibitörleri ve ALS inhibitörleri ön plana çıkmaktadır. Dayanıklılık konusunda bildirilen vakaların yaklaşık % 70'i bu 3 grup herbisitlere aittir. Bu gruplara bağlı herbisitler, ülkemiz tarımında da yoğun biçimde kullanılmaktadır [58]. Buğday tarımı, geniş ekim alanı ve üretimiyle ülkemizin en önemli gelir kaynağıdır. Ancak son yıllarda yoğun herbisit kullanımı nedeniyle yer yer etkisizlik konusunda şikayetler de artmaya başlamıştır [59].

Yabancı otlara karşı kullanılan herbisitlerin neden oldukları dayanıklılık konusunda Dünya'da kayıtlara geçmiş 602 vakaya rastlanılmıştır. Yapılan araştırmalarda, en fazla vaka triazin grubu herbisitlerde (181 adet) yapılmıştır. Bunu 156 vaka ile ALS inhibitörleri ve 81 vaka ile ACCase inhibitörleri izlemiştir. Genel olarak bu 3 grup herbisit toplam bildirimin % 69.42'sini oluşturmaktadır. En fazla bildirim ise *Amaranthus spp*. ile (114 adet) yapılmıştır. Bunu sırayla *Lolium spp., Chenopodium spp., Avena spp*. ve *Echinochloa spp.* izlemektedir [58]. Ülkemizde herbisitlere karşı oluşan ve dayanıklılıkla ilgili devamlı güncellenen sitede kayıtlara geçen ilk araştırmada, buğday alanlarında sorun olan *Avena sterilis*'in ACCase inhibitörlerinden clodinafop-propargyl ve fenoxaprop-p-ethyl'e dayanıklılık kazandığını saptamışlardır [60].

2.4 Bitkilerde Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Bitkiler strese maruz kaldıkları zaman elektron transport zincirinin aşırı indirgenmesi sonucu reaktif oksijen türleri (ROT) üretilmesi ile bitki oksidatif strese maruz kalır. Serbest radikallerin en önemlileri süperoksit radikali ($O_2^{\bullet -}$), hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$), singlet oksijen ($^1O_2$), radikalik olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve peroksinitrit ($ONOO^-$)'dir. ROT ve antioksidan sistemler arasındaki bu denge, tuz, UV radyasyonu, kuraklık, ağır metaller, sıcaklık, herbisitler, vitamin ve mineral eksiklikleri gibi biyotik ve abiyotik stresler canlılarda normalden daha fazla ROT üretilmesine neden olur. Oluşan yüksek reaktiviteli ve toksit özellik gösteren ROT canlılarda, lipidler, nükleik asitler, proteinler ve karbonhidratlar gibi biyolojik moleküllerle reaksiyona girmesiyle birçok zararlara neden olur [61]. Canlılardaki metabolik yolların işleyişi sırasında hücrelerdeki

kloroplast, mitokondri ve peroksizomlarda ROT'lar üretilir [62],[63]. Bitkilerde enerji üretim merkezi olarak bilinen mitokondride, ROT'ların özellikle H_2O_2 en fazla oluştuğu yer olarak bilinmektedir [64]. Mitokondrideki elektron taşıma sistemindeki (ETS) elektronlar yeteri kadar serbest enerjiye sahip olduklarından O_2'yi kolayca indirger ve ROT'ların oluşmasına neden olur. Yüksek yapılı bitkilerdeki kloroplastlarda fotosistem I ve II boyunca elektron alındığından kolayca ($O_2^{\bullet -}$) ve ($^1O_2$) radikali oluşabilmektedir. Mitokondride (ETS)'deki, kompleks I, Ubikinon ve Kompleks III 'de ($O_2^{\bullet -}$) oluşur [65],[66],[67]. Mitokondride tüketilen O_2'nin %1-5'inden H_2O_2 oluşur [68]. Oluşan bu H_2O_2 indirgenmiş Fe^{+2} ve Cu^{+} ile reaksiyona girerek yüksek toksiteye sahip ($OH^{\bullet}$) radikalini oluşturur. ($OH^{\bullet}$) radikali protein ve nükleik asitlere zarar vermesinin yanında lipid peroksidasyon ürünleri oluşturmasıyla da mitokondri membranına zarar vermektedir [69],[70].

Bitkilerde oksidatif stres sonucu oluşan ROT'ların yanında lipid peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA) özellikle membran yapısını hedef alarak bozmaktadır. Yapılan çalışmalarda, stresle birlikte *Lycopersicon esculentum L*'da (domates) [71], *Triticum aestivum L*'da (buğday) [72], *Hordeum vulgare L*'de (arpa) [73] ve daha birçok lipid peroksidasyon sonucu bitkide MDA düzeyinin arttığı görülmüştür. ROT'lar membran hasarlarının yanı sıra DNA, protein ve lipitlerle olan etkileşimi ve bu yolla hücrelerde meydana getirdikleri hasar bakımından farklılık gösterir.

Herbisitlerin zararlarıyla ilgili olarak buğday yapraklarında yapılan çalışmalarda, (Prometryne, Isoproturon, Chlorotoluron), herbisitlerinin yapraklarda ROT üreterek oksidatif strese neden olduğu bulunmuştur. Herbisitler bitkideki uzamayı ve kütlesini azaltmanın yanında hücresel antioksidan enzim aktivitelerini de değiştirerek büyüme ve antioksidan savunma sistemlerininde de etkili olmuşlardır. ROT'lar bitkide hücresel hasarlara ve hatta bitkinin ölümüne neden olabilmektedir. Böyle oluşan hasarlar ancak antioksidan enzim sistemleri ile tolere edilebilir [74],[75],[61].

2.5 Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bunların oluşturduğu zararları önlemek için canlılarda antioksidan olarak bilinen birçok savunma sistemi mevcuttur. Antioksidanlar

düşük konsantrasyonlarda oksidasyon yapabilen ve diğer bir substratın oksidasyonunu azaltan (elektron aktarımıyla) veya engelleyen, oksidasyona karşı mücadele eden maddelerdir. Antioksidanlar lipid peroksidasyonunda zincir reaksiyonunu engelleyerek veya ROT'ları toplayarak lipid peroksidasyonunun oluşmasını engeller. Canlılarda enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır [61],[28].

2.5.1 Enzimatik Antioksidanlar

2.5.1.1 Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1); süperoksit serbest radikalinin ($O_2^{\bullet -}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir.

$$O_2^{\bullet -} + O_2^{\bullet -} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

SOD'un metal kofaktörleri olarak Fe-SOD (kloroplast), Mn-SOD (mitokondri ve peroksizom) ve Cu/Zn-SOD (kloroplast ve sitozol) olmak üzere göre üç tane izomeri vardır. Genel olarak SOD enzimi biyotik ve abiyotik streslere karşı kuvvetli antioksidan olarak görev almaktadır. Yapılan çalışmalarda, SOD aktivitesinin tuz stresinde *viz*. *Mulbery* [76] ve *Lycopersicon esculentum* [71], bitkilerinde arttığı görülmüştür. Kadmiyum (Cd) stresinde ise SOD aktivitesinin *Hordeum vulgare* [73], *A. thaliana* [77] ve *Tiriticum aestivum'*da [72] arttığı tespit edilmiştir.

2.5.1.2 Katalaz

Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6); peroksizom ve sitozolde bulunan katalaz; hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya ve oksijene parçalar.

$$H_2O_2 \longrightarrow H_2O + 1/2O_2$$

CAT oksidatif strese karşı bilinen en kuvvetli antioksidan enzimler arasındadır. 1 molekül CAT yaklaşık 6 milyon H_2O_2'yi suya ve oksijene çevirmektedir. H_2O_2 den farklı olarak CAT metil hidrojen peroksit (MeOOH) gibi bazı hidroperoksitlere de etki eder [78]. Cd stresinde *Glycine max* [79], *Phragmites australis* [80] ve *Capsium annuum*'da

[81] CAT enzim avtivitesi azalırken, *T. aestivum* [72] ve *O. Sativa*'de [83] arttığı tespit edilmiştir. *A. doliolum*'da tuz ve Cu^{+2} stresinde CAT aktivitesi azalırken [84], kuraklık stresinde yüksek ışık P.*asperate*'de CAT aktivitesini arttırmıştır [85].

2.5.1.3 Askorbat Peroksidaz

Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11); H_2O_2'nin H_2O ve dehidroaskorbata dönüşümünü katalizleyen bir antioksidan enzimdir.

$$H_2O_2+AA \longrightarrow 2H_2O+DHA$$

APX enzimi CAT ve POD'a göre H_2O_2'ye karşı daha fazla afinitesi vardır. Cd stresinde *Ceratophyllum demersum* [86], *B.juncea* [7] ve *V.mungo* [88] yapraklarında yapılan çalışmalarda APX enzim atvitesinin arttığı tespit edilmiştir. APX enzim aktivitesi su stresinde *P.vulgaris*'da[89], tuz stresinde ise *A doliolu*'da [84] artmıştır.

2.5.1.4 Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px; EC 1.11.1.9); sitozolde bulunan GSH-Px; oksidatif streste hücrelerde oluşan H_2O_2, organik ve hidroperoksitlerinin indirgenmesinden sorumlu bir enzimdir [90].

$$H_2O_2+2GSH \xrightarrow{\text{GSH-Px}} GSSG+2H_2O$$

$$ROOH+2GSH \xrightarrow{\text{GSH-Px}} GSSG+ROH+H_2O$$

Oksidatif streste *C.annuum* bitkisinde [81] GPX aktivitesi artarken, Cd stresinde *P.sativum* [91] bitkisinde köklerde azalma olurken yapraklarda ise bir değişim olmadığı tespit edilmiştir.

2.5.1.5 Glutatyon Redüktaz

Glutatyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2); GSH-Px tarafından hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutatyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşümünü katalize eder.

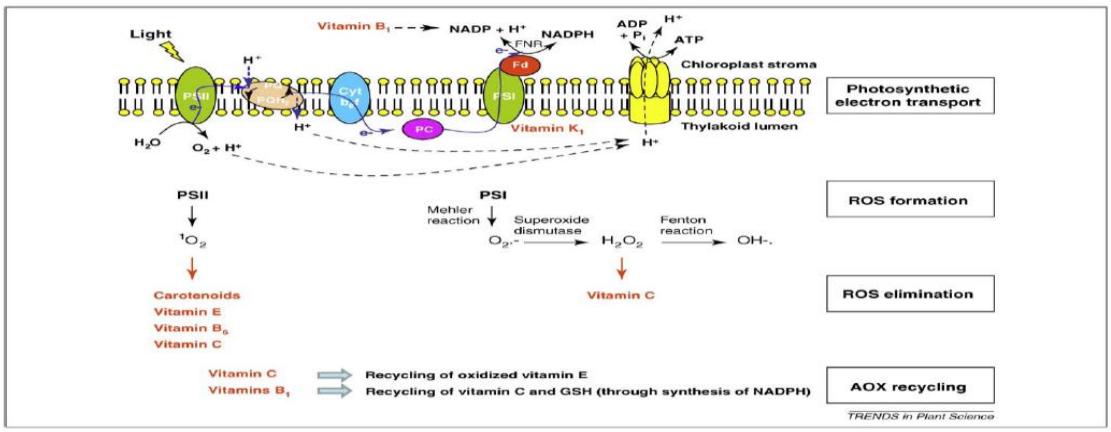
Glutatyon Redüktaz

$$GSSG+NADPH+H^{+} \longrightarrow 2GSH+NADP^{+}$$

GR daha çok kloroplasta bulunur, az miktarda da mitokondri de sitozolde bulunur [92],[93]. Cd stresi altında *C. annuum* [81], *A. tahaliana* [77] ve *T.aestivum*'da [72] artarken, *A. doliolum*'da Cu^{+2} stresinde GR aktivitesi azalmıştır [84].

2.5.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

İnsanlar ve yüksek yapılı hayvan organizmaların yaşamlarını sürdürebilmeleri için sadece protein, karbonhidrat ve yağ yeterli olmaz. Bunların yararlı bir şekilde kullanılması için en önemli yardımcı maddelerden biri de vitaminlerdir. Organik yapıda olan vitaminler insanlar tarafından sentezlenmediğinden günlük diyetlerde alınır. Vitaminler, sadece insan ve hayvan metabolizmasında değil, bitki metabolizmasında da elektronların yükseltgenmesi/indirgenmesi ve birçok biyokimyasal reaksiyonda enzimatik kofaktör olarak görev yapar. Vitaminlerin yetersizliği durumda birçok hastalık ortaya çıkabilmektedir. Canlılar üzerinde yapılan çalışmalarda birçok vitaminin oksidatif streste antioksidan olarak görev aldığı da bilinmektedir. Şekil 2.3'de de görüldüğü gibi vitaminler ETS sisteminde oluşan ROT'ları etkisiz hale getirmektedir [94]. Enzimatik olmayan antioksidanlar üzerinde en çok çalışılan E vitamini (alfa-tokoferol), β karoten, askorbik asit, glutatyon ve fenolik bileşiklerdir [95],[96],[97]. Fakat, bitki metabolizmasında B grup vitaminlerin birçok oksidatif strese karşı antioksidan olarak nasıl bir rol oynadığı konusunda yeteri kadar bilgi bulunmamaktadır.

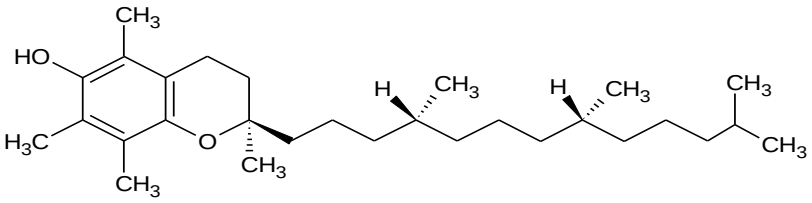


Şekil 2.3 Vitaminlerin fotooksidatif streste antioksidan olarak kloroplastlardaki fonksiyonları [94].

Son yıllarda yapılan birçok klinik çalışmada günlük diyette yeterli vitamin alınmadığından birçok ciddi hastalığın da ortaya çıktığı bilinmektedir [98]. Bitkilerde yapılan bazı çalışmalarda çevresel faktörlerin neden olduğu oksidatif streslere karşı vitamin takviyesinin olumlu etkisi olduğu görülmüştür [12],[99].

2.5.2.1 E Vitamini

Enzimatik olmayan antioksidanlardan biri olan α-tokoferoller ve tokotirioneller bitkilerde kloroplastların içsel zar yapılarında sentezlenen ve thylakoid membranında yoğun olarak bulunan yağda çözünen vitamin grubundandır. Hidrofobik özelliklerinden dolayı zarlara tutunan α-tokoferoller, buradaki çoklu doymamış yağ asidi zincirleri ile etkileşerek zar yapısının stabilizasyonunu sağlamaktadır [100]. Tokoferoller içinde alfa-tokoferol yapısında üç adet metil grubu bulunduğundan diğer tokoferollere göre en yüksek antioksidan etkiyi göstermektedir (Şekil, 2.4), [101]. Ayrıca α-tokoferoller antioksidan özellikleri sayesinde sadece zarları değil bu zarlarda bulunan diğer yapıların da korunmasını sağlar [102]. Tokoferoller koruma amaçlı iki farklı oksidasyon mekanizmasına sahiptir. İlk mekanizmada, bir elektron transferi ile α-tokoferol radikali oluşur. İkinci mekanizma ise, α-tokoferolün $^1O_2$ ile etkileşerek iki elektron transferi ile H_2O_2 oluşturmasıdır. Oluşan α-tokoferol radikali ve H_2O_2, askorbat tarafından indirgenir [103].

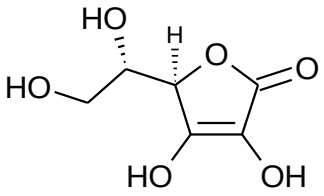


Şekil 2. 4 E vitamini (α-tokoferol)

Bitkilerde yapılan çalışmalarda oksidatif streste tokoferollerin sentezinden sorumlu olan genlerin ekspresyonunun arttığı görülmüştür [104]. Domatese trizole herbisiti verildiğinde ise α-tokoferol miktarı artmıştır. Herbisit pyrazolynate α-tokoferol sentezini sağlayan 4-hydroxyphenylpyruvate enzimin aktivitesini engellediği görülmüştür [105],[106].

2.5.2.2 C Vitamini (L-Askorbik Asit)

Antioksidan moleküller arasında en fazla bulunan C vitamini (Şekil, 2.5), daha çok yeşil yapraklı bitkiler ve meyvelerde bulunan suda çözünen bir vitamindir. Askorbat daha çok bitkinin kloroplastında bulunmasına rağmen belirli bir miktarda hücrenin apoplast bölgesinde de bulunabilmektedir. Askorbat, enzimatik reaksiyonlarda rol almasının yanında, H_2O_2 ile enzimatik olmayan reaksiyona da girer. Askorbatın bir diğer önemli görevi de α-tokoferollerin geri dönüşümünde görev almasıdır. Askorbat, okside α-tokoferol radikalini indirger ve α-tokoferolün tekrar serbest radikalleri yakalayıcı antioksidan olarak görev almasını sağlar [107].



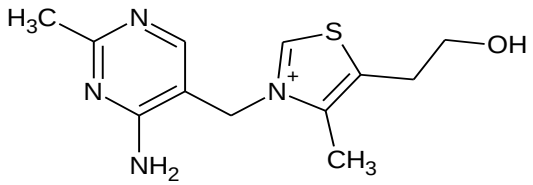
Şekil 2. 5 C vitamini (L-Askorbik Asit)

Stres koşullarına maruz kalan bitki hücrelerinde C vitamini konsantrasyonu artmasıyla $O_2^{\bullet-}$ve OH^- 'ın direkt temizlenmesini sağlar. *Cucumis sativus L*. (salatalık), *Pisum* sativum L. (bezelye), *Nicotiana tabacum L*. (tütün), *Populus nigra L*. (kavak), *Hordeum*

vulgare (arpa), *Picea asperata Mast.* (dragon ladini), *Soja max Piper* (soya) ve daha pek çok bitkide değişik biyotik ve abiyotik koşullar altında gerçekleştirilen enzim ve gen ifadesi analizleri sonucunda askorbik asit ile ilişkili gen ifade seviyelerinin artış gösterdiği saptanmıştır [28].

2.5.2.3 B_1 Vitamini (Tiyamin)

Suda çözünen vitamin grubundan B_1 vitamini (Şekil, 2.6), en fazla tahıllar, et ürünleri ve yeşil yapraklı bitkilerde bulunur. B_1 vitaminin enzim kataliz sisteminde koenzimi tiyamin pirofosfat (TPP)'tır [108]. TPP, karaciğer ve beyinde vücuda alınan serbest tiyaminden sentezlenir. Alfa keto asitlerin oksidatif dekarboksilasyonu ve transketolaz reaksiyonunda (pentoz fosfat yolu) görev alır. Tiyamin eksikliğinde hücrelerin enerji üretim kapasitesi azalmakta ve hücre fonksiyonu bozulmaktadır. Sinirsel iletim sisteminde görev alan asetilkolinin sentezinde koenzim olarak görev alır. Eksikliğinde ise, beriberi hastalığı, yorgunluk, kalp hastalıkları, sinir sistemi fonksiyonu bozuklukları oluşabilmektedir. Ayrıca Wernicke-Korsakoff sendromu tiyamin yetersizliğinden kaynaklanmaktadır [109].



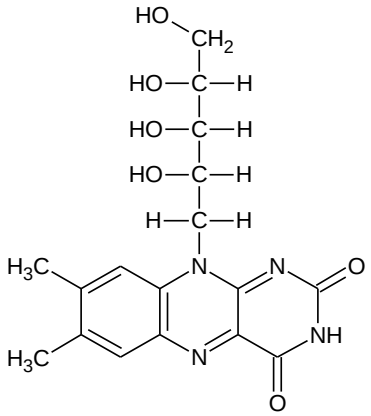
Şekil 2.6 B_1 vitamini (Tiyamin)

Bir çok bakteri, mantar, ve bitkide farklı stres koşullarında oluşan serbest radikalleri azaltmada B1 vitamininin olumlu etkisi görülmüştür. Paraguat (N,N'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride) herbisitin etkisi *Escherichia coli* üzerinde incelenmiş ve herbisitin oluşturduğu oksidatif stresi azaltmada tiyamin antioksidan olarak etkili olmuştur [110]. Karaciğer hücrelerinde yapılan çalışmada ise, kurşun stresine karşı eksojen olarak dışarıdan verilen B_1 ve C vitamininin olumlu etkisi olmuştur [111].

2.5.2.4 B_2 Vitamini (Riboflavin)

Suda eriyen vitamin grubundan riboflavin (Şekil, 2.7) en çok yeşil yapraklı sebzeler ve hayvansal kaynaklı gıdalarda bulunur. Elektron transfer zincirinde koenzim olarak

görev alır. Bilinen koenzim formları; flavin mononükleotit (FMN) ve flavin adenindinükleotit (FAD)'dir. FMN ve FAD oksiredüktaz enzimlerinin prostetik grubu olarak görev alır ve FAD ve FM'ye sahip proteinler flavoproteinler olarak da adlandırılırlar [109].



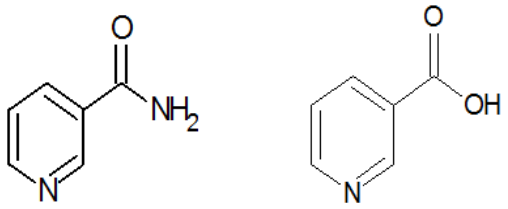
Şekil 2.7 B_2 vitamini (Riboflavin)

Genel olarak dehidrogenazlar olarak da adlandırılan bu enzimler substrattan veya başka bir taşıyıcından elektronları alır ve sitokroma taşırlar. Flavoproteinler bir veya iki elektron transferine izin verirler. Birçok flavoproteinler demir, çinko ve molibden gibi metaller içermesinden dolayı tek ve çift elektron donörlükleri yapar. Riboflavin, protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasında da görev alır [98],[112]. Fotooksidatif streste *Arabidopsis thaliana*'da FAD ve FMN dışarıdan verildiğinde FAD'nin oluşan oksidatif stresi azaltmada etkili olduğu görülürken FMN'nin ise herhangi bir olumlu etkisi görülmemiştir [113]. *Amaranthus polygamous L*. bitkisi tuz stresi altında büyütüldüğünde konsantrasyona bağımlı olarak riboflavin miktarı azalmıştır [14].

2.5.2.5 B_3 Vitamini (Niyasin)

Yapısında piridin halkası bulunan nikotinik asit ve nikotinamidin genel adı niyasindir (Şekil, 2.8). Hayvansal kaynaklı gıdalar, tahıllar ve yeşil yapraklı sebzelerde bol miktarda bulunur. Nikotinamid deaminasyona uğramasıyla nikotinik asit oluşur. Koenzim formları olan NAD^+ ve $NADP^+$; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında iki yüzden fazla tepkimede H iyonu transfer etmektedir. NAD^+ ve NADH daha çok oksiredüksiyon reaksiyonlarında, $NADP^+$ ve NADPH redükleyici sentezlerde görev alır.

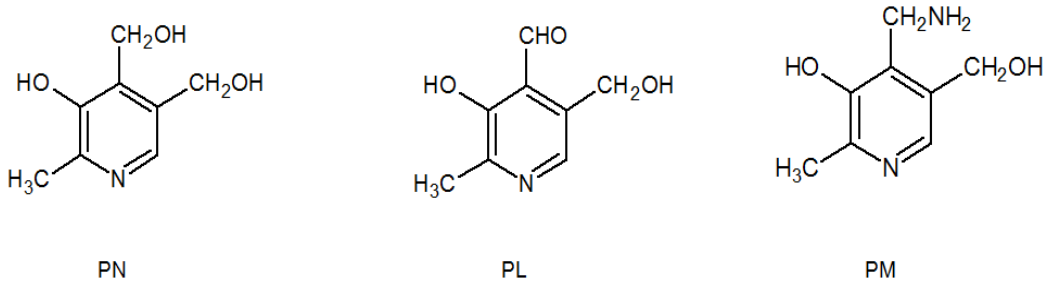
Mısır (*Zea mays L.*) bitkisinde sıcaklık stresinde niyasin seviyesinde herhangi bir azalma görülmemiştir [15]. Bitkilerde oksidatif streste niyasin değişimi ile ilgili çok az sayıda çalışma varken insanlarda yapılan birçok çalışmada antioksidan olarak görev aldığı bilinmektedir [114].



Şekil 2. 8 B_3 vitamini, (Niyasin) (Nikotinamid ve Nikotinik asit)

2.5.2.6 B_6 Vitamini

Vitamin B_6 birbirine dönüşebilen 6 formdan oluşur. Bunlar, pridoksin (PN), pridoksal (PL), pridoksamin (PM) (Şekil, 2.9) ve bu formların fosfat türevleri olan, pridoksin 5'-fosfat (PNP), pridoksal 5'-fosfat (PLP) ve pridoksamin 5'-fosfat (PMP)'tır.



Şekil 2.9 B_6 vitamini

Birçok bakteri, mantar ve bitkide B_6 vitamini sentezinden sorumlu biyosentez yolları vardır. Bitkilerde B_6 vitamini sentezinden sorumlu iki farklı protein vardır. Bu proteinler; *PDX1* ve *PDX2*'dir. Bu genler glikoliz ve pentoz fosfat yolları ara ürünlerinden pridoksal-fosfat'ı sentezlemektedirler. *Arabidopsis thaliana* oksidatif strese maruz kaldığında, B_6 vitamini sentezinde görev alan *PDX1* (Pridokdal fosfat sentetaz) seviyesinin azaldığı görülmüştür. Pridoksal-5-fosfat sentezinde görevli PL kinaz enzim seviyesinde tuz ve soğuk stresinde azalmalar olduğu görülmüştür [10],(115),[116].

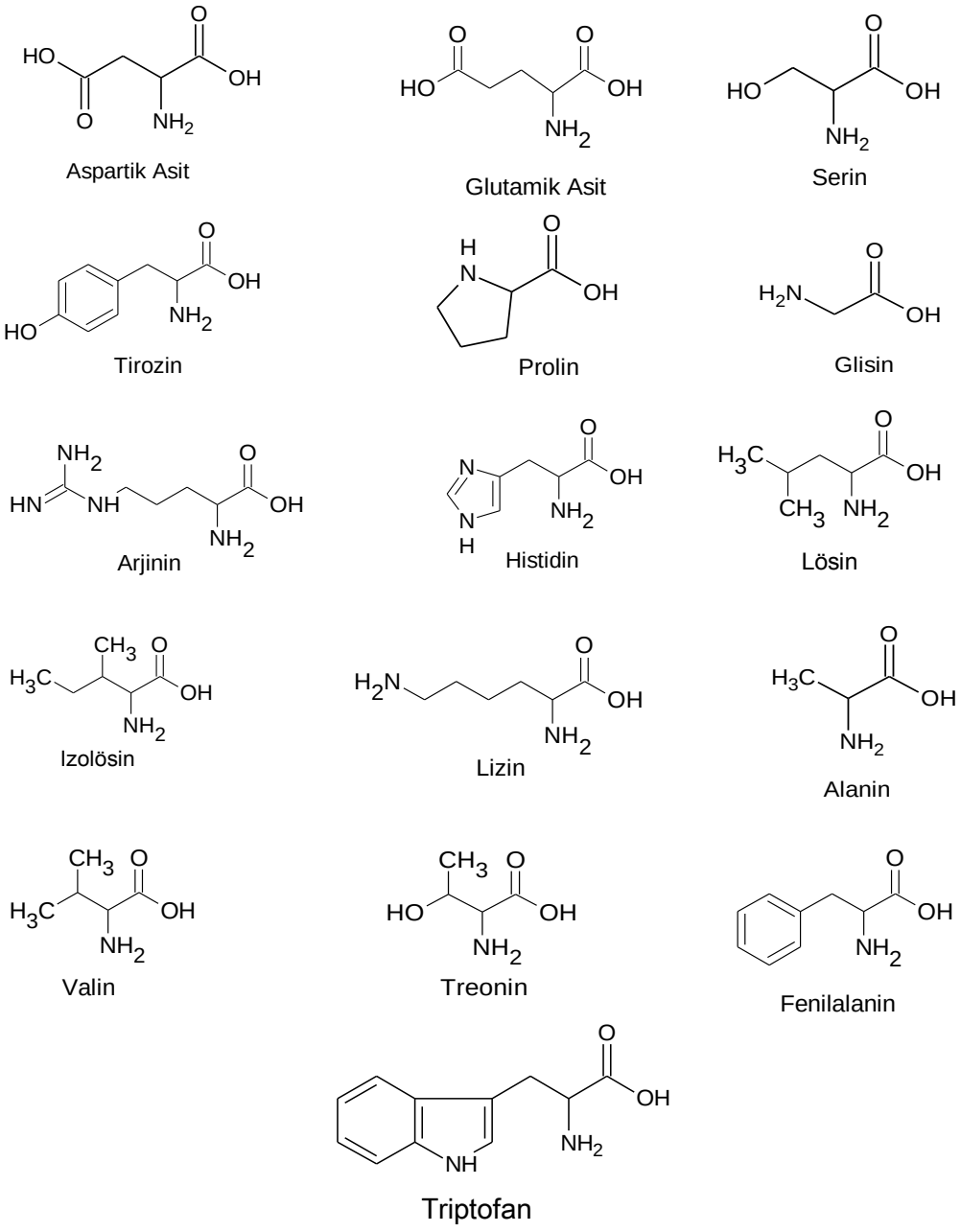
B_6 vitamini birçok biyokimyasal reaksiyonda kofaktör olarak görev almaktadır. Özellikle amino asit metabolizmasında, aktif formu olan pridoksal-fosfat; 100 den fazla bilinen enzimde ko-enzim olarak fonksiyon göstermektedir. Bilinen katalizlediği reaksiyonlar; deaminasyon, transaminasyon, dekarboksilasyon, transülfürasyon ve desülfürasyondur. Ayrıca karbonhidrat metabolizması, etilen ve klorofil sentezinde de görev almaktadır [117],[118]. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda B_6 vitaminin hücrelerde oksidatif stres sonucu oluşan ROT'ları etkisiz hale getirmede kuvvetli bir antioksan olduğu görülmüştür. $^1O_2$ radikalini etkisiz hale getirmek için vitamin E ve C'ye göre karşılaştırıldığında B_6 vitamininin aynı veya daha fazla etkisi olduğu da bulunmuştur [119].Yapılan başka bir çalışmada ise B_6 vitaminin $O_2^{\bullet -}$ radikalinin etkisini azaltmada etkili olduğu görülmüştür [120]. Kan çalışmalarında ise B_6 vitaminin antioksidan etkisi vitamin C ve E'ye göre 3 kat daha fazla olduğu bulunmuştur [121]. B_6 vitamin takviyesi in-vivo tavşan çalışmalarında protein oksidasyonunu engellemiştir [122].

2.6 Amino Asitler ve Protein Oksidasyonu

Proteinler oksidatif stres sonucu oluşan ROT'lardan dolayı oksidasyona uğrayabilir. Birçok amino asidin oksidasyonu geri dönüşümsüz olmasına rağmen, sülfür içeren amino asitler geri dönüşüm sağlayabilir. Ancak, arjinin, histidin, lizin, prolin, treonin ve triptofan ise oksidasyonu geri dönüşümsüzdür. Protein karboksilasyonu amino asitlerin yan zincirlerinin direk oksidasyonu ile olmaktadır. Amino asitlerin kökleri ya da R gruplarının oksidasyonu sonucu formaldehit, aseton, izobutiraldehit ve glioksilik asit gibi karbonil bileşikleri oluşur [123],[124]. ROT'lar özellikle sülfür ve tiyol grubu içeren amino asitlere etki etmektedir. Özellikle sistein ve metiyonin $^1O_2$ ve $OH^{\bullet}$ radikalleri ile daha hızlı reaksiyona girebilmektedir. Buğday yaprağında protein karboksilasyonu mitokondride, kloroplast ve peroksizomlara göre daha fazla olmaktadır. Bu nedenle oksidatif strese karşı mitokondrinin daha hassas olduğu görülmüştür [61]. Çalışma kapsamında incelenecek olan amino asitler Şekil 2.10'da gösterilmiştir.

Birçok çalışmada prolinin enzimatik olmayan antioksidan olarak ROT'lara karşı etkili olduğu bilinmektedir. Serbest halde bulunan prolinin özellikle proteinin stabilitesini korumada, lipit peroksidasyonu inhibe etmede, tuz, metal ve su kaybı gibi abiyotik

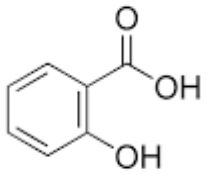
stresler sonucu oluşan $OH^{\bullet}$ ve $^{1}O_2$ gibi ROT'ları etkisiz hale getirmede etkili olduğu görülmüştür. Transgenik bitkilerde oluşan abiyotik streslerde prolin sentezi artmıştır [125],[126]. Herbisitlerin proteinler ve amino asitler üzerine yapılan çalışmalarda herbisit türü ve konsantrasyonuna bağımlı olarak miktarlarında artış ve azalışlar olmuştur [3],[5],[8],[12].



Şekil 2.10 Amino asitler

2.7 Salisilik Asit

Salisilik asidin (SA) (Şekil, 2.11), büyümede, hasarları azaltmada, fungal, bakteriyel ya da viral patojen hastalıklara dirençte, meyve olgunlaşmasında, etilen biyosentezinde solunumda, antioksidan sistemde, gıda kalitesinde ve tohum üretiminde rol aldığı bilinmektedir [24],[127],[128].



Şekil 2.11 Salisilik asit

Salisilik asit bitkilerde, aktif formu olan SA'nın yanında, esterler ve glukozid bağlı formlarında da bulunabilmektedir. Salisilik asit bitkilerde genellikle salisilik asit-β-glukozit (SAG) formunda depo edilmektedir. Tütün yapraklarına dışarıdan SA verildiğinde hücrelerarası boşluklarda salisilik asit-β-glukozidaz aktivitesinin ortaya çıktığı görülmüştür [129]. SAG'ın büyük bir kısmının hücrelerarası boşluklarda bulunduğu, SA'nın büyük bir kısmının ise hücrelerin içinde yer aldığı görülmüştür. Çünkü SA'dan SAG oluşması, hücre içinde olur. Bu verilere göre dışarıdan SA verildiğinde doğrudan hücrelere girdiğini göstermektedir. Ayrıca SAG'nın SA'ya göre daha kolay çözünmesi ve daha az toksiteye sahip olması da daha uzak mesafelere SAG formunda taşınmasında önemli bir etmendir [130]. Salisilik asit bitkilere aspirin formunda verildiğinde ömrünü uzattığı ve etilen biyosentezini engellediği görülmüştür [131].

Sinyal iletim sisteminin önemli bir bileşeni olan SA bir hidroksil grubu veya fonksiyonel türevini taşıyan aromatik bir halkaya sahip fenolik grubundan bir bileşiktir. SA'nın, diğer fenolik bileşikler gibi, bitkinin büyümesinde, gelişmesinde ve diğer organizmalarda etkileşim içinde olduğu bilinir. SA metabolize olmadığı sürece, sentezlendiği ilk noktadan diğer dokulara rahat bir şekilde taşınır. Tarımsal yönden önemli bitkilerde yapılan çalışmalarda, SA'nın bitkinin tüm kısımlarımda olabileceği

belirtilmiştir [132]. Tütün yapraklarında, tütün mozaik virüsünün neden olduğu patojen hastalığa karşı SA verilmesiyle patojen-bağıntılı (PR) proteinlerin seviyesinde önemli bir değişim olduğu görülmüş ve bitki bu virüse karşı dayanıklılık kazanmıştır [133].

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda kullanılan salisilik asit, askorbik asit, fenilizotiyosiyanat (PITC), amonyum asetat, metanol (MeOH), hidroklorik asit (HCl), sodyum hidroksit (NaOH), meta fosforik asit, orto fosforik asit, potasyum ferrisiyanid, hidrojen peroksit, sodyum bisülsit, oktanosülfonik asit sodyum tuzu monohidrat, asetonitril (ACN), sodyum dihidrojenfosfat dihidrat, disodyum hidrojenfosfat dihidrat, l-alanin, l-arjinin, l-aspartik asit, l-glutamik asit, glisin, l-histidin, l-izolösin, l-lösin, l-lisin, l-prolin, l-fenilalanin, l-serin, l-valin, l-tirozin, l-treonin, l-triptofan, tiamin hidroklorid, riboflavin, nikotinik asit, nikotinamid, pridoksin hidroklorid (PN.HCl), pridoksamin hidroklorid (PM.2HCl), pridoksal hidroklorid (PL.HCl), potasyum nitrat (KNO_3), kalsiyum nitrat $Ca(NO_3)_2$, amonyum fosfat ($NH_4H_2PO_4$), magnezyum sülfat ($MgSO_4.7H_2O$), mangan klorür ($MnCl_2.4H_2O$), bakır sülfat ($CuSO_4.5H_2O$), çinko sülfat ($ZnSO_4.7H_2O$), demir sülfat ($FeSO_4.7H_2O$) tartarik asit, alfa-amilaz (aspergillus,1.9 u/mg), asit fosfataz (patatoes, 0.5-3.0 u/mg, papain (carrica papaya, 3.10 u/mg), klara-diastaz (enzim karışımı, ≥ 35 u/mg), taka-diastaz (aspergillus oryzae, ~100 u/mg) ve β- glukozidaz (from almonds, ≥ 2 u/mg) Sigma, Fluka, J.T.Baker, Merck, VWR Chemicals ve ABCR'den temin edilmiştir. Ralon (Fenoxaprop-P-ethyl, ACCase İnhibitör) herbisiti (Bayer CropScience), Granstar (%37,5 Tribenuron methyl + %37,5 Thifensulfuron methyl, ALS inhibitör) herbisiti (Dupont) ve Flamura-85 (*Triticum aestivum* L.) tipi ekmeklik buğday Sektör Tarım Gıda ve Hayv.Ltd.Şti (Çorum) tarafından temin edildi.

3.2 Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

3.2.1 Kromotografik Cihazlar

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	: Shimadzu (Japan)
Ultra Hızlı Sıvı Kromatografisi (UFLC)	: Shimadzu (Japan)
Floresans dedektör	: RF-10AXL, Shimadzu (Japan)
UV/VIS dedektör	: SPD-20A, Shimadzu (Japan)
HPLC pompalar	: LC-20AT, LC20AD, Shimadzu (Japan)

3.2.2 HPLC Kolonlar

Eclipse X08-C18, 5 µm, 4x6x150 mm	: Agilent (USA)
ACE 5 C18, 5 µm, 250x4.6 mm	: ACE (Scotland)
Lichospher 60 RP-select B,5mm, 250-4	: Agilent (USA)

3.2.3 Kullanılan Diğer Cihazlar

İklimlendirme kabini dolabı	: Sanyo, MLR-350 HT (Japan)
Masa santrifüjü	: Sigma, (USA)
pH metre	: Metler Toledo (Switzerland)
Hassas terazi	: Ohaus, Adventurer Pro (USA)
Buzdolabı	: Arçelik (Turkey)
Derin dondurucu	: Arçelik (Turkey)
Otomatik pipetler	: Sigma (USA)
Çalkalamalı su banyosu	: GFL 1086 C (Germany)
Ultrasononik su banyosu	: J.P.Selectra (Spain)
Otoklav	: HMC, HIRAMAYA (Japan)
Isıtıcılı magnetik karıştırıcı	: Heidolph (Germany)
Ultra Viyole-A (UV-A) lamba	: SYLVANIA (Italy)
Teflon tubing (uzunluk: 20 m çap: 0.5 mm):	: Sigma (USA)

3.2.4 Kullanılan Diğer Malzemeler

Çeşitli cam malzemeler, adi filtre kağıdı, mobil faz süzme sistemi, 0.2 µm ve 0.45 µm'lik filtreler ve alüminyum folyo.

3.3 Çözeltilerin Hazırlanması

Hogland besin çözeltisi: 1.02 g KNO3, 0.492 g $Ca(NO_3)_2.4H_2O$, 0.23 g $NH_4H_2PO_4$, 0.49 g $MgSO_4.7H_2O$, 2.86 mg H_3BO_3, 1.81 g $MnCl_2.4H_2O$, 0.08 mg $CuSO_4.5H_2O$, 0.22 mg $ZnSO_4.7H_2O$, 0.6 mg $FeSO_4.7H_2O$, 0.6 mg tartarik asit saf su içerisinde çözülerek hacmi 1 litreye tamamlandı.

0.05 mM Salisilik asit çözeltisi: 0.0069 g salisilik asit 900 mL saf suda çözüldü. 1 N NaOH ile pH: 5.5'e kadar titre edildi. Son hacim saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

0.5 mM Salisilik asit çözeltisi: 0.0690 g salisilik asit 900 mL saf suda çözüldü. 1 N NaOH ile pH: 5.5'e kadar titre edildi. Son hacim saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

5 mM Salisilik asit çözeltisi: 0.690 g salisilik asit 900 mL saf suda çözüldü. 1 N NaOH ile pH: 5.5'e kadar titre edildi. Son hacim saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

Granstar herbisit (0.24 mg/50 ml) çözeltisi: Granstar herbisitinden 24 mg alındı ve 100 ml'lik balon jojede deiyonize su ile çözündürüldü ve hacmine tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 1 ml alındı ve 50 ml'lik balon jojeye tekrar deiyonize su ile tamamlandı.

Ralon herbisit (9.6 µl/50 ml) çözeltisi: Ralon herbisitinden 960 µl alındı ve 100 ml'lik balon jojeye deiyonize su ile hacmine tamamlandı. Hazırlanan çözeltiden 1 ml alındı ve 50 ml'ye tekrar deiyonize su ile tamamlandı.

Hidroklorik asit çözeltisi (0.1 N): 1 L'lik balon joje içine 8.28 ml hidroklorik asit ilave edildi, deiyonize su ile hacimine tamamlandı.

Hidroklorik asit çözeltisi (0.1 N, pH 6.3): 1 L'likbalon joje içine 8.28 ml hidroklorik asit ilave edildi, hacmi deiyonize suyla tamamlandı, pH değeri 6.3'e ayarlandı.

Hidroklorik asit çözeltisi (6 N): 1 L'lik balon joje içine 496.8 ml hidroklorik asit ilave edildi, deiyonize su ile hacimine tamamlandı.

Sodyum hidroksit çözeltisi (5 N): 1 L'lik balon joje içine 200 g sodyum hidroksit tartıldı, deiyonize suyla çözündürüldü ve hacimine tamamlandı.

Sodyum hidroksit çözeltisi (%15): 15 g sodyum hidroksit 100 ml'lik balon joje içine tartıldı, hacim deiyonize suyla tamamlandı.

Meta fosforik asit çözeltisi (%3): 60 g meta fosforik asit(% 50) 1 L'lik balon jojeye tartıldı. Ultrasonik su banyosunda deiyonize suyla çözündürülerek hacimine tamamlandı.

Sodyum asetat çözeltisi (2.5 M): 20.51 g sodyum asetat tartıldı ve hacmi 100 ml deiyonize su ile tamamlandı.

Amonyum asetat çözeltisi (0.02 M): 200 ml'lik balon joje içine 0.31 g amonyum asetat tartılarak hacimine deiyonize suyla tamamlandı.

Bakır sülfat çözeltisi: 100 ml'lik balon joje içine 0.120 g bakır sülfat tartıldı, bir miktar deiyonize suda çözündürüldü ve hacmi deiyonize su ile tamamlandı.

Potasyum ferrisiyanid çözeltisi (%1): 25 ml'lik balon jojeye 0.250 g potasyum ferrisiyanid tartıldı, hacim %15'lik sodyum hidroksitle tamamlandı.

Amino asit türevlendirme çözeltisi: 100 ml'lik balon joje içine 1.2 ml fenilizotiyosiyanat ve 100 ml asetonitril ilave edilerek hazırlandı.

Asetonitril:Metanol:Trietilamin (ACN:MeOH:TEA) karışımı: 200 ml'lik balon joje içine 100 ml asetonitril, 50 ml metanol ve 20 ml trietilamin eklendi ve karıştırıldı.

Sodyum bisülfit (%1) türevlendirme çözeltisi: 100 ml'lik balon jojeye 1 g sodyum bisülfit tartıldı, hacim deiyonize suyla tamamlandı.

Amino asit standardı (karışım) (100 µg/ml): 100 ml'lik balon jojeye her bir aminoasit standardından (aspartik asit, glutamik asit, serin, glisin, histidin, arginin, treonin, alanin, prolin, trozin, valin, izolösin, lösin, fenilalanin, lizin) 10 mg tartıldı. 0.1 N hidroklorik asit ile çözülerek hacimine tamamlandı. Stok standart çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak 1, 2.5 ve 5 ppm'lik çalışma standartları hazırlandı.

Triptofan standardı (100 µg/ml): 100 ml'lik balon jojeye 10 mg triptofan standardı tartıldı. Bir miktar pH 6.3 hidroklorik asit çözeltisi ile çözündürüldü ve hacimine

tamamlandı. Stok standart çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak 0.2, 0.4 ve 0.8 ppm'lik çalışma standartları hazırlandı.

Vitamin C (L-askorbik asit) stok çözeltisi (100 µg/ml): 10 mg C vitamini standardı 100 ml'lik balon joje içine tartıldı, hacim %3'lük meta fosforik asit ile tamamlandı ve 2, 5, 10 ppm'lik çalışma standartları hazırlandı.

Standart tiyamin stok çözeltisi (100 µg/ml): 100 ml'lik balon joje içine 10 mg tiamin hidroklorid standardı tartıldı, bir miktar 0.1 N hidroklorik asit ile çözündürüldü ve hacimine tamamlandı, gerekli seyreltme işlemleri yapılarak 0.05, 0.1 ve 0.2 ppm'lik çalışma standartları hazırlandı. Her bir çalışma standardına son hacim olan 50 ml'ye tamamlanmadan önce içine 2 ml %1'lik potasyum ferrisiyanid çözeltisinden ilave edildi ve standartların pH değeri orto-fosforik asitle 7-7.1 arasına ayarlanarak tiyamin floresans türevi olan tiokroma dönüştürüldü.

Standart riboflavin stok çözeltisi (100 µg/ml): 100 ml'lik balon joje içine 10 mg tiamin hidroklorid standardı tartıldı, bir miktar 0.1 N hidroklorik asit ile çözündürüldü ve hacimine tamamlandı, gerekli seyreltme işlemleri yapılarak 0.05, 0.1 ve 0.2 ppm'lik çalışma standartları hazırlandı.

Nikotinik asit ve nikotinamid stok çözeltisi (100 µg/ml): 100 ml'lik balon jojeye 10 mg nikotinamid ve 10 mg nikotinik asit standartlarından tartıldı, bir miktar 0.1 N hidroklorik asitle ultrasonik su banyosunda çözündürüldü, hacim 0.1 N hidroklorik asitle tamamlandı. Gerekli seyreltmeler yapılarak; 1, 2, 3 ve 4 ppm'lik standartlar hazırlandı.

Standart pridoksal, pridoksin ve pridoksamin stok çözeltisi (100 µg/ml): 100 ml'lik balon jojeye her bir standarttan 10 mg tartıldı, 60-70 ml 0.1 N hidroklorik asit ile çözündürüldü, ultrasonik su banyosunda 10 dakika tutultu ve çözünmesi sağlandı, hacim 0.1 N hidroklorik asitle tamamlandı. Stok standarttan gerekli seyreltmeler yapılarak 0.05, 0.1 ve 0.2 ppm'lik çalışma standartları hazırlandı.

3.4 Buğdayların Büyütülmesi

3.4.1 İklim Kabininde Buğdayların Büyütülmesi

Bu araştırmada, bitki materyali olarak, Flamura-85 (*Triticum aestivum L*.) tipi ekmeklik buğday kullanıldı. Bitkilere ait tohumlar, %1'lik sodyum hipoklorit içerisinde 5 dakika süre ile sterilize edildi. Daha sonra 3 kez saf su ile yıkanarak, oda şartlarında ekim yapılamadan önce saf su içerisinde 2 saat bekledildi. Bitki büyülmesinde kullanılacak olan kumlar iyice yıkandı ve ekime hazırlanmış olan buğday tohumları 0.120 m^2 büyüklükteki saksılara ekildi. 1/10 oranında seyreltilmiş olan Hoagland besin çözeltisi ile sulandıktan sonra saksılar iklim kabininde (ışık "gün uzunluğu" 20,000 luks, %70±nem, ±0.1 ^{o}C sıcaklık) 12 saat ışık/12 saat karanlık (20/15 ^{o}C) periyodunda 15 gün süre Hoagland besin çözeltisi verilerek büyütüldü [135],[136].

3.5 Herbisit ve Salisilik Asit Uygulaması

Bitkiler, normal şartlarda 20/15 ^{o}C'de 15 gün süre ile büyütüldükten sonra bir kısmı kontrol olarak ayrılırken bir kısmı da Herbisit, SA ve Herbisit+SA olarak ayrıldı. SA olarak ayrılan saksılara 0.05, 0.5 ve 5 mM'lık SA çözeltilerden 50'şer ml püskürtüldü [135],[136]. Herbisitler için ayrılmış saksılara ise Granstar (0.24 mg/50 ml) ve Ralon (9.6 µl/50 ml)'dan ürün etiket bilgisinde belirtilen tarla şartlarında uygulanan konsantrasyonlar hesaplandı ve püskürtüldü. Çalışmada Herbisit+SA uygulaması için ise sadece Ralon herbisiti kullanıldı. Uygulamalar aşağıda gösterilmiştir.

Kontrol

Herbisit (Ralon)

Herbisit (Granstar)

0.05 mM SA

0.5 mM SA

5 mM SA

Herbisit (Ralon) + 0.05 mM SA

Herbisit (Ralon) + 0.5 mM SA

Herbisit (Ralon) + 5 mM SA

15. gün sonunda yukarıdaki uygulamalar tamamlandıktan sonra 24 (1.Gün), 48 (2.Gün) ve 72. (3.Gün) saatlerde yapraklar kesildi. Kesilen yapraklarda aminoasitler (aspartik asit, glutamik asit, serin, glisin, histidin, arginin, treonin, alanin, prolin, trozin, valin, izolösin, lösin, fenilalanin, lizin ve triptofan) ve vitamin C (askorbik asit), B_1 vitamini (tiyamin), B_2 vitamini (riboflavin), B_3 vitamini, niyasin (nikotinik asit, nikotinamid), B_6 vitamini (pridoksal, pridoksin, pridoksamin) ve miktarlarının değişimi incelendi. Çalışmada kullanılan tüm analiz metotların validasyon ve belirsizlik hesapları yapıldı ve akredite analiz yöntemleri kullanıldı. Çalışmada elde edilen her bir ortalama değer 4 farklı paralelin sonucudur. İstatiksel analizler ANOVA testi (tek yönlü dağılım analizi) $p<0.01$ kullanılarak yapılmıştır.

3.6 Analiz Yöntemleri

3.6.1 UFLC Yöntemi ile Amino Asit Kompozisyonunun Tayini

Yöntemin prensibi; örnekteki proteinlerin amino asit bileşenlerine parçalanması amacıyla uygulanan asidik hidrolizden sonra fenil izotiyosiyanat ve asetonitril:metanol:trietilamin çözeltisiyle türevlendirilerek UFLC-UV dedektörde okunması esasına dayanır. Fenil izotiyosiyanat "Edman reaktifi" olarak da bilinir ve amino asitler fenilizotiyosiyanat ile reaksiyona girerek feniltiyokarbamil (PTC) türevlerini verirler. Kolon öncesi türevlendirme ile elde edilen feniltiyokarbamil türevleri ters-faz kolon kullanılarak UV dedektörle kolayca tespit edilebilirler. Triprofan asit hidrolizi sonucu tamamen bozunduğu için baz hidroliz yöntemi ile yapıldı. Kuvvetli asit çözeltisi ile hidroliz edildiklerinden kükürt içeren amino asitler hemen bozunduğundan değerlendirmeye alınmamıştır. Buğday yaprağındaki toplam 16 adet amino asit (aspartik asit, glutamik asit, serin, glisin, arjinin, histidin, treonin, lizin, alanin, prolin, lösin, izolösin, tirozin, fenilalanin, valin ve triptofan) incelendi.

Sıvı azot ile iyice homojenize edilmiş buğday yağrağı örneğinden 0.5 g tartıldı, 50 ml'lik ağzı kapalı analiz şişesi içerisine alındı, 6 N hidroklorik asit çözeltisinden 20 ml ilave edildi, şişe içine azot gazı verilerek ağzı sıkıca kapatıldı ve 24 saat 110 °C'de etüvde hidroliz olması sağlandı. Örnek, oda sıcaklığına getirilerek adi filtre kâğıdından

süzüldü. Süzüntüden 0.2 ml deney tüpüne alınarak azot gazı altında 50 °C'de uçuruldu ve üzerine 0.5 ml asetonitril ilave edilerek tekrar uçurma işlemi yapıldı. Tüp içindeki kalıntıya yaklaşık 0.5 ml asetonitril:metanol:trietilamin karışımı ve 0.1 ml türevlendirme çözeltisinden ilave edildi ve 40 °C'de etüvde 30 dakika süreyle türevlendirildi. Azot gazı altında 40 °C'de uçurulduktan sonra üzerine 0.2 ml asetonitril ilave edildi ve azot gazı altında tekrar uçuruldu. Üzerine 5 ml 0.02 M amonyum asetat çözeltisi ilave edildi. 0.2 µm filtreden süzüldü ve UFLC'ye enjekte edildi [136],[137].

Mobil faz A: 1 L'lik balon jojeye 0.78 g sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ve 0.88 g disodyum hidrojen fosfat dihidrat tartıldı ve deiyonize su ile hacimine tamamlandı. Tampon çözeltisinin pH değeri 6.8-6.9 arasında olacak şekilde ayarlandı ve süzüldü.

Mobil faz B: Asetonitril

Kolon sıcaklığı: 40°C

Dedektör: Ultra viyole (UV)

Dalga boyu: 254 nm

Enjeksiyon hacmi: 10 µl

Akış hızı: 1 ml/dakika

Kolon: ACE 5 C18, 250x4.6 mm

Gradient Program:

Zaman (dakika)	Mobil Faz A (%)	Mobil Faz B (%)
0.01	96	4
15.00	84	16
22.00	65	35
26.00	60	40
28.00	40	60
30.00	40	60
33.00	40	60
33.01	96	4
40.00	96	4

3.6.2 HPLC Yöntemi ile Triptofan Tayini

Sıvı azot ile iyice homojenize edilmiş buğday yağrağı örneğinden 0.5 g tartıldı ve 50 ml'lik ağzı kapaklı şişe içine alındı ve 5 N sodyum hidroksit çözeltisinden 20 ml ilave edildi, şişe içine azot gazı verilerek ağzı sıkıca kapatıldı ve 12 saat 120 °C'de etüvde hidroliz edildi. Örnek, oda sıcaklığına getirilerek adi filtre kâğıdından süzüldü. Süzüntüden 1 ml alındı ve üzerine 60 ml deiyonize su ilave edildi ve pH 6.3'e 0.1 N hidroklorik asit çözeltisiyle ayarlandı, hacmi deiyonize su ile 100 ml'ye erlen içinde tamamlandı, 0.45 µm'luk filtreden süzüldü ve HPLC'ye enjekte edildi [138[,[139],[140].

Mobil faz: 1 L'lik mobil faz şişesine 3 g amonyum asetat tartıldı, üzerine 900 ml deiyonize su ilave edildi, pH 6.3'e ayarlandı, üzerine 100 ml asetonitril eklenerek karıştırıldı ve süzüldü.

Dedektör: Floresans

Kolon: Lichospher 60 RP-select B 5µm, LiChroCART 250-4 HPLC Cartridge

Dalga boyu: Eksitasyon: 280 nm, Emisyon: 340 nm

Enjeksiyon hacmi: 10 µl

Akış hızı: 1 ml/dakika

Analiz süresi: 10 dakika

3.6.3 HPLC Yöntemi ile C Vitamini (L-Askorbik Asit) Tayini

Sıvı azot altında iyice homojen edilmiş buğday yaprağı örneğinden 2 g tartıldı ve 100 ml'lik balon joje içine alındı, üzerine yaklaşık 70-80 ml %3'lük meta fosforik asit çözeltisi ilave edildi, çalkalayıcıda 10 dakika süreyle çalkalandı, hacmi %3'lük meta fosforik asit çözeltisiyle tamamlandı, sırayla adi filtre kâğıdı ve 0.45 µm filtreden süzüldü, HPLC'ye enjekte edildi [141],[1429,[143].

Mobil faz: 1 L'lik balon jojeye 1.48 g potasyum dihidrojen fosfat tartıldı, pH 2.4'e orto fosforik asitle ayarlandı, hacim deiyonize suyla tamamlandı.

Dedektör: Ultra Viyole (UV)

Kolon: ACE 5 C18, 250x4.6 mm, 5 µm

Dalga boyu: 254 nm

Enjeksiyon hacmi: 20 µl

Akış hızı: 0.5 ml/dakika

Analiz süresi: 20 dakika

3.6.4 HPLC Yöntemi ile Niyasin (Nikotinik Asit, Nikotinamid) Tayini

İyice homojenize edilmiş buğday yaprağı örneğinden 2 g tartıldı ve 100 ml'lik erlen içine alındı, üzerine 60 ml 0.1 N hidroklorik asit eklendi, 30 dakika süreyle 121°C'de otoklavda bekletildi. Örnek, süre sonunda otoklavdan alındı oda sıcaklığına kadar soğutuldu, hacim 0.1 N hidroklorik asitle tamamlandı, adi filtre kâğıdından süzüldü, 0.45 µm filtreden geçirildi ve HPLC'ye enjekte edildi [144],[145].

Mobil faz: 100 ml'lik erlene 9.5 g potasyum dihidrojen fosfat tartıldı, üzerine 500 ml deiyonize su ilave edildi ve manyetik karıştırıcıda çözündürüldü. Üzerine 7.5 ml hidrojen peroksit ve bakır sülfat çözeltisinden 2 ml ilave edildi, hacim 1 L'ye deiyonize suyla tamamlandı ve 0.22 µm'lik filtreden süzüldü.

Dedektör: Floresans

Kolon: Lichospher 60 RP-select B 5µm, LiChroCART 250-4 HPLC Cartridge

Dalga boyu: Eksitasyon:322, Emisyon:380 mn

Kolon sonrası türevlendirme: UVA Bölgesinde (300-400 nm)

Enjeksiyon hacmi: 20-50 µl

Akış hızı:1 ml/dakika

Analiz süresi: 40 dakika

3.6.5 HPLC Yöntemi ile B_1 Vitamini (Tiyamin) Tayini

Sıvı azot altında iyice homojen edilmiş buğday yaprağı örneğinden 1 g tartıldı ve 100 ml'lik erlen içine alındı, üzerine 60 ml 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi ilave edildi, 121°C'de 30 dakika otoklavda bekletildi. Örnekler oda sıcaklığına kadar soğutuldu, 2.5 M'lık sodyum asetat çözeltisi kullanılarak pH 4.5'e ayarlandı. Örneğin üzerine; 100 mg

taka-diastaz, 100 mg klara-diastaz, 5 mg asit fosfataz enzimi eklendi ve çalkalamalı su banyosunda 45°C'de üç saat süreyle inkübe edildi. Süre sonunda örnek oda sıcaklığına gelene kadar soğutuldu ve hacim 100 ml'ye 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi ile tamamlandı ve adi filtre kâğıdından süzüldü. Süzülmüş örnekten 25 ml, polietilen tüpler içine alındı, üzerine 1.5 ml potasyum ferrisiyanid çözeltisi ilave edilerek tiyamin floresans türevi olan tiokroma dönüştürüldü ve orto-fosforik asitle pH 7.0-7.1'e ayarlandı ve 0.45 µm filtreden süzülerek HPLC'ye enjekte edildi [146],[147],[148].

Mobil faz: 1.48 g potasyum dihidrojen fosfat tartılı, 1000 ml'lik balon jojeye kondu ve üzerine 750 ml deiyonize su ilave edildi, manyetik karıştırıcıda çözündürüldü ve hacmi metanol ile tamamlandı. Hazırlanan mobil faz, sodyum hidroksit kullanılarak pH 7.1'e ayarlandı, 0.22 µm filtreden süzülerek HPLC'ye enjekte edildi.

Dedektör: Floresans

Kolon: Agilent, Eclipse X08-C18, 5 µm, 4x6x150 mm

Dalga boyu: Eksitasyon: 366 nm, Emisyon: 445 nm

Enjeksiyon hacmi: 20-50 µl

Akış hızı:1 ml/dakika

Analiz süresi: 25 dakika

3.6.6 HPLC Yöntemi ile B_2 Vitamini (Riboflavin) Tayini

Sıvı azot altında iyice homojen edilmiş buğday yaprağı örneğinden 1 g tartıldı, 100 ml'lik erlen içine alındı, üzerine 60 ml 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi ilave edildi, 121°C'de 30 dakika otoklavda bekletildi. Örnekler oda sıcaklığına kadar soğutuldu, 2.5 M'lık sodyum asetat çözeltisi kullanılarak pH 4.5'e ayarlandı. Örneğin üzerine; 100 mg taka-diastaz, 100 mg klara-diastaz, 50 mg papain, 20 mg alfa-amilaz, 5 mg asit fosfataz enzimi eklendi ve çalkalamalı su banyosunda 45°C'de üç saat süreyle inkübe edildi. Süre sonunda örnek oda sıcaklığına gelene kadar soğutuldu ve hacim 100 ml'ye 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi ile tamamlandı, adi filtre kâğıdından süzüldü ve HPLC'ye enjekte edildi [146],[147],[148],[149].

Mobil faz: Su:Metanol (75:25)

Dedektör: Floresans

Kolon: Agilent, Eclipse X08-C18, 5 µm, 4x6x150 mm

Dalga boyu: Eksitasyon: 445 nm, Emisyon: 545 nm

Enjeksiyon hacmi: 20-50 µl

Akış hızı: 1 ml/dakika

Analiz süresi: 20 dakika

3.6.7 HPLC Yöntemi ile B_6 Vitamini (PL,PN,PM) Tayini

Sıvı azot altında iyice homojen edilmiş buğday yaprağı örneğinden 1 g tartıldı, 100 ml'lik erlen içine alındı, üzerine 60 ml 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi ilave edildi, 121°C'de 30 dakika otoklavda bekletildi. Örnekler oda sıcaklığına kadar soğutuldu, 2.5 M'lık sodyum asetat çözeltisi kullanılarak pH 4.5'e ayarlandı. Örneğin üzerine; 100 mg taka-diastaz, 100 mg klara-diastaz, 50 mg papain, 20 mg alfa-amilaz, 5 mg asit fosfataz ve 10 mg β-glukozidaz enzimi eklendi ve çalkalamalı su banyosunda 45°C'de 18 saat süreyle inkübe edildi. Süre sonunda örnek oda sıcaklığına gelene kadar soğutuldu ve hacim 100 ml'ye 0.1 N hidroklorik asit çözeltisi ile tamamlandı, adi filtre kâğıdından süzüldü, 0.45 µm filtreden geçirildi ve HPLC'ye enjekte edildi [150],[151].

Mobil faz: 1 L'lik balon jojeye 11 g potasyum dihidrojen fosfat ve 0.5 g oktansülfonik asit sodyum tuzu monohidrat, 1.8 g orto-fosforik asit tartıldı hacim 940 ml'ye deiyonize suyla tamamlandı. Ultrasonik su banyosunda 20 dakika tutuldu, üzerine 60 ml asetonitril ilave edildi, manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve pH 2.85'e orto-fosforik asitle ayarlanarak 0.22'lik filtreden süzüldü.

Kolon sonrası türevlendirme sistemi: 2. HPLC pompası, sodyum bisülfit, akış hızı 0.2 ml/dakika.

Dedektör: Floresans dedektör

Kolon: Agilent, Eclipse X08-C18, 5 µm, 4x6x150 mm

Dalga boyu: Eksitasyon: 290 nm, Emisyon: 395 nm

Enjeksiyon hacmi: 50 µl

Akış hızı:1 ml/dakika

Kolon sıcaklığı: 25°C

Analiz süresi: 40 dakika

BÖLÜM 4

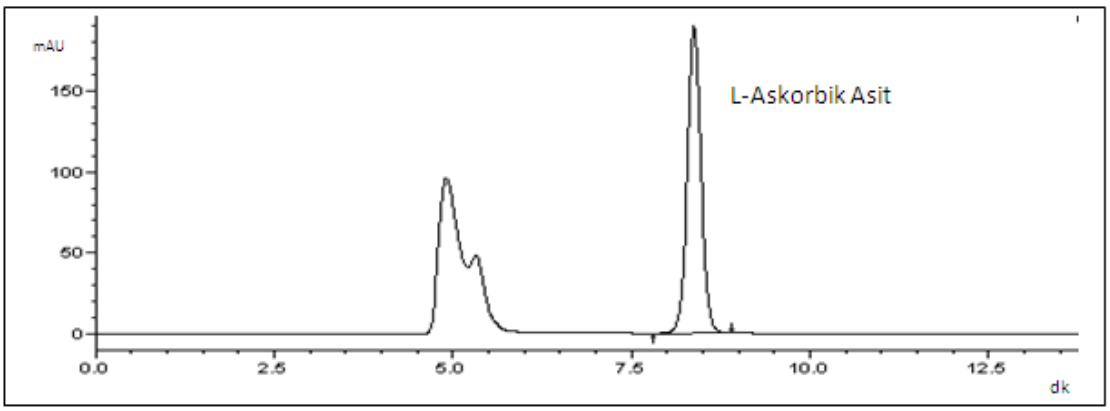
ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Herbisitlere Maruz Kalan Buğday Yapraklarındaki Vitaminlerin Belirlenmesi

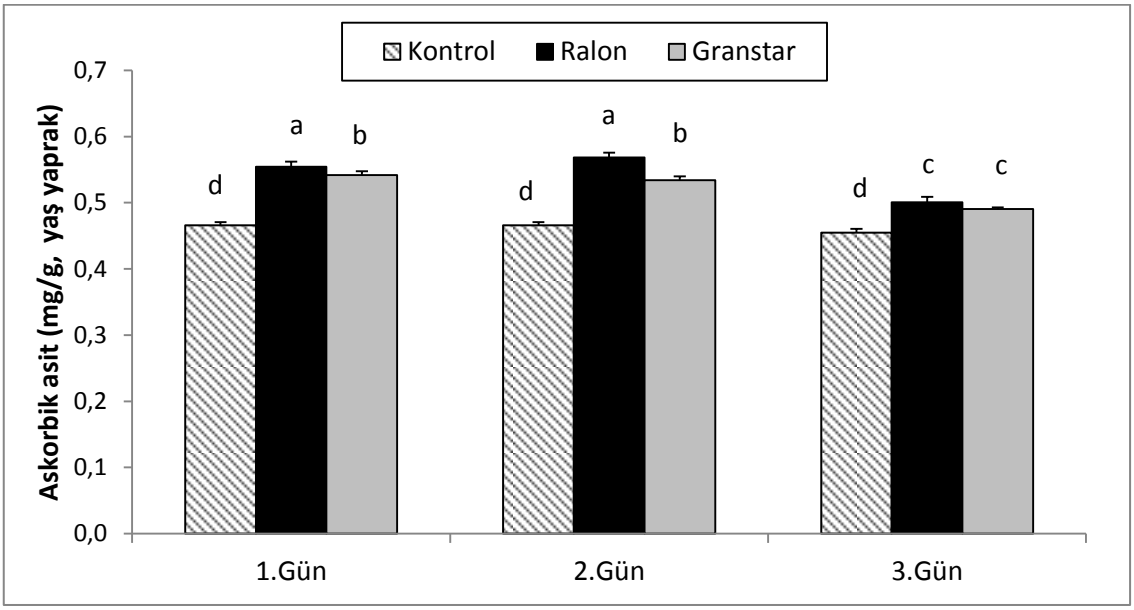
Normal şartlarda 20/15 ^{o}C (Işık/Karanlık)'de büyütülen buğday yapraklarına 15.günde Ralon (9.6 µl/50 ml) ve Granstar (0.24 mg/50 ml) herbisitleri püskürtüldü ve yapraklar 24.(1.Gün), 48.(2.Gün) ve 72.(3.Gün) saat sonunda kesildi. Kesilen yapraklardaki C vitamini (l-askorbik asit), B_1 vitamini (tiyamin), B_2 vitamini (riboflavin), B_3 Vitamini, Niyasin (nikotinik asit, nikotinamid) ve B_6 vitamini (pridoksal, pridoksin, pridoksamin) ve kromotogramları ve sonuçları aşağıda gösterilmiştir.

4.1.1 C Vitamini (L-Askorbik Asit) Sonuçları

Buğday yaprağına ait askorbik asit HPLC kromotogramı Şekil 4.1'de, kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki askorbik asit sonuçları Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



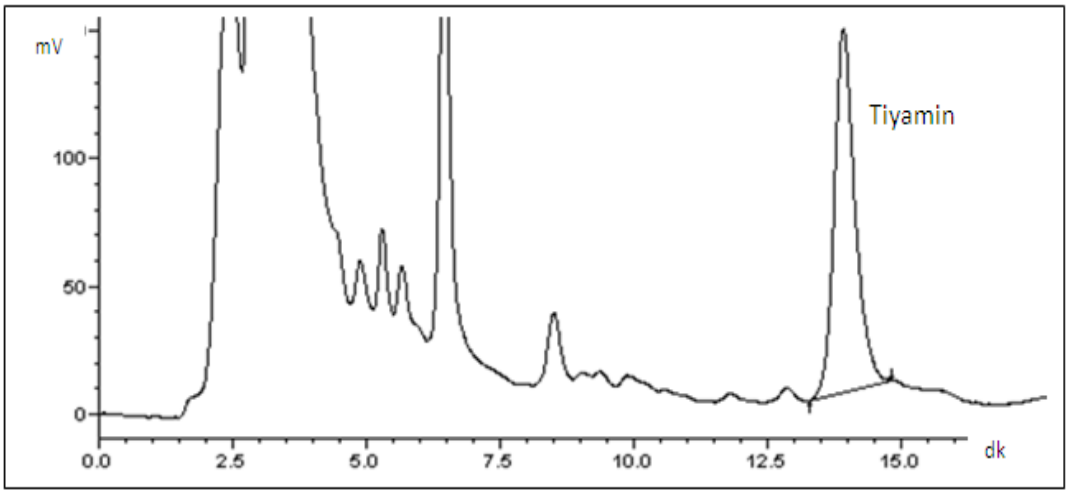
Şekil 4.1 Buğday yaprağındaki C vitamini (l-askorbik asit) HPLC kromatogramı



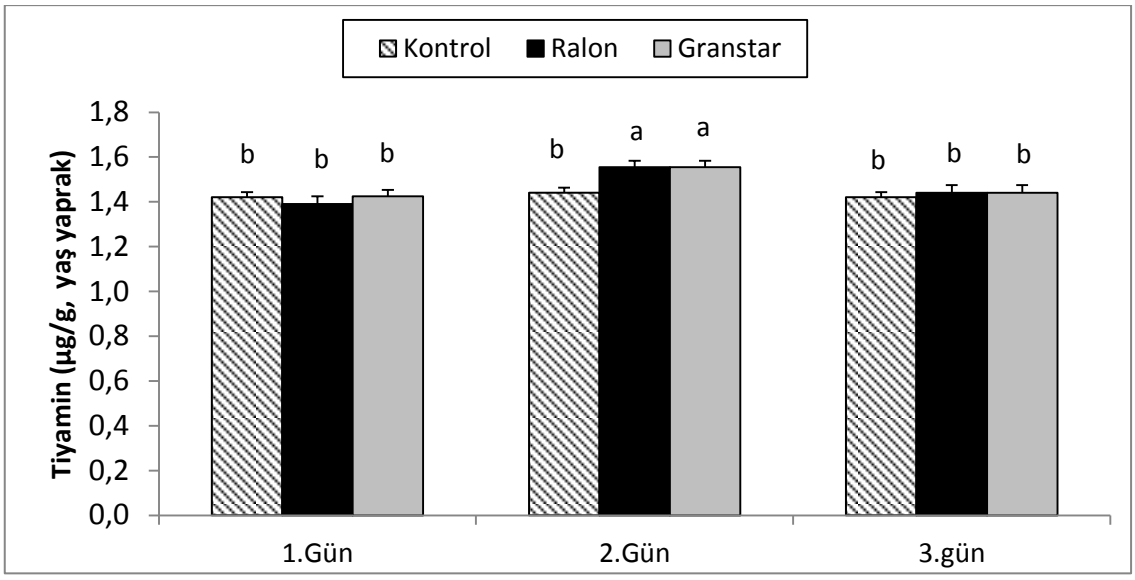
Şekil 4.2 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki askorbik asit sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).

4.1.2 B_1 Vitamini (Tiyamin) Sonuçları

Buğday yaprağına ait tiyamin HPLC kromotogramı Şekil 4.3'de, kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki tiyamin sonuçları Şekil 4.4'de gösterilmiştir.



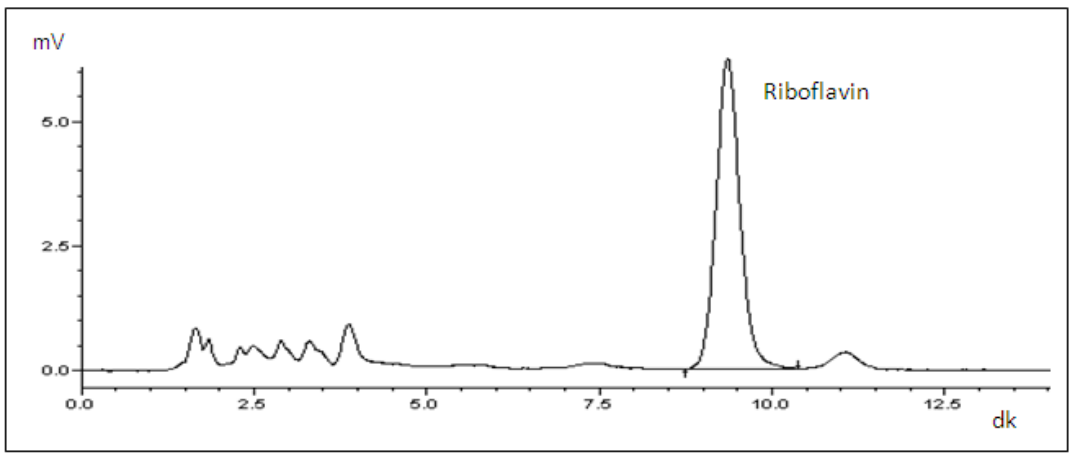
Şekil 4.3 Buğday yaprağındaki tiyamin HPLC kromatogramı



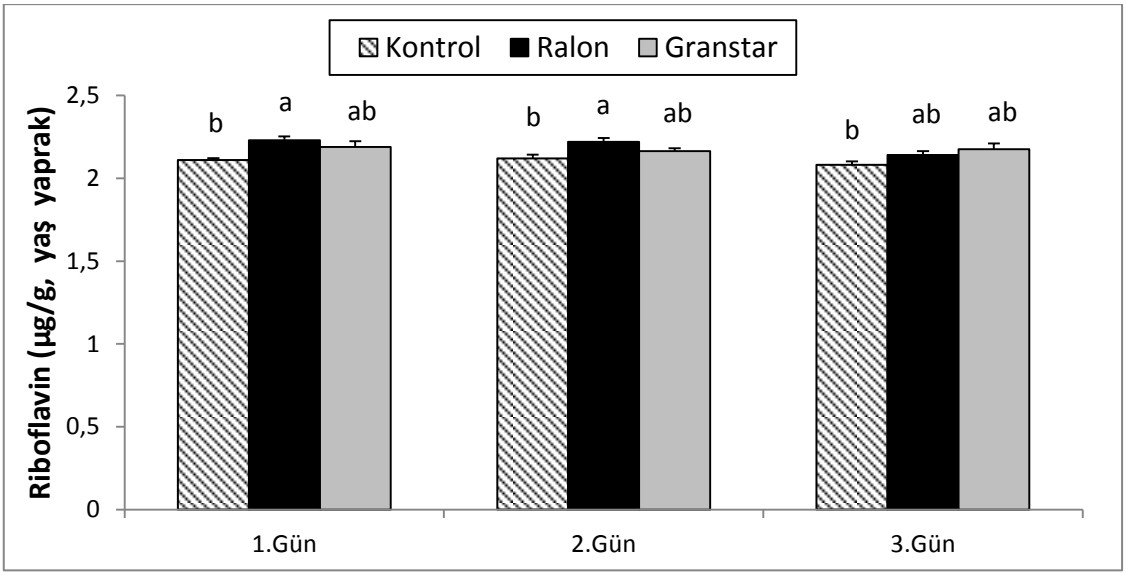
Şekil 4.4 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki tiyamin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).

4.1.3 B_2 Vitamini (Riboflavin) Sonuçları

Buğday yaprağına ait riboflavin HPLC kromotogramı Şekil 4.5'de, kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki riboflavin sonuçları Şekil 4.6'de gösterilmiştir.



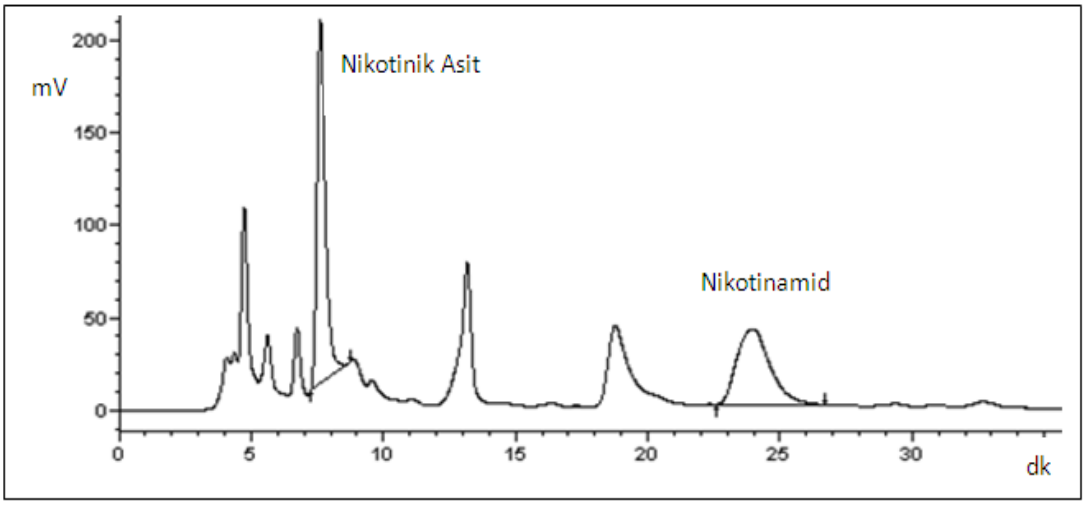
Şekil 4.5 Buğday yaprağındaki riboflavin HPLC kromatogramı



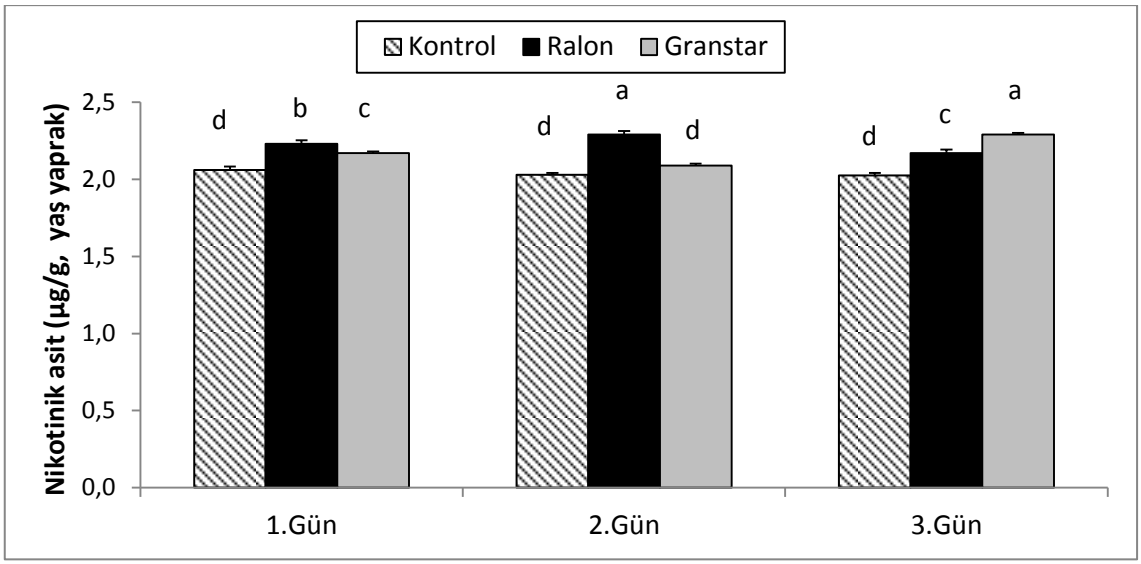
Şekil 4.6 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki riboflavin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).

4.1.4 Niyasin (Nikotinik Asit, Nikotinamid) Sonuçları

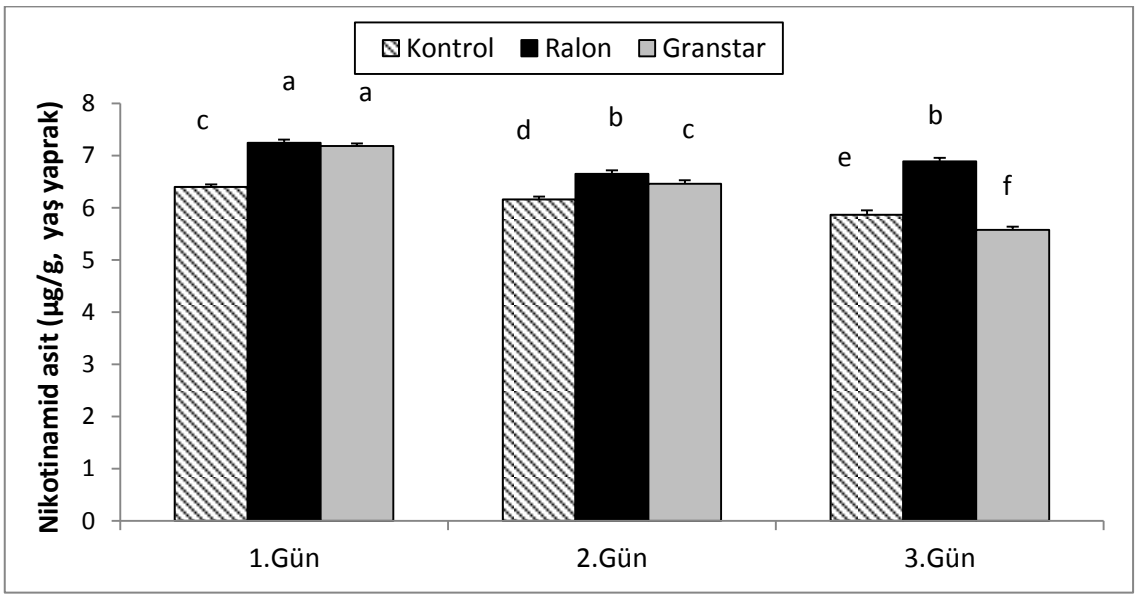
Buğday yaprağındaki nikotinik asit ve nikotinamid HPLC kromotogramı Şekil 4.7'de, kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki nikotinik asit ve nikotinamid sonuçları Şekil 4.8 ve 4.9'da gösterilmiştir.



Şekil 4.7 Buğday yaprağındaki niyasin(nikotinik asit, nikotinamid) HPLC kromatogramı



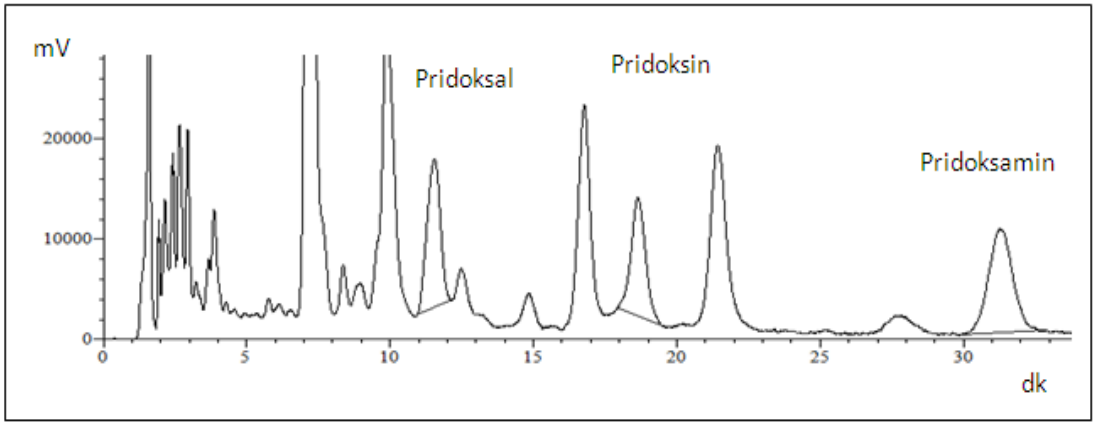
Şekil 4.8 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki nikotinik asit sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).



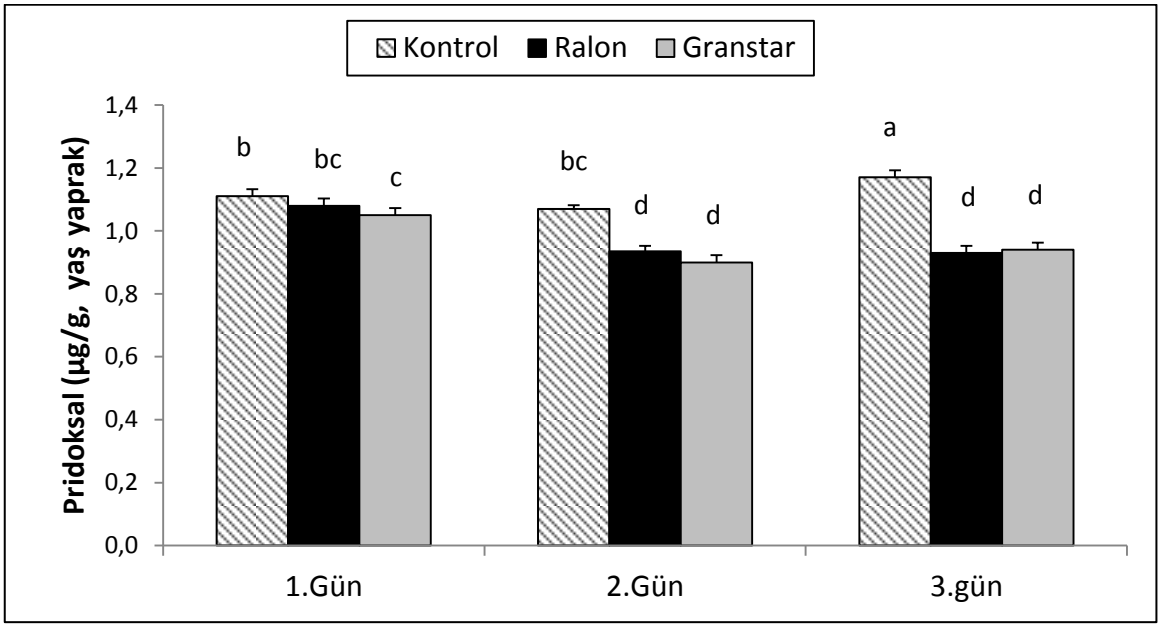
Şekil 4.9 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki nikotinamid sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).

4.1.5 B_6 Vitamini (Pridoksal, Pridoksin ve Pridoksamin) Sonuçları

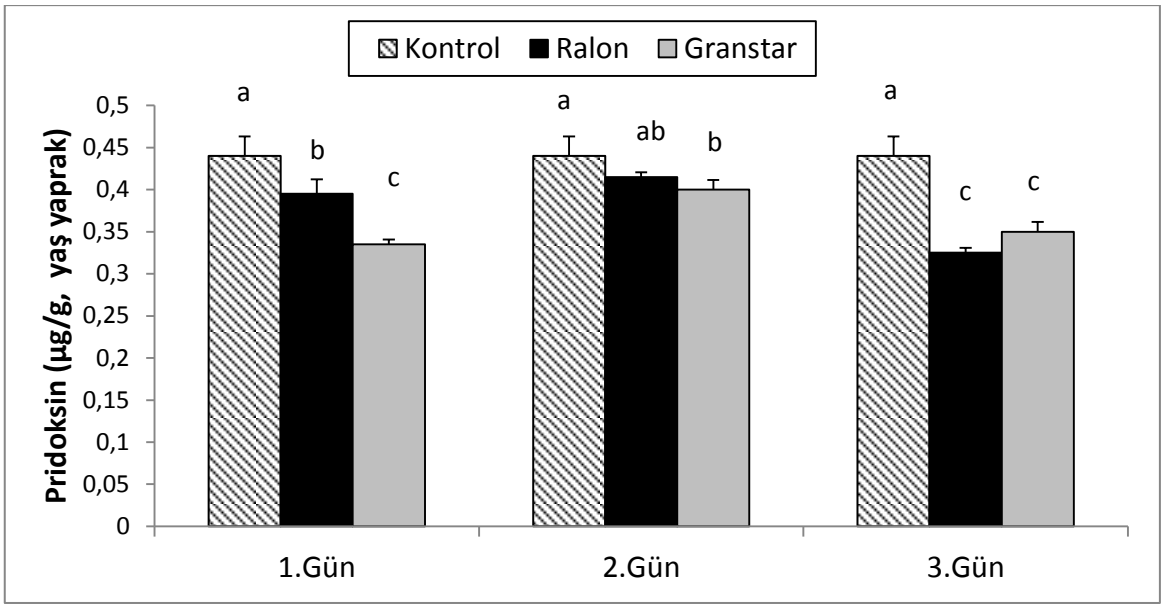
Buğday yaprağındaki B_6 vitamini (PL, PN, PM) HPLC kromotogramı Şekil 4.10'da, kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki B_6 vitamini sonuçları Şekil 4.11 ve 4.12 ve 4.13'de gösterilmiştir.



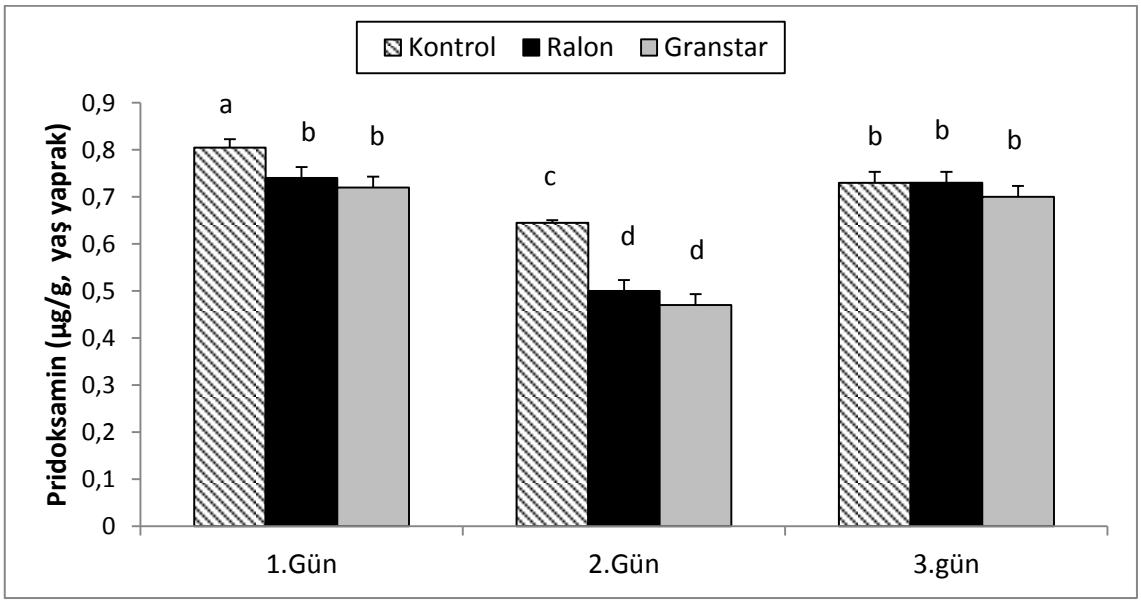
Şekil 4.10 Buğday yaprağındaki B_6 vitamini (PL,PN,PM) HPLC kromatogramı



Şekil 4.11 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki pridoksal sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey test).



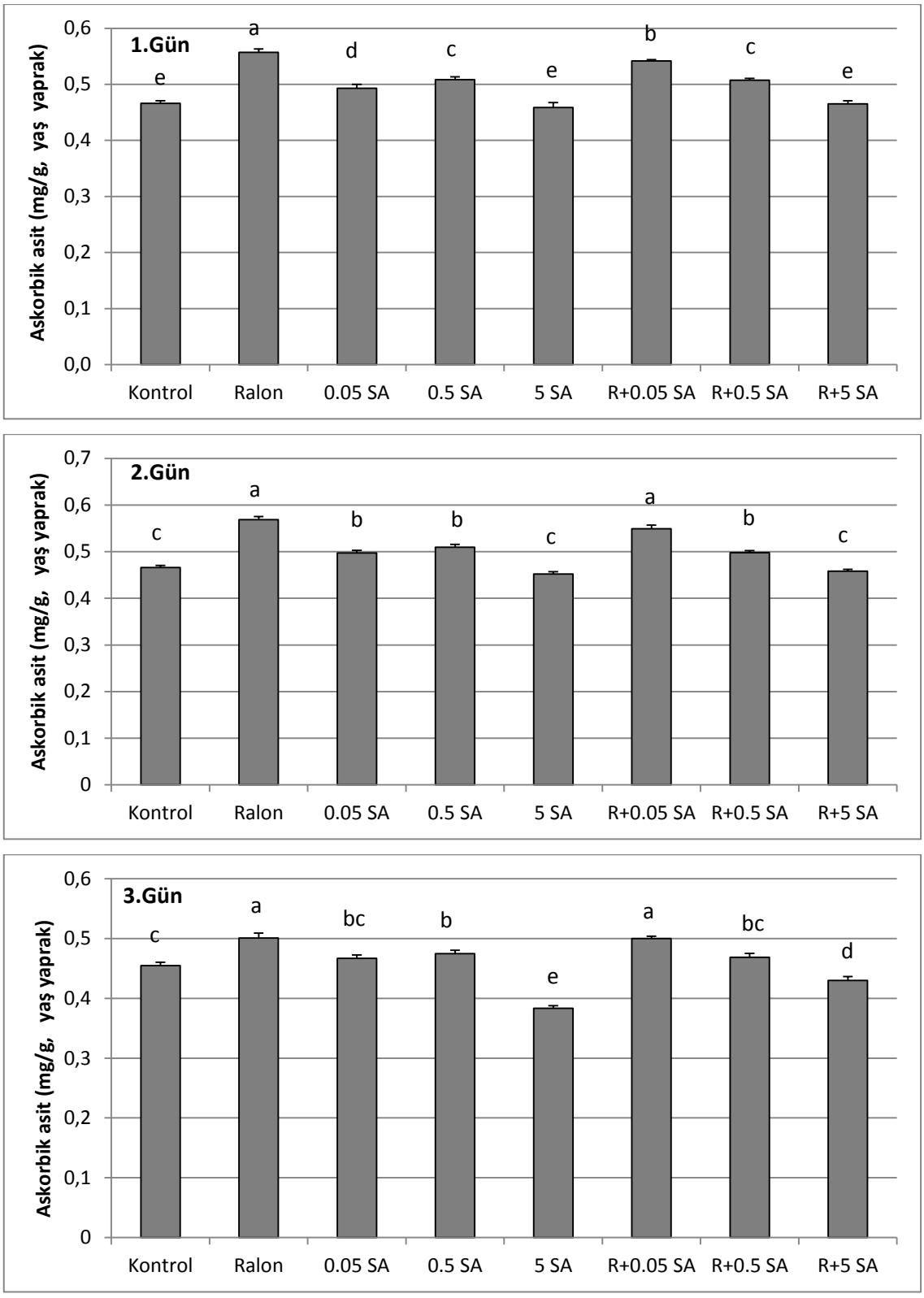
Şekil 4.12 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki pridoksin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).



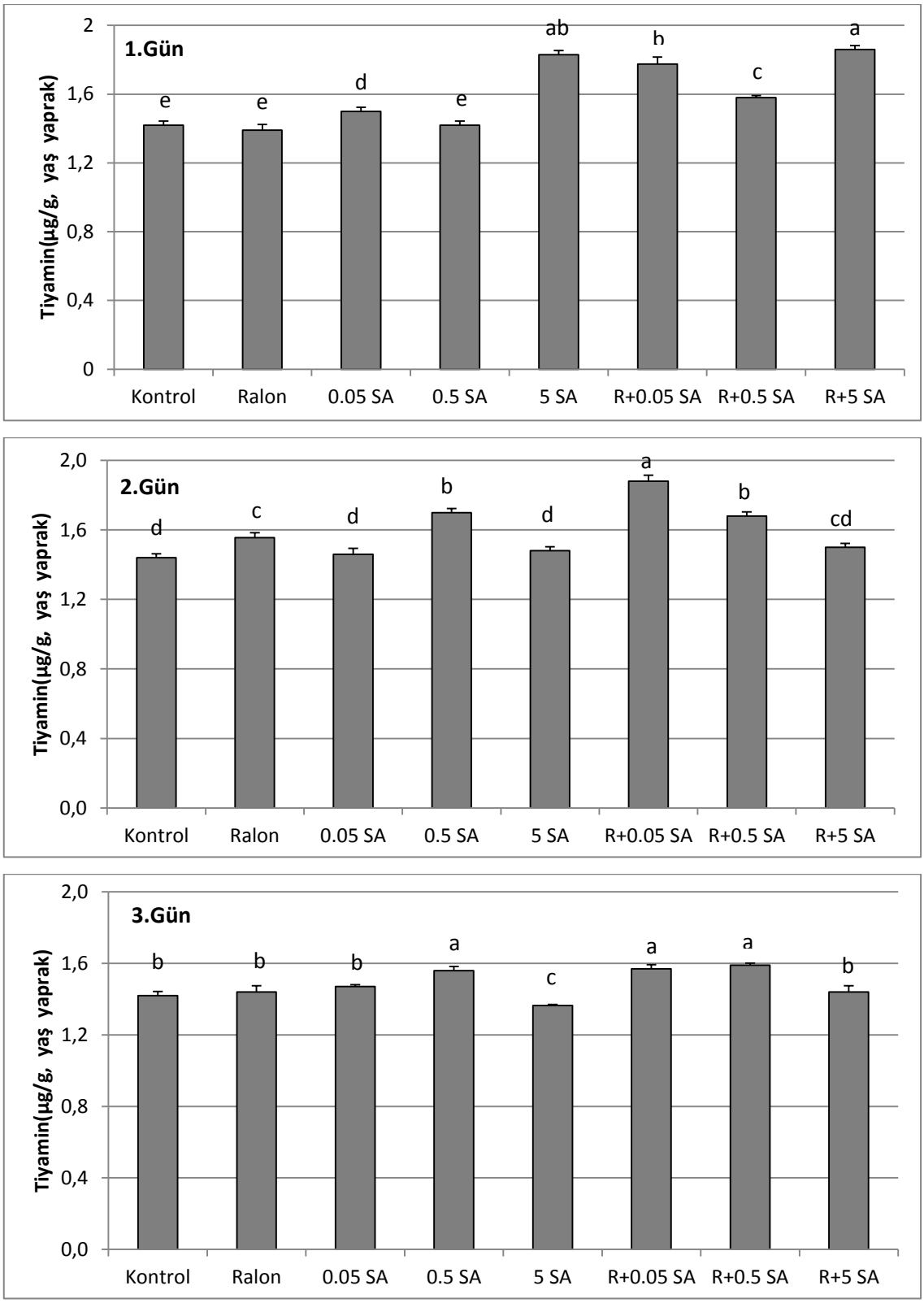
Şekil 4.13 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki pridoksamin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).

4.2 SA ve Herbisit+SA Uygulanan Buğday Yapraklarındaki Vitaminlerin Belirlenmesi

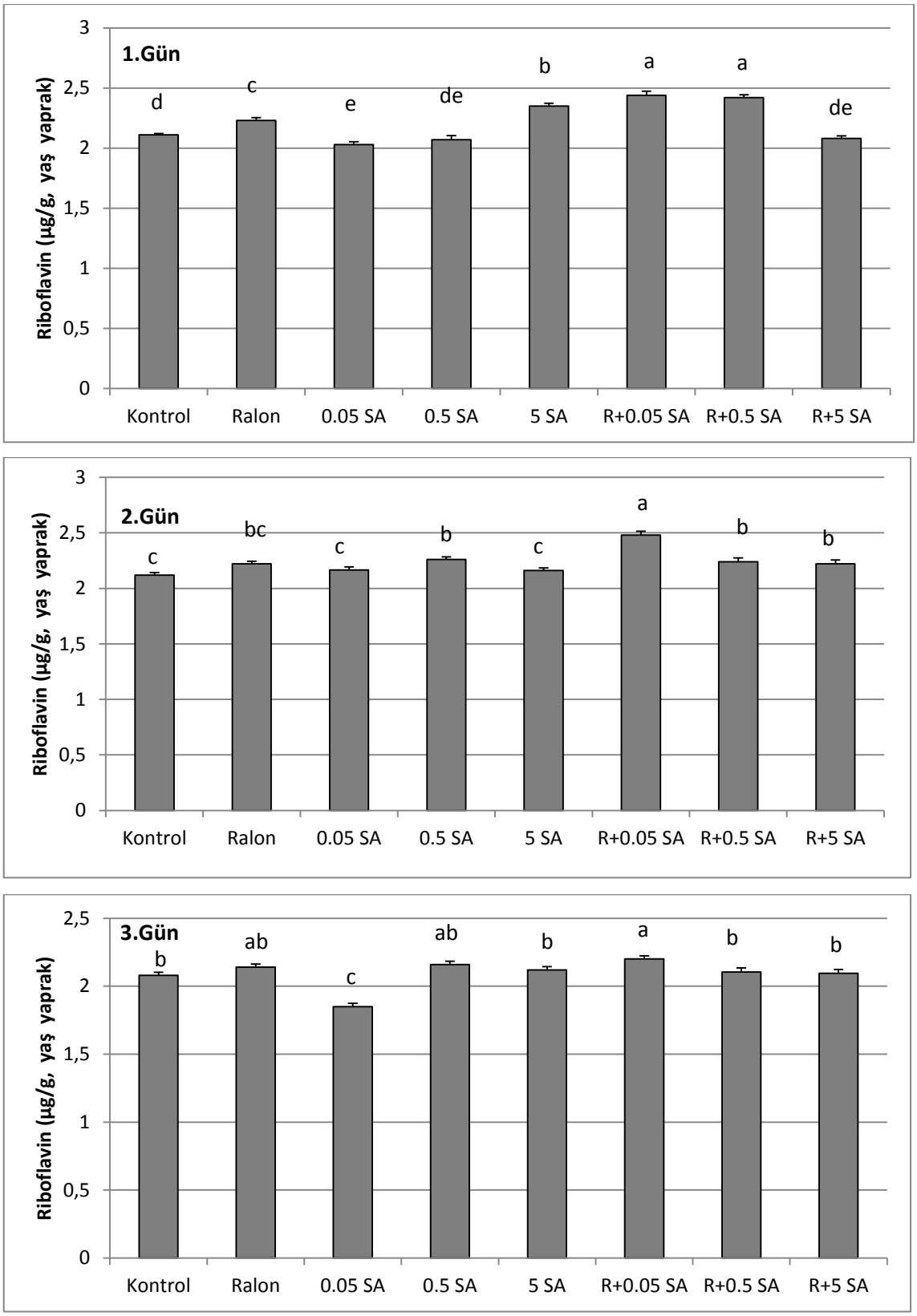
Normal şartlarda 20/15 ^{o}C (Işık/Karanlık)'de büyütülen buğday yapraklarına 15.günde Ralon (R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA, 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA püskürtüldü ve yapraklar 24 (1.Gün), 48. (2.Gün) ve 72. (2.Gün) saat sonunda kesildi. Kesilen buğday yapraklarındaki vitamin sonuçları aşağıda verilmiştir. Kesilen yapraklardaki C vitamini (askorbik asit) (Şekil 4.14), B_1 vitamini (tiyamin) (Şekil 4.15), B_2 vitamini (riboflavin) (Şekil 4.16), B_3 vitamini, niyasin (nikotinik asit, nikotinamid) (Şekil 4.17, 4.18) ve B_6 vitamini (pridoksal, pridoksin, pridoksamin) (Şekil 4.19, 4.40, 4.21) sonuçları aşağıda gösterilmiştir.



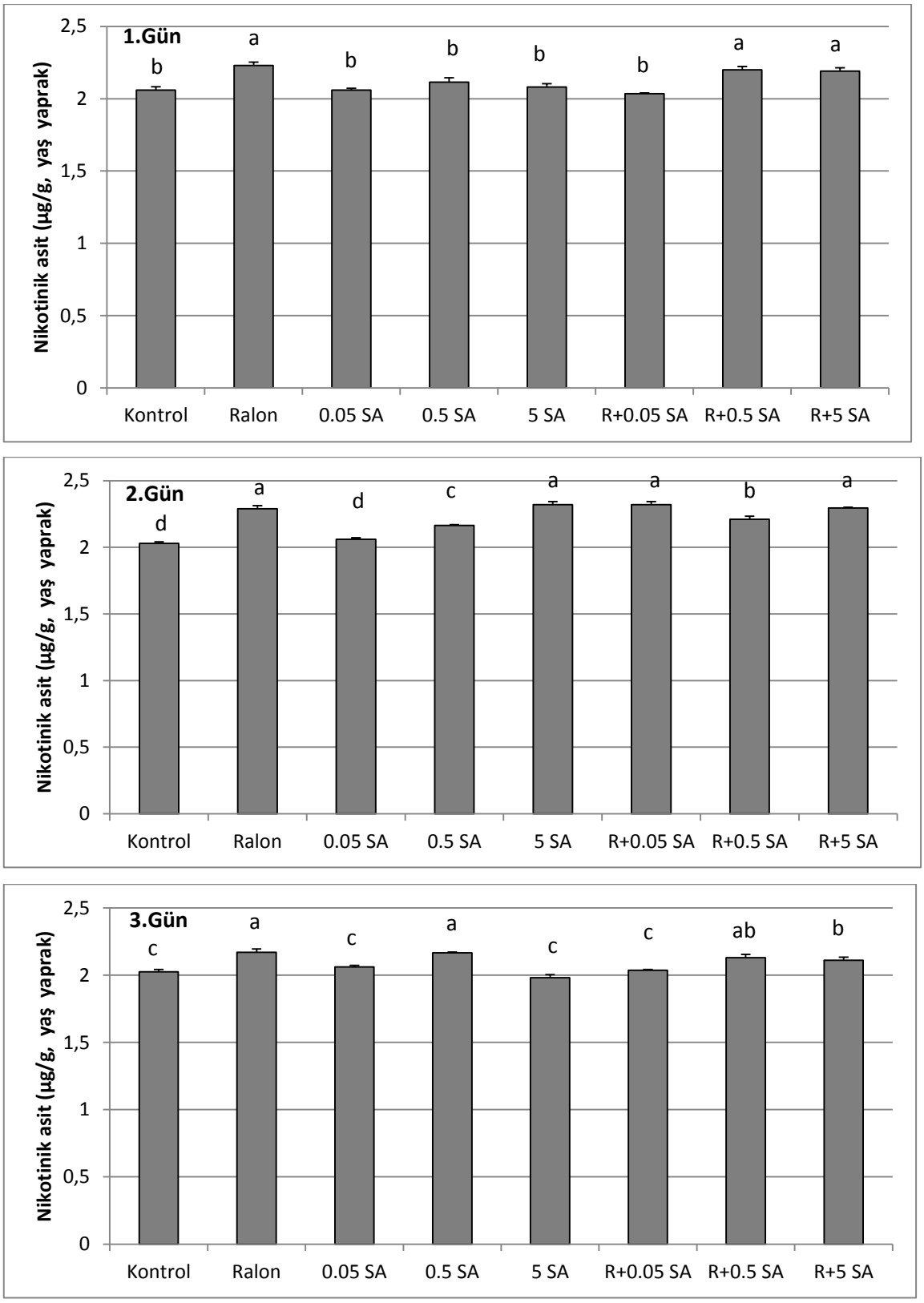
Şekil 4.14 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA ve R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki askorbik asit sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



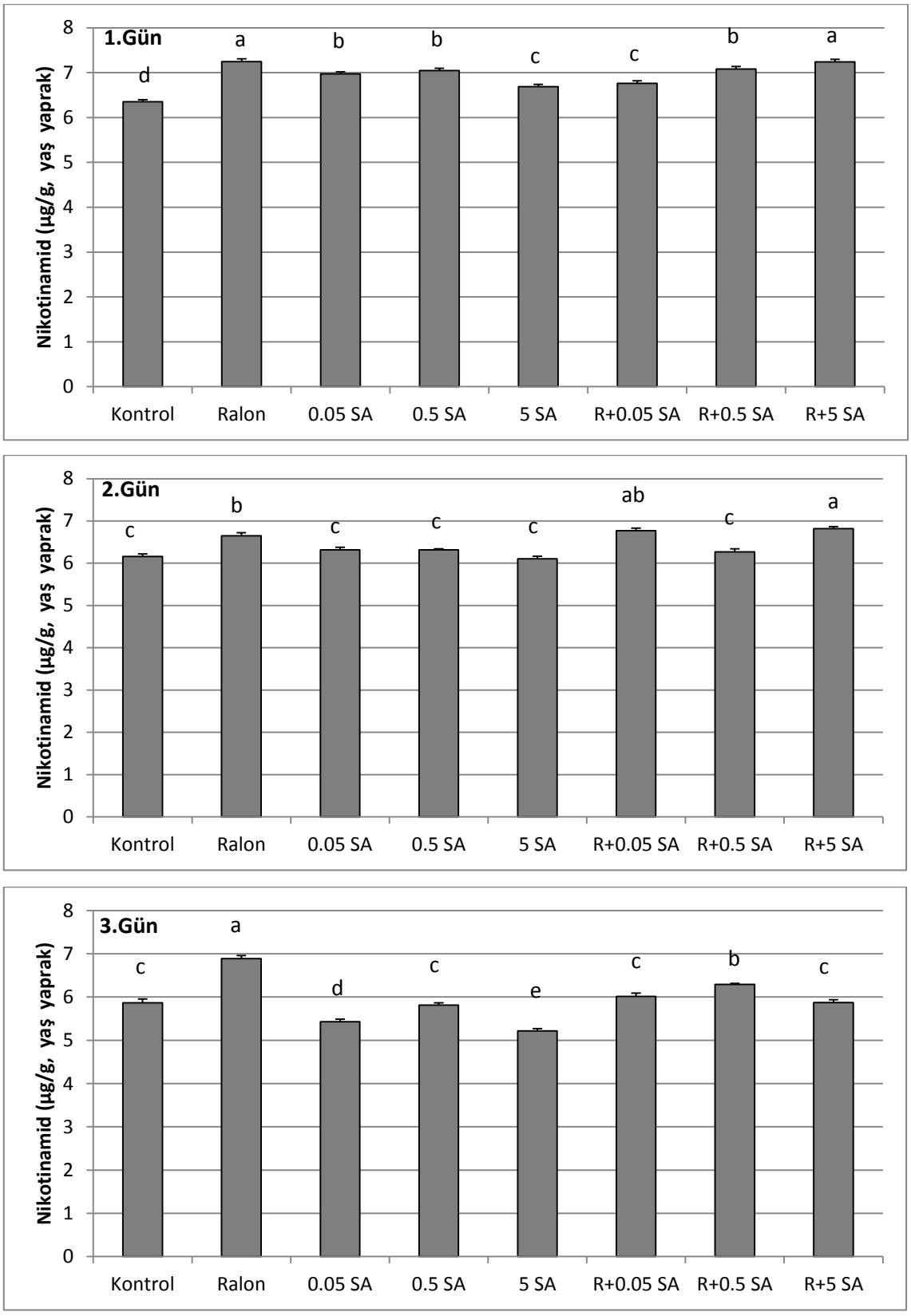
Şekil 4.15 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki tiyamin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



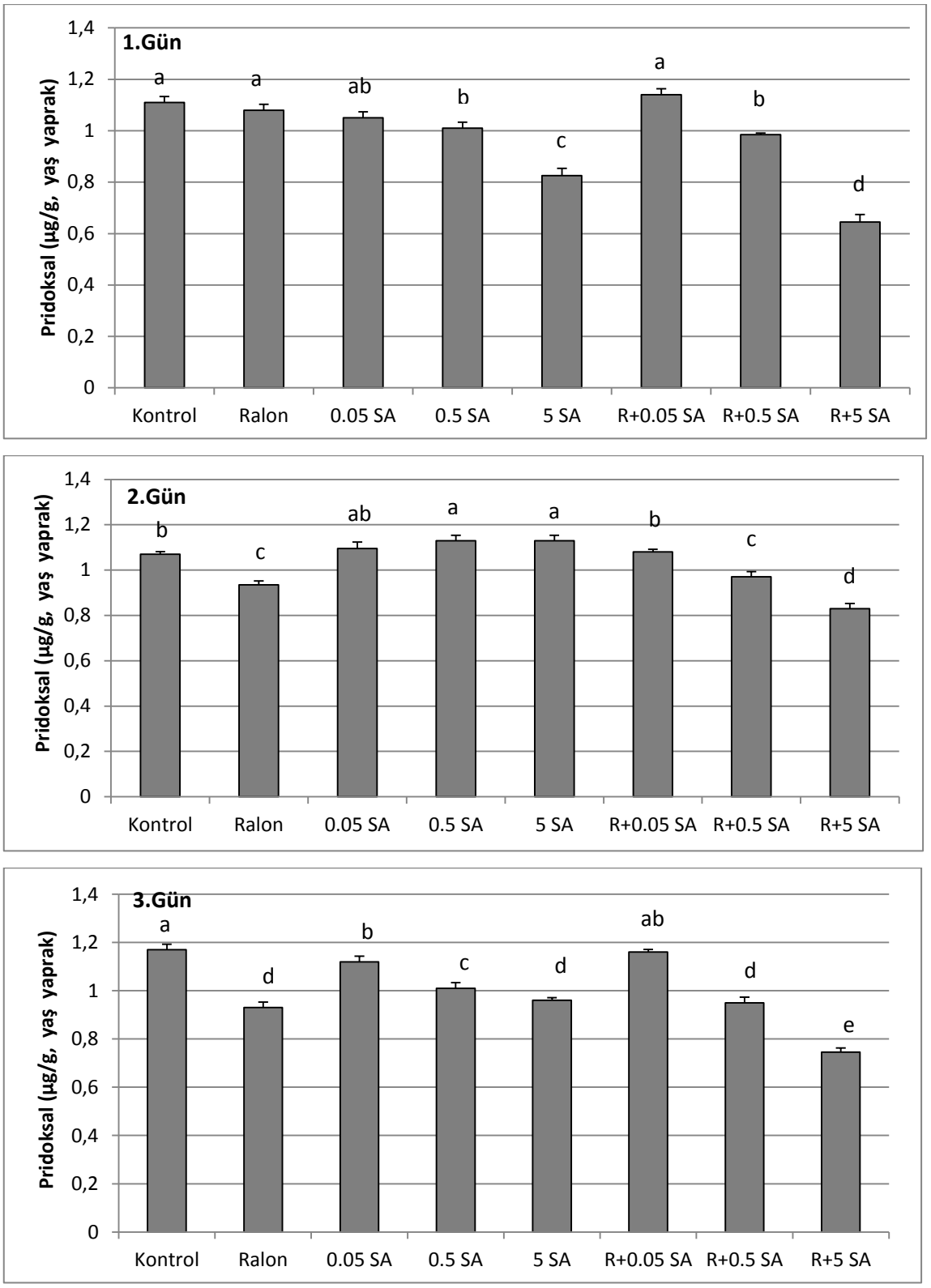
Şekil 4.16 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki riboflavin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



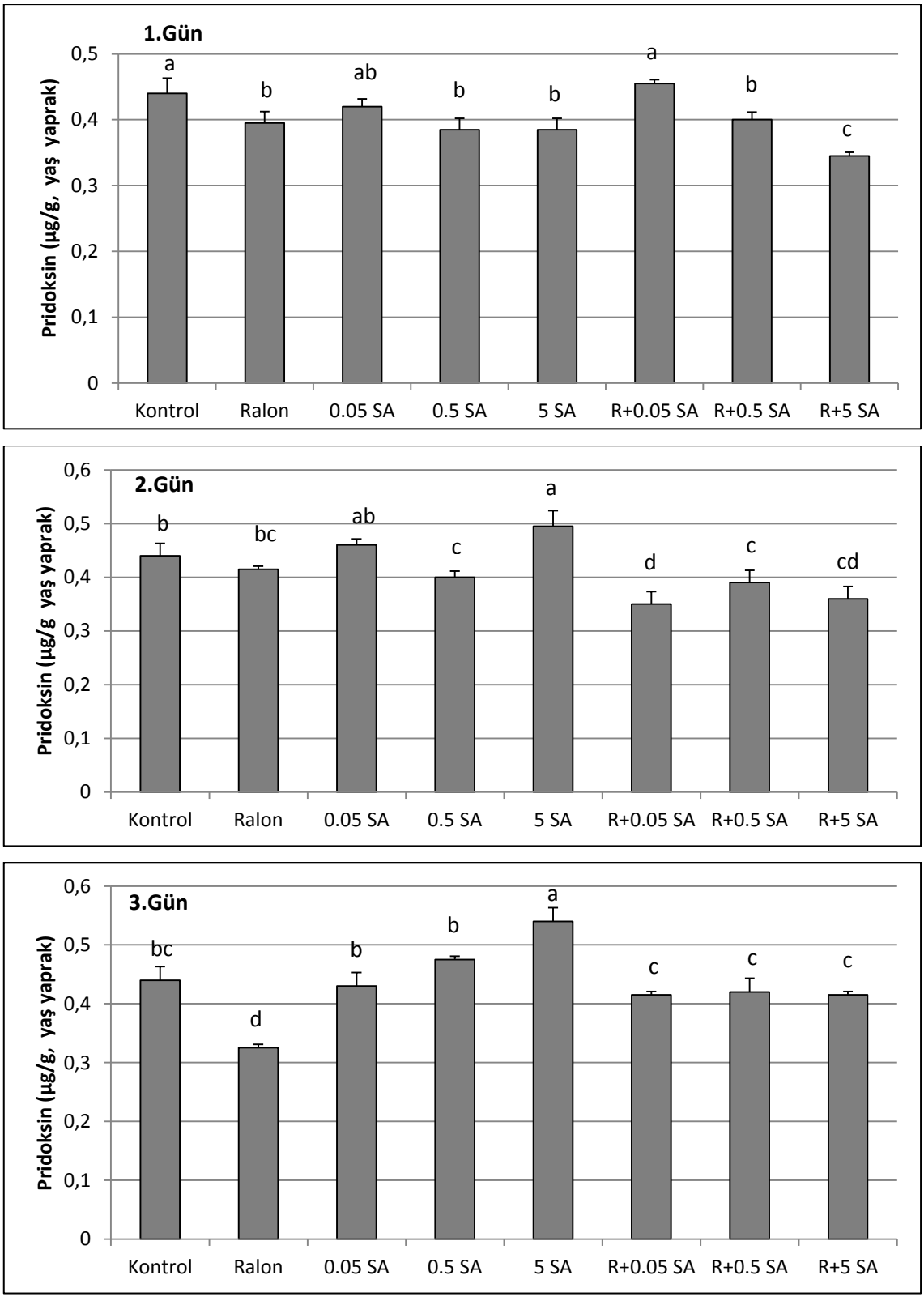
Şekil 4.17 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki nikotinik asit sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



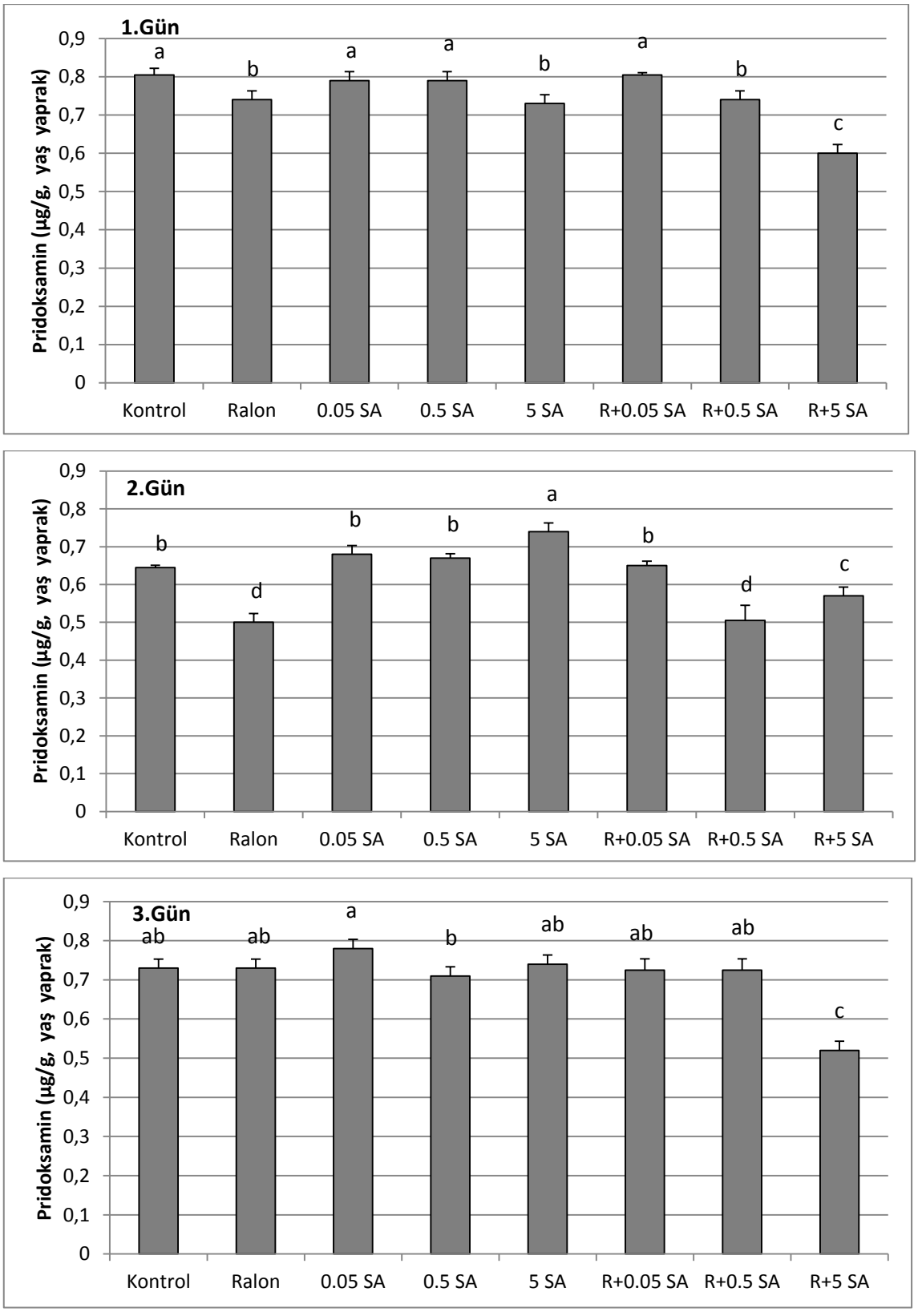
Şekil 4.18 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki nikotinamid sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



Şekil 4.19 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki pridoksal sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



Şekil 4.20 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki pridoksin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



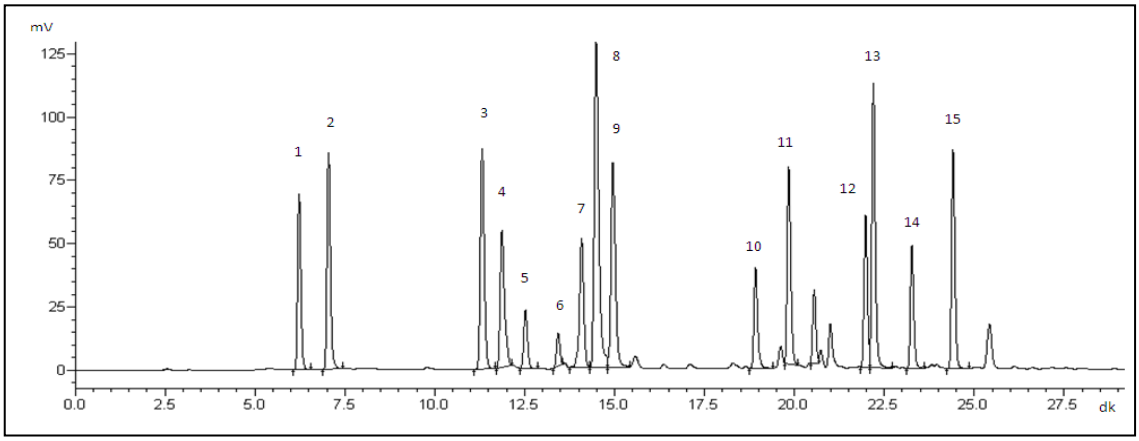
Şekil 4.21 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki pridoksamin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).

4.3 Herbisitlere Maruz Kalan Buğday Yapraklarındaki Amino Asitlerin Belirlenmesi

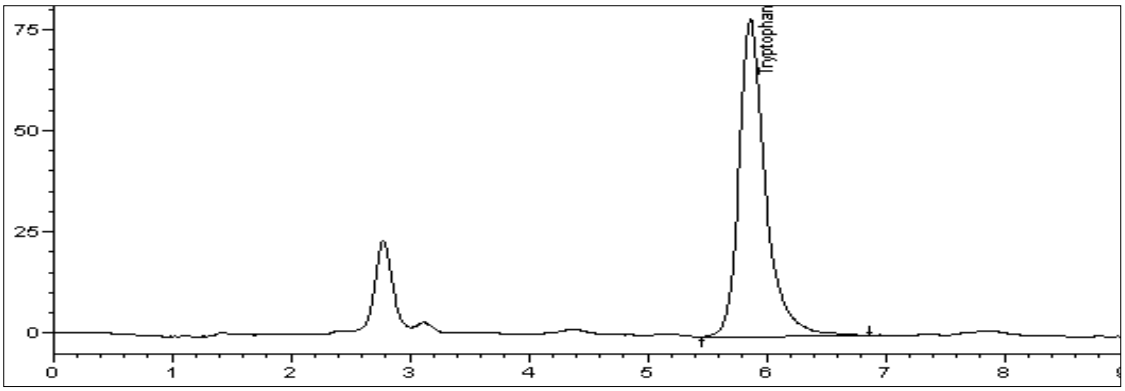
Normal şartlarda 20/15 ^{o}C (Işık/Karanlık)'de büyütülen buğday yapraklarına 15.günde Ralon (9.6 µl/50 ml) ve Granstar (0.24 mg/50 ml) herbisitleri püskürtüldü ve yapraklar 24.(1.Gün), 48.(2.Gün) ve 72.(3.Gün) saat sonunda kesildi. Kesilen yapraklardaki amino asit kromotogramları ve sonuçları aşağıda gösterilmiştir.

4.3.1 Amino Asit Sonuçları

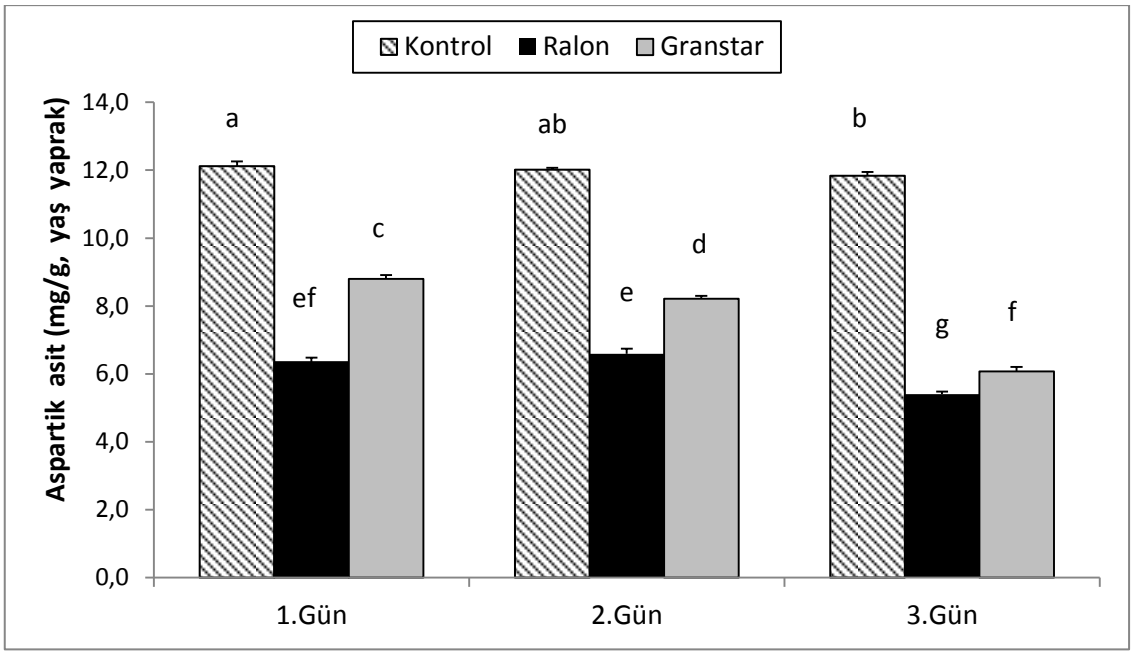
Buğday yaprağındaki amino asitlere ait HPLC kromotogramı Şekil 4.22 ve 4.23'de kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki aspartik asit, glutamik asit, serin, glisin, histidin, arginin, treonin, alanin, prolin, trozin, valin, izolösin, lösin, fenilalanin, lizin ve triptofan sonuçları Şekil 4.24-4.39 arasında gösterilmiştir.



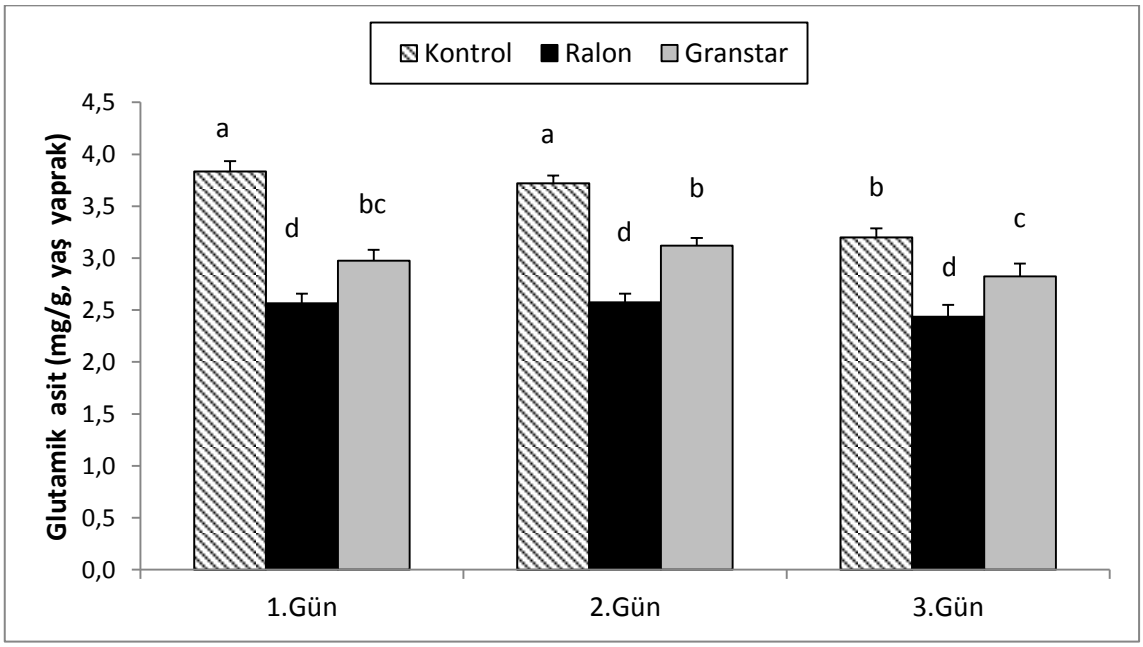
Şekil 4.22 Buğday yaprağındaki amino asit kompozisyonu (aspartik asit(1), glutamik asit(2), serin(3), glisin(4), histidin(5), arginin(6), treonin(7), alanin(8), prolin(9), trozin(10), valin(11), izo-lösin(12), lösin(13), fenilalanin(14) ve lizin(15)) UFLC kromatogramı.



Şekil 4.23 Buğday yaprağındaki triptofan HPLC kromatogramı.



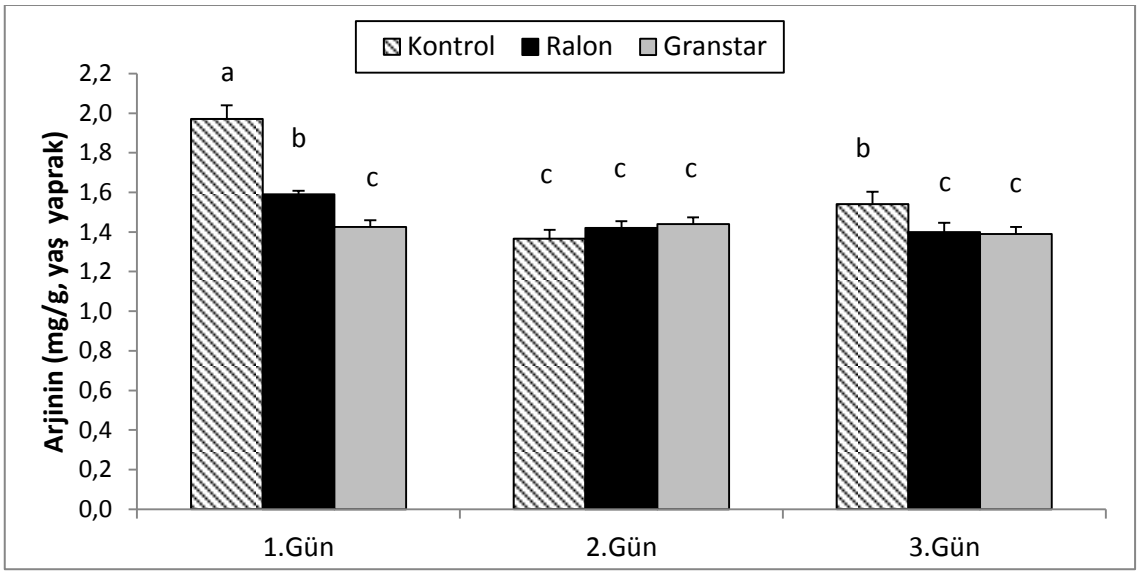
Şekil 4.24 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki aspartik asit sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).



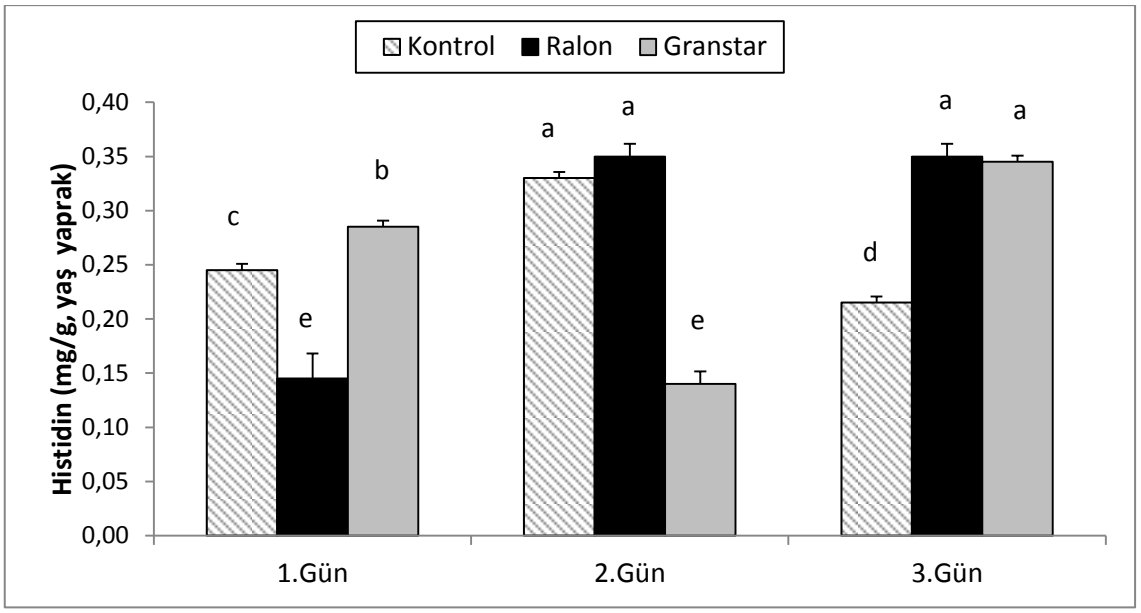
Şekil 4.25 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki glutamik sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).



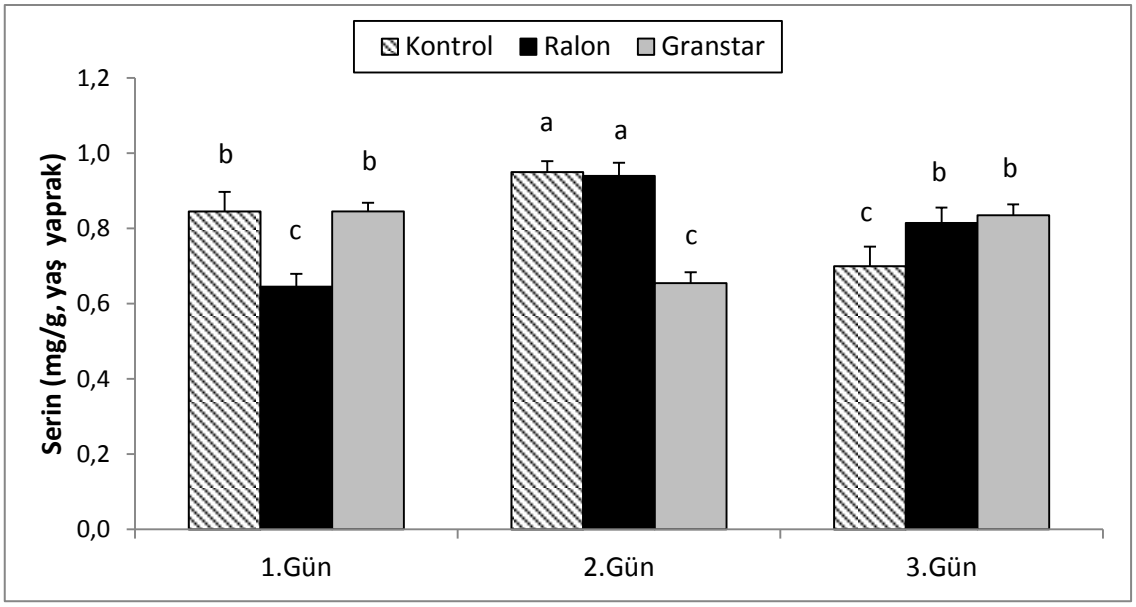
Şekil 4.26 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki lizin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).



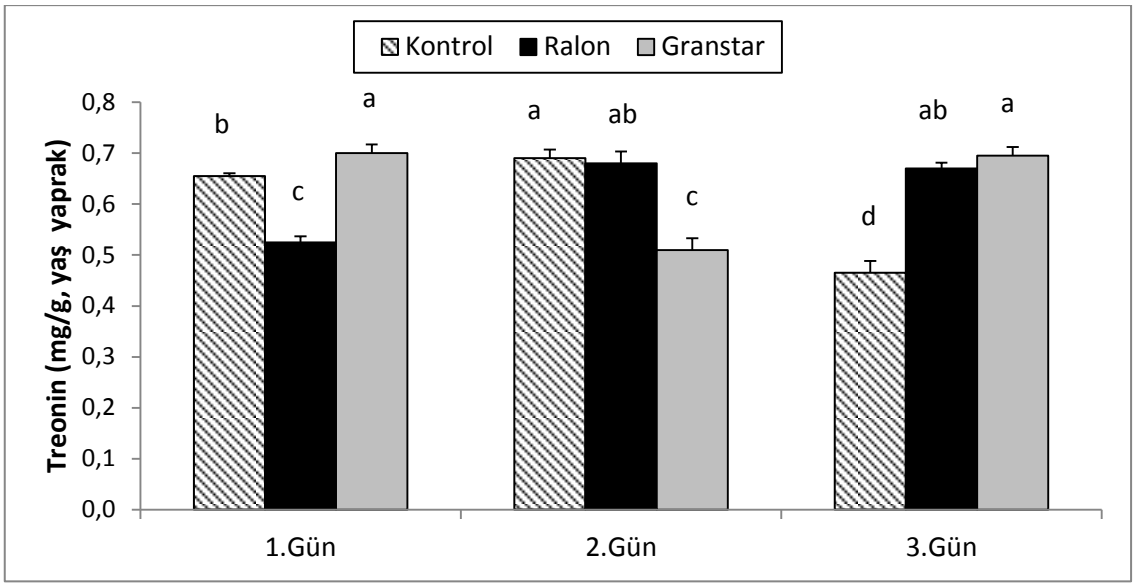
Şekil 4.27 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki arjinin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).



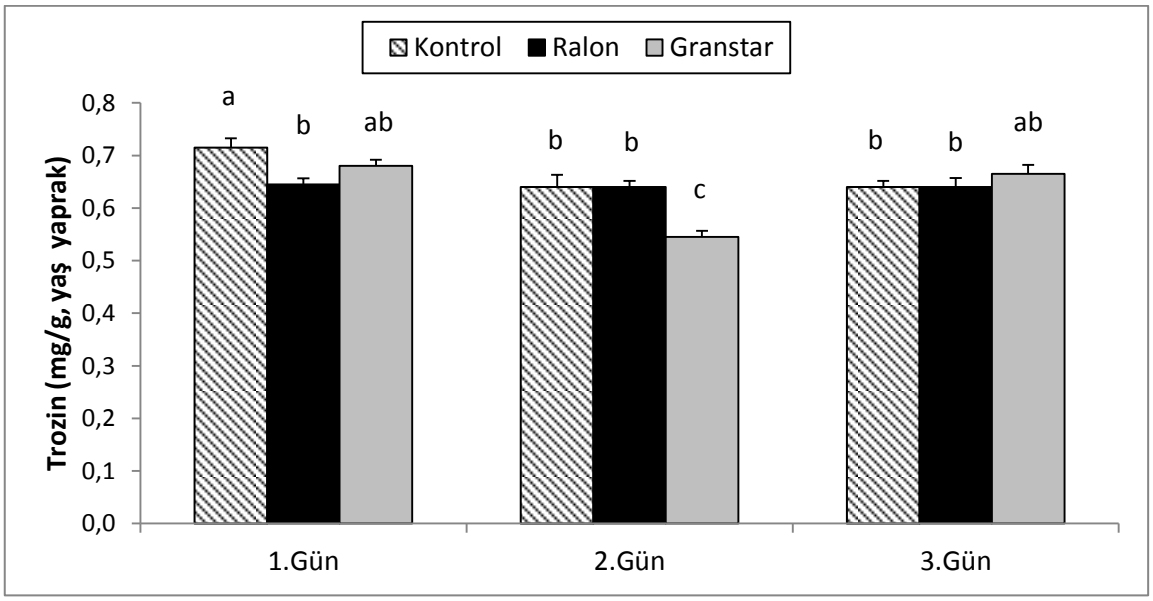
Şekil 4.28 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki histidin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).



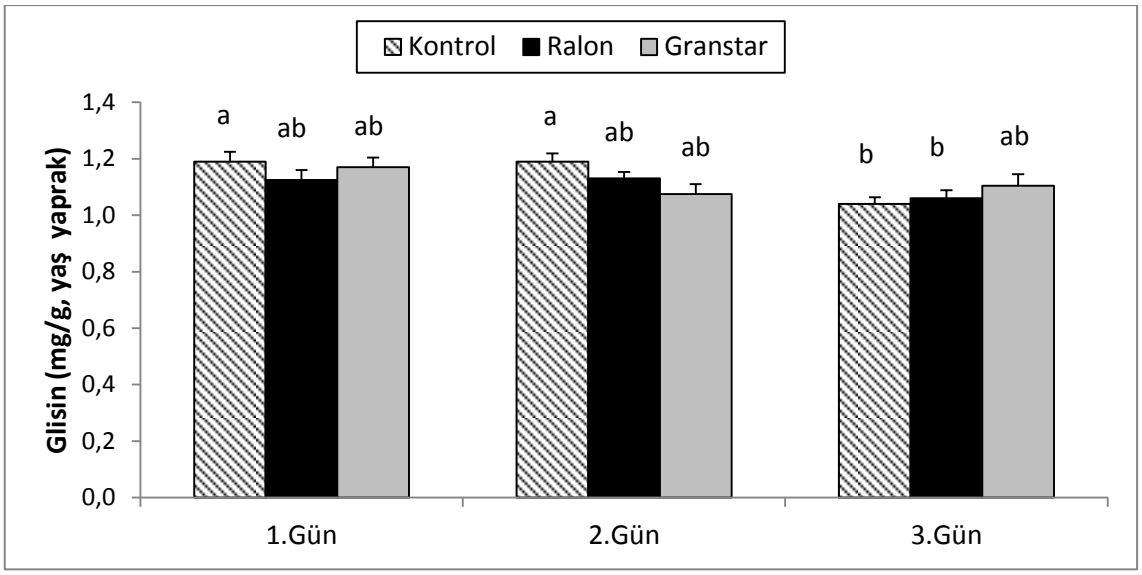
Şekil 4.29 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki serin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test)



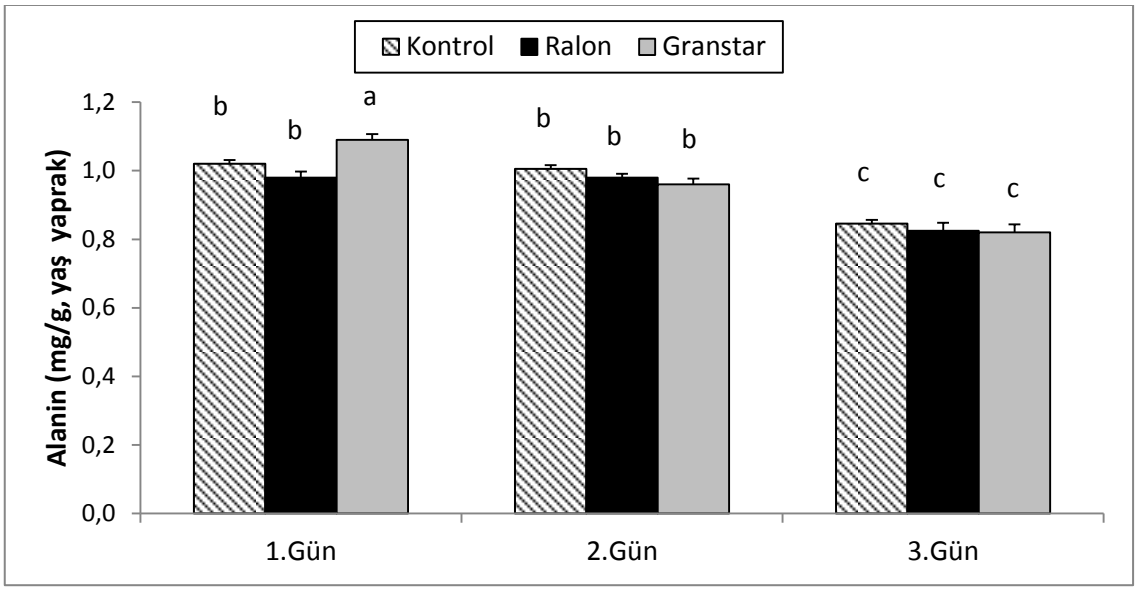
Şekil 4.30 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki treonin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir.(ANOVA P<0.01, Tukey test)



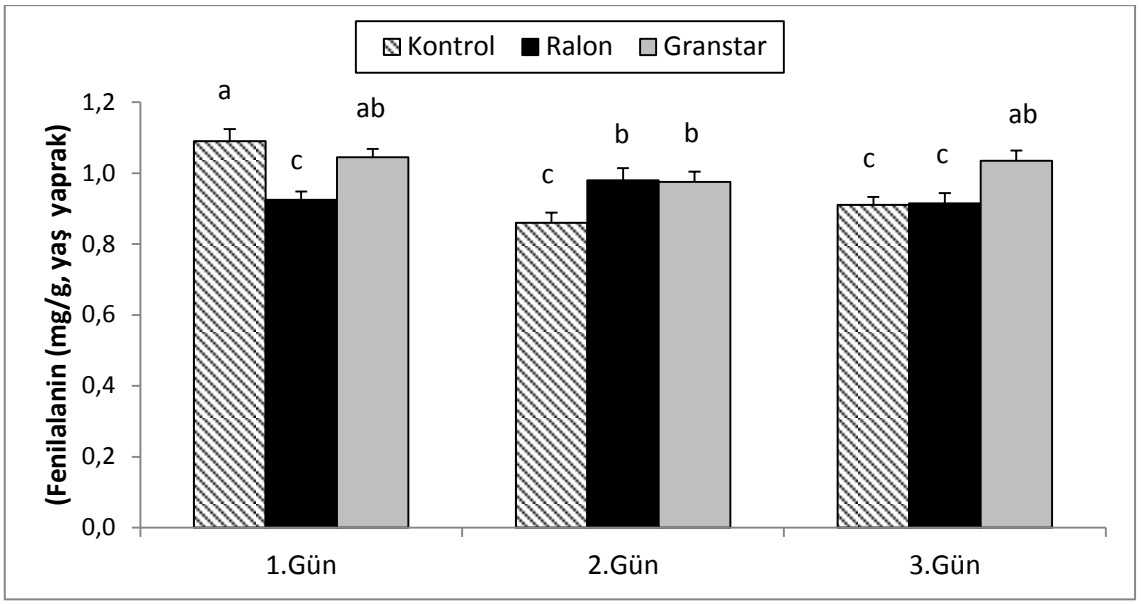
Şekil 4.31 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki tirozin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir.(ANOVA P<0.01, Tukey test)



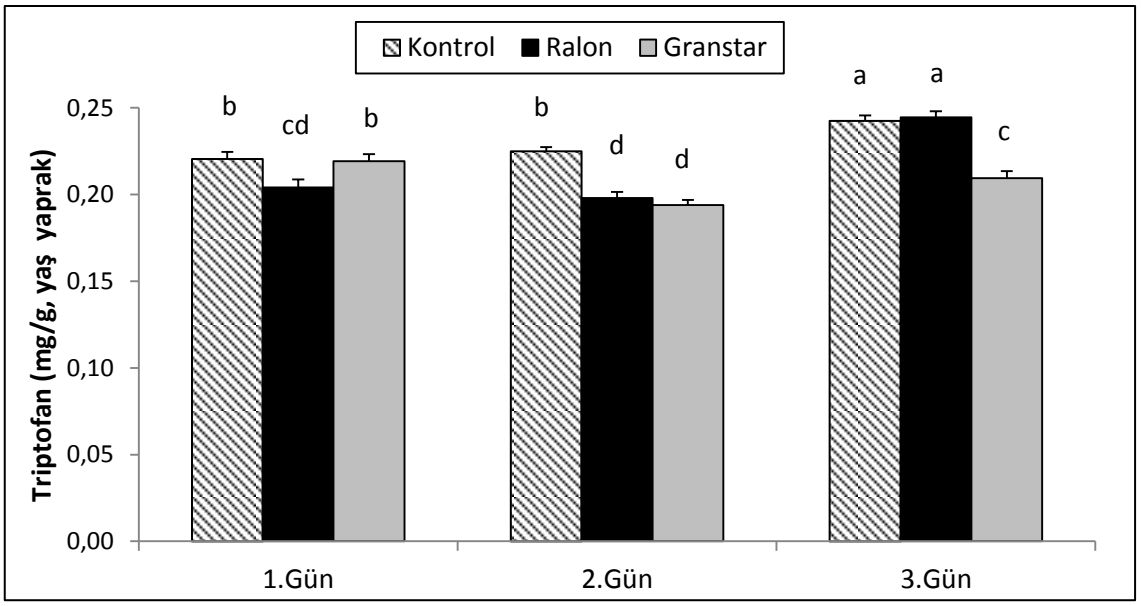
Şekil 4.32 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki glisin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir.(ANOVA P<0.01, Tukey test)



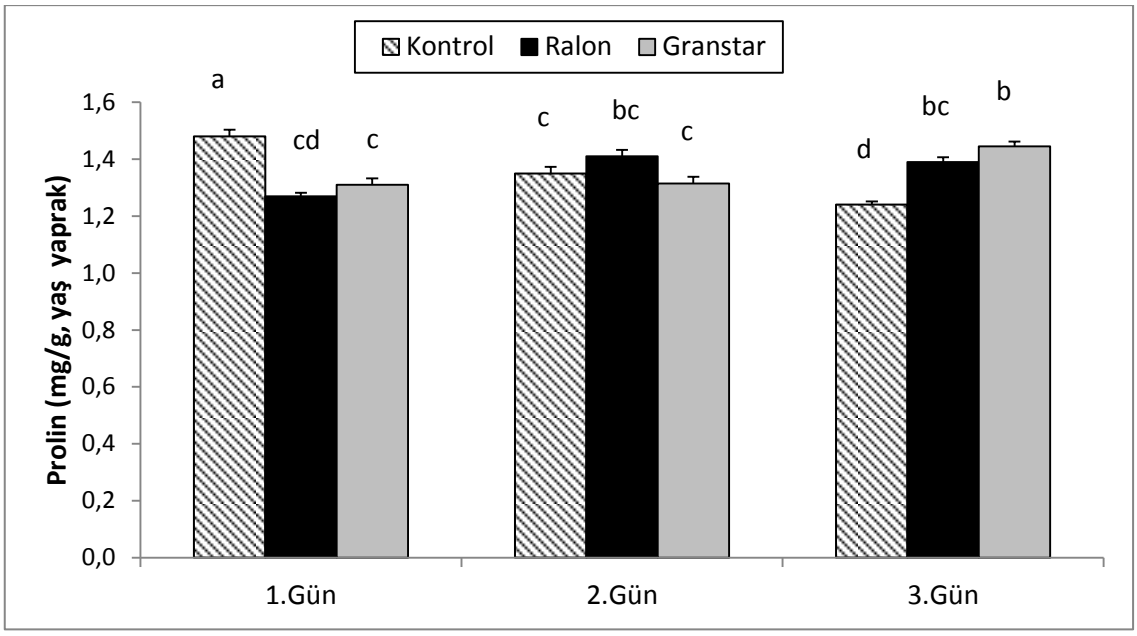
Şekil 4.33 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki alanin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir.(ANOVA P<0.01, Tukey test)



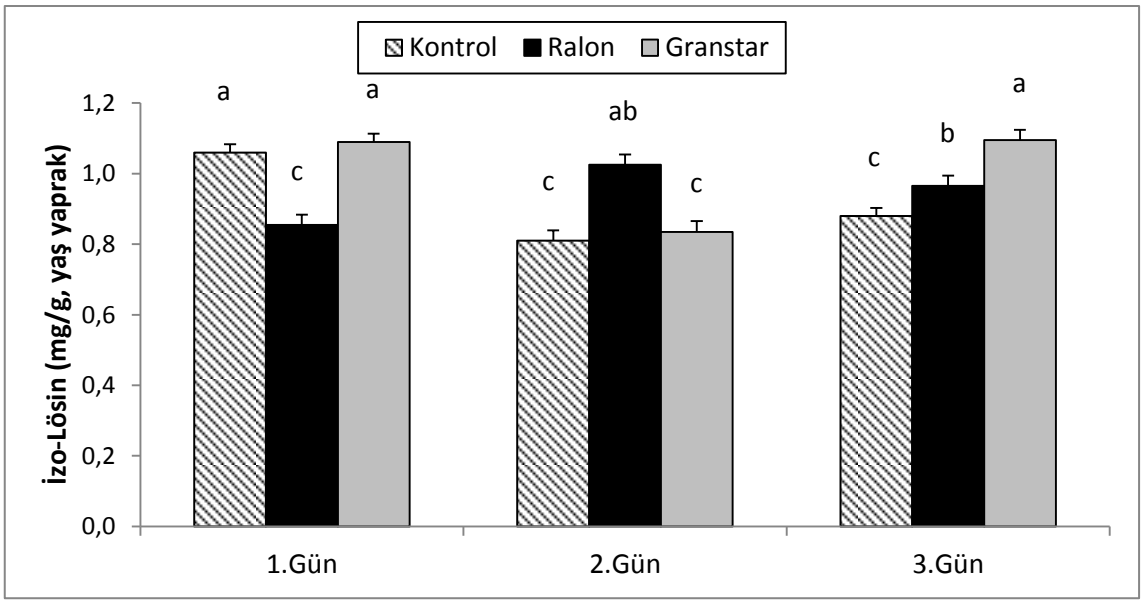
Şekil 4.34 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki fenilalanin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir.(ANOVA P<0.01, Tukey test)



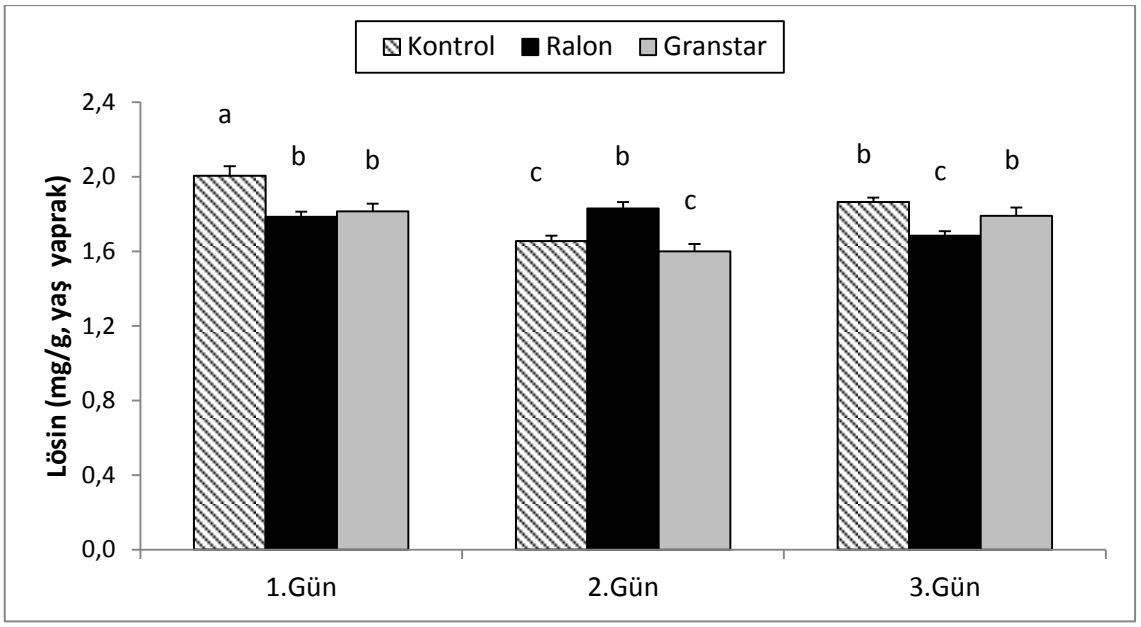
Şekil 4.35 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki triptofan sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).



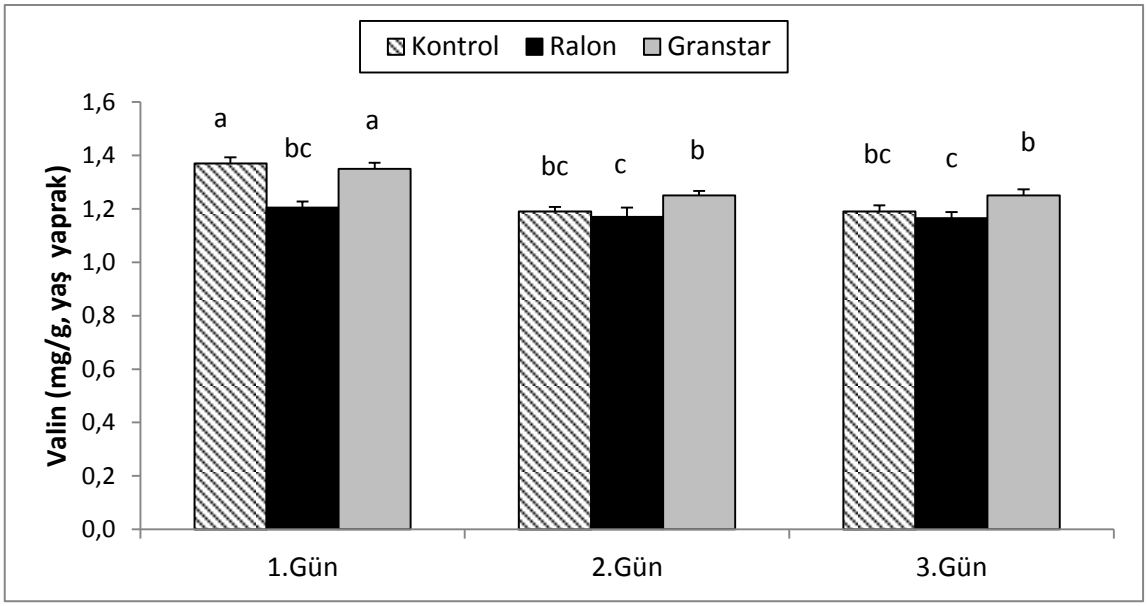
Şekil 4.36 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki prolin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir.(ANOVA P<0.01, Tukey test)



Şekil 4.37 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki izo-lösin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir.(ANOVA P<0.01, Tukey test)



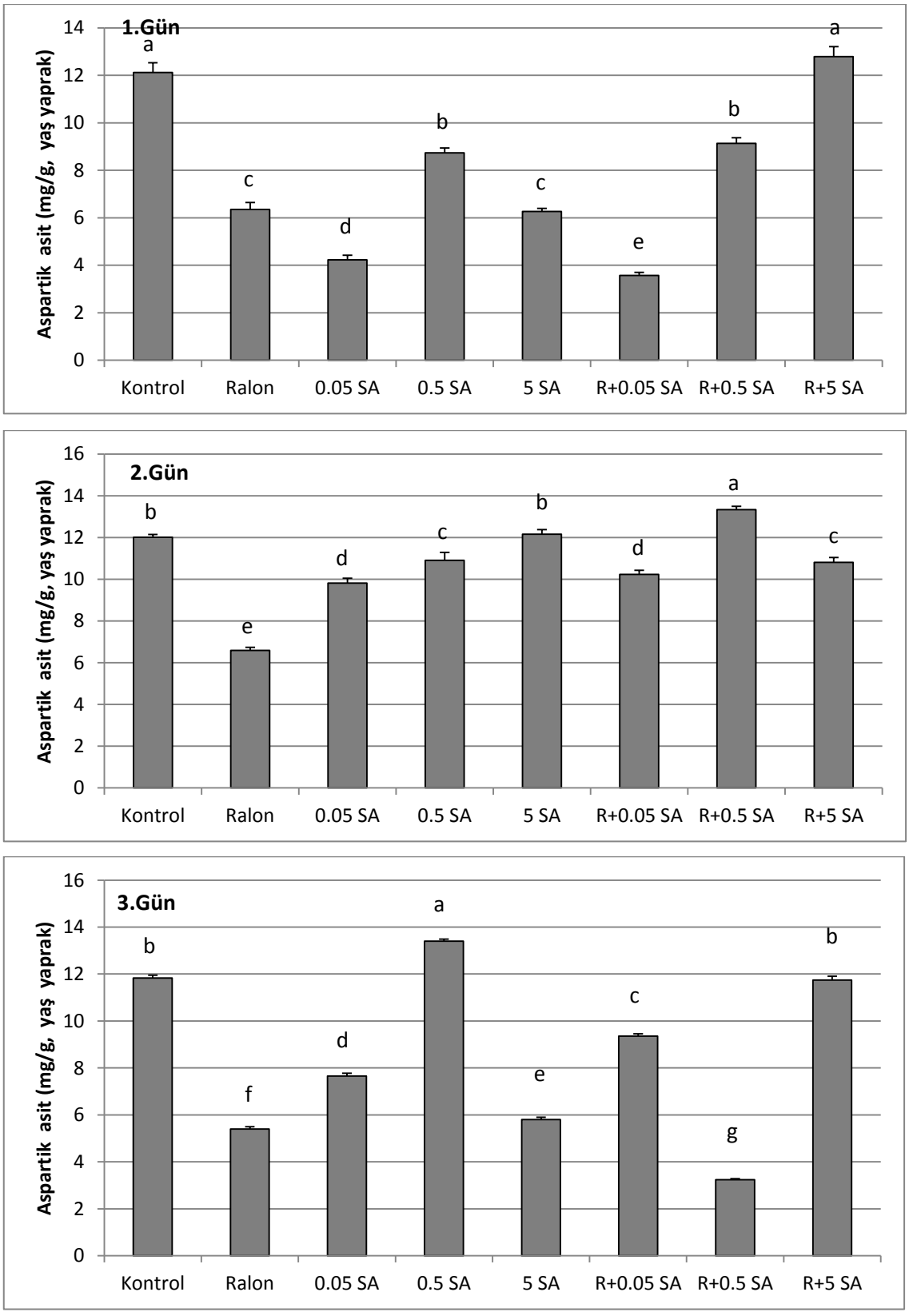
Şekil 4.38 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki lösin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA P<0.01, Tukey test).



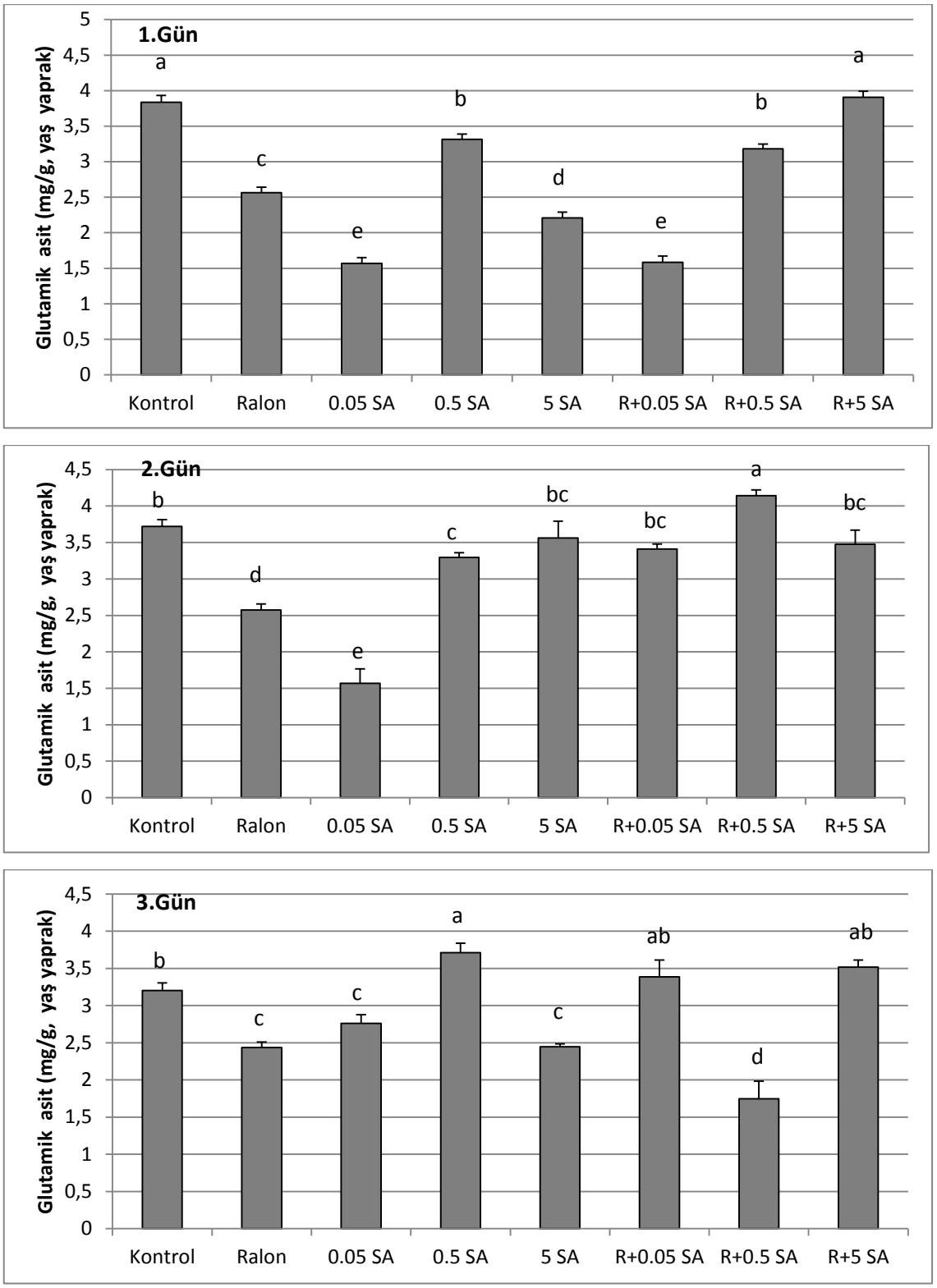
Şekil 4.39 Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki valin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir.(ANOVA P<0.01, Tukey test

4.3.2 SA ve Herbisit+SA Uygulanan Buğday Yapraklarındaki Amino Asit Sonuçları

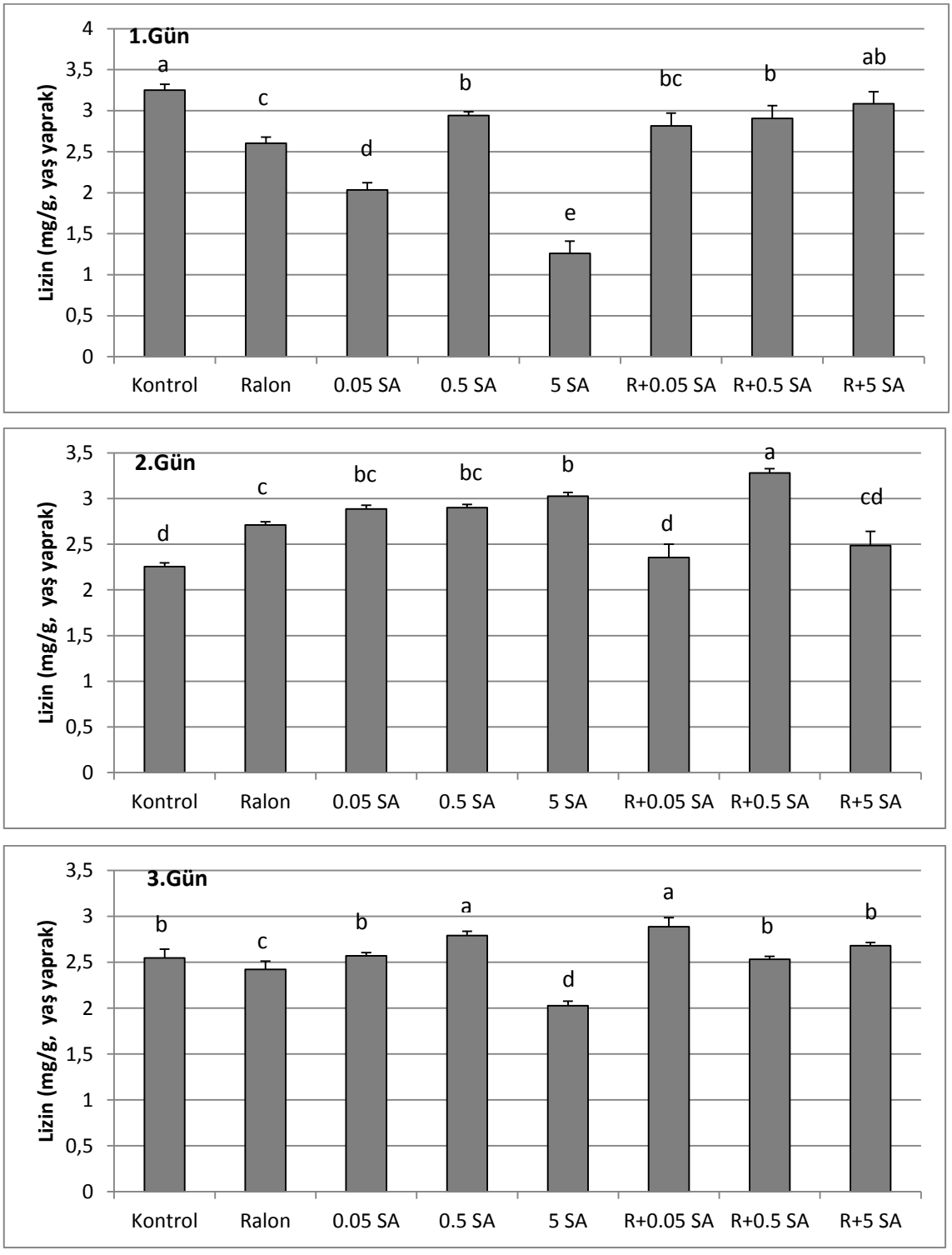
Normal şartlarda 20/15 ^{o}C (Işık/Karanlık)'da büyütülen buğday yapraklarına 15.günde Ralon herbisiti, 0.05 mM SA, 0.5 mM SA, 5 mM SA, Ralon+0.05 mM SA, Ralon+0.5 mM SA , Ralon+5 mM SA püskürtüldü ve yapraklar 24(1.Gün), 48 (2.Gün) ve 72 (3.gün) saat sonunda kesildi. Kesilen buğday yapraklarındaki aspartik asit, glutamik asit, serin, glisin, histidin, arginin, treonin alanin, prolin, trozin, valin, izolösin lösin, fenilalanin, lizin ve triptofan sonuçları Şekil 4.40-4.55 arasında verilmiştir.



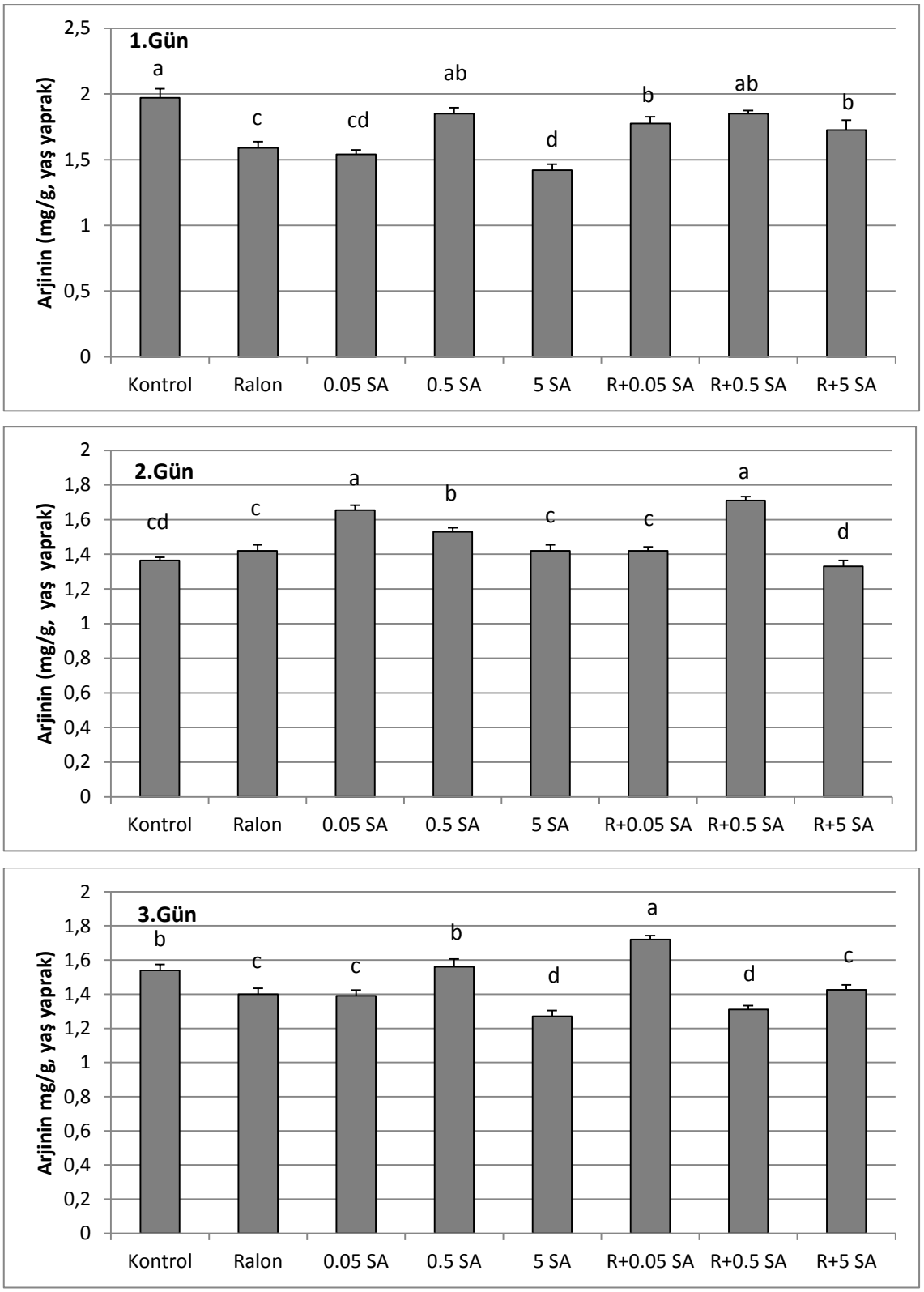
Şekil 4.40 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki aspartik asit sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



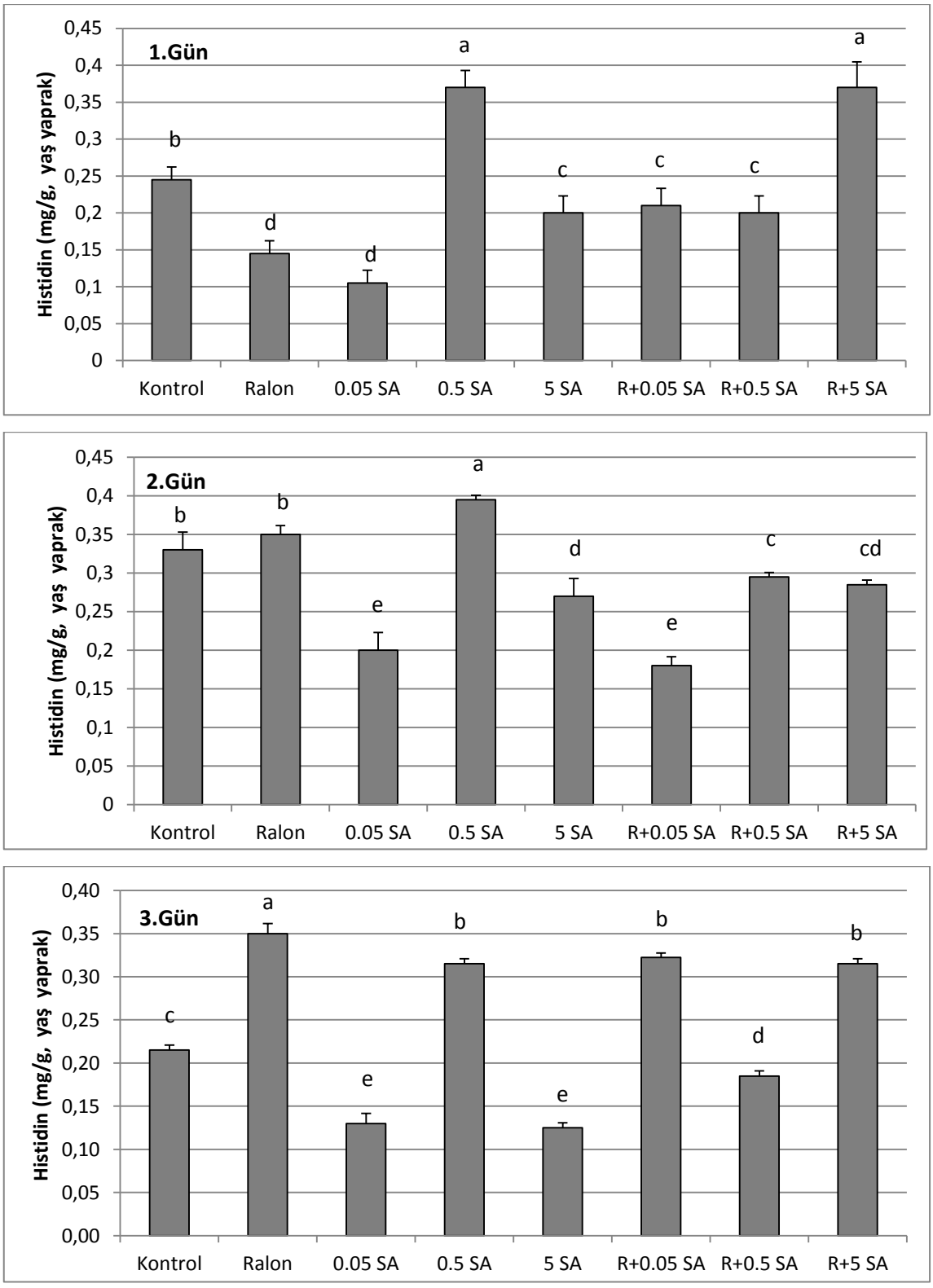
Şekil 4.41 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki glutamik asit sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



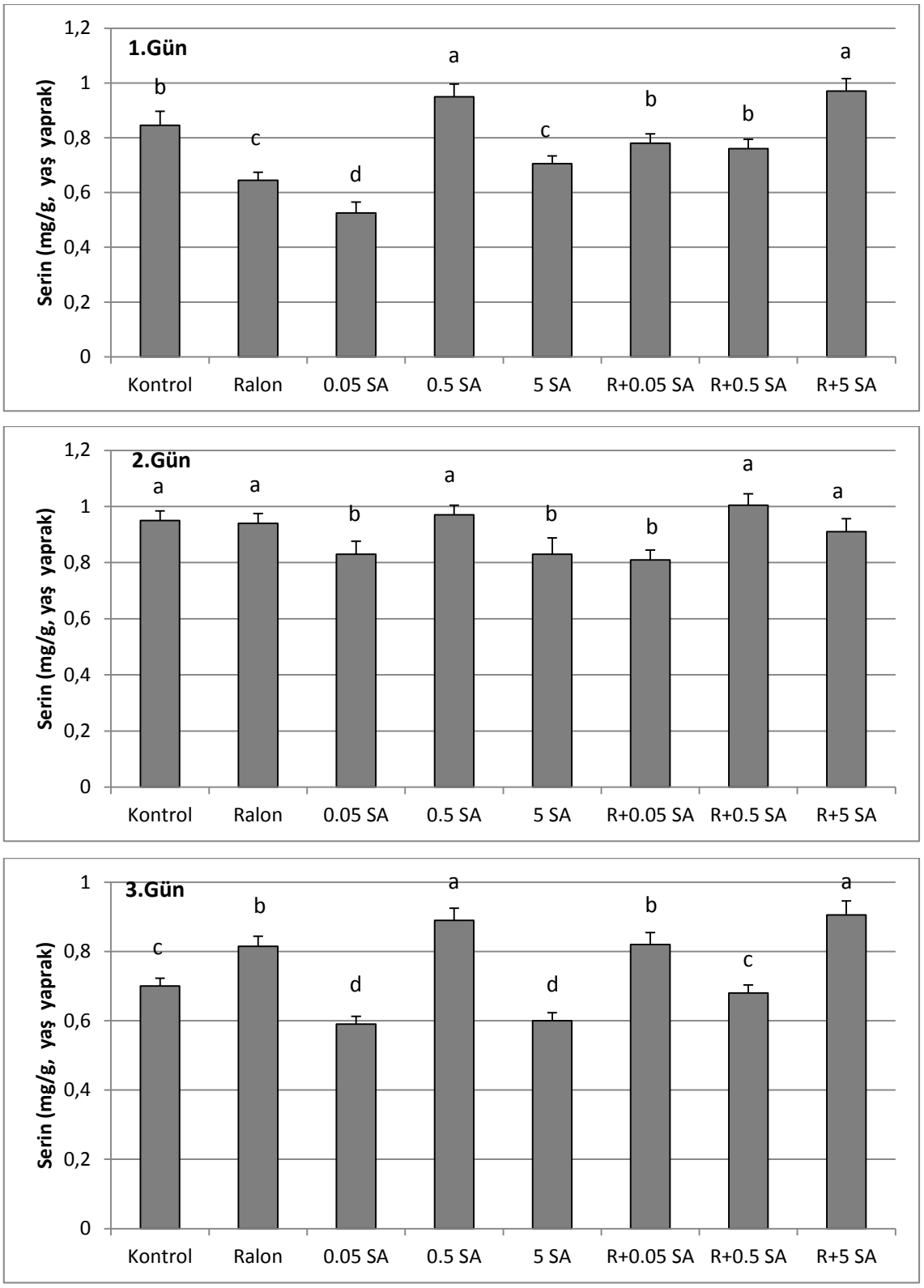
Şekil 4.42 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki lizin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



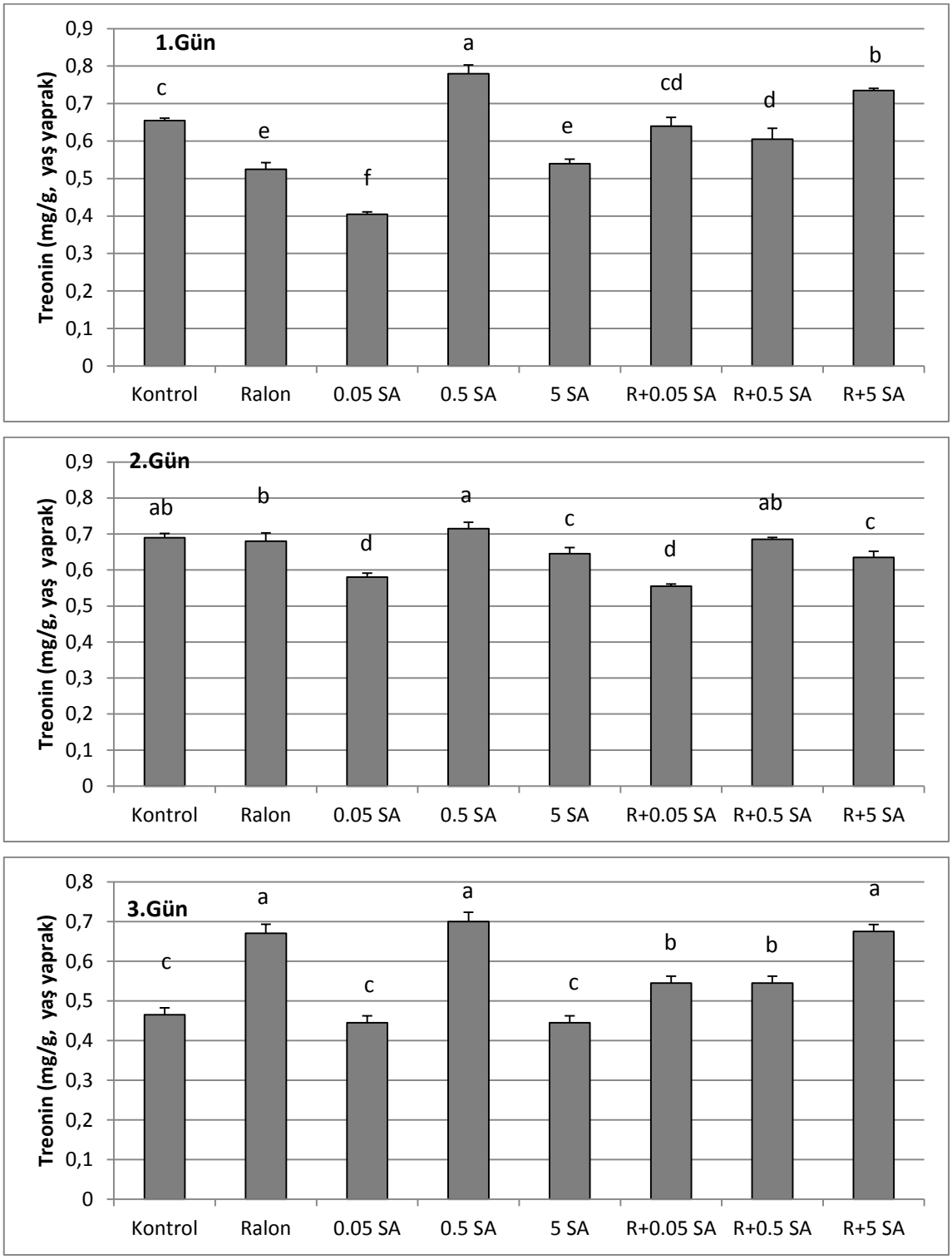
Şekil 4.43 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki arjinin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



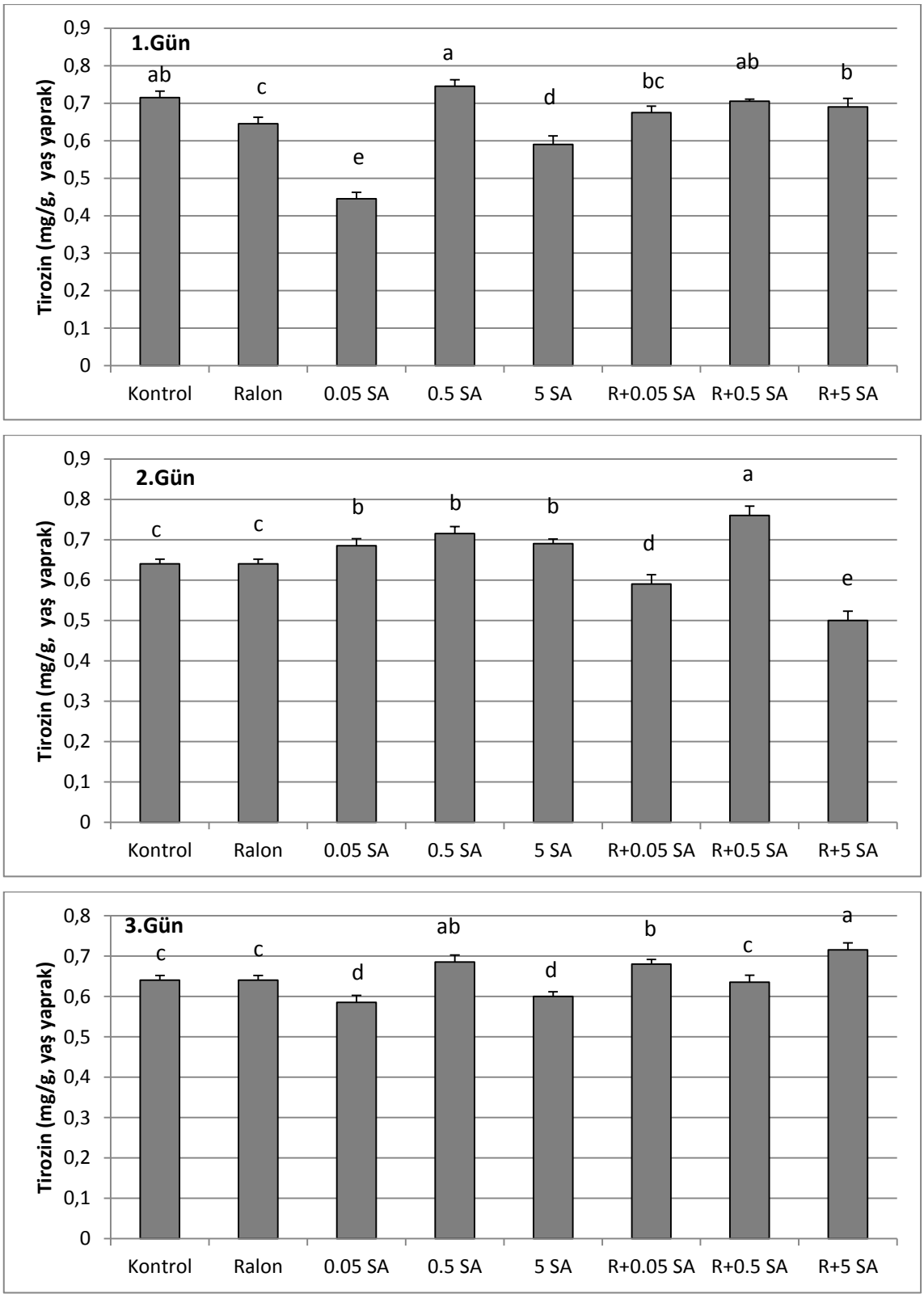
Şekil 4.44 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki histidin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



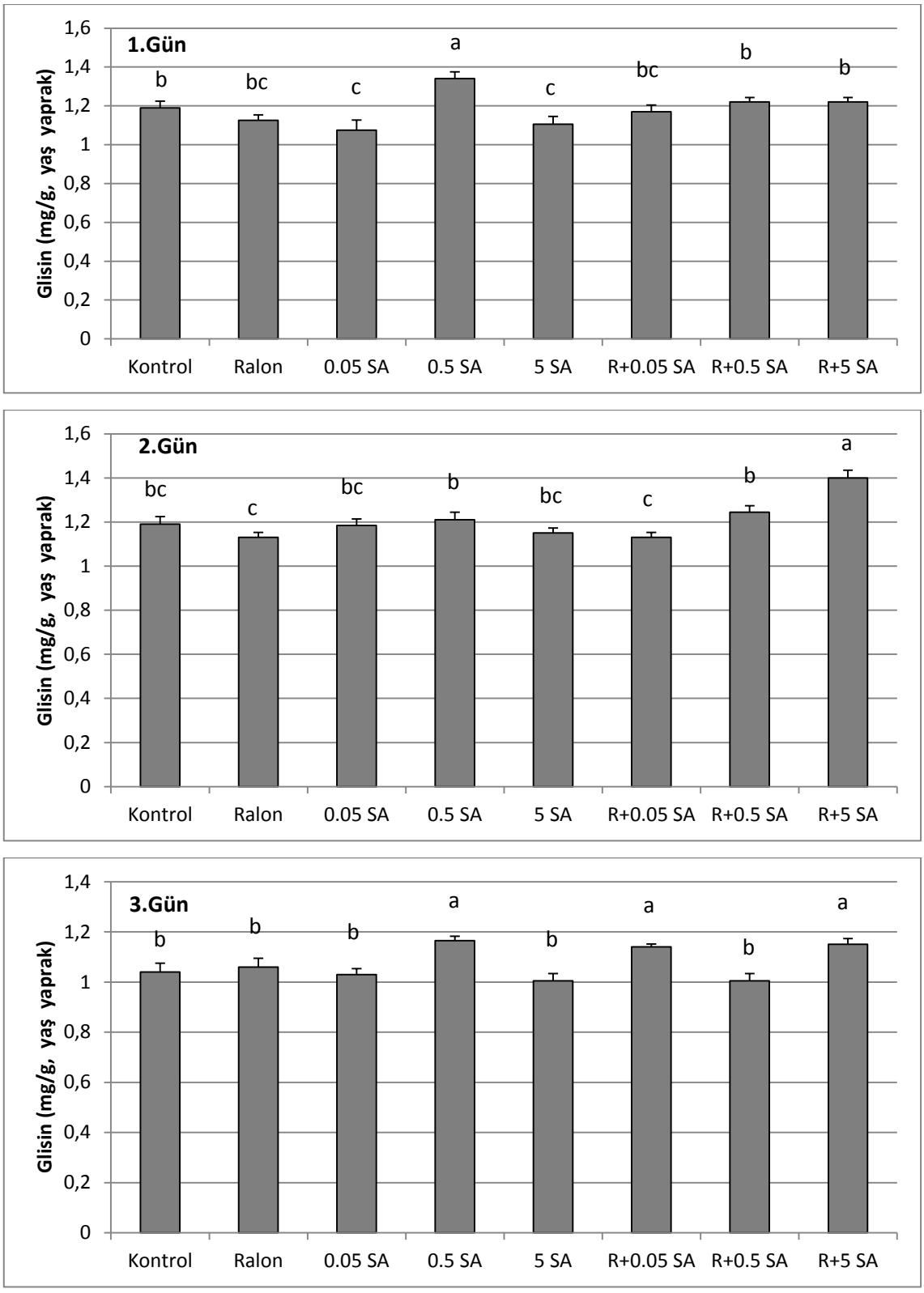
Şekil 4.45 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki serin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



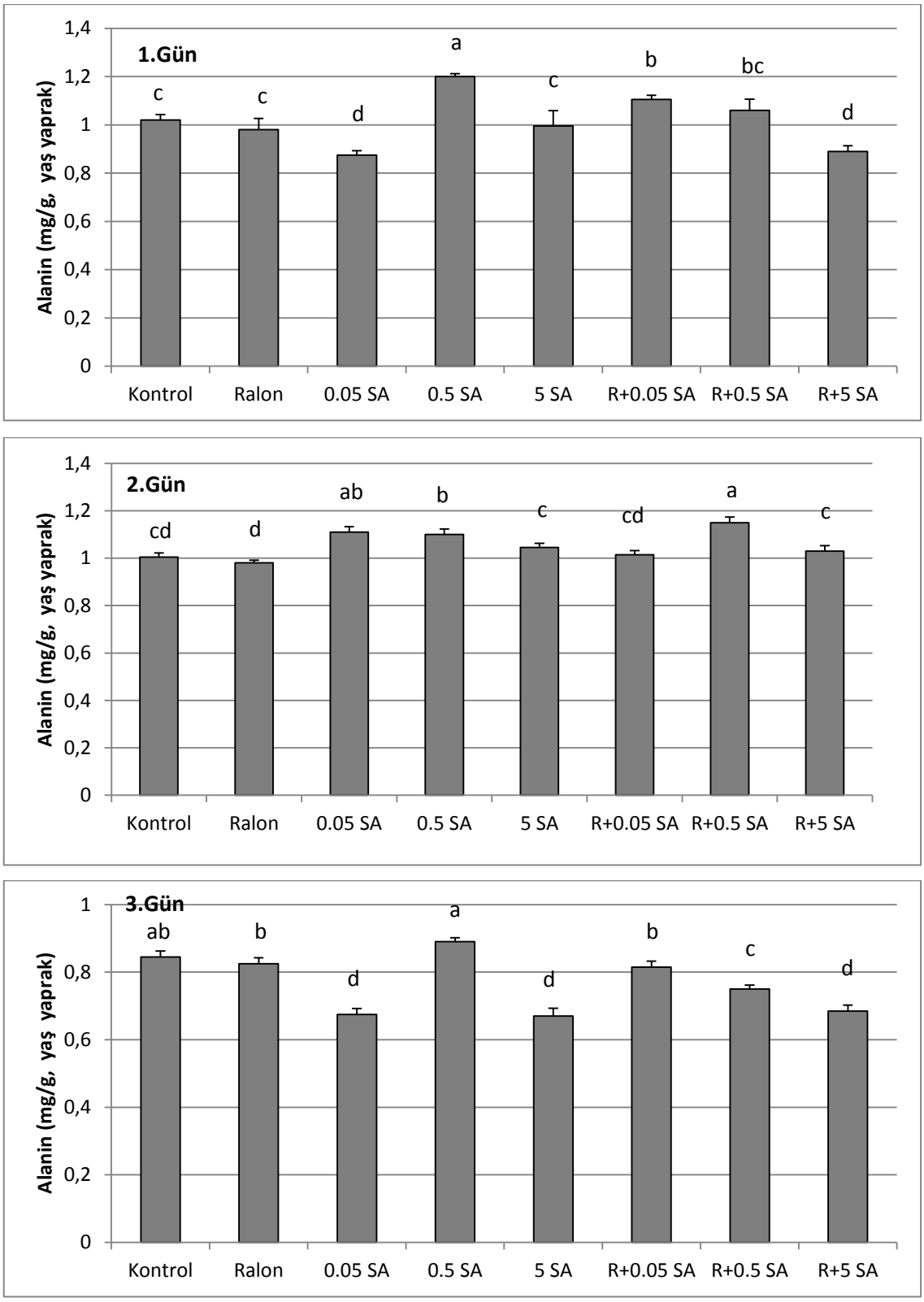
Şekil 4.46 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki treonin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



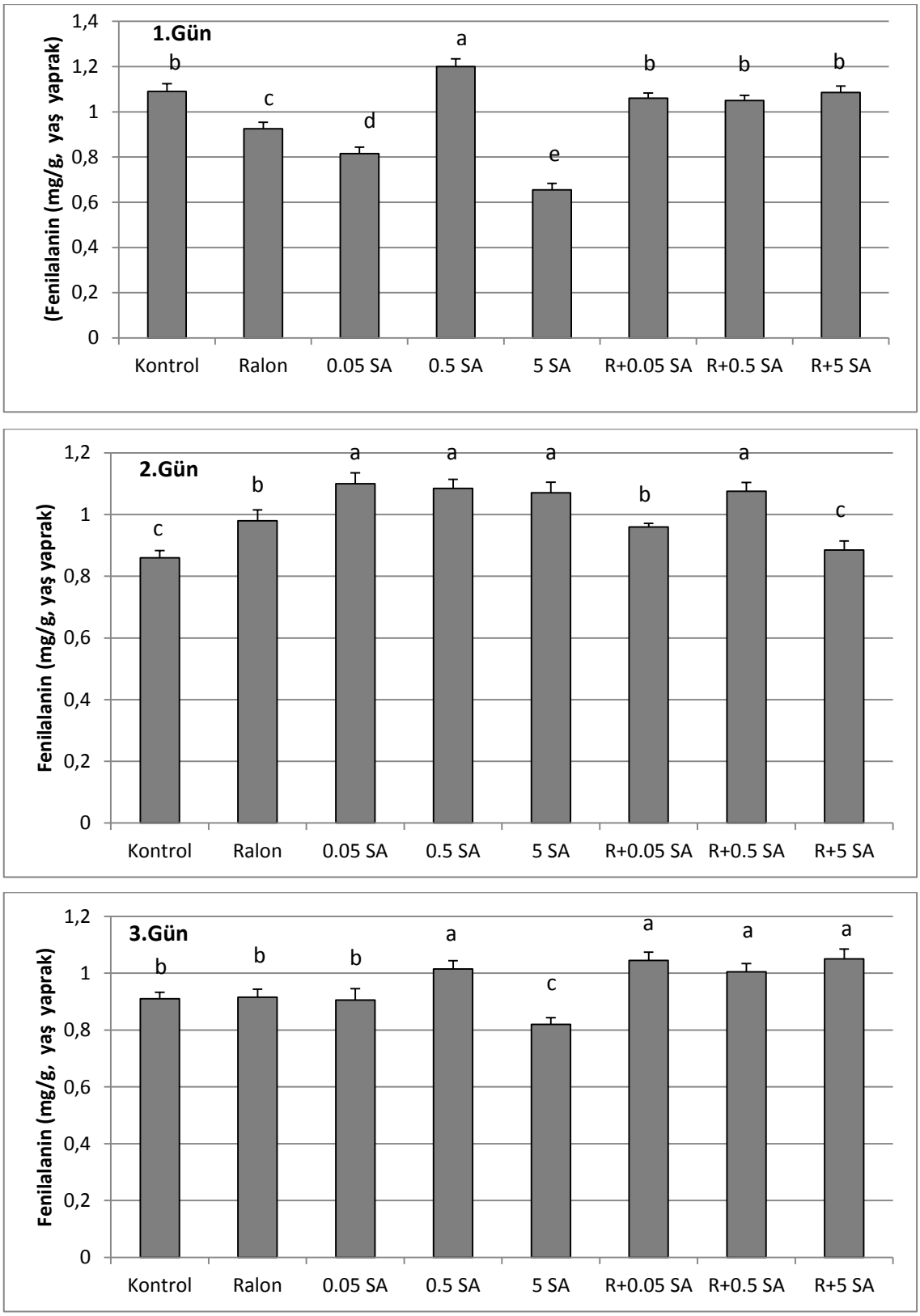
Şekil 4.47 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki tirozin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



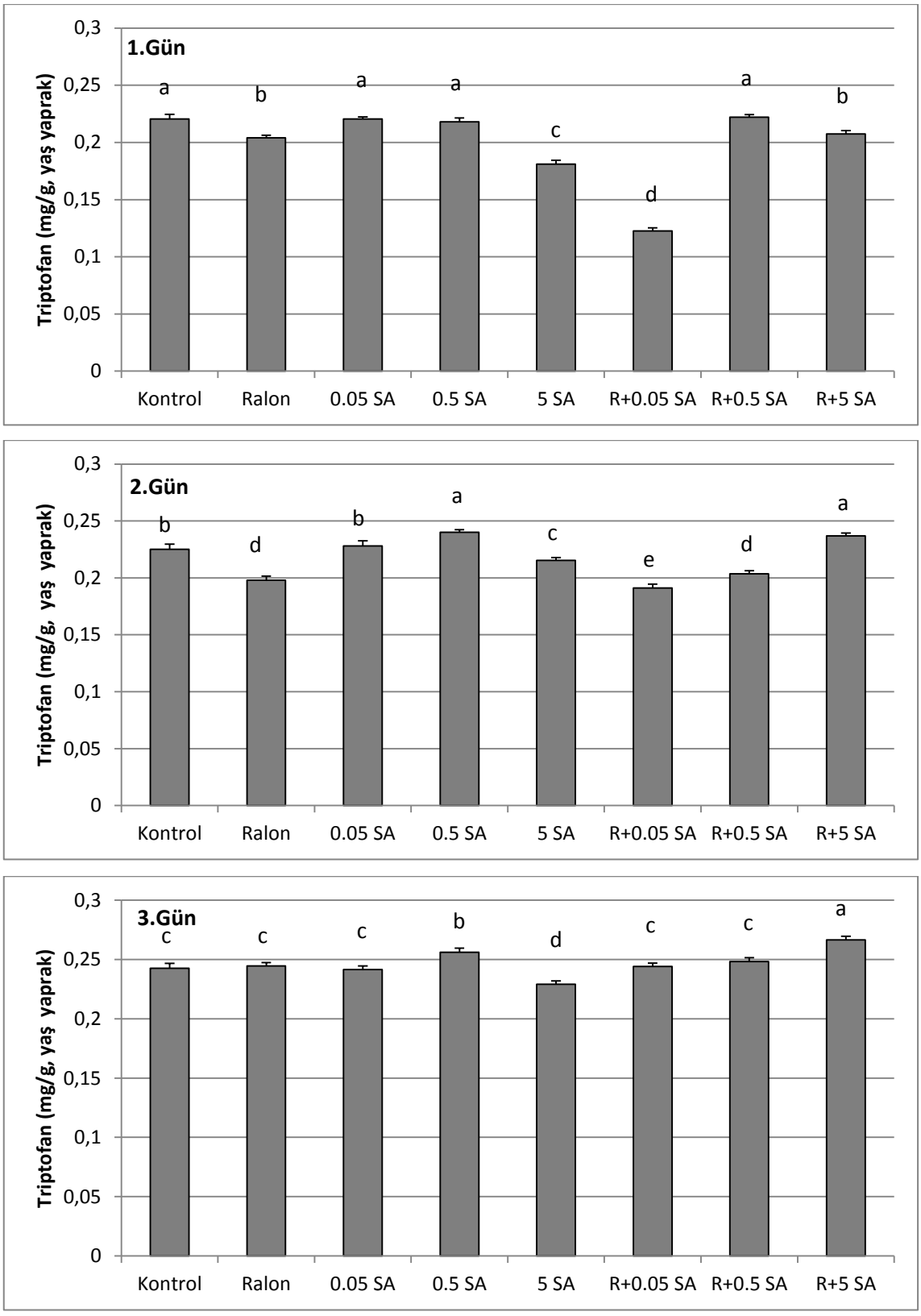
Şekil 4.48 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki glisin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



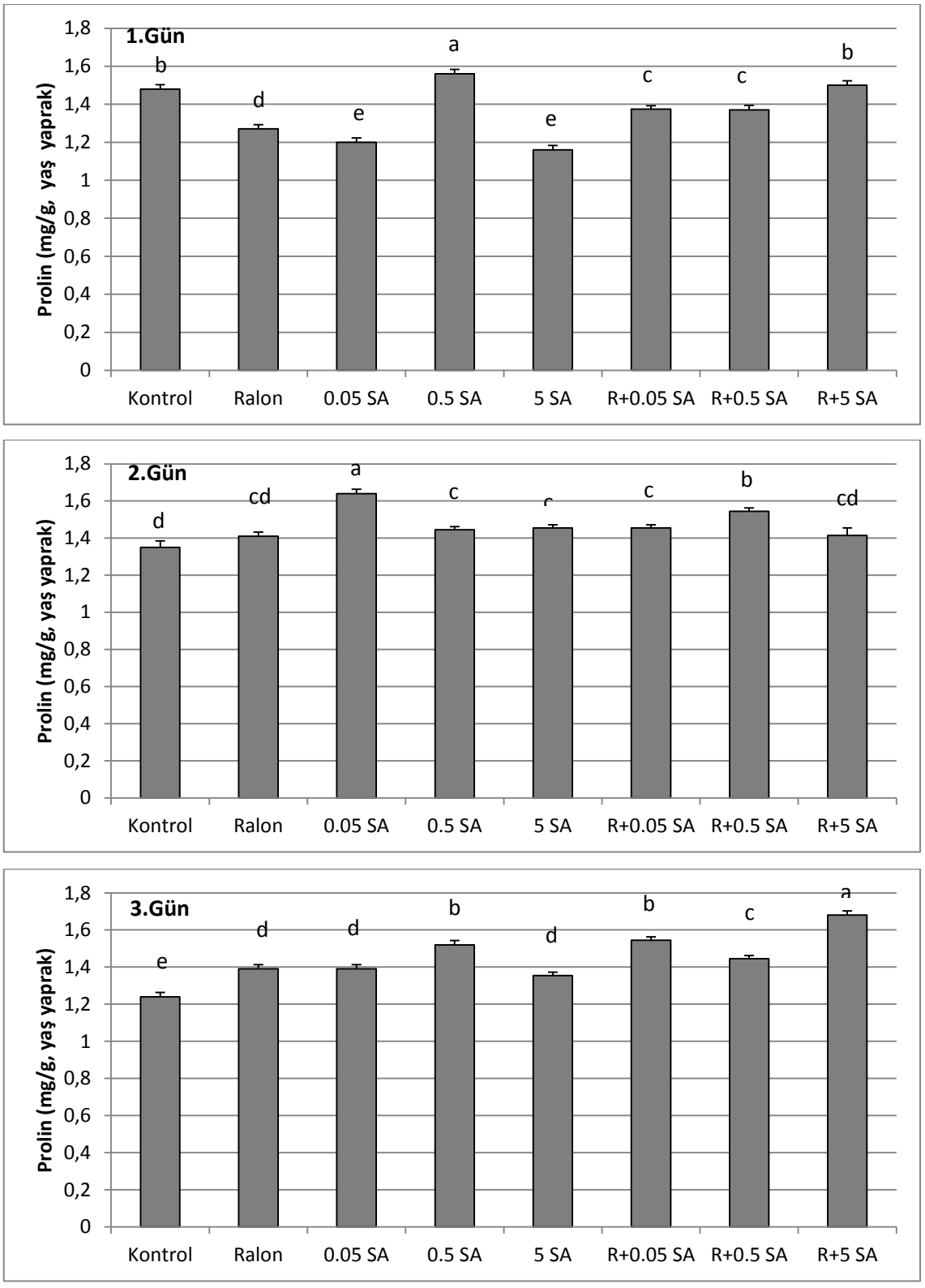
Şekil 4.49 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki alanin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



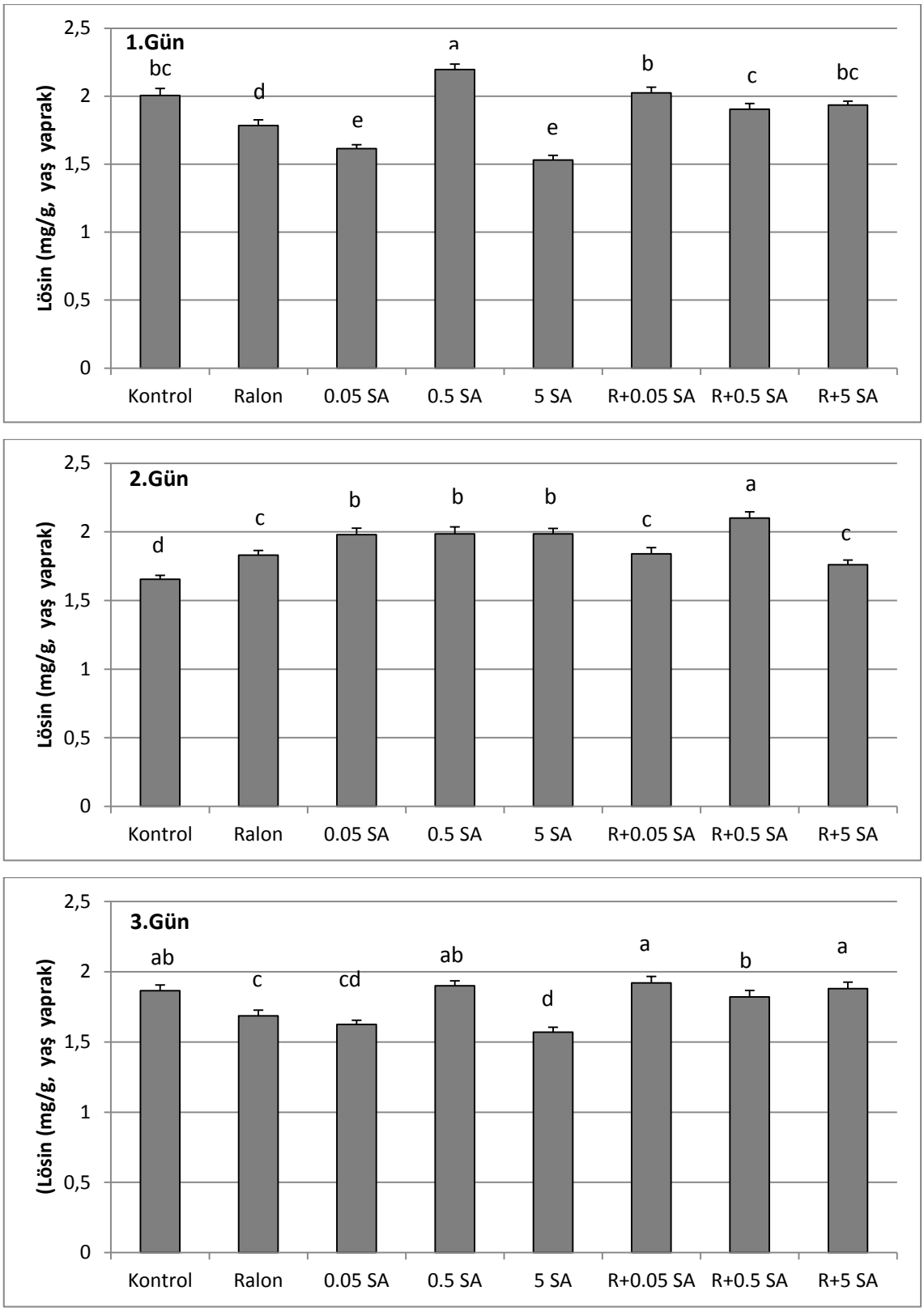
Şekil 4.50 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki fenilalanin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



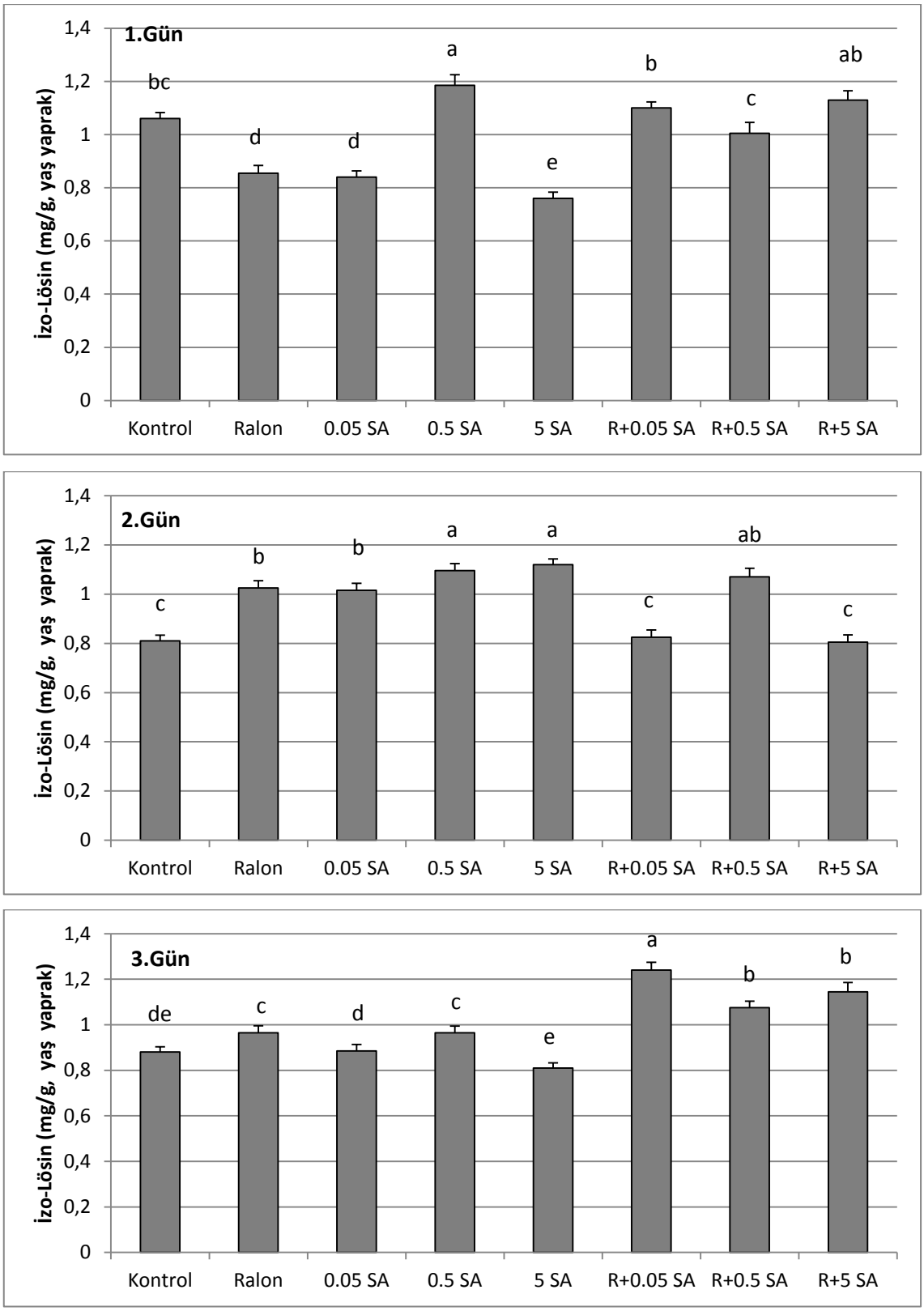
Şekil 4.51 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki triptofan sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



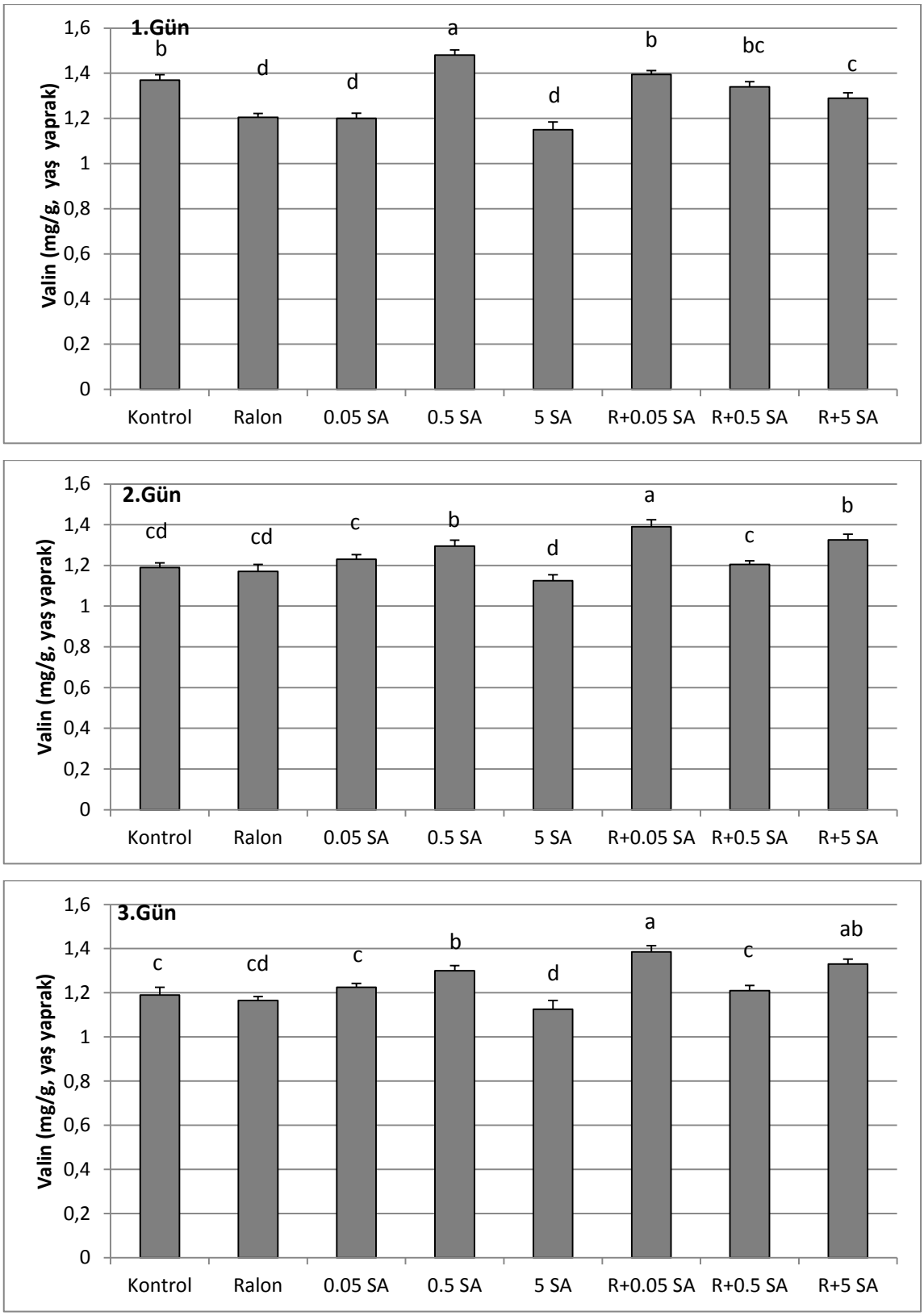
Şekil 4.52 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki prolin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



Şekil 4.53 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki lösin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



Şekil 4.54 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki izo-lösin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).



Şekil 4.55 Kontrol, Ralon(R), 0.05 mM SA, 0.5 mM SA , 5 mM SA, R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA uygulanan buğday yapraklarındaki valin sonuçları. Sütunlardaki farklı harfler istatistiksel olarak uygulamalar arasında fark olduğunu göstermektedir (ANOVA $P<0.01$, Tukey's test).

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1 Herbisitlere Maruz Kalan Buğday Yapraklarındaki Vitaminlerin Sonuçları

5.1.1 C Vitamini (L-Askorbik Asit) Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki askorbik asit sonuçları Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, askorbik asit her iki herbisitte de 1., 2. ve 3. günde artmıştır. En çok artış 1.gün %19, 2.gün %22 ve 3.gün %10 ile Ralonda olmuştur. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde askorbik asidin istatistiksel olarak her üç günde de anlamlı derecede arttığı görülmüştür.

5.1.2 B_1 Vitamini (Tiyamin) Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki tiyamin sonuçları Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, tiyamin her iki herbisitte de 2.gün %8 artmış, 1. ve 3. günde ise bir değişim görülmemiştir. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde tiyaminin her iki herbisitte de sadece 2.günde istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür.

5.1.3 B_2 Vitamini (Riboflavin) Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki riboflavin sonuçları Şekil 4.6'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, riboflavin sadece Ralonda 1.gün

%6, 2.günde ise %5 artmıştır. Granstar ile muamele edildiğinde ise kontrole göre riboflavinde 1., 2. ve 3.günde de bir değişim görülmemiştir. Bu sonuçlardan, yapraklar Granstar ile muamele edildiğinde riboflavinde istatistiksel olarak bir değişim görülmemiş, Ralon ile muamele edildiğinde ise sadece 1. ve 2. günde istatistiksel olarak bir arttığı görülmüştür.

5.1.4 B_3 Vitamini, Niyasin (Nikotinik Asit, Nikotinamid) Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki nikotinik asit sonuçları Şekil 4.8'de, nikotinamid sonuçları ise Şekil 4.9'da gösterilmiştir.

Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde nikotinik asit Ralonda %9, Granstarda %5 artmış, 2.günde ise sadece Ralonda %13 artış görülmüştür. 3.günde nikotinik asit Ralonda %7, Granstarda %13 artmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon herbisiti ile muamele edildiğinde nikotinik asidin istatistiksel olarak her üç günde de anlamlı derecede artığı, Granstar ile muamele edildiğinde ise sadece 1. ve 3. günde arttığı görülmüştür.

Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1. ve 2.günde nikotinamid her iki herbisitte de artmış, en çok artış 1.günde Ralonda %14, Granstarda ise %13 olmuştur. 3.günde nikotinamid Ralonda %17 artmış, Granstarda ise %5 azalmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon herbisiti ile muamele edildiğinde nikotinamidin istatistiksel olarak her üç günde de anlamlı derece arttığı, Granstar ile muamele edildiğinde ise 1 ve 2.gün arttığı, 3.gün ise azaldığı görülmüştür.

5.1.5 B_6 Vitamini, (Pridoksal, Pridoksin, Pridoksamin) Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki pridoksal sonuçları Şekil 4.11'de, pridoksin sonuçları Şekil 4.12'de ve pridoksamin sonuçları ise Şekil 4.13'de verilmiştir.

Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde pridoksal sadece Granstarda %5 azalmıştır. 2. ve 3.günde her iki herbistte de pridoksal azalmış, en çok azalma 3.gün Ralonda %21, Granstarda ise %20 olmuştur. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisiti ile muamele edildiğinde pridoksalın istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görülmüştür.

Kontrol ile karşılaştırıldığında, pridoksin 1.günde Ralonda %10, Granstarda %24 azalmış, 2.günde ise sadece Granstarda %9 azalmıştır. 3.günde ise pridoksin Ralonda %26, Granstarda ise %20 azalmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon herbisiti ile muamele edildiğinde pridoksinin 1. ve 3.günde, Granstar ile muamele edildiğinde ise her üç günde de istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görülmüştür.

Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1. ve 2. günde pridoksamin her iki herbisitte de azalmış, en çok azalma 2.gün Ralonda %22, Granstarda ise %27 olmuştur. 3.günde pridoksamin her iki herbisitte de kontrole göre bir değişim göstermemiştir. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde pridoksaminin 1. ve 2.günde istatistiksel olarak anlamlı derece azaldığı görülmüştür.

5.2 SA ve Herbisit+SA Uygulanan Buğday Yapraklarındaki Vitaminlerin Sonuçları

5.2.1 C Vitamini (L-Askorbik Asit) Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki askorbik asit sonuçları Şekil 4.14'de verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde askorbik asit 0.05 mM SA'da %6 ve 0.5 mM SA'da %8 artmış, herbisitin neden olduğu %19'lik artışı R+0.05 mM SA %16'ya, R+0.5 mM SA %9'a düşürmüş, R+5 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde askorbik asit 0.05 mM SA'da %7 ve 0.5 mM SA'da %9 artmış, herbisitin neden olduğu %22'lik artışı R+0.5 mM SA %7'ye düşürmüş, R+5 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 3.günde ise askorbik asit 0.5 mM SA'da %4 artmış, 5 mM SA'da ise %16 azaltmış, herbisitin neden olduğu %10'luk artışı R+0.5 mM SA kontrol seviyesine yaklaştırmış, R+5 mM SA ise kontrole göre %5 azaltmıştır. Bu sonuçlardan, düşük konsantrasyon SA'nın (0.05 ve 0.5 mM) askorbik asidi kontrole göre artırdığı görülmüştür. R+0.05 mM SA'nın 1.günde, R+0.5 mM SA'nın 1., 2. ve 3. günde, R+5 mM SA'nın ise 1., 2. ve 3.günde istatistiksel olarak askorbik asidi kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.2.2 B_1 Vitamini (Tiyamin) Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki tiyamin sonuçları Şekil 4.15'de verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde tiyamin 0.05 mM SA'da %6 ve 5 mM SA'da %29 artmış,

herbisit verildiğinde tiyamin seviyesinde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA %25, R+0.5 mM SA %11 ve R+5 mM SA %31 artırmıştır. 2.günde tiyamin kontrole göre 0.5 mM SA'da %18 artmış, herbisitin neden olduğu %8'lik artışı R+0.05 mM SA %31'e, R+0.5 mM SA %17'ye artırmış, R+5SA mM ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 3.günde ise tiyamin kontrole göre 0.5 mM SA'da %10 artmış, 5 mM SA'da ise %4 azalmış, herbisit verildiğinde tiyamin seviyesinde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA %11 ve R+0.5 mM SA %12 artırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.05 mM SA 1.günde, 0.5 SA mM 2. ve 3.günde, 5 mM SA ise 1.günde tiyamini artırmış, 3.günde ise azaltmış, R+5 mM SA'nın ise 2.günde istatistiksel olarak tiyamini kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.2.3 B_2 Vitamini (Riboflavin) Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki riboflavin sonuçları Şekil 4.16'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde riboflavin 0.05 mM SA'da %4 azalmış, 5 mM SA'da ise %11 artmış, herbisitin neden olduğu %6'lık artışı, R+0.05 mM SA %16'ya, R+0.5 mM SA %15'e artırmış, R+5 mM SA'da ise kontrole yaklaştırmıştır. 2.günde riboflavin kontrole göre 0.5 mM SA'da %7 artmış, herbisit verildiğinde riboflavin seviyesinde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA %17 artırmıştır. 3.günde riboflavin kontrole göre 0.05 mM SA'da %11 azalmış, herbisit ve herbisit+SA verildiğinde riboflavin seviyesinde bir değişim görülmemiştir. Bu sonuçlardan, 0.05 mM SA 1. ve 3.günde riboflavini azaltmış, 0.5 mM SA 2.günde, 5 mM SA ise 1.günde artırmıştır. R+5 mM SA'nın 1.günde istatistiksel olarak riboflavini kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.2.4 B_3 Vitamini, (Niyasin)

Nikotinik Asit Sonuçları:

Kesilen buğday yapraklardaki nikotinik asit sonuçları Şekil 4.17'de verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde SA verildiğinde nikotinik asitde bir değişim görülmemiş, herbisitin neden olduğu %8'lik artışı sadece R+0.05 mM SA kontrole yaklaştırmıştır. 2.günde nikotinik asit kontrole göre 0.5 mM SA'da %7 ve 5 mM SA'da %14 artmış, herbisitin neden olduğu %13'lük artışı R+0.5 mM SA %9'a düşürmüştür. 3.günde ise nikotinik asit kontrole göre 0.5 mM SA'da %7 artmış, herbisitin neden

olduğu %7'lik artışı R+5 mM SA %4'e düşürmüş, R+0.05 mM SA ise kontrole yaklaştırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.5 mM SA'nın 2. ve 3.günde, 5 mM SA'nın ise 2.günde nikotinik asidi arttırdığı, R+0.05 mM SA'nın 1. ve 3.günde, R+0.5 mM SA'nın 2.günde ve R+5 mM SA'nın ise 3.günde istatistiksel olarak nikotinik asidi kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

Nikotinamid Sonuçları:

Kesilen buğday yapraklardaki nikotinamid sonuçları Şekil 4.18'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, nikotinamid 1.günde 0.05 mM SA'da %10, 0.5 mM SA'da %11 ve 5 SA'da ise %5 artmış, herbisitin neden olduğu %14'lük artışı R+0.05 mM mM SA %6'ya, R+0.5 mM SA %11'e düşürmüştür. 2.günde ise SA verildiğinde nikotinamid seviyesinde bir değişim görülmemiş, herbisitin neden olduğu %5'lik artışı R+0.5 mM SA kontrole yaklaştırmıştır. 3.günde ise nikotinamid 0.05 mM SA'da %7, 5 SA'da ise %11 azalmış, herbisitin neden olduğu %17'lik artışı R+0.05 mM SA %2'ye, R+0.5 mM SA %7'ye düşürmüş, R+5 SA ise kontrole yaklaştırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.05 mM SA ve 5 mM SA 1.günde nikotinamidi arttırırken 3.günde düşürmüş, 0.5 mM SA ise sadece 1.günde arttırmıştır. R+0.05 mM SA'nın 1. ve 3.günde, R+0.5 mM SA'ın her üç günde de ve R+5 mM SA'nın ise 3.günde istatistiksel olarak nikotinamidi kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.2.5 B_6 Vitamini (PL, PN,PM) Sonuçları

Pridoksal (PL) Sonuçları:

Kesilen buğday yapraklardaki pridoksal sonuçları Şekil 4.19'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde pridoksal 0.5 mM SA'da %9 ve 5 mM SA'da ise %26 azalmış, herbisit verildiğinde pridoksal seviyesinde bir değişim görülmezken, R+0.5 mM SA %11 ve R+5 mM SA %42 azaltmıştır. 2.günde 0.5 mM SA ve 5 mM SA pridoksalı kontrole göre %6 artırmış, herbisitin neden olduğu %13'lük azalışı R+0.05 mM SA %1 seviyesine getirirken R+5 mM SA %22 seviyesine düşürmüştür. 3.günde pridoksal kontrole göre 0.05 mM SA'da %4, 0.5 mM SA'da %14 ve 5 mM SA'da ise %18 azalmış, herbisitin neden olduğu %21'lik azalışı R+5 mM SA %36'ya artırmış, R+0.05 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.5 mM SA ve 5 mM SA verildiğinde sadece 2.günde pridoksalda artış olmuş, 3.günde ise her üç konsantrasyonda azaldığı

görülmüştür. R+0.05 mM SA'nın 2. ve 3.günde istatistiksel olarak pridoksalı kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

Pridoksin(PN) Sonuçları:

Kesilen buğday yapraklardaki pridoksin sonuçları Şekil 4.20'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde pridoksin 0.5 mM SA'da ve 5 mM SA'da %12 azalmış, herbisitin neden olduğu %10'luk azalışı R+5 mM SA %22'ye artırmış, R+0.05 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde kontrole göre 0.5 mM SA pridoksini %9 azaltırken, 5 mM SA %13 arttırmış, herbisit verildiğinde pridoksin seviyesinde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA %20, R+5 mM SA ise %18 azaltmıştır. 3.günde kontrole göre 5 mM SA pridoksini %23 artırmış, herbisitin neden olduğu %26'lık azalışı her üç konsantrasyonda SA kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. Bu sonuçlardan, 5 mM SA 1.günde pridoksini azaltırken 3.günde ise artırmıştır. R+0.05 mM SA 1. günde ve SA'nın her üç konsantrasyonu da 3.günde pridoksini istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırmıştır.

Pridoksamin (PM) Sonuçları:

Kesilen buğday yapraklardaki pridoksamin sonuçları Şekil 4.21'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde pridoksamin 5 mM SA'da %9 azalmış, herbisitin neden olduğu %8'lik azalışı R+5 mM SA %25'e artırmış, R+0.05 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde kontrole göre 5 mM SA pridoksini %15 artırmış, herbisitin neden olduğu %22'lik azalışı R+5 mM SA %12 seviyesine getirmiş, R+0.05 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 3.günde SA ve herbisit+SA verildiğinde genelde pridoksaminde bir değişim görülmezken, sadece R+5 mM SA pridoksamini %29 azaltmıştır. Bu sonuçlardan, 5 mM SA verildiğinde 1. ve 3.günde günde pridoksamini azaltırken, 2.günde artırmıştır. R+0.05 mM SA 1. ve 2.günde R+5 mM SA 2.günde pridoksamini kontrol seviyesine yaklaştırmıştır.

5.3 Herbisitlere Maruz Kalan Buğday Yapraklarındaki Amino Asitlerin Sonuçları

5.3.1 Aspartik Asit Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki aspartik asit sonuçları Şekil 4.24'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, aspartik asit 1.günde Ralonda %48, Granstarda ise %27 azalmıştır. 2.günde aspartik asit kontrole göre Ralonda %45, Granstarda ise %32 azalmıştır. 3.günde ise aspartik asit kontrole göre Ralonda %54, Granstarda ise %49 azalmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde aspartik asidin istatistiksel olarak anlamlı derecede her üç günde de azaldığı görülmüştür.

5.3.2 Glutamik Asit Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki glutamik asit sonuçları Şekil 4.25'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, glutamik asit 1.günde Ralonda %33, Granstarda ise %22 azalmıştır. 2.günde glutamik asit kontrole göre Ralonda %31, Granstarda ise %16 azalmıştır. 3.günde ise glutamik asit kontrole göre Ralonda %24, Granstarda ise %12 azalmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde glutamik asidin istatistiksel olarak anlamlı derecede her üç günde de azaldığı görülmüştür.

5.3.3 Lizin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki lizin sonuçları Şekil 4.26'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, lizin 1.günde Ralonda %20, Granstarda ise %19 azalmıştır. 2.günde lizin kontrole göre Ralonda ve Granstarda %20 artmıştır. 3.günde ise lizin kontrole göre sadece Granstarda %7 artmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde lizin her iki herbisittede 1.günde azalmış, 2.günde artmış, 3.günde ise sadece Granstarda istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görülmüştür.

5.3.4 Arjinin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki lizin sonuçları Şekil 4.27'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, arjinin 1.günde Ralonda %19, Granstarda ise %28 azalmıştır. 2.günde arjininde her iki herbisitte de kontrole göre bir değişim görülmemiştir. 3.günde ise arjinin kontrole göre Ralonda %9, Granstarda ise %10 azalmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde arjinin her iki herbisittede 1. ve 3.günde azalmış, 2.günde ise istatistiksel olarak anlamlı derece bir değişim görülmemiştir.

5.3.5 Histidin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki lizin sonuçları Şekil 4.28'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, histidin 1.günde Ralonda %41 azalmış, Granstarda ise %16 artmıştır. 2.günde Ralon verildiğinde kontrole göre histidinde bir değişim görülmemiş, Granstarda ise %58 azalmıştır. 3.günde ise histidin kontrole göre her iki herbisittede %35 artmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde histidinde istatistiksel olarak anlamlı derecede artış ve azalışlar görülmüştür.

5.3.6 Serin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki lizin sonuçları Şekil 4.29'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, serin sadece 1.günde Ralonda %24, 2.günde ise Granstarda %31 azalmıştır. 3.günde ise serin kontrole göre Ralonda %16, Granstarda ise %19 artmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde serinde istatistiksel olarak anlamlı derecede artış ve azalışlar görülmüştür.

5.3.7 Treonin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki treonin sonuçları Şekil 4.30'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, treonin 1.günde Ralonda %20 azalmış, Granstarda ise %7 artmıştır. 2.günde treonin kontrole göre sadece Granstarda %26 azalmıştır. 3.günde ise treonin kontrole göre Ralonda %44,

Granstarda ise %49 artmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde treoninde istatistiksel olarak anlamlı derecede artış ve azalışlar görülmüştür.

5.3.8 Tirozin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki treonin sonuçları Şekil 4.31'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, trozin 1.günde Ralonda %10, 2.günde ise Granstarda %15 azalmış, 3.günde ise her iki herbisitte de kontrole göre bir değişim görülmemiştir. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde tirozinde 1. ve 2.günde istatistiksel olarak anlamlı derecede artış ve azalışlar görülmüştür.

5.3.9 Glisin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki glisin sonuçları Şekil 4.32'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, glisinde 1., 2. ve 3.günde her iki herbisitte de istatistiksel olarak anlamlı derecede bir değişim görülmemiştir. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde her iki herbisitin de glisin üzerinde bir etkisi görülmemiştir.

5.3.10 Alanin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki alanin sonuçları Şekil 4.33'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, alanin sadece 1.günde Granstarda %7 artmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde 1.gün Granstar dışında her iki herbisitin de genel olarak alanin üzerine bir etkisi görülmemiştir.

5.3.11 Fenilalanin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki fenilalanin sonuçları Şekil 4.34'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, fenilalanin 1.günde Ralonda %10 azalmış, 2.günde ise kontrole göre Ralonda %14, Granstarda ise %13 artmıştır. 3.günde ise sadece Granstarda kontrole göre %14 artmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon

ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde fenilalaninde istatistiksel olarak anlamlı derecede artış ve azalışlar görülmüştür.

5.3.12 Triptofan Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki triptofan sonuçları Şekil 4.35'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, triptofan 1.günde Ralonda %7 azalmış, Granstar verildiğinde ise bir değişim görülmemiştir. 2.günde triptofan kontrole göre Ralonda %12, Granstarda ise %14 azalmıştır. 3.günde ise sadece Granstarda kontrole göre %14 azalmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde triptofanın Ralonda 1. ve 2.gün, Granstarda ise 2. ve 3.gün istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görülmüştür.

5.3.13 Prolin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki prolin sonuçları Şekil 4.36'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, prolin 1.günde Ralonda %14 Granstarda ise %11 azalmıştır. 2.günde prolinde kontrole göre her iki herbisitte de bir değişim görülmemiştir. 3.günde ise prolin kontrole göre Ralonda %12, Granstarda ise %17 artmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde prolin her iki herbisittede 1.günde azalırken, 3.günde istatistiksel olarak anlamlı derece arttığı görülmüştür.

5.3.14 İzo-Lösin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki izo-lösin sonuçları Şekil 4.37'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, izo-lösin 1.günde Ralonda %19 azalmış, 2.günde ise %27 artmıştır. 3.günde ise izo-lösin kontrole göre Ralonda %19, Granstarda ise %24 artmıştır Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde izo-lösinde istatistiksel olarak anlamlı derecede artış ve azalışlar görülmüştür.

5.3.15 Lösin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki lösin sonuçları Şekil 4.38'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, lösin 1.günde Ralonda %11, Granstarda %10 azalmıştır. 2.günde ise lösin kontrole göre Ralonda %11 artmış, 3.günde ise %10 azalmıştır. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde lösinde istatistiksel olarak anlamlı derece artış ve azalışlar olduğu görülmüştür.

5.3.16 Valin Sonuçları

Kontrol ve herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki valin sonuçları Şekil 4.39'de gösterilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, valin sadece 1.günde Ralonda %12 azalmış, diğer günlerde ise kontrole göre bir değişim görülmemiştir. Bu sonuçlardan, yapraklar Ralon ve Granstar herbisitleri ile muamele edildiğinde sadece 1.gün Ralonun etkili olduğu görülmüştür.

5.4 SA ve Herbisit+SA Uygulanan Buğday Yapraklarındaki Amino Asit Sonuçları

5.4.1 Aspartik Asit Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki aspartik asit sonuçları Şekil 4.40'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde aspartik asit 0.05 mM SA'da %65, 0.5 mM SA'da %28 ve 5 mM SA'da %48 azalmış, herbisitin neden olduğu %48'lik azalışı R+0.05 mM SA %71'e artırırken, R+0.5 mM SA %25 seviyesine getirmiş, R+5SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde aspartik asit kontrole göre 0.05 mM SA'da %15 ve 0.5 mM SA'da %9 azalmış, herbisitin neden olduğu %45'lik azalışı R+0.05 mM SA %18'e ve R+5 mM SA %10 seviyesine getirirken, R+0.5 mM SA ise kontrole göre %11 seviyesine artırmıştır. 3.günde aspartik asit kontrole göre 0.05 mM SA'da %35 ve 5 mM SA'da %51 azalırken, 0.5 mM SA'da ise %13 artmış, herbisitin neden olduğu %54'lük azalışı R+0.05 mM SA %21 seviyesine getirmiş, R+0.5 mM SA %71 seviyesine artırmış, R+5 mM SA ise kontrole yaklaştırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.05 mM SA ve 5 mM SA'nın aspartik asidi 1.ve 3.günde istatistiksel olarak önemli derece azalttığı, R+0.05 mM SA'nın 2. ve

3.günde, R+0.5 mM SA'nın 1. ve 2.günde, R+5 mM SA'nın ise her üç günde de aspartik asidi istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.2 Glutamik Asit Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki glutamik asit sonuçları Şekil 4.41'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde glutamik asit 0.05 mM SA'da %59, 0.5 mM SA'da %14 ve 5 mM SA'da %42 azalmış, herbisitin neden olduğu %33'lük azalışı R+0.05 mM SA %59'a artırıken, R+0.5 mM SA %17 seviyesine getirmiş, R+5SA ise kontrole yaklaştırmıştır. 2.günde glutamik asit kontrole göre 0.05 mM SA'da %58 ve 0.5 mM SA'da %11 azalmış, herbisitin neden olduğu %31'lik azalışı R+0.5 mM SA %11 seviyesine getirirken, R+0.05 mM SA ve R+5 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 3.günde glutamik asit kontrole göre 0.05 mM SA'da %14 ve 5 mM SA'da %24 azalırken 0.5 mM SA'da ise %16 artmış, herbisitin neden olduğu %24'lük azalışı R+0.5 mM SA %45 seviyesine artırmış, R+0.05 mM SA ve R+5 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.05 mM SA'nın glutamik asidi her üç günde de istatistiksel olarak önemli derece azalttığı, R+0.05 mM SA'nın 2. ve 3.günde, R+0.5 mM SA'nın 1. ve 2.günde, R+5 mM SA'nın ise her üç günde de glutamik asidi istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.3 Lizin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki lizin sonuçları Şekil 4.42'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde lizin 0.05 mM SA'da %37, 0.5 mM SA'da %10 ve 5 mM SA'da %61 azalmış, herbisitin neden olduğu %20'lik azalışı R+0.5 mM SA %11'e getirmiş, R+5 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde lizin kontrole göre 0.05 mM SA'da %28, 0.5 mM SA'da %29 ve 5 mM SA'da %34 artmış, herbisitin neden olduğu %20'lik artışı R+0.05 mM SA ve 5 mM SA kontrol seviyesine yaklaştırırken, R+0.5 mM SA ise kontrole göre %45 seviyesine artırmıştır. 3.günde lizin kontrole göre 0.5 mM SA'da %10 artmış, 5 mM SA'da %20 azalmış, herbisit verildiğinde lizinde bir değişim görülmezken, sadece R+0.05 mM SA lizini %13 artırmıştır. Bu sonuçlardan, SA'nın 1.günde lizini istatistiksel olarak azalttığı, 2.günde arttırdığı, 3.günde ise 5 mM SA'nın kontrol seviyesinin altına düşürdüğü görülmüştür. R+0.05 mM SA'nın 2.günde,

R+0.5 mM SA'nın 3.günde, R+5 mM SA'da ise her üç günde de lizini kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.4 Arjinin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki arjinin sonuçları Şekil 4.43'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde arjinin 0.05 mM SA'da %22 ve 5 mM SA'da %28 azalmış, herbisitin neden olduğu %19'luk azalışı, R+0.05 mM SA %10'a ve R+5 mM SA %12'ye getirirken, R+0.5 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde arjinin kontrole göre 0.05 mM SA'da %21 ve 0.5 mM SA'da %12 artmış, herbisit verildiğinde arjininde bir değişim görülmezken, R+0.5 mM SA arjinini %25 artırmıştır. 3.günde arjinin kontrole göre 0.05 mM SA'da %10 ve 5 mM SA'da %18 azalmış, herbisitin neden olduğu %9'luk azalışı R+0.5 mM SA %15'e artırmış, R+0.05 mM SA ise kontrole göre %12 seviyesine artırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.05 mM SA ve 5 mM SA'nın istatisitksel olarak arjinini azaltığı görülmüştür. R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA'nın 1.günde istatistiksel olarak arjinini kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.5 Histidin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki histidin sonuçları Şekil 4.44'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde histidin 0.05 mM SA'da %57 ve 5 mM SA'da %18 azalmış, 0.5 mM SA'da ise %51 artmış, herbisitin neden olduğu %41'lik azalışı R+0.05 mM SA %14'e ve R+0.5 mM SA %18'ye getirmiş, R+5 mM SA ise kontrole göre %51 seviyesine artırmıştır. 2.günde arjinin kontrole göre 0.05 mM SA'da %39 ve 5 mM SA'da % 23 azalmış, 0.5 mM SA'da ise %20 artmış, herbisit verildiğinde histidinde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA %45, R+0.5 mM SA %11 ve R+5 mM SA ise %14 azaltmıştır. 3.günde histidin kontrole göre 0.05 mM SA'da %40 ve 5 mM SA'da %42 azalmış, 0.5 mM SA'da ise %47 artmış, herbisitin neden olduğu %63'lük artışı R+0.05 mM SA %50'ye, R+5 mM SA %47'ye düşürmüş, R+0.5 mM SA ise kontrole göre %14 seviyesine düşürmüştür. Bu sonuçlardan, 0.5 mM SA her üç günde de histidini artırmış, 0.05 mM SA ve 5SA ise azaltmıştır. Hem R+0.05 mM SA hem de R+0.5 mM SA'nın 1. ve 3.günde ve R+ 5 mM SA'nın ise 3.günde histidini kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.6 Serin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki serin sonuçları Şekil 4.45'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde serin 0.05 mM SA'da %38 ve 5 mM SA'da %17 azalmış, 0.5 mM SA'da ise %12 artmış, herbisitin neden olduğu %24'lük azalışı R+0.05 mM SA ve R+0.5 mM SA kontrol seviyesine yaklaştırmış, R+5 mM SA ise kontrole göre %15 artırmıştır. 2.günde serin kontrole göre 0.05 mM SA ve 5 mM SA'da % 13 azalmış, herbisit verildiğinde serinde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA ise %15 azaltmıştır. 3.günde serin kontrole göre 0.05 mM SA'da %16 ve 5 mM SA'da %14 azalmış, 0.5 mM SA'da ise %27 artmış, herbisitin neden olduğu %16'lık artışı R+5 mM SA %29 artırmış, R+0.5 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.5 mM SA 1. ve 3.günde serini artırmış, 0.05 mM SA ve 5 mM SA ise azaltmıştır. R+0.05 mM SA 1. günde, R+0.5 mM SA 1. ve 3.günde, 5 mM SA ise 1.günde serini istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.7 Treonin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki treonin sonuçları Şekil 4.46'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde treonin 0.05 mM SA'da %38 ve 5 mM SA'da %18 azalmış, 0.5 mM SA'da ise %19 artmış, herbisitin neden olduğu %20'lik azalışı R+0.5 mM SA %8 seviyesine getirmiş, R+5 mM SA kontrole göre %12 seviyesine artırmış, R+0.05 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde treonin kontrole göre 0.05 mM SA'da %16 ve 5 mM SA'da % 7 azalmış, herbisit verildiğinde treoninde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA %20 ve R+5 mM SA %8 azaltmıştır. 3.günde treonin kontrole göre 0.5 mM SA'da %51 artmış, herbisitin neden olduğu %44'lük artışı R+0.05 mM SA ve R+0.5 mM SA %17'ye düşürmüştür. Bu sonuçlardan, 0.5 mM SA 1. ve 3.günde treonini artırmış, 0.05 mM SA ve 5 mM SA ise 1. ve 2.günde azaltmıştır. Hem R+0.05 mM SA hem de R+0.5 mM SA 1. ve 3.günde ve R+5 mM SA ise 1.günde treonini istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.8 Tirozin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki tirozin sonuçları Şekil 4.47'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde trozin 0.05 mM SA'da %38 ve 5 mM SA'da %17 azalmış,

herbisitin neden olduğu %10'luk azalışı her üç konsatrasyonda SA kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde trozin kontrole göre 0.05 mM SA'da %7, 0.5 mM SA'da %12 ve 5 mM SA'da 8 artmış, herbisit verildiğinde trozinde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA %8 ve R+5 mM SA %22 azaltmış, R+0.5 mM SA ise %19 artırmıştır. 3.günde trozin kontrole göre 0.05 mM SA'da %9, 0.5 mM SA'da %7 artmış ve 5 mM SA'da %6 azalmış, herbisit verildiğinde trozinde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA'da %6 ve R+5SA'da %12 artmıştır. Bu sonuçlardan, 0.5 mM SA 2. ve 3.günde, 0.05 mM SA ve 5 mM SA ise 2.günde tirozini artırmıştır. Her üç konsantrasyonda R+SA'nın 1.günde triozini istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.9 Glisin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki glisin sonuçları Şekil 4.48'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde glisin 0.05 mM SA'da %10 ve 5 mM SA'da %7 azalmış, 0.5 mM SA'da ise %13 artmış, herbisit ve herbisit+SA verildiğinde glisinde bir değişim görülmemiştir. 2.günde SA ve herbisit verildiğinde glisinde bir değişim görülmezken, R+5 mM SA glisini kontrole göre %18 artırmıştır. 3.günde glisin kontrole göre 0.5 mM SA'da %12 artmış, herbisit verildiğinde glisinde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA'da %10 ve R+5SA'da %11 artmıştır. Bu sonuçlardan, SA verildiğinde glisinde artış ve azalışlar görülürken, herbisit verildiğinde glisinde istatistiksel olarak bir değişim görülmemiş, R+SA verildiğinde ise özellikle 3.günde artış olduğu görülmüştür.

5.4.10 Alanin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki alanin sonuçları Şekil 4.49'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde alanin 0.05 mM SA'da %14 ve 0.5 mM SA'da %18 artmış, herbisit verildiğinde alaninde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA kontrole göre %8 artırmış, R+5SA ise %13 azaltmıştır. 2.günde alanin kontrole göre 0.05 mM SA'da %10 ve 0.5 mM SA'da %9 artmış, herbisit verildiğinde alaninde bir değişim görülmezken, R+0.5 mM SA %15 artırmıştır. 3.günde alanin kontrole göre 0.5 mM SA'da %20 ve 5 mM SA'da %21 azalmış, herbisit verildiğinde alaninde bir değişim görülmezken, R+0.5 mM SA %11 ve R+5 mM SA %19 azaltmıştır. Bu sonuçlardan, 0.5 mM SA'nın her üç günde de alanini artırdığı görülmüştür. Herbisit verildiğinde

alaninde bir değişim görülmezken, herbisit+SA verildiğinde alaninde istatistiksel olarak artış ve azalışlar olduğu görülmüştür.

5.4.11 Fenilalanin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki fenilalanin sonuçları Şekil 4.50'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde fenilalanin 0.05 mM SA'da %25 ve 5 mM SA'da %40 azalmış, 0.5 mM SA'da ise %10 artmış, herbisitin neden olduğu %15'ik azalışı her üç konsatrasyonda SA kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde fenilalanin kontrole göre 0.05 mM SA'da %28, 0.5 mM SA'da %26 ve 5 mM SA'da %24 artmış, herbisitin neden olduğu %14'lük artışı R+0.5 mM %25'e artırmış, R+5 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 3.günde fenilalanin kontrole göre 0.5 mM SA'da %12 artmış, 5 mM SA'da %10 azalmış, herbisit verildiğinde fenilalanin bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA %15, R+0.5 mMSA %10 ve R+5 mM SA %15 artırmıştır. Bu sonuçlardan, fenilalaninin 0.5 mM SA'da her üç günde de kontrol seviyesinin üzerine olduğu görülmüştür. 1.günde R+0.05 mM SA, R+0.5 mM SA ve R+5 mM SA,'nın, 2.günde ise R+5 mM SA'nın fenilalanini istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.12 Triptofan Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki triptofan sonuçları Şekil 4.51'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde triptofan 5 mM SA'da %18 azalmış, herbisitin neden olduğu %7'lik azalışı R+0.05 mM SA %44'e artırmış, R+0.5 mM SA ise kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde triptofan kontrole göre 0.5 mM SA'da %7 artmış, 5 mM SA'da ise %4 azalmış, herbisitin neden olduğu %12'lik azalışı, R+5 mM SA kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 3.günde triptofan kontrole göre 0.5 mM SA'da %6 artmış, 5 mM SA'da ise %6 azalmış, herbisit verildiğinde triptofanda bir değişim görülmezken, R+5 mM SA ise %10 artırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.5 mM SA'nın triptofanı artırdığı, 5SA'nın ise her üç günde de azaltığı görülmüştür. 1.günde R+0.5 mM SA, 2.günde ise 5 mM SA'nın triptofanın istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.13 Prolin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki prolin sonuçları Şekil 4.52'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde prolin 0.05 mM SA'da %14 ve 5 mM SA'da %19 azalmış, 0.5 mM SA'da ise %5 artmış, herbisitin neden olduğu %14'lük azalışı her üç konsantrasyonda SA kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde prolin kontrole göre 0.05 mM SA ve 0.5 mM SA'da %7, 5SA'da ise %8 artmış, herbisit verildiğinde prolinde bir değişim görülmezken, R+0.5 mM SA %14 artırmıştır. 3.günde prolin kontrole göre R+0.05 mM SA %12 ve R+0.5 mM SA'da %23, R+5 mM SA'da ise %9 artmış, herbisitin neden olduğu %12'lik artışı R+0.05 mM SA %25'e, R+0.5 mM SA %17'ye ve R+5 mM SA ise %35'e artırmıştır. Bu sonuçlardan, 1.günde 0.05 mM SA ve 5 mM SA'nın dışında her üç konsantrasyonda SA'nın her üç günde de prolini artırdığı görülmüştür. 1.günde her üç konsantrasyonda R+SA'nın prolini istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.14 Lösin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki triptofan sonuçları Şekil 4.53'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde lösin 0.05 mMSA'da %20 ve 5 mM SA'da %24 azalmış, 0.5 mM SA'da ise %10 artmış, herbisitin neden olduğu %11'lik azalışı her üç konsantrasyonda SA kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde lösin kontrole göre her üç konsantrasyondaki SA'da %20 artmış, herbisitin neden olduğu %11'lik artışı R+0.5 mM SA %26'ya artırmıştır. 3.günde lösin kontrole göre 0.05 mM SA'da %13 ve 5 mM SA'da %16 azalmış, herbisitin neden olduğu %10'luk azalışı ise her üç konsantrasyonda SA kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.5 mM SA'nın lösini 1. ve 2. günde kontrol seviyesini üzerine tuttuğu görülmüştür. Her üç konsantrasyonda R+SA'nın lösini 1. ve 3.günde istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.15 İzo-Lösin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki izo-lösin sonuçları Şekil 4.54'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde izo-lösin 0.05 mMSA'da %21 ve 5 mM SA'da %28 azalmış, 0.5 mMSA'da ise %12 artmış, herbisitin neden olduğu %19'luk azalışı her üç

konsantrasyonda R+SA kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde izo-lösin kontrole göre 0.05 mMSA'da %25, 0.5 mM SA'da %35 ve 5 mM SA %38 artmış, herbisitin neden olduğu %27'lik artışı R+0.05 mM SA ve R+5 mM SA kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 3.günde izo-lösin kontrole göre 0.5 mM SA'da %10 artmış, herbisitin neden olduğu %10'luk artışı R+0.05 mM %41'e, R+0.5 mM SA %22'ye ve R+5 mM SA ise %38'e artırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.5 mM SA'nın izo-lösini her üç günde de kontrol seviyesini üzerine tuttuğu görülmüştür. 1.günde her üç konsantrasyonda R+SA'nın 2.günde ise R+0.05 mM SA ve R+ 5 mM SA'nın izo-lösini istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.4.16 Valin Sonuçları

Kesilen buğday yapraklardaki valin sonuçları Şekil 4.55'da verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında, 1.günde valin 0.05 mMSA'da %12 ve 5 mM SA'da %16 azalmış, 0.5 mMSA'da ise %8 artmış, herbisitin neden olduğu %12'lik azalışı her üç konsantrasyonda R+SA kontrol seviyesine yaklaştırmıştır. 2.günde valin sadece 0.5 mM SA'da %9 artmış, herbisit verildiğinde valinde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA %17 ve R+5 mM SA %11 artırmıştır. 3.günde valin kontrole göre 0.5 mM SA'da %9 artmış, 5 mM SA'da %5 azalmış, herbisit verildiğinde valinde bir değişim görülmezken, R+0.05 mM SA %16 ve R+5 mM SA %12 artırmıştır. Bu sonuçlardan, 0.5 mM SA'nın valini her üç günde de kontrol seviyesini üzerine tuttuğu görülmüştür. 1.günde her üç konsantrasyonda R+SA'nın valini istatistiksel olarak kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür.

5.5 Tartışma

Herbisitlerin kullanımı sonucu oluşan ROT'ları ve oluşturduğu zararın önlenmesinde antioksidan savunma sistemlerinin görev aldığı bilinmektedir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, herbisitlerin kullanımı sonucu bitkilerde enzimatik antioksidanlardan SOD, POX, CAT ve APX gibi enzimlerin aktivitelerinde artış ve azalışların olduğu bilinmektedir [1], [61], [74]. Yapılan sınırlı sayıdaki çalışmada vitaminlerin de kuvvetli bir antioksidan olduğu görülmüştür [94]. Bitkilerde farklı oksidatif stres sonucu bazı vitaminlerin sentezinde görev alan genlerin traskripsiyon seviyesinde artış [12] ve

azalışların [10] olduğu görülmüştür. Herbisitlerin vitaminler üzerine etkileri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır [11], [12]. Bitkilerde yapılan çalışmalarda, SA'nın bitkinin büyüme ve gelişmesine olumlu etkisinin yanında oksidatif streste ROT'ları ve hasarların azaltılmasında etkili olduğu bilinmektedir [2],[9],[24], [127].

Askorbik asitin ROT'ları etkisiz hale getirmede ve oksidatif stres sonucu oluşan hasarların azaltılmasında etkili olduğu bilinmektedir [107]. *Atriplex hortensis* 'da tuz stresinde [14] ve mısırda sıcaklık stresinde [15], askorbik asit seviyesinde artış olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise, ralon ve granstar herbisitleri verildiğinde Çizelge 5.1'de görüldüğü gibi her iki herbisitin de genel olarak askorbik asit seviyesini üç günde de artırdığı görülmektedir. Düşük konsantrasyon SA'nın (0.05 ve 0.5 mM) Çizelge 5.2'de görüldüğü gibi askorbik asit miktarını artırdığı da görülmüştür. Ralon+SA verildiğinde ise Çizelge 5.3'de görüldüğü gibi askorbik asiti düzenlediği ve kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmektedir. Bu verilere göre, herbisitin neden olduğu oksidatif stres sonucu askorbik asit seviyesinin arttığı, SA'nın ise stresi azaltmada etkili olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 5. 1 Herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki vitaminlerin seviyesindeki değişimler

Ralon	Askorbik Asit	Tiyamin	Riboflavin	Niyasin		B_6 Vitamini		
				Nikotinik Asit	Nikotinamid	Pridoksal	Pridoksin	Pridoksamin
1.Gün	+	≈	+	+	+	≈	—	—
2.Gün	+	+	+	+	+	—	≈	—
3.Gün	+	≈	≈	+	+	—	—	≈

Granstar	Askorbik Asit	Tiyamin	Riboflavin	Niyasin		B_6 Vitamini		
				Nikotinik Asit	Nikotinamid	Pridoksal	Pridoksin	Pridoksamin
1.Gün	+	≈	≈	+	+	—	—	—
2.Gün	+	+	≈	≈	+	—	—	—
3.Gün	+	≈	≈	+	—	—	—	≈

(+); kontrole göre artmıştır, (-); kontrole göre azalmıştır, (≈); kontrole göre değişmemiştir.

Çizelge 5.2 SA uygulananan buğday yapraklarındaki vitaminlerin seviyesindeki değişimler

Vitaminler	1.Gün			2.Gün			3.Gün		
	0.05 SA	0.5 SA	5 SA	0.05 SA	0.5 SA	5 SA	0.05 SA	0.5 SA	5 SA
Askorbik A.	+	+	≈	+	+	≈	≈	+	—
Tiyamin	+	≈	+	≈	+	≈	≈	+	—
Riboflavin	—	≈	+	≈	+	≈	—	≈	≈
Nikotinik A.	≈	≈	≈	≈	+	+	≈	+	≈
Nikotinamid	+	+	+	≈	≈	≈	—	≈	—
Pridoksal	≈	—	—	≈	+	+	—	—	—
Pridoksin	≈	—	—	≈	—	+	≈	≈	+
Pridoksamin	≈	≈	—	≈	≈	+	≈	≈	≈

(+); kontrole göre artmıştır, (-); kontrole göre azalmıştır, (≈); kontrole göre değişmemiştir.

Çizelge 5.3 Herbisit+SA uygulanan buğday yapraklarındaki vitaminlerin seviyesindeki değişimler

Vitaminler	1.Gün				2.Gün				3.Gün			
	R	R+0.05 SA	R+0.5 SA	R+5 SA	R	R+0.05 SA	R+0.5 SA	R+5 SA	R	R+0.05 SA	R+0.5 SA	R+5 SA
Askorbik A.	+	A	A	A	+		A	A	+		A	A
Tiyamin	≈				+			A	≈			
Riboflavin	+			A	+				≈			
Nikotinik A.	+	A			+		A		+	A		A
Nikotinamid	+	A	A		+		A		+	A	A	A
Pridoksal	≈				—	A			—	A		
Pridoksin	—	A			≈				—	A	A	A
Pridoksamin	—	A			—	A		A	≈			

(+); kontrole göre artmıştır, (-); kontrole göre azalmıştır, (≈); kontrole göre değişmemiştir, (A);SA R'nin etkisini azaltmıştır.

Paraguat herbisitinin *Arabidopsis thaliana*'da neden olduğu oksidatif streste tiyamin sentezinde rol alan 4 enzimin transkripsiyon seviyesinin artmasıyla tiyamin miktarında artış olduğu görülmüştür [12]. Bizim çalışmamızda ise, her iki herbisitin de sadece 2.günde Çizelge 5.1 'de görüldüğü gibi tiyamin seviyesini arttırdığı görülmektedir. 0.5 mM SA'nın çizelge 5.2'de görüldüğü gibi tek başına tiyamin seviyesini artırmada diğer SA'lara göre daha etkili olduğu da görülmüştür. Ralon ile birlikte 5 mM SA verildiğinde

Çizelge 5.3'de görüldüğü gibi tiyaminin kontrol seviyesine yaklaştığı görülmüştür. Bu verilere göre, herbisitin neden olduğu oksidatif stres sonucu tiyamin seviyesinin arttığı, 5 mM SA'nın ise bu stresi azaltmada etkili olduğu düşünülmektedir.

Mısır bitkisine 6 gün boyunca sıcaklık stresi uygulandığında riboflavin seviyesinde artış olduğu görülmüştür [15]. Atrip hortensis'e tuz stres (20-60 mM) uygulandığında riboflavin seviyesinde bir değişim görülmezken, tuz kosantrasyonu arttıkça riboflavin seviyesinde azalma olduğu görülmüştür [14]. Bizim çalışmamızda ise, Çizelge 5.1'de görüldüğü gibi sadece ralon herbisitinde 1. ve 2.gün riboflavin seviyesinde artış olmuştur. Çizelge 5.2'de görüldüğü gibi SA'nın etkisi 0.05 mM 'da 1. ve 3. gün riboflavin seviyesini azaltmıştır. Ralon ile birlikte 5 mM SA'nın çizelge 5.3'de görüldüğü gibi sadece 1.günde riboflavini kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmüştür. Bu verilere göre, herbisitin neden olduğu oksidatif stres sonucu riboflavin seviyesinin arttığı, 5 mM SA'nın ise bu stresi azaltmada etkili olduğu düşünülmektedir.

Sınırlı sayıdaki yapılan çalışmalarda, sıcaklık stresinde mısır'da [15] ve simazine herbisiti stresinde ise *Azotobacter chroococcum* ATCC 12837'de [11], niyasin seviyesinde bir değişim olmadığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise, her iki herbisitin de Çizelge 5.1'de görüldüğü gibi nikotinik asit ve nikotinamidi artırdığı, sadece Granstarda 3.gün nikotinamidin azaldığı görülmüştür. Çizelge 5.2'de görüldüğü gibi tek başına SA verildiğinde niyasin seviyesinde artış ve azalışlar olduğu da görülmüştür. Ralon ile farklı konsantrasyonlarda SA verildiğinde Çizelge 5.3'de görüldüğü gibi herbisitin sebep olduğu bu artışları SA'nın kontrol seviyesine yaklaştırdığı görülmektedir. Bu verilere göre, herbisitin neden olduğu oksidatif stres sonucu niyasinin her iki formunun da genel olarak arttığı, SA'nın ise bu stresi azaltmada genelde etkili düşünülmektedir.

Bitkilerde yapılan çalışmalarda B_6 vitamininin sentezinden sorumlu iki genin (*PDX1, PDX2*) olduğu bilinmektedir. Oksidatif streste *Arabidopsis thaliana*'da *PDX1* seviyesinin azaldığı görülmüştür [116]. *Nicotiana tabacum cv.* 'Burley 21' patojen *pseudomonas pv. phaseolicola*'ya maruz kaldığında *PDX1* ve *PDX2* seviyesinin azaldığı, yapraklara 2-5 mM arasında SA verildiğinde ise gen seviyelerinin tekrar normal seviyesine geldiği görülmüştür [10]. Arabidopsis thaliana'ya tuz, kuraklık, soğuk ve UV stresi uygulandığında vitamin B_6'nın her üç formunda da artışlar ve azalışlar olmasına rağmen

daha sonra kontrol seviyelerine yaklaştığı görülmüştür [13]. Bizim çalışmamızda ise, Çizelge 5.1'de görüldüğü gibi her iki herbisitin genel olarak B_6 vitamininin her üç formunu da azalttığı görülmüştür. Çizelge 5.2'de görüldüğü gibi tek başına SA verildiğinde PL, PN ve PM seviyesinde artış ve azalışlar olduğu da görülmüştür. Ralon ile birlikte 0.05 mM SA verildiğinde Çizelge 5.3'de görüldüğü gibi PL, PN ve PM'nin kontrol seviyesine genelde yaklaştığı görülmektedir. Bu verilere göre, her iki herbisitin de neden olduğu oksidatif stres sonucu B_6 vitamininin her üç formunun da normal seviyelerinin altına düştüğü görülmüştür. Herbisitin oluşturduğu oksidatif stres sonucu diğer vitaminlerden farklı olarak B_6 vitamininin sentezini engellendiği ya da herbisitin doğrudan PL, PN ve PM'yi okside ettiği düşünülmektedir. Düşük konsantrasyon SA'nın (0.05 mM) oluşan bu stresi azaltmada daha etkili olduğu ve B_6 vitamininin üç formunun da kontrol seviyelerine yaklaştırdığı görülmüştür. Herbisitlerin kültür bitkisinde ürün ve verim kayıplarına neden olduğu daha önce belirtilmişti, bu çalışmaya göre özellikle PL ve PN formlarındaki azalmanın bitkideki son üründe de olabileceği düşünülmektedir.

Serbest amino asitler ve proteinlerdeki amino asitler ROT'lara karşı oldukça hassas olduklarından kolayca oksidasyona uğrayabilirler. Oksidasyonun daha çok amino asitlerin yan zincirlerinde olduğu bilinmektedir [28]. Ralon (ACCase inhibitörü) yağ asitleri sentezini, granstar (ALS inhibitörü) ise dallı-zincirli amino asitlerin (izo-lösin, lösin, valin) sentezini engellemektedir [50]. Hisitidin, lizin, prolin ve arjinin gibi birçok amino asitin oksidasyonu ile protein karbonil ürünleri oluştuğu ve seviyelerinin azaldığı bilinmektedir.[123],[124]. Herbisitlerin türü ve konsantrasyonuna bağlı olarak amino asitlerin seviyelerinde artış ve azalışlarında olduğu bilinmektedir [3],[5],[6],[8],[12].

Çizelge 5.4 Herbisitlere maruz kalan buğday yapraklarındaki amino asitlerin seviyesindeki değişimler

Ralon	Asidik A.A		Bazik A.A			Polar Yüksüz A.A.			Apolar A.A					Apolar A.A.(Dallı-Zincirli)		
	Asp	Glu	Lys	Arg	His	Ser	Thr	Tyr	Gly	Ala	Phe	Trip	Pro	Ile	Leu	Val
1.Gün	—	—	—	—	—	—	—	—	≈	≈	—	—	—	—	—	—
2.Gün	—	—	+	≈	≈	≈	≈	≈	≈	≈	+	—	≈	+	+	≈
3.Gün	—	—	—	—	+	+	+	≈	≈	≈	≈	≈	+	+	—	≈

Granstar	Asidik A.A		Bazik A.A			Polar Yüksüz A.A.			Apolar A.A					Apolar A.A.(Dallı-Zincirli		
	Asp	Glu	Lys	Arg	His	Ser	Thr	Tyr	Gly	Ala	Phe	Trip	Pro	Ile	Leu	Val
1.Gün	—	—	—	—	+	≈	+	≈	≈	+	≈	≈	—	≈	—	≈
2.Gün	—	—	+	≈	—	—	—	—	≈	≈	+	—	≈	≈	≈	≈
3.Gün	—	—	+	—	+	+	+	≈	≈	≈	+	—	+	+	≈	≈

(+); kontrole göre artmıştır, (-); kontrole göre azalmıştır, (≈); kontrole göre değişmemiştir.

Ralon ve Granstar herbisitleri verildiğinde Çizelge 5.4'de görüldüğü gibi her üç günde de amino asitlerin seviyelerinde artış ve azalışlar olduğu görülmektedir. Ralon herbisiti verildiğinde özellikle 1.günde glisin ve alanin dışında tüm amino asitlerin seviyelerinin azaldığı görülmüştür. Glisin ve alanin R grupları bakımından en basit amino asit olduğundan herbisitlerin olumsuz etkisinden daha az etkilendikleri düşünülmektedir. Yinede, Ralon herbisiti verildiğinde 2.gün çoğu amino asidin seviyelerinde bir değişim gözlenmemiştir. Çizelge 5.4'de görüldüğü gibi her iki herbisit verildiğinde, aspartik asit, glutamik asit, arjinin ve triptofan seviyelerinin her üç günde de genelde azaldığı ve tirozin, glisin, alanin ve valinin seviyelerinin ise genelde değişmediği görülmüştür. Yabancı otlara karşı, granstar herbisitin (ALS inhibitörü) etki mekanizması dallı-zincirli amino asitler üzerinden olmaktadır. Bu çalışmada da görüldüğü granstar kültür bitkisindeki dallı-zincirli amino asitlerden olan valinin seviyesini her üç günde de değiştirmediği, izo-lösin ve lösinin seviyesini çok az değiştirdiği görülmektedir.

Çizelge 5.5 SA uygulananan buğday yapraklarındaki amino asitlerin seviyesindeki değişimler

A.A.	1.Gün			2.Gün			3.Gün		
	0.05 SA	0.5 SA	5 SA	0.05 SA	0.5 SA	5 SA	0.05 SA	0.5 SA	5 SA
Asp	—	—	—	—	—	≈	—	+	—
Glu	—	—	—	—	—	≈	—	+	—
Lys	—	—	—	+	+	+	≈	+	—
Arg	—	≈	—	+	+	≈	—	≈	—
His	—	+	—	—	+	—	—	+	—
Ser	—	+	—	—	≈	—	—	+	—
Thr	—	+	—	—	≈	—	≈	+	≈
Tyr	—	≈	—	+	+	+	—	+	—
Gls	—	+	—	≈	≈	≈	≈	+	≈
Ala	—	+	≈	+	+	≈	—	≈	—
Phe	—	+	—	+	+	+	≈	+	—
Trip	≈	≈	—	≈	+	—	≈	+	—
Pro	—	+	—	+	+	+	+	+	+
Ile	—	+	—	+	+	+	≈	+	≈
Leu	—	+	—	+	+	+	—	≈	—
Val	—	+	—	≈	+	≈	≈	+	—

(+); kontrole göre artmıştır, (-); kontrole göre azalmıştır, (≈), kontrole göre değişmemiştir.

SA'nın bitkinin büyümesinde, gelişmesinde ve oksidatif strese karşı önemli bir antioksidan olduğu bilinmektedir [24],[127],[131]. Mısır bitkisine 1 mM'lık SA püskürtüldüğünde POD enzim aktivitesi %150 artmıştır [26]. Çizelge 5.5'de görüldüğü gibi 0.5 mM SA'nın amino asitlerin seviyelerinde her üç günde de genel olarak artışa sebep olduğu ve prolin ile izo-lösin seviyelerin ise bu artışdan en çok etkilendiği görülmektedir. Çizelgede 5.5' de görüldüğü gibi 0.05 mM SA'nın 1.günde ve 5 mM SA'nın 1. ve 3.günde genel olarak amino asitlerin seviyelerini düşürdüğü görülmüştür. Bununla beraber, her üç SA konsantrasyonunun aspartik asit ve glutamik asit seviyelerini ve 0.05 mM ve 5 mM SA'nın serin ve treonin seviyelerini genelde azalttığı görülmektedir.

Çizelge 5.6 Herbisit+SA uygulananan buyday yapraklarındaki amino asitlerin seviyesindeki değişimler

A.A.	1.Gün				2.Gün				3.Gün			
	R	R+0.05 SA	R+0.5 SA	R+5 SA	R	R+0.05 SA	R+0.5 SA	R+5 SA	R	R+0.05 SA	R+0.5 SA	R+5 SA
Asp	—		A	A	—	A	A	A	—	A		A
Glu	—		A	A	—	A	A	A	—	A		A
Lys	—		A	A	+	A		A	—		A	A
Arg	—	A	A	A	≈				—			
His	—	A	A		≈				+	A	A	A
Ser	—	A	A		≈				+		A	
Thr	—	A	A	A	≈				+	A	A	
Tyr	—		A	A	≈				≈			
Gls	≈				≈				≈			
Ala	≈				≈				≈			
Phe	—	A	A	A	+			A	≈			
Trip	—		A		—			A	≈			
Pro	—	A	A	A	≈				+			
Ile	—	A	A	A	+	A		A	+			
Leu	—	A	A	A	+				—	A	A	A
Val	—	A	A	A	≈				≈			

(+); kontrole göre artmıştır, (-); kontrole göre azalmıştır;, (≈), kontrole göre değişmemiştir, (A);SA R'nin etkisini azaltmıştır.

Kanola bitkisine napropamide herbisiti verildiğinde antioksidan enzimlerin seviyelerinde artış ve azalışların olduğu görülmüş, bu artış ve azalışları kontrol etmede 0.05-0.4 mM arasında SA'nın etkili olduğu görülmüştür [24]. Başka bir çalışmada, Clethodim herbisiti mısır bitkisine verildiğinde yapraklarda sarı ve kahverengi renkleri oluştuğu, bu renklerin oluşmasına engellemede 1 mM SA'nın etkili olduğu, SOD ve APX enzim aktivitelerini kontrol seviyelerine getirdiği görülmüştür [26]. Bizim çalışmamızda ise, Ralon ve Granstarın neden olduğu oksidatif stres sonucu bir çok amino asidin seviyelerinde artış ve azalışlar olduğu görülmüştür. Çalışmada Ralon herbisitinin neden olduğu bu artış ve azalışları kontrol etmede Çizelge 5.6'da görüldüğü gibi farklı konsantrasyonlarda SA'nın olumlu etkisi görülmektedir. Ralonun amino asitlerin seviyelerini azalttığı 1.günde, her üç SA konsantrasyonunun da genelde Ralonun etkisini azaltarak etkili olduğu görülmüştür. Özellikle arjinin, treonin, fenilalanin, prolin, izo-lösin, lösin ve valinin üzerinde Ralonun etkisini azaltmada her üç SA

konsantrasyonunun da 1.günde çok etkili olduğu görülmektedir. Çizelgede 5.6'da görüldüğü gibi 1.günde herbisitin etkisini azaltmada 0.5 mM SA'nın diğer SA'lara göre daha etkili olduğu da görülmektedir. Çizelgede 5.6'da görüldüğü gibi SA Ralonun etkisini azaltmada aspartik asit, glutamik asit ve lizinde her üç günde de, histidin, treonin ve lösinde 1. ve 3.günde ve izo-lösinde 1. ve 2.günde etkili olmuştur.

Bu tez çalışmasında, herbisitlerin (Ralon ve Granstar) buğday yaprağındaki vitamin ve amino asit seviyeleri üzerine etkisi incelenmiş ve Ralonun olumsuz etkisinin SA ile azaltıldığı bulunmuştur. Laboratuvar şartlarında elde ettiğimiz bu bulgulara göre, herbisitlerin vitaminler ve amino asitler üzerine olan bu olumsuz etkilerinin son ürünün verimini ve kalitesini de etkileyebileceği düşünülmektedir. Bu verilerin ışığında, aynı çalışmanın tarla şartlarında da yapılmasıyla elde edilecek sonuçlara göre uygun konsantrasyonda SA önerilebilecektir. Bu tez çalışması herbisitlerin ve SA'nın vitaminler ve amino asitler üzerine bugüne kadar yapılmış en kapsamlı çalışma olduğundan ileride yapılacak birçok çalışmaya da ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

[1] Yin, X.L., Jiang L., Song, N.H. ve Yang ,H., (2008). " Toxic reactivity of wheat (Triticumaestivum) plants to herbicide isoproturon", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56:4825-31.

[2] Liang, L., Lu, Y.L. ve Yang, H., (2012). "Toxicology of isoproturon to the food crop wheat as affected by salicylic acid", Environmental Science and Pollution Research, 19(6):2044-54.

[3] Wang, M. ve Zhou, Q., (2006). "Effects of herbicide chlorimuron-ethyl on physiological mechanisms in wheat (Triticum aestivum)", Ecotoxicology and Environmental Safety, 64(2):190-7.

[4] Masood, S., Saleh, L., Witzel, K., Plieth, C. Mühling, K,H., (2012). "Determination of oxidative stress in wheat leaves as influenced by boron toxicity and NaCl stress", Plant Physiology and Biochemistry, 56:56-61.

[5] Belahcene, N., Djebar, M.R., Zenati, N. ve Berrebah H., (2014). "Differential response to treatment with herbicide chevalier induced oxidative stress in leaves of wheat", Annals of Biological Research, 5(3):1-7.

[6] Snipes, C.E., Street, J.E. ve Luthe, D.S., (1987). "Physiological influences of fenoxaprop on corn (Zea mays)", Pesticide Biochemistry and Physiology, 28(3):333–340.

[7] Okmen, G. ve Turkcan, O., (2013). "Influence of bentazon on pigment contents of Anabaena species" Journal of Food Agriculture and Environment, 11(3-4):813-816.

[8] Öztetik, E., (2010). "Effects of tribenuron-methyl treatment on glutathione S-transferase (GST) activities in some wheat and barley varieties", Pure and Applied Chemistry, 82(1):289–297.

[9] Taşgin, E., Atici, O., Nalbantoğlu, B. ve Popova, L.P.,(2006). "Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves", Phytochemistry, 67(7):710-5.

[10] Denslow, S.A., Walls, A.A. ve Daub, M.E., (2005). “Regulation of biosynthetic genes and antioxidant properties of vitamin B6 vitamers during plant defense responses”, Physiological and Molecular Plant Pathology, 66:244–255.

[11] Murcia, R., Rodelas, B., Salmeron, V., Martinez-Toledo, M.V. ve Gonzales-Lopez J., (1997). “Effect of the herbicide simazine on vitamin production by Azotobacter chroococcum and Azotobacter vinelandii”, Applied Soil Ecology, 6:187-93.

[12] Tunc-Ozdemir, M, Miller, G., Song, L., Kim, J., Sodek, A., Koussevitzky, S., Misra, AN., Mittler, R. ve Shintani, D., (2009). “Thiamin confers enhanced tolerance to oxidative stress in Arabidopsis”, Plant Physiology, 151(1):421-32.

[13] Huang S.H., Zhang J,Y., Wang L.H. ve Huang, L.O., (2013). “ Effect of abiotic stress on the abundance of different vitamin B_6 vitamers in tobacco plants”, Plant Physiology and Biochemistry, 66:63-67.

[14] Ratnakara, A. ve Raib, A., (2013). “Effect Of Nacl Salınıty On B-Carotene, Thıamıne, Rıboflavın And Ascorbıc Acıd Contents In The Leaves Of Amaranthus Polygamous L. Var. Pusa Kırt”, Octa Journal of Environmental Research, 1(3):211-216.

[15] Mahmood, S., Wahid, A., Rasheed, R., Hussain, I. ve Basra, S.M.A., (2012). “Possible antioxidative role of endogenous vitamins biosynthesis in heat stressed maize (Zea mays)”, International Journal of Agricultural and Biological Engineering, 14:705-712.

[16] Deng, B., Jin, X., Yang, Y., Lin, Z. ve Zhang, Y., (2014). “The regulatory role of riboflavin in the drought tolerance of tobacco plants depends on ROS production”, Plant Growth Regulation, 72(3):269-277.

[17] Fariduddin, Q., Hayat, S. ve Ahmad, A., (2003). “Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in Brassica juncea”, Photosynthetica, 41:281-284.

[18] Hayat, S, Fariduddin,Q, Ali, B. Ahmad,A., (2005). “Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedlings”, Acta Agronomica Hungarica,53:433-437.

[19] Shakirova, F.M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fathudinova, R. A. ve Fathutdinova, D. R., (2003). “Changes in hormonal status of wheat seedlings induced by Salicylic acid and salinity”, Plant Science, 164:317-322.

[20] Ananieva, E.A., Christov, K.N. ve Popova, LP., (2004). “Exogenous treatment with salicylic acid leads to increased antioxidant capacity in leaves of barley plants exposed to paraquat”, Journal of Plant Physiology, 161(3):319-28.

[21] Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A. ve Alpaslan, M., (2007). “Impact of exogenous salicylic acid on growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity”, Scientia Horticulturae, 113:120-128.

[22] Elwan, M.W.M. ve El-Hamahmy, M.A.M., (2009). "Improved productivity and quality associated with salicylic acid application in greenhouse pepper", Scientia Horticulturae, 122:521-526.

[23] Wang, C., Zhang, S., Wang, P., Hou, J., Qian, J., Ao, Y., Lu, J. ve Li, L., (2011). "Salicylic acid involved in the regulation of nutrient elements uptake and oxidative stress in Vallisneria natans (Lour.) Hara under Pb stres", Chemosphere, 84(1):136-42

[24] Cui, Jin., Zhang, R., Wu, G.L., Zhu, H.M. ve Yang, H., (2010). "Salicylic Acid Reduces Napropamide Toxicity by Preventing Its Accumulation in Rapeseed (Brassica napus L.)", Archives of Environmental Contamination and Toxicology ,59:100-108.

[25] Guo, T., Zhang G., Zhou, M., Wu, F. ve Chen, J., (2004). " Effects of aluminum and cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activities of two barley genotypes with different Al resistance", Plant Soil, 258:241-248.

[26] Radwan, D. E. M.,(2012). "Salicylic acid induced alleviation of oxidative stress caused by clethodim in maize (Zea mays L.) leaves", Pesticide Biochemistry and Physiology, 102(2):182-188.

[27] Erdal, S., Aydın, M., Genisel, M., Taspınar, M.S., Dumlupinar, R., Kaya, O. ve Gorcek, Z., (2011). "Effects of salicylic acid on wheat salt sensitivity", African Journal of Biotechnology, 10(30):5713-5718.

[28] Büyük, İ., Soydam-Aydın, S. ve Aras, S., (2012). "Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar", Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 69(2):97-110.

[29] Torun, H., (2011). "Yüksek doz herbisit uygulamalarının hedef dışı bitkilerdeki oluşturduğu zararlanmalar", Yüksek Lisans Tezi, Çukurova üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana

[30] Demirkan, H., (2009). "Herbisitlere Dayanıklılık Konusunda Dünyada Yapılmış Bildirimlerin Değerlendirilmesi", Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg, 46 (1):71-77.

[31] Canik F. ve Y. Yüksel., N, (2012). "Gıda Güvenliği ve Pestisitler", Tepge Bakış, 14-4.

[32] Türkseven, S. ve Nemli, Y., (2013)."Dayanıklı ve Duyarlı Yabani Yulaf Populasyonlarında Ruhsatlı Herbisitlerin Performanslarının Tarla Koşullarında Araştırılması", Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 50 (1): 39-46.

[33] Durmuşoğlu, E., O, Tiryaki. ve R. Canhilal., (2010). "Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı Ve Dayanıklılık Sorunları", Türkiye Ziraat Mühendisliği 7. Teknik Kongresi, 11-15 Ocak 2010, Ankara, 2-589-607.

[34] TZOB, (2012). Kalori Tüketiminde Türkiye 15'inci, Yayın No: Kasım-2012, 44, Ankara.

[35] Ulusal Gıda Kompozisyonu Veri Tabanı (Türkomp), 2014. http://www.turkomp.gov.tr/food/118, 7 Ekim 2015.

[36] Demir, A., (2007). "Buğday", Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, 9:1.

[37] Ulusal Hububat Konseyi (UHK), 2011. Buğday Raporu. http://uhk.org.tr/dosyalar/bugdayraporumayis2011.pdf.,7 Ekim 2015.

[38] Avcı, M.B., 2007. "Trakya bölgesinde buğday, arpa, mısır ve çeltik tarımında herbisit kullanımının sürdürülebilir tarım açısından değerlendirilmesi". Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri. Enstitüsü, Edirne.

[39] Kadıoğlu, O., İ., Çınar, A. ve Uygur, F. N,. (1988). "Buğday- yabani yulaf (*Avena sterilis L.*) karşılıklı etkileşimleri ve kontrol olanakları üzerinde araştırmalar", The Journal of Turkish Phytopathology, 17 (3):129-130.

[40] Kara, A. ve G. Erdiller., (1994). "Tekirdağ ili buğday ekim alanlarında görülen önemli yabancı ot türleri ve yoğunluklarının belirlenmesi üzerinde bir araştırma". TÜ Zir. Fak. Dergisi, 3(1-2): 40-51.

[41] Benitez, F.J., Real, J.F., Acero, L.J., Garcia, C. ve Llanos, E.M., (2007). "Kinetics of phenylurea herbicides oxidation by Fenton and photo-Fenton processes", Journal of Chemical Technology and Biotechnology, Volume 82(1): 65–73.

[42] Mitsou, K., Koulianou, A., Lambropoulou, D., Pappas, P., Albanis, T. ve Lekka, M., (2006)."Growth rate effects, responses of antioxidant enzymes and metabolic fate of the herbicide Propanil in the aquatic plant Lemna minör", Chemosphere,62(2):275-84.

[43] Flores, C., Morgante, V., González, M., Navia, R. ve Seeger, M., (2009). "Adsorption studies of the herbicide simazine in agricultural soils of the Aconcagua valley, central Chile", Chemosphere, 74(11):1544-9.

[44] Hildebrandt, A., Guillamon, M., Lacorte, S., Tauler, R. ve Barcelo, D., (2008). "Impactof pesticides used in agriculture and vineyards to surface and groundwater quality (Nort Spain)", Water Research, 42:3315-3326.

[45] Yazgan, M.S. ve Tanik, A., (2005). "A new approach for calculating the relative risk level of pesticides", Environment International, 31:687-692.

[46] Bigot, A., Fontaine, F., Clement, C. ve Vaillant-Gaveau, N., (2007). "Effect of the herbicide flumioxazin on photosynthesis performance of Grapevine (Vitis vinifera L.)", Chemosphere, 67:1243-1251.

[47] Stoughton, S., Liber, K., Culp, J. ve Cessna, A., (2008). "Acute and chronic toxicity of imidacloprid to the aquatic invertebrates Chironomus tentans and Hyalella azteca under constant and pulse-exposure conditions", Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 54:662–673.

[48] Focke, M. ve Lichtenthaler, Hartmut. K., (1987). "Inhibition of the Acetyl-CoA Carboxylase of Barley Chloroplasts by Cycloxydim and Sethoxydim", Z. Naturforsch. 42c, 1361-1363.

[49] Burton, J.D., Gronwald, J.W., Somers, D.A., Gengenbach, B.G. ve Wyse, D.L., (1989). "Inhibition of corn acetyl coenzyme a carboxylase by cyclohexanedione and aryloxyphenoxypropionate herbicides", Pesticide Biochemistry and Physiology, 34:76-85.

[50] LaRossa, R.A. ve Schloss, J. V., (1984). "The sulfonylurea herbicide sulfometuron methyl is an extremely potent and selective inhibitor of acetolactate synthase in Salmonella typhimurium", The Journal of Biological Chemistry, 259:8753-57.

[51] Devine, M,. Duke, S. O. ve Fedtke, C., (1992). Physiology of Herbicide Action, PTR Prentice Hall, 441, New Jersey.

[52] Dodge, A. D., Moreland, D. E., John, J.B.St., ve Hess, F. D., (1982). "Biochemical Responses Induced by Herbicides", Journal of the American Chemical Society Symp, 181:57-77.

[53] Lea P.J, Joy, K.W., Ramos, J.L ve Guerrero, M.G., (1984). "The action of 2-amino-4-(methylphosphinyl)-butanoic acid (phosphinothricin) and its 2-oxo-derivative on the metabolism of cyanobacteria and higher plants", Phytochemistry,23(1):1–6.

[54] Tachibana, K., Watanabe, T., Seikizawa, Y. ve Takematsu, T., (1986). "Inhibition of the glutamine synthetase and quantitative changes of free ammino acids in shoots of bialaphos treated Japanese barnyard millet", Journal of Pest Science, 11:27–31.

[55] Duke, S. O., Becerril, J. M., Matsumoto, H. ve Sherman, T. D., (1991). "Photosensitizing porphyrins as herbicides", Journal of the American Chemical Society Symp. Ser, 449:371-386.

[56] Bartels, P. G. and C, W. Watson., (1978). "Inhibition of carotenoid synthesis by fluridone and norflurazon", Weed Science, 26:198-203.

[57] Sandmann, G. and P. Böger., (1989). Inhibition of carotenoid biosynthesis by herbicides. Target Sites for Herbicide Action, 25-44, CRC Press, Boca Raton, FL.

[58] Dermirkan, H., (2009). "Herbisitlere Dayanıklılık Konusunda Dünyada Yapılmış Bildirimlerin Değerlendirilmesi", Ege Üniv. Ziraat Fak, 46(1):71:77.

[59] Delen, N. ve N. Tosun., (1996). "Fungisitlere dayanıklılıgı önleyici stratejiler", II. Ulusal Zirai Mücadele ilaçları Simp, 18-20 Ekim 1996, Tarım ve Köy isleri Bakanlıgı, 239-244.

61] Uludağ, A., Y. Nemli. ve B, Rubin., (2001). "Yabani Yulafta (Avena sterilis) Cladinafopa Dayanıklılık Üzerine Araştırmalar", Türkiye III. Herboloji Kongresi, 9-12 Ekim 2001, Ankara.

[61] Gill, S.S., Tuteja, N., (2010). "Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants", Plant Physiology and Biochemistry, 48:909-30.

[62] Rio, L.A., Sandalio, L.M., Corpas, F.J., Palma, J.M. ve Barroso, J.B., (2006). "Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling", Plant Physiology. 141:330-335.

[63] Navrot, N., Rouhier, N., Gelhaye, E. ve Jaquot, J.P., (2007). " Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria", Physiologia Plantarum, 129:185-195.

[64] Rasmusson, A.G., Soole, K.L. ve Elthon, T.E., (2004). "Alternative NAD(P)H dehydrogenases of plant mitochondria", Annual Review of Plant Physiology, 55:23-39.

[65] Raha, S. ve Robinson, B.H., (2000). "Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing", Trends Biochemistry Science, 25:502-508.

[66] Sweetlove, L.J. ve Foyer, C.H., (2004). "Roles for reactive oxygen species and antioxidants in plant mitochondria", Plant Mitochondria: From Genome to Function, Advances in Photosynthesis and Respiration, 1:307-320, Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands.

[67] Quan, L.J., Zhang, B., Shi, W.W. ve Li, H.Y., (2008). "Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network", Journal of Integrative Plant Biology, 50:2-18.

[68] Moller, I.M., (2001). "Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species", Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 52:561-591.

[69] Almeras, E., Stolz, S., Vollenweide, S., Reymond, Mene-Saffrane, L. ve Farmer, E.E., (2003). "Reactive electrophile species activate defense gene expression in Arabidopsis", The Plant Journal, 34:205-216.

[70] Rhoads, D.M., Umbach, A.L., Subbaiah, C.C. ve Siedow, J.N., (2006). "Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling", Plant Physiology, 141:357-366.

[71] Gapinska, M., Sklodowska, M. ve Gabara, B., (2008). "Effect of short- and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots", Acta Physiologiae Plantarum, 30:11-18.

[72] Khan, N.A., Singh, S.S. ve Nazar, R., (2007). "Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (Triticum aestivum) cultivars differing in yield potential under cadmium stress", Journal of Agro Crop Science, 193:435-444.

[73] Guo, T., Zhang, G., Zhou, M., Wu, F. ve Chen, J., (2004). "Effects of aluminum and cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activities of two barley genotypes with different Al resistance", Plant Soil, 258:241-248.

[74] Song, N.H., Yin X.L., Chen G.F. ve Yang, H., (2007). "Biological responses of wheat (Triticum aestivum) plants to herbicide chlorotoluron in soils", Chemosphere, 68: 1779-87.

[75] Yin, X.L., Jiang L., Song, N.H. ve Yang ,H., (2008). " Toxic reactivity of wheat (Triticum aestivum) plants to herbicide isoproturon", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56:4825-31.

[76] Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K. ve Charoensataporn, R., (2003). "Salinity Effects on Antioxidant Enzymes in Mulberry Cultivar", ScienceAsia, 29:109-113.

[77] Skorzynska-Polit, E., Drazkiewicz, M. ve Krupa, Z., (2003/04). "The activity of the antioxidative system in cadmium-treated Arabidopsis thaliana", Biologia Plantarum, 47:71-78.

[78] Ali, A.A. ve Alqurainy, F., (2006). "Activities of antioxidants in plants under environmental stress". The Lutein-Prevention and Treatment for Diseases, Transworld Research Network, 187-256, India.

[79] Balestrasse, K.B., Gardey, L., Gallego, S.M. ve Tomaro, M.L., (2001). "Response of antioxidant defence system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress," Australian Journal of Plant Physiology, 28:497-504.

[80] Lannelli, M.A., Pietrini, F., Fiore, L., Petrilli, L. ve Massacci, A., (2002). "Antioxidant response to cadmium in Phragmites australis plants", Plant Physiology and Biochemistry, 40:977-982.

[81] Leon, A.M., Palma, J.M., Corpas, F.J., Gomez, M., Romero-Puertas, M.C., Chatterjee, D., Mateos, R.M., Del Rio, L.A. ve Sandalio, L.M., (2002). "Antioxidant enzymes in cultivars of pepper plants with different sensitivity to cadmium", Plant Physiology and Biochemistry, 40:813-820.

[82] Lannelli, M.A., Pietrini, F., Fiore, L., Petrilli, L. ve Massacci, A., (2002). "Antioxidant response to cadmium in Phragmites australis plants", Plant Physiology and Biochemistry, 40:977-982.

[83] Hsu, Y.T. ve Kao, C.H., (2004). "Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves", Plant Growth Regulation, 42:227-238.

[84] Srivastava, A.K., Bhargava, P. ve Rai, L.C., (2005). "Salinity and copper-induced oxidative damage and changes in antioxidative defense system of Anabaena doliolum", World Journal of Microbiology and Biotechnology, 22:1291-1298.

[85] Yang, Y., Han, C., Liu, Q., Lin, B. ve Wang, J., (2008). "Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of Picea asperata seedlings", Acta Physiologiae Plantarum, 30:433-440.

[86] Aravind, P. ve Prasad., MNV (2003). "Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in Ceratophyllum demersum L.: A free floating freshwater macrophyte", Plant Physiology and Biochemistry, 41:391-397.

[87] Noriega, G.O., Balestrasse, K.B., Batlle, A. ve Tomaro, M.L., (2007). "Cadmium induced oxidative stress in soybean plants also by the accumulation of d-aminolevulinic acid", Biometals, 20:841-851.

[88] Singh, S., Khan, N.A., Nazar, R. ve Anjum, N.A., (2008). "Photosynthetic traits and activities of antioxidant enzymes in blackgram (Vigna mungo L. Hepper) under cadmium stress", American Journal of Plant Physiology, 3: 25-32.

[89] Zlatev, Z.S., Lidon, F.C., Ramalho, J.C. ve Yordanov, I.T., (2006). "Comparison of resistance to drought of three bean cultivars", Biologia Plantarum, 50:389-394.

[90] Noctor, G., Gomez, L., Vanacker, H. ve Foyer, C.H., (2002). "Interactions between biosynthesis, compartmentation, and transport in the control of glutathione homeostasis and signalling", Journal of Experimental Botany, 53:1283-1304.

[91] Dixit, V., Pandey, V. ve Shyam, R., (2001). "Differential oxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (Pisum sativum L cv. Azad)", Journal of Experimental Botany, 52: 1101-1109.

[92] Edwards, E.A., Rawsthorne, S. ve Mullineaux, P.M., (1990). "Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (Pisum sativum L.)", Planta, 180:278-284.

[93] Creissen, G.P., Broadbent, P., Kular, B., Reynolds, H., Wellburn, A.R. ve Mullineaux, P.M.,(1994). "Manipulation of glutathione reductase in transgenic plants: implications for plant responses to environmental stress", Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, 102B:167-175.

[94] Asensi-Fabado, M.A. ve Munne-Bosch, S., (2010). "Vitamins in plants: occurrence, biosynthesis and antioxidant function", Trends in Plant Science, 15:582-91.

[95] Liebler, D.C., (1993). "The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin ECritical Reviews in Toxicology , 23:147–169.

[96] Takenaka, Y., Miki, M., Yasuda, H. ve Mino, M.B., (1991). "The effect of alpha-tocopherol as an antioxidant on the oxidation of membrane protein thiols induced by free radicals generated in different sites", Archives of Biochemistry and Biophysics, 285(2):344-50.

[97] Traber, M.G. ve Packer, L., (1995). "Vitamin E: beyond antioxidant function", The American Journal of Clinical Nutrition, 62(6):1501-1509.

[98] Gürdöl, F. Ve Ademoğlu, Evin., (2006). Biyokimya. Nobel Tıp kitabevleri, İstanbul.

[99] Denslow, S.A., Walls, A.A. ve Daub, M.E., (2005). "Regulation of biosynthetic genes and antioxidant properties of vitamin B6 vitamers during plant defense responses", Physiological and Molecular Plant Pathology, 66:244–255.

[100] Smirnoff, N., (2005). "Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions". in: Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants, Blackwell Publishing Ltd, 53-86. Oxford, UK.

[101] Kamal-Eldin, A. ve Appelqvist, L.A., (1996). "The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols", Lipids, 31:671-701.

[102] Hollander-Czytko, H., Grabowski, J., Sandorf, I., Weckermann, K. ve Weiler, E.W., (2005). "Tocopherol content and activities of tyrosine aminotransferase

and cystine lyase in Arabidopsis under stress conditions", Journal of Plant Physiology, 162:767-770.

[103] Krieger-Liszkay, A., Fufezan, C. ve Trebst, A., (2008). "Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanism", Photosynthesis Research, 98:551-564.

[104] Wu, G., Wei, Z.K. ve Shao, H.B., (2007). "The mutual responses of higher plants to environment: physiological and microbiological aspects", Biointerfaces, 59:113-119.

[105] Shao, H.B., Chu, L.Y., Wu, G., Zhang, J.H., Lu, Z.H. ve Hu, Y.C., (2007). "Changes of some antioxidative physiological indices under soil water deficits among 10 wheat (Triticum aestivum L.) genotypes at tillering stage", Colloid. Surf B Biointerfaces,54:143-149.

[106] Trebst, A., Depka, B. ve Holländer-Czytko, H., (2002). "A specific role for tocopherol and of chemical singlet oxygen quenchers in the maintenance of photosystem II structure and function in Chlamydomonas reinhardtii", FEBS Lett, 516:156-160.

[107] Noctor, G. ve Foyer, C.H., (1998). "A re-evaluation of the ATP: NADPH budget during C3 photosynthesis. A contribution from nitrate assimilation and its associated respiratory activity?", Journal of Experimental Botany, 49:1895-1908.

[108] Hohmann, S. Ve Meacock. P.A., (1998). "Thiamin metabolism and thiamin diphosphate-dependent enzymes in the yeast Saccharomyces cerevisiae: genetic regulation", Biochimica et Biophysica Acta, 1385: 201–219.

[109] Ball, G.F.M., (2004). Vitamins Their Role in the Human Body. Balckwell Publishing. UK.

[110] Jung, I.L. ve Kim, I.G., (2003). "Thiamin protects against paraquat-induced damage: scavenging activity of reactive oxygen species", Environmental Toxicology and Pharmacology , 15:19–26.

[111] Wang, C., Liang, J., Zhang, C., Bi, Y., Shi, X. ve Shi, Q., (2007). "Effect of ascorbic acid and thiamin supplementation at different concentrations on lead toxicity in liver", Annals of Occupational Hygiene, 51: 563–569.

[112] Aksoy, Meral., (2000). Beslenme Biyokimyası, Hatiboğlu, 3.Baskı, Ankara.

[113] Ouyang, M., Ma, J., Zou, M., Guo, J., Wang, L., Lu, C. ve Zhang, L., (2010). "The photosensitive phs1 mutant is impaired in the riboflavin biogenesis pathway", Journal of Plant Physiology 167:1466–1476.

[114] Tazer, C., 1986. Biology and Human Progress. 7th edition, Prentice Hall Inc, New Jersey, USA.

[115] Gonzalez, D.D. ve Daub, M.E., (2007). "Vitamer Levels, Stress Response, Enzyme Activity, and Gene Regulation of Arabidopsis Lines Mutant in the Pyridoxine/Pyridoxamine 5'-Phosphate Oxidase (PDX3) and the Pyridoxal

Kinase (SOS4) Genes Involved in the Vitamin B6 Salvage Pathway", Plant Physiology, 145:985–996.

[116] Roje, S., (2007). "Vitamin B biosynthesis in plants", Phytochemistry, 68:1904–1921.

[117] Drewke., C. ve Leistner, E., (2001). Biosynthesis of vitamin B6 and structurally related derivatives. In Vitamins and Hormones (Litwack, G., ed.), Academic Press, 121–155,San Diego, CA.

[118] Mittenhuber, G., (2001). "Phylogenetic analyses and comparative genomics of vitamin B6 (pyridoxine) and pyridoxal phosphate biosynthesis pathways", Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology , 3:1–20.

[119] Bilski, P., Li, M.Y., Ehrenshaft, M, Daub, M.E. ve Chignell, C.F., (2000). "Vitamin B6 (pyridoxine) and its derivatives are efficient singlet oxygen quenchers and potential fungal antioxidants", Photochemistry and Photobiology, 71:129–34.

[120] Ehrenshaft, M., Jenns, A.E, Chung, K.R. ve Daub, M.E., (1998). "SOR1, a gene required for photosensitizer and singlet oxygen resistance in Cercospora fungi is highly conserved in divergent organisms", Molecular and Cellular Biochemistry, 1:603–9.

[121] Stocker, P., Lesgards. J.F, Vidal, N., Chalier, F. ve Prost, M., "ESR study of a biological assay on whole blood: antioxidant efficiency of various vitamins", Biochimica et Biophysica Acta, 1621:1-8.

[122] Jain, A.K., Lim, G., Langford, M. ve Jain, S.K., (2002). "Effect of high-glucose levels on protein oxidation in cultured lens cells, and in crystalline and albumin solution and its inhibition by vitamin B6 and N-acetylcysteine: its possible relevance to cataract formation in diabetes", Free Radical Biology and Medicine , 33:1615–21.

[123] Headlam, HA., Mortimer, A., Easton, CJ. ve Davies, MJ., (2000). "β-Scission of C-3 (β-Carbon) alkoxyl radicals on peptides and proteins: a novel pathway which results in the formation of α-carbon radicals and the loss of amino acid side chains", Chemical Research in Toxicology, 13 (11):1087-1095.

[124] Headlam, H.A. ve Davies, M.J., (2002). "Beta-scission of side-chain alkoxyl radicals on peptides and proteins results in the loss of side-chains as aldehydes and ketones", Free Radical Biology and Medicine, 32(11):1171-1184.

[125] Chen, C. ve Dickman, M.B., (2005). "Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen Colletotrichum trifolii", PNAS, 102:3459-3464.

[126] Sumithra, K., Jutur, P.P., Carmel, B.D. ve Reddy, A.R., (2006). "Salinity-induced changes in two cultivars of Vigna radiata: responses of antioxidative and proline metabolism", Plant Growth Regulation, 50:11-22.

[127] Kubota, M. ve Nishi, K., (2006). "Salicylic acid accumulates in the roots and hypocotyl after inoculation of cucumber leaves with Colletotrichum lagenarium", Journal of Plant Physiology, 163:1111-1117.

[128] Taşgin, E., Atici, O., Nalbantoğlu, B. ve Popova, L.P., "Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves", Phytochemistry, 67(7):710-5.

[129] Davies, P.J., (1995). Salicylic Acid, Plant Hormones, Physiology. Biochemistry and Molecular Biology, Kluwer Acad. Pub, 833, London.

[130] Seo, S., Ishizuka, K. ve Ohashi, Y., (1995). "Induction of salicylic acid β-glucosidase in tabocco leaves by exogenous salicylic acid", Plant and Cell Physiology, 36:447-453.

[131] Leslie, C.A. ve Romani, R. J., (1988). "Inhibition Of Ethylene Biosynthesis By Salicylic Acid", Plant Physiology , 88:833-837.

[132] Raskin, I.,(1995). Salicylic Acid. In: Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. Davies (ed.), Kluwer Acad. Pub., 188-205, London.

[133] Tomoya, N., Ichiro, M., Shigemi, S., Norihiro, O. ve Yuko, O., (1998). "Antogonistic Effect of Salicylic Acid and Jasmonic Acid on The Expression of Pathogenesis-Related (PR) Protein Genes in Wounded Mature Tobacco Leaves". Plant Cell Physiology, 39(5):500-507.

[134] Huang S.H., Zhang J,Y., Wang L.H. ve Huang, L.O., (2013). " Effect of abiotic stress on the abundance of different vitamin B6 vitamers in tobacco plants", Plant Physiology and Biochemistry, 66:63-67.

[135] Atici, O. ve Nalbantoglu, B., (1999). "Effect of apoplastic proteins on freezing tolerance in leaves", Phytochemistry, 50: 755-761.

[136] Dimova, N., (2003). "RP-HPLC Analysis of Amino Acids with UV-Detection", Bulgarian Academy of Science, Tome 56:12.

[137] Heinrikson, R.L. ve Meredith, S.C., (1984). "Amino acid analysis by reverse-phase high-performance liquid chromatography: precolumn derivatization with phenylisothiocyanate", Anal Biochem, 136(1):65-74.

[138] Yust, M.M., Pedroche, J., Giron-Calle, J., Vioque, J., Millan, F. ve Alaiz, M., (2004). "Determination of Tryptophan by High-Performance Liquid Chromatography of Alkaline Hydrolysates with Spectrophotometric Detection", Food Chemistry, 85(2):317-320.

[139] Zhang, J.Z., Xue, X.F., Zhou, J.H., Chen, F., Wu, L.M., Li, Y. ve Zhao, J., (2009). "Determination of Tryptophan in Bee Pollen and Royal Jelly by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection", Biomedical Chromatography, 23(9):994-998.

[140] Çevikkalp, S.A., Löker, G.B., Yaman, M. ve Amoutzopoulos, Birdem., (2016). "Simplified HPLC method for determination of tryptophan in some cereals and legumes", Food Chemistry, 193:26-29.

[141] Vanderslice, J.T. ve Higgs, D.J.,(1993). "Quantitative Determination of Ascorbic Acid, Dehydroascorbic, Isoascorbic and Dehydroascorbic Acid by HPLC in Foods and Other Matrices", Journal of Nutritional Biochemistry, 4:184.

[142] Gökmen, V., Kahraman, N., Demir, N. ve Acar, J., (2000). "Enzymatically Validated Liquid Chromatographic Method for the Determination of Ascorbic and Dehydroascorbic Acids in Fruit and Vegetables", Journal of Chromatography A, 881(1-2):309-316.

[143] Brause, A.R., Woollard, D.C. ve Indky, H.E., (2003). "Determination of Total Vitamin C in Fruit Juices and Related Products by Liquid Chromatography Interdisciplinary Study",Journal of AOAC International, 86:367.

[144] Sallin-Rose, C., Blake, C.J., Genaoud, D. ve Tagliaferri, E.G., (2001). "Comparison of Microbiological and HPL-Fluorescence Detection Methods for Determination of Niacin in Fortified Food Products", Food Chemistry, 73:473-480.

[145] Ndaw, S., Bergaentzle, M., Aoude-Werner, D. ve Hasselmann, C., (2002). "Enzymatic Extraction Prodedure for the Liquid Chromatographic Determination of Niacin in Foodstuffs", Food Chemistry 78:129-134.

[146] Finglas, P.M. ve Faulks, R.M., (1984). "The HPLC Analysis of Thiamin and Riboflavin in Potatoes", Food Chemistry, 15:37-44.

[147] Reyes, E.S.P. ve Subryan, L., (1989). "An Improved Method of Simultaneous HPLC Assay of Riboflavin and Thiamine in Selected Cereal Product", Journal of Food Composition and Analysis, 2:41-47.

[148] Esteve, M.J., Farre, R., Frigola, A. ve Cantabella, J.M.G.,(2001). "Simultaneous Determination of Thiamine and Riboflavin in Mushrooms by Liquid Chromatography", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49:1450-1454.

[149] Tang, X., Cronin, D.A. ve Brunton, N.P., (2006). "A Simplified Approach to the Determination of Thiamine and Riboflavin in Meats Using Reverse Phase HPLC", Journal of Food Composition and Analysis, 19:831-837.

[150] Sampson, D.A., Eoff, L.A., Yan, X.L. ve Lorenz, K., (1995). "Analysis of Free and Glycosylated Vitamin B6 in Wheat by HPLC", Cereal Chemistry, 72(2):217-221.

[151] Kall, M.A., (2003). "Determination of Total Vitamin B6 in Foods by Isocratic HPLC: A Comparison with Microbiological Analysis", Food Chemistry, 82(2), 315-327.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı :Mustafa YAMAN

Doğum Tarihi ve Yeri :10.01.1977-Çorum

Yabancı Dili :İngilizce

E-posta :mustafayaman1977@yahoo.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	**Alan**	**Okul/Üniversite**	**Mezuniyet Yılı**
Y. Lisans	Kimya	Long Island University	2007
Lisans	Kimya	Atatürk Üniversitesi	2001
Lise	Fen Bilimleri	Fatih Lisesi	1994

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	**Firma/Kurum**	**Görevi**
2009-	TÜBİTAK MAM/GE,Türkiye	Uzman Araştırmacı
2007-2008	Pharbest Pharmaceutical, A.B.D	Kimyager
2006-2007	Altaire Pharmaceutical, A.B.D	Kimyager

2006-2006 Long Island University,A.B.D. Araştırma Görevlisi

YAYINLARI

Makale

1. Çevikkalp, S.A., Löker, G.B., Yaman, M. ve Amoutzopoulos, Birdem., (2016). "Simplified HPLC method for determination of tryptophan in some cereals and legumes", Food Chemistry, 193:26-29.
2. Löker, G. B., Amoutzopoulos, B., Akkuş Çevikkalp, S., Yaman, M., Şanlı, F., Küçük, F., Ötleş, S ve Küçükçetin, A."TürKomp: Ülkesel düzeyde ve uluslararası standartlarda gıda bileşen veri üretme sistemi", Dünya Gıda Dergisi, 09,2015.
3. Amoutzopoulos, B., Löker, G.B., Samur, G., Çevikkalp, S.A., Yaman, M., Köse, T. And Pelvan, E., (2013). "Effects of a traditional fermented grape-based drink 'hardaliye' on antioxidant status of healthy adults: a randomized controlled clinical trial", Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(14):3604–3610.
4. Löker, G. Budaklıer, A., Amoutzopoulos, B., Yaman, M., Akkuş Çevikkalp, S., (2012). "Geleneksel Gıdalarımız Ancak Yasalarla Korunabilir", Türktarım, 205:27-29.
5. Löker, G., Ozkoc, S.Ö., Amoutzopoulos, B., Yaman, M., Akkus, S., Şanlı, F., Kucuk, F., (2011). "Establishing a Food Composition Database for Turkey Based on European Standards", British Nutrition Foundation, Nutrition Bulletin, 36(2):254–258.
6. Vasanthan, N., Ozkaya, S., Yaman, M., (2010). "Morphological and Conformational Changes of Poly(trimethylene terephthalate) during Isothermal Melt Crystallization", Journal of Physical Chemistry. B, 114(41):13069–13075.
7. Yaman, M. , Vasanthan, N. Ozkaya, S., (2008). "Structural and Conformational Changes During Thermally Induced Crystallization of Poly (trimethylene terephthalate) by Infrared Spectroscopy", Journal of Polymer Science Part B, 46(14):1497-1504.
8. Vasanthan, N., Yaman, M., (2007). "Crystallization Studies of poly (trimethylene terephthalate) Using Thermal Analysis and Far Infrared Spectroscopy", Journal of Polymer Science Part B, 45(13):1675 – 1682.

Bildiri

1. Yaman, M., Löker, G., Akkuş Çevikkalp, S., Amoutzopoulos, B., Karadeniz, B., "Gıdalardaki B6 Vitaminin Piridoksal, Piridoksin ve Piridoksamin Formlarının HPLC ile Belirlenmesi", Türkiye 11. Gıda Kongresi, , Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, 2012.

2. Yaman, M., Karadeniz, B., Löker, G., Akkuş Çevikkalp, S., Amoutzopoulos, B., "B12 Vitamini Tayin Yöntemlerinin Analitik Açıdan Karşılaştırılması", Türkiye 11. Gıda Kongresi, s. 548, Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, 2012.
3. Yaman, M., Nalbantoğlu, B., "Herbisitlerin buğday yaprağındaki B grup ve C vitaminleri üzerine etkilerinin incelenmesi", 26.Ulusal Kimya Kongresi, Muğla Üniversitesi, 2012.
4. Amoutzopoulos, A., Löker, G., Yaman, M., Akkuş Çevikkalp, S., "The Importance and Use of Food Composition Data in Dietary Practice in Turkey", 12th International Nutrition and Diagnostics Conference, Prague, Czech Republic, 2012.
5. Bakan, A., Aslan, O., Öncü, N.A., Bahar,B., Pelvan, E., Alasalvar, C., Ozcan, N., Dogan, C., Demırtaş, İ., Çevıkkalp, S., Yaman, M., Agel, E., Oktay, İ., Ozer, H., Sunay, A.E., Samancı, T., Daştan, T., "Royal Jelly: Quality, Safety and Authenticity", 2 nd International Symposium on Bee Products, Bragança, 2012.
6. Akkuş Çevikkalp, S., Löker, G., Yaman, M., Amoutzopoulos, B. "A simple approach to determine the amino acid composition of some selected cereals and nuts", 12th International Nutrition and Diagnostics Conference, Prague, Czech Republic, 2012.
7. Amoutzopoulos B., Löker G.B., Samur G., Yaman. M., Çevıkkalp S.A., "Content comparison of a natural antioxidant, trans-resveratrol, in a traditional grape-based beverage "hardaliye" and other grape derived products", Traditional food international 2012 (TFI-2012), Cesena, Italy, 2012.
8. Amoutzopoulos, B., Löker, G., Yaman, M., Akkuş Çevikkalp, S., "A systematic and comprehensive study of traditional foods in the Turkish food composition database Project", Traditional food international 2012 (TFI-2012), Cesena, Italy,2012.
9. Yaman, M., Biringen Löker, G.,Akkuş Çevik, S., Amoutzopoulos, B., "A Comparative Study of Different Extraction Solvents on the Determination of Lycopene and Beta-Carotene in Vegetables", 9 th International Food Data Conference, Norwich, UK, 2011.
10. Yaman, M., Biringen Löker, G., Akkuş Çevik, S., Amoutzopoulos, B., "Gıdalardaki B3 ve B6 Vitaminlerinin Kolon Sonrası Türevlendirme Yapılarak HPLC ile Analizi", 25. Uluslararası katılımlı Ulusal Kimya Kongresi, Erzurum,2011.

Kitap

1. Gıda Kompozisyon Analiz Yöntemleri,2016, Basımda
2. Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı, 2016, Basımda

Proje

1. Arpadan Beta-Glukan Üretimi, 2015-, TÜBİTAK 1003.

2. Ulusal Gıda Kompozisyonunun Belirlenmesi ve Yaygın-Sürekli Paylaşım Sisteminin Oluşturulması, TÜBİTAK 1007.2009-2013.
3. EuroFIR-NEXUS EU 2012-2014
4. EFSA, Updated food composition database for nutrient intake, EU, 2012-2014.
5. Geleneksel Fermente Bir İçecek Olan Hardaliyenin Karakterizasyonu ve Klinik Uygulama,2012
6. Boza Sağlık Projesi, TÜBİTAK 1001, 2013.
7. TÜBİTAK MAM BİM Projesi, 2009-
8. TÜBİTAK MAM EH Projesi, 2009-
9. Developing European Standards for Bee Pollen and Royal Jelly: Quality, Safety and Authenticity (APIFRESH), EU, 2010-2013.
10. Çekirdeksiz kuru üzüm ve kuru incirin Besin öğelerinin belirlenmesi ve sağlıklı beslenme açısından değerlendirilmesi-Klinik araştırma,2009.

ÖDÜLLERİ

1. Teaching and Research Assistantship, Long Island Unıversıty, 2004-2006, New York.
2. TÜBİTAK MAM 2010 yılı B Kategorisi Başarı Teşvik Ödülü, 2011, TÜBİTAK MAM, Kocaeli.
3. TÜBİTAK Avrupa Birliği projesi Eşik Üstü Ödülü, 2015, Ankara.