

Ekmeklik Buğdaylarda Bazı Böcek (Süne Kımlı) Enzimlerinin Oluşturduğu Zararın Mekanizması ve Biyokimyası

Harun DIRAMAN

Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Zeytincilik Araştırma Enstitüsü. Bornova İZMİR.

ÖZET

Böcek enzimi hasarı Orta ve Yakın Doğu, Doğu ve Orta Avrupa'da ve bazı Akdeniz ülkelerinde genellikle süne (*Eurygaster spp*) ve Kımlı (*Aelia spp*) zararlıları tarafından ve bunlara ek olarak benzer diğer bir tip *Nysius huttoni* isimli zararlı da Yeni Zelanda'da bildirilmiş olup, bu zararlılar buğdayın ekmeklik kalitesini azaltıcı etkilerde bulunmaktadır. Bu derlemede ekmeklik buğdaylarda böcek enzim hasarının oluşumu, biyokimyası ve etkileri değişik kaynaklardan alınarak incelenmiştir. Süne hasarlı buğday problemi ilk defa 1931 yılında Alman bilim adamı Berliner tarafından sıvımsı gluten olarak tanımlanmıştır. Süne ve *Nysius huttoni*'nin gluten proteinleri üzerine olan etkileri konusunda proteolitik aktivite ölçümü, elektroforez, RP HPLC olmak üzere farklı araştırma teknikleri kullanılarak Rusya İngiltere ve Yeni Zelanda' da ve son zamanlarda da Türkiye'de çeşitli çalışmalar yapılmıştır. *Eurygaster integriceps* 'in buğdaya verdiği zararın biyokimyası 1944 yılında Rusya'da Kretovich tarafından incelenmiştir. Böcek enzimi hasarına uğramış buğdayın unları aşırı proteolitik aktivite nedeni ile ekmek yapımında büyük ve önemli problemlere yol açan cıvık ve yapışkan hamur oluştururlar. Çeşitli araştırma sonuçlarına göre böcek enzimi ile zararlanan buğdaylar daima karakteristik bir özellik olarak yüksek düzeyde böcek kaynaklı proteolitik aktivite içermekte olup, ve bazen de bu tip buğdaylar normalden fazla düzeyde alfa amilaz aktivitesi gösterebilmekte olup, ancak böcek enzimi her zaman yüksek alfa amilaz aktivitesi içermeyebilir. Süne hasarı buğdayın TCA, su ve alkolde çözünür protein fraksiyonlarının miktarını yükseltir. Bunun aksine *Nysius huttoni* ' hasarlı buğdayda ise SDS ve asetik asitte çözünür protein fraksiyonları azalır, diğerleri etkilenmez. Genellikle böcek proteinazı nötral alkalın tip bir enzim olup, bunların optimum pH'ları 7.0 9.0 arasındadır. Elektroforegramlara göre böcek proteazlarının gluten proteininin gliadin fraksiyonunun yüksek molekül ağırlıklı alt birimleri üzerine etki etmekte olduğu bildirilmektedir. Ayrıca araştırmacılar buğdaya böcek enzim hasarının mekanizması konusunda üç farklı teori önermektedirler. I. teori buğdayın süt olum devresi hasarıdır. süne ve kımlı için geçerli olan II. teori, buğdayın kuru ve tam olum devresi hasarlanması hakkındadır. III. teori ise Y. Zelanda 'daki *Nysius. huttoni* zararlısı hakkında geçerli olabilen, buğdayın geç antesis dönemindeki hasarı üzerinedir.

Anahtar sözcükler: Süne (*Eurygaster spp*), *Nysius huttoni*, böcek enzimi hasarı mekanizması ve

beslenmesi, proteolitik aktivite

THE DAMAGE MECHANISM OF SOME INSECT ENZYMES (Sunn pest and *Nysius huttoni*) IN BREAD WHEAT AND THEIR BIOCHEMISTRY ABSTRACT

The bug enzyme damage of wheat by insects usually by the *Eurygaster spp.* and *Aelia spp* prevalent Middle Near East, Eastern and Middle Europe and some Mediterranean countries. Besides other type insect, *Nysius huttoni* in New Zealand have been reported to cause reduced baking quality of wheat. In this article occurring and biochemistry of insect enzyme damage in wheat and its effect were reviewed depending on literature knowledge. Wheat bug (*Eurygaster spp*) infection was described as slimy gluten the first by German researcher Berliner in 1931. The proteolysis effect of wheat bugs (*Eurygaster spp.* and *Nysius huttoni*) on gluten proteins was determined by using of various techniques such as electrophoresis, RP HPLC, measuring of proteolytic activity by several studies in Russia, England, N.Zealand and recently in Turkey. The biochemistry of the damage to grain by suni bug (*Eurygaster integriceps*) was investigated the first by Kretovich, Russian Chemist, in 1944. Flour of insect enzyme damaged wheat, gives sticky dough due to the excessive proteolytic activity. The sticky dough is of a great problem in breadmaking process. According to the several studies wheat damaged by suni bug and *Nysius huttoni* has always high protease activity and sometimes higher than normal alfa amylase activity. These studies demonstrate that only high bug protease activity in wheat causes the characteristic bug damage problem in baking; bug salivary alfa amylase is not involved. Suni bug damage increases in TCA, water and alcohol soluble protein fragments of wheat grain. *N. huttoni* damaged wheat the insect proteinase degrader gluten to acetic acid or SDS soluble protein fragments, but not water or alcohol soluble degradation products. It is reported that insect proteinases was usually neutral alkalın type enzyme and its optimum enzyme activity was at about pH 7.0 9.0. It is report according to electrophoretograms results that insect proteinases (suni bug and *Nysius huttoni*) affected especially high molecular weight (HMW) subunits of glutenin fraction from gluten proteins. In addition, the researchers three different theory suggested have been about damage mechanism of insect enzyme to wheat. The first theory is on damage in milky ripe stage of wheat. Second theory

contain insect damage to mature dry grain which is current to wheat for *Eurygaster* spp and *Aelia* spp damage. If three theory assumens damage in late anthesis stage of wheat and this theory may current for *Nysius huttoni* insect in New Zealand.

Key Words: Sunn pest (*Eurygaster* spp.), *Nysius huttoni*, wheat bug enzyme damage mechanism or feeding, proteolytic activity

GİRİŞ

Ekmeklik buğdaylarda kalite azalmasının önemli bir faktörü olan ve böcek enzimi hasarı olarak tanımlanan olaya yol açan böcekler; Avrupa ve Yakınoğu'da süne (*Eurygaster integriceps*), kımıl (*Aelia rostrata*) olarak bilinmekte olup [1,2], Yeni Zelanda için ise *Nysius huttoni*'dir [3]. Ayrıca bunun yanında Kuzey Amerika kökenli *Chlorochrao* sayı Stahl (Say buğday böceği) [2] ve *Sitidiplosis mosellana* Gehin (portakal renkli buğday sineği) [4, 2] zararlılarının da enzimatik olarak ekmekler üzerine olumsuz etki ettiği bildirilmektedir. Buğdayda böcek enzim hasarı olarak tanımlanan zararlanmalar genel olarak, Heteroptera alt takımına mensup böcekler tarafından yapılmaktadır [2].

Buğdaylara zarar verme yönünden daha önemli olan, Süne (*Eurygaster* spp) zararlılarının *E. integriceps* Put., *E. austriaca* Schr., ve *E. Maura* L. olarak bilinen üç çeşidi, hububat teknolojisi açısından yönünden önemlidir Dünya üzerinde *Eurygaster* cinsine bağlı 15 tür, Türkiye'de ise 7 tür bulunmakla birlikte bunlardan *E. integriceps* Put, *E. maura* L., *E. austriaca* Schrk. adı verilen 3 süne türü buğdaylar üzerine ekonomik düzeyde zarar yapmaktadır. Türkiye'nin Güney, Güneydoğu Anadolu ve Trakya'da hakim tür *E. integriceps*, Orta Anadolu ve Ege bölgelerinde ise *E. maura*'dır [4].

Ülkemizde 1930 'lu yıllardan beri ekmeklik buğdaylarda çok önemli tahribat yapan Süne ve Kımıl'ın zararı konusunda olayın biyokolojisi hariç hububat teknolojisi açısından yeterli düzeyde yayın olduğu görülmemektedir. Bu derlemede ekmeklik buğdaylarda böcek enzim hasarının oluşum mekanizması, olayın biyokimyası bu konudaki çeşitli çalışmalardan derlenerek incelenmiştir. Ekonomik açıdan da çok önemli olan böcek enzimi hasarlı buğday problemi üzerine çalışacak araştırmacılara olayın bu yönü hakkında toplu bilgiler vermek amaçlanmıştır.

BÖCEK ENZİM ZARARININ OLUŞUMU

Buğday tanelerinde böcek enzimi zararı süne ve kımıl için üç farklı dönemde olmaktadır. Bunlar :

1. Kardeşlenme Zamanı (kurtboğazi),
2. Çiçeklenme Zamanı(akbaşak),
3. Tane Tutma Zamanı

dönemleridir. İlk iki dönemdeki zararlar buğday orta sürgünlerini kurutmak sureti ile tarlada dekara buğday verimini düşürmekte ve zararı çiftçiye olmaktadır. Bu zararlanmaya akbaşak zararı denilmektedir. Esasında değirmenciye ilgilendiren süne kımıl zararlanması tane

tutma zamanı olanıdır. Bu safhada buğday tanesi hafifler, ileride değirmende taneden elde edilecek un randımanı düşer ve buğdayın ekmeklik özelliği bozulur. Buğday tanesinin olgunlaşma devreleri süt, fizyolojik ve tam olum olmak üzere üç aşamadır. Süt olum aşamasında böcekler tarafından emilerek zarar verilen taneler olgunlaşmaz, içleri boş, cılız ve kavruk kalırlar. Bu taneler değirmenlerde kolayca ayrıldıklarından unun ekmeklik kalitesi açısından, önemli bir problem oluşturmazlar; ancak verim kaybına neden olurlar. Fizyolojik aşamada böceğin taneyi sokması halinde tane, gelişimini tamamlar, fakat yüzeyinde kırışıklıklar oluşur ve biraz da cılız kalır. Bunlar değirmende tam olarak ayrılmadığı takdirde, bir kısmı sağlam buğdaylar içerisinde kalır ve birlikte öğütülerek unun ekmeklik kalitesini bozabilirler. Eğer süne tam olum aşamasında taneye zarar vermiş ise, emgili tanenin fiziksel özellikleri sağlam tanelerden farksızdır. Bunların değirmenlerde ayrılması mümkün olmadığından öğütme sonunda una karışırlar ve unun ekmeklik kalitesi açısından problem teşkil ederler. Değirmenciye esas ilgilendiren tahribat özellikle sonuncusudur [5].

Bu problemin nedeni ilk kez Alman Bilim adamı BERLINER' in 1931 yılındaki çalışmalarında özellikle fizyolojik aşamada zarar gören tanelerin unlar üzerindeki etkisini fark etmesi ve çalışmalarını bu hasarlı taneler üzerine yoğunlaştırması ile açığa çıkarılabilmektedir [6]. Süne, Kımıl ve *Nysius huttoni* hortumlu bir böcek olup, bu zararlıların ağızlarında aşırı düzeyde proteolitik enzim aktivitesine sahip salgıları vardır. Buğdaylara verdikleri zarar esnasında aynı zamanda depo protein olan endospermi hortumları ile delerek aşırı proteolitik aktivite ihtiva eden salgılarını buğday tanesine enjekte etmektedirler. Tahribata maruz kalmış buğdayların unlarından "**sivimsi-yapışkan, akıcı gluten**" elde edilmekte bu probleme teknikte İngilizce olarak "**SLIMY GLUTEN**" adı verilmektedir [1,2,7].

Bu problemin oluşmasına sebep olan faillerin, yukarıda adı geçen zararlılar olduğu bu gün açıkça bilinmektedir. Böcek enzim zararının oluşumu ve etki mekanizması konusunda çeşitli bilgiler de vardır. Bu konuda yapılan çalışmalar bu böceklerin beslenme mekanizmaları ve taneden oluşturdukları fizikokimyasal değişmelerin bunların tanenin fizyolojik gelişimini durdurmaları sebebi ile mi yoksa salgıladıkları enzimlerin tanenin bileşenleri üzerindeki etkileri sebebi ile mi olduğu konularında yoğunlaşmıştır [6]. Özellikle *N. huttoni* için Yeni Zelandada yapılan bir çalışmada [8] bu zararlı için muhtemel 3 farklı çeşit beslenme mekanizma teorisi önerilmektedir. Birinci teoriye göre, böcek olgunlaşmamış taneyi kılcal uzuvları ile basitçe delmekte ve sütümsü öz sıvısını emmektedir. Bununla birlikte, süt olum devresinde buğdayın endosperm protein ve karbohidrat muhtevasının böceğin kılcal uzuvları yoluyla emilebilecek derecede yeterince akışkan olup olmadığı bilinmemektedir. İkinci teori mekanizmanın böceğin, tanenin karbohidrat ve/veya proteinlerini parçalayan kuvvetli enzim ihtiva eden, salgısını taneye enjekte ettiği ve onları bu şekilde

kılcal uzuvları yolu ile çekilebileceği şeklindedir. Üçüncü teori ise, salgı enzimlerinin etkisinden önce, bu enzimler olmadan böceğin besin öğelerini nasıl ekstrakte edebileceğini açıklamaktadır. Buna göre, böcek aminoasitler ve şekelerce zengin olan bitki özünü "anthesis" döneminin sonunda yumurtalıklardaki liflerden veya süt olum devresi sırasında genç bitkinin yan dallarındaki boru biçimindeki kanallardan emebilmektedir. Taneye enjekte edilen salgıda yer alan enzimlerin amacının kanallardan akışın sağlanmasına yardım etmek olabileceği ve bu salgının ayrıca böceğin kılcal uzuvlarının penetrasyonunu, etkisini kolaylaştırmak için buğdayın kavuzunu ve dış perikarp tabakalarını yumuşatabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışmada araştırmacılar *Nysius huttoni*'nin enfekte ettiği buğday örneklerinde yüksek oranda alfa amilaz enzimi bulunmadığını da tesbit etmişlerdir. Bazı araştırmacılara göre bu teorilerden ikincisinin süne ve kımıl için geçerli olabileceği mümkündür [6,9]. Yani böcek beslenirken aşırı proteolitik aktivite ihtiva eden salgısını taneye zerk etmektedir. Bu durumu açıklamak için Kımıl (*Aelia germari* Kust) zararlısının da kuru ve tam olgun buğday tanelerinden ikinci teoride ifade edilen şekilde beslendiği belirtilmektedir [10].

Süne hasarlı taneler üzerinde yapılan mikroskopik incelemelerde süne zararının buğday tanesinin ruşeymine en yakın bölgede olduğu ve en çok delmenin bu kısımda olduğu görülmüştür. Bazen deliğin perikarp veya meyve kabuğunun tüm tabakalarını ve aleuronu geçtiği ve oldukça derinlere endospermin içine doğru gittiği görülmektedir. Deliğin aleuron tabakasını geçmediği durumlarda, salgı bu tabakanın üzerinde kalarak sadece burada etkili olmaktadır ve endosperm etkilenmemektedir. Bu durumda sadece aleuron tabakasının mekanik olarak etkilendiği delme noktasındaki endosperm muhteviyatı tahrip edilmektedir [1,7,11,12,13].

Süne-kımıl zararlılarının enziminin aşırı düzeyde olarak genelde proteolitik [2, 4] ve bazen de amilolitik aktiviteyi ihtiva ettiği bildirilmektedir. Böcek enzimi hasarlı buğday probleminin tipik karakteristik niteliğinin delilin, hasarlı buğday tanelerindeki böcek kaynaklı yüksek proteolitik aktivite olduğu ifade edilmektedir [1,7,8].

Böcek enzimi hasarı üzerine, ortamın iklimik durumu, buğday kalitesi, buğday tanesindeki zarar derecesi, zarar verme dönemi, zararlı tane oranı, süne-kımılın zarar verme derecesi ve ekmek yapma faktörleri gibi hususlar etki etmektedir [5,14]. Benzer hususlar Yeni Zelanda orijinli *Nysius huttoni* zararlısı için de belirtilmektedir [8,15].

SÜNE (*Eurygaster* spp), KİMİL (*Aelia* spp) VE *Nysius huttoni* ZARARLILARININ ENZİMLERİNİN GENEL BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ VE ETKİLERİ

Süne ve *Nysius huttoni* zararlılarının enzimlerinin biyokimyasal nitelikleri hakkında çeşitli ülkelerde, değişik

zamanlarda araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmada öncelikle ülkemiz açısından da önem arz eden süne zararlısının biyokimyasal nitelikleri verilecek, bunu *Nysius huttoni* zararlısı hakkında yapılan çalışmalar izleyecektir.

1. SÜNE (*Eurygaster* spp) ZARARLISININ ENZİMİNİN BİYOKİMYASI

Süne tarafından buğday içerisine enjekte edilen enzimin biyokimyasal karakterizasyonuna ilişkin olarak ilk çalışma Rus bilim adamı Kretovich [9] tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada Papain tipi bir proteaz olarak belirtilen süne böceğinin enziminin suda çözündüğünü, nötral veya az alkali ortamlarda (pH 7 - 8) daha etkili olduğunu ve sıcaklığın düşmesi ile de proteolitik aktivitesinin azaldığını bildirmiştir. Buna ek olarak bu araştırmacı süne zararlısının vermiş olduğu aşırı proteolitik ve amilolitik (alfa amilaz) aktiviteler sebebi ile buğdayda, su, %2 triklorasetik asit (TCA) ve % 70 etanolde çözünür protein fraksiyonları ve aminoasitlerin miktar ve oranının sağlam tanelere göre önemli ölçüde yükseldiğini de tesbit etmiştir. İngiliz bilim adamı KENT [4] süne böceğinin salgısındaki proteolitik enzim aktivitesinin optimum pH 8.5 olduğunu bildirmektedir.

Süne kımıl hasarlı Rus buğdayları üzerine. Hanford [16] tarafından yapılan bir çalışmada, bu böcekler tarafından salgılanan proteaz enziminin buğday içindeki tabii alfa proteinazlardan farklı özellikte bir alfa proteinaz veya endo-peptidaz / redüktaz olarak sınıflandırılabilir ve bunun yüksek gluten yumuşama aktivitesi ancak orta düzeyde ise suda çözünür azot miktarı gösterdiği ve bu problemin daha etkili yöntemlerle incelenmesi gerektiği ifade edilmiştir. Sovyetler Birliği döneminde Pokrovskaya ve ark. [17] E. integriceps Put. zararı konusunda yaptıkları bir çalışmada süne hasarlı buğdaylarda protein miktarının sağlam ve normal tanelere göre biraz düşük olduğunu ve suda çözünür protein miktarının da normallere göre iki kat daha yüksek olduğunu tesbit etmişlerdir. Bunun yanında Rus araştırmacı Yakovenko ve ark. [8], yapmış oldukları bir başka çalışmada E. integriceps Put.'un buğdaylarda proteolitik aktiviteyi yükselttiğini bazen de bunun yanında amilolitik aktivitenin de yükseldiğini tesbit etmiştir.

Türkiye'de yapılan bir çalışmada *Eurygaster* spp. zararına maruz kalmış sert nitelikteki (Bezostaja) ekmeclik buğdayın çeşitli solventlerde çözünebilir ve çözünemez Osborne protein fraksiyonları üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada sağlam örneğe göre böcek enzim hasarına maruz kalan örneklerin ayrıca zararlanma derecesine de bağlı olarak suda, %70 alkolde, %2 TCA'da çözünür protein fraksiyonlarının arttığı tesbit edilmiştir [19]. Bu durumun Kretovich [9] ile de benzerlik gösterdiği görülmüştür. Ayrıca 0.05 M asetik asitte çözünmeyen protein fraksiyon (resüdi kalıntı) miktarı da süne zararlanma derecesine bağlı olarak azalmıştır. Resüdi fraksiyonu buğdayın ekmeclik kalitesi yönünden pratikte oldukça önem taşımaktadır.

Bunun yanında araştırıcı böcek enzim hasarı ile oluşan protein fraksiyonlarındaki değişimleri, özellikle çimlenme ile ortaya çıkan biyokimyasal değişimleri inceleyen araştırcıların bulguları ile de kıyaslamış ve benzer olduğunu belirtmiştir. Asetik asitte çözünmeyen protein (resüdi) fraksiyonu, yüksek moleköl ağırlıklı proteinlerin bir grubu ile aktif grupların hakim olduğu amino asit kompozisyonundan oluşmaktadır [20]. Yapılan bir başka çalışmada da resüdi (kalıntı) proteinleri fraksiyonunun ekmek hacmi üzerinde doğrudan önemli düzeyde etkide bulunduğu gösterilmiştir [21].

Türkiye'de Eurygasrer maura zararlısının proteolitik aktivitesinin etkileri üzerine yapılan çalışmada süne (E.maura) proteazının serin proteazların SH grubu ihtiva eden bir alt grupta olduğu ve bu enzimin serin proteazlarda mevcut olan aktif bölgeyi inhibe eden tripsin inhibitörü vede SH grubunu modifiye eden p-kloromerküri benzoik asit (PCMB) tarafından inhibe edildiği tesbit edilmiştir [22]. Bu maddelerin inhibe etme düzeyleri de % 67 100 arasında olmuştur. Yine bu çalışmada E.maura' nın buğdaya nisbi olarak yaptığı zararlanmanın sonucu, sağlam ve hasarlı buğday tanelerinin endosperm strüktürü Scanning Elektron Mikroskopu (SEM) yardımı ile de incelenmiştir. SEM analizi ile süne hasarı sonucu, endosperm strüktürünün sağlam taneye göre önemli ölçüde değiştiği, diğer bir ifade ile proteolitik aktiviteye bağlı olarak protein matriksinin oldukça küçüldüğü gözlenmiştir. Özellikle araştırıcı bu durumu Fusarium spp. küflerinin buğdaylara yaptığı zarar ile benzer olduğunu da belirtmiştir. Bunun yanında SİVRİ ve ark.[22,23] yapmış oldukları çalışmalarda E maura proteazının gluten proteinlerinden gliadinler üzerine etkisini Asit Poliakrilamid Jel Elektrofrez (A-PAGE) ve glutenin alt birimleri üzerine olan etkisini ise Sodyum Dodesil sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrez (SDS-PAGE) tekniklerini kullanarak incelemişlerdir. Araştırcılar, E. maura' nın da aynen Yeni Zelanda 'da tesbit edilmiş olan N. huttoni zararlısında olduğu gibi, gluten proteinlerinden glutenin fraksiyonunun yüksek moleköl ağırlığı (HMW) olan alt birimlerini parçaladığı ve ayrıca bunun üzerine buğday çeşit özelliklerinin de etkili olduğunu tesbit etmişlerdir. Ayrıca, gliadin proteinlerinde de en düşük mobiliteli gliadinlerden daha düşük ve en yüksek mobiliteli gliadinlerden ise daha yüksek mobiliteli yeni bantların çıktığını da gözlemlemişlerdir. Buna ek olarak bu çalışmada inkübasyon faktörünün de süne proteazının etkilerinin ortaya çıkmasında en önemli rolü üstlendiği de görülmüştür. Yine SİVRİ ve ark.[24] yayınlamış oldukları bir başka araştırmada, RP-HPLC kromatografi tekniği ile %50 1-propanol'da çözünmeyen (50 PI) glutenin proteinleri üzerine E. maura' nın proteolitik etkisini ilk defa incelemişlerdir. Bu çalışmada araştırcılar, inkübasyon ile birlikte, süne (E. maura) hasarına maruz kalmış farklı özellikteki 6 ekmeklik buğday varyetesinin total glutenin (GS), Yüksek (HMW-GS) ve Düşük (LMW-GS) glutenin alt birimleri % 50 1-propanol'da çözünmeyen glutenin (50 PI) olarak incelenmiştir. Araştırcılar, süne proteazının glutenin fraksiyonunun yüksek moleköl ağırlıklı (HMW-GS) alt birimlerine

miktar olarak da etki ettiğini, ayrıca bunun üzerine varyete faktörünün de etkili olabileceğini tesbit etmişlerdir. Ayrıca araştırcılar böcek enzim hasarının değerlendirilmesinde çeşit x çevre faktörünün yanında gluten proteinin kompleks yapısına bağlı özelliklerinin de göz önünde bulundurulmasını bildirmişlerdir. Özellikle Eurygaster maura'nın farklı buğday varyetelerinde oluşturduğu değişik etkiler dikkate alındığında, böcek enzim hasarına mukavim olarak geliştirilecek tiplerin seğiminde de bu tarz çalışmaların önemli olduğu da ve bunun için de 50 PI glutenin düzeyinin niceliksel markör olarak kullanımının mümkün olabileceği bir ekstra sonuç olarak belirtilmiştir. Ayrıca İtalya'da A-PAGE elektrofrez yöntemi ile yapılan bir başka çalışmada da süne-kımlı zararına maruz kalmış buğday tanelerinde gliadin proteinlerinin alt birimlerinin etkilendiğinin tesbit etmişlerdir [25].

2 NYSIUS HUTTONI ZARARLISININ ENZİMİNİN BİYOKİMYASI

Yeni Zelanda'da tesbit edilmiş olan Nysius huttoni'nin verdiği zarar ile ekmeklik buğdaylarda aynen süne-kımlı olduğu gibi gluten hidrolizi görülməsi sonucu ,bu böceğin buğdayda bıraktığı proteolitik enzimlerin, gluteni oluşturan gliadin proteinleri üzerine bir etkisi olmadığı, buna karşılık , buğdayın ekmeklik kalitesi yönünden büyük öneme sahip yüksek moleköl ağırlıklı (High Molecular Weight Glutenin HMW-G) bazı glutenin alt birimlerini parçaladığı jel elektrofrez tekniği kullanılarak çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir [8,15 26]. Ayrıca N.huttoni' nin ihtiva ettiği enzimin ekso proteolitik tipten çok endo tip bir enzim olacağı da belirtilmiştir. Yine bu çalışmada N. Huttoni ile hasarlanmış bütün buğday örnekleri beklemeli veya inkübe edilmiş SDS sedimentasyon testi ile daima kuvvetli bir böcek proteinaz aktivitesi göstermiştir. Bunun yanında N. Huttoni' nin proteazı SDS ve asetikasitt'te çözüdür buğday protein fraksiyonlarını azaltmakta bazen de TCA'da çözüdür protein miktarını yükseltmekte; ancak süne hasarlı örneklerin aksine suda ve alkolde çözünebilir protein fraksiyonları üzerine bir etki yapmamaktadır [26]. Yeni Zelandalı araştırcılar tarafından yapılan bir çalışmada N. huttoni zararlısının bazen buğdaylarda amilolitik aktiviteyi yükselebileceğini de tesbit etmişlerdir [8].

Yeni Zelanda' da yapılan bir başka çalışmada da, Nysius huttoni' nin proteolitik enziminin suda çözüdür alkali karakterde bir proteaz ve optimum pH 9 derecesine sahip olduğu, nisbi olarak ısı stabilizasyonu gösterdiği ancak 35 - 40 ° C civarında bir sıcaklıkta ise enzimin en aktif düzeye ulaştığı ve bu enzimin EDTA veya N-etilmalemit ile inhibe edilemediği ancak Co⁺² ve Fe⁺² iyonları ile inhibe edilebildiği tesbit edilmiştir [27]. Yine Yeni Zelandalı araştırcılar SWALLOW ve EVERY [2] tarafından, N. huttoni 'nin proteolitik enziminin standart proteinaz testleri ile incelendiğini, ancak Nysius'un proteazının hemoglobin, jelatin, bovin serum albumin, cytocrom C ve benzoil L- etil esteri standart substrat olarak kullanmadığını, bu sebeple proteazın aktivitesini

tesbit edebilmek için glutenin fraksiyonun substrat olarak kullanıldığı bir mikro-proteaz aktivitesi tayin yöntemi üzerine çalışıldığını belirtilmiştir. Every [28] tarafından yapılan bir başka çalışmada N. huttoni böcek proteazının ölçümü için geliştirilen ve substrat olarak da gluten kullanılan bir proteaz aktivite tayin yöntemi başarı ile kullanılmıştır. N. huttoni'nin proteolitik enzimlerinin saflaştırılması ve karakterlerinin belirlenmesi üzerine, yapılan kromatografik ve elektroforetik esaslı bir başka çalışmada bu enzimin bir serin proteaz ve optimum pH düzeyinin de 45 °C'de 8.9 olduğu belirlenmiştir [29]. Bu çalışmada böcek enzimi anyon değiştirici hidrofobik interaksiyon ve immobilize edilmiş iyon affinitesi ve jel filtrasyon kromatografisi aracılığı ile 50 000 kat saflaştırılmıştır. Bu enzime karşı proteaz inhibitörlerinden fenilmetilsülfonil florit ve Patates proteinaz inhibitörleri (POT - IC ve POT-ID) kullanılmıştır. Bu inhibitörlerden sadece POT-I'nin Nysius'un proteinaz enzimlerine etki ettiği görülmüştür. Araştırmacı ekmeğin yapımında bu inhibitörü N. huttoni zararı görmüş buğdayın ununa katkı maddesi olarak kullanılmasını teklif etmiştir.

Hububat tanelerinde endoproteaz ve eksoproteaz olmak üzere iki tip proteaz enzimi vardır. Endoproteazlar, protein içerisindeki peptid bağlarını rastgele parçalayarak, daha küçük polipeptidleri meydana getirirler. Eksoproteazlar ise bu polipeptidleri uçtaki aminoasitlerini ayırarak parçalarlar. **Gluten yumuşaması (Gluten softening)** olayının sebebi de endoproteazlardır [30]. Süne hasarlı buğdaylarda yapılan bir çalışmada da, süne hasar derecesine bağlı olarak aşırı proteolitik enzim aktivitesi sebebi ile gluten yumuşaması - özellikle öz yıkama ve Perten gluten indeks testi sonucuna göre - tesbit edilmiş, bu durum süne hasarına maruz kalan buğday örneğinde muhtemelen SS (disülfid) bağlarının artmış olmasından kaynaklandığı ifade edilerek endoproteazların etkisine bağlanmıştır [19].

Buğdayların ekmeğin kalitesinin veya unlarının fonksiyonel niteliklerinin tesbitinde HMW glutenin alt birimleri bir anahtar bileşen olarak bilinmektedir. Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar ile HMW Glutenin alt birimleri ile hamur elastikiyeti, ekmeğin hacmi, valograf derecesi, SDS sedimentasyon testi değeri arasında önemli ilişkiler tesbit edilmiştir [31,32,33, 34].

Yapılan bir çok araştırmalar açıkça yüksek kaliteli ekmeğin buğdayların düşük kaliteli ekmeğin buğdaylara göre daha yüksek miktar ve farklı kompozisyonda HMW glutenin alt birimlerine sahip olduğunu göstermiştir. Bu açıdan buğdaya böcek enzim hasarının incelenmesinde ve çözüm yollarının bulunmasında bu nitelik çok önemlidir [15]. Süne hasarlı buğdaylarda Sivri ve ark, [24]] tarafından HMW GS alt birimlerindeki bildirilen etkiler de bu duruma benzerdir.

Kimil (Aelia spp.)zararlısının enziminin biyokimyasal nitelikleri üzerine yapılmış bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır. Kimil'in süne zararlısı gibi buğdaylar

üzerine benzer etkileri yaptığı göz önüne alınırsa, bu zararlısının da enziminin benzer biyokimyasal nitelikte olması muhtemeldir. Ancak bu konuda bazı çalışmaların yapılması da gerekmektedir.

SONUÇ

Ekmeğin buğdaylara böcek (süne kimil, N.huttoni) enzimi zararı konusunda yapılan araştırmalar sonucu açıkça görülmüştür ki; böcek enzim hasarının buğdaydaki en büyük ve görünür etkisi yüksek düzeyde böcek proteinaz aktivitesi olup, bazen de buna paralel olarak amilolitik (alfa amilaz) aktivite olarak ortaya çıkmasıdır. Böcek proteinazları genel olarak alkalik karakterli bir endoproteinaz tip enzim olup, bu enzimlerin aktif pH' ları 7 9.5 arasındadır. Bunun yanında genel olarak böcek proteinaz enzimleri buğday proteinlerinin özellikle glutenin fraksiyonunun yüksek molekül ağırlıklı alt birimleri (HMW GS) üzerine etkili olmaktadır. Bu problem günümüzde ekonomik olarak önemini korumaktadır. Böcek enzimi hasarlı buğday konusunda çalışacak olan araştırmacıların, böcek (süne, kimil vb) hasarına mukavim buğday çeşitlerinin ıslahı ve un mamulleri üretiminde kullanılacak çeşitli katkı maddelerini geliştirme faaliyetlerinde bu bilgilerin ışığında yeni projeler üretmeleri mümkün olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Lorenz ,K., Meredith ,P.1988 a. Insect - damaged wheat: History, of the problem, effects on baking quality, remedies. Lebensmitt.wiss.tech.21(4):181-187.
- [2] Swallow ,W.H., Cressey,P.J.1987. Historical overview of wheat bug damage in New Zealand wheats. New Zealand Journal of Agricultural Research. 30 (3):341-344.
- [3] Swallow ,W.,H., Every ,D.1991. Insect enzyme damage to wheat .Cereal Foods World.36 (6): 505 508.
- [4] Kent,N.L. 1982. Technology of Cereals. Pergamon Press. 4 nd Edition.Oxford. England
- [5] Anonymous 1997.Süne.T.C. Tarım ve Köyüşleri Bakanlığı. Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü (TAGEM). 40 Sayfa. Ankara.
- [6] Özkaya ,H.,Özkaya ,B.1993. Buğday Kalitesinde Süne ve Kimilin Önemi. Un Mamulleri Dünyası .Yıl 2 (3):20 25.İstanbul.
- [7] Boyacıoğlu, M.H.1998. Böcek Zararı Görmüş Buğdaylar:Problemin Tarihçesi, Etki Alanı, Etki Mekanizması ve Zararın Tahminlenmesinde Kullanılan Yöntemler. Un Mamülleri Dünyası. 7 (1): 34 47. İstanbul.
- [8] Lorenz ,K., Meredith ,P.1988 b. Insect - damaged wheat: effects on starch characteristics. Starch. 40 : 136 139.
- [9] Every ,D., Farrel ,J.A., Stufkens, M.W. 1990. Wheat - bug damage in New Zealand wheats: The feeding mechanism of Nysius huttoni and its effect on the morfolological and physiological development of wheat. J. Sci. Food Agric.50:297-309.
- [10] Kretovich ,V.L.1944. Biochemistry of the damage to grain by the wheat bug. Cereal Chem. 21 (1):1 15.
- [11] Doss,S.A. 1980.Note on biology of wheat bug, Aelia germari Kust (Heteroptera: Pentatomidea) in Algeria. Indian J. Agric. Sci. 50: 372 374. (Alınmıştır EVERY ve ark. 1990).
- [12] Kent Jones , D.W., Amos, A.J.1957. Modern Cereal Chemistry. The

Liverpool Publishing Co. Ltd. 818 Pages

[13] Staudt ,E., Ziegler,E.1965. Die Mehlchemie.II Ervurtete Auflage .Buhler.İsviçre.

[14] Atlı ,A., Köksel ,H., Dağ, A. 1988. Süne Zararının Ekmeklik Buğday Kalitesine Etkisi ve Belirlenmesi. Uluslararası I. Süne Sempozyumu. 13 17 Haziran ,1988. Tekirdağ. (Basılmamış Bildiri).

[15] Schipper ,A.,Weipert,D.1993. Auswirkungen eines getreidewanzenbefalls auf backereitechnologische qualitätseigenschaften von weizen.Getreide,-Mehl und Brot.47 (1):26-30.

[16] Every ,D., Farrel ,J.A., Stufkens, M.W., Wallace,A.R.1998. Wheat cultivar susceptibility to grain damage by the New Zealand wheat bug, Nysius huttoni, and cultivar susceptibility to the effects of bug proteinase on baking quality.J.Cereal Sci.27: 37-46.

[17] Hanford,J.1967. The proteolytic enzymes of wheat and flour and their effects on bread quality in The United Kingdom. Cereal Chem. 44 (5): 499-513.

[18] Pokrovskaya,N.F., Morozova ,G.I., Vinogradova ,N.M. 1971. Proteins of wheat grain damaged the shell bug Eurygaster integriceps Put.Prikl. Biokim. I. Mikrobiol. 7: 121 127. (Alınmıştır EVERY ve ark. 1990).

[19] Yakovenko ,V.A., Litvinov ,A.M., Stayanova,A.A.1973. Characteristics of gluten protein of wheat attacked by the wheat bug. Izv. Vyss. Uchebn. Zaved. Pishch. Teknol. No 4: 17 19. (Alınmıştır EVERY ve ark., 1990).

[20] Dıraman ,H.1998. Süne Hasarının Buğdayın Bazı Protein Nitelikleri Üzerine Etkisi. Pasta, Ekmek, Dondurma & Teknik.2(12):75-78.İstanbul.

[21] Orth ,R.A., O'brien ,L.1976. A new biochemical test of dough strength of wheat flour. J.of Aust. Inst. Agric. Sci. 42 : 122.

[22] Orth ,R.A., Bushuk ,W.1972. A comparative study of the proteins of wheats diverse baking quality. Cereal Chemistry. 49 (2): 268.

[23] Sivri ,D, Köksel ,H., Bushuk ,W.1998. Effects of wheat bug (Eurygaster maura) proteolytic enzymes on electrophoretic of gluten proteins. New Zealand J.Crop.Hort.Sci. 26:117 125.

[24] Sivri ,D., Köksel ,H., Bushuk,W. 1999.Süne Proteazının Gluten

Proteinleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. E.Ü. Mühendislik Fak. Gıda Müh. Bölümü." 2000'li Yıllarda Gıda Bilimi ve Teknolojisi Kongresi.18-20 Ekim E.Ü. Atatürk Kültür Merkezi - İzmir." Bildiri Kitabı : Sayfa: 26. (Sunulmuş Bildiri.)

[25] Sivri ,D., Sapirstein, H.D., Köksel,H., Bushuk,W.1999. Effects of wheat bug (Eurygaster maura) protease on glutenin proteins. Cereal Chem. 76 (5). 816 820.

[26] Corbellini,M., Vaccino, P, Boggini , G., Spina,A. 2001. La cimice del grano: manifestazioni e danni arrecati all coltura. (The wheat bug : detection and damages caused to crops) .Tecnica Molitoria 52 (8):743-747.

[27] Cressey,P.J., Mc Stay ,C.J.1987.Wheat-bug damage in New Zealand wheats: Development of a simple SDS-sedimentation test for bug damage.J.of the Science of Food and Agriculture. 38 (4) : 357 366.

[28] Cressey ,P.J.1987.Wheat-bug damaged in New Zealand wheats: some properties of a glutenin hydrolising enzyme in bug damaged wheat. J.of the Science of Food and Agriculture. 41 (2): 159 165.

[29] Every ,D.1992. Relationship of bread baking quality to levels of visible wheat- bug damage and insect proteinase activity in wheat. Journal of Cereal Science. 16 (2):183 193.

[30] Every ,D.1993. Purification and characterization of a glutenin hydrolising from wheat damaged by the New Zealand wheat bug, Nysius huttoni.J.of Cereal Science.18(3):239-250.

[31] Redman ,D.G. 1971. Softening of gluten by wheat proteases.J.of Sci. Food Agric. 22:75-78.

[32] Branlard ,G., Dardavet,M.1985. Diversity of grain proteins and bread wheat II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics.J. of Cereal Sci.3 : 345.

[33] Payne,P.I., Nightingale,M.A., Krattinger ,A.F., Holt,L.M.1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread making quality of British grown wheat varieties. J. of Sci.Food and Agric. 40:51.

[34] Karpati ,E.M., Lasztity ,R., Kuroczi ,L.G., Czirak ,L.1990.Relationship between high molecular weight subunits of glutenin and bread making quality of Hungarian wheats. 245 252 pages. In: Gluten Proteins 90. W.BUSHUK and R.TKACHUK, eds. AACC, St.Paul. Minn, USA.

ŞEKEROĞLU

İYİ FİKİR

Plastik ambalaj Yarışması

Ödüllü Yarışmanın Son Teslim Tarihi 27 Mayıs 2005

Ayrıntılı Bilgi İçin:

www.iyifikir.info

bilgi@iyifikir.info

TEL: 0 537 627 20 10