

VAN EKOLOJİK KOŞULLARINDA DOĞAL OLARAK YETİŞEN KUŞBURNU TÜRLERİNDE (*Rosa* ssp.) KAROTENOİD MİKTARLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Nurhan KESKİN¹
Nalan TÜRKOĞLU³

Şevket ALP²
Şeyda ÇAVUŞOĞLU⁴

ÖZET

Karotenoidler, bitkinin kuraklığın olumsuz etkisine karşı koyabilmesinde doğrudan, fotosentezde ise dolaylı rol almaktadır. Son yıllarda kuraklığa karşı dayanıklılığın belirlenmesinde erken seleksiyon kriteri olarak yapraklarda karotenoid miktarının belirlenmesine yönelik çalışmalar ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada, Van ekolojik koşullarında yetişen kuşburnu türlerinde (*R. pisiformis*, *R. feotida*, *R. feotida bicolor*, *R. hemisphaerica*, *R. heckellana* subsp., *R. dumalis* subsp., *R. canina*, *R. pulverulenta* ve *R. canina* × *R. dumalis* melezi) iki ayrı yöntem (Lichtenthaler ve Wellburn, 1983; Porra, 2002) ile belirlenen karotenoid miktarları karşılaştırılmıştır. Karotenoidler bakımından kuşburnu türleri arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi yapılırken, türler arası benzerlikleri belirlemek amacıyla kümeleme analizi yapılmıştır. Çalışma sonucunda karotenoid değerleri bakımından, her iki ölçüm yöntemine göre de türler arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). Her iki yöntemle göre de; en yüksek karotenoid değeri, doğada kayalık alanlarda yetişen ve kuraklığa dayanıklı bir tür olan *R. pulverulenta*'da ölçülmüştür. Kümeleme analizi sonucunda dokuz farklı kuşburnu türü için genel benzerlik oranı yaklaşık %50 olarak bulunmuş, ancak bazı türler arası benzerliğin %98'lerin üzerine çıktığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Rosa* ssp., karotenoid, kümeleme analizi

ABSTRACT

COMPARISON OF CAROTENOID AMOUNT OF ROSEHIP TYPE (*Rosa* spp.) GROWN NATURALLY IN VAN ECOLOGICAL CONDITIONS

Carotenoids are play an important role to protect directly negative effects of the aridness as well as indirect role in photosynthesis. Recently, the studies about determination of Carotenoids amount in leaves has been popular to early selection criteria for determination of resistance to drought. In this study, carotenoids amount which determined by two methods (Lichtenthaler and Wellburn, 1983; Porra, 2002) was compared in rosehip species (*R. pisiformis*, *R. feotida*, *R. feotida bicolor*, *R. hemisphaerica*, *R. heckellana* subsp., *R. dumalis* subsp., *R. canina*, *R. pulverulenta* and *R. canina* ×

¹ Yrd. Doç. Dr., Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tuşba/VAN

² Doç. Dr., Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Tuşba/VAN

³ Doç. Dr., Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tuşba/VAN

⁴ Yrd. Doç. Dr., Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tuşba/VAN

R. dumalis) grown in Van ecological conditions. One-way analysis of variance was performed to determine whether significant differences among the *Rosa* spp. in terms of carotenoids amount while cluster analysis was carried out to determine similarities between the species as considering both methods together. Results of the study indicated that there were statistically significant differences among the species for both measurement methods ($p < 0.01$). The highest values of carotenoids were measured in the *R. pulverulenta* which grows in rocky areas and resistant to aridness. According to results of cluster analysis, overall similarity level among the species is 50% while over the 98% for some species.

Keywords: *Rosa* spp., carotenoids, cluster analysis

GİRİŞ

Karotenoidler klorofilden sonra doğada en yaygın olarak bulunan renk pigmentleridir. Karotenoidler hemen hemen tüm yüksek bitkilerde ve birçok mikroorganizmada (kırmızı ve yeşil algler, fotosentetik bakteriler ve mantarlarda) değişik miktarlarda bulunur [6]. Sağlıklı bir bitkide bahar ve yaz ayları boyunca dominant pigment olan klorofil, sonbaharda azalmaya başlar ve bunun yerini karotenoid pigmentleri alır. Işık, karotenoidlerin biyosentezini teşvik ettiğinden, bitkinin ışığa maruz kalma derecesi karotenoid konsantrasyonunu etkileyen önemli bir faktördür. Bunun yanı sıra, bitkilerin karotenoid içeriği; bitki türü, azot (N) içeriği, iklim, toprak yapısı, ilaçlama, uygulanan kültürel işlemler ve meyvelerin olgunluk durumuyla yakından ilişkilidir [3, 12].

Yüksek bitkilerde kloroplastlarda bulunan karotenoidlerin, fotosentezde dolaylı olarak rol oynadığı bilinmektedir. Bu bileşikler esas olarak fotosentezde iki yönden önemlidir. Birincisi, ışık ve O₂ karşısında klorofillerin parçalanmasını yani fotooksidasyonunu önler. İkincisi ise fotosentetik sistem içerisinde belirli dalga boyundaki ışık enerjisini absorbe edip klorofile aktararak fotosentez olayına katkıda bulunurlar [6]. Bunun yanı sıra karotenoidlerin fotodinamik hasara (ışığın canlılarda meydana getirdiği arızalar) karşı canlı organizmaları koruyan doğal bir kalkan olduğu da söylenebilir.

Karotenoidlerin bir diğer öne çıkan rolü ise kuraklığın olumsuz etkisine karşı koyabilmede bitkiye yardımcı olmalarıdır. Bu bağlamda, kuraklığa karşı dayanıklılığın belirlenmesinde erken seleksiyon kriteri olarak yapraklarda karotenoid miktarının belirlenmesine yönelik

çalışmalar küresel ısınma nedeniyle son yıllarda daha da popüler hale gelmiştir. Bu durumdan yola çıkarak planlanan bu çalışmada, Van ekolojik koşullarında yetişen dokuz farklı kuşburnu türünde çok çeşitli etki ve fonksiyonlarıyla doğada bulunan en önemli pigment gruplarından birini oluşturan karotenoid miktarları iki ayrı yöntem (7 ve 9) kullanılarak belirlenmiş ve karşılaştırılmış, bunun yanı sıra bu özellik bakımından türler arası benzerlik ortaya konmaya çalışılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmada materyal olarak, Van ekolojik koşullarında aynı alan içerisinde yetişen *Rosa pisiformis* (CHRIST) D. SOSN., *Rosa feotida* Herrm., *Rosa feotida bicolor* L., *Rosa hemisphaerica* J. HERRM., *Rosa heckellana* TRATT. subsp. *vanheurckiana* (CREPIN) Å–. NILLSON., *Rosa dumalis* BECHST. subsp. *boissieri* (CREPIN) Å–. NILSSON var. *boissieri* (CREPIN) Å–. NILSSON, *Rosa canina* L., *Rosa pulverulenta* BIEB. ve *Rosa canina* × *Rosa dumalis* melezi kullanılmıştır.

Metot

Karotenoid miktarının belirlenmesi

Klorofil a (Kl a) ve b (Kl b)'yi belirleyebilmek için taze yaprak örnekleri %80'lik (hacim/hacim) asetonla homojenize edilerek filtre kâğıdı yardımıyla filtre edilmiştir [1]. Hesaplamalar Lichtenthaler ve Wellburn [7] ile Porra [9] tarafından aşağıda verilen eşitliklere göre yapılmıştır. Elde edilen ekstraksiyonda

karotenoid miktarını belirleyebilmek amacıyla absorbens değerleri UV spektrofotometresinde 470 nm’de ölçülmüştür.

Lichtenthaler ve Wellburn [7]’e göre;

Kl a ($\mu\text{g/ml}$)=12.21 (A_{663})–2.81 (A_{646})

Kl b ($\mu\text{g/ml}$)=20.13 (A_{646})–5.03 (A_{663})

A=Absorbans değeri

Porra [9]’e göre;

Kl a ($\mu\text{g/ml}$)=12.25 ($A_{663,6}$)–2.55 ($A_{646,6}$)

Kl b ($\mu\text{g/ml}$)=20.31 ($A_{646,6}$)–4.91 ($A_{663,6}$)

Karotenoidler ($\mu\text{g/ml}$)=(1000A₄₇₀–3.27 [Kl a]–104 [Kl b])/227

İstatistik analiz

Üzerinde durulan özellik olan karotenoidler bakımından tanımlayıcı istatistikler; ortalama ve standart hata olarak ifade edilmiştir. Bu özellik bakımından dokuz kuşburnu türü arasında fark olup olmadığını belirlemek amacıyla Tek yönlü varyans analizi (One–way ANOVA) yapılmıştır. Varyans analizini takiben, farklı türleri belirlemede Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Hesaplamalarda istatistik önemlilik düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS (ver:13) istatistik paket programı kullanılmıştır. Ayrıca Lichtenthaler ve Wellburn [7] ile Porra [9] yöntemleri ile yapılan ölçümlere göre karotenoidler bakımından türler arası benzerlikleri belirlemek amacıyla kümeleme analizi yapılmıştır. Kümeleme analizinde; bağlantı yöntemi olarak tekli bağlantı yöntemi ve uzaklık ölçüsü olarak Öklid uzaklığı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada ele alınan özellik olan karotenoidler bakımından dokuz kuşburnu türü için tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 1’de verilmiştir. Çizelge 1’de görüldüğü üzere; karotenoid değerleri bakımından, her iki ölçüm yöntemine göre de türler arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Çizelge 1, Lichtenthaler ve Wellburn [7]’e göre yapılan ölçümler bakımından incelendiğinde; en yüksek karotenoid değerinin 3.055 $\mu\text{g/ml}$ ile *R. pulverulenta*’da ölçüldüğü ve bunu 1.966 $\mu\text{g/ml}$ ile *R. dumalis* subsp.’in, 1.956 $\mu\text{g/ml}$ ile *R. pisiformis*’in ve 1.952 $\mu\text{g/ml}$ ile *R. hemisphaerica*’nın izlediği

görülmektedir. En düşük karotenoid değeri ise 0.867 $\mu\text{g/ml}$ ile *R. feotida bicolor* türünden elde edilmiştir.

Çizelge 1, Porra [9]’ya göre yapılan ölçümler bakımından incelendiğinde; Lichtenthaler ve Wellburn [7]’e göre yapılan yöntemine benzer şekilde; en yüksek karotenoid değerinin 0.0063 $\mu\text{g/ml}$ değeri ile yine *R. pulverulenta*’da ölçüldüğü ve bunu 0.0048 $\mu\text{g/ml}$ ile *R. pisiformis*’in ve 0.0045 ile de *R. dumalis* ve *R. hemisphaerica*’nın izlediği görülmektedir. Porra [9] yönteminde de en düşük karotenoid değerinin 0.0026 $\mu\text{g/ml}$ ile *R. feotida bicolor* türüne ait olduğu görülmüştür.

Her iki yöntemle göre de; en yüksek karotenoid değeri, doğada kayalık alanlarda yetişen ve kuraklığa dayanıklı bir tür olan *R. pulverulenta*’da ölçülmüştür. Kuraklığa maruz kalan bitkiler, genellikle karotenoid seviyelerini oksidatif stresle başa çıkmak için artırmaktadır [11]. Ayrıca kimi araştırmacılar kurak koşullarda bitkilerin karoten miktarlarının arttığını bildirirken [5, 10] kimi araştırmacılar da karoten miktarlarının azalma [2, 4, 8] şeklinde değişim gösterebildiğini belirlemişlerdir.

Koçak [6], Sivas çevresinde yetişen kuşburnu türlerini gal oluşturan ve oluşturmeyen (kontrol) olmak üzere Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında üç farklı dönemde karotenoid miktarı bakımından karşılaştırmıştır. Araştırmacı, Haziran ayında kontrol grubundaki karotenoid miktarının (7.65 $\mu\text{g/g}$ yaş ağırlık), galli türlerde (6.22 $\mu\text{g/g}$ yaş ağırlık) göre daha yüksek seviyede olduğunu tespit etmiştir. Temmuz ayında ise gal oluşumuyla birlikte, galli türlerde (7.77 $\mu\text{g/g}$ yaş ağırlık) karotenoid miktarının kontrol grubuna (7.31 $\mu\text{g/g}$ yaş ağırlık) göre daha yüksek seviyede olduğunu saptanmıştır. Ağustos ayında ise yine galli türlerin (7.79 $\mu\text{g/g}$ yaş ağırlık) yapraklarında bulunan karotenoid miktarının kontrol grubuna (7.25 $\mu\text{g/g}$ yaş ağırlık) göre daha yüksek seviyede olduğu dikkat çekmiştir.

Her iki yöntemle yapılan ölçümler dikkate alınarak, karotenoid değerine göre türler arası benzerlikleri belirlemek amacıyla yapılan kümeleme analizi sonucunda elde edilen dendrogram grafiği ve buna bağlı olarak kümeleme analizi sonuçları sırasıyla Şekil 1 ve Çizelge 2’de verilmiştir. Şekil 1 ve Çizelge 2 birlikte incelendiğinde; toplam dokuz kuşburnu için genel benzerlik oranı yaklaşık %50 olarak

bulunmuştur. Diğer bir ifade ile ele alınan bu özellik bakımından kuşburnu türleri arasındaki varyasyon yaklaşık %50 olarak ifade edilebilir. Çizelge 2 incelendiğinde; en yüksek benzerlik oranının %99.844 ile 1 (*R. pisiformis*) ve 4 (*R. hemisphaerica*) no'lu türler arasında olduğu dikkati çekmektedir. Bu türlerin oluşturduğu kümeye %99.544 benzerlik oranı ile 6 no'lu tür

(*R. dumalis* subsp.) katılmıştır. 7 (*R. canina*) ve 9 no'lu türler (*R. canina* × *R. dumalis* melez) arasındaki benzerlik oranı ise 98.842 olarak bulunmuştur. 2 (*R. feotida*), 5 (*R. heckellana* subsp.) ve 7 (*R. canina*) no'lu türler arasındaki benzerlik oranı ise yaklaşık %98 olarak kaydedilmiştir.

Çizelge 1. Karotenoidler bakımından türlere göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları (µg/ml)^z

Table 1. Descriptive statistics and comparison results for carotenoids (µg/ml)^z

Türler Species	Lichtenthaler ve Wellburn [7]		Porra [9]	
	Ortalama / Mean	St. Hata / SEM	Ortalama / Mean	St. Hata / SEM
<i>R. pisiformis</i>	1.956 b	.0218	.0048 b	.000058
<i>R. feotida</i>	1.606 d	.0228	.0041 de	.000041
<i>R. feotida bicolor</i>	0.867 e	.0141	.0026 f	.000026
<i>R. hemisphaerica</i>	1.952 b	.0399	.0045 c	.000070
<i>R. heckellana</i> subsp.	1.659 cd	.0098	.0042 d	.000016
<i>R. dumalis</i> subsp.	1.966 b	.0243	.0045 c	.000044
<i>R. canina</i>	1.709 c	.0084	.0040 e	.000014
<i>R. pulverulenta</i>	3.055 a	.0569	.0063 a	.000059
(<i>R. canina</i> × <i>R. dumalis</i>)	1.734 c	.0129	.0041 de	.000024
Genel / General	1.834	.0471	.0044	.000079

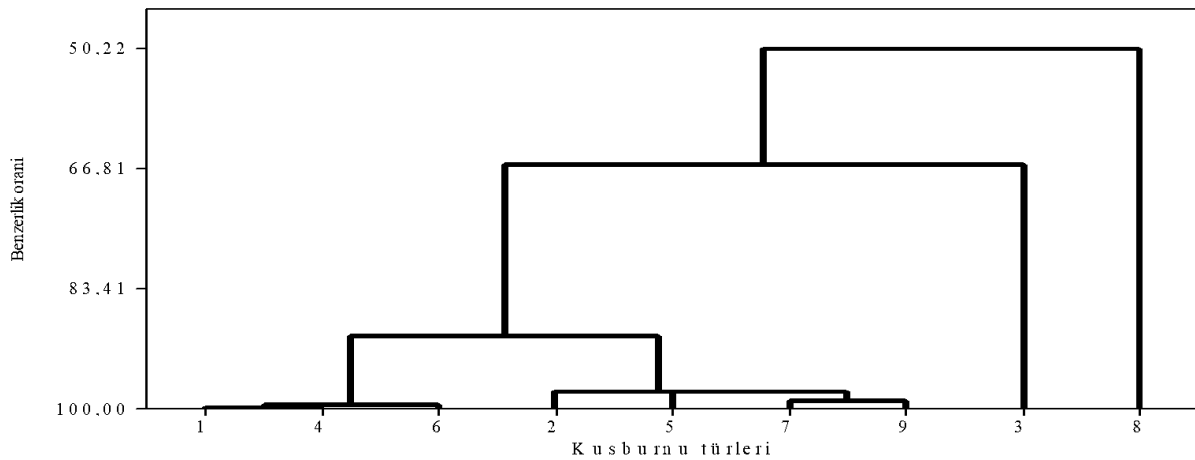
^zFarklı harf alan türler arası fark önemlidir (p<0.01)

^zDifferent lower cases represent statistically significant differences (p<0.01) SEM: Standard Error of Mean

Çizelge 2. Kümeleme analiz sonuçları

Table 2. Results of cluster analysis

Adım Step	Küme sayısı Number of cluster	Benzerlik oranı Similarity level	Kümelenen türler Clusters joined	Küme numarası Cluster number	Kümedeki tür sayısı Number of observation in new cluster
1	8	99.844	1 4	1	2
2	7	99.544	1 6	1	3
3	6	98.842	7 9	7	2
4	5	97.709	5 7	5	3
5	4	97.588	2 5	2	4
6	3	90.029	1 2	1	7
7	2	66.229	1 3	1	8
8	1	50.216	1 8	1	9



Şekil 1. Dendrogram

Figure 1. Dendrogram

SONUÇ

Bu çalışma ile Van ekolojik koşullarında yetişen dokuz farklı kuşburnu türünde iki ayrı yöntem kullanılarak belirlenen karotenoid miktarları karşılaştırılmış ve türler arası benzerlik ortaya konmaya çalışılmıştır. Her iki yönteme göre de; en yüksek karotenoid değeri, doğada kayalık alanlarda yetişen ve kuraklığa dayanıklı bir tür olan *R. pulverulenta*'da ölçülmüştür. Kümeleme analizi sonucunda dokuz farklı kuşburnu türü için genel benzerlik oranı yaklaşık %50 olarak bulunmuştur. En yüksek benzerlik oranının %99.844 ile *R. pisiformis* ve *R. hemisphaerica* türleri arasında olduğu görülmüştür. Bu türlerin oluşturduğu kümeye %99.544 benzerlik oranı ile *R. dumalis* katılmıştır. *R. canina* ve *R. canina* × *R. dumalis* mezei arasındaki benzerlik oranı %98.842 olarak belirlenirken; *R. feotida*, *R. heckellana* subsp. ve *R. canina* türleri arasındaki benzerlik oranı ise yaklaşık %98 olarak bulunmuştur.

Karotenoid miktarı bakımından gözlenen türler arası bu varyasyonun, yapılacak seleksiyon ve ıslah çalışmalarında göz önünde bulundurulabileceği ve kuraklığa dayanıklı türlerde, karotenoid miktarlarının yüksek olmasının, bu türleri ön plana çıkarma anlamında dikkate alınabileceği söylenebilir.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın istatistik analizinde değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Sıddık KESKİN (Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü Biyoistatistik AD.)'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Aron, D., 1949. Copper Enzymes Isolated Chloroplasts, Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24:1–15.
2. Çoban, S., 2007. Nohut Genotiplerinde Kuraklığa Bağlı Fizyolojik Parametreler ve Mineral Beslenme Üzerine Salisilik Asidin Etkisi (Yüksek Lisans Tezi). *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı, Ankara*, 85 s.
3. Erge, H. S., 2007. Domateste (*Lycopersicum esculentum*) Karotenoid Madde Dağılımı ve Antioksidan Aktivite (Doktora Tezi). *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana*, 91s.
4. Farrant, J. M., 2000. A Comparison of Mechanisms of Desiccation Tolerance among Three Angiosperm Resurrection Plant Species. *Plant Eco.* 151:29–39.
5. Jung, S., 2004. Variation in Antioxidant Metabolism of Young and Mature Leaves of *Arabidopsis thaliana* Subjected to Drought, *Plant Sci.*, 166, 459–466.
6. Koçak, H., 2007. Sivas Çevresinde Yetişen Kuşburnu (*R. canina* L.) Bitkisinin Gal Oluşturan ve Oluşturmayan Bireylerindeki Fizyolojik Değişikliklerin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Sivas*, 52.s
7. Lichtenthaler, H. K. and A. R. Wellburn, 1983. Determinations of Total Carotenoids and Chlorophylls a and b of Leaf Extracts in Different Solvents. *Biochem. Soc. Transac.* 11:591–592.
8. Munne-Bosch, S. and J. Penuelas, 2004. Drought-Induced Oxidative Stress in Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) Growing in Mediterranean Field Conditions. *Plant Sci.* 166:1105–1110.
9. Porra, R. J., 2002. The Chequered History of the Development and Use of Simultaneous Equations for the Accurate Determination of the Chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research* 73:149–156.
10. Tambussi, E. A., J. Casadesus, S. Munne-Bosch and J. L. Araus, 2002. Photoprotection in Water-Stressed Plants of Durum Wheat (*Triticum turgidum* var. durum): Changes in Chlorophyll Fluorescence Spectral Signature and Photosynthetic Pigments. *Fund. Plant Biol.* 29:35–44.
11. Yağmur, Y., 2008. Farklı Asma (*Vitis vinifera* L.) Çeşitlerinin Kuraklık Stresine Karşı Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Tolerans Parametrelerinin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir*, 108 s.
12. Yılmaz, İ., 2010. Karotenoidler. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 17(3):223–231.