

HASAT ÖNCESİ 24–EPIBRASSINOLİD (24–eBL) UYGULAMALARININ ALPHONSE LAVALLÉE VE HOROZ KARASI ÜZÜM ÇEŞİTLERİNDE ALFA, BETA, GAMA, DELTA TOKOFEROL BİRİKİMLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Zehra BABALIK¹, Tunhan DEMİRCİ², Özlem ARAS AŞCI³, Nilgün GÖKTÜRK BAYDAR⁴

¹Yrd. Doç. Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi, Atabey Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Atabey/ISPARTA

²Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, ISPARTA

³Uzm. Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, ISPARTA

⁴Prof. Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, ISPARTA

Geliş tarihi / Received: 11.09.2017, Kabul tarihi / Accepted: 20.06.2018

ÖZET

Sofralık, kurutmalık ve şaraplık–şıralık olmak üzere farklı şekillerde değerlendirilen üzümün, besin değerini ve antioksidan madde içeriğini zenginleştirmek amacıyla yetiştiricilikte çok farklı uygulamalar yapılabilmekte ve bu uygulamaların başında da büyümeyi düzenleyici madde kullanımları gelmektedir. Bu araştırma Alphonse Lavallée ve Horoz Karası üzüm çeşitlerine ait omcalara hasat öncesi yapılan brassinosteroid uygulamalarının gerek besin değeri, gerekse antioksidan etkileri bakımından çok değerli bileşikler arasında yer alan α , β , γ ve δ –tokoferol birikimleri üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla yeni nesil hormonlar arasında yer alan brassinosteroidlerin bir analogu olan 24–eBL, omcalara dört farklı konsantrasyon (0.2, 0.4, 0.6 ve 0.8 ppm) ve üç farklı uygulama dönemini (ben düşme dönemi; tane tutumundan 7 gün sonra +ben düşme dönemi; ile tane tutumundan 7 gün sonra+ben düşme dönemi+ben düşmeden 30 gün sonra) içeren kontrolle birlikte 13 uygulama şeklinde yapılmıştır. İki yıl süreyle yapılan uygulamalar sonucunda en yüksek α , γ ve δ –tokoferol miktarlarının Horoz Karası omcalarına ben düşme döneminde yapılan 0.8 ppm 24–eBL uygulamasından elde edildiği tespit edilmiştir. En yüksek β –tokoferol miktarının ise 1. yıl Alphonse Lavallée üzüm çeşidinde tane tutumundan 7 gün sonra+ben düşme döneminde yapılan 0.4 ppm 24–eBL uygulamasından, 2. yıl ise Horoz Karası üzüm çeşidinde ise ben düşme döneminde yapılan 0.6 ppm 24–eBL uygulamasından elde edildiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Alphonse Lavallée, Horoz Karası, 24–eBL, tokoferoller

THE EFFECTS OF PREHARVEST 24–EPIBRASSINOLID (24–eBL) APPLICATIONS ON THE ACCUMULATION OF ALPHA, BETA, GAMMA, DELTA TOCOPHEROLS IN ALPHONSE LAVALLÉE AND HOROZ KARASI GRAPE CULTIVARS

ABSTRACT

Many different applications can be made in cultivation in order to enrich the nutrient and antioxidant contents of grapes evaluated in different forms such as table, raisin, wine and must. The most important treatments in grape growing for this purpose are the uses of plant growth regulators. This study was carried out to determine the effects of preharvest brassinosteroid applications on the accumulation of α , β , γ and δ –tocopherol, among the most valuable compounds in terms of nutrient value and antioxidant effects, in Alphonse Lavallée and Horoz Karası grape cultivars. For this purpose, 13 different treatments including control, four different concentrations (0.2, 0.4, 0.6 and 0.8 ppm) of 24–eBL as an analogue of brassinosteroids among the new generation of hormones, and three different application periods (veraison, 7 days after berry set+veraison, 7 days after berry set+veraison+30 days after veraison) were applied to vines. As a result of the applications performed for two years, the highest amounts of α , γ and δ –tocopherol were obtained from Horoz Karası applied with 0.8 ppm of 24–eBL at veraison. The highest amount of β –tocopherol was found in Alphonse Lavallée applied with 0.4 ppm 24–eBL at 7 days after berry set+veraison and in Horoz Karası applied with 0.6 ppm 24–eBL at veraison.

Keywords: Alphonse Lavallée, Horoz Karası, 24–eBL, tocopherols

GİRİŞ

Asma, gerek dünyada gerekse ülkemizde ekonomik önemi çok yüksek olan bitki türlerinden birisidir. Üzüm, sofralık, kurutmalık ve şaraplık-şıralık olmak üzere farklı şekillerde değerlendirilebildiği gibi, özellikle antioksidan maddelerce zengin içeriği nedeniyle gıda, tıp, kozmetik gibi çok farklı alanlarda da kullanılabilme olanağı bulmaktadır. Bu durum üzümün popülaritesinin gün geçtikçe artmasına neden olmaktadır.

Üzümün sahip olduğu güçlü antioksidan etkili bileşiklerin başında gelen tokoferoller, yağda çözünen ve sadece bitkiler ile fotosentetik mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilen bileşikler olup, insan sağlığı üzerinde de önemli roller üstlendikleri bilinmektedir [16]. Bunlardan özellikle de α -tokoferol (E vitamini) besin değeri en yüksek olan tokoferol olup, kalp hastalıkları riskinin azaltılmasında, bazı kanser tiplerinin ve dejeneratif hastalıkların engellenmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir [3, 5, 20]. Genel olarak yağlı tohumlu bitkilerde daha yüksek miktarlarda bulunan tokoferollerin [13], üzümün çekirdeğinde, cibresinde, çekirdeğinin yağında ve taze üzümde de bulunduğu çeşitli araştırmacılar tarafından da ortaya konulmuştur [8, 10, 9]. Tüm bu olumlu özellikleri tokoferollerin değerini daha da çok arttırmakta ve araştırmacıların bu bileşiklerin üzerinde yoğunlaşmasına neden olmaktadır. Bu amaçla üzümün besin değerini ve antioksidan madde içeriğini zenginleştirmek amacıyla yetiştiricilikte çok farklı uygulamalar yapılabilmekte ve bu uygulamaların başında da büyümeyi düzenleyici madde kullanımları gelmektedir. Bitkiler üzerinde bu yönde etkiler gösterme potansiyeli olan uygulamalardan biri de yeni nesil hormonlar olarak ifade edilen brassinosteroid (BR) uygulamalarıdır. BR'lerin bitki gelişimi, tohum çimlenmesi, rhizogenesis, çiçeklenme, köklenme, hücre genişlemesi ve uzaması gibi pek çok fizyolojik olayı etkiledikleri [4, 18] ve dışsal uygulamalarla antioksidan etkili metabolitlerin sentezini artırdıkları [6, 7, 2, 19] tespit edilmiştir. BR'lerin bitkilerdeki bu fizyolojik etkilerinin yanı sıra insanlarda da normal sağlıklı hücrelerin gelişimini etkilemeksizin kanserli hücrelerin gelişimini önledikleri [17],

herbisit, fungusit ve insektisitlerin neden olduğu fitotoksik etkileri azalttıkları [22, 1] da belirlenmiştir.

Bu araştırma Alphonse Lavallée ile Horoz Karası üzüm çeşitlerine ait omcalara, toksik özellik taşımadığı gibi zararlı pestisit kalıntılarını azaltarak gıda güvenliğini kontrol altına alma potansiyeli bakımından da bir umut ışığı olan, “gelecek vadeden, çevreyle dost, insan ve çevre sağlığını pestisitlerden korumak amacıyla kullanıma uygun doğal bileşenler” olarak da tanımlanan [15] BR'lerin, hasat öncesi uygulamaları ile üzümde gerek besin değeri, gerekse antioksidan etkileri bakımından çok değerli bileşikler arasında yer alan α , β , γ ve δ -tokoferol birikimleri üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Araştırma Isparta ili Senirkent ilçesi Büyükkabaca mevkiinde bulunan 7 yaşlı, kordon terbiye şekli verilmiş, sıra üzeri ile sıra arası mesafesi 2×3 m olan bağda yürütülmüş olup, bitkisel materyal olarak 41 B M.G Amerikan asma anacı üzerine aşılı sofralık olarak tüketilen Alphonse Lavallée ve Horoz Karası üzüm çeşitlerine ait omcalar kullanılmıştır.

Metot

BR uygulamaları

Çalışmada 2 yıl süreyle yapılan uygulamalarda bir BR analogu olan ve yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda da diğer analoglarına göre daha etkin ve daha stabil [14] olduğu belirlenen 24 epibrassinolid (24-eBL) kullanılmıştır. 24-eBL uygulamaları Çizelge 1'de ayrıntılı olarak sunulduğu gibi, farklı dönem, bu dönemler arasındaki kombinasyonlar ve farklı 24-eBL dozlarından oluşan 13 farklı uygulama şeklinde gerçekleştirilmiştir. 24-eBL uygulaması el pompası kullanılarak spreyleme ile bütün omcalara, salkım ve yapraklar iyice ıslanacak şekilde yapılmıştır.

α , β , γ , δ - tokoferol miktarının belirlenmesi

Tanelerde tokoferol analizleri Göktürk Baydar ve Özkan [10]'a göre yapılmıştır. Buna göre tekerrürler bazında her bir salkımın farklı kısımlarından alınarak oda sıcaklığında ve karanlıkta kurutulduktan sonra toz haline getirilen örnekler, daha sonra hacmin 10 katı kadar hekzan ile 3 kez ekstrakte edilmişlerdir. Toplanan ve içinde tokoferollerini bulunduran hekzanlı kısım vakum altında 35°C'de rotary evedaporatörde uçurulmuştur. Elde edilen ekstraktlar daha sonra heptan/tetrahidrofuran (THF) (95:5) (h/h) ile çözülerek filtre edilmiş ve sonrasında HPLC analizlerinde kullanılmışlardır. Shimadzu marka HPLC ile yapılan analizlerle ilgili ayrıntılar Çizelge 2'de sunulmuştur.

İstatistik Değerlendirme

Araştırma 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 8 adet omca olacak şekilde kurulmuştur. Faktörlerin seviye ortalamaları arasındaki farkların belirlenmesinde LSD çoklu karşılaştırma testi kullanılmış olup, istatistik hesaplamalar Jump 8.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 1. Hasat öncesi omcalara yapılan 24-eBL uygulamaları

Table 1. Preharvest 24-eBL treatments on vine

Uygulama Treatments	Uygulama dönemi Treatments period	24-eBL konsantrasyonu 24-eBL concentration (ppm)
1 (Kontrol)	—	0
2	Ben düşme döneminde	0.2
3	Ben düşme döneminde	0.4
4	Ben düşme döneminde	0.6
5	Ben düşme döneminde	0.8
6	Tane tutumundan 7 gün sonra + ben düşme döneminde	0.2
7	Tane tutumundan 7 gün sonra + ben düşme döneminde	0.4
8	Tane tutumundan 7 gün sonra + ben düşme döneminde	0.6
9	Tane tutumundan 7 gün sonra + ben düşme döneminde	0.8
10	Tane tutumundan 7 gün sonra + ben düşme döneminde+ ben düşmeden 30 gün sonra	0.2
11	Tane tutumundan 7 gün sonra + ben düşme döneminde+ ben düşmeden 30 gün sonra	0.4
12	Tane tutumundan 7 gün sonra + ben düşme döneminde+ ben düşmeden 30 gün sonra	0.6
13	Tane tutumundan 7 gün sonra + ben düşme döneminde+ ben düşmeden 30 gün sonra	0.8

Çizelge 2. HPLC cihazı ile ilgili özellikler

Table 2. Features of HPLC system

Dedektör	RF-10AXL Fluorescence dedektör (Ex 295 nm-Em 330 nm)
Otosampler	SIL-20AC prominence
Sistem kontroler	LC-20AT prominence
Pompa	LC-20AT prominence
Kolon	Luna Silica (250 × 4.6 mm) 5µm
Mobil faz	Heptan/THF (95:5)
Enjeksiyon hacmi	10 µL
Akış hızı	1.2 ml/dk

BULGULAR

Antioksidan etkili bileşikler içinde önemli bir yer tutan α -tokoferol miktarı üzerine 24-eBL uygulamalarının etkilerini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonucunda çeşit × uygulama interaksyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.0001$). Buna göre en yüksek α -tokoferol miktarı her iki yılda da (sırasıyla 68.18 ve 62.05 µg/g) yalnızca ben düşme döneminde yapılan 0.8 ppm konsantrasyondaki 24-eBL uygulamasından ve Horoz Karası üzüm çeşidinden elde edilmiştir. Genel olarak düşük α -tokoferol miktarlarının ise her iki yılda da Alphonse Lavallée üzüm çeşidindeki uygulamalardan elde edildiği tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Yıllara, uygulamalara ve çeşitlere göre α -tokoferol miktarında ortaya çıkan farklılıklar incelendiğinde, 1.yılın α -tokoferol değeri (41.49 µg/g) ile 2. yılın α -tokoferol değerinin (41.84 µg/g) birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. Uygulamalar arasında yapılan değerlendirmeler sonucunda, kontrolle kıyaslandıklarında bütün 24-eBL uygulamalarının α -tokoferol miktarını artırdıkları belirlenmiştir. Tane tutumundan 7 gün sonra ve ben düşme olmak üzere iki dönemde yapılan 0.4 ppm 24-eBL uygulaması ise (7. uygulama) en yüksek α -tokoferol miktarının elde edildiği uygulama olarak saptanmıştır (Çizelge 3). Çeşitler arasında yapılan değerlendirmeler sonucunda Horoz Karası üzüm çeşidinin tanelerindeki α -tokoferol miktarının (47.04 µg/g), Alphonse Lavallée üzüm çeşidinkinden (36.28 µg/g) dikkat çekici bir şekilde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 1a).

Çizelge 4'de sunulmuş olan, β -tokoferol miktarı için yapılan varyans analizi sonucuna göre, çeşit × uygulama interaksyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.0001$). 1. yılda β -tokoferol miktarının en yüksek olduğu

kombinasyonlar sırasıyla 1.26 µg/g ve 1.14 µg/g değerleriyle Alphonse Lavallée üzüm çeşidine yapılan 7. ve 4. uygulamalar olarak belirlenirken, yine aynı yıl bunları 0.90 µg/g ile Horoz Karası üzüm çeşidine ben düşme döneminde yapılan 0.8 ppm 24-eBL uygulamasının (5. uygulama) takip ettiği tespit edilmiştir. Araştırmanın 1. yılında Alphonse Lavallée çeşidinde 8., 9., 10. ve 11.

uygulamaların yapıldığı taneler ile Horoz Karası'nda iki ve üç dönem 24-eBL uygulaması yapılmış tanelerde β-tokoferol tespit edilememiştir. 2. yılda ise en yüksek β-tokoferol miktarının Horoz karası üzüm çeşidine yalnızca ben düşme döneminde yapılan 0.6 ppm konsantrasyonunda yapılan 24-eBL uygulamasından elde edildiği saptanmıştır.

Çizelge 3. Üzümlerin α-tokoferol içerikleri üzerine 24-eBL uygulamalarının etkileri (µg/g KA)

Table 3. Effect of 24-eBL treatments on α-tocopherol contents of grapes (µg/g DW)

Uygulamalar Treatments	1.yıl / First year		2.yıl / Second year		Ortalama Mean
	Alphonse Lavallée	Horoz Karası	Alphonse Lavallée	Horoz Karası	
1	28.99m	29.87lm	24.67no	41.55hij	31.27
2	34.69k	28.32m	33.54klm	51.39cde	36.98
3	33.54kl	48.54cde	26.35mno	49.83def	39.57
4	47.55cdef	46.18defgh	44.32efghi	42.74fghi	45.20
5	42.23hi	68.18a	34.70jkl	62.05a	51.79
6	34.73k	43.88fghi	27.81lmno	54.49bcd	40.22
7	60.36b	52.03c	49.61defg	48.43defgh	52.61
8	35.21k	42.98ghi	42.43ghi	43.46fghi	41.02
9	41.61i	40.95ij	30.61klmn	45.76efgh	39.73
10	44.66efghi	34.07kl	30.81klmn	45.77efgh	38.83
11	42.98ghi	46.89defg	36.97ijk	61.67ab	47.13
12	28.09m	36.53jk	23.19o	57.34abc	36.29
13	35.10k	50.61cd	28.60lmno	49.60defg	40.98
Ortalama / Mean	41.49		41.84		
p değeri / p value	Çeşit / (Cultivar)		<0.0001		
	Uygulama / Treatment		<0.0001		
	Çeşit× Uygulama / (Cultivar× Treatment)		<0.0001		

Harfler arasındaki farklılıklar p<0.05 seviyesinde önemlidir.

Different letters indicate significant differences between groups (p<0.05).

Çizelge 4. Üzümlerin β-tokoferol içerikleri üzerine 24-eBL uygulamalarının etkileri (µg/g KA)

Table 4. Effect of 24-eBL treatments on β-tocopherol contents of grapes (µg/g DW)

Uygulamalar Treatments	1. yıl / First year		2. yıl / Second year		Ortalama Mean
	Alphonse Lavallée	Horoz Karası	Alphonse Lavallée	Horoz Karası	
1	0.75f	0.38j	0.34jklm	0.32klm	0.45
2	0.83e	0.35k	0.45fgh	0.43fghi	0.52
3	0.84e	0.69g	0.48efg	0.54de	0.64
4	1.14b	0.53i	0.63c	1.37a	0.92
5	0.83e	0.90c	0.35ijklm	0.79b	0.72
6	0.87d	0l	0.37hijkl	0.50ef	0.44
7	1.26a	0l	0.87b	0.43fghi	0.64
8	0l	0l	0.54de	0.41ghij	0.24
9	0l	0l	0.34jklm	0.39hijk	0.18
10	0l	0l	0.34jklm	0.49efg	0.21
11	0l	0l	0.34jklm	0.60cd	0.24
12	0.62h	0l	0.27m	0.62cd	0.38
13	0.83e	0l	0.29lm	0.37hijkl	0.37
Ortalama / Mean	0.42		0.50		
p değeri / p value	Çeşit / Cultivar		<0.0001		
	Uygulama / Treatment		<0.0001		
	Çeşit× Uygulama / Cultivar× Treatment		<0.0001		

Harfler arasındaki farklılıklar p<0.05 seviyesinde önemlidir.

Different letters indicate significant differences between groups (p<0.05).

Tanelerin β -tokoferol içeriklerinde yıllara, uygulamalara ve çeşitlere göre ortaya çıkan değişimlerin gösterildiği Çizelge 4 incelendiğinde, her iki yılda da belirlenen β -tokoferol miktarlarının birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir. Uygulamalar arasında ise ben düşme döneminde yapılan 24-eBL uygulamalarının kontrole göre tanelerin β -tokoferol içeriğini artırdığı, özellikle bu dönemde yapılan 0.6 ppm 24-eBL uygulamasının en yüksek değerin elde edildiği uygulama olarak dikkat çektiği belirlenmiştir. Ancak çeşitler arasında 0.52 $\mu\text{g/g}$ ile Alphonse Lavallée üzüm çeşidinin β -tokoferol miktarının, Horoz Karası üzüm çeşidinin β -tokoferol miktarından (0.35 $\mu\text{g/g}$) daha yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 1b).

Farklı dönem ve konsantrasyonlarda hasat öncesi omcalara yapılan 24-eBL uygulamalarının tanelerdeki γ -tokoferol birikimi üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonucunda çeşit $\times$ uygulama interaksyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.0001$). Tanelerde en yüksek γ -tokoferol birikiminin her iki yılda da ben düşme döneminde 0.8 ppm 24-eBL uygulamasının yapıldığı (5. uygulama) Horoz Karası üzüm çeşidinden elde edildiği tespit edilmiştir (Çizelge 5). Genel olarak Horoz Karası üzüm çeşidinin γ -tokoferol içeriklerinin Alphonse Lavallée çeşidine göre çok daha yüksek olduğu ve bu nedenle en düşük değerlerin her iki yılda da Alphonse

Lavallée çeşidinden elde edildiği belirlenmiştir.

Araştırmada γ -tokoferol miktarının yıllara, uygulamalara ve çeşitlere göre göstermiş olduğu değişimlerin sunulduğu Çizelge 5 incelendiğinde, γ -tokoferol miktarının 1. yılda 21.10 $\mu\text{g/g}$, 2. yılda ise 21.67 $\mu\text{g/g}$ ile birbirine yakın değerler gösterdiği tespit edilmiştir. Uygulamalar arasında ise ben düşme döneminde yapılan 0.8 ppm 24-eBL uygulamasının (5. uygulama) en yüksek γ -tokoferol miktarının (32.87 $\mu\text{g/g}$) elde edildiği uygulama olduğu saptanmıştır. Şekil 1c'de sunulan, yıllar ve uygulamalar dikkate alınmaksızın sadece çeşitler arasında yapılan değerlendirmeler sonucunda, Horoz Karası üzüm çeşidinin γ -tokoferol miktarının (35.64 $\mu\text{g/g}$), Alphonse Lavallée üzüm çeşidinden (7.13 $\mu\text{g/g}$) 5 kat daha fazla olduğu da belirlenmiştir.

δ -tokoferol için yapılan varyans analizi sonucunda çeşit $\times$ uygulama interaksyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.0001$). Buna göre her iki yılda da en yüksek δ -tokoferol miktarının sırasıyla 2.82 $\mu\text{g/g}$ ve 2.68 $\mu\text{g/g}$ değerleriyle Horoz Karası üzüm çeşidine ben düşme döneminde yapılan 0.8 ppm 24-eBL uygulamasından (5. uygulama) elde edildiği belirlenirken; en düşük δ -tokoferol miktarının ise yine her iki yılda da Alphonse Lavallée üzüm çeşidinde 24-eBL uygulaması yapılmamış 1. uygulamadan (kontrol) elde edildiği saptanmıştır (Çizelge 6).

Çizelge 5. Üzümlerin γ -tokoferol içerikleri üzerine 24-eBL uygulamalarının etkileri ($\mu\text{g/g KA}$)
Table 5. Effect of 24-eBL treatments on γ -tocopherol contents of grapes ($\mu\text{g/g DW}$)

Uygulamalar Treatments	1.yıl (First year)		2.yıl (Second year)		Ortalama Mean
	Alphonse Lavallée	Horoz Karası	Alphonse Lavallée	Horoz Karası	
1	6.83m	26.68f	3.01p	29.19h	16.43
2	7.80lm	26.33f	4.53no	48.76c	21.85
3	6.79m	44.64b	2.80p	37.60e	22.96
4	13.07ı	38.63c	8.26kl	26.24j	21.55
5	9.54jkl	60.02a	3.44p	58.46a	32.87
6	10.35jk	30.79e	7.58l	37.00e	21.43
7	11.16ij	26.94f	8.84k	27.27ı	18.55
8	8.59klm	33.39d	5.32mn	37.05e	21.09
9	9.02kl	24.21g	4.86mn	31.51g	17.40
10	10.07jk	22.20h	5.72m	35.73f	18.43
11	10.22jk	31.44de	5.86m	42.57d	22.52
12	7.71lm	27.43f	3.68op	52.56b	22.84
13	7.01m	37.86c	3.43p	32.13g	20.11
Ortalama / Mean	21.10		21.67		
p değeri / p value	Çeşit / Cultivar		<0.0001		
	Uygulama / Treatment		<0.0001		
	Çeşit $\times$ Uygulama / Cultivar $\times$ Treatment		<0.0001		

Harfler arasındaki farklılıklar $p<0.05$ seviyesinde önemlidir.

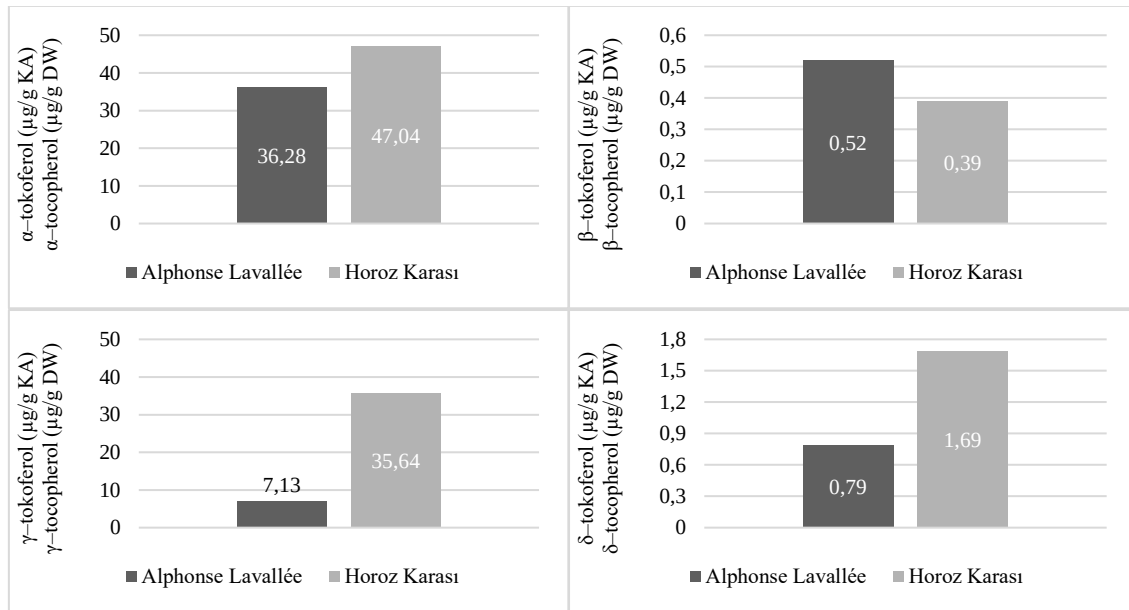
Different letters indicate significant differences between groups ($p<0.05$).

Çizelge 6. Üzümlerin δ -tokoferol içerikleri üzerine 24-eBL uygulamalarının etkileri ($\mu\text{g/g KA}$)
 Table 6. Effect of 24-eBL treatments on δ -tocopherol contents of grapes ($\mu\text{g/g DW}$)

Uygulamalar Treatments	1.yıl (First year)		2.yıl (Second year)		Ortalama Mean
	Alphonse Lavallée	Horoz Karası	Alphonse Lavallée	Horoz Karası	
1	0.58l	1.54e	0.34o	1.27ı	0.93
2	0.69k	1.46f	1.57g	0.92j	1.16
3	0.58l	2.40b	0.42n	1.99c	1.35
4	1.07hı	1.86d	1.65f	1.28ı	1.46
5	0.83j	2.82a	0.52m	2.68a	1.71
6	0.66kl	1.88d	0.44n	1.85d	1.21
7	1.13h	1.01ı	1.67f	1.29ı	1.27
8	0.68k	2.01c	0.54m	1.88d	1.28
9	0.84j	1.21g	0.66l	1.28ı	1.00
10	0.84j	1.09hı	0.73k	1.42h	1.02
11	0.88j	1.44f	0.75k	1.81e	1.22
12	0.64kl	1.52ef	0.53m	2.51b	1.30
13	0.69k	1.84d	0.53m	1.64f	1.18
Ort.	1.24		1.24		
p değeri / p value	Çeşit / Cultivar		<0.0001		
	Uygulama / Treatment		<0.0001		
	Çeşit× Uygulama / Cultivar× Treatment		<0.0001		

Harfler arasındaki farklılıklar $p<0.05$ seviyesinde önemlidir.

Different letters indicate significant differences between groups ($p<0.05$).



Şekil 1. Çeşitlerin a) α -tokoferol b) β -tokoferol c) γ -tokoferol ve d) δ -tokoferol içerikleri
 Figure 1. a) α -tocopherol b) β -tocopherol c) γ -tocopherol and d) δ -tocopherol contents of grape cultivars

Çeşitler ve uygulamalar dikkate alınmaksızın sadece yıllar arasında tanelerdeki δ -tokoferol miktarlarındaki değişimler incelendiğinde, δ -tokoferol miktarının yıllar arasında bir değişikliğe neden olmadığı, ancak çeşitler arasında yapılan değerlendirmeler sonucunda Horoz Karası üzüm çeşidinin δ -tokoferol miktarının Alphonse Lavallée üzüm çeşidinkinden 2 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ben düşme döneminde yapılan

0.8 ppm 24-eBL uygulaması (5. uygulama) ise, 1.71 $\mu\text{g/g}$ ile en yüksek δ -tokoferol miktarın elde edildiği uygulama olarak belirlenmiştir (Çizelge 6 ve Şekil 1d).

TARTIŞMA

Bu çalışma ile Alphonse Lavallée ve Horoz Karası üzüm çeşitlerinde hasat öncesi yapılan 24-eBL uygulamalarının gerek besin değeri

gerekse antioksidan etkileri bakımından çok değerli bileşikler arasında yer alan α , β , γ ve δ -tokoferol birikimleri üzerine olan etkilerinin belirlenmesine çalışılmıştır. Araştırmada, BR olarak, bir BR analoğu olan ve yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda da diğer analoglarına göre daha etkin ve daha stabil [14] olan ve aynı zamanda enzimatik aktivitede ve antioksidant sistemlerde uyarıcı etkisinin çok daha yüksek [11] olduğu belirlenen 24-eBL kullanılmıştır.

Tokoferoller, özellikle de α -tokoferol, askorbat ve glutatyonla bir araya gelerek bitkileri strese karşı korumada etkin rol oynarlar. Bitkilerde tokoferol sentezinin; absisik asit, salisilik asit ve jasmonatlar gibi stres hormonları tarafından düzenlendiği bilinmektedir [21]. Ancak yapılan çalışmalar BR'lerin de bitkilerde tokoferollerin sentezini düzenleyen hormonlar arasında yer aldığını göstermiştir [12, 2]. Bu nedenle araştırmada BR'lerin tokoferol birikimini belirlemeye yönelik etkileri incelenmiştir. Araştırmada genel olarak bütün 24-eBL uygulamalarının α , γ ve δ -tokoferol miktarlarını kontrole göre artırdığı; tane tutumundan 7 gün sonra ve ben düşme döneminde olmak üzere 2 dönemde ve yüksek konsantrasyonlarla yapılan (0.6 ve 0.8 ppm) 24-eBL uygulamaları ile 3 dönemde yapılan bütün uygulamaların ise β -tokoferol miktarını azalttığı belirlenmiştir. α , β , γ ve δ -tokoferol miktarları bakımından en yüksek seviyelere Alphonse Lavallée çeşidinde 7., Horoz Karası çeşidinde ise 5. uygulamada ulaşıldığı saptanmıştır. Üzümlerde BR uygulamalarının tokoferollerin birikimi üzerine olan etkilerinin incelendiği daha önceden yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak acı bakla ve bezelye bitkilerine uygulanan 24-eBL uygulamalarının bu bitkilere ait tohumlarda α , γ ve δ -tokoferol miktarlarını kontrole göre artırdığı tespit edilmiştir [2].

SONUÇ

Toplumda genellikle “hormon” olarak ifade edilen büyümeyi düzenleyici madde kullanımına sıcak bakılmamakta; bunun da en önemli nedenini bu bileşiklerin sağlık ve çevre üzerine yaratmış oldukları olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Dışsal BR uygulamaları da her ne kadar bir büyümeyi düzenleyici madde

kullanımı niteliğinde ise de, BR'lerin hem bitki büyüme, gelişme ve metabolit verimi hem de insan sağlığı üzerine olan olumlu etkileri nedeniyle tarımda büyümeyi düzenleyici kullanımına yönelik ön yargıyı en azından bu bileşiklerin ortadan kaldırma potansiyeli bulunmaktadır. Sunulan bu araştırmada asmalara hasat öncesi yapılan 24-eBL'nin, uygun dönem ve konsantrasyonda uygulandığı sürece, gerek besin değeri ve gerekse antioksidan etkileri bakımından çok değerli bileşikler arasında yer alan α , β , γ ve δ -tokoferol birikimini artırmada kullanılabileceği tespit edilmiştir. Buna göre BR uygulamaları içinde α , β , γ ve δ -tokoferol birikimleri bakımından Alphonse Lavallée için hem tane tutumundan 7 gün sonra hem de ben düşme döneminde iki dönemde de 0.4 ppm, Horoz Karası için ise sadece ben düşme döneminde 0.8 ppm konsantrasyonlarında yapılan 24-eBL uygulamalarının önerilebileceği ortaya konulmuştur.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 1120517 nolu proje desteğiyle yürütülmüştür. Katkılarından dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Bajguz, A. and S. Hayat, 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*. 47(1):1-8.
2. Biesaga-Koscielniak, J., Dziurka, M., Ostrowska, A., Mirek, M., Koscielniak, J. and A. Janeczko, 2014. Brassinosteroid Improves Content of Antioxidants in Seeds of Selected Leguminous Plants. *Australian Journal of Crop Science*. 8(3):378-388.
3. Choudhury, D., Das, A., Bhattacharya, A., and G. Chakrabarti, 2010. Aqueous Extract of Ginger Shows Antiproliferative Activity through Disruption of Microtubule Network of Cancer Cells. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10):2872-2880.
4. Clouse, S.D. and J.M. Sasse, 1998. Brassinosteroids: Essential Regulators of Plant Growth and Development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49:427-451.

5. De Camargo, A.C., Regitano-D'Arce, M. A.B., Biasoto, A.C.T. and F. Shahidi, 2014. Low Molecular Weight Phenolics of Grape Juice and Winemaking Byproducts: Antioxidant Activities and Inhibition of Oxidation of Human Low-Density Lipoprotein Cholesterol and DNA Strand Breakage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62(50):12159–12171.
6. Farooq, M., A. Wahid and S.M.A. Basra, 2009. Improving Water Relations and Gas Exchange with Brassinosteroids in Rice under Drought Stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 195(4):262–269.
7. Farooq, M., Wahid, A., Lee, D.J., Cheema, S.A. and T. Aziz, 2010. Drought Stress: Comparative Time Course Action of the Foliar Applied Glycinebetaine, Salicylic Acid, Nitrous Oxide, Brassinosteroids and Spermine in Improving Drought Resistance of Rice. *Journal of Agronomy and Crop Science* 196(5):336–345.
8. Göktürk Baydar, N., 2006. Organic Acids, Tocopherols and Phenolic Compositions of Some Turkish Grape Cultivars. *Chemistry of Natural Compounds*. 42(2):156–159.
9. Göktürk Baydar, N. and M. Akkurt, 2001. Oil Content and Oil Quality Properties of Some Grape Seeds. *Turkish Journal of Agricultural and Forestry*. 25:163–168.
10. Göktürk Baydar, N. and G. Özkan, 2006. Tocopherol Contents of Some Turkish Wine By-Products. *European Food Research and Technology* 223(2):290–293.
11. Hayat, S., Yadav, S., Ali, B. and A. Ahmad, 2010. Interactive Effect of Nitric Oxide and Brassinosteroids on Photosynthesis and the Antioxidant System of *Lycopersicon Esculentum*. *Russian Journal of Plant Physiology*. 57(2):212–221.
12. Janeczko, A., J. Biesaga-Kościelniak, and M. Dziurka, 2009. 24-Epibrassinolide Modifies Seed Composition in Soybean, Oilseed Rape and Wheat. *Seed Science and Technology*. 37(3):625–639.
13. Kamal Eldin, A. and L.A. Appelqvist, 1996. The Chemistry and Antioxidant Properties of Tocopherols and Tocotrienols. *Lipids*. 31:671–701.
14. Khripach, V.A., V.N. Zhabinski and N.B. Khripach, 2003. New Practical Aspects of Brassinosteroids and Results of Their Ten Year Agricultural Use in Russia and Belarus. In *Brassinosteroids: Bioactivity and crop productivity*. Editors: Hayat, S., Ahmad, A. Netherlands: Springer.
15. Khripach, V., V. Zhabinskii and A.D. Groot, 2000. Twenty Years of Brassinosteroids: Steroidal Plant Hormones Warrant Better Crops for the 21. Century. *Annals of Botany* 86(3):441–447.
16. Kushi, L.H., Folsom, A.R., Prineas, R.J., Mink, P.J., Wu, Y. and R.M. Bostick, 1996. Dietary Antioxidant Vitamins and Death from Coronary Heart Disease in Postmenopausal Women. *The New England J. of Medicine* 334:1156–1162.
17. Malikova, J., J. Swaczynova, Z. Kolar and M. Strnad, 2008. Anticancer and Antiproliferative Activity of Natural Brassinosteroids. *Phytochemistry* 69(2): 418–426.
18. Nemhauser, J.L. and J. Chory, 2004. BRING it on: New Insights into the Mechanism of Brassinosteroid Action. *Journal of Experimental Botany*. 55(395):265–270.
19. Raghu, K. and S. Seeta Ram Rao, 2016. Effect of Brassinosteroids on Antioxidants Content and Radical Scavenging Activity of *Tinospora cordifolia* (Willd.) Miers ex Hook. F & Thoms. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 4(5):117–121.
20. Sun, S., Kadouh, H.C., Zhu, W. and K. Zhou, 2016. Bioactivity-Guided Isolation and Purification of A-Glucosidase Inhibitor, 6-O-D-glycosides, from Tinta Cão Grape Pomace. *Journal of Functional Foods*. 23:573–579.
21. Szarka, A., B. Tomasskovics and G. Bánhegyi, 2012. The Ascorbate-glutathione- α -tocopherol Triad in Abiotic Stress Response. *International Journal of Molecular Sciences*. 13(4):4458–4483.
22. Xia, X.J., Huang, Y.Y., Wang, L., Huang, L.F., Yu, Y.L., Zhou, Y.H. and J.Q. Yu, 2006. Pesticides induced depression of photosynthesis was alleviated by 24-epibrassinolide pretreatment in *Cucumis sativus* L. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 86:42–48.