

Türk Tütünleri ve Mavi Küfe Mukavim Avustralya Menşeli Tütünler ile Elde Edilen Melezlerin Alkaloidleri üzerinde Araştırmalar

Recherches sur les Alcaloides des Hybrides des Tabacs Turcs avec des Tabacs
Australiens Résistants au *Peronospora tabacina* Adam

Bayhan CUBUKÇU * ve Turhan BAYTOP *

G İ R İ Ş

1960-61 yılından beri Avrupa ve Türkiyede tütün ekimi üzerinde geniş zararlılara sebep olan «Mavi küf» veya «Tütün mildiyösü» isimli hastalık ile mücadele için büyük bir gayret sarfedilmekte, bu sahada pek çok araştırmalar yapılmakta ve varılan sonuçlara göre mücadele usulleri geliştirilmektedir. Başarı ile sonuçlanan usullerden biri mavi küf hastalığına sebep olan *Peronospora tabacina* Adam isimli mantara mukavim çeşitleri ekonomik önemi olan çeşitler ile çaprazlıyarak elde edilen F_1 melezlerinin kültürünü genişletmek esasına dayanmaktadır. Bu usulün birçok memleketlerde başarılı sonuçlar vermesi üzerine İstanbul Tekel Enstitüsünde Dr. N. Özkan tarafından Türk tütünleri ile mavi küfe mukavim Avustralya menşeli tütünler arasında melezlemeler yapılmış ve F_1 melezleri elde edilmiştir (5).

Biz elde edilen bu melezlerde tütün alkaloidleri bakımından değişiklikler olup olmadığını kâğıt kromatografisi usulü ile araştırdık.

M A T E R Y E L V E M E T O D

Kromatografik analizler, Türk tütünlerinin dokuz çeşidi, Avustralya menşeli üç mukavim çeşit ve bunlardan elde edilen dokuz F_1 melezi üzerinde yapılmıştır (Tablo 1).

* Farmakognozi Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Üniversite, İstanbul.

Tablo 1. F₁ melezlerini veren, Türk ve Avustralya menseli çeşitler.

<i>Türk çeşitleri</i>		<i>Avustralya menseli mukavim çeşitler</i>
Trabzon	×	Hicks A ₂ Fixed
Bursa	×	Virginia Bright A ₂ -2-27-2
Taşova	×	» » »
Yayladağ	×	» » »
Bafra	×	Hicks M. R.
Canik	×	» »
Düzce	×	» »
İzmir	×	» »
Maden	×	» »

Nümuneler, tütüncülükte «üçüncü ana» ismiyle bilinen orta seviyedeki yapraklar olup, Türk tütünleri ve F₁ melezleri Ağustos 1954, Avustralya menseli mukavim çeşitler ise Ekim 1965 te toplanmış ve güneşte kurutulmuştur (*).

Tütün alkaloidlerinin kâğıt ve ince tabaka kromatografisi ile analizinde umumiyetle saf alkaloidlerin ayrılması bahis konusu olmuştur. (3, 7, 8, 9, 11, 12). Biz, tütün hulâsaları alkaloidleri üzerinde çalışanlar içinden (1, 2, 4, 6, 10), Leiserson ve Walker'in usulünü (4) esas olarak aldık ve deney şartlarını sabit tutarak, tütün yapraklarının muayyen konsantrasyonlardaki hulâsalarından muayyen miktarlar alıp, kâğıt kromatografisi usulü ile, F₁ melezlerindeki alkaloid durumunun Türk veya mukavim tütünlerden hangisiyle benzerlik gösterdiğini araştırdık.

Bu maksatla Schl. Schüll 2043 a kromatografi kâğıdı, 95 ml. 0.2 M asetik asid ve 905 ml 0.2 M sodium asetat çözeltileri karışımı ile imprenye edilip kurutuldu, nümuneler kâğıt üzerine konduktan sonra, yarım saat su buharı ile doymuş atmosferde tutulup, asetat tamponu (pH 5.6) ile doyurulmuş n-butanol de 16 saat yükseltildi. Kromatogramdaki lekeler gün ışığı ve UV ışığı altında tesbit edildikten sonra, Leiserson ve Walker'in tekniği ile König reaksiyonuna göre, p-aminobenzoik asidin alkoldeki % 1 lik çözeltisi püskürtüldü ve kurutulup bromsiyan (BrCN) buharı içinde alkaloid lekeleri meydana çıkarıldı.

Kromatografik analizi yapılacak hulâsaların hazırlanması: 2 g toz edilmiş yaprak 25 ml % 50 lik aseton ile yarım saat bir çalkalama makinasında çalkalandı, süzülüp 25 ml ye tamamlanarak bundan her defa için 5 µl kullanıldı (2).

(*) Bize bu materyeli temin eden İstanbul Tekel Enstitüleri, Genetik Kısmı Şefi Dr. Nevin ÖZKAN'a teşekkür ederiz.

DENEY KISIM

Türk çeşitleri, Avustralya menşeli mukavim çeşitler ve bunların F_1 melezlerinin yukardaki şartlara uygun olarak hazırlanmış hulâsaları mukayese-li olarak kâğıt kromatografisi ile tetkik edildi. Çaprazlamalarda 3 çeşit, Avustralya menşeli tütün kullanıldığına göre, kromatografik analizler de üç grup altında toplandı.

1 — Hicks A_2 Fixed grubu:

Bir tek Türk çeşidi (Trabzon) ile melezi incelendi. Burada ana baba ve F_1 in kromatogramı gün ışığında aynı olmasına rağmen UV ışığı altında tetkikte, Rf 0.27 deki mavi fluoresans veren leke, Hicks A_2 Fixed'de bariz, fakat Trabzon ve F_1 de mevcut değildi. Alkaloidler König reaksiyonu ile belirtildikten sonra, Hicks A_2 Fixed'de Rf 0.31 ve Rf 0.40 ta hafif pembe, Rf 0.84 de hafif sarı renkte üç leke, Trabzon ve F_1 de ise yukardaki üç alkaloidin bariz lekelerinden başka, Rf 0.05 ve Rf 0.12 de hafif pembe-turuncu renkte iki alkaloid lekesi daha müşahede edildi.

Şu halde F_1 in alkaloidleri, König reaksiyonundan sonra, Trabzon çeşidi ile aynı lekeleri vermektedir (Şekil 1).

2 — Virginia Bright A_2 -2-27-2 grubu:

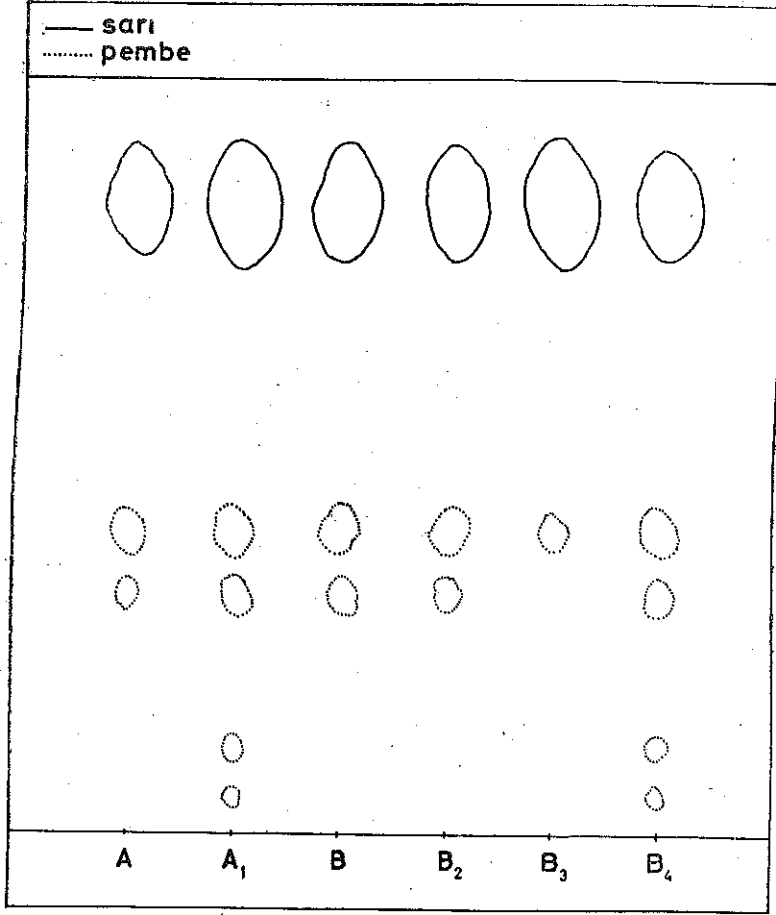
Bu mukavim çeşit ve bunun Türk çeşitlerinden Bursa, Taşova ve Yayladağ ile yapılmış olan melezler incelendi. Bu grupta mukavim çeşidin, Türk çeşitlerinin ve melezlerinin kromatogramları gün ışığı ve UV ışığı altında aynı lekeleri gösterdi. König reaksiyonundan sonra ise, Virginia Bright A_2 -2-27-2, Rf 0.31 ve Rf 0.40 ta açık pembe ve Rf 0.84 ta koyu sarı renkte beliren üç alkaloid lekesi verdi. Alkaloid lekeleri bakımından her F_1 kendi Türk çeşiti ile aynı kromatogramı verdiği halde, birbirlerine göre şöyle bir durum hasil oldu (Şekil 1):

- Bursa çeşidi ve F_1 i: Virginia Bright A_2 -2-27-2 gibi.
- Taşova çeşidi ve F_1 i: Rf 0.31 de leke yok, Rf 0.40 ta hafif bir leke ve Rf 0.80 de bariz bir alkaloid lekesi.
- Yayladağ çeşidi ve F_1 i: Mukavimdeki lekelerden başka, Rf 0.05 ve 0.12 de hafif pembe-turuncu renkte beliren iki alkaloid lekesi.

3 — Hicks M. R. grubu:

Mukavim çeşidin, Türk çeşitlerinin ve bunların F_1 melezlerinin kromatogramları gün ışığında aynı, fakat UV ışığı altında ise farklı bir durum arzetti. Şöyle ki:

- Rf 0.27 de mavi fluoresans veren leke, Türk çeşitleri ve F_1 lerde yok, fakat mukavim çeşitte mevcut.
- Rf 0.70 teki mavi fluoresans veren leke, Maden, Canik ve Bafrada yok, fakat Düzce, İzmir ve bütün F_1 lerle mukavimde mevcut..

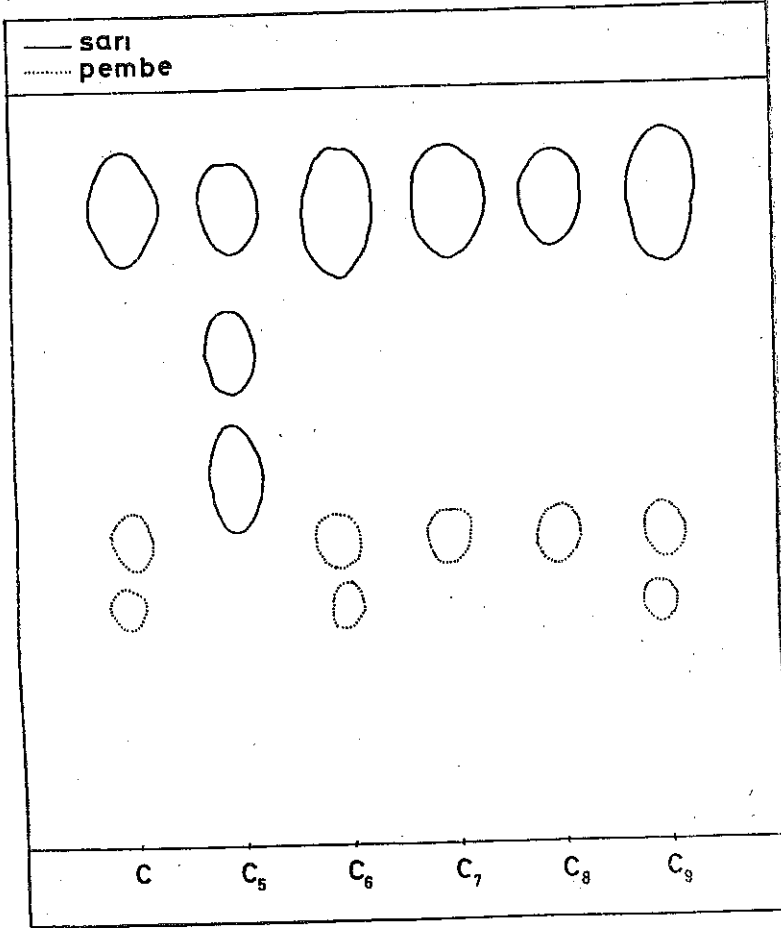


Sekil 1. Avustralya menşeli mukavim çeşitler ile F_1 melezlerinin kromatogramında, König reaksiyonundan sonra beliren alkaloid lekeleri. (Türk çeşitleri, F_1 ler ile aynı lekeleri verdiği için ayrıca gösterilmedi).
 A = Hicks A₂ Fixed; A₁ = A × Trabzon; B = Virginia Bright A₂-2-27-2
 B₁ = B × Bursa; B₂ = B × Taşova; B₄ = B × Yayladağ.

König reaksiyonundan sonra; Hicks M. R., Rf 0.31, Rf 0.40 ta pembe ve Rf 0.84 te sarı renkte beliren üç alkaloid lekese verdi. Türk çeşitleri ve F_1 lerdeki durum ise:

- Bafra ve F_1 i: Rf 0.48 ,Rf 0.64 sarı-turuncu ve Rf 0.84 te sarı renkte üç alkaloid lekesi.
- Canik, Maden ve F_1 leri: Hicks M. R. in lekeleri gibi.
- Düzce, İzmir ve F_1 leri: Rf 0.40 ta pembe ve Rf 0.84 te sarı renkte iki leke.

Şu halde bu grupta da F_1 lerin kromatogramları, mukavim çeşidinki ile değil, Türk çeşitlerinininkiyle benzerlik göstermektedir (Şekil 2).



Şekil 2. Avustralya menseli mukavim çeşitler ile F_1 melezlerinin kromatogramında, König reaksiyonundan sonra beliren alkaloid lekeleri. (Türk çeşitleri, F_1 ler ile aynı lekeleri verdiğiinden ayrıca gösterilmedi).
C = Hicks M. R.; C₅ = C × Bafra; C₆ = C × Canik; C₇ = C × Düzce;
C₈ = C × İzmir; C₉ = C × Maden.

N E T İ C E V E M Ü N A K A Ş A

Türk (ana), Avustralya menşeli mukavim (baba) ve bunların çaprazlanması ile elde edilen F_1 melezlerinin kromatogramları, alkaloidleri bakımından incelendi. Deney şartlarını sabit tutarak aynı konsantrasyondaki çözeltilerden, aynı miktarlar alıp mukayese ettiğimizde, her üç grupta da F_1 melezlerinin kromatogramlarının, König reaksiyonundan, sonra daima Türk çeşitlerinin alkaloid lekeleri ile benzerlik gösterdiği tesbit edildi.

Bu çalışmada tetkik edilen Türk, mukavim ve melez tütünlerin hepsinin de, *Nicotiana tabacum* L. türünün çeşitleri olduğu düşünülürse, ekseri çeşitlerin alkaloidlerinde tesbit edilen kalitatif benzerliğin normal olduğu kabul edilebilir. Bazı durumlardaki farkların, umumiyetle alkaloidlerdeki kalitatif değil, fakat kantitatif değişikliklerden ileri geldiği düşünülmektedir. Zira 1/2 oranında kesifleştirilmiş çözeltiler ile yapılan denemelerde, seyreltik çözeltilerin kromatogramlarında görülmeyen alkaloid lekelerini tesbit etmek mümkün olmaktadır.

Şu halde F_1 melezleri alkaloidlerinin, kalitatif bakımından Türk çeşitlerinin alkaloidlerine benzediği gibi kantitatif bakımdan da gene onlarla benzerlik gösterdiğini düşünebiliriz.

Bu analizlerin neticesi bize, böylece elde edilen melezlerde, alkaloidler bakımından, Türk tütünlerine göre bir değişiklik olmayacağını göstermiş bulunmaktadır.

Ö Z E T

Türk tütünlerinin dokuz çeşidi (Trabzon, Bursa, Taşova, Yayladağ, Bafra, Canik, Düzce, İzmir, Maden) ve mavi küfe mukavim Avustralya menşeli üç tütün çeşidinden (Hicks A_2 Fixed, Virginia Bright A_2 -2-27-2, Hicks M. R.) elde edilen melezlerin alkaloidleri, kâğıt kromatografisi usulü ile tetkik edildi ve melezlerin alkaloid lekelerinin, Türk tütünlerinininki ile aynı olduğu tesbit edildi. Şu halde bu tarz bir melezleme Türk tütünlerinin alkaloidlerinde kalitatif bir değişmeye sebep olmamaktadır.

R É S U M É

Les alcaloïdes des hybrides de neuf sortes de tabacs turcs (Trabzon, Bursa, Taşova, Yayladağ, Bafra, Canik, Düzce, İzmir, Maden) avec trois sortes australiennes résistantes au *Peronospora tabacina* (Hicks A_2 Fixed, Virginia Bright A_2 -2-27-2, Hick M. R.) ont été étudiés en chroma-

tographie sur papier, en comparaison avec ceux des parents. Les taches alcaloıdiques des hybrides ont été trouvées identiques à celles des tabacs turcs. Une telle hybridisation n'entraıne donc aucun changement qualitatif parmi les alcaloıdes des tabacs turcs.

L I T E R A T Ü R

1. Avundzhyan, E. S., *Izv. Akad. Nauk Arm. S S R, Biol. Nauki*, 15-2, 89 (1962). -Ref. C.A. 57, 7386 c (1962).
2. Jeffrey, R. N., Eoff, W. H., *Anal. Chem.*, 27, 1903 (1955).
3. Kraft, D., *Pharmazie*, 8, 251 (1953). - Ref. Linskens, H. F., *Papierchromatographie in der Botanik*, 229, Springer-Verlag, Berlin (1955)..
4. Leiserson, L., Walker, T. B., *Anal. Chem.*, 27, 1129 (1956).
5. Özkan, N., *Türk Biol. Derg.* 14, 26 (1964).
6. Perlusz, T., Nemeth, L., *Rev. Intern. Tabacs.* 31, 209 (1956).
7. Porter, W. L., Naghski, J., Eisner, A., *Arch. Biochem.*, 24, 461 (1949).
8. Teichert, K., Mutschler, E., Rochelmeyer, H., *Deut. Apotheker - Ztg.*, 100, 477 (1960).
9. Tewari, S. N., *Naturwiss.* 41, 217 (1954).
10. Tso, T. C., Jeffrey, R. N., *Arch. Biochem. and Biophys.*, 43, 269 (1953).
11. Wegner, E., *Naturwiss.*, 40, 580 (1953).
12. Werle, E., Koch, J., *ibid.*, 38, 333 (1951).

(Redaksiyona verildiđi tarih: 29 Kasım 1965)