

MANDARİN (*Citrus* spp.) ÇEŞİTLERİNİN KAGIT KROMATOĞRAFI TEKNİĞİ İLE TANIMLANMASI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR^{1,2}

Macit ULUBELDE³

R.N. LESTER⁴

ÖZET

Citrus cinsi, evriminde en yüksek düzeyine ulaşmış bulunmaktadır. Gerek bu cinse giren türler, gerekse akraba cinsler arasındaki hibritlerin aseksüel üretim yollarıyla stabilize oluşları, taksonomik sorunlar doğurmuştur. Bu sorunu çözmek için klâsik taksonomik karakterler yanında, kimyasal karakterler de kullanılmaktadır.

Bu araştırmada yaprak fenolik bileşikleri kâğıt kromatografi yoluyla belirlenmiş; çeşitli ayıraçlar, UV ve spektroskopi yardımıyla da sınıflandırılmışlardır. Özgül spotların ele alınan Rize, Satsuma owari, Yerli, Wilking, Kinnow, Klemantin, Ponkan, Fremont, Fortune ve Fairchild varyetelerindeki varlığı bilgisayarla değerlendirilerek varyeteler arası ilişkiler dendrogram olarak saptanmıştır. Dendrogram, üç farklı grubun birbirine farklı düzeylerde bağlandığını göstermiştir.

Araştırma, fenolik bileşiklerin sınıflandırma amacıyla çeşit düzeyinde kullanılabileceğini göstermektedir.

GİRİŞ

Citrus cinsi ve yakın akrabaları *Fortunella*, *Poncirus*, *Microcitrus*, *Eremocitrus* v.b. cinsler *Rutaceae* familyasının *Aurantioideae* alt familyası kapsamına girerler. *Citrus* cinsi portakal, limon, altıntop, mandarin gibi ekonomik değeri yüksek turuncğil meyvelerini bünyesinde toplar.

Citrus cinsi yaklaşık 20 milyon yıl önce Avustralya'nın Yeni Gine ve Asya ile olan kıta bağlantısından kopuşundan beri başlayan evrimsel durumunda bugün en yüksek düzeyine varmış bulunmaktadır. Bu uzun evrim sürecinde önemli derecede farklılaşma meydana gelmiştir. (32).

Citrus cinsi ve onun yakın akrabalarının taksonomik ayrımı uzun zamandan beri karmaşık olagelmıştır. Bu sorun sadece aynı cinsin türleri arasındaki doğal melezlerle değil, aynı zamanda cinsler arasındaki (bi-tri-generik) melezlerle de içinden çıkılması zor bir duruma gelmiştir. Apomiksis veya poliembryoni gibi aseksüel tohum üretimi yoluyla stabilize olan bu hibrit populasyonlar birbirine benzer tipler olarak ge-

1 Yayın kuruluşuna geliş tarihi: Şubat 1982

2 Bu araştırma, 1977 yılında Birmingham Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Fakültesinde, M. Sc. tez çalışması olarak sunulmuştur.

3 Uz., Ege Bölge Ziraat Araştırma Enstitüsü, Menemen - İZMİR

4 Dept. of Plant Biology, Univ. of Birmingham, P.O. Box 363 B15 2TT ENGLAND

niş bir dizide sonuçlanmıştır. *Citrus* cinsi içerisinde türlerin ayrımını karmaşık hale getiren en önemli faktörler;

- I. Etkin bir üreme izolasyonunun yokluğu,
- II. Melezleme, açılma, mutasyon ve nüceller embriyonu sonucunda doğan varyabilitenin korunması,
- III. Kromozom morfolojisi ile ilgili bilgi noksanlığıdır.

Bu taksonomik sorunların çözülmesi için öncü çalışmaların başlangıcı Lineaus'a kadar uzanır. Linneaus (18) ve Hooker (16) sınıflandırmalarında 3 veya 4 tür öne sürerken, Swingle (32) 16 tür, Tanaka (33, 34) 2 alt cins ve 159 tür kabul etmişlerdir. Wolfe (36) bu iki büyük sınıflandırma sistemini eleştirerek Swingle'a ait olanı tutucu, Tanaka'ninkini ise aşırı ayrımcı olarak nitelendirmiştir. Hodgson (14) bu iki sistemi özetlemiş ve bütünleştirerek ara bir sistemle 36 tür önermiştir. Malik (20) *Citrus* cinsi meyvelerinin sadece bir bitki türünün yani *Citrus citus*'un varyeteleri veya inter varyetal hibritleri olarak düşünülmesini ortaya koymuştur. Barret ve Rhodes (2) kültüre almış *Citrus* ve onun yakın akrabalarının affinite ilişkilerinin numerik taksonomi çalışmalarında, *C.grandis*, *C.medica* ve *C.reticulata*'nın gerçek biolojik türleri olduğunu, *C.aurantifolia*, *C.aurantium*, *C. limon*, *C.paradisi* ve *C.sinensis*'in muhtemelen hibrit orijinli apomiktik olarak doğmuş biotipler olarak varsayılması gerektiğini ortaya koymuşlardır.

Klâsik botanik karakterler (yani anatomik, morfolojik, sitolojik, genetik ve fizyolojik) bugün için böyle karmaşık taksonomik sorunları çözmede yetersiz kalmaktadır. Bunun yanında anaç-kalem uyuşma çalışmaları, ıslah programları ve patolojik çalışmalarda da ele alınan materyalin kesinlikle ne olduğunun bilinmesi gerekmektedir.

Yıllar boyunca *Citrus* cinsini tanımlamak için çeşitli yöntemler uygulanagelmıştır. Hendrickson (13), Halma ve Haas (11), Furr ve Reece (8), Singh ve Schroeder (28) kolorimetrik metotlarla; Selle (27) spot kromatografi yoluyla, Giacometti (9) virüs reaksiyonları gibi yollarla tanımlama yoluna gitmişlerdir.;

Bütün bu çalışmalar *Citrus* cinsinin tanımlanmasında kesin sonuç vermekten uzak kalmıştır. Yirminci yüzyılın ikinci yarısında geliştirilen ve çabuk güvenilir sonuç veren kromatografi, elektroforezis, spektroskop gibi ayırım ve tanımlama araçları kimyasal bileşiklerin de taksonomik çalışmalarda, klâsik karakterlere yardımcı olmasını sağlamıştır (31).;

Swingle'ın (32), *Rutacea* familyasında belirli glükositlerin varlığı ve yokluğunu belirtmesinden sonra çeşitli araştırmacılar ; flavonoidler (15), flavononlar (1), uçucu yağlar (17, 26), kumarin ve psoralenler (30), karotenoidler (10), yağ asitleri ve hidrokarbon profilleri (21, 23), steroller (24), yaprak mum alkanları (25), kök peroksidaz izoenzimleri (3), genç sürgün homojenatlarının koagülasyonu (7) gibi farklı kimyasal bileşikler ve reaksiyonlarını taksonomik amaçlarla kullanmışlardır.;

Diğer *Citrus* türlerinde olduğu gibi mandarinler de taksonomik olarak bir komplekstir. Her ne kadar belirgin bir şekilde sıkıca ilişkili olmalarına karşın, mandarinler açık bir şekilde çeşitli doğal gruplara ayrılabilir. Swingle (32) mandarinleri 3 tür olarak belirlerken, Tanaka (33) 36 tür, Hodgson (14) ise 4 tür (*C.unshiu*, *C.nobilis*, *C.deliciosa* ve *C.reticulata*) olarak bildirmiştir.;

Ele alınan bu çalışma ile *Citrus* cinsi yapraklarının içermiş olduğu fenolik bileşiklerin kâğıt kromatografi tekniği kullanarak tanımlanması ve bu yolla elde edilen sonuçların, bilgisayarla değerlendirilmesi sonucu mandarin çeşitleri arasındaki ilişki araştırılmıştır.;

MATERYAL VE METOT

1. Yaprak örnekleri;

10 farklı çeşidin (Rize, Satsuma owari, Yerli, Fremont, Ponkan, Klemantin, Fairchild, Wilking, Kinnow ve Fortune) sağlıklı ve olgun yaprakları, Ege Bölge Zirai Araştırma Enstitüsü narenciye bahçesinden 1977 yılı Ocak ayında alınmıştır. Yapraklar oda sıcaklığında kurutulmuş ve araştırma başlangıcına kadar polietilen torbalarda tutulmuştur.;

2. Yaprak ekstraksiyonu;

Kurumuş yapraklar Whatman No. 1 kâğıtları için 0.5 g; 3 MM kâğıtları için 5 g olarak tartılmış, bir cam çubuk yardımıyla ezilmiş ve % 0.5 Hcl içeren metanolla ekstrakte edilip gece boyunca karanlıkta saklanmıştır (0.5 g ezilmiş yaprak için 1.5 ml metanol kullanılmıştır).;

3. Kâğıt kromatografi;

Her bir çeşit için 4 adet kâğıt kullanılmıştır, Yaprak akstraktları kâğıdın orijin noktasına 5 defa uygulanmış ve uygulamalar arasında kurutma tabancası kullanılmıştır.,

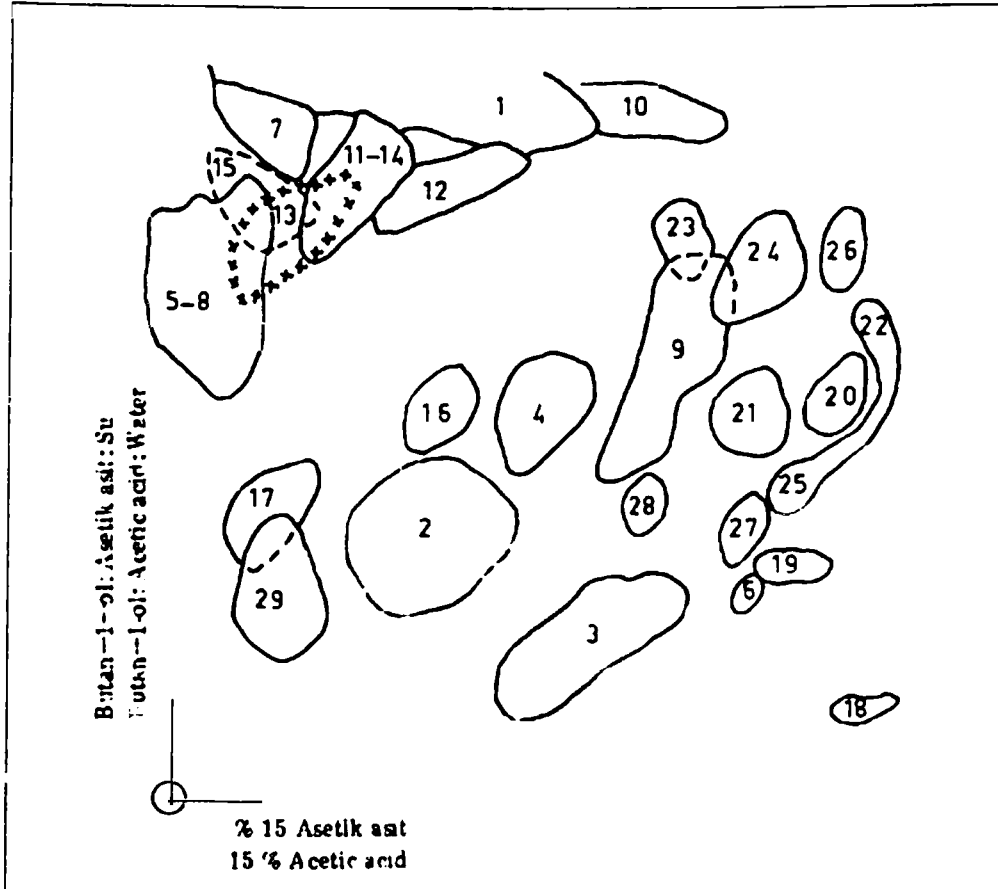
Kromatogramlar Shandon tank'ları içerisinde 2- yönlü olarak geliştirilmiştir. Kullanılan eriyikler ve zaman; 1. yön için butan-1-ol:asetik asit:su (3:1:1) ve 12 saat (No. 1 için), 15 saat (3 MM için); 2.yön için % 15 asetik asit:% 85 su ve 2 saat 45 dakika (No. 1 için), 4 saat (3 MM için)tr.,

4. Spotların tanımı;

Hazırlanan kromatogramların bir setine fenolik bileşiklerin tanımlanması % 1 demir klorür ve % 1 potasyum ferri siyanit içeren taze bir karışım püskürtülmüştür. Bilindiği gibi bu genel ayraçla, fenolik bileşikler Prusya mavi lekelerini meydana getirirler (6). Diğer iki set kromatogram önce UV ışığı altında incelenerek herhangi bir özel Rf değerindeki farklı renkte spotların her biri ayrı karakter olarak belirlenmiş ve daha sonra amonyak buharının varlığında meydana gelen renk değişimleri gözlenmiştir. Kromatogramların en son setine % 5 Aliminyum klorür içeren metanol püskürtülmüş ve spotlar hem normal ışık ve hem de UV altında kontrol edilmiştir. Çeşitlerin içerdiği spot numaraları cetvel - 1'de, ana (Master) kromatogram şekil - 1'de, spot özellikleri ve renk değiştirmeleri ise cetvel - 2'de sunulmuştur.,

5. Spektrofotometrik analizler;

Her bir özgün spot (farklı Rf ve renk içeren) 3 MM kâğıtlarının 10 adedinden kesilerek spektroskopik metanolla elüt edilmiştir (yıkamıştır). Elde edilen bu elüt, UNICAM-SP-800 UV spektrofotometrenin örnek hücreğine konmuştur. Aynı zamanda orijin noktasının altından kesilen bir kâğıt parçasının ekstasyonu ile hazırlanan solüsyon referans hücreğine konmuştur. Fenolik bileşikler 190 - 450 milimikron dalga boyunda olduklarından (19), spektrofotometre bu dalga boylarına ayarlanarak, her bir spotun gösterdiği zirveler (peak) saptanmıştır. Bazı fenolik bileşikler, aliminyum klorür ile zirvelerde bir yönelim gösterdiklerinden (12), her bir spot elütü'nün aynı zamanda 6 damla $AlCl_3$ ilâvesi ile zirveleri elde edilmiştir (Cetvel - 2). Spotların tam olarak tanımlanması ve isimlendirilmesi; kaynama noktası, erime noktası, refraktif indeksi gibi bazı bilgileri gerektirdiğinden kimyasal tanımlama için daha ileri gidilmemiştir. ,



Şekil 1 - Mandarin çeşitlerindeki spot modellerinin ana kromatogramı.

Figure 1: The Master chromatogram of spot patterns on the mandarin cultivars.

Cetvel 1. Mandarin çeşitlerinde spotların varlığı ve yokluğu
Table 1. Presence and absence of spots of mandarin cultivars

Spot No. Spot numbers	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
6	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
7	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-
8	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
9	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
11	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-
12	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
13	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
14	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
15	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-
16	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
17	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-
18	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
20	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
21	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+
22	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
23	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
24	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
25	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
26	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
28	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+
29	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

(+) : Var (Present)

(-) : Yok (Absent)

A : Rize

F: Klemantin

B : S.owari

G: Ponkan

C : Yerd

H: Fremont

D : Viking

I: Fortune

E : Kinnora

J: Fairchild

Cetvel 2. Spotların renkleri, Rf değerleri ve SPEktral maksimaları

Table 2. Colours, Rf values and Spectral maximas of spots

Spot No Spot numbers	Renkler Colours				Rf değerleri (Rf values)		Spektral maxima (milinükron) (Spectral maxima (milimicron))	
	UV	UV + NH ₃	ALCL ₃ (gün ışığı) AlCl ₃ (Sun light)	ALCL ₃ + UV	BAW	HoAc	MeOH	MeOH+ ALCL ₃
1	Gri	—	—	—	0.90	0.50	250sh, 271,328	250sh,271,328
2	kM	S	S	KaS	0.40	0.30	268, 346	275,295sh,350
3	kM	SveKa	S	KaS	0.25	0.60	272, 337	280,303sh,345
4	kM	aKa	S	S	0.52	0.51	270, 342	278,300sh,345
5	S	—	—	—	0.70	0.06	—	—
6	Mv	—	—	—	0.24	0.80	—	—
7	kiY	—	SoS	akiY	0.91	0.13	275sh, 340	290sh,355
8	P	—	—	—	0.70	0.06	—	—
9	Ka	KaS	S	KaS	0.62	0.64	267, 350	267, 350
10	kMe	—	—	—	0.85	0.60	—	—
11	S	fS	SoS	fMvY	0.88	0.26	270sh, 327	270sh, 328
12	Me	—	—	—	0.88	0.37	268sh, 327	268sh, 327
13	SKa	—	—	—	0.83	0.15	—	—
14	Siy	fMvY	S	kiY	0.87	0.20	280, 337	255, 287,353
15	Me	kMe	—	—	0.77	0.11	271, 342	272, 350
16	Siv	—	—	—	0.55	0.38	—	—
17	Me	—	—	—	0.48	0.16	—	—
18	fMv	—	—	—	0.14	0.90	—	—
19	Me	—	—	—	0.18	0.90	—	—
20	Ka	KiY	S	fY	0.60	0.84	285, 325sh	305, 330sh
21	fMv	fY	—	yMv	0.59	0.78	283, 332	304, 345
22	kMe	fMe	—	—	0.60	0.91	277, 282sh	277, 283sh,305sh
23	YS	—	—	—	0.73	0.68	—	—
24	fMv	fY	—	yMv	0.73	0.80	287sh, 322	310, 325sh
25	fMv	fY	—	yMv	0.40	0.85	283	305
26	Me	kMe	—	—	0.79	0.90	275, 282sh	275, 282sh
27	kiKa	—	—	—	0.38	0.73	—	—
28	kiKa	—	—	—	0.50	0.64	—	—
29	aY	—	—	—	0.30	0.15	—	—

a — Açık (light)

f — fluoresane (Fluor scence)

k — koyu (Dark)

ki — Kirli (Dirty)

sh — Yan zirve (Shoulder)

So — Soluk (Pale)

Y — Yoğun (Dense)

Ka — Kahverengi (Brown)

M — Mor (Purple)

Me — Menekşe (Violet)

Mv — Mavi (blue)

P — Portakal (orange)

S — Sarı (Yellow)

Siy — Siyah (Black)

Y — Yeşil (Green)

BAW — Butan —1—ol: Asetik asit: su (3:1:1)

Butan —1—ol: Acetic Acid: water.

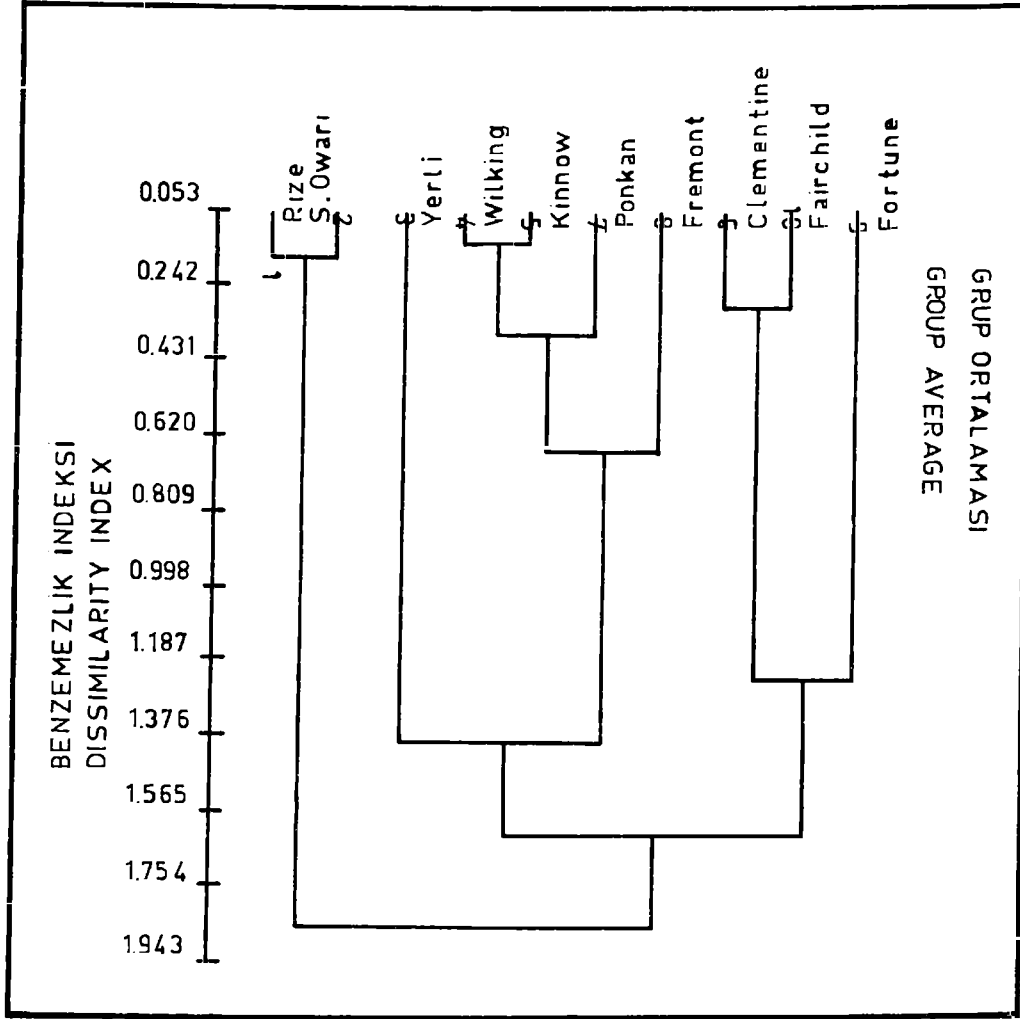
HoAc: %15 Asetik asit %85 su

15% Acetic Acid 85% water

MeOH — Metanol (Methanol)

6. Numerik çalışmalar

Spotların varlığı/yokluğu, bilgisayar kartlarına işlenerek ve basit uyuşum katsayısı ve grup ortalama kümeleme metodları (29) kullanarak küme analizine tabi tutulmuştur. Çeşitler arasındaki ilişki bir dendrogram halinde elde edilmiştir. (Şekil : 2).



Şekil 2 : Spot modellerine dayalı mandarin varyetelerinin dendrogramı
Figure 2: Dendrogram of mandarin cultivars based on spot patterns

SONUÇLAR

1. Kromatografi ve Spektroskopi

Ön denemeler, farklı mevsimde toplanan ve farklı derecelerde (20—45 °C) kurutulan ve yeşil kalan yapraklar arasında kromatografik modeller bakımından herhangi bir fark olmadığını göstermiştir.

Kromatogramlarda 29 farklı spot sayılmıştır (Cetvel 1 ve Şekil 1). 1, 2, 3, 10, 12, 18, 19, 20, 22, 24 ve 25 nolu spotlar bütün çeşitlerde bulunmuştur. Yerli mandarin, diğer çeşitlerde olmayan, 26 nolu spot'a sahiptir. Fortune için no. 29 karakteristiktir. No. 4 ve 16, Rize ve Satsuma owarı hariç, bütün çeşitlerde vardır. Diğer taraftan bu iki çeşit diğerlerinin içermediği no. 9'a sahiptir. Spot no. 23 ise çok zayıf olarak ve sadece Klemantin ve Fairchild çeşitlerinde bulunmuştur. Spot no. 7 ve 11'i içeren grup (Rize, S. owarı Klemantin, Fortune ve Fairchild) spot no.14'e sahip değilken buna sahip diğer grup (Yerli, Wilking, Kinnow, Ponkan ve Fremont) spot no. 7 ve 11'i içermemiştir.

Her ne kadar spot no. 5 ve 9 aynı Rf değerin sahibiye de farklı renkler göstermektedir.

Spektroskopik analizler ve UV ışığı altındaki analizler yardımıyla bazı spotların kısmi karakterizasyonu saptanmıştır. Spot no. 12, 15, 17, 19, 22 ve 26 furokumarinler; spot no. 16, 18, 21, 24 ve 25 muhtemelen basit fenolik asitler (kaffeik, sinamik, kumarik asit gibi); spot no. 2,3 ve 4 flavonlar ve flavonol-7-glikositler; spot no. 9, biflavonil spot no. 20, flavon glikosit, spot no. 5 pozisyon-3'ü serbest olan flavonol glikosit; spot no. 7 ve 11, pozisyon-5 hidroksi grubu içermeyen flavonoller ve spot no. 14 ve 20 ise muhtemelen Naringenin, isosakuranetin veya hesperidin olan flavonol glikositler olarak tanımlanmıştır (19).

2. Numerik Taksonomik çalışmalar

CLUSTAN 2A analizinden elde edilen sonuçlar dendrogram olarak elde edilmiştir. Üç farklı grup çifti; (4-5), (1-2) ve (6-10), sırasıyla en düşük benzemezlik indeksini vermişlerdir. Üç farklı grup, yani (1-2), (4,5,7,8 ve 3) ve (6, 10 ve 9) dendrogram'dan kolayca ayırt edilmiştir. Grup (1-2) diğerlerinden bariz olarak farklıdır. Diğer iki grup ise birbirlerine zayıf olarak yüksek benzemezlik indeksinde bağlanmaktadır.

TARTIŞMA

En büyük benzerlik Wilking ve Kinnow arasında görülmüştür. Her ikisi de melezleme yoluyla elde edilen çeşitler olup, aynı ebeveynlere (King ve Willowleaf) sahiptirler. Spot özellikleri no. 17 hariç aynı bulunmuştur. Bu bakımdan spot No. 17, her iki varyeteyi tanımlamada önemlidir.

Rize ve Satsuma owari, ikinci en büyük benzerliği göstermişlerdir. Satsuma owari, farklı olarak spot no.6'yı içermektedir. Hodgson (14) ve Tanaka (33, 34), bu çeşitleri farklı bir grup olarak (*C.ursiu* Marc.) sınıflandırmaktadır.

Klemantin ve Fairchild dendrogram'da bir çift oluşturmuştur. Fairchild, Klemantin ile Orlando Tangelo arasında bir hibrittir ve spot modeli tohum ebeveyni olan Klemantin'e benzemektedir. Ponkan, Wilking-Kinnow çiftine bağlanmıştır. Benzer spotlar bu üç varyetede de bulunmuştur. Wilking ve Kinnow, daha önce belirtildiği gibi, King ve Willowleaf arasındaki melezlenmeden elde edilen Siblign'lerdir. Ponkan mandarinini, King mandarinine bazı morfolojik özellikler yönünden benzerlikler gösterir. Bu da, Ponkan'ın bu iki hibrite benzerliğini açıklamaktadır. Aynı zamanda, Ponkan'ın orijini bilinmemekte, fakat muhtemelen Çin'de yani King (*C.nobilis*) mandarininin orijin ettiği yerde, kaynaklandığı varsayılmaktadır.

Fremont; Klemantin ve Ponkan arasında bir hibrit olup, diğer ebeveyne göre Ponkan'a daha çok benzerlik göstermektedir. Cameron ve Frost (4), *Citrus* döl karakterlerinin heterozigoti'ye bağlı olarak parental dizinin dışına taşılabileceğini göstermişlerdir.

Fortune, Klemantin X Dancy tangerine melezi'dir. Klemantin-Fairchild grubuna yüksek bir benzemezlik indeksinde bağlanmıştır.

Yerli mandarin diğer varyetelere çok az bir benzerlik göstermiştir. Onun ebeveynleri ve orijin modeli bilinmemekte fakat Çin'deki bir mandarin varyetesinin çöğürü olarak geliştiği varsayılmaktadır. Tanaka (33), bu varyeteyi *C.delicosa* olarak sınıflayarak, küçük yapraklar ve çiçekler ile orta ve orta-büyük meyveler olarak karakterize edilen alt grup *Megacarpa* içerisinde *C.reticulata*, *C.tangerina* ve *C.clementina* ile bir araya koymuştur.

Diğer kimyasal maddeler gibi, örneğin uçucu yağlar, hidrokarbonlar, v.b. fenolik bileşikler de türlerin ve çeşitlerin ayırımında önemli bir rol oynamaktadır. Dass, Randhawa ve Kaur (5), yaprak fenoliklerinin *Citrus* taksonomisinde faydalı olabileceğini belirtmektedirler. Nishiura ve ark. (22), flavonoidler yardımıyla *Citrus* cinsinde kemosistemik çalışmalar yapmışlardır. Ueno ve ark. (35) kâğıt kromatografi tekniği ile *Citrus* türleri ve onların hibritlerini tanımlama çalışmalarında bulunmuşlardır.

Kromatografik, spektroskopik ve numerik çalışmalar, mandarin çeşitlerinin tanımlanması ve tür içerisindeki grupların arasındaki ilişkilerin açıklanmasında fenolik bileşiklerin faydalı olabileceğini göstermiştir.

SUMMARY

THE RECOGNITION OF MANDARIN (CITRUS SPP.) CULTIVARS BY PAPER CHROMATOGRAPHY

The genus *Citrus* reached its peak of progressive evolution after a very long period. The taxonomic problem of this genus is complicated by the broad inter fertility, not only of intrageneric hybrids, but also intergeneric hybrids and a long period of natural hybridization. To solve this complication, chemical characters have been used with together botanical ones in taxonomical studies.

In this study, ten different mandarin cultivars, Rize, Satsuma Owari, Yerli, Wilking, Kinnow, Klemantin, Ponkan, Frement, Fairchild and Fortune, were screened for their leaf phenolic patterns with the help of paper chromatography. The dendrogram showed three distinct groups of cultivars, linked with each other at different levels.

In contrast to other chemical characters of which most are used at the species level, phenolic compounds can be used at the varietal level for classification.

LİTERATÜR KAYNAKLARI

1. Albach, R.F. ve G.H. Redman. 1969. Composition and inheritance of flavanones in citrus fruits. *Phytochemistry*, 8: 127 - 143.
2. Barrett, H.C. ve A. M. Rhodes. 1976. A numerical taxonomy study of affinity relationships in cultivated *Citrus* and its close relatives. *Systematic Botany*, 1(2): 105 - 136.
3. Button, J., A.Vardi ve P.Spigel-Roy. 1976. Root peroxidase isoenzymes as an aid in *Citrus* breeding and taxonomy. *Theoretical and Applied Genetics* 47: 119 - 123.
4. Cameron, J.W. ve H.B. Frost. 1968. *Citrus Breeding*. "Citrus Industry (Eds. H.J. Webber, W.Reuther ve L.D.Batchelor) Cilt 2. Univ. of Calif. Press,
5. Dass, H.C. ve G. M.Weaver. 1972. Cellulose thin-layer chromatography of phenolic substances. *J. Chrom.* 67: 105-111.
6. Dass, H.C., G.S. Randhawa ve M.Kaur. 1974 Usefulness of leaf phenolics in *Citrus* taxonomy. *Proceedings of the XIX Int. Hort. Congr. Sect. 1A Varşova. Sayfa. 18.*
7. Esen, A. ve G.Geraci. 1976. Distribution of coagulation of young shoot homogenates in the *Aurantioideae*. *Amer. J. Bot.* 63 (3): 329-334.
8. Furr, J.R. ve P.C.Reece. 1946. Identification of hybrid and nucellar *Citrus* seedlings by a modification of the rootstock color test. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 46: 141-146.
9. Giacometti, D.C. 1957. Distinction between five type of rough lemon. *Revista Ceres, Brazil.* 10:111-118.
10. Gross, J., M.Gabai ve A.Lifshitz. 1972. A comprative study of carotenoid pigments in juice of shamouti, Valencia and Washington oranges, three varieties of *C.sinensis*. *Phytochemistry*, 11: 303 - 308.
11. Halma, F.F. ve A.R.C. Haas. 1929. Identification of certain species of *Citrus* by colorimetric test. *Plant Physiol.* 4:265-268.
12. Harborne, J.B. 1973. *Phytochemical methods. Chapman and Hall. Londra.*
13. Hendrickson, H.C. 1928. Identification of *Citrus* budding stock. Puerto Rican method for testing root system. *Florida Grower.* 36: 14-15.
14. Hodgson, R.W. 1961 *Proceedings of the 2nd conf. of int. org. of Citrus Virologist (Ed.W.C.Price). Unive. of Florida Press. sayfa 1-7*
15. Horowitz, R.M. 1961. Studies on the structures and bitterness of the flavonoid glycosides of *Citrus*. *Symposium on biochemistry on plant phenolics substances (Ed. C.Johnson ve T.A. Giesmann. sayfa 1-8).*

16. Hooker, J.D. 1875. Flora of British India. *Reeves and Co., Londra. Rutaceae 1: 484—517.*
17. Kamiyama, S. ve M.Amaha. 1972 Studies of the leaf oils of *Citrus* species *Bull. Brew. Sci.* 18: 17—27.
18. Linneaus, C. 1753. *Species Plantarum.*
19. Mabry, T.J., K.R.Markham ve N.B. Thomas. 1970. The systematic identification of flavonoids. *Springer-verlag. Berlin.*
20. Malik, M.N. 1973. A new concept in *Citrus* classification. *Pakistan J. of Sci. Res.* 25: 268—271.
21. Magy, S. ve H.E. Nordby. 1972. Saturated and monosaturated longchain, hydrocarbon profiles from orange, grapefruit, mandarin and lemon juice sacs. *Lipids*, 7: 666—675.
22. Nishiura, M., S.Esaki, S. Kamiya ve F.Ito. 1971. Flavonoids in *Citrus* and related genera. Part II. *Agr. Biol. Chem.* 35: 1683—1690.
23. Nordby, H.E. ve S.Nagy. 1969. Fatty acid profiles of *Citrus* and seed lipids. *Phytochemistry* 8: 2027—2038.
24. -----, 1974. Fatty acid composition of sterol esters from *C.sinensis*, *C. paradisi*, *C.limon*, *C.aurantifolia* and *C.limettioides* sacs *Phytochemistry* 13: 443—452.
25. -----, ve J.M.Smoot. 1979. Selected leaf wax alkanes in chemotaxonomy of *Citrus*. *J.Amer. Soc. Hort. Sci.* 104 (1): 3—8.
26. Scora, R.W. ve M.N.Malik. 1970. Chemical characterization of *Citrus* as a tool in phylogeny. *Taxon*, 19 (2): 215—228.
27. Selle, R.N. 1958. Spot chromatography identification of *Citrus* rootstock. *Nature* 181: 506—507.
28. Singh, D. ve C.A Schroeder. 1962. Taxonomic and physiological relationships of the so-called mandarin—lime group of *Citrus*. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 80:291—295.
29. Sokal, R.R. ve P.H.A. Sneath. 1963. Principles of Numerical Taxonomy. *W.H.Freeman, San Francisco.*
30. Stanley, W.L. ve L.Jurd. 1971. *Citrus* coumarins. *J.Agr. Food Chem.* 19: 1106—1110.
31. Swain, T. (Ed.). 1963. Chemical plant taxonomy. *Academic Press. New York.*
32. Swingle, W.T. 1943. The botany of *Citrus* and its wild relatives of the orange subfamily (*The Citrus Industry*). Eds. (H.J.Webber ve L.D. Batchelor) *Cilt. 1: 129—174. Univ. of Calif. Press. USA.*
- 33 Tanaka, T. 1954. Species problem in *Citrus* (Revised *Aurantiacearum IX*) *Jap. Soc. Promotion of Sc., Ueno, Tokyo. 152 sayfa.*
34. -----, 1961. Citrologia semi centennial commemoration papers on *Citrus* studies. *Osaka Univ. 114 sayfa.*
35. Ueno, I., M.Nishura ve M. Iwamasa. 1972. The use of PC identifying *Citrus* species and their hybrids. *Bull of the Hort. Res. St. B. (Okitsu) Japan, No. 12: 15—29.*
36. Wolfe, H.S 1959. Some problems in *Citrus* nomenclature. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. Caribbean Region. 7: 18- 21.*