

SERİ B

CİLT XII

SAYI 2

1962

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
ORMAN FAKÜLTESİ  
DERGİSİ



# PİNUS HALEPENSIS MİLL.'İN AĞAÇ ÜZERİNDE AÇILMADAN KALAN KOZALAKLARINDAKİ TOHURLARDA VUKUA GELEN PROTEİN BÜNYE BOZULUŞLARI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR 1

Yazanlar:  
Muzaffer SELİK ve Gerhard BODO

## GİRİŞ

*Pinus brutia* Ten.'de bazı kozalaklar açılmamakta ve ağaç üzerinde kalmaktadırlar. Bu gibi kozalaklarda normal görünüşlü tohumlardan başka, patolojik görünüşte, siyah renkli tohumlar da dikkati çeker. Böyle siyah renkli tohumların tohum muhtevası kabuğun içini tamamen doldurmaz, bir büzülme gösterir ve esmer bir görünüş arzeder. Bu şekilde tohum muhtevası renginin kahverengine dönmesi tohumların yaşları arttıkça fazlaşır (SELİK 1959). Kozalak ve tohumlardaki benzeri tezahürlere halep çamlarında da rastlanır (Resim: 1). Bütün bu değişmeler tohum muhtevasının az veya çok bir değişikliğe uğradığı yani bozulduğu kanaatini uyandırmaktadır.

JONES et al. (CROCKER ve BARTON 1953'de not edildiğine göre). tohumlar depolandığı takdirde, proteinlerde serbest amino asitleri teşekkülü şeklinde beliren bir bünye bozulmasına işaret etmiş bulunmaktadır. Ancak mezkur araştırmalar sadece buğday ve baklagiller tohumlarını bahis konusu etmektedir.

Bu çalışmada tohumlarda, yukarıda açıklandığı şekilde, beli-



RESİM 1. 6 senelik sıhatsız görünüşlü bir *Pinus halepensis* tohumunun esmerleşmiş ve büzülmüş tohum muhtevası.

1 Bu yazı *Planta*, Bd. 54, Heft 4, S. 404-408 (1960)'da neşredilmiş olan "Untersucungen über den Eiweissabbau in den Samen der auf dem Baum bleibenden Zapfen von *Pinus halepensis* Mill." almanca aslından tercüme edilmiştir.

ren değişmeler sırasında tohum muhtevası proteinlerde bir bünye bozuluşunun vuku-  
a gelip gelmediği ve bu hususta ne gibi sebeplerin bulunabileceği araştırılmıştır.

Araştırmada proteinlerin parçalanmasının ölçüsü olarak bunların serbest amino  
asitleri muhtevasını kullanmış bulunuyoruz.

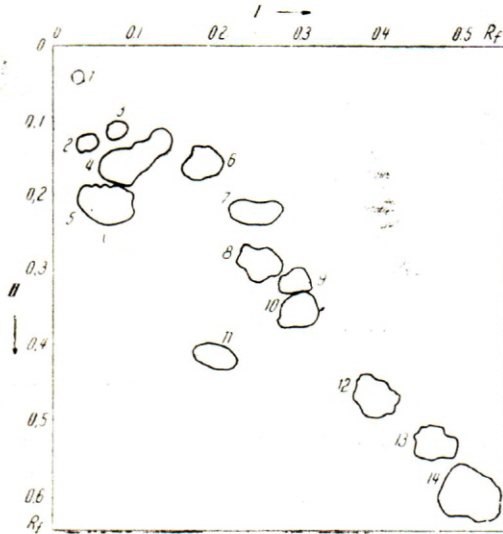
### MATERYEL VE METOD

Açılmamış kozalaklar İstanbul Orman Fakültesi yakınındaki meçrede mevcut  
genç halep çamlarından alındı (takriben 30 yaşında). Kozalakların yaşı, üzerinde  
buldukları dalın yıllık halkaları sayılmak suretiyle tesbit olundu. Kozalaklar elle  
açıldı. Her yaş grubuna ait sıhhatli görünüşte olmayan tohumlar bir araya getirile-  
rek kabuklarından çıkarıldı. Her gruptan alınan 1-2 gr. tohum yağların uzaklaştırıl-  
ması amacıyla, 25 ml. hexan'la 2-3 dakika müddetle homogenize edildi. Bunu  
takiben homogenisad süzüldü. Bakiye 25 ml. %80 lik alkolle ekstraksiyona tabi tu-  
tularak serbest amino asitleri elde edildi (oda sıcaklığında takriben 3 saat). Elde edi-  
len eriyikler vakumda max. 60° C da buharlaştırıldı ve bakiyeler %50 lik 2 ml al-  
kolle eritildi.

Mukayeseyi sağlamak üzere kötü görünüşlü tohumların elde olduğu kozalak-  
lardan sağlam, sıhhatli tohumlar da çıkarıldı ve bunlardan da serbest amino asitleri araştırıldı. Bu iş en  
yaşlı 6 senelik kozalaklarda mümkün olamadığından, bu maksat için müteakip en yaşlı, 5 senelik tohum-  
lar kullanıldı.

Amino asitlerinin ayrılması ve identifikasyonu Whatman Nr. 1 kâğıdı kullanılarak iki dimensiyonlu kâğıt kromatografisi metodu ile yapıldı. Bütün numunelerden eşit miktarlar temin olunamadığından her çıkış noktası başına 8 mg. tohum muhtevasına tekabül edecek kadar bir miktar taşındı. Her iki istikamette de alçalan kromatografi metodu kullanıldı. Kromatogramların inkişafı 1. yönde 78 : 18 . 2 nisbetinde karıştırılmış bir n-Propanol : HOH : konz. Amonyak; 2. yönde ise 4 : 1 : 1 nisbetinde bir n-Butanol : HOH : yoğun asetik asitten iharet bir karışımında yapıldı. Renk inkişafı %75 lik alkolde eritilmiş %5 lik Ninhidrin püskürtmek ve akabinde ısıtmak (40° C, müddet yarım saat) suretiyle yapıldı. Arginin'in spesifik ayracı olarak SAKAGUCHİ (TURBA 1954-, Histidin ve Tyrosin ayracı olarak da PAULY - reaksiyonu (LİSKENS 1955) kullanıldı.

6 senelik tohumlara ait ve tohum proteinlerinde mevcut hemen bütün amino asit-  
lerini gösteren bir kromatogram (Resim: 2) de görülmektedir.



RESİM 2. 6 senelik patolojik görünüşlü tohumların iki dimensiyonlu Kromatogramı, 1. Cystin, 2. Aspartic asid, 3. Lysin/Asparagin, 4. Arginin/Glutamin/Histidin, 5. Glutamic asid, 6. Serin/Glykool, 7. Threonin, 8. Alanin, 9. Prolin, 10. Tyrosin, 11. Amino butrikasid 12. Valin/Methionin, 13. Phenylalanin, 14. Leuzin/Isoleuzin

Tohum proteinlerinin amino asitleri terkibi hakkında bir fikir edinmek için, 2 senelik sıhhatli tohumlar hidroliz işlemine tâbi tutuldu. Bu maksatla 0,5 gr. tohum ve 50 ml. damıtık ve konstant olarak kaynayan kloridrik asit (takriben 6n), bir musluğu olan yuvarlak cam kap içerisinde önce bir saat müddetle bırakıldı, bunu takibens 40° C'ye kadar ısıtıldı. Bir su pompası vasıtasıyla kabın havası boşaltıldı. Cam kap-taki hava çıktıktan sonra, kap, uygun diğer bir kabın içine yerleştirildi ve bu, em-niyet sebebiyle kumla dolduruldu. Bunu takiben kurutma dolabında 24 saat müddet-le 110° C'de ısıtıldı. Soğuttuktan sonra 50 ml. su ilâve edildi ve teşekkül etmiş olan Humin süzöldü. Eriyik vakumda max. 60° C'lik banyo sıcaklığında kuruyuncaya ka-dar buharlaştırıldı, bir defa daha biraz su ile ıslatıldı ve tekrar vakumda kurutuldu. Bundan sonra bakiye 5 ml. su ile çözüldü ve kromatogram başına 5 ml. (0,5 mg. lık-kadar miktarda orijinal maddeye tekabül edecek şekilde) kullanıldı.

### NETİCELER

Aşağıdaki tabloda deneme neticeleri bir araya getirilmiş bulunmaktadır.

Leke No.	Amino asitleri	Tohum yaşları (sene olarak)				5 senelik sıhhatli tohumlar	2 senelik tohumların hidrolisad'ı
		3	4	5	6		
1	Cystin	—	—	—	+	—	+
2	Aspartic asid	+	++	++	+++	—	+++
3	Lysin/Asparagin	—	—	—	—	—	—
4	Arginin/Glutamin/Histidin	+	++	++	+++	+	+++
5	Glutamic asid	+	++	++	+++	+	+++
6	Serin/Glykokoll	—	+	++	+++	—	+++
7	Threonin	—	—	+	—	—	+++
8	Alanin	+	++	++	+++	+	+++
9	Prolin	—	—	—	++	—	+++
10	Tyrosin	—	—	+	++	—	+++
11	Y-Amino butrik asit	—	+	++	++	?	—
12	Valin/Methionin	—	+	++	+++	?	+++
13	Phenylalanin	—	—	—	++	—	+++
14	Leuzin/Isoleuzin	—	+	++	+++	?	+++

Sakaguchi reaksiyonu yardımı ile Arginin'in bütün araştırılan numunelerde mevcut olduğu gösterilmiştir. Pauly reaksiyonu ile de Histidin'in örneklerde ancak eseri miktarda bulunduğu tesbit olunmuştur.

Serbest amino asitlerinin miktar ve sayısı patolojik görünüşteki tohumların artan yaşı ile gayet bariz olarak yükselir. Buna karşılık beş senelik sıhhatli tohum-larda 3 yıllık kötü görünüşlü tohumlara nazaran dikkati çekecek bir yükselme gö-rülmez.

2 senelik tohumların hidrolisad'ı tohum proteinlerinde, proteinler için karakter-istik olan, bütün amino asitlerinin mevcut olduğunu göstermektedir. Ninhidrin re-

aksiyonu ile sarı renk veren ve sıhhatli olarak tesbit edilemiyen diğer bir leke muhtemelen Oxypirolin'dir.

### MÜNAKAŞA

Yukarıda zikredilen araştırma neticeleri, yaşlı sıhatsız görünüşteki tohumların daha az eski olanlara nazaran mühim nisbette ilerlemiş bir protein bünye bozulmuş gösterdiğini ortaya koymuş bulunmaktadır. Bu bünye bozulmasının tohumların artan yaşları ile tedricen fazlalaşmakta olduğu görülmektedir.

Tohumların ağaç üzerinde tabii olarak depolanmasının bu protein parçalanmasının sebebini teşkil ettiği düşünülebilir. Fakat böyle ağaçta kalan kozalakların aynı zamanda proteinlerinde herhangi ilerlemiş bir bünye bozulması görülmeyen sıhhatli tohumlar da ihtiva etmekte oldukları dikkate alınacak olursa, bu takdirde depolanmanın sebep teşkil etmediği anlaşılır. Filhalka daha yakından incelendiği zaman, bu tohumların tam mânasıyla normal olmayan, zayıf gelişmiş embriyoları ihtiva ettikleri (Resim: 3) veya hiç embriyo taşımadıkları görülür (Parthenospermi). Böyle tohumlarda proteinler tedricen parçalanmaya başlamaktadır. Bu gibi hallerde endosperm'in döllenmenin vukuundan evvel teşekkülü (primer endosperm) maksatsız bir materyel sarfiyatından başka bir şey ifade etmemektedir.



RESİM 3. *P. halepensis* Mill.'in zayıf gelişmiş Embriyoları.

### HÜLASA

1. *Pinus halepensis* Mill.'in ağaçta kapalı olarak kalan kozalaklarının patolojik görünüşlü tohumlarında bir protein bünye bozulmasının vukubulduğu tesbit olunmuştur. Teşekkül eden serbest amino asitlerinin miktar ve sayısı kozalığın dolayısıyla tohumun artan yaşı ile yükselir

2. Endosperm'in, döllenmenin vukuundan evvel teşekkülünün bazan lüzumsuz bir materyel israfı olduğuna işaret olunmuştur.

### FAYDALANILAN ESERLER

C r o c k e r, W., and L. V. B a r t o n : Physiology of seeds Waltham, Mass.: The Chronical Botanica Company 1953.

L i s k e n s, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.

S e l i k, M.: *Pinus brutia* in der Türkei. Forstwiss. Zbl. 78, 42-58 (1959).

T u r b a, F.: Chromatographische Methoden in der Proteinchemie. Berlin -Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.