

0900 ZIRAAT KIRAZ ÇEŞİDİNİN SÜRGÜN
VE YAPRAKLARINDA FENOLİK MADDE
İÇERİKLERİNİN MEVSİMSEL
DEĞİŞİMLERİNİN SAPTANMASI
ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Bahadır ALTUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**0900 ZİRAAT KİRAZ ÇEŞİDİNİN SÜRGÜN ve YAPRAKLARINDA FENOLİK
MADDE İÇERİKLERİNİN MEVSİMSEL DEĞİŞİMLERİNİN SAPTANMASI
ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA**

BAHADIR ALTUN

135989

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI**

Danışman: Prof. Dr. Şükriye BİLGENER

SAMSUN – 2003

135989

**ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Bu çalışma jürimiz tarafından 05/09/2003 tarihinde yapılan sınav ile Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. A. Nur ONAR



Üye : Prof. Dr. Şükriye BİLGİNER (Danışman)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Leyla DEMİRİSOY



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

...../2003


Prof. Dr. A. Nur ONAR

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**0900 ZİRAAT KİRAZ ÇEŞİDİNİN SÜRGÜN ve YAPRAKLARINDA FENOLİK
MADDE İÇERİKLERİNİN MEVSİMSEL DEĞİŞİMLERİNİN SAPTANMASI
ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA**

ÖZET

Bu çalışmada 0900 Ziraat kiraz çeşidinin yaprak ve sürgünlerinde toplam fenolik madde içeriklerinin mevsimsel değişimi saptanmıştır. Ayrıca yaprak ve sürgünlerdeki sulu alkolde çözünen ve asitle hidrolizi sonucu elde edilen ekstraktlarındaki fenolik maddeler kağıt kromatografisi ile ayrılarak incelenmiştir.

Sürgünlerde toplam fenolik madde içerikleri yapraklara göre daha yüksek oranlarda saptanmıştır. Sürgünlerin toplam fenolik içeriklerinin, nisan ve mayıs aylarında göreceli olarak düşük seviyede olduğu, haziranda ani bir artış gösterdiği, hemen ardından temmuz ayında yılın en düşük seviyesine indiği gözlenmiştir; temmuzdan sonra ağustos ayında ise tekrar yükseldiği tespit edilmiştir. Daha sonra eylül – mart ayları arasında (dinlenme döneminde) diğer aylara göre yüksek oranlarda olduğu belirlenmiştir.

Yapraklardaki toplam fenolik maddeler, yaprakların açmaya başladığı nisan ayının ilk haftasında, diğer dönemlere göre en yüksek oranda belirlenmiştir. Nisan ayının 3. haftasına kadar düşüş gösteren fenolik maddeler, nisanın son haftasında bir miktar arttıktan sonra haziran ayına kadar hızlı bir şekilde azalmıştır. Haziran ve ağustos ayları arasında oldukça düşük seviyelerde seyreden yaprak fenolik maddeleri, yaprakların vegetasyonlarını tamamladıkları eylül ve ekim aylarında vegetasyon başındaki kadar olmasa da tekrar yükselmişlerdir.

Sürgünlerin sulu alkol ekstraktlarında iki boyutlu kağıt kromatografisiyle (birinci boyut %5 asetik asit; ikinci boyut n- butanol: asetik asit: su, 60:15:25 v/v) toplam 12 farklı madde saptanmıştır. Aynı ayırma metoduyla yapraklarda toplam 8 farklı madde elde edilmiştir. Sürgünlerin ve yaprakların forestal solventi ile yapılan tek boyutlu kağıt kromatogramlarında 5' er farklı madde gözlenmiştir.

**A RESEARCH ON DETERMINATION THE SEASONAL VARIATION IN
PHENOLIC CONSTITUENTS OF 0900 ZIRAAT CHERRY CV. LEAVES AND
SHOOTS**

ABSTRACT

In this research, the seasonal variation in total phenolic contents in 0900 Ziraat cherry cv. leaves and shoots was determined. In addition, the phenolic compounds extracted by aqueous alcohol or obtained by acid hydrolysis of the leaves and shoots were separated by paper chromatography (PC).

It was found that in general, the total phenolic contents of the shoots were higher than the leaves. The total phenolic contents of the shoots in april and may were found to be relatively lower; but a sudden increase was observed in june; the lowest total phenolic content of the shoots was observed in july; in august, it started to rise again. Then, from september through march (during the resting period), the phenolic contents were relatively higher than the other months in shoots.

The total phenolic content of the leaves was at its highest level in the first week of april when the leaves were begun to grow up comparing to the rest of the year. The phenolic content of the leaves was dropped down until third week of april but in the fourth week of april it was rose a little amount then dropped down again until june. During june through august, the phenolic contents of the leaves were stayed relatively higher levels; but at the end of the vegetative season during september and october, it was rose again to a higher level similar to that of the beginning of the vegetative season.

The 0900 Ziraat cherry cv. shoots aqueous extracts gave a total of 12 different compounds when separated by two dimensiol PC (5% asetic acid on the first dimension, n-butanol: acetic acid: water on the second dimension). When the leaf extracts were separated by the same technique, a total of 4 different compounds were obtained on the chromatograms. One dimensiol chromatograms obtained by forestal solvent showed that were 5 different compounds separated from shoots and leaves.

TEŐEKKÜR

Araştırma konumun belirlenmesi, y¼r¼t¼lmesi ve yazımı sırasında ilgisi ve yardımları için değerli hocam sayın Prof. Dr. Ő¼kriye BİLGENER' e teőekk¼r ederim.

Araştırmamı y¼r¼tt¼ę¼m Amasya Suluova' daki bahęe sahibi sayın Ahmet KARAN' a, laboratuar ęalıřmalarımda yardımcı olan sayın Y¼k. Lis. Öğr. Z¼mr¼t T¼RKOęLU' na ve yardımcı olan b¼t¼n Araştırma G¼revlisi arkadaşlarıma teőekk¼r ederim.

Araştırmamın her aşamasında benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anneme, babama ve sevgili eşim Funda' ya teőekk¼r ederim.

Bahadır ALTUN



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No.</u>
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Bitki Fenolikleri	3
2.2. Ülkemizde ve Dünyada Fenolik Maddeler Konusunda Yapılan Bazı Çalışmalar	10
3. MATERYAL VE METOT	13
3.1. Materyal	13
3.1.1. Denemede Kullanılan Kiraz Çeşidinin Özellikleri	13
3.2. Metot	14
3.2.1. Sürgün ve Yaprak Örneklerinin Alınması	14
3.2.2. Ekstraksiyon İşlemi	14
3.2.3. Toplam Fenolik Madde Miktarının Tespiti	14
3.2.4. Kromatografik Analizler	15
3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi	16
4. BULGULAR	17
4.1. 0900 Ziraat Kirazının Sürgün ve Yaprak Dokularındaki Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Mevsimsel Değişimleri	17
4.1.1. Sürgünlerdeki Fenolik Madde İçeriklerinin Mevsimsel Değişimleri	17
4.1.2. Yapraklardaki Fenolik Madde İçeriklerinin Mevsimsel Değişimleri	20
4.2. Kromatografi Çalışmaları	20
4.2.1. İki Boyutlu Kromatografi Çalışmaları	26
4.2.2. Tek Boyutlu Kromatografi Çalışmaları	28
4.2.3. Sürgün Dokularındaki Fenoliklere Ait Aylık Kromatogramlar	29
4.2.4. Yaprak Dokularındaki Fenoliklere Ait Aylık Kromatogramlar	33
5. TARTIŞMA	40
5.1. Toplam Fenolik Maddeler	40
5.2. Aylık Kromatografi Çalışmaları	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	45
7. KAYNAKLAR	47

ŞEKİLLER LİSTESİ

No	Adı	Sayfa No
1	Flavonoidlerin basit yapısı ve numaralandırma sistemi	6
2	0900 Ziraat kiraz çeşidi	13
3	Kromatografik analizlerde kullanılan cam kabinler	15
4	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri	18
5	0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri	19
6	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgün dokularında saptanan fenolik maddelerin iki boyutlu ortak kağıt kromatogramı	24
7	0900 Ziraat kiraz çeşidinin yaprak dokularında saptanan fenolik maddelerin iki boyutlu ortak kağıt kromatogramı	25
8	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde mart ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	30
9	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde nisan ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	30
10	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde mayıs ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	31
11	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde haziran ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	31
12	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde temmuz ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	32
13	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde ağustos ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	32

No	Adı	Sayfa No
14	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde eylül ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	34
15	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde ekim ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	34
16	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde kasım ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	35
17	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde aralık ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	35
18	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde ocak ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	36
19	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde şubat ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	36
20	0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında nisan ayının 1. haftasında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	37
21	0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında nisan ayının 2. haftasında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	37
22	0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında nisan ayının 4. haftasında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	38
23	0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında mayıs ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı	38

TABLolar LİSTESİ

No	Adı	Sayfa No
1	Polifenolik maddelerin ana sınıfları	4
2	Besin flavonoidlerinin sınıflandırılması	5
3	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri	18
4	0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri	19
5	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kromatogramlarda saptanan fenolik maddeler ve vegetasyon periyodundaki aylık değişimleri	21
6	0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kromatogramlarda saptanan fenolik maddeler ve vegetasyon periyodundaki aylık değişimleri	22
7	0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde forestal solventleriyle yapılan tek boyutlu kromatogramlarda saptanan fenolik maddeler ve vegetasyon periyodundaki aylık değişimleri	23
8	0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında forestal solventleriyle yapılan tek boyutlu kromatogramlarda saptanan fenolik maddeler ve vegetasyon periyodundaki aylık değişimleri	23

1. GİRİŞ

Anavatanı Kuzey Anadolu ve Güney Kafkasya olan kiraz, dünyada ve ülkemizde sevilerek tüketilen ve ülkemizde üretimi ve ağaç sayısı her geçen gün artan bir meyve türüdür (Özbek,1978). 1995 yılı dünya kiraz üretimi 1 647 890 ton iken , 2002 yılında bu rakam 1 787 261 tona ulaşmıştır. Ülkemizde ise 1995 yılında 186 000 ton olan kiraz üretimimiz, 2002 yılında 250 000 ton olmuştur (Anonim, 2003a). 1995 yılında meyve veren yaştaki ağaç sayımız 6050, meyve vermeyen yaştaki ağaç sayımız 2100 iken, 2001 yılında sırasıyla 7620 ve 2630 olmuştur (Anonim,2003b). 2002 verilerine göre toplam kiraz üretimi bakımından Türkiye 250 000 ton ile dünya ülkeleri arasında birinci sırada yer alırken, ülkemizi 164 000 ton ile ABD ve 140 718 ton ile İtalya takip etmektedir (Anonim 2003c).

Yurdumuzun farklı ekolojik koşullarında kiraz yetiştiriciliği yapılmakla birlikte yetiştiricilik daha çok Kocaeli, İzmir, Bursa, Zonguldak, Samsun gibi ılıman yerlerde, Tokat , Amasya gibi nehir vadilerinin bulunduğu yerlerde ve Afyon, Konya, Ankara' da yayılmıştır (Öz, 1983; Kurnaz ve ark, 1994).

Tez çalışmamızın konusunu oluşturan fenolik maddeler bitki türlerini tanımlama ve sınıflama amacıyla kemotaksonomik çalışmalarda kullanılmakta ve büyümeyi düzenleyici maddeler sınıfında engelleyiciler olarak kabul edilmektedirler (Bate – Smith and Metcalfe , 1957; Bate – Smith, 1962 ; Kefeli and Kadyrov, 1971).

Fenoller bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan en az bir aromatik halkaya sahip organik maddelerdir. Bitkilerde doğal olarak bulunan fenolik maddelerin en yaygın grubu flavonoidlerdir. Basit monosiklik fenoller, fenilpropanoidler ve fenolik kinonlar da bitkilerde yaygın olarak bulunur. Ayrıca ligninler ve tanenler de bitkilerde polimer fenoller olarak önemli bileşiklerdir (Harborne, 1974).

Bitki hücre ve dokularında fenolik bileşiklerin metabolizmasını anlamak için onların biyosentetik orijinleri hakkında bilgi sahibi olmak gerekir. Basit fenolik bileşiklerin önemli bir kısmı, fenolik asitler, fenilpropanoidlerin çoğu ve flavonoidler, şikimik asit ve fenilpropanoid sentez yollarının ara ve son

ürünleridir (Mann,1978;Floss,1979). Antosiyaninler ve kondanse tanenleri içine alan flavonoidler, fenilpropanoid sentezi sırasında oluşan p- coumarik asitten oluşurlar. Tanenlerin diğer bir grubu hidroliz olabilen gallik asit ve türevlerinin şekerlerle esterleşmiş ürünleridir; gallik asit ve türevleri doğal ortamda şikimik asit sentez yolunda sentezlenirler. L- phenylalanine ammonia lyase (PAL) fenilpropanoidlerin ve flavonoidlerin biyosentezini kontrol eden anahtar bir enzimdir. L- phenylalanine' nin trans- cinnamic aside dönüşmesi fenilpropanoid sentez yolunun ilk adımıdır.

Bitkilerin sekonder metabolizma ürünlerinden olan fenoliklerin bitki fizyolojisi üzerindeki etkileri henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Flavonoidlerden antosiyaninlerin çiçek ve meyve pigmenti olduğu, ligninlerin hücre duvarında yapı materyali olarak görev yaptığı bilinmektedir. Fenolik maddeler konusunda yapılan birçok çalışmada, bunların bitki büyüme ve tohum çimlenmesini inhibe ederek allelopatik bitki – bitki ilişkilerinde görev yaptığı gösterilmiştir (Whittaker and Feeny,1971). Aynı zamanda birçok çalışmada fenoliklerden bazılarının, zararlı ışık ve patojen saldırılarına karşı bitkilerin savunma sistemlerinde rol aldıkları gösterilmiştir (Swain,1977; Harborne,1979; Hedin and Waage,1986; Lamb ve ark. 1989). Yine flavonoidlerden bazılarının böcekleri caydırma ve cezbetme olaylarındaki etkinlikleri ortaya çıkarılmıştır (Harborne,1972;1979). Yine bitkilerdeki farklılaşma olayları ve bazı stres koşullarına karşı gösterdikleri tepkiler, fenilpropanoid ve flavonoid biyosentez yoluyla ortaya çıkan çeşitli bileşiklerden yararlanarak açıklanabilmektedir (Lamb ve ark. 1989, Özeker ve Tannisever, 1995).

Meyve ağaçlarının aşı uyumsuzluğunda fenolik maddelerin rol aldığı bilinmektedir (Errea,1997) ve uyumsuzluğun erken teşhisinde seleksiyon kriteri olarak kullanılabilceği düşünülmektedir. Yine fenolik maddeler üzerinde yapılacak çalışmalarla gelecekte bu maddelerin meyve ve sebzelerde hasat ve kalite kriteri olabileceği düşünülmektedir.

Bu araştırmada 0900 Ziraat kiraz çeşidinde bazı bitki dokularındaki fenolik maddelerin kantitatif ve kalitatif olarak mevsimsel değişimleri izlenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Bitki Fenolikleri¹

Fenolik Maddelerin Tanımı

Bitki polifenoller; bitki morfolojisine (pigmentasyona) katkısından; büyüme ve üremeye ilgili olduklarından; bitkilere, predatörl ve herbivorlara karşı direnç sağlamasından; tohumların erginleşmeden çimlenmesini önlemesinden ve diğer nedenlerden dolayı yıllarca bilim adamlarının ilgisini çekmiştir. Bitkilerdeki polifenolik profili, aynı türün varyeteleri arasında değişmektedir. Dolayısıyla polifenoller taksonomik maksatlarla da araştırılmıştır. Ayrıca besinsel ürünlerin bozulmasını belirlemek için de polifenoller incelenmiştir. Endüstride boya, kağıt ve kozmetik üretiminde, deri imalatında, gıda sanayiinde doğal renklendiriciler ve koruyucular olarak polifenoller kullanılmaktadır. Ayrıca bazı fenolik maddeler özellikle flavonoidler antibiyotik ve ishal önleyici, ülserle karşı, ateş düşürücü olarak, yüksek tansiyonun tedavisinde, damar çatlamalarının önlenmesinde, alerjilere ve yüksek kolesterole karşı kullanılmaktadır.¹

Polifenolik maddeler, her bitki organında yaygınca bulunan maddeler olup insan besininin de vazgeçilmez bir kısmını oluşturur. Yakın zamana kadar polifenolik maddelerin gıdalardaki etkileri makromoleküllere bağlanarak onları çöktürmesi, sindirim enzimlerini inhibe etmesi üzerine yoğunlaşmıştı. Ancak yakın zamanlardaki ilgi gıdalardaki fenolik maddelerin antioksidant ve serbest radikal yakalama özelliklerine yoğunlaşmış olup onların insan sağlığına potansiyel etkilerini açıklamakla ilgilidir. Polifenolik maddeler hakkındaki yoğun bilimsel literatürde özellikle bitki polifenollerinin fizyolojik etkileri hakkındaki çalışmalar genellikle özel bir fenolik madde grubu olan flavonoidlere bahsedilmiştir. Bu bölümde diğer tip bitki fenollerinin mesela basit fenollerle tanenlerin yanında flavonoidlerin de besinsel önemine değinilmiştir.

¹ Bu bölüm Bravo (1998) dan yararlanılarak hazırlanmıştır.

Fenolik Maddelerin Kimyası

Fenolik maddeler veya polifenoller bitkiler aleminde geniş dağılışı gösteren maddeler grubu olup çok çeşitli yapılara sahiptirler. 8000'den fazla fenolik maddenin yapısı bilinmektedir. Polifenoller bitkilerin sekonder metabolizmasının ürünüdür.

Biyogenetik olarak 2 ana sentez yolundan türerler:

- Şikimik asit yolu
- Asetat yolu. Bu madde grubu çok geniş ve karmaşık bitki maddelerini içine alır.

Doğal fenoller fenolik asitler gibi basit moleküllerden tanenler gibi çok polimerleşmiş maddelere kadar değişiklikler gösterir. Bu maddeler esasen OH gruplarına bir veya daha fazla şeker molekülleri bağlanmış halde bulunurlar. Bazen aromatik C atomlarına şeker birimlerinin doğrudan bağlandığı örneklere de rastlanır. Fenolik maddelere bağlanan şekerler; monosakkaritler, disakkaritler hatta oligosakkaritler bile olabilir. En yaygın rastlanan şeker molekülü glikozun yanında galaktoz, ramnoz, ksiloz, arabinoz ve hatta glikoronik asit, galakturonik asit ve daha bir çok şeker olabilir. Karboksilik ve organik asitler, aminler ve lipidler gibi diğer maddelerle bağlanma ve diğer fenollerle de birleşme yaygınca görülür.

Harborne'a göre temel kimyasal yapısına bağlı olarak polifenoller en az 10 farklı sınıfa ayrılabilir (Tablo 1).

Tablo 1. Polifenolik maddelerin ana sınıfları

Sınıf	Basit İskeleti	Sınıf	Basit İskeleti
Basit fenoller	C ₆	Kromonlar	C ₆ -C ₃
Benzokinonlar	C ₆	Naftokinonlar	C ₆ -C ₄
Fenolik asitler	C ₆ -C ₁	Ksantonlar	C ₆ -C ₁ -C ₆
Asetofenonlar	C ₆ -C ₂	Stilbenler	C ₆ -C ₂ -C ₆
Fenilasetik asitler	C ₆ -C ₂	Antrakinonlar	C ₆ -C ₂ -C ₆
Hidroksisinamik asitler	C ₆ -C ₃	Flavonoidler	C ₆ -C ₃ -C ₆
Fenil propenler	C ₆ -C ₃	Lignanlar, neolignanlar	(C ₆ -C ₃) ₂
Kumarinler, isokumarinler	C ₆ -C ₃	Ligninler	(C ₆ -C ₃) _n

Fenolik maddelerin tek başına en önemli grubunu oluşturan flavonoidler 5000'den fazla madde içerirler ve 12 alt sınıfa ayrılırlar (Tablo 2).

Tablo 2. Besin flavonoidlerinin sınıflandırılması

Flavonoidler

Çalkonlar

Dihidroçalkonlar

Oronlar

Flavonlar

Dihidroflavonol

Flavanonlar

Flavanol

Flavandiol yada lökoantosiyanidin

Antosiyanidin

İsoflavonoid

Biflavonoid

Proantosiyanidin ya da kondanse tanenler

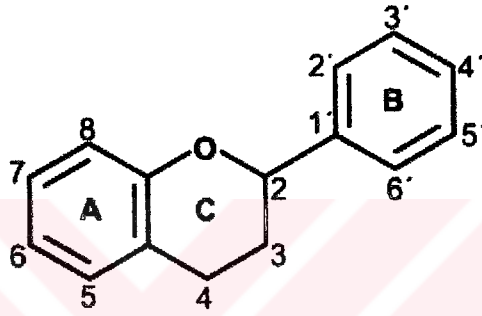
Basit Fenoller ve Flavonoidler

En yaygın ve en önemli küçük moleküler ağırlıklı fenolik maddeler arasında basit fenoliklerin türevleri ve flavonoidler bulunur. Basit fenoller (C_6) örneğin fenolün kendisi, kresol, timol, resorsinol, orsinol gibi maddeler bir çok bitki türünde çok yaygındır. C_6-C_1 yapısına sahip fenoller mesela, fenolik asitler (gallik, vannilik, sirinjik, phidroksibenzoik) ve aldehitler (vanillin, syringaldehit, p-hidroksibenzaldehit) yüksek bitkilerde ve eğreltilerde oldukça yaygındır. Fenilasetikasitler ve asetofenonlara (C_6-C_2) ise literatürde pek fazla rastlanmamaktadır. Bu maddelerin hepsi serbest halde bulunduğu gibi metil ve etil esterleri ile glikozitlere de serbest veya bağlı halde çok yaygın bulunur.

Fenil propanoid türevleri (C_6-C_3) türevleri de küçük moleküler ağırlıklı fenoliklerin önemli bir grubudur. Kromonlar, kumarinlerden daha az yaygın olup; kumarinler doğal olarak glikozit (örneğin; umbilliferon, aeskulatin, skopolatin gibi) halinde bulunurlar. En önemli fenilpropanoidler hidroksisinamik asitler (p-kumarik, kafeik, ferulik, sinapik) ve türevleridir. Sinamil alkoller (koniferil alkol veya guaiasil, sinapil alkol veya sirinjil ve p-kumaril alkol, p-hidroksifenil) yani

ligninin temel yapıtaşları bitki fenolik gruplarının en önemli temsilcileridir. Fenil propanoidler ve daha basit fenoller (benzoik asit ve benzaldehit türevleri) hücre duvarının polisakkaritlerine (olarak hemiselülozun arabinoz birimlerine ester bağlarıyla) genellikle kovalent olarak bağlanmışlardır. Bunlara lignin özü denir.

Flavonoidler, bitki fenoliklerinin en yaygın grubunu temsil ederler. Bunların temel yapısı difenil propan ($C_6-C_3-C_6$) olup genellikle oksijenli bir heterosiklik halka oluşturan 3C ile birbirine bağlanmış iki aromatik halkadan ibarettir. Şekil 1 temel yapıyı göstermekte olup flavonoid çekirdeğinde karbonların numaralanma sistemini göstermektedir.



Şekil 1. Flavonoidlerin basit yapısı ve numaralandırma sistemi

Biyogenetik olarak; A halkası genellikle asetat yolunda sentezlenmiş olan bir molekül resorsinol veya floroglusinolden gelir. B halkası ise şikimik asit yolundan türer. Flavonoidler bitkilerde nadiren aglikon olarak bulunurlar. Ancak en yaygın olarak glikozit türevleri halinde bulunurlar. Flavonoidler içinde flavonlar (kuersetin, mirisetin, kaempferol ve bunların glikozitleri) en yaygın maddelerdir. Bunlar bitkiler aleminde çok yaygın olup alglerde ve mantarlarda bulunmazlar. Flavonollar o-glikozitler halinde bulunurlar. Ayrıca flavon o-glikozitlerindeki C-C bağları flavon çekirdeğinin C-6 veya C-8 karbonlarına bağlanır. O-glikozitlerinin tersine C-glikozitlerindeki şekerler asit hidroliziyle koparılamaz. Flavanonlar (naringenin, hesperidin) da o veya C- glikozitleri halinde bulunabilirler. Özellikle narenciye meyvelerinde ve erik kurusunda bol bulunurlar. Bu grup flavonoidlerden, zamanımıza kadar kuersetin ve kaempferolün 200 farklı glikoziti, flavonol glikozitlerin de yaklaşık 380 çeşidi tarif edilmiştir. Isoflavonlar (geistein, daidzein) gibi moleküllerin B halkasının

heterosiklik halkaya 3. karbondan bağılandığı moleküllere özellikle Leguminosae'larda sık sık rastlanır.

Flavonoidler (örneğin katekin, epikatekin, gallokatekin) yoğunlaşmış tanenlerin monomerik yapıtaşlarıdır. Bu moleküller serbest moleküller olarak da yaygındır. Antosiyaninler suda çözünen bitki pigmentlerinin en önemli grubu olup yüksek bitkilerin çiçek ve meyvelerine renk verirler. Antosiyanin deyimi antosiyanidin glikozitlerini (örneğin; pelargonidin, malvidin, siyanidin) belirtmek için kullanılır. Glikozit oluşturmaya ilave olarak aromatik ve alifatik asitlerle yaygın bağlar oluşturma ve metil esterler oluşturma da yaygındır. Antosiyaninler ve polimerik pigmentler (antosiyaninlerin diğer flavonoidlerle birleşmesiyle oluşan) kırmızı şarabın rengini verirler.

Basit fenoller ve flavonoidler bitki fenollerinin en büyük temel grubunu oluştururlar. Bu maddelerin çoğu göreceli olarak küçük moleküler ağırlığa sahip olup, kimyasal yapılarına ve polaritelerine bağlı olarak (hidroksil grup sayısı, glikozit oluşturma, açilleşme gibi) çözünürlükleri belirlenir. Bu maddelerin bazıları hücre duvarı elemanlarına (polisakkaritler, ligninler) bağlanabilirler. Ester bağlarının yapısından dolayı bu maddeler bazik şartlarda çözündürülebilirler. Aksi takdirde lif matriksinde kalırlar.

Tanenler

Yukarıda anlatılan bitki fenolik gruplarının tersine tanenlerin moleküler ağırlığı orta büyüklükten çok büyük maddelere kadar değişir. Moleküler kütlesi 30 000 dalton olan tanenler keçiyoynuzu meyvelerinde bulunmuştur. Tanenlerin bol miktarda hidroksil grupları vardır. Karbonhidratlar ve proteinlerle çözünmeyen kompleksler oluşturabilirler. Tanenlerin bu işlevi tanence zengin besinlerin buruk tadına sebep olur. Buruk tat, tükürük proteinlerini tanenlerin çöktürmesinden dolayı ortaya çıkar. Tanen deyimi, bu maddelerin hayvan derilerini, derideki kollajen ve diğer proteinlerle bağlanarak meşin haline dönüştürme özelliğinden gelmektedir.

Hidroliz olabilen ve yoğunlaşmış tanenler olmak üzere tanenler 2 ana gruba ayrılabilirler. Ancak denizlerdeki esmer alglerde bulunan 3. bir tanen

grubu olarak florotanenler bilinmektedir. Bu tanenler, kara hayvanları ve insanlar tarafından tüketilmez.

Hidroliz Olan Tanenler: Hidroliz olan tanenler, galik asit ve onun dimerik kondansasyon ürünü heksahidrohidrofenik asitin genellikle glikoz gibi bir poliol ile esterleşmesinden meydana gelirler. Bu metabolitler, oksidatif olarak diğer galoil ve heksahidrohidrofenik asit moleküllerine bağlanarak yüksek molekül ağırlıklı polimerler oluştururlar. İsimlerinin belirttiği gibi bu tanenler, asit, baz, sıcak su ve enzimatik aktiviteyle hidroliz olurlar. Polihidrik alkoller ve fenilkarboksilik asitler açığa çıkar. Oluşan fenilkarboksilik asidin yapısına göre bu tanenler galik asitten türeyen gallotanenler ve heksahidrohidrofenik asitten türeyen ellagi tanenler olmak üzere 2 gruba ayrılırlar. Elagi tanenler, hidroliz sonucu bir lakton olan elagik asit üretirler. En iyi bilinen hidrolize tanen tanik asittir. Tanik asit bir pentagalloylglikoz molekülü olup buna ilave 5 gallik asit birimi daha esterleşebilir.

Kondanse Tanenler: Kondanse tanenler veya proantosiyanidinler büyük moleküler ağırlıklı polimerlerdir. Monomer birimi bir flavan-3-ol (kateşin, epikateşin) ile flavan-3, 4-diol yapıtaşlarıdır. Oksidatif kondansasyon reaksiyonları bir flavan biriminin 4. karbonu ile diğerinin 6. veya 8. karbonu arasında meydana gelebilir.

Yoğunlaşmış tanenler hakkında yazılmış literatürün çoğu oligomerik proantosiyanidinler (dimerler, trimerler, tetramerler) üzerine yoğunlaşmıştır. Çünkü; büyük polimerlerin analizi zordur. Proantosiyanidinler, esasen 50 veya daha çok birimin polimerleşmesiyle oluşurlar. En iyi bilinen yoğunlaşmış tanenlerin moleküler ağırlığı takriben 5000 dalton civarındadır. Daha önce de işaret edildiği gibi moleküler ağırlığı 30000 daltondan büyük olan tanenler bulunmuştur. Yoğunlaşmış tanenlerin oluşmasını sağlayan olayın flavan-3-ol ve flavan-3, 4-diol birimlerinin otoksidatif veya enzimatik polimerizasyonu olduğu ileri sürülmüştür. Flavonoid birimleri arasındaki bağlar asitlere dirençli değildir. Alkol çözeltileri içinde asitle hidrolizleri antosiyanidinlerin açığa çıkmasını sağlar. Bu reaksiyon proantosiyanidin moleküllerinin ölçülmesinde kullanılır. Faloben benzeri maddeler mineral asitleriyle ısıtılınca kateşinlerin kondans olmasıyla ileri polimerizasyon ürünü olarak bu maddelerden oluşturulurlar.

Oligomerik antosiyanidinler ve küçük moleküler ağırlıklı hidroliz olan tanenler aseton, metanol ve su gibi farklı sulu ve organik çözeltilerde çözünürler. Fakat; yüksek moleküler ağırlıklı yoğunlaşmış ve hidroliz olan tanenler çözünmezler. Ayrıca hücre duvarı polisakkaritleriyle veya proteinlerle kompleks oluşturan tanenler de çözünmeden kalırlar. Tanenlerin bu çözünemez hali bitki örneklerinde polifenolik içeriklerin ölçülmesinde önemli hatalara sebep olur. Çünkü, polifenoller genellikle çözünmeyen veya ekstre edilemeyen tanenler göz önüne alınmadan ekstraktlarda analiz edilir.

Besinlerdeki Polifenoller

Polifenoller, hemen hemen bütün bitkisel besinlerde (sebzeler, tahıllar, baklagiller, meyveler ve fındıksı meyvelerde) ve içeceklerde (şarap, sider, bira, çay ve kakao gibi) yaygınca bulunmaktadır. Tanenlerin miktarı aynı türün farklı çeşitlerinde önemli derecede değişebilir. Mesela, flavon ve flavonol glikozitlerinin oluşması ışığa çok bağlıdır. Dolayısıyla bu maddelerin yüksek konsantrasyonları genellikle yapraklarda ve bitkilerin alt kısımlarında bulunur. Toprak altı bitki kısımlarında ise ancak iz miktarda bulunur. Bitkisel besinlerde polifenollerin varlığı genetik faktörler ve çevre şartlarından çok etkilenir. Çimlenme, olgunlaşma derecesi, çeşit gıda işlenmesi ve depolama gibi diğer faktörler de gıdaların fenolik içeriğini etkiler.

Polifenoller, bitkisel besinlerin tat ve besinsel niteliğinden kısmen sorumludur. Besinlerin ve içeceklerin burukluğu ve acılığı polifenolik madde içeriğine bağlıdır. Polifenollerin oksidasyonu gıda işleme ve depolama sırasında meydana gelebilir. Mesela, kakao işleme sırasında kahverengileşme ile sonuçlanan oksidatif değişimler veya siyah çay imalatı sırasında çay polifenollerinin oksidatif polimerizasyonu tercih edilen bariz organoleptik özelliklerin gelişmesiyle sonuçlanır. Bunun tersine, fenolik maddelerin (polifenoloksidazın kataliz ettiği) enzimatik kahverengileştirme reaksiyonları ve enzimatik olmayan kahverengileşme reaksiyonları meyve ve sebzelerde tercih edilmeyen renk ve lezzete neden olur.

2.2. Ülkemizde ve Dünyada Fenolik Maddeler Konusunda Yapılan Bazı Çalışmalar

Tanrısever (1982) bodur kiraz anacı ıslah çalışmalarında klonların büyüme güçlerinin kısa zaman içerisinde saptanabilmesine olanak veren bir erken seleksiyon yöntemi geliştirmek amacı ile farklı büyüme gücündeki *Prunus* türlerinin floem dokusu ekstraktlarındaki fenolikleri kalitatif ve kantitatif olarak ince tabaka kromatografisi yöntemiyle incelemiştir. Araştırmacı floemdeki özellikle katehin içeriklerinin büyüme gücünün saptanmasında bir erken seleksiyon kriteri olarak kullanılabileceğini ileri sürmüştür.

Treutter ve Feuchth (1985) 16 kültür kiraz çeşidinin floem ve kambiyum dokularındaki fenolik maddelerin HPLC ile kantitatif ölçümlerini yaparak, çeşitleri 4 grup altında sınıflandırmışlardır.

Feucht ve Schmid. (1986) Sam ve Schneiders kiraz çeşitleri ile F12/ 1 klonuna ait sürgünlerin anatomik yapılarını inceleyerek flavonollerin bu yapı içerisindeki dokusal dağılımlarını ortaya koymuşlardır.

Rodriguez ve Canal. (1988) fındık yapraklarının gelişmesi sırasında fenolik maddelerin değişimlerini izlemişlerdir. Araştırmacılar İspanya'da fındık yapraklarında yaz boyunca yüksek olan fenolik maddelerin eylülde azalıp, ekimde bir parça arttıktan sonra kasımda tekrar azaldığını saptamışlardır.

Geibel ve ark. (1990) vişne (*Prunus cerasus*) sürgünlerinin kabuklarından tectochrysin 5 – glucoside, genistein 5 – glucoside ve prunetin 5 – glucoside' i izole ederek tanımlamışlardır.

Mato ve ark. (1994) kestane tomurcuklarında bazı polifenollerini kalitatif ve kantitatif olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar genç ve verim çağında olan kestane ağaçlarının her ikisinin tomurcuklarında da chesnatin, crenatin ve (+)-catechin fenolik bileşiklerini tanımlamışlardır.

Errea ve ark (1994) bazı kaysı çeşitleri ve anaçlarında flavonol tipi polifenollerini kalitatif ve kantitatif olarak tespit etmişlerdir. 4 kaysı çeşidinde flavonol kompozisyonlarının aynı olduğunu gözlemlemişlerdir. Bununla beraber hem çeşitlerde hem de anaçlarda toplam fenollerde büyük farklılıklar bulunduğunu belirlemişlerdir.

Özeker ve Tannısever (1995) ince tabaka kromatografisi ile Pocahontas, Tioga ve Yalova – 110 çilek çeşitlerinin genç yaprak ve stolonlarında değişik R_f değerine ve renge sahip toplam 34 fenolik madde saptamışlardır. Araştırmacıların iki yönlü olarak geliştirdikleri kromatogramlarda fenolik madde kompozisyonları açısından çeşitler arasında fark olmadığını, ancak organlar arasında bazı farkların bulunduğunu belirlemişlerdir.

Eser ve ark (1996) 10 farklı enginar çeşidi ve genotipinde fenolik madde içeriklerinin mevsimsel değişimlerini ortaya koymayı ve çeşitlerin değişik fizyolojik dönemlerinin saptanmasında kriter olarak kullanılıp kullanılmayacağını belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda çeşitleri ayırt etmede ve çeşitlerin farklı fizyolojik dönemlerinin saptanmasında bu maddelerden yararlanabilmenin mümkün olabileceği kanısına varmışlardır.

Schwalb ve Feucht (1999) Sam kiraz çeşidinin floem dokularındaki fenolik maddelerin mevsimsel değişimlerini incelemişlerdir. Araştırmacılara göre kış sonunda sıcaklığın ani artışıyla birlikte flavonollerde ilk artış, erken ilkbaharda tomurcuk patlamasından hemen önce ikinci bir artış görülmekte ve temmuz ortasında sürgün büyümesinin azalmasıyla birlikte flavonollar üçüncü kez artmakta ve maximum düzeye erişmektedirler. Araştırmacılar sonbaharda yaprak dökümünden önce karbonhidratların yapraklardan floeme taşınması sırasında sürgün floemindeki flavonollerde 4. kez bir yükselmenin olduğunu bildirmektedirler.

Mısırlı ve Özeker (1999) farklı idris (*Prunus mahaleb* L.) tiplerinin yapraklarında bulunan fenolik maddeleri tanımlamayı amaçlamışlardır. Kromatogramların incelenmesi sonucunda fenolik maddelere ait lekelerin dağılımında idris tipleri arasında bazı farklılıklar olduğunu saptamışlardır. İncelenen tüm tiplerde, genellikle flavonoidlere ait leke sayısının diğer fenolik maddelerden daha fazla olduğunu, fenilpropan bileşiklerine ait lekelerin ise sadece bazı tiplerde bulunduğunu belirlemişlerdir.

Bilgener (1999) fındık ve kestanelerin yaprak ve sürgünlerinde fenolik maddelerin mevsimsel değişimlerini incelemiştir. Araştırmacı kestanenin yaprak ve sürgünlerinde toplam fenolik madde içeriklerinin fındıktakilere göre daha yüksek olduğunu ve her iki türde de toplam fenoliklerin genç sürgünlerde bir

yıllık sürgünlere göre daha yüksek oranda bulunduğunu saptamıştır. Araştırmada kağıt kromatografisi metodu ile fındık yapraklarında 10 ; kestane yapraklarında 8 farklı fenolik madde elde edilmiştir.

Tangolar ve ark (1999) fenolik bileşiklerin asma sürgün uçlarında vegetasyon dönemindeki dağılımı ve sürgün ucu kültüründeki etkisini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda toplam fenol miktarının tüm çeşit ve anaçlarda vegetasyon periyodu boyunca arttığını gözlemlemişlerdir.

Polat ve Akçay (1999) Bursa yöresinin Gemlik zeytin çeşidinde fenolik maddelerin çiçeklenmeden olgunluk ve sonrası dönemine kadar 1' er ay ara ile değişimini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda zeytinde fenolik maddelerin olgunlaşma dönemi boyunca değişiminin çeşide özgü hasat ve kalite kriterleri olabileceğini saptamışlardır.

Errea (1997) meyve ağaçlarında aşılamanın ilk aşamalarında fenolik bileşiklerin uyuşmazlık mekanizmasında rollerinin olup olmadığını incelemiş, anaç üretiminde aşı uyuşmazlığının erken keşfi için fenolik bileşiklerin bir yapı oluşturup oluşturmadığını araştırmış ve sonuçta aşı uyuşmazlığının erken keşfi için bir metot geliştirilebileceği kanısına varmıştır.

Özeker ve Tanrısever (1999) Çileklerde çiçek tomurcuğu gelişme dönemlerinde fenolik maddelerin değişimini incelemişlerdir. Pocahontas, Tioga ve Yalova- 110 çeşitlerinin genç yaprak ve olgun yapraklarının tek yönlü kromatogramlarını incelemişler, çiçek tomurcuğu gelişme dönemleri arasında fenolik madde kompozisyonları açısından bazı farklılıklar olduğunu ve bu farklılıkların üç yıl boyunca üst üste aynı dönemde ortaya çıktığını saptamışlardır. Farklılık gösteren fenolik maddelerin daha çok fenilpropan bileşikleri olduğunu tespit etmişlerdir.

Hakkinen (2000) Finlandiya' da yetiştirilen bazı üzüksü meyvelerdeki antociyanin dışındaki fenolik bileşiklerin miktarını belirlemek ve tanımlamak amacıyla yaptığı çalışmada 19 çeşitte fenolik profili ortaya koymuş, 25' inde flavonolları, 8' inde ise ellagic asiti tanımlamıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu araştırma 2001 – 2003 yıllarında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü araştırma laboratuvarlarında yürütülmüştür. Araştırmada materyal olarak kullanılan 0900 Ziraat kiraz çeşidine ait yaprak ve sürgünler Amasya Suluova Harmanağılı Köyü' nde Ahmet KARAN' a ait bir meyve bahçesindeki mahlep üzerine aşılı 5 yaşlı kiraz ağaçlarından alınmıştır.

3.1.1. Denemede Kullanılan Kiraz Çeşidinin Özellikleri

Denemede kullanılan 0900 Ziraat çeşidi "Akşehir Napolyonu, Malatya Dalbastrı" olarak da bilinir (Anonim, 1992). Tam olarak kökeni bilinmemekle birlikte yabancı bir çeşit olduğu düşünülmektedir. Kuvvetli ve yaygın dallı gelişir ve çok sağlıklı ağaçlar meydana getirir. Meyve çok iri (8,17 g) geniş kalp şeklinde parlak koyu kırmızıdır. Meyve eti çok sert , gevrek sulu, çok lezzetli ve çok kalitelidir. Çekirdek çok iri ve ete çok az bağlıdır. 0900 Ziraat' ın hasat olumu geçtir, kirazların beşinci haftasında (haziranın ikinci – üçüncü haftasında) olgunlaşır. Starks Gold (Beyaz Kiraz), Merton Late ve Lambert çeşitleri 0900 Ziraat' ın tozlayıcılarıdır. Hiç meyve çatlaması yapmayan bu çeşit bakteriyel kansere dayanıklı gözükmekte ve çok geç çiçeklenmektedir. Yola çok dayanıklıdır (Bilgener, 2002).



Şekil 2. 0900 Ziraat Kiraz Çeşidi

3.2. Metot

3.2.1. Sürgün ve Yaprak Örneklerinin Alınması

0900 Ziraat kiraz çeşidinin ağaçlarında fenolik madde içeriklerini saptamak amacıyla, sürgün periyodunun başlamasıyla birlikte 1 ay aralıklarla bir yıllık sürgünlerden 3 tekrarlamalı olacak şekilde her ay (toplam 12 örnekleme dönemi) örnek alınmıştır. Yaprak örneklemesi ise yapraklanmanın erken döneminde fenoliklerin oranlarındaki değişmelerin diğer aylara göre daha fazla olacağı varsayımıyla nisan ayında bir hafta aralıklarla, nisan ayından sonra vegetasyon sonuna kadar (dökümün gerçekleştiği ekim ayı) bir ay aralıklarla yine 3 tekrarlamalı olacak şekilde toplam 10 kez yapılmıştır.

Sürgün örnekleri taze iken kambiyuma kadar olan kabuk ve floem dokuları sıyırma ve kazıma yöntemi ile alınarak kullanılmıştır. Yaprak örnekleri 1 yıllık sürgünlerin orta kısımlarından her dönemde 50 adet olarak alınmıştır.

3.2.2. Ekstraksiyon İşlemi

Sürgün ve yaprak örnekleri 60 ° C' de sabit ağırlığa ulaşınca kadar kurutulmuştur. Kurutulan bu örnekler havan ve öğütme makinesinde öğütülmüştür. Öğütülen bitki materyallerinin her birinden Bilgener' e (1988) göre 0,4 g tartılarak 100 ml' lik erlene konulmuş ve üzerine % 50'lik 40 ml metanol konularak elektrikli ısı kaynağı üzerinde kaynamaya bırakılmıştır. Kaynama başlar başlamaz ısı kaynağı üzerinden alınan ekstraksiyon solventi soğuyuncaya kadar elle çalkalanarak bitki materyalindeki fenollerin alkole geçmesi sağlanmıştır. Karışım soğuduktan sonra su trombu ve vakum pompası yardımıyla 1 No' lu filtre kağıdı kullanarak süzölmüştür. Bu işlem her örnek için üç kez tekrarlanmıştır. Hazırlanan bu ekstraktlar rotary evaporatörde 10 ml' ye yoğunlaştırıldıktan sonra 20 mg / ml olacak şekilde saf metanol ile seyreltilmiştir (Bilgener, 1988).

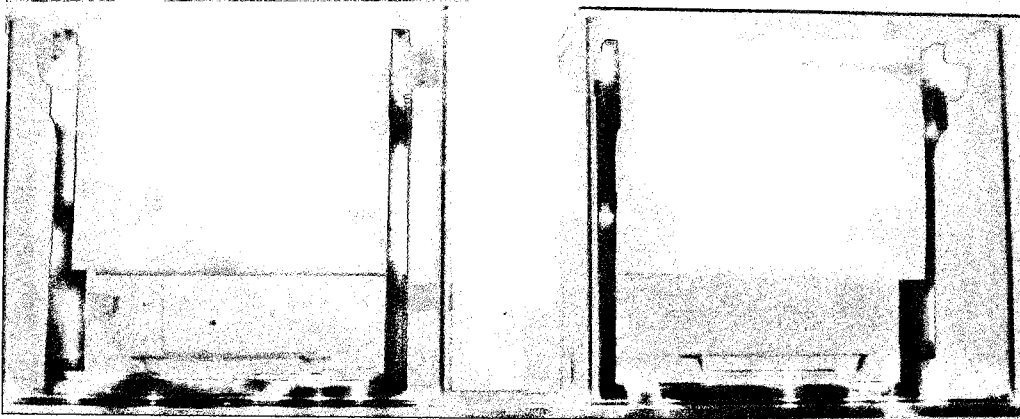
3.2.3. Toplam Fenolik Madde Miktarının Tespiti

Toplam fenolik madde miktarının tespiti için Swain ve Hillis'in (1959) bulduğu ve Bilgener' in (1988) geliştirdiği " Folin – Denis" spektrofotometrik

yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla 0.001, 0.002, 0.003, 0.004, 0.005 ve 0.006 mg/ ml' lik standart tanik asit çözeltileri hazırlanmıştır. Daha önce hazırlanan bitki estraklarının ve standart çözeltilerin her bir örneğinden 1' er ml alınarak 3 paralel olacak şekilde deney tüplerine konulmuştur. Bu işlem tamamlandıktan sonra tüplerin üzerlerine daha önceden hazırlanmış 0,25 molarlık folin denis çözeltisinden 1' er ml konulmuş, 3 dakika beklendikten sonra en az bir gün önce hazırlanmış 2 N sodyum karbonat çözeltisinden tüplere 1'er ml konularak 30 dakika beklenmiştir. Her bir örnek için spektrofotometre cihazında 725 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur.

3.2.4. Kromatografik Analizler

Yaprak ve sürgün dokularından elde edilen metanol ekstraktları yoğunlaştırıldıktan sonra kağıt üzerinde birinci boyutta % 5' lik asetik asit (AA), ikinci boyutta n – butanol : asetik asit : su (BAS ; 60 : 15 : 25, v/v) solventleri kullanılarak iki boyutlu kromatografik analizleri yapılmıştır (Feeny and Bostock, 1968). Ayrıca forestal solventi (Asetik Asit : HCl : Su ; 30 : 3 : 10 , v/ v) ile tek boyutlu kağıt kromatogramları elde edilmiştir. Bunun için, 0,4 g kuru bitki örnekleri 5 ml 2 N HCl ile kaynar su banyosunda 20 dakika hidrolize edilmiş ve daha sonra amil alkol içerisine alınarak hazırlanan ekstraksiyonlar kromatografi kağıtlarına uygulanmıştır. Analizlerde Whatmann No.1 kromatografi kağıdı kullanılmıştır. Kromatografi işlemlerinde 59x 58x30 cm boyutlarında 3 ml kalınlığında, dış ortamdan izole edilmiş cam kabinler kullanılmıştır. Çalışmalar oda sıcaklığında yürütülmüştür (Şekil 3).



Şekil 3. Kromatografik analizlerde kullanılan cam kabinler

3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi

Toplam fenolik maddelerin tayini için yapılan denemelerden elde edilen verilerin varyans analizleri MSTAT – C paket programına göre yapılmış, ortalamalar arasındaki farklar Duncan oklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır.

Fenolik maddelerin tanımlanması, ultraviyole (UV) lamba ışığı ve amonyak buharı yardımıyla oluşturdukları renklerden, R_f değerlerinden, yararlanarak yapılmıştır (Bilgener,1999).



4. BULGULAR

4.1. 0900 Ziraat Kirazının Sürgün ve Yaprak Dokularındaki Toplam Fenolik Madde İçeriklerinin Mevsimsel Değişimleri

Araştırmamızda 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgün dokularındaki (floem + kabuk) toplam fenoliklerin mevsimsel değişimini saptamak amacıyla, bir yıllık sürgünlerden 3 tekrarlamalı olacak şekilde her ay (toplam 12 örnekleme dönemi) örnek alınmıştır. Yaprak örnekleme ise yapraklanmanın erken döneminde fenoliklerin oranlarındaki değişmelerin diğer aylara göre daha fazla olacağı varsayımıyla nisan ayında bir hafta aralıklarla, nisan ayından sonra vegetasyon sonuna kadar (dökümün gerçekleştiği ekim ayı) bir ay aralıklarla yine 3 tekrarlamalı olacak şekilde toplam 10 kez yapılmıştır.

Sürgün ve yapraklarda saptanan toplam fenolik madde oranlarına ait mevsimsel değişimler tablo ve şekiller halinde verilmiştir.

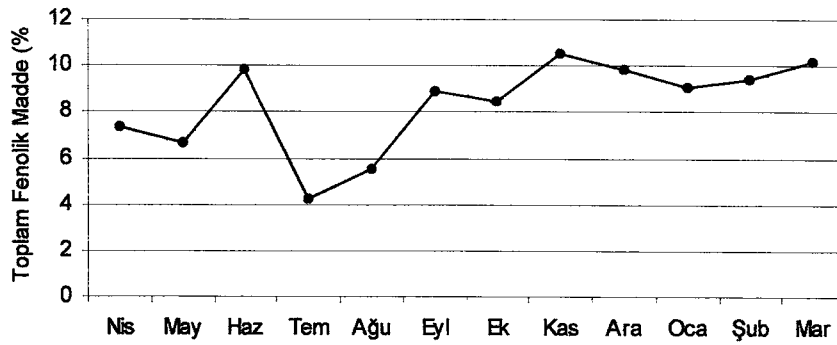
4.1.1. Sürgünlerdeki Fenolik Madde İçeriklerinin Mevsimsel Değişimleri

Sürgünlerde saptanan fenolik madde oranları aylara göre istatistiksel olarak çok önemli (%1) düzeyde farklılıklar göstermiştir (Tablo 3). Kasım, aralık, şubat ve mart aylarında diğer aylara göre en yüksek oranlarda saptanan fenolik maddeler, eylül, ekim ve ocak aylarında da bunlara yakın oranlarda olduğu belirlenmiştir. Eylül'den marta kadar fazla değişmeden (istatistiksel olarak da aynı grupta sayılabilecek) seyreden fenolik maddeler, bu periyot içinde en fazla kasım ayında (%10,56) yükselmiştir (Tablo 3, Şekil 4). Mart ayında yine yüksek değerde (%10,19) saptanan fenolik maddeler nisan ve mayıs aylarında oldukça azalmış (sırasıyla %7,32 ve 6,65), ancak haziran ayında ani bir artışla % 9,82 değerine ulaşmıştır. Bunun hemen ardından temmuz ayında örneklenen sürgün dokularında yılın en düşük oranı (%4,19) saptanmıştır. Fenolik maddeler temmuzdan sonra ağustos ayında tekrar yükselişe geçmiştir.

Tablo 3. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri

Aylar	Toplam Fenolik Maddeler (%)
Nisan	7.32 bcd *
Mayıs	6.65 cde
Haziran	9.82 a
Temmuz	4.19 e
Ağustos	5.56 de
Eylül	8.88 ab
Ekim	8.43 abc
Kasım	10.56 a
Aralık	9.84 a
Ocak	9.06 ab
Şubat	9.44 a
Mart	10.19 a

* P %1, aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur.



Şekil 4. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri

4.1.2. Yapraklardaki Fenolik Madde İçeriklerinin Mevsimsel Değişimleri

Yapraklarda vegetasyon boyunca saptanan fenolik madde oranları aylık sonuçlara göre istatistiksel olarak çok önemli (%1) farklılıklar göstermiştir (Tablo 4). Nisan ayının ilk haftasında alınan yaprak örneklerindeki fenolik madde içeriği diğer örnekleme dönemlerine göre en yüksek oranda belirlenmiştir (Tablo 4, Şekil 5). Nisanın 3. haftasına kadar düşüş gösteren fenolik maddeler, nisan sonunda bir miktar arttıktan sonra haziran ayına kadar hızlı bir şekilde azalmışlardır. Haziran - ağustos ayları arasında oldukça düşük düzeyde seyreden yaprak fenolikleri eylül ve ekim aylarında vegetasyon başındaki kadar olmasa da tekrar yükselmişlerdir (Şekil 5).

4.2. Kromatografi Çalışmaları

0900 Ziraat kirazının sürgün (floem + kabuk) ve yapraklarında asetik asit (AA) ve butanol: asetik asit: su (BAS) solventleriyle yapılan iki boyutlu kromatografi çalışmaları sonucunda farklı R_f değerine sahip sürgünlerde 12, yapraklarda 4 fenolik madde saptanmıştır. Yine dokulardaki hidrolize olabilen fenolikleri ayırtırmak amacıyla forestal solventiyle (asetik asit: HCl: su) yapılan tek boyutlu kromatografi çalışmaları sonucunda sürgünlerde ve yapraklarda 5 farklı fenolik madde belirlenmiştir.

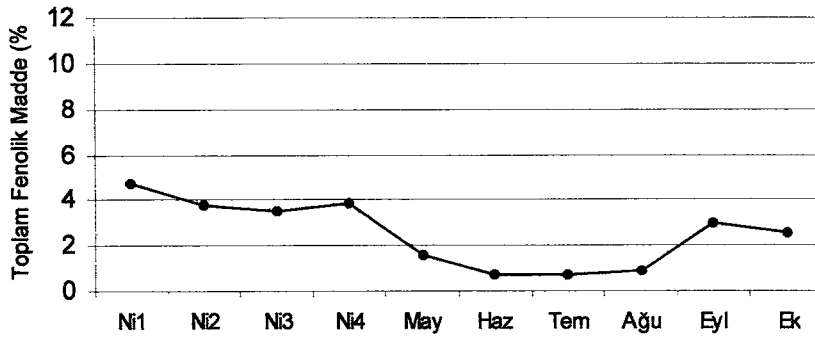
İki boyutlu kromatografi çalışmaları sonucunda saptanan fenolik maddelerin, leke no, R_f değerleri, amonyak buharı + UV ışığı altında verdikleri renkler, tanımları ve aylık yoğunluklarını ifade eden tablolarda verilmiştir (Tablo 5 ve 6). Forestal solventiyle yapılan tek boyutlu kromatografi çalışmalarının sonuçları da aynı şekilde Tablo 7 ve 8' de verilmiştir.

İki boyutlu kromatografi çalışmaları sonucunda ayırtırılan fenolik maddeler verdikleri R_f değerlerine göre grafiklenmiştir. Sürgün ve yapraklara ait ayırtırılan fenolik maddeler, örnekleme yapıldığı ayların hepsinde görülmediği için , bütün aylara ait kromatogramlardaki maddelerin ortalama R_f değerleri ve amonyak buharı + UV ışığı altında gösterdikleri renkleri dikkate alarak ortak kromatogram grafikleri Şekil 6 ve 7' de verilmiştir.

Tablo 4. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri

Aylar	Toplam Fenolik Maddeler (%)
Nisan 1. hafta	4.75 a
Nisan 2. hafta	3.73 b
Nisan 3. hafta	3.47 bc
Nisan 4. hafta	3.88 ab
Mayıs	1.61 d
Haziran	0.71 d
Temmuz	0.73 d
Ağustos	0.88 d
Eylül	2.94 bc
Ekim	2.55 c

* P %1, aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur.



Şekil 5. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri

Tablo 5. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kromatogramlarda saptanan fenolik maddeler ve vegetasyon periyodundaki aylık değişimleri

Leke No	R _f Değeri		Renk NH ₃ +UV	Tanımı	Nisan	Mayıs	Haz.	Tem.	Ağus.	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat	Mart
	AA	BAS														
1	0.05	0.28	Mat koyu sarı	Flavan ⁽¹⁾	+++	++	+	+++	+	+	++	+++	++	+	+	+
2	0.07	0.41	P.mavi yeşil (turkuaz)	Fenilpropanoid ⁽²⁾	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3	0.00	0.60	Parlak sarı	Flavonol ⁽³⁾	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	0.33	0.61	M. açık mavi-mor	Fenilpropanoid ⁽⁴⁾	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+	+	+	+
5	0.20	0.63	Parlak sarı	Flavonol ⁽⁵⁾	+++	++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6	0.32	0.66	Mat açık mavi	Fenilpropanoid ⁽⁶⁾	+++	++	+++	++	+	+	++	++	++	+	++	++
7	0.55	0.76	Mat mavi-mor	Fenilpropanoid ⁽⁴⁾	+++	++	++	+	+	++	+	+	+++	+	+	+
8	0.58	0.76	Sarı – yeşil	Flavonol ⁽⁷⁾	+	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+	+	+
9	0.65	0.78	Çok parlak mavi	Fenilpropanoid ⁽⁸⁾	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10	0.74	0.82	Hafif parlak mavi	Fenilpropanoid ⁽⁸⁾	+++	+++	+++	++	+	+	++	++	++	++	+++	+++
11	0.62	0.83	Mat koyu sarı	Flavonol	++	+	+	++	+	+	++	++	++	++	+	++
12	0.59	0.92	Mat koyu mavi	Fenilpropanoid ⁽⁹⁾	++	+	+	++	+	+	++	++	++	++	+	++

(1) Izoflavan (2) Hydroxycinnamic asit türevi (3) Quercetin (4) Hydroxycoumarin (5) Kaempferol (6) Caffeic asit (7) Flavonol glikozidi (8) Hydroxycinnamic asit (9) p-coumaric asit P. : Parlak. M. : Mat. + : zayıf. ++ : orta. +++ : yüksek

Tablo 6. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kromatogramlarda saptanan fenolik maddeler ve vegetasyon periyodundaki aylık değişimleri

Leke No	R _f Değeri		Renk NH ₃ +UV	Tanımı	Nisan		Mayıs
	AA	BAS			1. hafta	2. hafta	
1	0.11	0.50	Mat koyu sarı	Flavonol	+	+	+
2	0.36	0.69	Mat koyu sarı	Flavonol		+	+
3	0.48	0.74	Parlak mavi-yeşil (turkuaz)	Fenilpropanoid ⁽¹⁾	+++	++	+
4	0.59	0.78	Mat mavi	Fenilpropanoid ⁽²⁾	++	+	+

⁽¹⁾ Hydroxycinnamic asit ⁽²⁾ Hydroxycoumarin + : zayıf ++ : orta +++ : yüksek

Tablo 7. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde forestal solventleriyle yapılan tek boyutlu kromatogramlarda saptanan fenolik maddeler ve vegetasyon periyodundaki aylık değişimleri

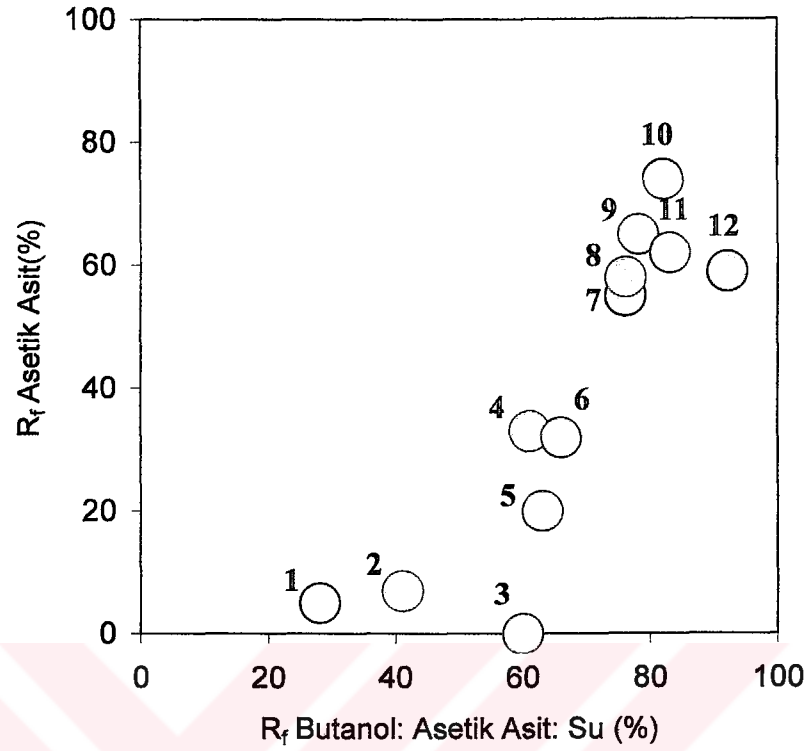
Leke No	R _f Değeri	Renk NH ₃ +UV	Tanımı	Nisan	Mayıs	Haz.	Tem.	Ağus.	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat	Mart
1	0.69	Mat koyu mor	Anthocyanin ⁽¹⁾	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
2	0.80	Parlak açık mavi	Fenilpropanoid	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	++
3	0.85	Mat açık mavi	Fenilpropanoid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	0.91	Mat koyu sarı	Flavonol glikozidi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	0.98	Mat sarı	Flavonol glikozidi		++	++	++	++							

⁽¹⁾ Cyanidin

Tablo 8. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında forestal solventleriyle yapılan tek boyutlu kromatogramlarda saptanan fenolik maddeler ve vegetasyon periyodundaki aylık değişimleri

Leke No	R _f Değeri	Renk NH ₃ +UV	Tanımı	1. hafta	2. hafta	4. hafta	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim
1	0.68	Mat koyu mor	Anthocyanin ⁽¹⁾	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	0.79	Parlak açık mavi	Fenilpropanoid	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+
3	0.85	Mat açık mavi	Fenilpropanoid	++	++	++	++	++	+	+	+	+
4	0.90	Mat koyu sarı	Flavonol glikozidi	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	0.98	Mat sarı	Flavonol glikozidi		+	++	++	++	++	++	++	++

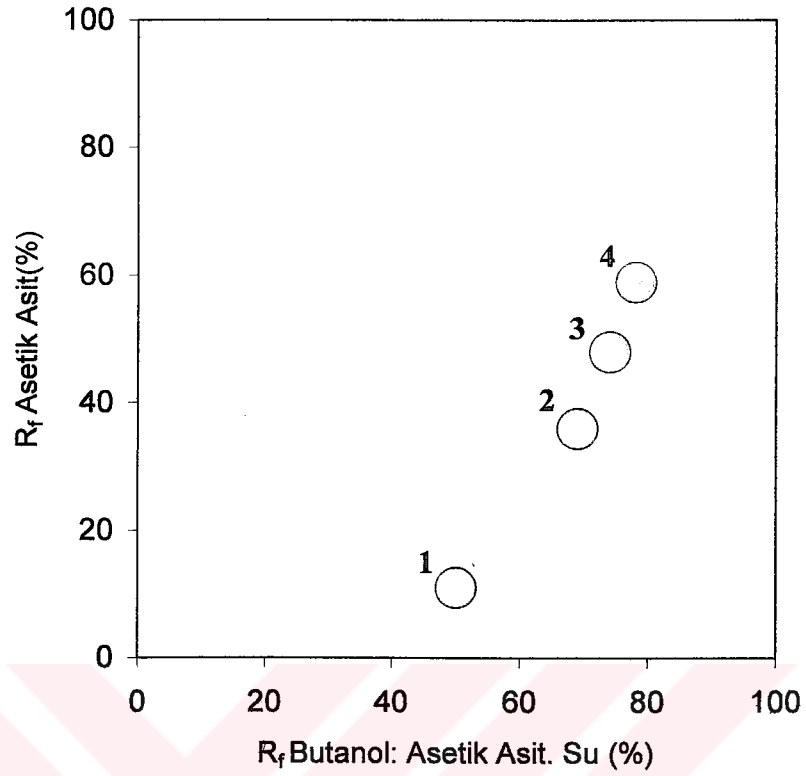
⁽¹⁾ Cyanidin



Şekil 6. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgün dokularında saptanan fenolik maddelerin iki boyutlu ortak kağıt kromatogramı¹

Lekelerin tanımları : 1: Flavan (izoflavan), 2: Fenilpropanoid (hydroxycinnamic asit türevi), 3: Flavonol (quercetin), 4: Fenilpropanoid (hydroxycoumarin), 5: Flavonol (kaempferol), 6: Fenilpropanoid (caffeic asit), 7: Fenil propanoid (hydroxycoumarin), 8: Flavonol (Flavonol glikozidi) , 9: Fenilpropanoid (hydroxy cinnamic asit), 10:Fenilpropanoid (hydroxy cinnamic asit), 11: Flavonol, 12: Fenilpropanoid (p-coumaric asit)

¹ Şekilde görülen leke renkleri maddelerin amonyak buharı + UV ışığı altında verdiği gerçek renkler değildir. Leke renkleri hakkında fikir vermesi amacıyla yaklaşık renklerle ifade edilmeye çalışılmıştır.



Şekil 7. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin yaprak dokularında saptanan fenolik maddelerin iki boyutlu ortak kağıt kromatogramı¹
(Lekelerin tanımları : 1: Flavonol, 2: Flavonol, 3: Ferilpropanoid (hydroxycinnamic asit), 4: Ferilpropanoid (hydroxycoumarin))

¹ Şekilde görülen leke renkleri maddelerin amonyak buharı + UV ışığı altında verdiği gerçek renkler değildir. Leke renkleri hakkında fikir vermesi amacıyla yaklaşık renklerle ifade edilmeye çalışılmıştır.

4.2.1. İki Boyutlu Kromatografi Çalışmaları

0900 Ziraat kiraz çeşidinde, sürgün dokularına ait kromatogramlarda UV ışık altında amonyak buharıyla yapılan incelemeler sonucunda 2, 4, 6, 7, 9, 10 ve 12 No.lu maddelerin fenolik bileşiklerden fenilpropanoid grubuna, 1 No.lu maddenin flavanoidlerden flavan grubuna, 3, 5, 8 ve 11 No.lu maddelerin de yine flavonoidlerden flavonol grubuna ait oldukları saptanmıştır (Tablo 5). Kromatogramlarda UV ışık + amonyak buharı altında görülen 1 No.lu flavan bileşiğinin izoflavanlara ait bir madde olabileceği, 3 No.lu flavonol bileşiğinin Quercetin olabileceği, 5 No.lu flavonol bileşiğinin kaempferol olabileceği, 8 No.lu flavonol bileşiğinin flavonol glikozidi olabileceği kanısına varılmıştır. Kromatogramlarda UV ışık altında parlak (flouresans) renkte görülen 9 ve 10 No.lu maddelerin hydroxycinnamic asit, 2 No.lu maddenin ise bunun türevi olabileceği düşünülmüştür. Kromatogramlarda yeri ve görüntülerine göre 4 ve 7 No.lu maddelerin hydroxycoumarin, 6 No.lu maddenin caffeic asit, 12 No.lu maddenin de P-coumaric asit olabileceği sonucuna varılmıştır.

Sürgünlerin iki boyutlu kromatogramlarının yıl boyunca aylık değişimleri incelendiğinde (Tablo 5). Hydroxycinnamic asit türevi olan ve kromatogramlarda parlak mavi-yeşil renkte görülen 2 No.lu maddenin yıl boyu değişmeden yüksek yoğunlukta görüldüğü saptanmıştır. Kromatogramlarda parlak mavi olarak görüntü veren 9 ve 10 No.lu fenilpropanoid bileşiklerinin (hydroxycinnamic asit) de her ay yüksek yoğunlukta olmasa da yıl boyu mevcut olduğu saptanmıştır. Bunlardan 9 No.lu fenilpropanoidin temmuz, ağustos ve eylül ayları orta yoğunlukta diğer tüm aylarda yüksek yoğunlukta, 10. No.lu maddenin şubat ve haziran ayları arasında yüksek diğer aylarda orta ya da zayıf yoğunlukta seyrettiği belirlenmiştir.

UV ışık altında mat açık mavi görüntü veren ve caffeic asit olabileceği düşünülen fenilpropanoidin (6 No.lu) de aynı yoğunlukta olmasa da sürgün dokularında yıl boyu mevcut olduğu saptanmıştır. Bir hydroxycoumarin bileşiği olduğu belirlenen 7 No.lu fenilpropanoid ocak ve ağustos aylarına ait kromatogramlarda saptanamamış, diğer aylarda değişen yoğunluklarda ortaya çıktığı gözlenmiştir. 7 No.lu madde ile aynı gruptan olduğu tespit edilen 4. No.lu fenilpropanoid ise aralık ve ocak ayları dışında görülmemiştir. Yine en yüksek R_f

değerine sahip ve p-coumaric asit olduğu düşünülen 12 No.lu fenilpropanoid de sadece ocak ayına ait kromatogramda saptanmıştır.

Sürgün örneklerine ait kromatogramlarda UV ışığı + amonyak buharı altında sarı renkte görünen flavonoidlerden 11 No.lu madde (flavonol grubu) orta ve zayıf yoğunlukta olmakla birlikte yıl boyu görülmüş, aynı gruptan bir flavonol glikozidi olabileceği düşünülen 8 No.lu madde ise ocak-nisan aylarında zayıf yoğunlukta diğer aylarda ise hiç bulunamamıştır. Yine, quercetin olabileceği düşünülen 3. No.lu flavonol kromatogramlarda, şubat ve mart aylarında görülememiş, yılın diğer aylarında orta ve yüksek yoğunlukta ortaya çıkmıştır. İzoflavan olabileceği kanısına varılan 1 No.lu madde ise kromatogramlarda kararsız bir durum sergilemiştir (Tablo 5).

Yaprak örnekleriyle yapılan kromatografik çalışmalarda nisan ayının 1. , 2. ve 4. haftasında ve mayıs ayında alınan örneklerde sürgünlerdeki kadar çeşitli olmasa da bazı fenolik maddeler ayrıştırılmış, ancak nisan ayının 3. haftası ve haziran – ekim aylarında yapılan kromatografik çalışmalarda fenolik maddeler ayrıştırılamamıştır. Nisan ayının 3. haftasında görülen başarısızlığın, örneklerdeki hatadan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Nitekim forestal solventi ile yürütülen kromatogramlarda da ayrışma zayıf olmuştur.

Yaprak örneklerine ait kromatogramlarda UV ışık + amonyak buharı altında yapılan incelemeler sonunda mat koyu sarı renkte görüntü veren farklı R_f değerlerine sahip iki madde (1 ve 2 No.lu) flavonol bileşiği olarak tanımlanmıştır (Tablo 6). Kromatogramlarda saptanan 3 ve 4 No.lu maddenin ise fenilpropanoid grubuna ait olabileceği kanısına varılmıştır. UV ışık altında tespit çalışmalarında parlak mavi – yeşil renkte görüntü veren fenilpropanoidin (3 No.lu madde) hydroxycinnamic asit, mat mavi renkte görüntü veren fenil propanoidin ise hydroxycoumarin bileşiği olabileceği düşünülmüştür.

Yaprakların iki boyutlu kromatogramlarında ayrışmanın izlenebildiği nisan ve mayıs aylarında hydroxycinnamic asit olarak tanımlanan 3 No.lu maddenin nisan ayı boyunca yüksek yoğunlukta olduğu, mayıs ayında miktarının azaldığı görülmüştür (Tablo 6). Buna göre daha büyük R_f değeri gösteren ve hydroxycoumarin olabileceği düşünülen 4 No.lu madde ise nisan – mayıs aylarında orta ve zayıf yoğunlukta seyretmiştir. Yaprak kromatogramlarında

flavonol bileşiği olarak tanımlanan 1 ve 2 No.lu maddenin nisan ve mayıs aylarında yoğunluğunun düşük olduğu saptanmış, 2 No.lu maddenin ise nisan ayında düşük yoğunlukta olduğu mayıs ayında kaybolduğu gözlenmiştir.

4.2.2. Tek Boyutlu Kromatografi alışmaları

Forestal solventiyle yapılan tek boyutlu kromatogramlarda, sürgün ve yapraklara ait 5' er fenolik madde saptanmıştır (Tablo 7 ve 8). Sürgün ve yaprakların HCl ile hidrolizi sonucunda her ikisinde de sırasıyla 0,69 ve 0,68 R_f değerine sahip Anthocyanin bileşiği (1 No.lu lekeler) ortaya çıkmıştır. Bu bileşiğin cyanidin maddesi olabileceği kanısına varılmıştır.

Sürgün ve yapraklara ait forestal kromatogramlarında UV ışık ve amonyak buharı altında, parlak açık mavi görüntü veren maddenin (2 No.lu) bir fenilpropanoid bileşiği olduğu belirlenmiştir. Aynı şartlarda mat açık mavi renk vererek ayrışan maddenin de (3 No.lu) yine fenilpropanoid bileşiği olabileceği kanısına varılmıştır (Tablo 7 ve 8).

Forestal kromatogramlarında büyük R_f değerleriyle ayrışan ve UV + amonyak buharı altında mat koyu sarı ve mat sarı renkte görünen lekelerin de (4 ve 5 No.lu) flavonol glikozitlerine ait maddeler olabileceği kanısına varılmıştır (Tablo7 ve 8).

Sürgünlerin forestal solventleriyle yapılan tek boyutlu kromatogramlarının yıl boyunca aylık değişimleri incelendiğinde cyanidin bileşiğinin ocak ayı dışında yıl boyu değişmeden yüksek yoğunlukta kaldığı saptanmıştır (Tablo 7). Aynı dokulara ait kromatogramlarda 0,80 R_f değerine ayrışan ve UV + amonyak buharı altında parlak açık mavi görüntü veren fenilpropanoid bileşiğinin (2 No.lu madde) nisan – ağustos ayları arasında yüksek yoğunlukta mart ve eylül aylarında orta, diğer aylarda zayıf yoğunlukta seyrettiği gözlenmiştir. Mat açık mavi görüntü ile ayrışan 3 No.lu ve mat koyu sarı görüntü ile ayrışan 4 No.lu maddelerin yıl boyu değişmeden zayıf yoğunlukta görüldüğu saptanmıştır. Mat sarı renkte ve kromatogramlarda en yüksek R_f değerine ile ortaya çıkan flavonol glikozidi (5 No.lu leke) ise mayıs – ağustos ayları arasında orta yoğunlukta görülmüş, yılın diğer aylarında mevcut olmadığı belirlenmiştir (Tablo 7).

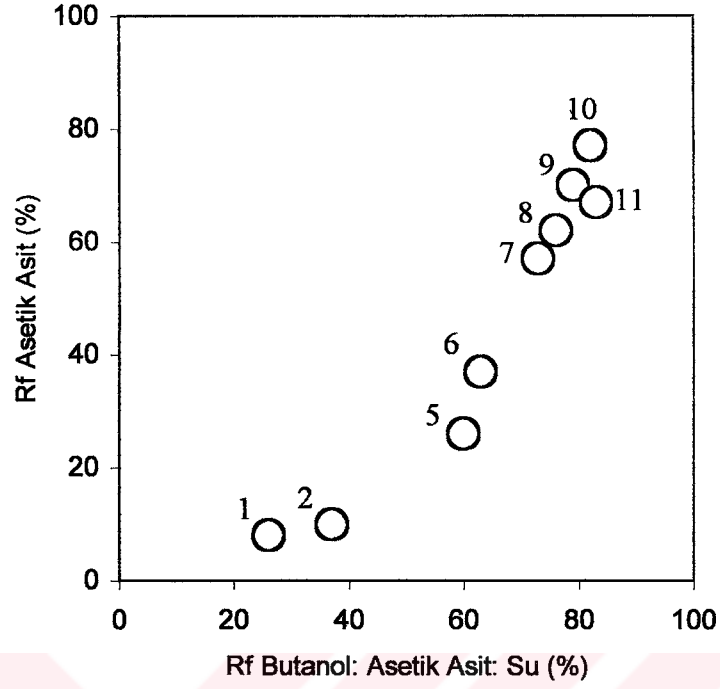
Yaprakların forestal solventleriyle oluşturulan kromatogramlarında vegetasyon boyunca meydana gelen değişimler incelendiğinde cyanidin bileşiğinin (1 No.lu leke) alınabildiği vegetasyon (nisan – ekim) boyunca sürgünlerdeki gibi yüksek yoğunlukta görüldüğü saptanmıştır (Tablo 8). Kromatogramlarda 2 No.lu madde olarak ayrılan fenilpropanoidin nisan ve mayıs aylarında yüksek yoğunlukta olduğu görülmüş, diğer aylarda miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Yine bir fenilpropanoid olarak tanımlanan 3 No.lu madde nisan – mayıs – haziran aylarında orta yoğunlukta görülmüş, vegetasyon sonuna kadar da yoğunluğu azalmıştır. 4 No.lu flavonol glikozidinin vegetasyon boyunca değişmeden düşük yoğunlukta seyrettiği, 5 No.lu flavonol glikozidinin ise nisan sonu ile temmuz arasında orta yoğunlukta ortaya çıktığı saptanmıştır (Tablo 8).

4.2.3. Sürgün Dokularındaki Fenoliklere Ait Aylık Kromatogramlar

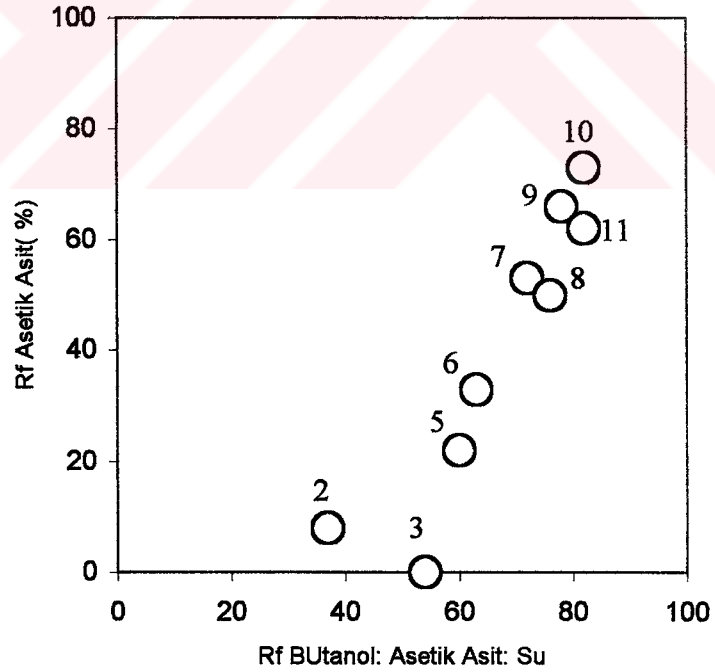
Mart ayında (vegetasyon başında) örneklenen sürgün dokularının ekstraktında toplam 9 farklı fenolik madde ayrıştırılmıştır (Şekil 8). Ana kromatogramda (Şekil 6) 3, 4 ve 12 No. ile gösterilen fenolik maddeler mart ayında bulunamamıştır. Birer hydroxycoumarin bileşiği olan 4 ve 12 No.lu maddeler belirlenmemiş olmasına karşılık hydroxycinnamic asit bileşikleri olarak tanımlanan 2, 9 ve 10 No.lu maddeler mart ayı kromatogramlarında belirgin bir şekilde görülmüşlerdir. Birer flavonol olan 5, 8 ve 11 No.lu maddelerin, bu aya ait kromatogramda tespit edilmelerine karşılık yine bir flavonol olan Quercetin' e rastlanmamıştır (Şekil 8).

Nisan ayı kromatogramlarında 1, 4 ve 12 No.lu maddeler bulunamamış, ana kromatogramda gösterilen (Şekil 6) diğer 9 fenolik madde başarılı bir şekilde ayrıştırılmıştır (Şekil 9).

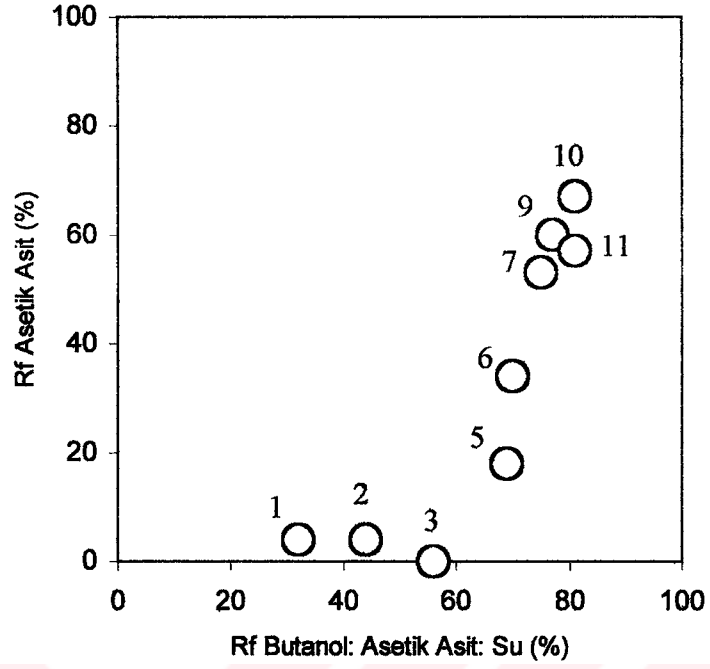
Mayıs ve haziran aylarına ait kromatogramlarda aynı fenolik maddelerin ayrıştığı saptanmıştır (toplam 9 madde). Mart ve nisan aylarında görülen 8 No. lu madde (flavonol glikozidi), Mayıs ve haziran aylarına ait kromatogramlarda bulunamamıştır (Şekil 10 ve 11). Ancak nisanda kaybolan 1 No.lu maddenin Mayıs ve haziran aylarında ortaya çıktığı gözlenmiştir.



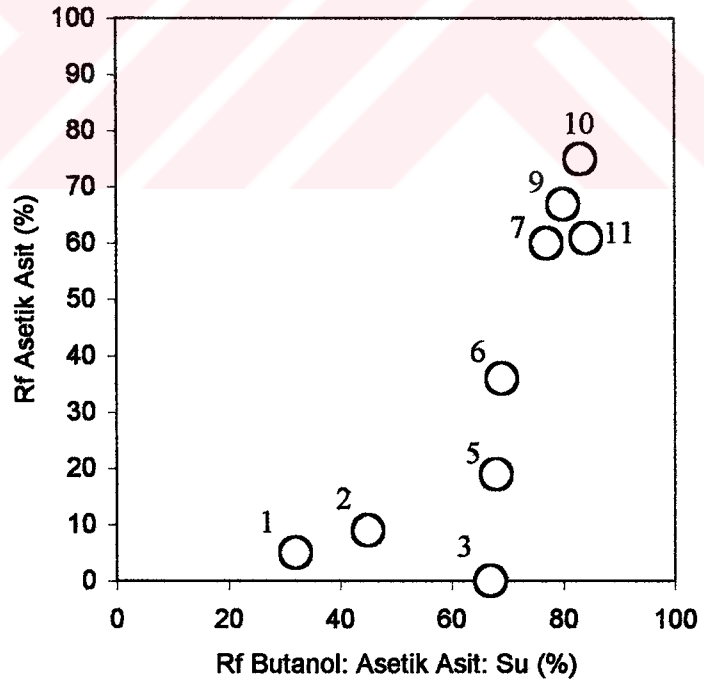
Şekil 8. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde mart ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



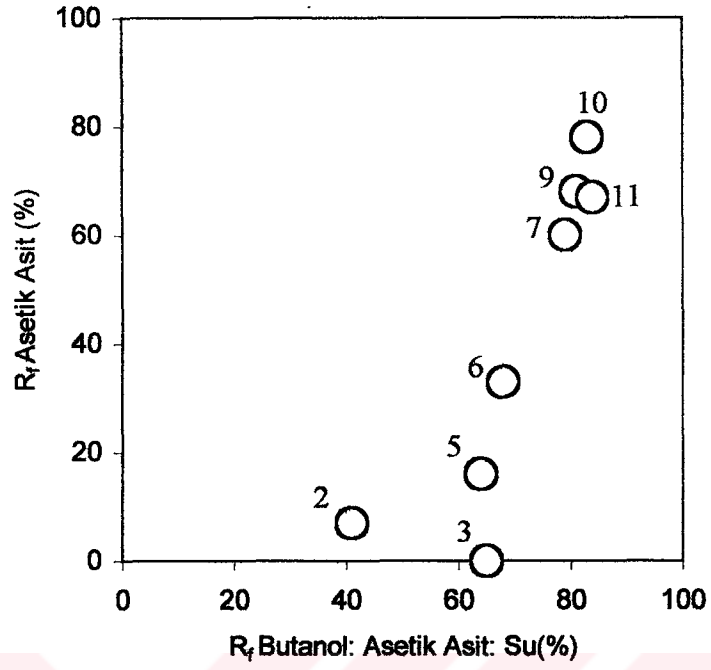
Şekil 9. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde nisan ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



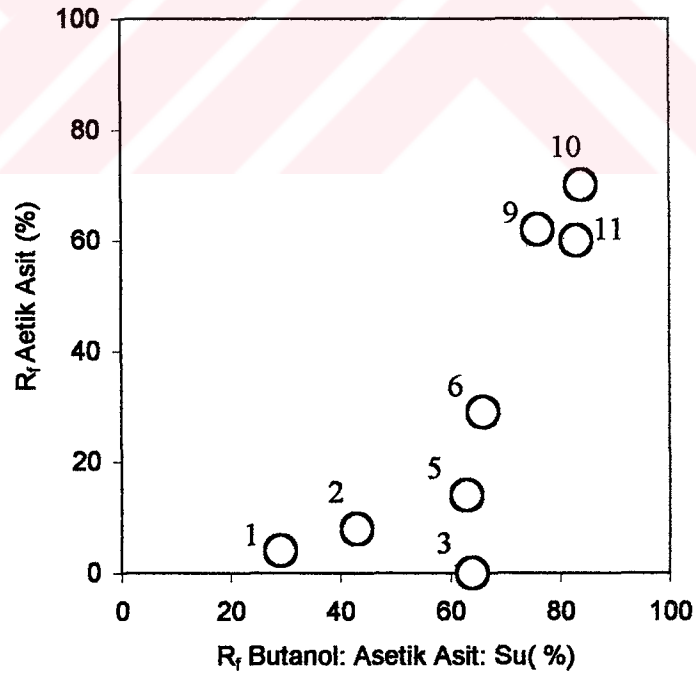
Şekil 10. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde mayıs ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



Şekil 11. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde haziran ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



Şekil 12. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde temmuz ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



Şekil 13. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde ağustos ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı

Temmuz ayı kromatogramlarında da toplam 8 fenolik madde tespit edilmiştir (Şekil 12). Temmuz ayından farklı olarak ağustos ayında 1 No.lu madde tekrar ortaya çıkmış, ancak 7 No.lu madde (fenilpropanoid bileşiği) görülememiştir (Şekil 13).

Eylül , ekim ve kasım ayı kromatogramlarında aynı fenolik maddeler ayrıştırılmıştır (9 madde). Bu aylarda 4 No.lu madde kromatogramlarda ortaya çıkmamıştır (Şekil 14, 15 ve 16).

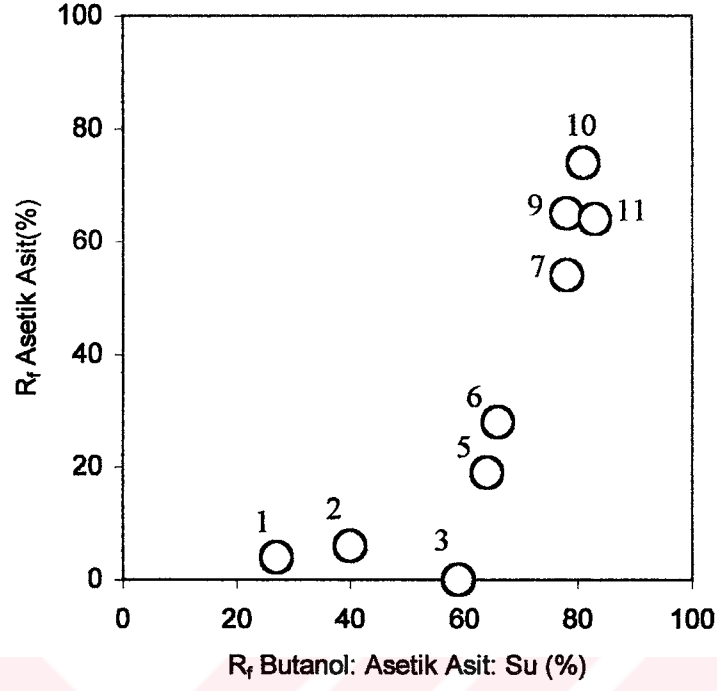
Aralık ayı kromatogramlarında toplam 10 madde ayrıştırılmıştır. Ocak ayı dışında diğer ayların kromatogramlarında görülemeyen 4 No.lu madde bu ayda ortaya çıkmıştır (Şekil 17). Ancak 8 ve 12 No.lu maddeler yine görülememiştir. Ocak ayı kromatogramında diğer aylarinkine göre (Şekil 18) en fazla (toplam 11 madde) madde gözlenmiştir. Bu ayda diğer tüm aylardan farklı olarak ana kromatogramda 12 No ile gösterilen ve en yüksek R_f değerine sahip bir fenilpropanoid maddesi (p – coumaric asit) saptanmıştır. Ancak yine bir fenilpropanoid olarak tanımlanan 7 No.lu maddeye ocak ayı kromatogramında rastlanmamıştır (Şekil 18).

Şubat ayı kromatogramında ocak ayına ait kromatogramda gözlenen 3, 4 ve 12 No.lu maddeler belirlenememiş, ancak 7 No.lu maddenin varlığı saptanmıştır (Şekil 19).

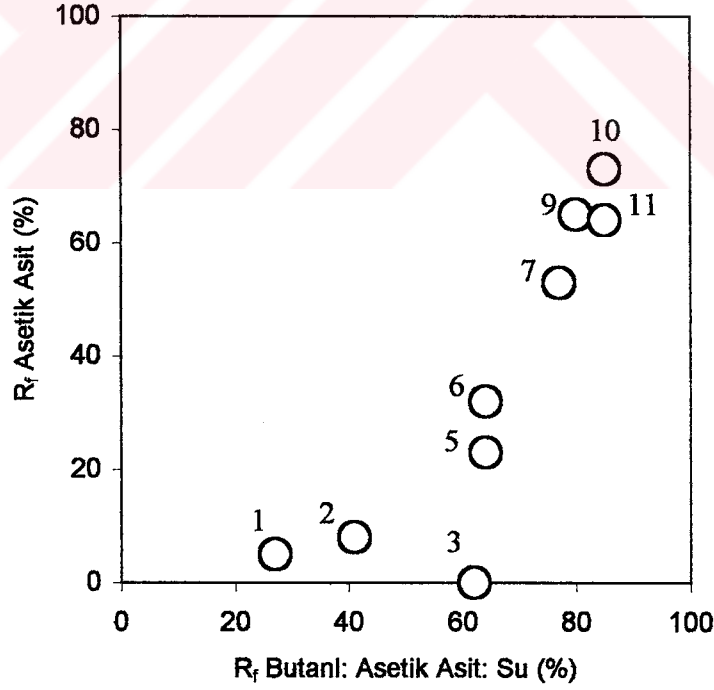
4.2.4. Yaprak Dokularındaki Fenoliklere Ait Aylık Kromatogramlar

Nisan ayının ilk haftasında (vegetasyonun başında) örneklenen yaprak dokularının ekstraktında 3 farklı R_f değerine sahip fenolik madde ayrıştırılmıştır (Şekil 20). Yapraklara ait ana kromatogramda (Şekil 7) 2 No' ile gösterilen fenolik maddeye bu dönemde rastlanmamıştır. Ana kromatogramda flavonol bileşiği olarak tanımlanan bu maddenin olmamasına rağmen farklı R_f değerindeki başka bir flavonol (1 No.lu leke) ve fenilpropanoid grubuna ait olan hydroxycinnamic asit (3 No.lu leke) ve hydroxycoumarin (4 No.lu leke) bileşikleri belirgin olarak ayrıştırılmıştır (Şekil 20).

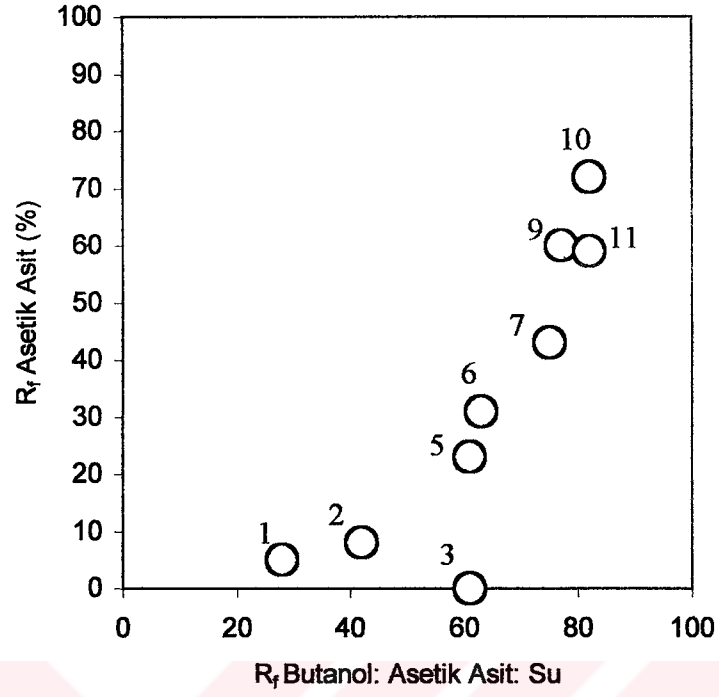
Nisan ayının ikinci haftasında alınan örneklerle yapılan kromatografide ana kromatogramda tespit edilen flavonol ve fenilpropanoid bileşikleri başarılı bir şekilde ayrıştırılmıştır (Şekil 21).



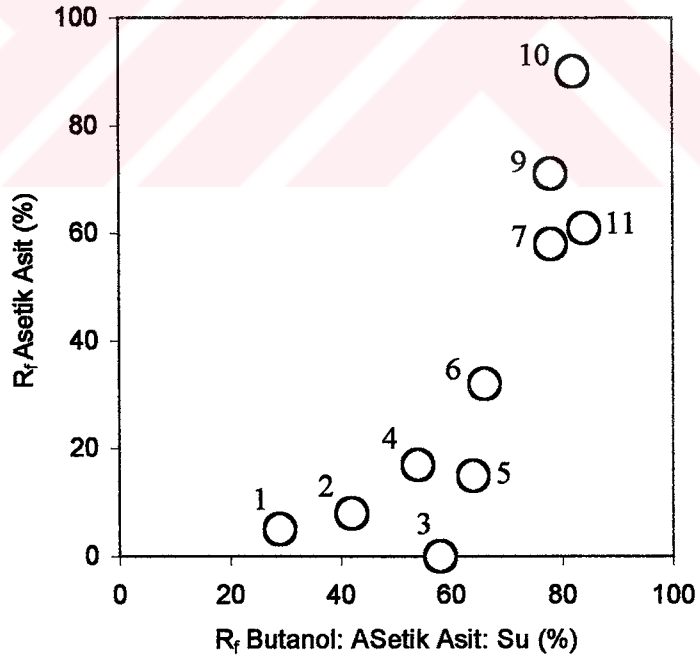
Şekil 14. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde eylül ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



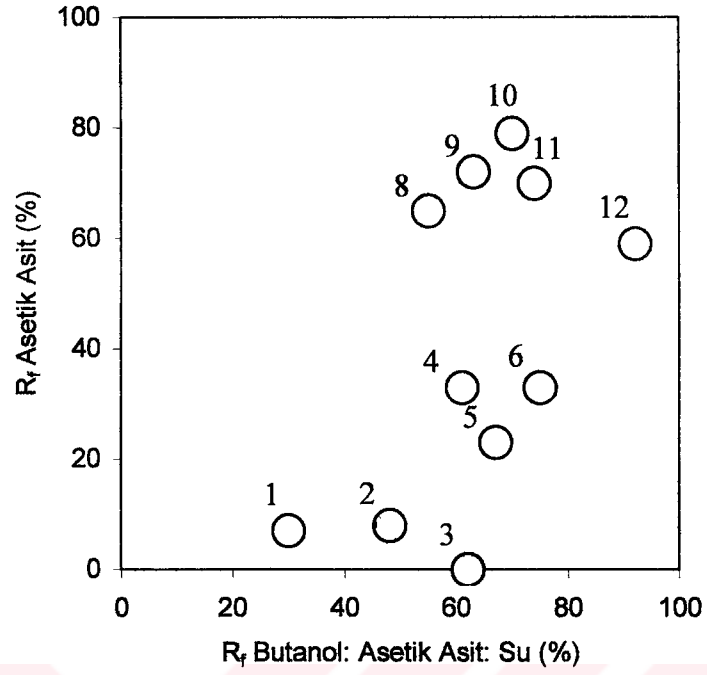
Şekil 15. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde ekim ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



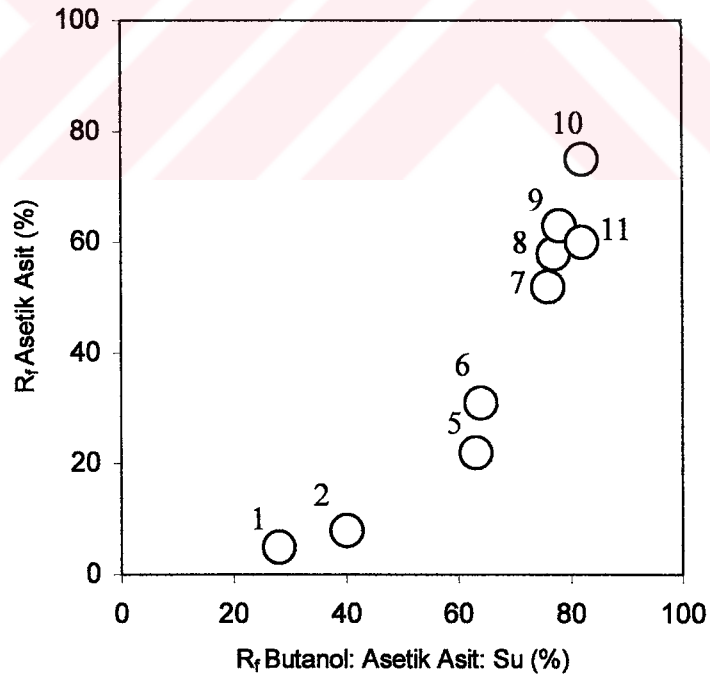
Şekil 16. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde kasım ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



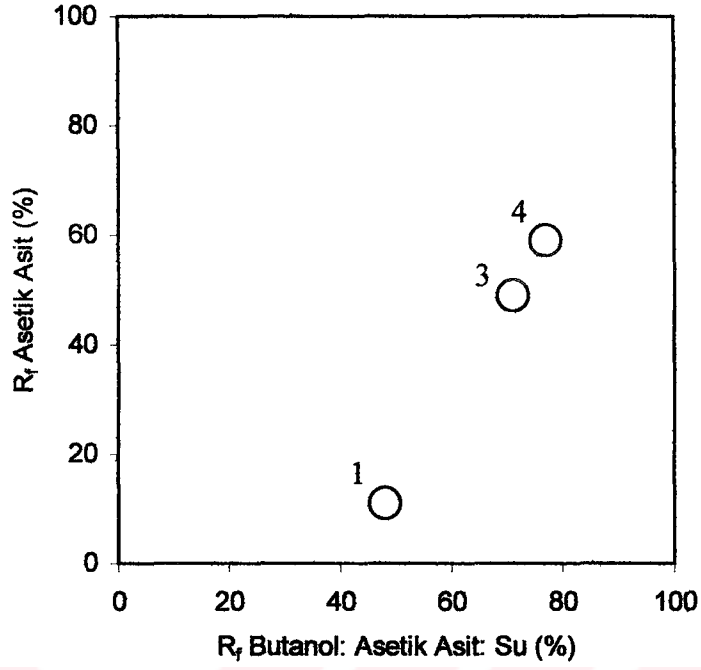
Şekil 17. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde aralık ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



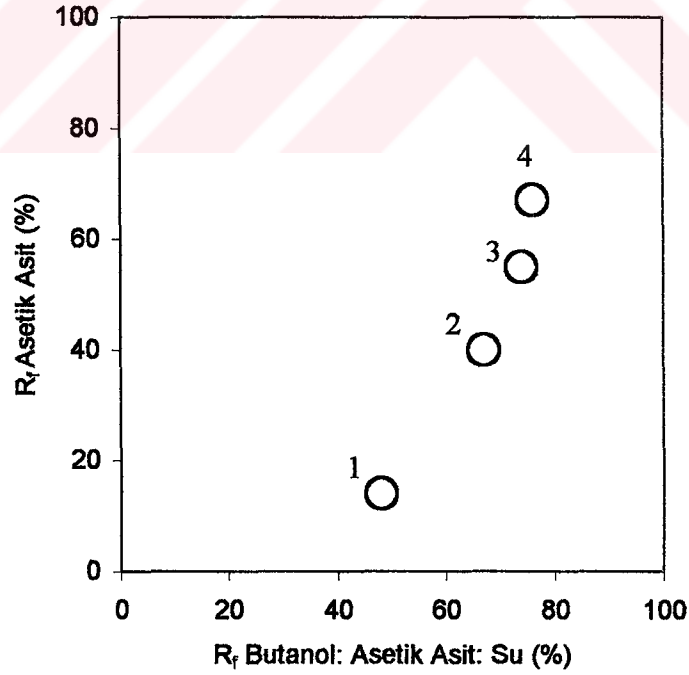
Şekil 18. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde ocak ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



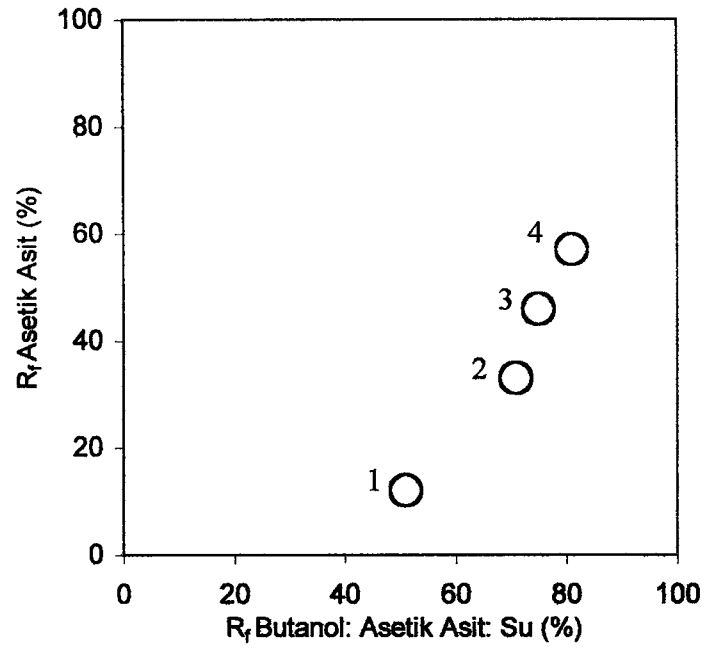
Şekil 19. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgünlerinde şubat ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



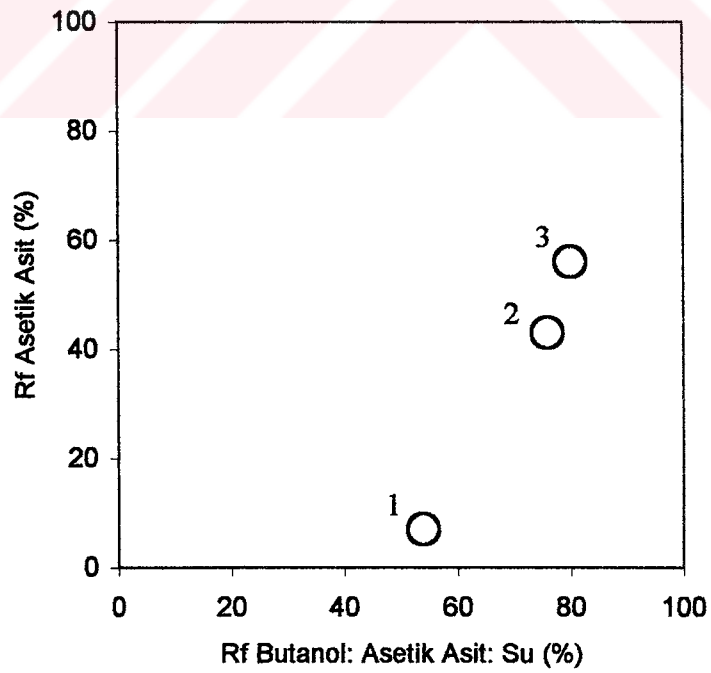
Şekil 20. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında nisan ayının 1. haftasında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



Şekil 21. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında nisan ayının 2. haftasında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



Şekil 22. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında nisan ayının 4. haftasında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı



Şekil 23. 0900 Ziraat kiraz çeşidinin yapraklarında mayıs ayında saptanan fenolik maddelerin AA ve BAS solventleriyle yapılan iki boyutlu kağıt kromatogramı

Nisan ayının 4. haftasına ait kromatogramlarda da aynı ayın 2. haftasına ait kromatogramlardaki dağılım elde edilmiştir (Şekil 22). Mayısta örneklenen yaprak dokularının ekstraktı ile yapılan kromatogramda 2 No.lu madde ayrıştırılmamış, diğer 3 maddenin ise başarılı bir şekilde ayrıştığı tespit edilmiştir (Şekil 23).



5. TARTIŞMA

5.1. Toplam Fenolik Maddeler

0900 Ziraat kiraz ağaçlarının sürgün (floem ve kabuk dokusu) ve yapraklarındaki fenolik maddelerin mevsimsel değişimlerini kantitatif olarak saptamak amacıyla yapılan bu çalışmada toplam fenolik maddelerin yıl veya vegetasyon boyunca düzensiz bir şekilde değiştiği gözlenmiştir (Şekil 4, 5).

Sürgün dokularında saptanan fenolik maddeler vegetasyonun başlangıcı olan nisan ayından, büyümenin yavaşladığı ve durduğu eylül ayına kadar dalgalanma göstermiş, eylül ayından ilkbahar başına kadar çok büyük değişimler gözlenmemiştir (Şekil 4).

Fenolik maddeler konusunda yapılan birçok çalışmada, bunlardan bazılarının zararlı ışık ve patojen saldırılarına karşı bitkilerin savunma sistemlerinde rol aldıkları gösterilmiştir (Swain, 1977; Harborne, 1979; Hedin ve Waage, 1986; Lamb ve ark., 1989; Ellis, 1997).

Odunlu bitkilerin çeşitli organlarında fenolik madde miktarının mevsimsel olarak değiştiği bilinmektedir (Feeny, 1968; Cooper – Driver ve ark., 1977; Haukioja ve Niemela; 1979; Haukioja, 1990; Marks, 1985; Özeke ve Tanrısever,1995). Bu değişimlerin nedenleri L- phenylalanine ammonia lyase (PAL) enzim aktivitesindeki değişimle açıklanabilir (Camm ve Towers, 1973; Jones, 1984). Herbivor hayvanlar ve özellikle böcek larvaları hava sıcaklığı belli bir seviyeye erişince aktif olurlar. Sıcaklıktaki artış da gün uzunluğu ile ilişkilidir. Gün uzunluğundaki artış ise fenolik maddelerin sentezinde temel kontrol edici enzim olan PAL aktivasyonunu sağlar. Böylece gün uzunluğunun artması sıcaklığı artırarak herbivor ve patojenlerin faaliyetlerini hızlandırırken, bitkilerde de bunlara karşı caydırıcı veya direnç kazandıran fenolik maddelerin sentezini başlatarak, biriktirilmesini sağlar (Bilgener, 1999).

Araştırmamızda sürgünlerde en düşük fenolik madde içeriği temmuz ayında alınan örneklerde tespit edilmiştir. Nisan ve mayıs aylarında orta düzeyde saptanan fenolik madde oranları haziran ayında ani bir yükselme göstermiş ve daha sonra yine öncekine göre (mayıs – haziran arası) daha hızlı bir şekilde temmuza kadar azalmıştır. Fenolik maddelerdeki haziran ayında

görülen artışı yukarıda da belirtildiği gibi sıcaklık ve gün uzunluğunun artışıyla açıklanabilir. Aynı zamanda kiraz meyveleri haziran ayında olgunlaşma sürecine girerler ve çevreden çeşitli patojenlerin saldırısına maruz kalırlar ve bunlara savunma geliştirmek amacıyla fenolikler artış gösterebilir. Aynı zamanda bu dönemde metabolitlerin meyve olgunlaştırılması için harcanması, floem dokularında hasat öncesi fenoliklerin oran olarak fazla ölçülmesine yol açabilir (Bilgener, 1999). Hasattan sonra temmuz ayında fenoliklerin çok azalması, aktif büyümenin azalması ve hatta durma periyodunun başlangıcına rastlamaktadır. Bitkilerde fenol sentezinin şekerlerin desteğine bağlı olduğu Tena ve ark (1984) tarafından ifade edilmiş ve son zamanlarda Feucht ve ark (1998) tarafından da teyit edilmiştir. Bu durumda gerek yaz ortasında yüksek sıcaklığın etkisiyle büyümenin azalması, dolayısıyla fenoliklerin yapımında kullanılabilecek şekerlerin azalması, gerekse meyve hasadından sonraki devreye rastlaması nedeniyle kiraz sürgünlerinde fenoliklerin azalması ortaya çıkabilir. Nitekim Bilgener (1999), fındık ve kestane sürgünlerinin mevsimsel fenolik değişimlerini belirlemek amacıyla yaptığı bir çalışmada her iki bitki dokularında da hasat sonrası fenoliklerin azaldığını saptamış ve bu durumu hasat sonrası primer metabolitlerin oran olarak artışına bağlamıştır.

Araştırmamızda sürgünlerdeki fenolik maddelerin temmuz ayından sonra eylül ayına kadar hızlı bir artış gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4). Odunlu bitkilerde yaz ortasındaki dinlenme periyodu ile birlikte lignifikasyon (odunlaşma) işlemi başlar. Böylece daha fazla fenolik maddeye ihtiyaç duyulur. Kiraz sürgün dokularında fenolik maddelerin sonbahar sonu ve kış ayları boyunca fazla değişmeden yüksek düzeyde kalması da yine lignifikasyonun bir sonucu olarak düşünülebilir.

Araştırmamızda kiraz yapraklarındaki fenolik maddeler sürgünlerdekine göre vegetasyon boyunca daha az dalgalanma göstermiştir. Nisan başından haziran ayına kadar (nisan sonundaki bir parça artış dışında) fenoliklerde sürekli bir azalma saptanmıştır (Şekil 5). Haziran - ağustos aylarında çok düşük ve yaklaşık aynı oranlarda seyreden fenolikler eylül ayında vegetasyon başındaki kadar olmasa da yüksek değere ulaşmıştır.

Sürgünlerin aksine yapraklarda genel olarak daha düşük fenolik madde oranları tespit edilmiştir. Bu durum bitkilerin optimal savunma teorisiyle açıklanabilir (Rhoades ve Cates, 1976; Rhoades, 1979). Bu teoriye göre bitkiler herbivor veya patojen saldırısı riskiyle doğru, savunma maliyetiyle ters orantılı olarak biyokimyasal savunma sistemi geliştirirler. Örneğin bitkinin odunlu organları yıl boyu, yapraklar vegetasyon boyunca (oluştuklarından dökülünceye kadar) saldırı riskiyle karşı karşıyadır. Yine büyümekte olan sürgünler ve yeni yapraklar, yaşlı sürgünler ve olgun yapraklardan daha değerlidir; dolayısıyla bu organların kimyasal koruyucu maddeleri daha fazla bulundurması beklenir. Bununla birlikte odunsu dokular yıl boyu ihtiyaç duydukları savunmalarının maliyetini azaltmak için depolanmasında fazla enerji gerektirmeyen lignin ve tanen gibi sekonder maddelere yönelirler (Rhoades, 1979; Bilgener, 1999). Nitekim araştırmamızda vegetasyon başında birer haftalık aralıklarla örneklenen yapraklarda fenolik maddeler nispeten yüksek oranlarda belirlenmiş, daha sonra bunların, yaz aylarındaki yaprakların olgunlaşma döneminde çok azaldığı tespit edilmiştir. Yazın dinlenme dönemindeki bu azalma nispeten sürgünlerde de görülmüştür. Bu durum vegetatif büyümenin azalmasına paralel olarak fenolik maddelerin de azalması şeklinde açıklanabilir.

Yapraklarda fenoliklerin ağustos ayından sonra eylüle kadar olan hızlı artışı yaşlanmanın bir sonucu olarak gösterilebilir. Nitekim Bilgener (1999) fındık ve kestane yapraklarında, Rodriguez ve Canal (1988) fındık yapraklarında vegetasyon sonunda (ekim – kasım) fenolik maddelerde bir artış olduğunu saptamışlardır. Ancak Harborne (1980) yaprakların yaşlanma ve dökülme işleminin toplam fenoliklerden ziyade bir veya birkaç bireysel fenolik bileşiğe bağlı olabileceğini öne sürmüştür.

5.2. Aylık Kromatografi Çalışmaları

Üzerinde çalışılan 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgün ve yaprak dokularına ait ekstraktlarının asetik asit ve butanol: asetik asit : su (BAS) solventleriyle yapılan iki boyutlu kromatografi çalışmaları sonucunda sürgünlerde 12, yapraklarda 4 farklı fenolik madde ayrıştırılmıştır (Şekil 6, 7 ve

Tablo 5, 6). Forestal solventiyle (asetik asit : HCl : Su) yapılan çalışmalarda ise sürgünlerde ve yapraklarda 5' er fenolik madde saptanmıştır (Tablo 7, 8).

Sürgün ve yapraklarda ayrıştırılan fenolik maddeler yıl boyunca veya vegetasyon boyunca yoğunluk ve varlık olarak değişim göstermişlerdir. Sürgünlerde en büyük R_f değeri ile ayrışan ve UV + Amonyak buharı karşısında verdiği renge göre *p*- coumaric asit olarak tanımlanan 12 No.lu madde sadece yılın en soğuk ayı olarak ifade edilebilecek ocak ayında ortaya çıkmıştır. Kuvvetli bir büyüme inhibitörü olarak bildirilen (Rudnicki ve ark. 1973) *p*- coumaric asitin bu ayda ortaya çıkması, bitkinin derin dinlenmede olmasının doğal bir sonucu olsa gerekir. Yine bir hydroxycoumarin bileşiği olan 4 No.lu maddenin yıl boyunca sadece aralık ve ocak ayında görülebilmesi de bu sonucu desteklemektedir.

Sürgün dokularına ait kromatogramlarda flavonol glikozidi olarak tanımlanan 8 No.lu fenolik madde ocak ayından nisan ayına kadar düşük yoğunlukta görülmüş, ancak yılın diğer aylarında kaybolmuştur. Sürgün kromatogramlarında 4,8 ve 12 No.lu bu maddeler dışında diğerleri hemen her ay farklı yoğunlukta ortaya çıkmışlardır. Özellikle hydroxycinnamic asit olarak tanımlanan 2,9 ve 10 No.lu maddeler yıl boyunca genellikle yüksek yoğunlukta saptanmışlardır. Yine kromatogramlarda ortaya koydukları R_f değeri ve renklerinden quercetin ve kaempferol bileşikleri (3 ve 5 No.lu maddeler) yıl boyunca (quercetin şubat ve mart aylarında görülmedi) genellikle yüksek yoğunlukta bulunmuşlardır (Tablo 5).

Kiraz sürgünlerinin toplam fenolik madde içeriklerinin yıllık değişimleri ile (Tablo 3, Şekil 4) iki boyutlu kromatografi çalışmalarında ayrıştırılan fenolik maddelerin yıllık değişimleri karşılaştırıldığında, yıl içerisinde en düşük fenolik madde içeriğinin saptandığı temmuz ve ağustos aylarında, aylık kromatogramlarda da (Şekil 12 ve 13) yine en az sayıda (8' er adet) fenolik madde ortaya çıkmıştır.

Araştırmamızda kiraz yapraklarında vegetasyonun başlangıcı olan nisan ve mayıs aylarında en fazla 4 fenolik madde ayrıştırılmış, vegetasyonun sonuna kadar (ekim ayı) olan diğer 5 aya ait kromatogramlarda ya hiç fenolik madde ayrıştırılamamış ya da bir adet fenolik madde (3 No.lu madde) görülebilmektedir.

Yapraklardaki bu durum toplam fenolik maddelerin de yaz ayları boyunca çok düşük olarak saptanması ile açıklanabilir (Şekil 5). Nitekim nisan ve mayıs ayları dışındaki kromatogramlarda sadece eylül ayında bir adet fenolik madde ayrıştırılabilmektedir. Yaprakların yıllık toplam fenolik madde içerikleri tablosuna (Tablo 4, Şekil 5) bakıldığında da eylül ayındaki bir parça artışın olması bu durumu açıklamaktadır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızda ülkemizde ve dünyada üstün özellikleriyle tanınan 0900 Ziraat kiraz çeşidinin sürgün (floem ve kabuk dokusu) ve yapraklarındaki toplam fenolik maddelerin mevsimsel değişimleri incelenmiştir. İnceleme sonucunda sürgünlerde ve yapraklarda saptanan fenolik madde oranlarının aylara göre istatistiksel olarak çok önemli düzeyde farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Toplam fenolik maddelerin, sürgünlerde kış dinlenmesine girerken ve dinlenme döneminde (eylül – mart ayları arası) diğer aylara göre yüksek oranlarda olduğu belirlenmiştir. Nisan ve mayıs aylarında oldukça azalan fenolik maddeler haziranda ani bir artış göstermiş, hemen ardından temmuz ayında yılın en düşük seviyesine inmiş temmuzdan sonra ağustos ayında tekrar yükselişe geçmiştir.

Yapraklarda yapılan çalışmalarda toplam fenolik maddeler, yaprakların açmaya başladığı nisan ayının ilk haftasında, diğer dönemlere göre en yüksek oranda belirlenmiştir. Nisan ayının 3. haftasına kadar düşüş gösteren fenolik maddeler, nisanın son haftasında bir miktar arttıktan sonra haziran ayına kadar hızlı bir şekilde azalmıştır. Haziran ve ağustos ayları arasında oldukça düşük seviyelerde seyreden fenolik maddeler, vegetasyonlarını tamamladıkları eylül ve ekim aylarında vegetasyon başındaki kadar olmasa da tekrar yükselmişlerdir.

Araştırmamızda, sürgün ve yapraklardan elde edilen ekstraktlar ile iki boyutlu kromatografi çalışmaları sonucunda R_f değerleri farklı sürgünlerde 12, yapraklarda 4 farklı fenolik madde ayrıştırılmıştır. Bu maddeler sürgünlerde izoflavan, hydroxycinnamic asit türevi, quercetin, hydroxycoumarin (2 adet), kaempferol, caffeic asit, flavonol glikozidi, hydroxycinnamic asit (2 adet) ve *p*-coumaric asit olarak tanımlanmış, bir adet de niteliği tanımlanamayan flavonol bileşiği tespit edilmiştir. Yapraklarda ise nisan ve mayıs aylarında flavonol (2 adet), hydroxycinnamic asit ve hydroxycoumarin olarak tanımlanan R_f değerleri farklı 4 madde ayrıştırılabilmiş, vegetasyon sonuna kadar (ekim ayı) olan diğer 5 ayda ise eylül ayında ayrıştırılan hydroxycinnamic asit hariç herhangi bir maddeye rastlanmamıştır.

Forestal solventiyle yapılan tek boyutlu kromatogramlarda sürgünlerde ve yapraklarda cyanidin, fenilpropanoid (2 adet), flavonol glikozidi (2 adet) olarak tanımlanan R_f değerleri farklı 5' er fenolik madde saptanmıştır.

Araştırmamızda 0900 Ziraat kiraz çeşidine ait sürgün (floem ve kabuk) ve yaprak dokularındaki fenolik maddelerin kantitatif ve kalitatif olarak mevsimsel değişimleri ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlar bundan sonra bu konuda yapılacak çalışmalara temel oluşturacaktır. Aynı zamanda sekonder maddelerden olan fenolik bileşiklerin, kirazlarda yıl içerisindeki dağılımlarının bilinmesi gelecekte tomurcuk dinlenmesi ve farklılaşması, çeşitli stres koşullarına tepki ve adaptasyon, büyümeyle ilgili olarak diğer büyümeyi düzenleyici maddelerle etkileşimi ve bitkilerin savunma sistemlerini geliştirme konularında yapılacak çalışmalara yarar sağlayacaktır.



7. KAYNAKLAR

- Anonim, 1992.** Kiraz Çeşit Kataloğu. Tarım ve Köy. Bak. Yay. No: 359, Ankara.
- Anonim, 2003a.** <http://www.fao.org>
- Anonim, 2003c.** <http://www.fao.org>
- Anonim, 2003b.** <http://www.tarim.gov.tr>
- Bate- Smith, E.C. ; Metcalfe, C.R. 1957.** Leucoanthociyanins. 3. The Nature and Systematic Distribution of Tannins in Dicotyledonous Plants. J. Linn. Soc. of London Botany, LV 362: 669 – 705.
- Bate- Smith, J.B. 1962.** The Phenolic Constituents of Plants and Their Taxonomic Significance 1.Dicotyledons.J. Linn.Soc.(Bot.),58,371:95-173.
- Bilgener, M. 1988.**Chemical Components of Howler Monkey (*Alouatta palliata*) Food Choice and Kinetics of Tanin Binding with Natural Polymers. Ph. D. Dissertation, Boston University.
- Bilgener, K.Ş. 1999.** Fındık (*Coryllus avellana* L.) ve Kestane (*Castanea sativa* Mill.) Yaprak ve Sürgünlerinde Fenolik madde içeriklerinin Mevsimsel değişimleri. Tr. J. of Agriculture and Forestry 23 : 5(ek sayı) , 1215-1221.
- Bilgener, Ş. 2002.** Yumuşak ve Sert Çekirdekli Meyveler. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı. Yayın No: 46, Kurupelit, Samsun.
- Bravo, L. 1998.** Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance,Nutrition Reviews, 56 (11), 317-333.
- Camm, E.I., Towers , G.H.N. 1973.** Review Article Phenylalanine Ammonia Lyase. Phytochemistry 12:961-973. Pergamon Press. England.
- Cooper – Driver G.A., Finch. S., Swain. T. 1977.** Seasonal Variation in Secondary Plant Compounds in Relation to Palatability of *Pteridium Aquilum*. Biocem.,Syst. And Ecol., 5: 177- 183.
- Ellis, B.E. 1997.** Metabolism of Defence and Communication, pp. 148-160.-In: DENNIS D.T, D.H. TURPIN, D.D. LEFEBVRE, and D.B. LAYZELL (eds.) Plant Metabolism. Longman,Signapore,2 'nd edition.
- Errea, P., Treutter, D., Feucht, W., 1994.** Characterization Of Flavonol Type – Polyphenols In Apricot Cultivar And Rootstocks. Adv. Hort. Sci., 8: 165-169
- Errea, P., 1997.** Implications Of Phenolic Compounds In Graft Incompatibility In Fruit Tree Species. Scientia Horticulturae 74: 195-205

- Eser, B., Tanrısever, A., Özen, Ş., 1996.** Farklı Enginar çeşitlerinde fenolik madde içeriklerinin mevsimsel değişimleri. GAP I. Sebze Tarımı Sempozyumu, Şanlıurfa.
- Feeny, P.P. Bostock, H. 1968.** Seasonal Changes in The Tannin Content of Oak Leaves. *Phytochemistry*, 7: 871 – 880.
- Feucht, W.; Schmid, PPS. 1986.** Christ, E., Distribution of Flavonols in Meristematic and Mature Tissues of *Prunus avium* Shoots, *Journal of Plant Physiology*, 125: ½, 1-8.
- Feucht, W., Treutter, D. Keukenkamp I. 1998.** Growth enhancement of grapevine callus by catechin on auxin- free media. *Vitis*, 37:67-71.
- Floss, H.G. 1979.** Shikim Fate Pathway, *Rec. Adv. In Phytochemistry*, 12:59-90.
- Geibel, M., Geiger, H., Treutter, D., 1990.** Tectochrysin 5- and Genistein 5- glucosides from the bark of *Prunus cerasus*. *Phytochemistry*, Vol. 29, No: 4, pp. 1351 – 1353.
- Hakkinen, S., 2000.** Flavonols and Phenolic Acids In Berries and Berry Products. Kuopio University Publications D. Medical Sciences 221. 90p.
- Harborne, J.B. 1972.** (ed). *Phytochemical Ecology*, Academic Press, New York.
- Harborne, J.B. 1974.** *Phytochemical Methods*, Chapman & Hall, London.
- Harborne, J.B. 1979.** Flavonoid Pigments, In *Herbivores: Their Interactions With Secondary Metabolites*, Rosenthal, G.A. and D.H. Janzen (Eds), 619 – 656, Academic Press, New York.
- Harborne, J.B. 1980.** Plant Phenolics. –In *Secondary Plant Products*. (E. A. Bell and B. V. Charlwood. Ed. Pp.329-402. Springer- Verlag, Berlin. ISBN 3-540-09461-X.
- Haukioja, E., Niemela. P. 1979.** Birch Leaves as a Resource for Herbivores: Seasonal Occurrence of Increased Resistance in Foliage After Mechanical Damage of Adjacent Leaves. *Oecologia*. 39:151-159.
- Haukioja, E. 1990.** Induction of Defenses in Trees. *Ann. Rev. Entomol.* 36:25-42.
- Hedin, P.A. ; Waage, S.K. 1986.** Roles of Flavonoids in Plant Resistance to Insect Plant Flavonoids in Biology and Medicine, *Biochemical Pharmacological and Structure – Activity Relationships*, Alan R. Liss, New York.

- Jones, D.H.1984.** Phenylalanine Ammonia Lyase: Regulation of It's Induction, and Its Role in the Plant Development. *Phytochemistry* 23:1349-1359
- Kefeli, V.I.; Kadyrov, C.S. 1971.** Natural Growth Inhibitors Their Chemical and Physiological Properties. *Annu. Rev. Plant Physio.* 22: 185 – 196.
- Kurnaz, Ş., Demirsoy, H., Karaduva, L., 1994.** Türkiye İlman İklim Meyve Üretimi ve Dış Ticareti. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı. Yayın No: 3, Kurupelit/ Samsun. 37 s.
- Lamb, C.J.; Lawton, M.A.; Dron, M. 1989.** Dixon, R.A., Signals and Transduction Mechanism for Activation of Defenses Against Microbial Attack. *Cell*, 56: 215.
- Mann, J. 1978.** Sekondary Metabolism Claredon Press, Oxford.
- Mato, M.C.; Mendez, J.; Vazquez, A. 1994.** Polyphenolic Auxin Protectors in Buds of Juvenile and Adult Chestnut, 91: 23 – 26.
- Marks, D.L. 1985.** Ecological Chemistry of Primate Food Choice: II – Comparative Methods in Ecological Chemistry, Ph.D. Dissertation. Boston University, Boston.
- Mısırlı, A., Özeker, E., 1999.** Farklı idris tiplerinin fenolik madde içeriklerinin kalitatif ve kantitatif değerlendirilmesi. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ankara.
- Öz, F., 1983.** Kiraz ve Vişne. T.A.V. Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı. Yayın No: 16, Yalova. 80 s.
- Özbek, S., 1978.** Özel Meyvecilik. Ç.Ü. Zir. Fak. Yayınları : 128, 486 s.
- Özeker, E., Tanrısever, A. 1995.** Bazı Çilek Çeşitlerinin Farklı Organlarındaki Fenolik Maddeler Üzerinde Araştırmalar. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi*, 32 (3): 9-16.
- Özeker, E., Tanrısever, A. 1999.** Çileklerde (*Fragaria ananassa* Duch.) Çiçek Tomurcuğu Gelişme Dönemlerinde Fenolik Maddelerin Değişimi Üzerine Araştırmalar. *Tr. J. of Agriculture and Forestry* 23 Ek Sayı 1, 97-105
- Polat, S., Akçay, M.E., 1999.** Gemlik Zeytin Çeşidinde Çiçeklenme ve Meyve Gelişim Dönemlerinde Fenolik Maddelerin İncelenmesi. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ankara.
- Rhoades, D.F., Cates, R.G. 1976.** Toward a General Theory of Plant Antiherbivory Chemistry, in *Advances in Phytochemistry* 10, J. W. Wallace and R.L. Mansell. Eds., Plenum Press, Newyork

- Rhoades, D.F. 1979.** Evolution of Plant Chemical Defense Against Herbivores, in *Herbivores*, G.A. Rosenthal and Janzen, eds., 1-47, Academic Press, Newyork.
- Rodriquez, A.; Canal, M.J. 1988.** Tames, R.S., Indoleacetic Acid, Absisic Acid and Phenolic Substances During Development of Hazel Leaves, *Physiologia Plantarum* 73: 92 – 96. Copenhagen.
- Rudnicki, R.; R.K. 1973.** Hammond and M.S. Bukovac. Endogenous Plant Growth Substances During Developing Fruit of *Prunus cerasus* L. II. Levels of Extractable Para Coumaric Acid in the Pericarp. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 98(3):225-229.
- Schwalb, P.; Feucht, W. 1999.** Changes in te Concentration of Phenolic Substances in the Bark During the Annual Development of the Cherry Tree, 13: 71- 75.
- Swain, T.; Hillis, W.E. 1959.** The Phenolic Constituents of *Prunus domestica*. *J. Sci. Food Agric*, 10: 63-68.
- Swain, T. 1977.** Secondary Compounds as Protective Agents, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 28: 479-501.
- Tangolar, S. , Büyüktaş, F.N., Gök, S., Ergenoğlu, F., 1999.** Fenolik Bileşiklerin Asma Sürgün Uçlarında Vegetasyon Dönemindeki Dağılımı ve Sürgün Ucu Kültüründeki Etkisi. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Ankara.
- Tannisever, A. 1982.** Kiraz Grubu *Prunus* Türlerinde Flavan İçeriği ile Büyüme Gücü Arasındaki İlişkiler Üzerine Araştırmalar. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi*, 19 (2): 39-49.
- Tena ,M., Lopez – Valbuena R., Jorin,J. 1984.** Induction of Phenylalanine Ammonia – Lyase in Hypocotyls of Sunflower seedlings by Light, Excision and Sucrose. –*Physiol. Plant.*, 60:159-165.
- Treutter, D.; Feucht, W. 1985.** The Chemotaxonomy of Sweet Cherry Cultivars. *Plant Breeding Abstracts* No:055-09888.
- Whittaker, R.H.; Feeny P.P. 1971.** Allelochemicals : Chemical Interactions Between Species, *Science*, 171: 757 – 769.

ÖZGEÇMİŞ

1973 YILINDA Ankara' da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Rize' de tamamladım. 1999 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü' nde lisans öğrenimimi tamamladım. Aynı yıl OMÜ Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü' nde açılmış olan Yüksek Lisans sınavını kazandım. 2001 yılında Fen Bilimleri Enstitüsü kadrosuyla Bahçe Bitkileri Bölümü' ne Araştırma görevlisi olarak atandım. 2003 yılında kurumlar arası geçiş ile Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Samsun Köy Hizmetleri Araştırma Enstitüsüne Ziraat Mühendisi olarak geçiş yaptım. Halen bu görevimi sürdürmekteyim.

