

**Domates Bakteriyel Kanser Hastalığı (*Clavibacter michiganensis subp.michiganensis*)'na dayanıklı ve hassas bitkilerde fenolik maddelerin araştırılması**

**Yusuf BAYAN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Bitki Koruma Anabilim Dalı**

**Yrd. Doç. Dr. Özer ÇALIŞ**

**2011**

**Her hakkı saklıdır**



T.C.

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Y. LİSANS TEZİ

**DOMATES BAKTERİYEL KANSER HASTALIĞI (*CLAVIBACTER  
MICHIGANENSIS* SUBP. *MICHIGANENSIS*)'NA DAYANIKLI VE  
HASSAS BİTKİLERDE FENOLİK MADDELERİN  
ARAŞTIRILMASI**

Yusuf BAYAN

TOKAT

2011

Her hakkı saklıdır

Yrd. Doç. Dr. Özer ÇALIŞ danışmanlığında, Yusuf BAYAN tarafından hazırlanan bu çalışma 23.06.2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Yusuf YANAR

Üye : Yrd. Doç. Dr. Özer ÇALIŞ

Üye : Doç. Dr. Ömer IŞILDAK

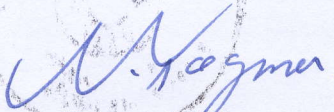
İmza : .....

İmza : .....

İmza : .....

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

Doç. Dr. Naim ÇAĞMAN



**Enstitü Müdürü**

## **TEZ BEYANI**

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Yusuf BAYAN

## ÖZET

Y. Lisans Tezi

**Domates Bakteriyel Kanser Hastalığı (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'na Dayanıklı Ve Hassas Bitkilerde Fenolik Maddelerin Araştırılması**

Yusuf BAYAN

Gaziosmanpaşa Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı  
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Özer ÇALIŞ

Birim alandan daha fazla verim almak, bitkilerde görülen hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı bitkiler geliştirmek, bitkilerde kullanılan pestisitleri en aza indirmek için günümüzde üstün özellikte bitkilerin kullanılması gerekmektedir. Bakteriyel kanser ve solgunluk hastalık etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*' i kontrol altına alabilmek için hassas bir domates hattı olan NCEBR3 domates tohumları üzerinde kimyasal mutasyon oluşturularak ümitvar dayanıklı mutant domates bitkileri elde edilmiştir. Bu çalışma hassas ve ümit var dayanıklı olan domates bitkilerinde bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına karşı oluşan fenolik bileşiklerin belirlenmesi ve bu bileşiklerin dayanıklılık mekanizması ile olan ilişkisini ortaya koymayı amaçlamıştır. Hassas NCEBR3 ve ümit var dayanıklı olan domates mutant bitkileri bakteriyel kanser hastalık etmeniyle inokule edildi ve inokulasyondan sonraki ilk hafta hergün, 14, 21 ve 28 gün sonra bitkilerden alınan yaprak örnekleri 1,5 ml metanol ile havanda ezilerek ekstraksiyon işlemi yapıldı. Ekstrakte domates yaprağı numunelerindeki fenolik bileşikler p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit, rutin, kuersetin, naringenin, kaemferol ve klorjenik asit miktarları Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi (HPLC) sisteminde belirlendi. Bugüne kadar hep meyvede analiz edilen bu bileşiklerin tamamının bitki yapraklarında üretildiği bulunmuştur. Ayrıca UV spektrofotometre ile yapılan C vitamini analizlerinde NCEBR3 ve ümitvar domates mutant bitkileri arasında C vitamini bakımından bir farklılık olmadığı ortaya çıkmıştır. Ümit var dayanıklı domates bitkilerinde bazı fenolik bileşiklerin miktarlarının hassas NCEBR3 domates ve kontrollere göre çok fazla miktarda oluşturulduğu saptanmış olup bunun bitkilerin dayanıklılığında ileri geldiği sanılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Domates, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, Fenolik Bileşikler, HPLC

2011, 46 sayfa

**ABSTRACT**

MSc. Thesis

Yusuf BAYAN  
Gaziosmanpaşa University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Plant Protection Department

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Özer ÇALIŞ

The superior plants have to be produced to obtain higher yield from unit area, to develop resistant plants against pests and diseases, to minimize pesticides usage on plants. To control bacterial canker and wilt disease caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, a susceptible NCEBR3 tomato line seeds were mutagenized with a chemical mutagen and promising resistant tomato mutant plants were obtained. This study aims to determine phenolic substances and to investigate their roles in resistance mechanisms between inoculated susceptible NCEBR3 and promising resistant M3 tomato plants. The plants samples were collected every day in the first week, 14, 21 and 28 days after inoculation. Each collected plant samples was crushed in a mortar with 1.5 ml of methanol for sample extraction. The extracted leaf samples were assessed in High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) system to measure phenolic compounds p-coumaric acid, ferulic acid, caffeic acid, rutin hydrate, quercetin, naringenin, and chlorogenic acid and kaemferol quantities. To date, all of the phenolics compounds were analyzed in fruits; however, all the phenolics substances were investigated in the plant leaves at this study. Additionally, the vitamin C measurements with UV spectrophotometer revealed that there is no significant difference between susceptible NCEBR3 and promising resistant mutant tomato vitamin C concentrations. Phenolic substance concentrations were significantly increased in the inoculated promising resistant M3 tomato plants than inoculated susceptible NCEBR3 and control tomato plants. Higher phenolic substances accumulations can be associated with plant resistance mechanisms in the promising resistant tomato plants.

**Keywords:** Tomatoes, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, Phenolics compounds, HPLC

2011, 46 pages

Keywords: Tomatoes, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, Phenolics compounds, HPLC

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca, bilgi, fikir ve literatür temini konusunda her türlü desteğini gördüğüm, her zaman benim için bir yol gösterici olan ve tez yazımda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Özer ÇALIŞ'a,

Öncelikle moral desteğinden dolayı ve tezimin yazım aşamasında ve laboratuvar çalışmaları sırasında her türlü bilgi birikimini benimle paylaşan sevgili arkadaşım Hüseyin AKŞİT ve Nusret GENÇ'e,

Bölümümüzün her türlü imkânından faydalanmamı sağlayan Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü ve Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü yöneticilerine ve manevi desteklerini esirgemeyen bütün öğretim elemanlarına,

Bu çalışmamı 2010/106 proje no ile destekleyen Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme

Teşekkürü borç bilirim

Yusuf BAYAN

## İÇİNDEKİLER

<b><u>İÇİNDEKİLER</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vi
SİMGE VE KISALTMALAR .....	vii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Domates ( <i>Solanum lycopersicum</i> ) Yetiştirme Koşulları .....	3
2.3. Domateste Mineral Maddeler .....	5
2.4. Fenolik Bileşik Nedir? .....	6
2.5. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması.....	6
2.6. Domateste Bulunan Fenolik Bileşikler .....	7
2.7. Fenolik Bileşikler ve Bitki Savunması .....	8
2.8. Bitkilerde Daha Önceden Oluşturulan Antifungal Fenolikler .....	9
2.9. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) .....	12
2.10. Literatür Özeti.....	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	16
3.1. Bitkisel Materyal.....	16
3.1.1. Bitkilerin yetiştirilmesi .....	16
3.1.2. Bakterilerin yetiştirilmesi .....	17
3.1.3. Bakterilerin İnokülasyon İşlemi.....	17
3.1.4. Numunelerin Alınması.....	18
3.2. Analizlerin Yapılması .....	18
3.2.1. Kullanılan Kimyasallar .....	18
3.2.2. Cihazlar .....	18
3.2.3. Ekstraksiyon İşlemi.....	18
3.3. HPLC ANALİZLERİ .....	19
3.3.1. Fenolik Bileşiklerin (p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit, rutin, kuersetin, naringenin, kaemferol ve klorjenik asit) HPLC ile Kantitatif Tayini .....	19
3.4. C Vitamini (Askorbik Asit ) Analizi.....	22
4. BULGULAR.....	24
4.1. Klorjenik asit ve rutin hidrat analiz bulguları .....	24
Standartlar .....	26
4.2. C Vitamini Sonuçları .....	29
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	31
KAYNAKLAR .....	33
ÖZGEÇMİŞ .....	36



**ŞEKİLLER DİZİNİ****Şekil****Sayfa**

<b>ŞEKİL 2. 1. DOMATES (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i>) BİTKİSİNİN GÖRÜNÜMÜ .....</b>	<b>3</b>
Şekil 3. 1. Domates tohumlarının viollerde çimlenmesi.....	16
Şekil 3. 2. Domates fidelerinin saksılara şaşırtılması .....	17
Şekil 3. 3. Bakterilerin besi ortamına ekimi .....	17
Şekil 3. 4. Standart numunelerin 5, 10ve 20 ppm'lik derişimlerin HPLC kromatogramları.....	20
Şekil 3. 6. Fenolik bileşiklerin kalibrasyon grafikleri .....	22
Şekil 3. 7. C vitamini analizi kalibrasyon grafiği .....	23
Şekil 4.1 İnoküle edilmiş hassas NCEBR3 domates bitkisinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromotogramları. ....	24
Şekil 4. 2 İnoküle edilmiş M3 ümitvar domates mutant bitkisinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromotogramları.....	25
Şekil 4. 3 Distile steril su ile inoküle edilmiş kontrol M3 ümitvar domates mutant bitkisinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromotogramları. ....	26
Şekil 4. 4 Distile steril su ile inoküle edilmiş kontrol NCEBR3 domates bitkilerinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromotogramları .....	27
Şekil 4. 5. Bakteriyel Cmm2 ve distile steril su (kontrol) ile inoküle edilmiş dayanıklı (M3) ve hassas (NCEBR3) domates bitkilerinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromotogramlarının inokulasyondan 28 gün sonra karşılaştırılması.....	28
Şekil 4. 6. Bakteriyel Cmm2 ve distile steril su (kontrol) ile inoküle edilmiş dayanıklı (M3) ve hassas (NCEBR3) domates bitkilerinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromotogramlarının inokulasyondan hemen sonra (0. gün) karşılaştırılması. ....	29

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<b>TABLO 2. 1.</b> OLGUN BİR DOMATES MEYVESİNİN KİMYASAL BİLEŞİMİ (% KURU MADDE).....	4
<b>TABLO 2. 2.</b> OLGUN BİR DOMATES MEYVESİNİN VİTAMİN İÇERİĞİ (MG /100 G MEYVEDE).....	5
<b>TABLO 2. 3.</b> ANTI FUNGAL FENOLİKLER .....	11
<b>TABLO 3. 1.</b> HPLC POMPA PROGRAMI .....	19
<b>TABLO 3. 2.</b> STANDARTLARIN HPLC ANALİZ ÖZETİ .....	20
Tablo 4. 1. İnoküle edilen hassas NCEBR3 bitkilerinde inokulasyondan sonra fenolik maddelerin miktarlarındaki değişimler	25
Tablo 4. 2. İnoküle edilen M3 ümitvar domates bitkilerinde inokulasyondan sonra fenolik maddelerin miktarlarındaki değişimler.....	26
Tablo 4. 3. Distile steril su ile inoküle edilmiş kontrol M3 bitkilerinde inokulasyondan sonra fenolik maddelerin miktarlarındaki değişimler. ....	27
Tablo 4. 4. Distile steril su ile inoküle edilmiş kontrol NCEBR3 domates bitkilerinde inokulasyondan sonra fenolik maddelerin miktarlarındaki değişimler.....	28
Tablo 4. 5. Domateste C vitamini değişimi (mg/Kg) .....	29

**SİMGE VE KISALTMALAR**

<b>Simge</b>	<b>Açıklama</b>
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ppm	Milyonda bir kısım
TCA	Trikloroasetik asit
UV-VIS	Ultraviyole-Görünür Bölge
FAO	Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
FC	Folin-Ciocalteu
OS	Oregon Spring
RS	Red Sun

## 1. GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusuna karşı tarım alanlarının sınırlı olması, insanları beslenme sıkıntılılarıyla karşı karşıya getirmektedir. Bugün için 6 milyar olan dünya insan nüfusunun 2050 yılında 9.5 milyara ulaşması beklenmektedir (FAO, 2009). Bu nedenle insan popülasyonunu doyurabilmek için hastalık ve zararlılardan dolayı meydana gelen kaybı minimuma birim alandan ürün artışını maksimuma çıkarmak gerekir (Primrose, 1991). Domates, dünyada en çok üretilen, tüketilen ve ticarete konu olan tarım ürünlerinin başında gelmesi, insan beslenmesinde vazgeçilmez ürünlerden olması ve gıda sanayinde dondurulmuş, konserve, salça, ketçap, turşu gibi çok çeşitli kullanım alanlarına sahip olması nedeniyle önemli sebzelerin başında gelmektedir. Domates dünyada birçok ülkede yetiştirilmekle birlikte, Türkiye uygun iklim koşulları nedeniyle üretiminde önemli ülkelerden biridir (Keskin ve Gül 2004). Dünyada yılda 126 milyon ton domates üretilmekte Türkiye ise 10 985 400 milyon ton domates üretimi ile dünyada 4. sırada yer almaktadır. Ülkemizde domates üretimi toplam sebze üretimimizin %40'nı oluşturmaktadır. Çok geniş bir kullanım alanı olması dünyada ki domates ihtiyacının hızla artmasına neden olmakta, bu nedenlerle daha fazla verim alacak çeşitler geliştirmek ve hastalık zararlılara karşı ise dayanıklı çeşitler yetiştirmek gerekmektedir. Bitki hastalıklarıyla en güvenilir mücadele yöntemlerinin başında hastalıklara dayanıklı bitkilerin yetiştirilmesi gelmektedir. Hastalıklarla mücadelede de kullanılan kimyasalların fitotoksik etkileri yanında çevre, hayvan ve insan sağlığına olan etkileri bulunmaktadır. Kullanılan pestisitlere karşı patojenlerin bu kimyasallara karşı dayanıklılık kazanması insanları dayanıklı bitki çeşitleri üretmeye yönlendirmiştir (Kazan ve Gürel, 2001).

Günümüzde ticari olarak yetiştirilen domates çeşitleri anavatanı olan Latin Amerika'nın And dağlarından Avrupa başta olmak üzere tüm Dünyaya yayılırken hastalık ve zararlılara dayanıklı toleranslı diye bakılmamıştır. Dolayısıyla seçilen domates çeşitleri insanlara daha lezzetli, daha alımlı, daha tatlı olanlar getirilerek çok kısıtlı bir gen havuzundan oluşan domates kültür çeşitleri ile dünyaya yayılmıştır. Ticari üretim yapılırken kültür domateslerinin hastalıklardan etkilenmesi sonucunda dayanıklı bitkilerin bulunması veya dayanıklılık mekanizmalarının oluşturulması gün geçtikçe

önem kazanan bir çalışma alanıdır. Domateste önemli ürün kaybına neden olan bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına karşı tüm test edilen kültür domatesleri hassas bulunmuştur. Gerek Dünyada gerekse Türkiye’de yapılan çalışmalar bu bakteriyel kanser hastalığına dayanıklı kültür domatesi bitkilerini ortaya koyamamıştır (Smith and Jensen,1982; Gitaitis, 1991; Agarwal and Sinclair,1997; Erkan,1998). Bunun yanında hastalık ve zararlılara karşı bitki metabolizmasında çeşitli savunma sistemleri bulunmaktadır. Bitkilerin oluşturduğu bu savunma sistemi genel (temel) dayanıklılık ve özel (spesifik) dayanıklılık olarak ikiye ayrılır. Birçok bitki türü bazı hastalıklara karşı doğal olarak dayanıklılık gösterirler. Genelde bir bitkide hastalık oluşturabilen bir etmen başka bir bitkide herhangi bir hastalık oluşturmayabilir. Bu durum genel dayanıklılık veya temel dayanıklılık olarak adlandırılmaktadır. Bu tip dayanıklılık uzun ömürlüdür. Genel dayanıklılığın mekanizması birçok durumda bitkide patojen sporlarının gelişmesini, hücre ve dokuları enfekte etmesini önleyici olmasından kaynaklanmaktadır. Bitkideki kütikula, hücre çeperinin yapısı, fenolik bileşiklere ya da hastalık etmeni tarafından uyarılabilecek bir savunma sistemine sahip olması, o bitkinin hastalığa karşı dayanıklı olmasını sağlamaktadır. Konukçu bitkiler hastalıkların oluşturacağı zararları engel olmak için dayanıklılık genlerini geliştirmişlerdir. Dayanıklılık geninin ürünü olan proteinler hastalık etmeninin bitkiye girmesi sırasında kodladığı sinyal moleküllerini tanıma yeteneğine sahiptirler. Bu tanıma işlemi bitkinin savunma sisteminin harekete geçirilmesi bakımından zorunludur. Sonuçta bitki savunma mekanizmasının uyarılması antimikrobiyal etkiye sahip birçok proteinin bitkide üretilmesine neden olmakta olup bu tür bitkide bir dayanıklılık oluşmakta buna ise spesifik dayanıklılık denmektedir (Koç ve Üstün, 2008).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Domates (*Solanum lycopersicum*) Yetiştirme Koşulları

Dünyada yetiştirilen tüm domates çeşitlerinin anavatanı Latin Amerika'nın And dağlarıdır. Buradan başlayarak Avrupa başta olmak üzere tüm Dünyaya üzerine yayılmıştır. Bitki morfolojik özelliği; 1-3 metre boya sahip olan domates bitkisinin hafif odunsu bir gövdesi vardır. 10-25 cm uzunluğunda olan yaprakları üzerinde 5-9 yaprakçık bulunur. Yaprakları tüylüdür. 1-2 cm uzunluğunda ve genellikle sarı olan domates çiçekleri bir sap üzerinde 3-12 adettir. Genellikle kırmızı, yenilebilen meyvesi yabani bitkilerde 1-2 cm çapında iken, kültür bitkilerinde daha büyüktür (Anonim, 2011). İklim özelliği bakımından domates ılık ve sıcak iklim sebzesidir. Soğuklardan çok zarar gören bir sebze olup sıcaklığın -2,-3 °C düştüğünde ise bitki tamamen ölebilir. Gereğinden fazla sıcaklık ve nemde bitkide hastalıkların meydana gelmesine, sıcak ve kuru rüzgârlarda fazla miktarda çiçek dökülmesine sebep olur. Domateslerde normal bir gelişimin meydana gelmesi için en az sıcaklığın 16-19 °C'lerde olması gereklidir. Sıcaklıklar 13 °C'nin altına düştüğünde ise meyve olgunlaşmasında gecikme ve mahsulde azalmalar meydana gelir. Domatesin toprak isteği; her türlü toprakta yetişebilen bir üründür. En uygun toprak pH'sı 5,5-7,0 arasındadır (Wittwer, S. H. ve Teubner F. G., 1957).



Şekil 2. 1. Domates (*Solanum lycopersicum*) bitkisinin görünümü

## 2.2. Domates Meyvesinin Bileşenleri ve Besin Değeri

Domates genel olarak A ve C vitaminleri ve çeşitli mineral maddelerce zengin bir sebzedir. Seleksiyon ıslahı ile A vitamini bakımından daha zengin domates genotipleri elde etmek mümkün ise de yüksek A vitamini içeriğine sahip çeşitlerin turuncu renkte olması ve tüketicilerin bu renkteki meyveleri tercih etmemesi bu konudaki sınırlayıcı faktörü oluşturmaktadır (Grierson ve Kader, 1986). C vitamini bakımından domates türleri ve çeşitleri arasında büyük farklılıklar vardır. Ancak C vitamini ile verim arasında negatif bir korelasyon olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Stevens ve Rick, 1986). Domates ayrıca likopen bakımından zengin bir besin maddesi olup likopenin güçlü bir antioksidant olduğu da bilinmektedir. Olgun bir domates meyvesinde oluşturan bazı önemli maddeler Tablo 2.1’de özetlenmiştir.

**Tablo 2. 1.** Olgun bir domates meyvesinin kimyasal bileşimi (% kuru madde)

Şekerler	% kuru madde
Glikoz	22
Früktoz	25
Sakkaroz	1
Alkolde erimeyen kuru maddeler	
Protein	8
Pektik maddeler	7
Hemiselüloz	4
Selüloz	6
Organik asitler	
Sitrik asit	9
Malik asit	4
Mineraller	8
Dikarboksilik amino asitler	2
Yağlar	2
Renk maddeleri	0.4
Askorbik asit	0.5
Uçucu bileşenler	0.1
Diğer aminoasitler, vitaminler ve polifenoller	1

**Tablo 2. 2.** Olgun bir domates meyvesinin vitamin içeriği ( $\mu\text{g}/100$  g meyvede)

A vitamini	900-1271
C vitamini	15-23
B2 vitamini (riboflavin)	20-50
B3 vitamini (pantothenik asit)	50-750
B6 vitamini	80-110
Nikotinik asit (Niasin)	500-700
Folik asit	6,4-20
Biotin	1,2-4,0
E vitamini	40-1200

Olgun bir domatesin vitamin içeriği Tablo 2.2’de verilmiştir (Davies ve Hopson, 1981). Ticari değer olan birçok domates çeşidinde sakaroz miktarı düşük iken ticari değeri olmayan domates türlerinde sakaroz, glikoz ve früktoz miktarı daha fazla bulunmaktadır. Domates meyvesinde bulunan organik asitlerde şekerlerle birlikte meyvenin tadını etkileyen diğer bir önemli faktördür. Ayrıca organik asitler çeşitli metabolizma olaylarına yardımcı olmakta ve yaklaşık olarak organik asitler domateste kuru maddenin %15’ini oluşturmaktadır (Petro-Turza, 1987).

### 2.3. Domateste Mineral Maddeler

Domates yapraklarında mineral maddelerin kimyasal, morfolojik ve fizyolojik etkileri konusunda bilgiler olmasına karşın meyve ile ilgili bilgilere çok rastlanmamaktadır. Domatesin mineral madde içeriği yaklaşık kuru ağırlığının %8’ini oluşturmaktadır. Mineral maddeler içinde potasyum ve fosfat başta gelmektedir. Mineral maddeler pH üzerine etkili olduğundan tat üzerine de etkilidir (Petro ve Turza, 1987). Olgunlaşma döneminin başında domates meyvesinin mineral değeri azalmakta fakat olgunlaşmanın sonuna doğru ise artmaktadır (Hopson ve Davies, 1971).



## 2.4. Fenolik Bileşiler

Fenolik bileşik bir aromatik halkaya bir yada daha fazla sayıda hidroksil grubunun direk olarak bağlandığı bileşiklerdir. Tüm guruplar fenol yapısının üzerindedir. Tabi ki bu durumda da aromatik halka benzendir. Fenoller; hidroksil grubunun direk olarak karbona bağlanması yönüyle alifatik alkollere benzerler. Ancak fenolik hidroksil grubu halkanın varlığından etkilenmektedir. Aromatik halkadan dolayı fenolik hidroksilin hidrojeni kararlıdır ve bu da fenolik bileşikleri zayıf asit yapar. Polifenoller, birden fazla fenolik hidroksil grubunun bir veya çok sayıda benzen halkasına bağlı olduğu bileşiklerdir. Fenolik bileşikler bitkilerde karakteristiktir ve serbest fenollerden ziyade glikozit veya esterleri olarak bulunmaktadırlar.

## 2.5. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

Terim olarak fenolikler kimyasal bileşenlerin çok büyük ve çeşitli guruplarını kapsar. Bu bileşikler çok değişik yollarla sınıflandırılabilir. Harborne ve Simmonds (1964) bu bileşikleri moleküldeki karbon sayısına göre guruplara ayırarak Tablo 2.2'deki gibi sınıflandırmıştır.

**Tablo 2.2.** Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

Yapısı	Sınıfı
C <sub>6</sub>	Serbest Fenoller
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Fenolik Asitler ve Benzer Bileşikler
C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>	Asetofenoller ve Fenil asetik asitler
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Sinamik asit, Sinamil aldehid, Sinamil alkoller
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Kumarinler, İsokumarinler ve Kromanlar
C <sub>15</sub>	Kalkonlar, Dihidroalkonlar
C <sub>15</sub>	Flavanlar
C <sub>15</sub>	Flavonlar
C <sub>15</sub>	Flavanonlar
C <sub>15</sub>	Flavanonoller
C <sub>15</sub>	Antosiyanidinler
C <sub>15</sub>	Antisiyaninler
C <sub>30</sub>	Biflavoniller
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub> , C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Benzefenon, Santafenon, Stilbenler
C <sub>6</sub> , C <sub>10</sub> , C <sub>14</sub>	Kinonlar
C <sub>18</sub>	Betasiyaninler
Lignans, neolignans	Dimerler veya Oligamerler
Lignin	Polimerler
Tannins	Oligamerler veya Polimerler
Phlobaphenes	Polimerler

## 2.6. Domateste Bulunan Fenolik Bileşikler

Fenolik asitler kuvvetli bir çimlenme engelleyicisi olarak uzun zamandan beri bilinmektedir. Domates den izole edilen 'Blastocholine'nin ferulik ve kafeik asit karışımından ibaret olduğu ve bunların tohumları uyku durumunda tutma ve fungostatik ajanlar olarak etki yaptıkları bildirilmiştir. Domatesteki başlıca fenolik bileşikler; p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik ve klorjenik asittir. 100 g taze domates meyvesinde 0.6 mg kafeik ve 1.8 mg klorjenik asit bulunmaktadır (Ercan, 2002). Domates meyve

duvarındaki ferulik, kafeik ve klorjenik asitlerin olgunlaşma ile arttığını ancak p-kumarik asidin miktarının değişmediği ifade edilmektedir. Genç domatesler, meyvelerinde çok miktarda polifenolik madde içerir. Ancak bunların miktarları olgunlaşmaya doğru azalmaktadır. Olgunlaşma esnasında meyve kırmızı renkte olduğundan fenollerde küçük bir artış vardır (Hopson ve Davies, 1971).

## 2.7. Fenolik Bileşikler ve Bitki Savunması

Bitkilerin doğal ortamlarında çok sayıda **biyotik** ve abiyotik hastalık etmenleriyle karşılaşırlar. Dayanıklılık mekanizması fiziksel veya kimyasal bariyerleri içermekte olup bu mekanizmalar böceklerin yapmış olduğu doku zararlarını ve enfeksiyonlarını hızlıca temizlemekte ve bu süreçte sınırlı zararların oluşmasını sağlamaktadır (lokalize olmuş hücrelerin ölmesi gibi). Dayanıklılığın çoğunlukla gelişmesi ve bazen de artması hastalık zararlarını düzeltmektedir. Klorofil miktarının ve yaprak boyutlarının artmasıyla veya çok sayıda yeni dallar, tomurcukların zamanında açması, enfeksiyonlu dokuların yaşlanmayı geciktirmesi ve besin alınımının hızlanmasıyla böcek zararları veya enfeksiyonları azaltılmaktadır (Pual and ark, 2000; Dietrick and ark, 2005). Pek çok bitkide yaygın olarak üretilen sekonder metabolitler patojenlere ve böceklere karşı toksittir. Normal bir bitkinin gelişim sürecinde veya biyotik streslere bir cevap olarak üretilirler. Bitkilerde önceden üretilen antibiyotik bileşikler bitki sağlığının temelini oluşturan kimyasal bariyerlerden oluşmakta olup bitkiyi yaygın böcek ve patojen saldırılarına karşı korumaktadır. Bunun aksine uyarılmış bitki savunma bileşikleri biyotik stresin bir parçası olarak veya bitkideki sınırlı doku zararlarına bir cevap olarak sentezlenmektedir. Toleranslı ve dayanıklı her ikisinde de özellikle konukçu kaynaklı gerçek lokasyon gereklidir (Morrissey, J. P. and Osbourn, 1999). Bu nedenle de bitkide üretilen ve savunma da kullanılan kimyasallar çok önemlidir. Bir bitki patojen veya bir böcek tarafından yapılan ilk saldırıdaki zararı en aza indirmek için ilk olarak savunmada kullandığı bileşikleri sentezleme yolunu seçer. Bu strateji çok tehlikeli olabilir ama ilk saldırı çok hızlı veya çok şiddetli olduğu için etkili bir savunma cevabıdır. Bu yüzden bitkiler sıklıkla zarar görür veya bitkilerin ciddi zarar görmelerine rağmen daha iyi durumda olmasının temelinde savunma oluşturmaları yatabilir veya bitkiler nadir saldırılarda baskın olan uyarılmış savunmalarına güveniyor olabilirler (Koricheva, J., Nykänen, H., and Gianoli, E, 2004)

## 2.8. Bitkilerde Daha Önceden Oluşturulan Antifungal Fenolikler

Bitkilerde daha önceden üretilen fenolik ve polifenolik gibi antimikrobiyal bileşikler bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır. Bu antimikrobiyal bileşikler flementous fanuslara konukçu dışı dayanıklılıkta önemli bir role sahiptir. Terim olarak fitoantisipinler bitki bünyesinde daha önceden oluşan antimikrobiyal bileşikler olarak fitoaleksinlerden ayrılmaktadır. Bazı fenolik bileşikler bitki hücrelerine inaktif olarak bulunurlar. Ancak patojen saldırılarına karşı bir cevap olarak bitkideki hidroliz enzimleri (glikozidaz) tarafından biyolojik olarak aktif hale hızlıca dönüştürülmektedir. Ayrıca bu bileşiklerin bitkilerde var olduğunu bitkilerde halı hazır da bulunan enzimler tarafından transkripsiyon ürünlerine gerek kalmaksızın hızlıca aktif hale getirilmektedir. Bu durumlarda serbest fenolik bileşikler organizmaların saldırılarına karşı bağlı oldukları formdan aktif hale geçirilirler.. Antifungal bileşikler önceden oluşabilen bitkinin sağlıklı kısımlarına katılmakta ve onların seviyelerindeki artışın patojenlere karşı daha fazla direnç kazanmasına sebep olmaktadır. Bitkiler içerisindeki antifungal bileşikler özel dokulara dağılmakta olup pek çok lipofilik bileşik (flavon ve flavanol metil eter) bitkinin yüzey kısımlarına veya stoplazma içindeki epidermal hücrelere ev kofullara yerleşme eğilimi vardır. Bu bileşikler gerçekten de buldukları hücrelerde patojenlere karşı caydırıcı olmaktadır. Ancak antifungal bileşikler tek başlarına eşlenik olarak hücreler arası boşluklarda veya sağlıklı bitki organellerin de genellikle glikozitlerle birleşerek daha büyük hacimli bileşikler oluştururlar. Biyotroflar antimikrobiyal bileşiklerin serbest kalmasını önleyerek konukçudaki zararı en aza indirmektedir. Halbuki nektroflar bu bileşiklerin serbest kalmasına sebep olmaktadır. Fenolik bileşiklerin bitkilerde dayanıklılığı sağladığının ilk örneği soğan bitkisindeki kateşol ve protokateşuikin yeterli miktarda soğan bitkisinde birikmesiyle soğan leke hastalığı etmeni *Colletotrichum circinans*'ın bulaşmasının engellendiğini belirlenmiştir. Dayanıklı soğan çeşitlerinin dış renkli kısımlarındaki bu iki fenolik bileşiğin yeterince bulunması *Colletotrichum circinans* sporlarındaki çimlenme oranını %2'nin altına indirmekte iken hassas çeşitlerde bu bileşiklerin eksikliğinden dolayı çimlenme oranı %90 seviyesindedir. Yeterli miktarda klorjenik asitin bitkide bulunması patates yumrularındaki *Streptomyces scabies*, *Phytophthora infenstans* ve *Verticilium albaatruma*' dayanıklılığı sağladığı bulunmuştur. Klorjenik asit düşük konsantrasyonda iken *P. infenstans* ve *Fusariumsolani var. saeruleum* gelişimini teşvik etmektedir.

Benzoaldehidin küçük konsantrasyonları bile *Botrytis cinerea* ve *Monilia fructicola*'nın spor çimlenmesini tamamen durdurmaktadır. Özetle bitkilerde daha önceden oluşturulan bileşikler yalnız fenolikler değil ayrıca fenoller, fenolik asitler, flavonlar ve dihidro kalkonlardır ( Tablo 2.3). Ek olaraktan meyve ve sebzelerin depolanmasında sorun olan örneğin *Aspergillus Sp. B. cinerea* ve *F.oxysporium*'a karşı flavon ve flavonoidlerin pek çoğunun bu fungal patojenlere karşı aktif olduğunu göstermiştir. Bazı fungal aktiviteye sahip stilbenes ve bazı bileşiklerin üzümlerin depolanması sırasında bazı fungus ve potojenlerle enfekte olmuş üzümler üzerinde de test edilmiştir. Moleküller arasındaki hidrofobisite ve biyoaktivite arasında doğrusal bir ilişki bulunmuştur. Asma ağacında iki stilbensin (resveratrol ve 3,5 dimetoksi-4-hidroksistilben) aktivitesi üç farklı fungusu karşı incelenmiş resveratroidimetoksiye göre daha az etkili bulunmuştur. Stilben yapılarının bazı kısımlarında metilasyon yapılarak daha aktif bir hale getirileceğine inanılmaktadır. Benzer yapıları bazı fungusital özellikli flavonoidler ve izoflavonlar *Fusarium Sp. B. cinerea* ve *Aspergillus Sp.* ve diğer dopo zararlıları funguslara karşı denendiğinde de benzer sonuçlar alındığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle de lipofiliklik veya en az bir hidroksi gurubunun varlığı iyi bir antifungal etkinlik için temel yapısal bir özellik olarak kabul edilebilir. Toksik taninler, hidrolize olan taninler ve proantisiyonidinler *in vitro* ortamda yapılan testlerde yapılan ölçümlerinde bazı flementous funguslarının örneğin *B. cinerea*, *Aspergillus niger*, *Colletotrichum graminicola*, *Gloeophyllum trabeum*, *Trichoderma viride*, ve *Penicillium sp.* miselyum gelişimini azatmaktadır. Taninler oldukça güçlü antimikrobiyal bileşiklerdir. Ilıman bölgelerdeki ağaçlarda bulunan taninler ve ilgili fenolik bileşikler ağaç özünü fungal çürümelerden, selülözlerin hidroliz inhibisyonundan ve patojen saldırılarından bu bölgelerdeki ağaçları korumaktadır. Böylece de bu hastalıkların bitkideki hızlı gelişimleri engellenmektedir. Eksraselülözlerin fungal enzimlerle inhibisyonu mümkündür bu enzimler selüloz, pektinaz, lakkaz, ve ksilenaz gibi enzimler substratlardaki besin yoksunluğu (metal kompleksleşmesi ve proteinlerin çözünmemesi) ve fungusların hücre membranı üzerine saldırarak oksidatif fosforilasyonu inhibe etmesi sonucunda taninlerin toksitesini etkilemektedir. Sonuçta ligantlar, bir fenolik sınıfa dimerik fenilpropanoidlerin merkez karbon atomuna bağlanarak bitki-fungus etkileşimlerinde önemli bir rol oynamaktadır (Lattanzio ve ark, 2006)

Tablo 2. 3. Anti Fungal Fenolikler

Bileşiklerin adı	Fungusların adı
Benzaldehyde, Ethyl benzoate	<i>Botrytis</i> , <i>Monilinia fructicola cinerea</i> (Wilson, ve ark., 1989)
3,4-dihydrokxybenzealdehyde catechol, protocatechuic acid 2,5-dimetoxybenzoik acid	<i>Gloeosporium musarum</i> (Friend, J., 1979) <i>Colletotrichum cicinans</i> (Walker ve ark, 1955) <i>Botrytis cinerea</i> (lattanzio ve ark, 1996) <i>Rhizopus lata</i> (Mabry ve ark, 1970)
Salicylic acide Vanillic acide, 4-hidroxybenzoic acid Chlorogenic acid	<i>Eutypa lata</i> ( Lee ve ark, 1958) <i>Phytophthora infestans</i> (Valle, 1957) <i>Verticillium albo-atrum</i> (lattanzio ve ark, 2001) <i>Phlyctaena vagabunda</i> ( Carrasco ve ark, 1978)
Chlorogenic acid, Rutin P-cumaric acid, cyanidin 3-and7-hydroxyflavone	<i>Fusarium oxysporium</i> (Hulmer ve ark, 1960) <i>Gloeosporium perrenas</i> (Martini ve ark, 1997) <i>Penicillium glabrum</i> (Skadhauge ve ark, 1997) <i>Clodosporium herbarum</i> (Padmavati ve ark, 1997)
Dihydroquercitin Naringenin, Kaemferol, Naringin, Tangeritin, Phyloridzin, Phloretin, Flavon, Flavonen, Cirisiliol, Hispidulin, 7,4-Dihydroxiflavan,5,8-Dihidroxi-6,7-Dimetoxyflavan	<i>Fusarium spp.</i> (Weidenborne ve ark, 1990) <i>Pyricularia oryzae</i> (Weidenborne ve ark, 1990) <i>Penicillium digitatum</i> (Arcas ve ark, 2000) <i>Ventria inequalis</i> (Overeem, 1976) <i>Aspergillus sp.</i> (Weidenborne ve ark, 1990) <i>Cladosporium sphaerospermum</i> (Alcerito ve ark, 2002) <i>Botrytis cinerea</i> (Saini ve ark, 1984) <i>Halminthsporium oryzae</i>
Oleuropein Nobiletin Genistein Biochanin	<i>Phytophthora spp.</i> (Del rio ve ark, 2003) <i>Phoma tracheliphila</i> (Friend, J., 1979) <i>Monilinia fructicola</i> (Jhonson ve ark, 1976) <i>Cercospora bieticol</i> (Jhonson ve ark, 1976)
Hordatine A and B	<i>Helminthosporium sativum</i>

## 2.9. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Modern HPLC sistemleri istenilen akış hızında (0.1-5 mL/dakika) dört farklı çözücü sistemini izokratik, gradiyent ya da sabit şekilde pompalayabilen bir pompadan, maddeleri yüksek ayırma kapasitesine sahip kolondan ve ayrılan maddeleri tayin edebilecek bir detektörden oluşur. Detektörden çıkan maddeleri toplamaya yarayan fraksiyon toplayıcılar sayesinde ayrı ayrı toplamak da mümkündür. Uygun yazılımlarla HPLC cihazına entegre edilen bu toplayıcılar preparatif olarak maddelerin ayrılmasına olanak sağlar

HPLC sistemleri, genelde termal olarak kararlı olan ve GC ile analizi mümkün olmayan maddelerin analizlerinde kullanılmaktadır. Yüksek kaynama noktalı, birbirine yakın özelliklerdeki polar maddelerin ayrımı kolaylıkla HPLC sistemlerinde yapılabilmektedir. Uygun detektör seçimi ya da enjeksiyon öncesi türevlendirme işlemleri ile neredeyse bütün termal kararlı maddelerin ayrımı ve ayrılan her maddenin de hem kalitatif hem de kantitatif analizi yapılabilir.

HPLC sistemlerinde kullanılan, uzunlukları 100 mm ile 300 mm, çapı ise 4-6 mm arasında değişen tanecik büyüklüğü 5 µm boyutunda olan çelik kolonlar ticari olarak mevcuttur. En yaygın olarak ters faz (apolar dolgu maddeli) ve normal faz ( polar dolgu maddeli) kolonlar kullanılır. Hareketli faz olarak da ters faz kolonlar için genelde değişik mobil faz düzenleyicilerle birlikte (TCA, TFA, Asetik Asit, Sülfürik asit vb.) su ve asetonitril normal faz kolonlar için metanol, diklormetan vb. çözücüler kullanılır. Uygun program, kolon, dalga boyu ve çözücü sistemleri kullanılarak fenolik bileşiklerin kalitatif ve kantitatif analizleri kolaylıkla yapılabilir (Genç, 2009).

## 2.10. Literatür Özeti

Nizamlioğlu ve Nas (2010), fenolik bileşiklerin bitkilerde fazla miktarda bulunan sekonder metabolitler olduğunu ortaya koymuştur. Böcek, hayvan zararlılarına karşı ve mikrobiyik patojenlere karşı bitkiyi korurlar. Bitkilerde bulunan fenolik bileşikler fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılırlar. Yapısal olarak büyük farklılıklarından dolayı bitkilerde ve elde edilen bitkisel ürünlerde binlerce farklı fenolik bileşik bulunmaktadır. Fenolik bileşikler bitki kökenli pek çok gıdanın tat ve aromasına

katkıda bulunabilirler. Özellikle gıdalarda acılık ve burukluğun kaynağıdır. Flavonoidlerin geniş bir grubu gıdaların renginden de sorumludur. Flavonoidler arasında bulunan antosiyaninler doğal renk maddeleri olup sebzeler, meyveler, meyve suları ve şarapların pembe, kırmızı, mavi ve mor renklerinden sorumludurlar. Fenolik bileşikler doğal antioksidan madde özelliği de göstermektedirler. Serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonları durdurarak veya engelleyerek kanser, kalp hastalığı ve akciğer hastalıkları gibi pek çok hastalıkların oluşumuna engel oldukları bilinmektedir (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010).

Flavonoidler polifenolik sekonder metabolitlerin önemli bir ailesidir. Flavonoidler tüm bitki türlerinde yayılış göstermesine rağmen bazı flavonoidler yalnız birkaç bitki sınıfında bulunur. Flavonoidlerin bitki hastalıklarına karşı faydalı olduğu bilinmekte olup flavonoid bileşiklerinin ve uygun kısımlarının ilginç ürün gelişimi ile biyolojik bir etki oluşturulabilir.. Domates meyvesi içindeki flavonoidlerin belirlenmesi mümkün olduğundan bu yolla domates içinde var olan flavonoidlerin potansiyel sınıflarını belirlenebilir (Schijlen ark, 2006). Farklı bitki kaynaklarından flavonoid gen yapılarını kullanarak (izomerik karbon katlama sentezi, kalkon sentezi, kalkon indirgeyicisi, kalkon izomeraz ve flavon sentezi ) ile yeni fitokimyasallar sentezleyen transgenetik domates üretilmektedir. Bu domateslerdeki biyokimyasal analizler domates kabuğunda yüksek miktarda izomerik hidrokarbon (resveratrol ve piceid), deoksikalkonlar (butein ve isoliquiritigenin), flavonlar (luteolin-7-glikozit ve luteolin aglikon), ve flavonoler (kuarsitin glikozit ve kaemferol glikozit) içer. İlave olarak domates meyve kabuğundaki flavonlar, flavonoidler ve antioksidant kapasitesinin üç kat arttığını ortaya çıkarmışlardır. Bu sonuçlar bütün dünya için önemli olan domatesin mühendisler tarafından değişik kısımlarındaki flavonoidlerin, bitki ürünün sağlıkla ilgili bileşenlerinin belirlenmesin de genetikte pek çok anlayışın sağlanmasında ve bitkilerdeki flavonoid yollarının biyokimyasallarla düzenlenmesini mümkün olduğunu ortaya çıkarmıştır (Schijlen ve ark, 2006).

Wardale; klorjenik, kumarik, sinamik ve ferulik asit ve naringenin yeşil domates meyvelerinde bulunan, klorjenik asit yetiştirilmiş yeşil domates meyvelerinde toplam fenolik bileşiklerin %75 oluştururken olgunlaşmamış domates meyvelerinde toplam fenolik bileşiklerin %35 oluşturmaktadır. Domates meyvesinin yetiştirilmesi boyunca etli



kısımındaki fenolik bileşiklerde çok küçük değişmeler vardır, bunun aksine kabuğundaki naringenin miktarı ve diğer üç bileşimin hassas dönem boyunca miktarı artmaktadır. Naringenin konsantrasyonundaki artışa domatesin kabuğunda bulunan etilen maddesi de eşlik eder. Peroksidaz varlığında 4-metilmerkapt-2-burik asit den etilen üretimi 3 sistemde incelenmesi, gösterdi ki yalnızca p-kumarik asit veya naringenin değişmekte olup değer fenolik bileşikler sabit kalmaktadır (Dennis A. Wardale, 2001).

Tokuşoğlu ve arkadaşları; Türkiye’de domates (*Solanum Lycopersicum*) ve domates temelli üretilen ürünlerde üç tane flavon quersitin, kaemferol ve miyrisetin depo fazlı yüksek basınçlı sıvı Kromatografi (RPHPLC) ile UV dedektör kullanılarak belirlemiştir. Beş tip domatesin profili, birinci tipi ticari domates suyunun ve üç tip domates ezmesinin içeriği ekstraksiyon ve asit katalizinden sonra HPLC ile belirlemiştir. Gaz Kromatografi ve kütlü spektrofotometresi (GS-MS) ile flavon glikozitlerin varlığını belirlemiştir. Domates ve domates temelli ürünlerde öncelikli olarak kuarsetin, kaemferol ve az miktarda da miyrisetin içermektedir. Domatesin toplam flavonol aglikon içeriğinde farklılıklar olmakta doğal ağırlığı 3,1 den 10,0 mgkĝ<sup>-1</sup> kadar değişmektedir. Domates ve domates ezmesi toplam flavonlar bakımından zengin ve sırasıyla 19,8mgL<sup>-1</sup> ve 10,5-13,2 mgkĝ<sup>-1</sup> flavon içermektedir. Bu metotla domates ve domates ürünlerindeki flavonların kantitatif analizlerin tekrarlanması ve doğrulanması mümkündür.

Devanand ve arkadaşları; Ticari olarak kullanılan domatesin iki çeşidi [Oregon Spring (OS) and Red Sun (RS)] domateslerinin her birinin gelişimi için hazırlanan seralara da dayanıklılığı (4 yıl polietilen ) ve kalınlığı (0,52mm) ve benzer olmayan örtü malzemeleri kullanıldı. Birinci örtü materyali (Tyco Tufflite IV) güneşin UV radyasyonunu 290 dan 400 (tasarlanmış + UV) yaymak için tasarlanmış değer örtü materyali 380 nm (tasarlanmış-UV) altındaki dalga boyunu engellemektedir. Her iki örtü materyali de fotosentetik aktif radyasyonun miktarını 400 den 700 nm kadar dönüştürmektedir. Her birinde farklı örtü materyalinin bulunduğu seralardan iki farklı domates çeşidi olgunlaşma zamanında toplandı ve yetiştirilmiş domates meyvelerinin gelişme ve şekil bakımından karşılaştırıldı. Her bir domates çeşidine farklı UV muamelesinden sonra toplam fenolik (TP) içeriği Folin-Ciocalteu (FC) ile analizi kişisel fenolik içeriği için bir yüksek performanslı sıvı Kromatografi (HPLC)- (DAD) analizi

için uygun prosedürler kullanıldı. Fenolik asitler domateslerin temel ekstraksiyon hidrolizlerinde ferulik asit, para-kumarik asit ve kafeik asit olarak belirlendi. Her iki sera içinde yetişen her iki domates çeşidinde de (OS ve RS) kafeik asit en çok olandır. Bu üç fenolik asidin toplam konsantrasyonu en yüksek +UV de en düşük –UV den yaklaşık %20 daha fazla olduğu HPLC yoluyla ölçülmüş olup ve her iki çeşit içinde doğrulandı. Ürünlerin toplam fenoliklerinin kantifikesi de benzer bir eğilim gösterdiği bir FC metot ile domatesler analiz edildiğinde gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar gösterdi ki domates meyvesinin fenolik içeriği güneşin UV radyasyonun nitelikli dağılımından önemli ölçüde etkilenmektedir. Fenolik bileşikler antioksidan olarak insan beslenmesinde anahtar bir rol oynamaktadır, bu farklı kaplama malzemelerin UV iletim özelliklerinin bir sonucu olarak spesifik fenolik bileşiklerin üretilmesinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Devanand ve ark, 2006).

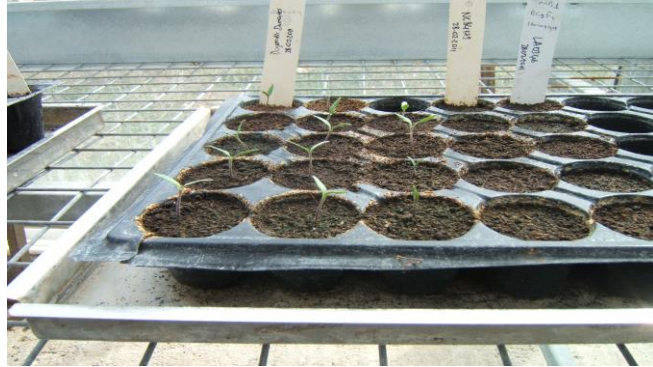
Ercan, 2002; domates meyvesinin önemli bir kısmı sudan oluşmaktadır. Geriye kalan kısmı ise karbonhidrat, organik asitler, amino asitler, vitaminler, pigmentler, fenolik bileşikler ve çeşitli mineral maddeler bulunmaktadır. Meyvenin gelişimi ve olgunlaşması sırasında bu bileşiklerde önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişmelerin belli başlıları nişasta parçalanması, glikoz ve früktozun parçalanması, klorofil parçalanması, karoten ve likopen gibi renk maddelerinin sentezlenmesi, aroma bileşiklerinin meydana gelmesi, sitrikasit/malik asit oranının artması  $\alpha$ -tomatin gibi toksik alkaloidlerin parçalanması, glutamik asidin artması şeklinde sıralanabilir. Meyvede büyüme ve olgunlaşmaya paralel olarak meydana gelen bu olaylar meyvenin renginin tat ve tekstüründe değişmelere neden olurlar (Ercan, 2002).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Bitkisel Materyal

##### 3.1.1. Bitkilerin yetiştirilmesi

Çalışmalarda kullanılan bitki materyali 2010 ve 2011 yıllarında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji serasında  $22\pm 5^{\circ}$  sıcaklıkta, 16 saat gündüz ve 8 s. gece sıcaklığında %50 nispi nem içeren koşullar altında yetiştirildi. Bitki materyali olan domates tohumları içinde steril torf bulunan viyollere ekildi. Ekilen domates tohumları çimleninceye kadar Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji serasında yukarıda belirtilen şartlarda bekletildi. Bitkiler çimlenip 2-3 gerçek yapraklı hale gelinceye kadar viyoller düzenli aralıklarla sulandı.



**Şekil 3. 1.** Domates tohumlarının viyollerde çimlenmesi

Daha sonra 2-3 gerçek yaprak oluşturan domates fideleri saksılara alındı. Bu saksılara alma işlemi sırasında steril torflar ve yedi numaralı saksılar kullanıldı. Saksılar düzenli olarak sulandı ve topraktan makro-mikro besin elementleri içeren gübrelerle takviye edildi.



**Şekil 3. 2.** Domates fidelerinin saksılara şaşırtılması3.1.2. Bakterilerin yetiştirilmesi

Domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığının etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in en virulent ırkı olan Cmm2 çalışmalarda kullanılmıştır. Bu hastalık izolatu Cmm2 laboratuvarımıza Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Hüseyin BASIM tarafından çalışmalarda kullanılmak üzere hediye edilmiş olup orijinal bakteriler kültüre alınarak çoğaltılmıştır.



**Şekil 3. 3.** Bakterilerin besi ortamına ekimi

### 3.1.3. Bakterilerin İnokülasyon İşlemi

Besi ortamında çoğaltılan bakteriler domates bitkisinin 5-6 yapraklı döneme geldiğinde steril bir kürdan yardımı ile alınarak domates bitkilerinin gövdelerine bakteri içeren kürdan iliştilirdi. Kontrol olarak domates bitkilerine steril distile suya daldırılmış kürdanlar kullanıldı.

### **3.1.4. Numunelerin Alınması**

İnokülasyondan hemen sonra ilk haftada hergün 14, 21 ve 28. günlerde numuneler alındı. Numuneler alt yapraklardan başlayarak yukarıdaki uç yapraklara doğru alındı. Alınan numuneler hemen buz üzerine yerleştirildi ve kullanılıncaya kadar -80 °C'deki derin dondurucuda bekletildi.

## **3.2. Analizlerin Yapılması**

### **3.2.1. Kullanılan Kimyasallar**

Çalışmada kullanılan standartlar p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit, rutin, tomatidine, askorbik asit (Vitamin C) kuersetin, naringenin, kaemferol ve klorjenik (Sigma Aldrich) asittir. Çözücü olarak Metanol (Merck,), Asetonitril,(Merck), Deiyonize su Milipore 550 cihazından elde edildi.

### **3.2.2. Cihazlar**

HPLC: Perkin Elmer Series200 pompa Series200 UV-Vis detektör

UV Spektrofotometre: Jasco V-530

### **3.2.3. Ekstraksiyon İşlemi**

Derin dondurucudan çıkartılan numunelerden 200 mg tartıldı. Tartılan numuneler havana konuldu ve üzerine 1,5 ml metanol (Merck) ilave edildi 10 dakika karıştırılarak ekstraksiyon yapıldı. Ekstraksiyon yapılan numuneler, enjektör tipi 22 µm naylon membran filtreden (Chrom tech) ve C18 kartuştan süzüldü.

### 3.3. HPLC ANALİZLERİ

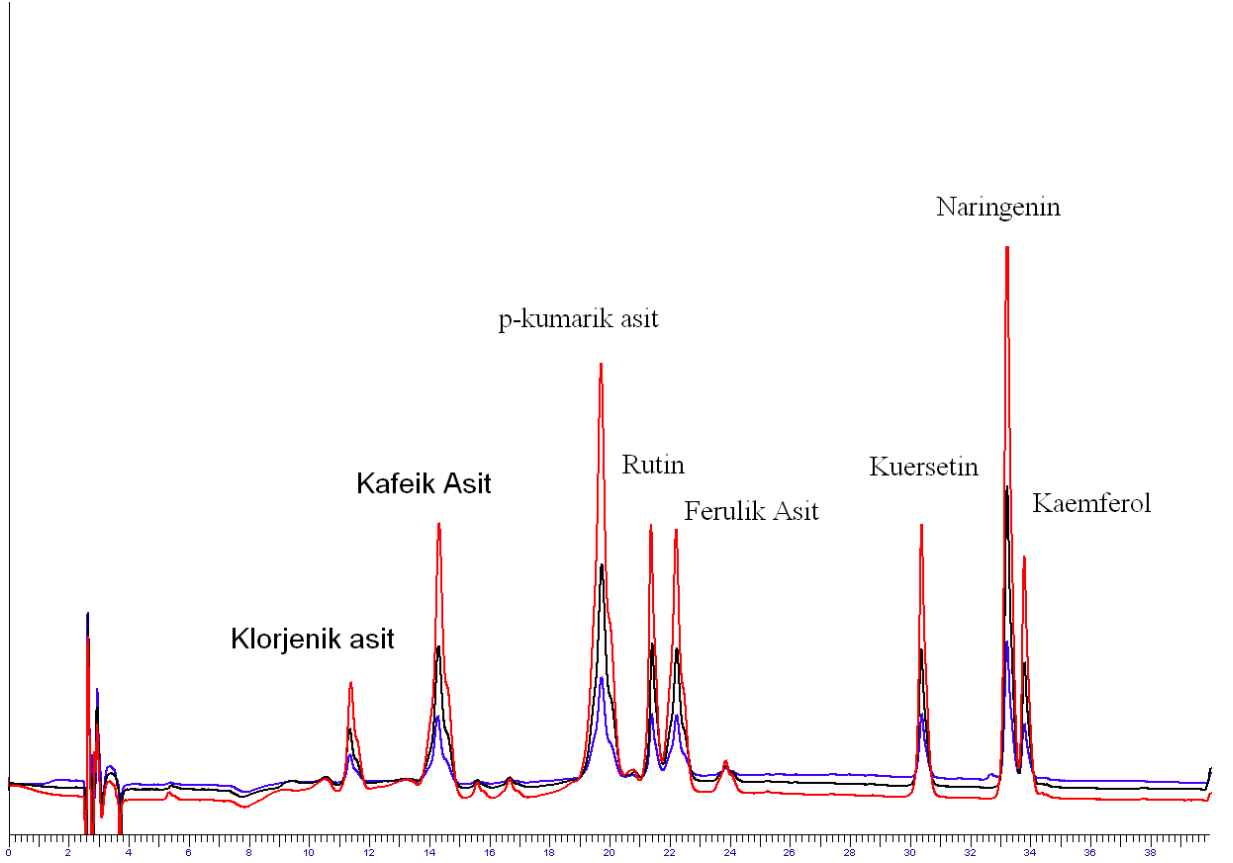
#### 3.3.1. Fenolik Bileşiklerin (p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit, rutin, kuersetin, naringenin, kaemferol ve klorjenik asit) HPLC ile Kantitatif Tayini

Kantitatif analiz Perkin Elmer Serisi 200 pompa ve Series 200 UV detektör'e sahip High Performans Liquid Chromotography (HPLC) sistemi ile yapıldı. Hareketli faz olarak asetonitril (Çözücü A) (Merck, HPLC grade) ve deiyonize su (Çözücü B) kullanıldı. Ayrım için phenomenex C18 ( 4.6 x 150 mm, 0.5 µm partikül büyüklüğü) kolon kullanıldı. Çalışma 280 nm'de (Berenguer ve ark., 2002) yapıldı. Hareketli faz programı 8 aşamadan oluşmakta olup aşamalar Tablo 3.1'de verilmiştir.

**Tablo 3. 1.** HPLC pompa programı

Aşamalar	Akış hızı (mL/dak)	Zaman (dakika)	Çözücü (Deiyonize Su)	A	Çözücü B Asetonitril	Eğim
Adım 1	1.00	2	95.0		5.0	0
Adım 2	1.00	3	95.0		5.0	0
Adım 3	1.00	5	90.0		10.0	1
Adım 4	1.00	5	85.0		15.0	1
Adım 5	1.00	2	85.0		15.0	1
Adım 6	1.00	7	75.0		25	0
Adım 7	1.00	6	50.0		50.0	
Adım 8	1.00	3	0.0		100.0	

Standart olarak p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit, rutin, kuersetin, naringenin, kaemferol ve klorjenik asit Sigmadan satın alındı. Her standart maddenin stok çözeltisi 1000 ppm'lik stok çözeltisi metanolla (Merck) hazırlandı. Bu stok çözeltiden 20, 10, 5 ppm'lik derişimlerden 20 µL hacimli enjektörle cihaza verildi. Elde edilen kromatogramlar Şekil 3.4'te verilmiştir.



**Şekil 3. 4.** Standart numunelerin 5, 10 ve 20 ppm'lik derişimlerin HPLC kromatogramları

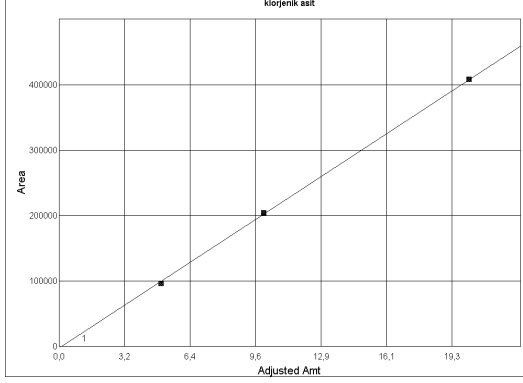
Standartların geliş zamanları, isimleri ve kalibrasyon grafiklerinden elde edilen  $R^2$  değerleri Tablo 3.2'de verilmiştir.

**Tablo 3. 2.** Standartların HPLC analiz özeti

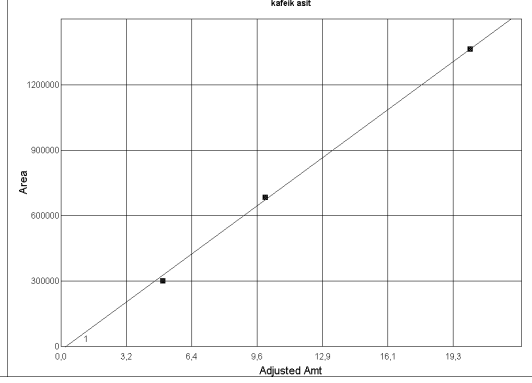
Pik No	RT (Dakika)	Fenolik	$R^2$ değeri
1	11,35	Klorjenik Asit	0,999787
2	14,31	Kafeik Asit	0,998973
3	19,74	<i>p</i> -kumarik Asit	0,998889
4	21,42	Rutin	0,999106
5	22,23	Ferulik Asit	0,998948
6	30,37	Kuersetin	0,999150

7	33,23	Naringenin	0,998657
8	33,80	kaemferol	0,998309

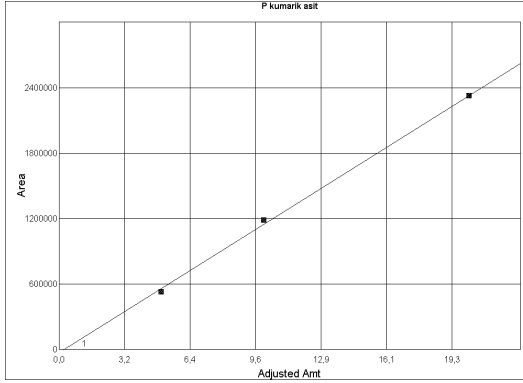
Bu derişimlere cihazın verdiği cevaplar Total Chrom v.1.2 yazılımı ile işlenerek kalibrasyon eğrileri hazırlandı. Kalibrasyon eğrileri Şekil 3.5’de verilmiştir.



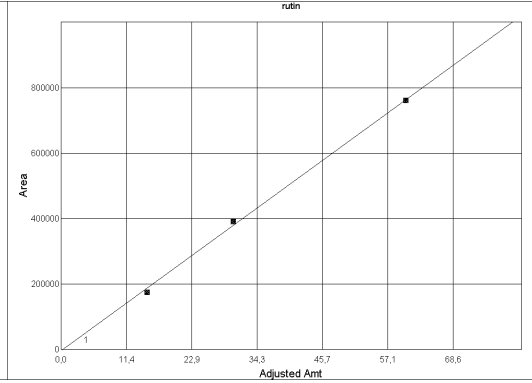
$$R^2=0,999787$$



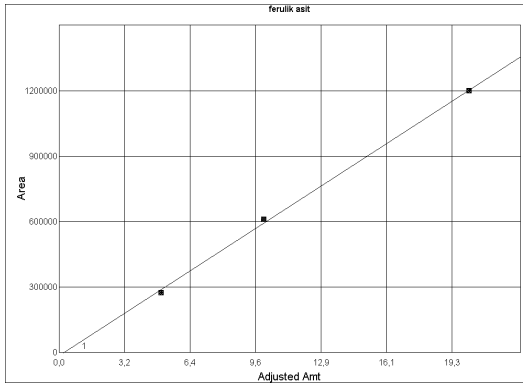
$$R^2=0,998973$$



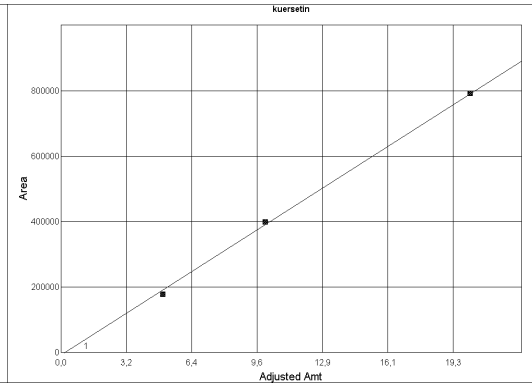
$$R^2=0,998889$$



$$R^2=0,999106$$

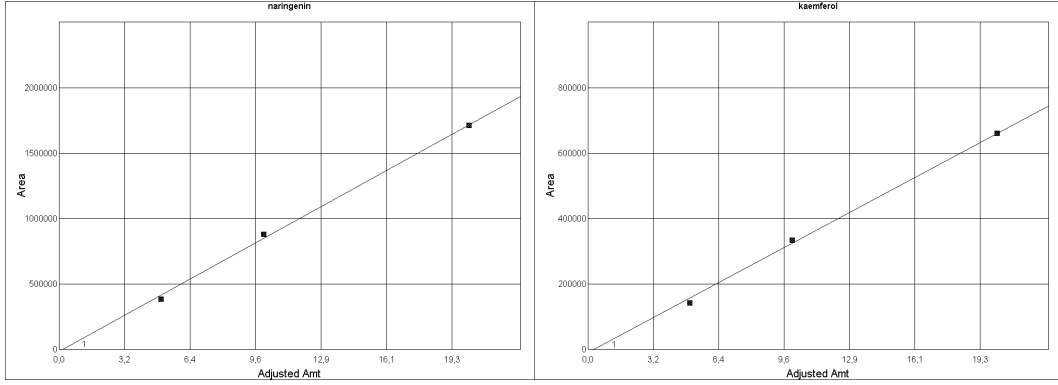


$$R^2=0,998948$$



$$R^2=0,999150$$





$$R^2=0,998657$$

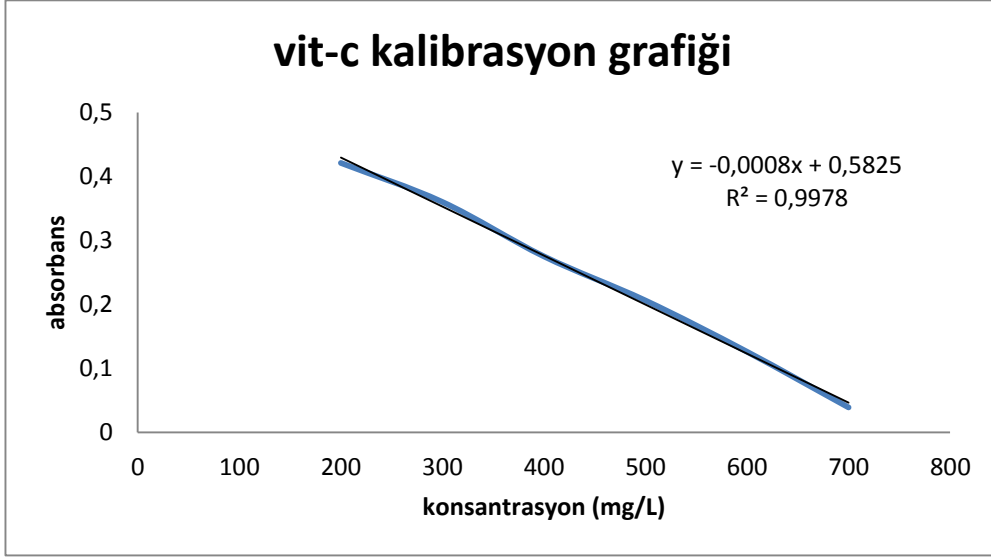
$$R^2=0,998309$$

**Şekil 3. 5.** Fenolik bileşiklerin kalibrasyon grafikleri

Bu fenolik bileşiklerin en iyi çözüldüğü çözücü sistemi metanol olduğu bilindiğinden domates numunelerinden 200 mg tartılarak 1,5 ml metanolle ekstrakte edildi. Ekstrakte edilen numune süzme işlemlerinden sonra direk olarak 20 µL alınarak cihaza verildi. Her ekstraksiyon için 1,5 ml metanol her bir ektrat için kantitatif olarak analiz edildi.

### 3.4. C Vitamini (Askorbik Asit ) Analizi

Ekstrakte edilen ve süzme işleminden geçirilen her bir numuneden 100 µl alındı daha sonra üzerine 400 µl oksalik asit (Merck) çözeltisi (%0,4) ilave edildi. Daha sonra bu karışımın üzerine 4,5 ml boya (2,6-diklorfenol-indolfenol 25mg/ml) çözeltisi ile tamamlandı. Bu işlemin ardından 520 nm de UV spektrofotometri ( Jasco V-530) cihazında absorbans okuma işlemi yapıldı ve kalibrasyon grafiği çizilerek hesaplama işlemi gerçekleştirildi.

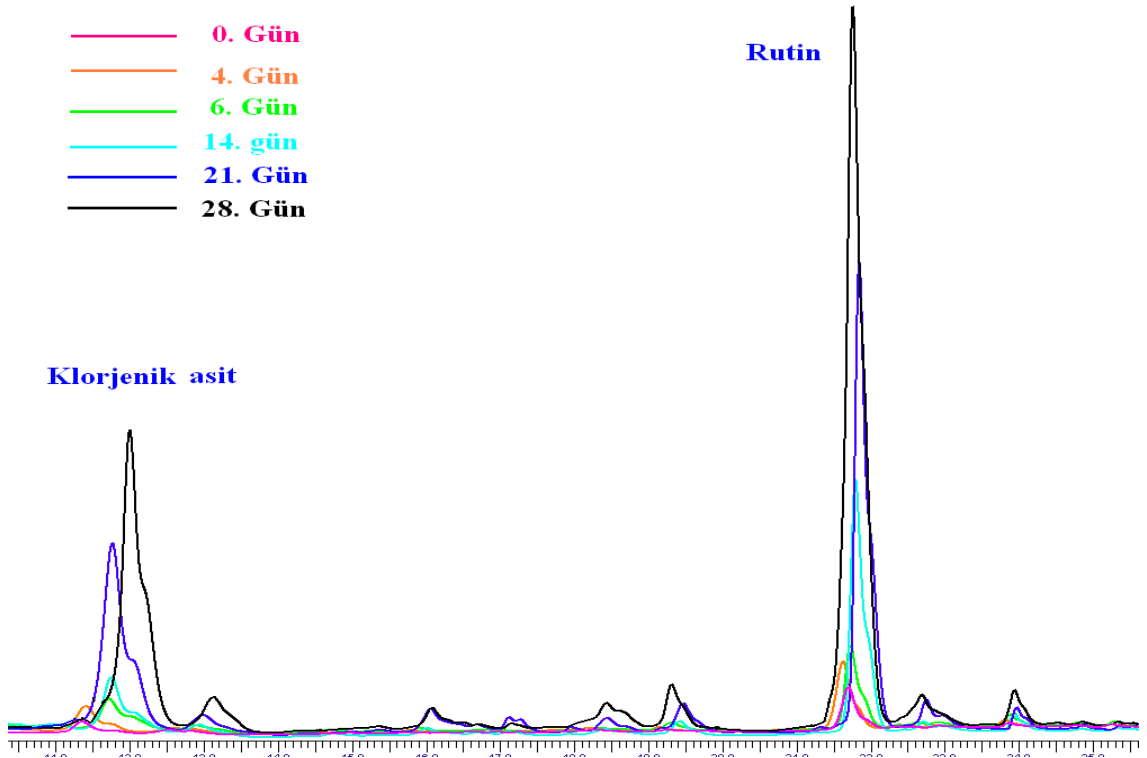


**Şekil 3. 6.** C vitamini analizi kalibrasyon grafiği

## 4. BULGULAR

### 4.1. Klorjenik asit ve rutin hidrat analiz bulguları

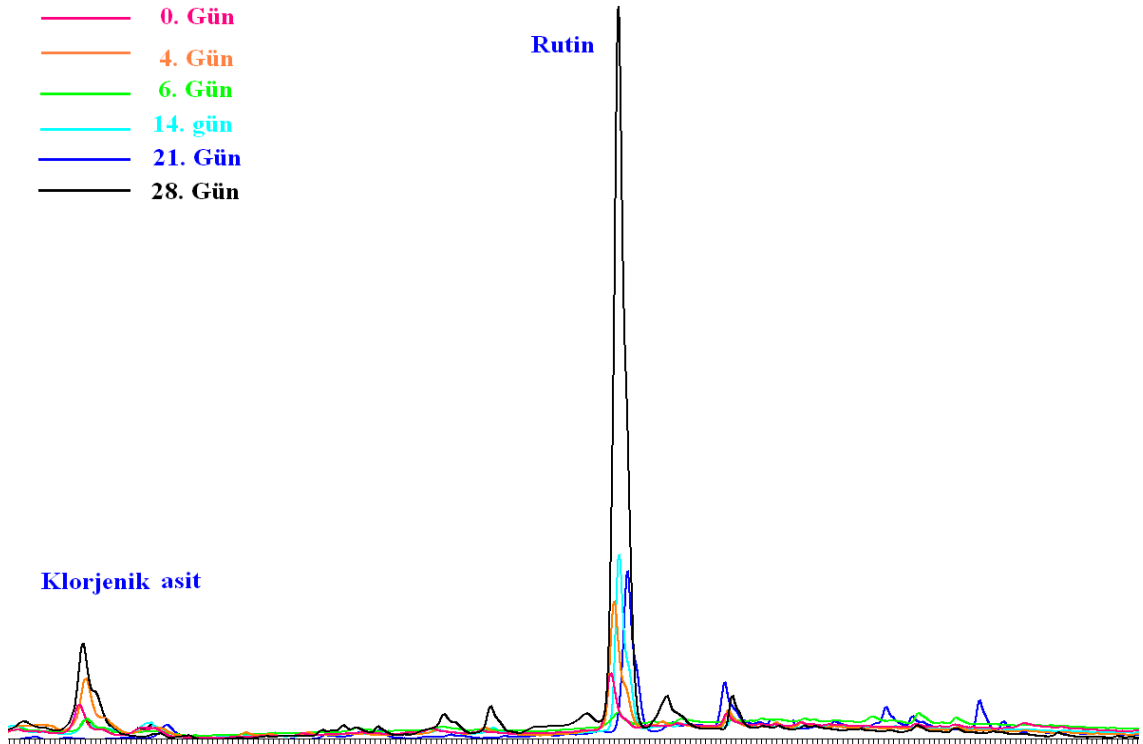
Yapılan HPLC analizleri sonucunda elde edilen veriler ve HPLC den alınan raporlardan hesaplan fenolik bileşik miktarları mg/kg yaprak olacak şekilde hesaplanmış olup sonuçlar şekilsel (Şekil 4.1) ve Tablo (4.1) olarak verilmiştir.



Şekil 4.1 İnoküle edilmiş hassas NCEBR3 domates bitkisinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromotogramları.

Tablo 4. 1. İnoküle edilen hassas NCEBR3 bitkilerinde inokulasyondan sonra fenolik maddelerin miktarlarındaki değişimler(mg/kg)

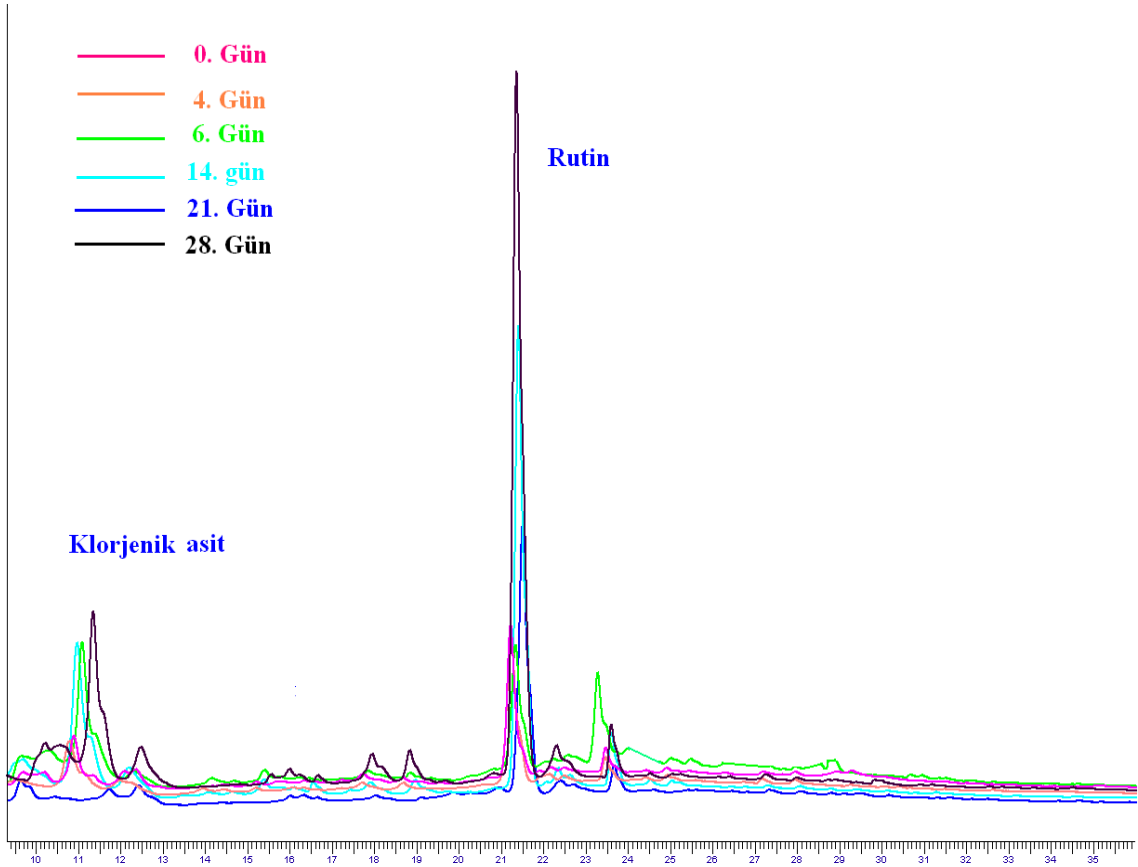
Standartlar	Günler (EBR3 inoküle)					
	0	4	6	14	21	28
Klorjenik Asit	31,600	53,657	62,456	76,465	120,345	136,824
Kafeik Asit	-	1,764	-	-	-	-
p-kumarik asit	-	2,314	-	2,147	1,578	1,772
Rutin	109,847	262,508	311,420	320,348	316,235	1518,976
Ferulik Asit	1,750	1,718	1,772	1,912	3,537	23,052
Kuersetin	-	-	-	-	1,454	2,313
Naringenin	-	1,098	7,022	-	-	1,236
Kaemferol	-	53,657	-	-	-	-



Şekil 4. 2 İnoküle edilmiş M3 ümitvar domates mutant bitkisinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromatogramları.

Tablo 4. 2. İnoküle edilen M3 ümitvar domates bitkilerinde inokulasyondan sonra fenolik maddelerin miktarlarındaki değişimler(mg/kg)

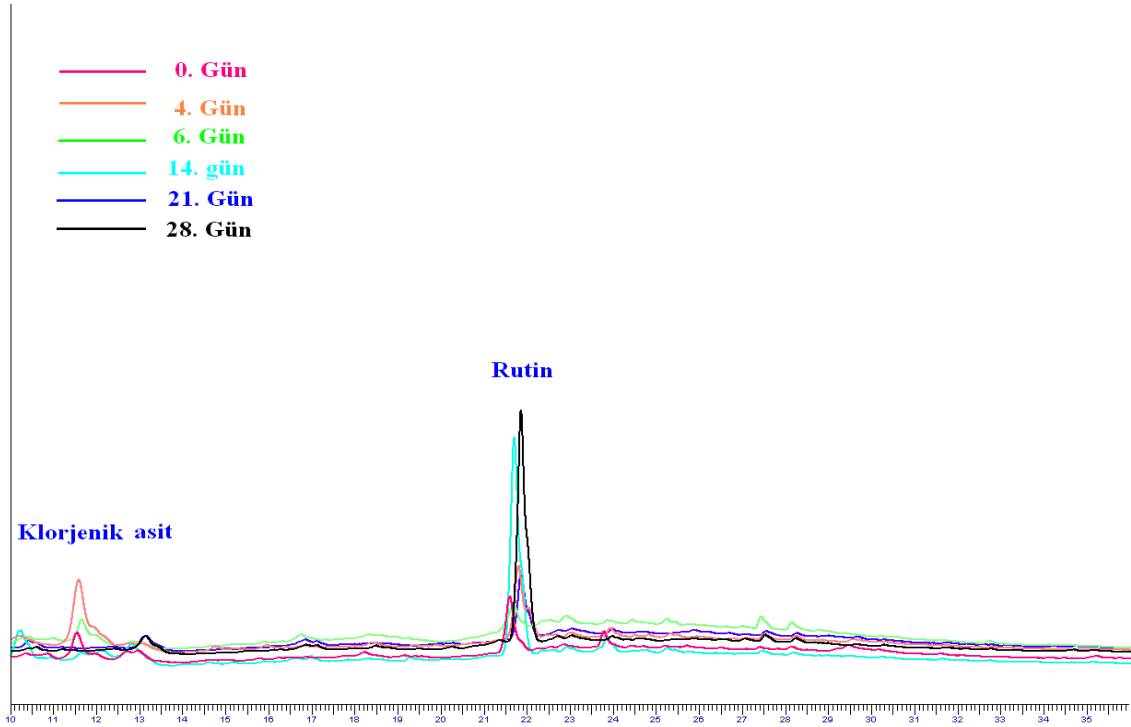
Standartlar	Günler (M3 inoküle)					
	0	4	6	14	21	28
Klorjenik Asit	20,931	45,945	44,177	81,649	564,229	851,479
Kafeik Asit	-	-	1,965	-	-	-
p-kumarik asit	1,950	2,292	4,095	6,498	13,977	-
Rutin	141,710	235,710	264,620	775,598	1371,010	20688,970
Ferulik Asit	1,719	3,105	2,122	1,943	1,750	37,137
Kuersetin	1,725	-	-	2,196	2,016	2,319
Naringenin	-	-	-	-	-	1,486
Kaemferol	-	-	-	-	-	-



Şekil 4. 3 Distile steril su ile inoküle edilmiş kontrol M3 ümitvar domates mutant bitkisinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromatogramları.

Tablo 4. 3. Distile steril su ile inoküle edilmiş kontrol M3 bitkilerinde inokulasyondan sonra fenolik maddelerin miktarlarındaki değişimler(mg/kg).

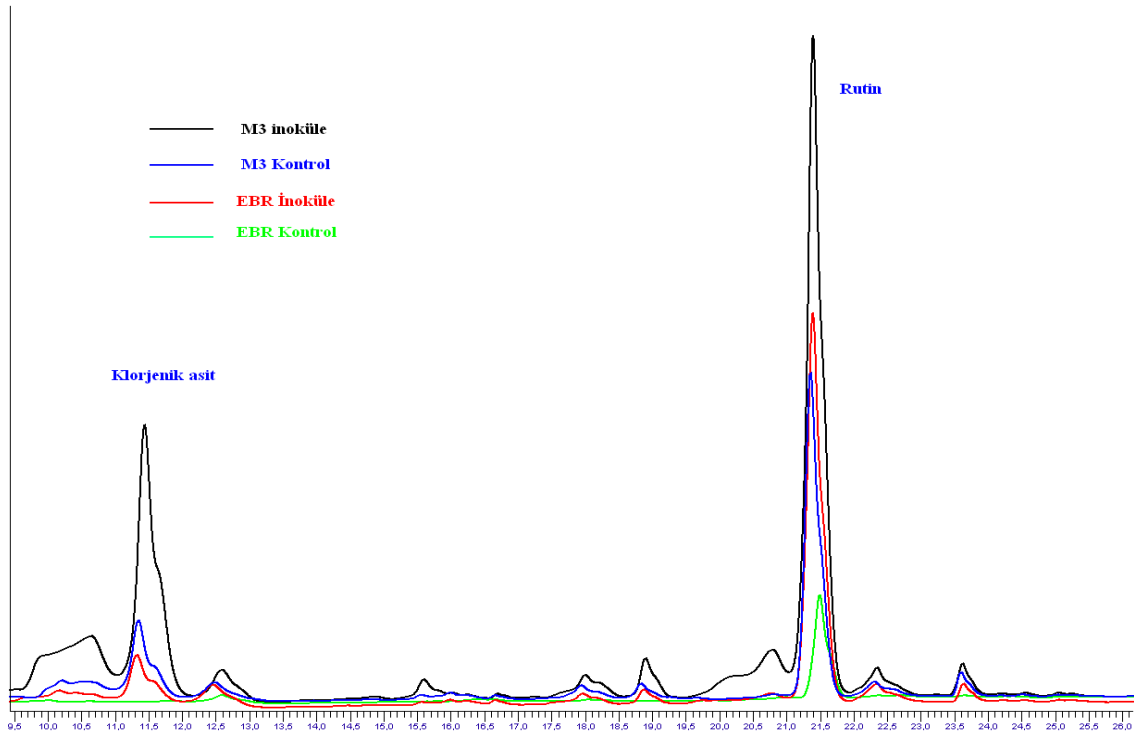
Standartlar	Günler (M3-Kontrol)					
	0	4	6	14	21	28
Klorjenik Asit	37,472	33,844	90,514	109,270	190,235	265,707
Kafeik Asit	-	1,418	1,979	-	-	
p-kumarik asit	-	-	2,119	2,782	1,727	
Rutin	218,803	228,583	221,064	451,832	745,129	1206,202
Ferulik Asit	1,668	4,126	2,751	2,019	4,119	7,527
Kuersetin	-	1,277	1,633	1,530	1,502	1,880
Naringenin	-	-	-	-	-	
Kaemferol	-	-	-	-	-	1,863



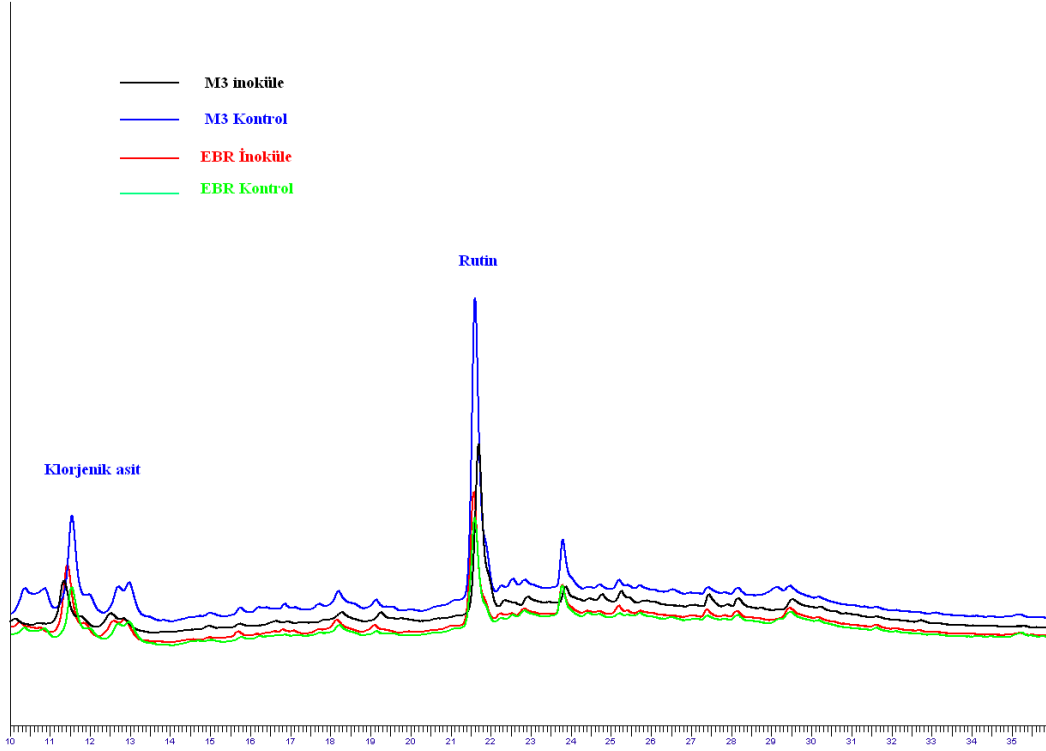
Şekil 4. 4 Distile steril su ile inoküle edilmiş kontrol NCEBR3 domates bitkilerinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromatogramları

Tablo 4. 4. Distile steril su ile inoküle edilmiş kontrol NCEBR3 domates bitkilerinde inokulasyondan sonra fenolik maddelerin miktarlarındaki değişimler(mg/kg).

Standartlar	Günler (EBR inokülesiz)					
	0	4	6	14	21	28
Klorjenik Asit	1	58,545	15,547	1,131	-	
Kafeik Asit	23,625	-	-		-	
p-kumarik asit	-	-	-	1,783	-	
Rutin	30,255	46,912	107,612	106,330	362,778	363,852
Ferulik Asit	9,135	8,594	1,686	1,875	1,689	1,705
Kuersetin	1,847	-	-	-	-	
Naringenin	-	-	1,123	-	-	1,094
Kaemferol	-	-	-	-	-	
	-	-				



Şekil 4. 5. Bakteriye Cmm2 ve distile steril su (kontrol) ile inoküle edilmiş dayanıklı (M3) ve hassas (NCEBR3) domates bitkilerinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromatogramlarının inokulasyondan 28 gün sonra karşılaştırılması



Şekil 4. 6. Bakteriye Cmm2 ve distile steril su (kontrol) ile inoküle edilmiş dayanıklı (M3) ve hassas (NCEBR3) domates bitkilerinde rutin hidrat ve klorjenik asit değişim kromotogramlarının inokulasyondan hemen sonra (0. gün) karşılaştırılması.

#### 4.2. C Vitamini Sonuçları

C vitamini analizi yapılan dayanıklı (M3) ve hassas (EBR3) domates bitkisi yapraklarında C vitamini bakımından herhangi bir değişimin olmadığı bulunmuştur. Tablo 4.1’de verilen hesaplamalar bu sonuçları tasdik etmektedir.

Tablo 4. 5. Domateste C vitamini değişimi (mg/Kg)

Gün	M3-İnokuleli	M3- Kontrol	EBR-İnokuleli	EBR-Kontrol
28	343,359	523,828	521,475	413,671
21	500,39	434,765	486,328	509,875
14	509,875	451,171	498,046	505,078
6	523,046	451,171	383,203	455,859
5	561,328	535,546	547,266	547,266
4	537,89	594,14	601,171	495,703
3	551,953	522,425	612,145	619,921
2	617,578	575,39	589,453	594,14
1	641,015	542,601	561,328	535,64
0	542,601	566,015	573,515	566,015



Bu hesaplamalara göre C vitaminin dayanıklılığın artması veya azalması ile ilgili bir fonksiyonunun olmadığı ortaya konmaktadır. Analiz sonuçları hem ümitvar dayanıklı(M3) hem deve hem de hassas (NCEBR3) domates bitkilerinde aynı oranda C vitamininde değişim olduğunu aralarında istatistiki olarak C vitamini bakımından fark olmadığı görülmektedir.

## 5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bugüne kadar C vitamini analizleri doğal olarak insanların tükettiği meyve ve sebze ürünleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Nitekim domates meyveleri üzerinde C vitamini analizleri yapılmış ama herhangi bir şekilde bitkilerin yaprakları üzerinde C vitamini analizleri yapılmamıştır. Bu çalışma ile hassas NCEBR3 ve ümitvar dayanıklı M3 mutant domates bitkilerinden alınan yapraklar üzerinde C vitamini analizleri UV spektrofotometre ile ölçümlenmiştir. Hassas NCEBR3 ve ümitvar dayanıklı M3 mutant domates bitkileri arasında C vitamini bakımından herhangi bir fark istatistiki olarak bulunmamıştır (Tablo 5.1).

M3 mutan domates bitkilerine kendi içinde ki fenolik madde bakımından günlere göre değişimine bakıldığında m3 mutantların da günlere göre fenolik madde bakımından bir artış görülmektedir. Bu fenolik madde artışı inokülasyondan hemen son sonraki bir hafta her gün ve 14, 21 ve 28 günlere bakıldığında kendi içinde bakteri ile inoküle edilmiş m3 ve m3 mutant kontrollere kendi içinde fenolik madde değişimine baktığımızda inoküle edilmiş m3 mutantlarda kontrole göre daha fazla fenolik bileşik ürettiği görülmektedir. Bunun nedeni çeşitli nedenlerden (bakteri stres) olacağı gibi bitki düzenleyeci olan fenolik maddelerin dayanıklılıktan dolayı fazla miktarda üretilmesi de neden olmuş olabilir. Nitekim NCEBR hassas bitkilerindeki fenolik madde değişimlerine baktığımızda inoküle edilmiş hassas NCEBR bitkileri inoküle m3 mutant bitkilerine göre daha az fenolik bileşik ürettiği gözlemlenmiştir.

NCEBR hassas bitkilerine kendi aralarındaki fenolik madde miktarlarının değişimine baktığımızda da bakteri ile inoküle edilmiş hassas domates bitkilerinde fenolik madde bakımından steril su ile inoküle edilmiş kontrollere göre daha fazla miktarda fenolik madde ürettiği görülmektedir. Fakat bunun nedeni bakteriden dolayı domates bitkilerinin stresse girmesi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca günlere göre fenolik madde değişimlerine baktığımızda fenolik madde miktarının her iki grupta da artarak değişmekte olduğunu görmekteyiz.

M3 mutant ve NCEBR hassas domates bitkilerinin kendi aralarındaki fenolik madde değişimlerine baktığımızda fenolik madde miktarlarının ikisinde de günlere göre arttığını görmekteyiz. Fakat fenolik madde bakımın değişimlerine baktığımızda m3 mutant

bitkilerindeki bazı fenolik maddelerde NCEBR hassas bitkilere göre çok fazla olduğunu belirledik. Bu çok fazla artan iki fenolik madde rutin ve kuersetindir

Bakteriyel kanser ve solgunluk hastalık etmeni ile inokule edilen hassas NCEBR3 ve ümitvar dayanıklı M3 mutant bitkileri arasında klorjenik asit ve rutin hidrat kimyasal oluşumları HPLC de analiz edildiğinde hassas ve ümitvar dayanıklı mutant bitkilerinin oluşturdukları bu kimyasal maddeler arasında istatistiki olarak büyük farklar ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar aynı bitkilerin distile steril su ile inokule edilmiş kontrolleriyle karşılaştırıldığında klorjenik asit ve rutin hidratın bitkinin strese girmesiyle birlikte miktarlarının yükseldiği kanıtlamaktadır (Şekil 5.5).

Ümitvar dayanıklı olarak bulunan M3 domates bitkilerinde dayanıklılığı kontrol eden gen(ler)in kontrolü altında olan klorjenik asit ve rutin hidrat inokulasyondan hemen sonra oluşmaya başlamaktadır (Şekil 5.5). Çalışmanın sona erdiği 28 gün sonra klorjenik asit ve rutin hidrat miktarları kontrol ve inokule edilmiş hassas NCEBR3 bitkileri ile karşılaştırıldığında (Şekil 5.1 ) ümitvar dayanıklı bitkilerde her iki fenolik madde miktarının dayanıklılık geni olmayan bitkilere göre kat kat fazla olduğu görülmektedir (Tablo 5.2).

Çalışmada kullanılan diğer fenolik maddeler olan p-kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit, kuersetin, naringenin ve kaemferol fenolik bileşikleri HPLC sisteminde farklı miktarlarda inoküle edilmiş hassas ve ümitvar domates bitkilerinde oluştuğu belirlenmiştir. (Tablo 5.3 ). Fakat bu kimyasal fenolik maddelerin miktarları ile dayanıklılık arasında birebir ilişki kurulamamıştır. Özellikle ferrulik asit tüm çalışmanın yapıldığı zaman dilimlerinde HPLC sisteminde ölçümlenmiş fakat miktar olarak hassas NCEBR3 ile ümitvar M3 mutant bitkileri arasındaki farklılık ortaya konamamıştır

## KAYNAKLAR

- Agarwalk, V.K. and J.B. Sinclair, 1997. Principles of Seed Pathology. 2nd Ed. CRS Press Inc. Boca Raton, Florida. 539 p.
- Anonim, 2011. <http://www.baktabul.net/ziraat-bilimi/66241-domates-nedir-domates-yetistiriciligi-domates-ziraati-domatescilik.html> (22.05.2011)
- Davies, J.N. and Hobson. G.E., 1981. The constituents of tomato fruit, the influence of environment nutrition and genotype. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 15 205-280.
- Dennis A, Wardale ., 2001. Effect of phenolic compounds in *Lycopersicon esculentum* on the synthesis of ethylene Agricultural Research Council Food Research Institute, Colney Lane, Norwich NOR 70F U.K.Revised 22 January 1973; accepted 1 February 1973.
- Devanand L. L., Sudarsan M. And Donald T.K., 2006. Content of total phenolics and phenolic acids intomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. Journal of Food Composition and Analysis 19 (2006) 771–777
- Dietrich, R., Ploss, K., and Heil, M. 2005, Pl. Cell Environ. 28, 211
- Erkan, S., 1998. Tohum Patolojisi. Gözdem Ofis. 275 S.
- FAO (2009) [www.fao.org](http://www.fao.org)
- Genç,N.,2009.Taflan Çekirdeğinde(*Laurocerasus Offisinalis Roem*) Fonksiyonel Bileşiklerin Analizi Ve Antioksidan Kapasitelerinin Araştırılması.(Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Kimya Bölümü, Tokat
- Grierson, D Ve Kader, A.A., 1986. Fruit Ripening And Quality. In The Tomato Crop. Atherton, J.G. And Rudich, J.Ed Chapman And Hall, New York 241-280.
- Hobson, G.E. and Davies, J.N., 1971. The Tomato, In the biochemistry of fruits and their products. Vol 2. Hulmet, A.C. Ed., Academic Press, London, 437-482.
- Ercan, N., 2002. Domates Meyvesinin Büyüme Ve Olgunlaşması Sırasında Bileşiminde Meydana Gelen Değişmeler. Narenciye ve Seracılık Enstitüsü Derim-2002-Cilt 19 Sayı 1.
- Kazan, K., ve Gürel, E. 2001. Hastalıklara dayanıklılığın artırılması. Özcan, Gürel ve Babaoğlu (eds.) Bitki Biyoteknolojisi Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Basım evi pp.261-287.
- Keskin, G. ve Gül U., 2004 Domates : Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü Bakış Dergisi Say:5
- Koç, E ve Üstün, A.S., 2008. Patojenlere Karşı Bitkilerde Savunma ve Antioksidanlar.Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 24 (1-2) 82 – 10
- Koricheva, J., Nykänen, H., and Gianoli, E. 2004, Am. Nat. 163 (4), E64
- Lattanzio,V., Lattanzio, M.T.V., and Cardinali, A, 2006 Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects, Editor: Filippo Imperato, 37/661 (2), Fort P.O., Trivandrum-695 023, Kerala, India
- Morrissey, J. P. and Osbourn, A. E. 1999, Microbiol. Mol. Biol. Rev. 63 (3), 708.
- Nizamlioğlu, N.M. ve Nas, S., 2010. Meyvelerde bulunan fenolik bilşikler; Yapıları ve Önemleri. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi Cilt:5, No: 1, 2010(20-35).
- Paul, N.D., Hatcher, P.E., and Taylor, J.E. 2000, Trends Plant Sci. 5 (5), 220.
- Petro-Turza, M., 1987. Flavor of tomato and tomato products. Food Rev. Int.2 (3):309-351.

- Primrose, S.B. 1991. Molecular Biotechnology. Blackwell Scientific Publications. Oxford. p:196
- , Wittwer S. H and Teubner F. G., 1957 the effects of temperature and nitrogen nutrition on flower formation in the tomato. American Journal of Botany Vol. 44, no.2 (Feb.,1957), pp. 125-129
- Schijlen E, Ric de Vos CH, Jonker H, van den Broeck H, Molthoff J, van Tunen A, Martens S and Bovy A., 2006. Pathway engineering for healthy phytochemicals leading to the production of novel flavonoids in tomato fruit. Plant Biotechnol J. 2006 Jul;4(4):433-44.
- Smith E.F. and Jensen, H.L., 1982. Data sheets on Quarantine Organisms *Cornybacterium michiganense*. Eppo Bulletin 12(1):1982.
- Stevens M.A. and Rick, C.M., 1986. Genetics and Breeding. In Tomato Crop. Atherton. J.G. And Rudich, J. Ed., Chapman and Hall, New York, 35-110
- Tokuşoğlu, Ö., Ünal, M.K. ve Yıldırım, Z., 2003. HPLC-UV and GC-MS characterization of the flavonoid aglycons quercetin, kaempferol and myricetin in the tomato pastes and other tomato based products. Acta chromatographica, no. 13, 2003.
- Wilson, C.L., Wisniewski, M.E., 1989. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables. An emerging technology. Ann. Rev. Phytopathol. 27, 42
- Friend, J., 1979, Recent Advances in Phytochemistry, Biochemistry of Plant Phenolics, Swain, T., Harborne, J.B., Van Sumere, C.F. (Eds), Plenum Press, New York, 557.
- Walker, J.C. and Stahmann, M.A., 1955. Chemical nature of disease resistance in the plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 6: 351
- Lattanzio, V., Di Venere, D., Linsalata, V., Lima, G., Ippolito, A., and Salerno, M., 1996, Postharvest Biol. Technol. 9 (3), 325.
- Mabry, T.J., Markham, K.R., and Thomas, M.B. 1970., The Systematic Identification of Flavonoids, Springer Verlag, New York.
- Lee, S. and D. LeTourneau., 1958. Chlorogenic acid content and Verticillium wilt resistance of potatoes. Phytopathology 48:268-274.
- Valle, E. 1957. On anti-fungal factors in potato leaves. Acta Chem. Scand. 11:395-396.
- Lattanzio, V., Di Venere, D., Linsalata, V., Bertolini, A., Ippolito, A. and M. Salerno. (2001) Low temperature metabolism of apple phenolics and quiescence of *Phytophthora vagabunda*. J. Agric. Food Chem. 49, 5817
- Hulme, A.C. and Edney, K.L., 1960. Phenolics in Plant and Disease, Pridham, J.B. (Ed.), Pergamon Press London, 8
- Carrasco, A. M. Boudet and Marigo, G., 1978. Enhanced resistance of tomato plants to *Fusarium* by controlled stimulation of their natural phenolic production. Physiol. Plant Pathol. 12-225
- Martini, H., Weidenborner, M., Adams, S., and Kunz, B. 1997, Mycol. Res. 101(8), 920.
- Skadhauge B. K.K. Thomsen and D. von Wettstein., 1997. The role of the barley testa layer and its flavonoid content in resistance to *Fusarium* infections. Hereditas 126, 147
- Padmavati, M., Sakyhivel, N., Thara, K.V., and Reddy, A.R. 1997, Phytochemistry 46 (3), 499.

- Arcas, M.C., Botía, J.M., Ortuño, A.M. and Del Rio, J.A., 2000. UV irradiation alters the levels of flavonoids involved in the defense mechanism of *Citrus aurantium* fruits against *Penicillium digitatum*. *European Journal Plant Pathology*. 106: 617-622.
- Overeem, J.C., 1976, *Biochemical Aspects of Plant Parasite Relationships*, Friend, J. and Threlfall, D.R. (Eds), Academic Press, London, 195.
- Weidenborner, M.; Hindorf, H.; Jha, H.C.; Tsotsonos, P. Antifungal activity of flavonoids against storage fungi of the genus *Aspergillus*. *Phytochemistry*, v.29, p.1103-1105, 1990.
- Alcerito, T.; Barbo, F.E.; Negri, G.; Santos, D.Y.A.C.; Meda, C.I.; Young, M.C.M.; Chávez, D.; Blatt, C.T.T. Foliar epicuticular wax of *Arrabidaea brachypoda*: flavonoids and antifungal activity. *Biochem. Syst. Ecol.*, v.30, p.677-683, 2002.
- Saini, K. S.; Ghosal, S. Naturally occurring flavans unsubstituted in the heterocyclic Ring. *Phytochemistry* **1984**, 23, 2415.
- Johnson, G., Maag, D.D.; Johnson, D.K.; Thomas, R.D. Possible role of phytoalexins in resistance of sugarbeet (*Beta vulgaris*) to *Cercospora beticola*. *Physiol. Plant Pathol.* **1976**, 8, 225
- Harborne, J. B. and Simmonds, N. W., 1964. *Biochemistry of Phenolic Compounds*, Academic Press, London, pp. 101.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Yusuf BAYAN  
 Doğum Tarihi ve Yeri: 01.01.1985 / Türkoğlu  
 Medeni Hali : Bekar  
 Yabancı Dili : İngilizce  
 Telefon :05062275591  
 Faks : -  
 e-mail : yusufbayan@gmail.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	GOPÜ. Fen Bilimleri Enst. Bitki koruma ABD	-
Lisans	GOPÜ Fen Edebiyat Fak. Kimya	23.05.2007
Lise	Hoca Ahmet Yesevi Lisesi	20.06.2002

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev

### Yayımlar

Bayan, Y., Işıldak, Ö., Elmastaş, M., Genç, N., 2009. Meyan Kökünün Antioksidan ve Radikal Giderme Aktiviteleri. 23. Ulusal Kimya Kongresi, Cumhuriyet Üniversitesi.