



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



Doktora Tezi

**TÜRKİYE’DE YAYILIŞ GÖSTEREN *CERASUS* L. (ROSACEAE)
CİNSİ TAKSONLARI ÜZERİNDE FİLOGENETİK VE
FİTOKİMYASAL ANALİZLER**

Yusuf Can GERÇEK

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Programı

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ**

**II. DANIŞMAN
Prof. Dr. Birsen DEMİRATA ÖZTÜRK**

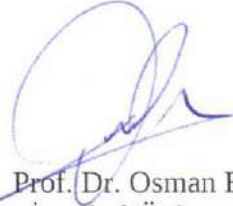
Aralık, 2020

İSTANBUL

Bu çalışma, 24.12.2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Botanik Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi


Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Osman EROL
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Zühal TURGUT
Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakülte



Prof. Dr. Levent ŞIK
Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi



Doç. Dr. Dilek ÖZYURT
İstanbul Üniversitesi
Su Bilimleri Fakültesi

İntihal Programı Beyanı

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Proje Destekleri

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 27427 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, 116Z247 numaralı TÜBİTAK projesi ile desteklenmiştir

Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri

--

ÖNSÖZ

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda engin fikirleriyle yetiştirme ve gelişmeye katkıda bulunan danışman hocam Prof.Dr. Gül CEVAHİR ÖZ'e,

Doktora çalışmamı ve ilgili araştırmaları sabır ve motivasyonu ile teşvik ederek sürekli destekleyen çok değerli hocam Prof. Dr. Birsen DEMİRATA ÖZTÜRK'e,

Çalışmamın her aşamasında kader birliği yaptığımız hocam ve abim olarak sürekli yanımda olan ve destekleyen sevgili hocam Prof. Dr. Osman EROL'a

Proje ve tez kapsamında beraber çalışma kültürünü kurduğumuz ve tüm zorluklara göğüs gerdiğimiz, tezimin eksik yanlarını taksonomist bakış açısı ile tamamlayan sevgili arkadaşım Dr. Almıla ÇİFTÇİ'ye,

Bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve her konuda desteğini benden esirgemeyen tez izleme komitesi hocam Prof. Dr. Zühal TURGUT'a,

Öğretici ve destekleyici yardımlarını benden esirgemeyen ve çalışmalarımın beni teşvik eden hocalarım Prof. Dr. Levent ŞİK ve Doç. Dr. Dilek ÖZYURT'a,

Tezimin her aşamasında bana yardımcı olan sevgili çalışma arkadaşlarım Kadir BOZTAŞ, Yiğit Sabri ÜNLÜ, Kayhan DERECİK ve Barbaros MÜLAYİM'e destekleri, yardımları ve eğlenceli dostluklarından dolayı çok teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca her zaman yanımda olan, benden destek, ilgi ve sevgilerini eksik etmeyen, şu pozisyona gelmemin en büyük sebepleri annem Derya GERÇEK, babam Rıza GERÇEK ve sevgili kardeşim Ayşegül Çağla GERÇEK'e sabırları ve yardımlarından dolayı içtenlikle teşekkür ederim.

Hayatımın akademik olarak en zorlu zaman zarfında engin bilgi birikimi, sabrı, sevgisi ve saygısı ile hayat arkadaşım Hande MORGİL'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

Bu tez COVID-19 pandemisi nedeniyle sevdiklerinden temelli ayrılmak zorunda kalan sağlık çalışanlarına ithaf edilmiştir.

Aralık 2020

Yusuf Can GERÇEK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xi
ÖZET	xiii
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	2
2. 1. ROSACEAE FAMILİYASI.....	2
2. 2. <i>PRUNUS</i> VE <i>CERASUS</i> CİNSLERİ	3
2. 3. MOLEKÜLER MARKÖRLER VE FİLOGENİ	7
2. 3. 1. Internal transcribed spacer (ITS)	10
2. 3. 2. cpDNA intergenic spacer (trnL-F)	11
2. 3. 3. Maturase K enzimini kodlayan gen bölgesi (matK).....	11
2. 3. 4. Hypothetical chloroplast open reading frame (ycf1).....	12
2. 4. FİTOKİMYASALLAR.....	13
2. 4. 1. Polifenollerin sınıflandırılması	16
2. 5. KEMOTAKSONOMİ	17
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	19
3. 1. HERBARYUM MATERYALİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	19
3. 2. BİTKİSEL MATERYALİN ELDESİ.....	19
3. 3. MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR	22
3. 3. 1. DNA İzolasyonu	22
3. 3. 2. GeneSpin (Eurofins) DNA Ekstraksiyon İşlemi	23
3. 3. 3. CTAB DNA Ekstraksiyon İşlemi	24
3. 3. 4. HIMEDIA Spin Kolon DNA Ekstraksiyon İşlemi	24
3. 3. 5. Gen Bölgelerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılması	25
3. 3. 6. PZR ürünlerinin DNA dizi analizine hazırlanması	26
3. 3. 7. DNA dizilerinin analizi	27

3. 3. 8. Haplotip Analizi	27
3. 3. 9. Filogenetik ağaçların oluşturulması	27
3. 4. FİTOKİMYASAL ÇALIŞMALAR.....	28
3. 4. 1. Meyve Örneklerinin Eldesi.....	28
3. 4. 2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	28
3. 4. 3. Kullanılan Cihazlar.....	29
3. 5. KULLANILAN ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI.....	29
3. 5. 1. CERAC yöntemi çözeltilerinin hazırlanması	29
3. 5. 2. CUPRAC yöntemi çözeltilerinin hazırlanması	29
3. 5. 3. Modifiye Folin-Ciocalteu yöntemi çözeltilerinin hazırlanması	30
3. 5. 4. AlCl ₃ kolorimetrik yöntem çözeltilerinin hazırlanması	30
3. 5. 5. ABTS yöntemi çözeltilerinin hazırlanması	30
3. 5. 6. pH diferansiyel spektrofotometrik yöntem çözeltilerinin hazırlanması	30
3. 6. KULLANILAN EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ	31
3. 6. 1. Mikrodalga Destekli Çözücü Ekstraksiyonu ile Örneklerin Hazırlanması	31
3. 6. 2. Ses Dalgaları (Ultrasonik) Destekli Sıvı Ekstraksiyonu ile Örneklerin Hazırlanması	31
3. 6. 3. Geleneksel Ekstraksiyon ile Örneklerinin Hazırlanması.....	32
3. 6. 4. Ekstraksiyon verimlerinin hesaplanması.....	32
3. 7. KULLANILAN ANALİZ YÖNTEMLERİ.....	33
3. 7. 1. Toplam Antioksidan Kapasiteleri (TAC)	33
3. 7. 1. 1. CERAC (seryum(IV) indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi	33
3. 7. 1. 2. CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite) yöntemi.....	34
3. 7. 1. 3. ABTS/TEAC Yöntemi	35
3. 7. 2. Toplam Fenolik Miktar Tayini	36
3. 7. 3. Toplam Flavonoid Miktarı	37
3. 7. 4. Toplam Antosiyanin Miktarı	39
3. 8. KİRAZ ÖRNEKLERİN HPLC-MS İLE KANTİTATİF ANALİZİ	40
3. 8. 1. Örneklerin Ekstraksiyonu	40
3. 8. 2. Cihaz parametreleri	41
3. 7. 6. 3. Kalibrasyon eğrileri ve kantitasyon limitleri.....	41
3. 7. 6. 4. Metot spesifikasyonu.....	42
3. 9. İSTATİKSEL ANALİZLER.....	42
4. BULGULAR.....	43
4. 1. MOLEKÜLER ANALİZLER.....	43

4. 2. HAPLOTİP ANALİZİ SONUÇLARI	43
4. 3. FİLOGENETİK ANALİZ SONUÇLARI.....	45
4. 4. FİTOKİMYASAL BULGULAR	49
4. 4. 1. Spektrofotometrik Deneylerin Kalibrasyon Grafikleri.....	49
4. 4. 2. Mikrodalga ve Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Sistemleri için Optimum Deney Koşullarının Belirlenmesi	53
4. 4. 3. Kiraz Örneklerinin Spektrofotometrik Temelli Analizleri	54
4. 4. 4. Ekstraksiyon Verimlerinin Hesaplanması	61
4. 4. 5. <i>Cerasus</i> Taksonlarının HPLC-MS ile Antioksidan İçeriği	62
4. 4. 5. 1. Kalibrasyon eğrileri ve kantitasyon limitleri.....	62
4. 4. 6. İstatiksel analizler	66
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	68
KAYNAKLAR.....	77
EKLER	87
ÖZGEÇMİŞ	98

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: <i>Prunus</i> cinsi taksonomik zaman çizelgesi (Lee ve Wen, 2001; Potter ve diğ., 2007; Shi ve diğ., 2013).	4
Şekil 2: ITS6-ITS9 primerleri ile amplifiye edilen bölge.	10
Şekil 3: trnL-trnF bölgesi.	11
Şekil 4: Maturase K geni kodlayan bölge.....	12
Şekil 5: ycf1 geni bölgesi.	13
Şekil 6: Polifenollerin sınıflandırılması.....	17
Şekil 7: Mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi.	31
Şekil 8: Ultrasonik (Ses Dalgaları) Destekli Ekstraksiyon Sistemi.....	32
Şekil 9: Cu(I)-Nc kompleksinin (kelatının) kimyasal yapısı.....	35
Şekil 10: Mo(VI)'ın fenolik yapılar varlığında Mo(V)'e indirgenerek mavi renk vermesi durumu.....	36
Şekil 11: Flavonoidlerin AlCl ₃ ile asidik ortamdaki reaksiyonu (Mabry ve arkadaşları, 1970).....	38
Şekil 12: Farklı pH'lar daki antosiyaninlerin yapısal değişimi (Lee ve diğ., 2005).....	39
Şekil 13: İzomerik fenolik asitler.	42
Şekil 14: Haplotip haritası.	45
Şekil 15: Farklı haplotiplerin coğrafi olarak yayılışı ve yoğunluğu haritası. Haplotiplerin içerdiği örnekler için Tablo 8 incelenebilir.	45
Şekil 16: Kloroplast verisinden (trnL-F, matK, ycf1) elde edilmiş Neighbor Joining (a) ve Maximum Likelihood (b) filogenetik ağacı. Bootstrap değerleri nodlarda yüzde cinsinden ifade edilmiştir. Seksiyonlar Rehner'e (1940) göre düzenlenmiştir.	46
Şekil 17: Kloroplast verisinden elde edilmiş Bayesian Inference filogenetik ağacı. Probability değerleri nodlarda verilmiştir.	47
Şekil 18: ITS verisinden elde edilmiş Maksimum Likelihood (a) ve Neighbor Joining (b) filogenetik ağaçları. Bootstrap değerleri nodlarda yüzde cinsinden ifade edilmiştir.....	48

Şekil 19: ITS verisinden elde edilen dizilemeden Bayesian analizi ile çizilmiş filogenetik ağaç. Probability değerleri nodlarda ifade edilmiştir.	49
Şekil 20: CERAC yöntemi için kalibrasyon grafiği ($\lambda_{\text{mak}}=320$ nm).	50
Şekil 21: CUPRAC yöntemi için kalibrasyon grafiği ($\lambda_{\text{mak}}=450$ nm).	50
Şekil 22: ABTS/TEAC yöntemi için kalibrasyon grafiği ($\lambda_{\text{mak}}=734$ nm).	51
Şekil 23: Modifiye Folin-Ciocalteu yöntemi için kalibrasyon grafiği ($\lambda_{\text{mak}}=665$ nm).	51
Şekil 24: AlCl_3 klorometrik yöntemi için kalibrasyon grafiği ($\lambda_{\text{mak}}=510$ nm).	52
Şekil 25: pH diferansiyel spektrofotometrik yöntemi için kalibrasyon grafiği ($\lambda_{\text{mak}}=520$ nm).	52
Şekil 26: Mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi güç ve zaman optimizasyonları.	53
Şekil 27: Ultrasonik destekli ekstraksiyon sistemi güç ve zaman optimizasyonları.	54
Şekil 28: 2-5 dihidroksi benzoik asit'in kalibrasyon eğrisi.	63
Şekil 29: <i>C. mahaleb</i> taksonunun kromatogramı.	63
Şekil 30: Bazı örneklerin ekstraksiyon farklılıklarının analizi sonucu p değerleri.	67
Şekil 31: Kersetin ve klorojenik asit moleküler yapıları.	73
Şekil 32: <i>Cerasus</i> taksonlarının polifenolik miktarları sıcaklık haritası analizi.	74
Şekil 33: <i>Cerasus</i> taksonları hiyerarşik kümeleme analizi (a) ve temel bileşenler analizi (b).	75

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: Uluslararası Botanik İsimlendirme Kodu tarafından kabul edilen Rosaceae familyasında bulunan cins adları.	2
Tablo 2: Türkiye’de yayılış gösteren <i>Cerasus</i> taksonları.	5
Tablo 3: Türkiye’de yayılış gösteren <i>Cerasus</i> taksonlarının sistematik problemleri (Browicz, 1974; Dönmez, 1997).	6
Tablo 4: Arazi çalışmalarında toplanmış olan örnekler ve lokasyon bilgileri. (Takson ID kısaltmaları için kısaltma listesine bakınız).	19
Tablo 5: Kullanılan primerler ve dizileri.	25
Tablo 6: Kullanılan PZR karışımı.	25
Tablo 7: Kullanılan cihazların adları ve markaları.	29
Tablo 8: Haplotiplerin karşılık geldiği örnek numaraları.	43
Tablo 9: <i>Cerasus</i> taksonlarına ait meyve örneklerin geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstratların toplam antioksidan miktarları (mmol troloks/ g örnek).	55
Tablo 10: <i>Cerasus</i> taksonlarına ait meyve örneklerin mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstratların toplam antioksidan miktarları (mmol troloks/ g örnek).	56
Tablo 11: <i>Cerasus</i> taksonlarına ait meyve örneklerin ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstratların toplam antioksidan miktarları (mmol troloks/ g örnek).	57
Tablo 12: <i>Cerasus</i> taksonlarına ait meyve örneklerin total antosiyanin miktarları.	58
Tablo 13: <i>Cerasus</i> taksonlarına ait meyve örneklerin total fenolik miktarları.	59
Tablo 14: <i>Cerasus</i> taksonlarına ait meyve örneklerin total flavanoid miktarları.	60
Tablo 15: Farklı yöntemler ile ekstrakte edilmiş meyvelerin ekstraksiyon verimleri.	61
Tablo 16: Kalibrasyon ve kantitasyon limitleri.	62
Tablo 17: Polifenolik bileşiklerin miktar analizi.	64
Tablo 18: Brown-Forsythe testi, P testi ve F testi özet değerleri.	66

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
----------	----------

%	: Yüzde
±	: Tolerans payı
µl	: Mikrolitre
µl	: Mikrolitre
µmol	: Mikromol
°C	: Santigrad derece
cm	: Santimetre
ε	: Epsilon
g	: Gram
kb	: Kilobaz
mg	: Miligram
mmol	: Milimol
nm	: Nanometre
β	: Beta

Kısaltmalar	Açıklama
-------------	----------

ANG	: <i>Cerasus angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>
ASI	: <i>Cerasus angustifolia</i> var. <i>sintensis</i>
AV	: <i>Cerasus avium</i>
Bp	: Baz çifti
BRA	: <i>Cerasus brachypetala</i>
DNA	: Deoksiriboz nükleik asit
FAO	: Dünya Gıda ve Tarım Organizasyonu
FL	: Floresans
GLA	: <i>Cerasus prostrata</i> var. <i>glabrifolia</i>
HIP	: <i>Cerasus hippophaeoides</i>
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
INC	: <i>Cerasus incana</i>
M	: Molarite

MAA	: <i>Cerasus mahaleb</i> var. <i>alpina</i>
MAM	: <i>Cerasus mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>
MIM	: <i>Cerasus microcarpa</i> subsp. <i>microcarpa</i>
MIT	: <i>Cerasus microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
mRNA	: Mesajcı RNA
MS	: Kütle spektrometresi
PDA	: Fotodiyot dizi dedektörü
PRO	: <i>Cerasus prostrata</i> var. <i>prostrata</i>
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik asit
Rpm	: Dakika devir sayısı
SNP	: Tek nükleotid polimorfizmi
VEL	: <i>Cerasus incana</i> var. <i>velutina</i>
VU	: <i>Cerasus vulgaris</i>

ÖZET

DOKTORA TEZİ

TÜRKİYE’DE YAYILIŞ GÖSTEREN *CERASUS* L. (ROSACEAE) CİNSİ TAKSONLARI ÜZERİNDE FİLOGENETİK VE FİTOKİMYASAL ANALİZLER

Yusuf Can GERÇEK

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ

II. Danışman : Prof. Dr. Birsen DEMİRATA ÖZTÜRK

Cerasus cinsi, kiraz (*C. avium* (L.) Moench), vişne (*C. vulgaris* Miller), mahlep (*Cerasus mahaleb* L.) ve bazı süs bitkileri gibi ekonomik değere sahip türleri de bünyesinde barındıran önemli bir cinstir. Türkiye’de yayılış gösteren 14 *Cerasus* taksonu (*Cerasus prostrata* (Lab.) Ser. var. *prostrata*, *C. prostrata* (Lab.) Ser. var. *glabrifolia* (Moris) Browicz, *Cerasus brachypetala* Boiss. var. *brachypetala*, *C. incana* (Pallas) Spach var. *incana*, *C. incana* (Pallas) Spach var. *velutina* Browicz, *C. angustifolia* (Spach) Browicz var. *angustifolia*, *C. angustifolia* (Spach) Browicz var. *sintenisii* (Schneider) Browicz, *C. hippophaeoides* (Bornm.) Bornm., *C. microcarpa* (C.A.Meyer) Boiss. subsp. *microcarpa*, *C. microcarpa* (C.A.Meyer) Boiss. subsp. *tortuosa* (Boiss. & Hausskn.) Browicz, *C. avium* (L.) Moench, *C. vulgaris* Miller, *C. mahaleb* (L.) Miller var. *mahaleb*, *C. mahaleb* (L.) Miller var. *alpina* Browicz) moleküler ve fitokimyasal olarak incelenmiştir.

Bu tez kapsamında *Cerasus* cinsinin Türkiye’de yayılış gösteren 14 taksonunun 100 popülasyondan örnekleme yapılmıştır. Bazı taksonların tek lokaliteye sahip olması ve bazılarının endemik olması örnek sayısında daralmaya neden olmuştur. Moleküler analizler sonucunda haplotipler tespit edilmiş ve Anadolu diagonalinde çeşitliliğin fazla olduğu belirlenmiştir. Kloroplast ve nüklear genom verileri doğrultusunda filogenetik analizler tür altı kategorilerin birbirlerinden net bir şekilde ayrılması için yeterli varyasyon göstermemesi nedeniyle kloroplast bölgelerinin ayırım konusunda gerekli detayı veremediği belirlenmiştir.

Polifenolik bileşenlerinden 2-hidroksi trans sinamik asit sadece *C. mahaleb* taksonlarında tespit edilmiştir. Phlorizin ise *C. hippophaeoides*, *C. prostrata*, *C. brachypetala* ve *C. avium* taksonlarında belirlenmiştir. Resveratrol maddesinin de *C. avium*'a spesifik olduğu ve diğer taksonlardan farklı olarak para kumarik asiti ihtiva etmediği görülmüştür. Daha ayrıntılı bir çalışma ile bu gruptan kemotaksonomik veri alınabileceği tespit edilmiştir. *Cerasus* taksonları meyvelerinin iyi bir antioksidan kaynağı olduğu, meyvelerin farklı ekstraksiyon yöntemleri ile pilot ölçekte ekstrakte edilebildiği ve polifenollerin maksimum seviyede bu yeni nesil ekstraksiyon teknikleri ile elde edilebilecekleri belirlenmiştir.

Aralık 2020, 117 sayfa.

Anahtar kelimeler: *Cerasus*, polifenoller, moleküler filogeni, antioksidanlar



SUMMARY

Ph.D. THESIS

PHYLOGENETIC AND PHYTOCHEMICAL ANALYSES ON THE GENUS *CERASUS* L. (ROSACEAE) TAXA IN TURKEY

Yusuf Can GERÇEK

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ

Co-Supervisor : Prof. Dr. Birsen DEMİRATA ÖZTÜRK

The genus *Cerasus* is an important genus that includes species of economic value such as cherry (*C. avium* (L.) Moench), sour cherry (*C. vulgaris* Miller), mahaleb (*Cerasus mahaleb* L.) and some ornamental plants. 14 taxa distributed throughout Turkey (*Cerasus prostrata* (Lab.) Ser. subsp. *prostrata*, *Cerasus. prostrata* (Lab.) Ser. subsp. *glabrifolia* (Moris) Browicz, *Cerasus brachypetala* Boisse subsp. *brachypetala*, *Cerasus incana* (Pallas) Spach subsp. *incana*, *Cerasus incana* (Pallas) Spach subsp. *velutina* Browicz, *Cerasus angustifolia* (Spach) Browicz subsp. *angustifolia*, *Cerasus angustifolia* (Spach) Browicz subsp. *sintenisii* (Schneider) Browicz, *Cerasus hippophaeoides* (Bornm.) Bornm., *Cerasus microcarpa* (C. A. Meyer) Boiss. subsp. *microcarpa*, *Cerasus microcarpa* (C. A. Meyer) Boiss. subsp. *tortuosa* (Boiss. & Hausskn.) Browicz, *Cerasus avium* (L.) Moench, *Cerasus vulgaris* Miller, *Cerasus mahaleb* (L.) Miller subsp. *mahaleb*, *Cerasus mahaleb* (L.) Miller subsp. *alpina* Browicz) examined by molecular and phytochemical techniques.

Within the scope of this thesis, 100 populations were sampled for species belonging to the genus *Cerasus*. The fact that some taxa have a single locality and some are endemic caused a decrease in the number of samples. As a result of molecular analysis, haplotypes were determined and that the diversity in the Anatolian diagonal high. Although phylogenetic analysis based on the

chloroplast and nuclear genome data showed the proximity of the varieties to each other, it was determined that the chloroplast regions could not give the necessary detail about the separation.

2-hydroxy trans cinnamic acid was detected only in *C. mahaleb* taxa. Phlorizin was detected in *C. hippophaeoides*, *C. prostrata*, *C. brachypetala* and *C. avium* taxa. Resveratrol substance was also determined to be specific for *C. avium*, and unlike other taxa, it was observed that it not contain para coumaric acid. With a more detailed study, it was determined that chemotaxonomic data could be obtained from this group. It has been determined that are a good source of antioxidants, fruits can be extracted at a pilot scale with different extraction methods and polyphenols can be extracted at maximum level by this new generation extraction techniques.

December 2020, 117 pages.

Keywords: *Cerasus*, polyphenols, molecular phylogeny, antioxidants

1. GİRİŞ

2015 yılında ülkemizin *Cerasus avium* (Kiraz) ve *Cerasus vulgaris* (Vişne) ihracatında göstermiş olduğu başarılar ekibimizi ülkemizde yayılış gösteren diğer *Cerasus* taksonlarını araştırmamıza ve ekonomik gelişime katkı sunmaya yönlendirdi. Türkiye’deki bu 14 takson ile ilgili ilk aşamada taksonomik problemler Prof. Dr. Osman Erol ve Dr. Almıla Çiftçi tarafından belirlendi. Tezin hipotezini oluşturan yabancı taksonların fitokimyasal içeriğinin daha yüksek olduğu ve bu fitokimyasalların eldesinin hangi metot ile daha verimli olacağının tespit edilmesi gerekliliğiyle tez çalışmalarına başlandı. Ekte farklı disiplinlerden birçok araştırmacı ve danışmanın yer alması projenin eksik yönlerinin hızla tamamlanmasına katkı sağladı. 2017 yılı mart ayında başlayan proje ile 3 senede tüm *Cerasus* taksonlarının örnekleme yapılarak morfolojik, anatomik, moleküler ve fitokimyasal analizler gerçekleştirildi. Bu tez çalışmasında Türkiye’de yayılış gösteren *Cerasus* Mill. (sensu Browicz) taksonları çalışılmış olup her ne kadar *Cerasus* cinsi *Prunus* cinsine aktarılmış da olsa tez konusunu sınırlandırmak ve problemleri olan *Microcerasus* taksonlarını inceleyebilmek amacıyla Browicz (1965)’in yaptığı sınıflamayı tercih etmiştir.

Çalışma üç temel bölümden oluşmaktadır. 1. Arazi çalışmaları, 2. Moleküler filogeni 3. Fitokimya. Laboratuvar çalışmalarının tamamı İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Ana Bilim Dalı’nda gerçekleştirilmiştir. Bu süreçte Botanik Anabilim Dalı binası ani bir karar ile İstanbul İl Müftülüğü’ne devredilmiş ve tahsis edilen bir başka binaya taşınmak zorunda bırakılmıştır. Çalışmalarımızın kesintiye uğramaması adına tez danışmanım ve Botanik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gül Cevahir Öz büyük bir özveri göstererek desteğini esirgememiştir. Bu tez çalışması kapsamında 100 popülasyondan örnekleme yapılmıştır. Bu örneklerin herbaryum kayıtları alınmış ve 4 farklı gen bölgesi ile moleküler filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir. Her arazi döneminin Haziran-Ağustos aylarında meyve örnekleri için birçok kez arazi çalışması yapılmış ve örnekleme yapılabilen meyvelerin 3 farklı ekstraksiyon metodu kullanılarak toplam fenolik, toplam flavanoid, toplam antosiyanin ve toplam antioksidan madde miktarları karşılaştırılmıştır. Her takson için polifenolik profilleri belirlenmiş ve istatistiksel yöntemler ile polifenollerin kemotaksonomi çalışmalarındaki potansiyeli araştırılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2. 1. ROSACEAE FAMILYASI

Rosaceae familyası, 90'dan fazla cinse sahip olup yaklaşık 2.500 türden oluşur (Liu ve diğ., 2019). Familya ağırlıklı kuzey ılıman bölgede bulunur ve habitatları değişkenlik göstermektedir. Yerel adları ile elma, badem, kiraz, armut, ahududu ve çilek de dahil olmak üzere gıda olarak ekonomik öneme sahiptir. Rosaceae üyeleri genellikle odunsu bitkilerdir, çoğunlukla çalılar veya küçük ile orta boy ağaçlardır; bunlardan bazıları otoburları caydırmak için diken yapısına sahiptir. Familyadaki çoğu türün alternate yaprakları vardır ve stipüller adı verilen küçük yaprak benzeri yapılar genellikle yaprak saplarının tabanında bulunur. Hermafrodit çiçekler beyaz, sarı, pembe, turuncu veya kırmızı renklerde olabilirler. Tipik olarak düz veya sığ fincan şeklindeki çiçekler, radyal olarak simetrik ve beş veya dörtten katlar halinde çiçek kısımlarına sahiptir. Sepal ve petaller hemen hemen her zaman birbirinden bağımsızdır ve birçok türün petalleri ve organları karakteristik bir hipantiyum taşır. Hipantiyum genellikle nektar üreten dokuyla kaplıdır (Kalkman, 2004). Çoğu tür böceklerle tozlaşır. Uluslararası Botanik İsimlendirme Kodu tarafından kabul edilen Rosaceae familyasında bulunan cins adları Tablo 1’de verilmiştir.

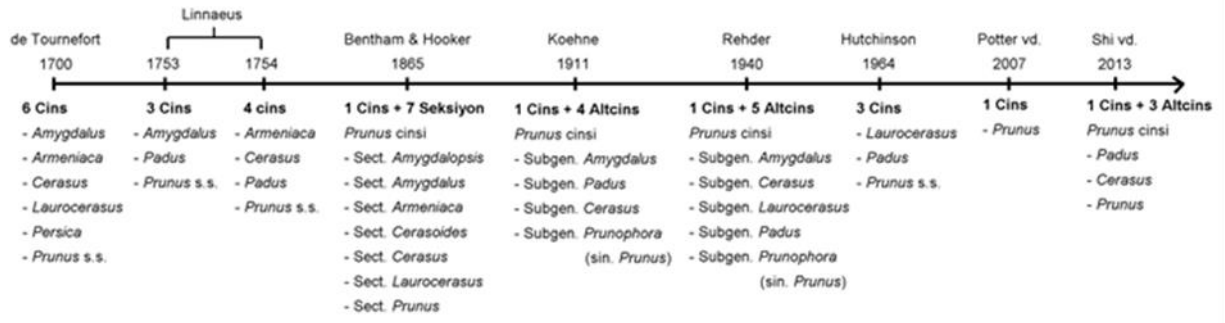
Tablo 1: Uluslararası Botanik İsimlendirme Kodu tarafından kabul edilen Rosaceae familyasında bulunan cins adları.

<i>Acaena</i> Mutis ex L. <i>Osteomeles</i> Lindl. <i>Adenostoma</i> Hook. & Arn. <i>Pentactina</i> Nakai <i>Agrimonia</i> L. <i>Peraphyllum</i> Nutt. 60 <i>Alchemilla</i> L. <i>Petrophytum</i> (Nutt. ex Torr. & A. Gray) Rydb. <i>Amelanchier</i> Medik. <i>Photinia</i> Lindl. <i>Aphanes</i> L., <i>Physocarpus</i> (Cambess.) Raf., nom. cons. <i>Aremonia</i> Neck. Ex Nestl., nom. cons. <i>Polylepis</i> Ruiz & Pav. <i>Aria</i> (Pers.) Host, <i>Aronia</i> Medik., nom. cons. <i>Potaninia</i> Maxim. <i>Aruncus</i> L. <i>Potentilla</i> L. <i>Bencomia</i> Webb & Berthel. <i>Prinsepia</i> Royle <i>Brachycaulos</i> R. D. Dixit & Panigrahi <i>Prunus</i> L. <i>Cercocarpus</i> Kunth <i>Pseudocydonia</i> (C. K. Schneid.) C. K. Schneid. <i>Chaenomeles</i> Lindl., nom. cons. <i>Purshia</i> DC. ex Poir. 70 <i>Chamaebatia</i> Benth. <i>Pyracantha</i> M. Roem.	<i>Dryas</i> L. <i>Duchesnea</i> Sm. <i>Eriobotrya</i> Lindl. <i>Eriolobus</i> (DC.) M. Roem. <i>Exochorda</i> Lindl. <i>Fallugia</i> Endl. <i>Filipendula</i> Mill. <i>Fragaria</i> L. <i>Geum</i> L. <i>Gillenia</i> Moench <i>Guamatela</i> Donn. Sm. <i>Quillaja</i> Molina <i>Rhaphiolepis</i> Lindl., nom. cons. <i>Rhodotypos</i> Siebold & Zucc. <i>Rosa</i> L., nom. cons. prop. <i>Rubus</i> L., nom. cons. prop. <i>Sanguisorba</i> L. <i>Sarcopoterium</i> Spach <i>Sibbaldia</i> L. <i>Petrophytum</i> (Nutt. ex Torr. & A. Gray) Rydb. <i>Photinia</i> Lindl.
--	---

<i>Chamaebatiaria</i> (Porter ex W. H. Brewer & S. Watson) Maxim.	<i>Physocarpus</i> (Cambess.) Raf., nom. cons.
<i>Chamaemeles</i> Lindl.	<i>Polylepis</i> Ruiz & Pav.
<i>Chamaemespilus</i> Medik.	<i>Potaninia</i> Maxim.
<i>Chamaerhodos</i> Bunge	<i>Potentilla</i> L.
<i>Cliffortia</i> L.	<i>Prinsepia</i> Royle
<i>Coleogyne</i> Torr.	<i>Prunus</i> L.
<i>Coluria</i> R. Br.	<i>Pseudocydonia</i> (C. K. Schneid.) C. K. Schneid.
<i>Cormus</i> Spach	<i>Purshia</i> DC. ex Poir.
<i>Cotoneaster</i> Medik.	<i>Pyracantha</i> M. Roem.
<i>Cowania</i> D. Don	<i>Pyrus</i> L.
<i>Crataegus</i> L.	<i>Quillaja</i> Molina
<i>Cydonia</i> Mill.	<i>Rhaphiolepis</i> Lindl., nom. cons.
<i>Dalibarda</i> L.	<i>Rhodotypos</i> Siebold & Zucc.
<i>Dichotomanthes</i> Kurz	<i>Rosa</i> L., nom. cons. prop.
<i>Docynia</i> Decne.	<i>Rubus</i> L., nom. Cons. prop.
<i>Docyniopsis</i> (C. K. Schneid.) Koidz.	<i>Sanguisorba</i> L.

2. 2. PRUNUS VE CERASUS CİNSLERİ

Prunus L., cinsi (Rosaceae) kuzeyin ılıman iklim kuşaklarında yetişen, meyveleri ve güzel çiçekleri için kültüre alınan birçok süs bitkisini barındıran Rosaceae familyasından bir cinstir. Rosaceae ailesinin sınıflandırması oldukça tartışmalıdır (Potter ve diğ., 2007) ve *Prunus* cinsi de taksonomik açıdan sorunlar barındırmaktadır. *Prunus*, çoğunluğu meyve, yemiş, yağ mahsullerini içeren, odun ve süs bitkisi olarak da ekonomik değere sahip olan (Reynders ve Salesses, 1990; Yılmaz ve diğ., 2009) 200'den fazla, yaprak döken ya da her dem yeşil ağaç ve çalı bitkilerini barındıran bir cinstir (Chin ve diğ., 2014). Cinsin sistematığı ve filogenisi ise polimorfizm ve yüksek ekolojik toleransından dolayı hala belirsizliğini koruyan bir konudur (Dönmez ve Yıldırım, 2000; Ohta ve diğ., 2005b). *Prunus* cinsinin yüzyıllar içinde değişkenlik gösteren taksonomik durumu Şekil 1'de özetlenmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar da (Bortiri ve diğ., 2001; Gilani ve diğ., 2010) *Prunus* cinsinin birkaç cinse bölünmektense bir bütün halinde değerlendirilmesi gerektiğini göstermiştir. Bunun yanında son yıllarda J. Amer. Soc. Hort. Sci, African Journal of Biotechnology ve Molecular Phylogenetics and Evolution (Bouhadida ve diğ., 2007; Gilani ve diğ., 2010; Chin ve diğ., 2014) gibi dergilerde yayınlanan *Prunus* cinsinin sistematığı ile ilgili çalışmaların ortak noktası bu cinsin ayrıntılı sistematik çalışmalara ihtiyacı olduğudur.



Şekil 1: *Prunus* cinsi taksonomik zaman çizelgesi (Lee ve Wen, 2001; Potter ve diğ., 2007; Shi ve diğ., 2013).

Cerasus cinsi her ne kadar *Prunus*'a aktarılmışsa da tezin sınırlarını çizebilmek, gerçek akrabalığını gösterebilmek, isim karmaşasının önüne geçmek ve kolay anlaşılır hale getirmek amacıyla amacıyla Browicz (1974) bakış açısı ile araştırma başlatılmıştır. Tezin konusunu oluşturan *Cerasus* Mill. Browicz (1974) 'in bakış açısıyla cinsinin bazı taksonları, kiraz ve vişne gibi ekonomik değere sahip türlerin yanında süs bitkileri olarak da yaygın şekilde kullanılmaktadır. Türkiye, kiraz ve vişne üretiminde dünya liderleri arasında yer almaktadır (FAO, 2018). Sıklıkla değerli kültür bitkileri olarak karşımıza çıkan *Cerasus* taksonlarının yabani popülasyonları doğal ormanların tahribi ve durmaksızın devam eden antropojenik baskılar nedeniyle büyük bir hızla azalmakta ve hatta yok olmaktadır. Eğer korunmaya alınmazlarsa, yabani kirazların tükenmeye devam etmelerinden ve önemli genetik kaynakların yok olmasından endişe edilmektedir (Ohta ve diğ., 2005a; Nas ve diğ., 2011). Bu endişelerin ülkemizdeki *Cerasus* taksonları için de göz ardı edilmemesi gerekmektedir; çünkü Anadolu, birçok meyve ağacı cinsinin uzun zamandır ihmal edildiği gen merkezlerindendir (Davis, 1974). Ayrıca Türkiye'deki kültür formları ile diğer kültür formları karşılaştırıldığında, Türkiye'dekilerin daha geniş bir gen havuzuna sahip olduğu görülmektedir (Szikriszt ve diğ., 2013). Ülkemizdeki *Cerasus* taksonlarının çeşitliliğinin nedeninin self-incompatibility (kendine uyumsuzluk) olduğu düşünülmektedir.

Türkiye Florası'nın (Browicz, 1973) yazımından sonra tanımlanmış olan *Cerasus erzincanica* Yıldırım (Yıldırım, 1993) ve Türkiye için yeni kayıt olarak tespit edilen *Cerasus brachypetala* Boiss. var. *brachypetala* (Dönmez ve Yıldırım, 1999) taksonları ile cinsin Türkiye'de temsil ettiği takson sayısı 16'ya çıkmıştır (Tablo 2).

Cerasus taksonları dikensiz ya da nadiren dikenli, yaprak döken ağaç veya çalılardır. Çiçekler tek tek, çiftler halinde, umbella ya da salkım halinde yapraklarla aynı zamanda veya yapraklardan sonra açarlar. Sepalleri ve petalleri Rosaceae ailesine özgü beş adettir ve stamenleri çok sayıdadır. Meyve tipi etli ve sulu, açılmayan, drupadır. Endokarp küresel ya da ovaldır, yüzeyi düz, kırışık ya da kabarcıklı olabilir (Browicz, 1974).

Tablo 2: Türkiye’de yayılış gösteren *Cerasus* taksonları.

<i>Cerasus prostrata</i> (Lab.) Ser. var. <i>prostrata</i>
<i>C. prostrata</i> (Lab.) Ser. var. <i>glabrifolia</i> (Moris) Browicz
<i>C. brachypetala</i> Boiss. var. <i>bornmuelleri</i> (Schneider) Browicz
<i>C. brachypetala</i> Boiss. var. <i>brachypetala</i>
<i>C. incana</i> (Pallas) Spach var. <i>incana</i>
<i>C. incana</i> (Pallas) Spach var. <i>velutina</i> Browicz *
<i>C. erzincanica</i> Yıldırımli *
<i>C. angustifolia</i> (Spach) Browicz var. <i>angustifolia</i>
<i>C. angustifolia</i> (Spach) Browicz var. <i>sintenisii</i> (Schneider) Browicz
<i>C. hippophaeoides</i> (Bornm.) Bornm. *
<i>C. microcarpa</i> (C.A.Meyer) Boiss. subsp. <i>microcarpa</i>
<i>C. microcarpa</i> (C.A.Meyer) Boiss. subsp. <i>tortuosa</i> (Boiss. & Hausskn.) Browicz
<i>C. avium</i> (L.) Moench
<i>C. vulgaris</i> Miller
<i>C. mahaleb</i> (L.) Miller var. <i>mahaleb</i>
<i>C. mahaleb</i> (L.) Miller var. <i>alpina</i> Browicz

*Türkiye’deki endemik *Cerasus* taksonları.

Türkiye'deki bazı *Cerasus* taksonlarını içeren cinsin ihtiyaç duyduğu takson içi ilişkiler ile ilgili (Dönmez, 1997; Yıldırımli ve Dönmez, 1997), var olan filogenetik çalışmalar (Shahi-Garahlar ve diğ., 2011; Khadivi-Khub ve diğ., 2014) genetik çeşitliliği hedef almıştır ve Türkiye’de yayılış gösteren taksonların tamamını içermemektedir. Japonya’da *Cerasus* ile yapılan çalışmalardan biri (Kato ve diğ., 2012) yalnızca kültür formlarını kapsamakta, bir diğeri ise (Ohta ve diğ., 2005a) Türkiye'deki taksonların hiçbirini içermemektedir. Türkiye’de doğal olarak yayılış gösteren *Cerasus* taksonlarının problemleri, ülkemizde bu cins ile yapılmış en geniş kapsamlı iki çalışma (Browicz, 1974; Dönmez, 1997) esas alınarak Tablo 3’te özetlenmiştir. Genel anlamda tüm *Cerasus* taksonlarını içeren, güncel yöntemlerle (filogenetik analiz ve kemotaksonomi) yapılan gerçek akrabalık ilişkilerini ortaya çıkaran herhangi bir taksonomik çalışmaya rastlanmamıştır.

Tablo 3: Türkiye'de yayılış gösteren *Cerasus* taksonlarının sistematik problemleri (Browicz, 1974; Dönmez, 1997).

Takson	Taksonomik Problemler (Browicz, 1974; Dönmez, 1997)
<i>Cerasus prostrata</i> var. <i>prostrata</i>	-
<i>C. prostrata</i> var. <i>glabrifolia</i>	Bu takson <i>C. brachypetala</i> var. <i>bornmuelleri</i> taksonu ile büyük benzerlik göstermektedir. Az sayıda örnek toplanmıştır ve aslen <i>C. incana</i> var. <i>incana</i> ile <i>Cerasus prostrata</i> taksonlarının bir hibriti olma ihtimali bulunmaktadır.
<i>C. brachypetala</i> var. <i>bornmuelleri</i>	Bu taksonun Türkiye'de yayılış gösteren üyeleri aynı taksonun İran ve Irak'ta bulunan örnekleriyle bazı morfolojik karakterlerde (hipantium boyu ve yaprak şekli) farklılık göstermektedir. Yine bu takson <i>C. prostrata</i> taksonuna çok benzemekte ve bu taksonun alttürü olma ihtimali yüksektir.
<i>C. brachypetala</i> var. <i>brachypetala</i>	-
<i>C. incana</i> var. <i>incana</i>	<i>C. angustifolia</i> taksonu ile karıştırılır.
<i>C. incana</i> var. <i>velutina</i> *	Yalnızca tip örnek kullanılarak tanımlanmış ancak bundan sonra toplanmış herhangi bir kayda rastlanmamıştır.
<i>C. erzincanica</i> *	Değişik habitatlardan örnek olmayışı ve popülasyonlar arasında çok fazla farklılık olduğundan melez bir tür olma ihtimalinin değerlendirilmesi gerekmektedir.
<i>C. angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>	Ortam koşullarına göre farklılıklar göstermektedirler ve bu taksonun <i>C. angustifolia</i> var. <i>sintensisii</i> ile sinonim olma olasılığı tüy karakterleri çok güvenilir bulunmadığından araştırılmalıdır.
<i>C. angustifolia</i> var. <i>sintensisii</i>	Ortam koşullarına göre farklılıklar göstermektedirler ve bu taksonun <i>C. angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i> ile sinonim olma olasılığı tüy karakterleri çok güvenilir bulunmadığından araştırılmalıdır.
<i>C. hippophaeoides</i> *	Muhtemelen <i>C. angustifolia</i> taksonun ekstrem bir formudur ve detaylı analizlere ihtiyaç duyulmaktadır.
<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>microcarpa</i>	-
<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>	-
<i>C. avium</i>	Uzun zamandır kültüre alındığından kültür formları ile yabani formların ayırt edilmesi oldukça zordur.
<i>C. vulgaris</i>	Kültür
<i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>	Türkiye'de yaygın olmakla birlikte kültürden kaçtıkları düşünülmektedir.
<i>C. mahaleb</i> var. <i>alpina</i>	Yüksek yerlerde yetişir, iklim koşulları nedeniyle oluşan fenotipik farklılıklar nedeniyle <i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i> den ayrılmış olabilir

Türkiye'de *Cerasus* cinsi Anadolu diyagonalı ve diyogonalın doğusu ağırlıklı olmak üzere ülkenin neredeyse tamamında geniş dağılıma sahiptir. Çok eski zamanlardan beri kirazların kültürü yapıldığından, dünyada kirazlar doğal habitatlarının da dışına yayılmıştır (Olden ve Nybom, 1968). Yaygın olarak kullanılmakta olan bazı anaç bitkilerin istenmeyen özelliklerinin oluşu (Nas ve diğ., 2011) ve ticari değere sahip *Cerasus* taksonlarının sınırlı bir gen havuzuna sahip olması (Khadivi-Khub ve diğ., 2014) yeni anaçların ve kültür formlarının geliştirilmesi ihtiyacını doğurmaktadır. Yabani taksonların yeni anaçlarda kullanılabilirliğinin belirlenmesi ve var olan genetik kaynakların varlığını sürdürebilmesi için yapılması gereken ilk şey yabani türler hakkında bilgi sahibi olmaktır. Pek çok taksonomist, ağırlıklı olarak kültür formlarının

kökenleri ve soyları ile ilgilenmiştir (Kato ve diğ., 2012), ancak bu tür çalışmaların sağlıklı yürütülebilmesi için öncelikle tüm yabancı türlerin birbirleriyle olan ilişkileri hakkında bilgi sahibi olunması şarttır.

2. 3. MOLEKÜLER MARKÖRLER VE FİLOGENİ

On dokuzuncu yüzyılda Mendel, bezelyedeki kalıtımı incelemek için fenotip tabanlı genetik belirteçler veya morfolojik belirteçler kullandı. O zamandan beri, genetik belirteçler morfolojik belirteçlerden sitolojik, biyokimyasal özelliklerden de DNA markörlerine yönelim gerçekleşti. Sitolojik belirteçler, bağlantı grubu tanımlama ve fiziksel haritalama çalışmaları için yaygın olarak kullanılmıştır. Bununla birlikte, olağandışı olay ve tespit için zahmetli prosedürler, bitki genom analizinde sitolojik belirteçlerin kullanımını kısıtladı. Biyokimyasal markörler, DNA markörleri popüler olmadan önce popülasyon genetik analizinde yaygın olarak kullanıldı. DNA markörleri, bir türün bireyleri arasındaki DNA sekanslarındaki varyasyonu temsil eder ve bu markörler stabildir ve çevre, pleiotropik ve epistatik etkilerle karıştırılmaz. Bu nedenle, moleküler belirteçler arasında, DNA bazlı markörler potansiyel moleküler markörler olarak kabul edilir. Markörler; genotipler, popülasyonlar, taksonlar veya türler arasındaki temel genetik farklılıkları gösteren kalıtsal değişken özelliklerdir. Morfolojik karakterler uzun zamandır taksonları tanımlamak, sistematik konumu değerlendirmek ve çeşitleri ayırt etmek için kullanılmıştır. Geçtiğimiz otuz yılı aşkın süredir, karşılaştırmalı anatomi, morfoloji, embriyoloji ve fizyoloji gibi genetik değişkenliklerin değerlendirilmesine yönelik klasik stratejiler kullanılmıştır. Bunlar kimyasal bileşenlerin analizini ve en önemlisi makromoleküllerin karakterizasyonunu içerir. DNA veya proteinde bulunan polimorfizme dayanan moleküler markörün geliştirilmesi, taksonomi, ekoloji, genetik ve bitki ıslahı gibi çeşitli disiplinlerdeki araştırmaları büyük ölçüde kolaylaştırmıştır (Weising ve diğ., 1995). Moleküler belirteçlerin bitkilerdeki genetik çeşitliliği değerlendirmek ve kantitatif olarak kalıtsal özellikleri kontrol eden genetik faktörleri araştırmak için güçlü bir araç sağladığı kanıtlanmıştır.

Bortiri ve diğ., (2001) nın 48 *Prunus* türü ile yaptığı bir çalışmada nükleer ITS ve kloroplast trnL-trnF bölgelerinde maksimum parsimoni analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz *Prunus* cinsinin monofiletik olduğunu; *Padus* (Mill.) A.Gray, *LauroCerasus* (Duhamel) Rehder ve *Cerasus* (Mill.) A.Gray. altcinslerinin kuvvetle desteklendiğini ortaya koymuştur.

Lee ve Wen (2001) ITS bölgesini kullanarak yaptıkları filogenik çalışmada *Prunus* cinsinde yine iki ana grup saptamışlardır: (1) *Amygdalus-Prunus* (2) *Cerasus-LauroCerasus-Padus*.

Bortiri ve diğ., (2002) *s6pdh* (6-phosphate dehydrogenase) bölgesini dizilemişlerdir. Bu bölge *Rosaceae* familyasında sorbitol-6-fosfat dehidrogenazı kodlar. Bahsi geçen çalışmada 22 *Prunus* taksonunun tek başına *s6pdh* bölgesi kullanılarak ve daha önceki çalışmalardan elde edilen ITS ve *trnL-trnF* bölgeleriyle birlikte analiz edilerek filogenileri çıkarılmıştır. Her iki yöntem de aynı filogeniyi ortaya koymuştur. *s6pdh* bölgesi ITS'e kıyasla iki kat fazla bilgi içermektedir. *Prunus* iki seksiyona ayrılmaktadır; birinci alt cins *Cerasus*, *Laurocerasus*, ve *Padus* altcinsleri, ikincisini ise *Amygdalus* (L.) Focke, *Emplectocladus* (Torr.) Sargent, ve *Prunus* L. oluşturmaktadır. Önceden *Cerasus* alt cinsi içinde yer alan *Microcerasus* Webb. seksiyonu bu çalışmada *Prunus* içine yerleşmiştir.

Her ne kadar sınıflama tartışmalı da olsa; *Prunus* 'un 5 alt cinse bölünmesi Kalkman (2004) tarafından da kabul görmüştür: *Prunus*, *Amygdalus* (L.) Focke, *Cerasus* (Mill.) Focke, *Padus* (Mill.) Focke, ve *Laurocerasus* (Tourn. ex Duhamel) Rehd.

Aka Kaçar ve diğ., (2005)'in yaptığı bir çalışmada Türkiye'de yetiştirilen kiraz kültür varlıklarını ayırt edebilmek için SSR markırları tanımlanmıştır. Mikrosatellit analizi için *Prunus avium* L., *Prunus cerasus* L. ve *Prunus persica* L. Batsch 'dan 13 SSR primeri izole edilmiştir. Analiz edilen genotiplerde iki primer çifti yanıt vermemiş, iki primer çifti kiraz varyeteleri için monomorfik olarak tespit edilmiştir.

Shaw ve Small (2005) Kuzey Amerika'da yayılış gösteren *Prunus* taksonlarında *rpL16* (50S büyük ribozomal alt birimin bir bileşeni olan bir ribozomal protein L16'yı kodlayan kloroplast geni) kloroplast bölgesini kullanmışlar ve *Prunocerasus* alt cinsinin filogenisini incelemişlerdir. Kuzey Amerika *Prunus* taksonları arasında çok az cpDNA dizisi farklılığı olan veya hiç olmayan monofiletik bir takson grubu olduğunu göstermişlerdir.

49 milyon yıl öncesine ait iyi korunmuş *Prunus* taksonuna ait çiçek fosilleri Amerika'nın Washington eyaletinde mevcuttur (Benedict ve diğ., 2011). Orta Eocene de K. Amerika'dan *Prunus* fosilleri bildirilmiştir (Cevallos-Ferriz ve Stockey, 1990). Bununla birlikte Shaw ve Small (2005)'in çalışmasının sonuçları her ne kadar bu bitkilerin polimorfik bir ortak atadan geliyor olma ihtimallerine işaret ediyorsa da bunun, geçmişteki ve günümüzdeki olası hibritleşmelerden kaynaklanmasının daha olası olduğunu ortaya koymuştur.

Gilani ve diğ., (2011) Hindistan'da yayılış gösteren 12 *Prunus* türünde trnL-TrnF bölgelerini çalışmışlardı ve sonuçları daha önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Shi ve diğ., (2013) *Prunus* cinsine ait 84 türü maksimum parsimoni ve bayesian analiz metodlarıyla incelemiştir. Bu çalışmada daha önce hiç olmadığı kadar fazla plastid bölgesi (atpB-rbcL, matK, ndhF, psbA-trnH, rbcL, rpL16, rpoC1, rps16, trnS-G, trnL, trnL-F and ycf1) ve üç nükleer bölge kullanılmıştır (ITS, s6pdh and SbeI). Üç alt cins desteklenmiştir: Subgenus *Padus*, Subgenus *Cerasus* ve Subgenus *Prunus*. Subgenus *Prunus*'un yedi seksiyonu saptanmıştır. Cüce kirazlar daha önce *Cerasus* alt cinsine bağlıyken bu çalışmada *Prunus* alt cinsi altında toplanmaları uygun bulunmuştur. Yeni bir seksiyon adı *Prunus* L. subgenus *Prunus* section *Persicae* (T. T. Yü & L. T. Lu) S. L. Zhou ve bir yeni tür, *Prunus tianshanica* (Pojarkov) S. Shi tanımlanmıştır.

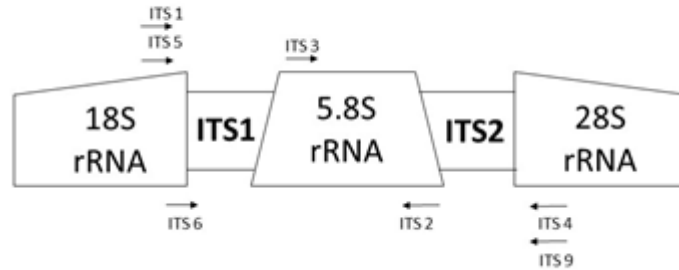
Chin ve diğ., (2014)'nın gerçekleştirdiği çalışmada *Prunus* cinsinin, meyve bakımından kıymetli olmayan Güneydoğu Asya ve Amerika'daki tropikal türleri de dahil edilerek, filogenisi incelenmiştir. Beş plastid ve ITS nükleer bölgeleri çalışılarak türleşmesi ve ilk ortaya çıkış zamanı tespit edilmiştir. Cins 61 milyon yıl önce Doğu Asya'da ortaya çıkmış ve erken Eozendeki küresel ısınma türleşmeyi tetiklemiştir. Çalışma ılıman bölgelerdeki yaprak dökün türlerin, tropiklerdeki her dem yeşil olanlardan daha önce ortaya çıktığını ortaya koymuştur. Plastid bölgeleri ve ITS dizilimleri arasındaki uyumsuzluk geçmiş bir hibritleşmeyi öngörmektedir. İlıman bölgelerin meyvelerinden yararlanan türlerin olası en son ortak atası (The Most Recent Common Ancestor. MRCA) kuzey yarıküredeki boreotropik ormanların bir bileşenidir. Tropikal türlerin en olası ortak atası ise alçak bölgelerdeki sığınak alanlarda Eski ve Yenidünyaya yayılmışlardır. Cinsin günümüzdeki yayılışının kompleks biyocoğrafik hikayesi çeşitli jeolojik süreçler, iklimsel değişimler ve Bering Boğazı ile Kuzey Atlantik Kara köprüleri vasıtasıyla dağılımıyla şekillenmiştir.

Moleküler markörler, kolaylıkla saptanan ve kalıtımı kolaylıkla izlenebilen, nükleer, kloroplast veya mitokondri genomunun belirli bölgelerindeki DNA dizileridir. Moleküler markörler kullanımları, doğal olarak oluşan DNA polimorfizmine dayanır. Korunan markör bölgelerindeki polimorfizm yakın akraba taksonlarının ilişkilerinin incelenmesi ve gen akışı tespitlerinde kullanılmakta ve sistematik olarak ayrımların belirlenmesini sağlamaktadır. Spesifik markör türlerinin bitki türlerinde çalışılması, genomik değişkenliği ve aynı ve farklı bitki türleri arasındaki çeşitliliği anlamada önemli rol oynamaktadır (Kumar ve diğ., 2009).

Moleküler markörler, taksonomik belirsizliklerin çözülmesine ve türler içindeki birimlerin kurulmasına yardımcı olan genetik çeşitlilikleri karşılaştırarak tür içi çeşitlilik krizi yaşayan popülasyonların belirlenmesi için çok yönlü araçlar olarak kullanılmaktadır. 80'li yıllardan günümüze kullanılmaya başlanan markörler çoğunlukla hibridizasyona ve PZR' a dayanan teknikler adı altında gruplandırılırlar da son on yılda *rbcL*, *matK*, *trnH*, *psbA* ve ITS vb. markörler geliştirilmiş, test edilmiş ve sistematik, ekoloji ve evrimsel biyolojideki temel soruları ele almak için kullanılmaya başlanmıştır (Kress ve diğ., 2017). Tüm bu bilgiler ışığında bu tez çalışmasında nüklear ribozomal markör olarak ITS, kloroplast markörü olarak *matK*, *ycf* ve *trnL-F* markörleri kullanılmıştır.

2. 3. 1. Internal transcribed spacer (ITS)

Nüklear Ribozomal İnternal Transcribed Spacer (ITS) bölgesi, türlerin tanımlanması için tercih edilen genetik belirteçlerden biridir, çünkü yüksek oranda tekrarlanır, daha korunmuş DNA dizileri ile çevrili değişken bölgeler içerir ve ayrıca PCR amplifikasyonu için evrensel primerler mevcuttur. Genomik DNA üzerinde rRNA'lar ardışık sıralı tekrarlar şeklinde olup tür içi seviyelerinde ileri derecede korunmuş gen bölgelerini oluşturmaktadır. Bakterilerde ve arkeabakterilerde, 16S ve 23S rRNA genleri arasında yer alan tek bir ITS bölgesi vardır. Buna zıt olarak, ökaryotlarda iki ITS bölgesi bulunmaktadır: ITS1 ve ITS2 rRNA genleri. Bu rRNA gen bölgelerine komşu olarak bulunan, özellikle 18S ve 5.8S arasındaki ITS1 ile 5.8S ve 28S arasındaki ITS2 gen dizileri rRNA gen bölgelerine oranla daha fazla nükleotid baz değişimi göstermektedir (Şekil 2).

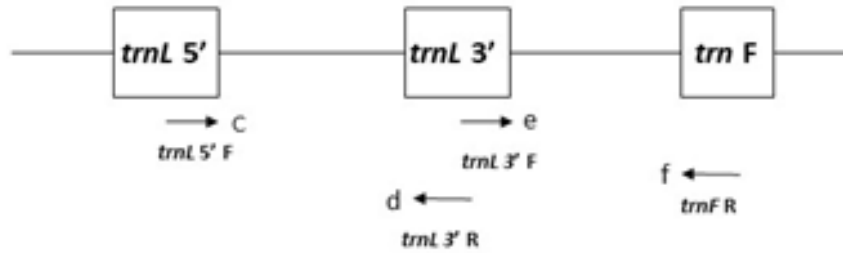


Şekil 2: ITS6-ITS9 primerleri ile amplifiye edilen bölge.

ITS1, bakteri ve arkelerdeki ITS'ye karşılık gelirken, ITS2'nin atasal 23S rRNA genini kesintiye uğratan bir ekleme olarak ortaya çıktığı savunulmaktadır (Lafontaine ve diğ., 2001).

2. 3. 2. cpDNA intergenic spacer (trnL-F)

Kloroplast genomları (cpDNA) daireseldir. Boyut, yapı ve gen içeriği bakımından kara bitkileri korunaklıdır (Downie ve diğ., 1992). Kloroplast genomu, protein kodlayan genler, intronlar ve intergenik ayırıcılar dahil olmak üzere üç fonksiyonel kategoriye ayrılabilir. Kloroplast genomu, nükleer genoma oranla çok fazla kodlanmayan bölge içermediğinden daha yavaş evrimleşir. Transfer RNA (tRNA) bölgeleri kloroplast genomlarında oldukça fazla sayıda ve genom boyunca yayılmış halde bulunmaktadır. Bu genlerin kodlanmayan intron ve ayırıcı bölgeleri, evrimsel çalışmalar, filogenetik sınıflandırma, farklı bitki taksonlarını ayırt etme ve genetik belirteçler geliştirmek için kullanılmaktadır. Bu bölgelerden biri olan trnT-F bölgesi, ardışık dizilmiş ve kodlama yapmayan bölgelerle ayrılmış şekilde dizilim gösteren transfer RNA genlerinden [trnL (Lösin), trnF (Feninalanin) ve trnT (Treonin)] oluşmaktadır. Bu bölgeye ait, trnL-trnF bölgesi de tek kopya sayısına sahip bir bölgeden oluşmaktadır (Şekil 3). Bu kodlamayan DNA bölgeleri mutasyona açık noktalar olduğundan, tRNA-Leu (trnL) intronu ve trnL 3' ekson ve tRNA-Phe (trnF) gen bölgeleri arasındaki intergenik ayırım, varyasyon tespitinde intraspesifik filogenetik analiz için oldukça uygundur (Hao ve diğ., 2009).

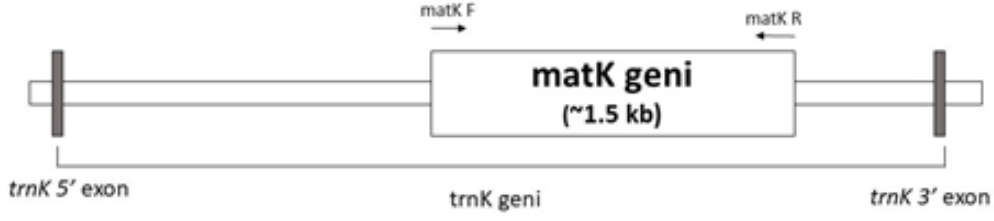


Şekil 3: trnL-trnF bölgesi.

2. 3. 3. Maturase K enzimini kodlayan gen bölgesi (matK)

Kloroplast genomu içerisinde yer alan trnK (trnA-lizin) geninin intronu içinde yer alan kloroplast geni Maturaz Kinaz (matK) diğer adı ile orfK, RNA birleştirmede kullanılan bir

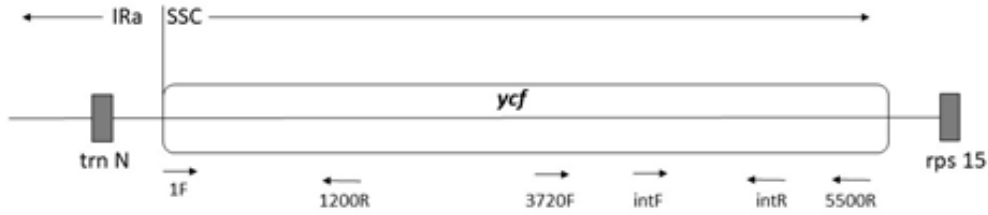
protein olan maturazı kodlayan bir açık okuma çerçevesidir (ORF) (Neuhaus ve diğ., 1987) (Şekil 4). *trn*-Lizin (UUU) geni (*trnK*), *matK*'yi kodlayan bir grup II introna sahiptir (Hausner ve diğ., 2006). Grup II intronlar, eubacteria, archaea, fungi ve plantae organellerinde bulunan hareketli elementlerdir (Bonen ve diğ., 2001). *matK* geni, ORF'lerin hızlı evrime sahip olmaları nedeniyle bitki moleküler filogeni çalışmaları için etkili bir belirteç olarak kullanılmaktadır.



Şekil 4: Maturase K geni kodlayan bölge.

2. 3. 4. Hypothetical chloroplast open reading frame (*ycf1*)

Son yıllarda yapılan karşılaştırmalı genomik çalışmalar kloroplast genomları içerisinde bulunan farklı gen bölgelerinin belirlenmesine olanak sağlamıştır. Bunlardan biri olan varsayımsal kloroplast açık okuma çerçevesi 1 (*ycf1*) plastid geninin iki bölgesinin çiçekli bitkilerde çok değişkenlik gösterdiği bulmuş ve ideal bir filogenetik markör olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (Dong ve diğ., 2012). Plastid genomundaki en büyük ikinci gen olan *ycf1*, yaklaşık 1.800 amino asitlik bir proteini kodlar. Son bulgular, *ycf1*'in bitki canlılığı için gerekli olduğunu ve Arabidopsis TIC kompleksinin (proteinlerin kloroplast zarından içeri ve dışarı transferini kolaylaştıran protein kompleksleri) 10 hayati bileşeninden biri olan Tic214'ü kodladığını göstermiştir (Kikuchi ve diğ., 2013). Plastid genomu içinde *ycf1*, small single copy (SSC) ve ters çevrilmiş tekrar (IR) bölgelerini kapsar (Şekil 5). IR bölgesindeki *ycf1*'in bölümü kısadır (bir kilobazdan daha kısa) ve korunmuştur. Bunun aksine, *ycf1* bölgesindeki small single copy bölümü, tohumlu bitkilerde yüksek dizi değişkenliğine sahiptir. Bu değişkenlik özelliği *ycf1* genini moleküler sistematikte kullanılan markörlerden biri haline getirmiştir.



Şekil 5: ycf1 geni bölgesi.

2. 4. FİTOKİMYASALLAR

Fitokimyasallar, bitkilerde doğal olarak bulunan biyolojik olarak aktif kimyasal bileşiklerdir. Bitkiler uzun süre hayatta kalabilmek ve kendilerini patojenlere karşı korumak için fitokimyasalları doğal bir savunma sistemi olarak kullanırlar (Ignat ve diğ., 2011). Ayrıca, fitokimyasallar bitkilere renk, aroma ve tat sağlar (Pacifico ve diğ., 2014). Bu kimyasalların insanlar açısından en önemli etkisi ise vücuttaki serbest radikallerle reaksiyona girerek antioksidan olarak işlev görmeleridir. Antioksidanlar, prooksidan oluşumunu ve lipid oksidasyonunu engelleyen veya geciktiren, onları toksik olmayan ürünlere çeviren, vücut hücreleri tarafından üretildiği gibi gıdalarla da alınan bir grup kimyasal maddedir. Yapılan çalışmalarda bitkisel gıdalarda bolca bulunan flavonoidler, fenolik asitler, karotenoidler, antosiyaninler, vitaminler ve tokoferol'ler antioksidan aktivite özelliği gösteren bileşiklerdir (Rice-Evans, 1996). Antioksidan bakımından zengin meyve ve sebzelerin tüketimi, kanser (Middleton ve diğ., 2000; Birt ve diğ., 2001), iltihap (Middleton ve diğ., 2000; Manthey ve diğ., 2001), kardiyovasküler (Kris-Etherton ve Keen 2002; Mennen ve diğ., 2004) ve nörodejeneratif bozukluklar (Moosmann ve Behl 2002; Lu ve diğ., 2010) gibi pek çok kronik hastalıkların oluşumunu engelleyici özellik göstermektedir. Ayrıca, osteoartrit (Farid ve diğ., 2010) ve oküler bozukluklar (Majumdar ve Srirangam 2010) gibi diğer birçok sağlık sorununa karşı faydalıdır. Bununla beraber fitoöstrojen (izoflavonlar) (Han ve diğ., 2002; Cherdshewasart ve diğ., 2007) ve ATI bileşik (angiotensin I) (Chandra ve diğ., 2010) olarak da faaliyet gösterirler.

Özellikle antosiyanince zengin böğürtlen, nar, çilek, vişne, kiraz, mürdüm eriği, üzüm, lahana, pancar gibi koyu kırmızı ve mor renkli meyve ve sebzelerin bazı kanser tipleri, damar ve kalp rahatsızlıkları gibi erken ölümlere neden olan hastalıkların ortaya çıkışını engellemede çok etkili olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Lako, 2007).

Günümüzde beslenmenin önemi gitgide artmaktadır. Meyve ve sebzelerin sağlığa çeşitli katkılarından dolayı hem tüketicilerin hem de bu konuda çalışan araştırmacıların bu tür ürünlere giderek artan bir ilgisi bulunmaktadır.

Cerasus cinsinin bazı taksonları lipidler, fitokimyasallar, aromalar ve pigmentler gibi geniş bir aralığa yayılan, büyük ölçüde gıda, ilaç ve kozmetik endüstrisinde kullanılan biyoaktif bileşikler içerir (Li ve diğ., 2014; Bastos ve diğ., 2015; Mustapaa ve diğ., 2015) ve içerdikleri yoğun polifenolik bileşikler ve yüksek antioksidan aktiviteleri nedeniyle birçok çalışmaya (Capanoğlu ve diğ., 2011; Wojdylo ve diğ., 2014; Cao ve diğ., 2015) konu olmuştur.

Wojdyto ve diğ., (2014) 33 farklı vişne çeşidinde besin bileşikler (fenolik bileşikler, L-askorbik asit), antioksidan aktiviteler ve fizikokimyasal özellikler (meyve ağırlığı, kuru madde, suda çözünabilir kuru madde, pH, asitlik, toplam ve indirgen şekerler) incelenmiştir. Polifenoller LC-PDA-QTOF/MS ile tanımlanmıştır ve UPLC-PDA-FL ile ölçülmüştür. Toplam bulunan 41 polifenolik bileşik tanımlanmış ve 14'ü flavan-3-ol, 11'i antosiyanin, 5'i hidroksisüsamik asit, 10'u flavonol ve 1'i flavon olarak gösterilmiştir. Toplam polifenol içeriği (TPs) 2982.51mg/100 g kuru ağırlık ('Wisok' çeşidi) ile 1539.43 mg/100 g kuru ağırlık ('Erdi ve Nagygyömsü' çeşidi) arasında değişmiştir. Vişne polifenollerinin ana dalı olan Flavan-3-ol, toplam polifenol (TP) bileşiklerinin yaklaşık %40'ını temsil etmiş, hâlbuki antosiyaninler ve hidroksisüamik asitlerin herbiri yaklaşık %25 tutarlarında olmuştur.

Cao ve diğ., (2015) 4 *Prunus* taksonunun (*Prunus avium*, *Prunus cerasus*, *Prunus pseudocerasus* Lindl. ve *Prunus tomentosa* Thunb.) fizikokimyasal özellikleri değerlendirildiğinde türler arası değişkenlik tür içi farklılıklardan daha büyük olduğu görülmüştür. Tüm türlerde glukoz ve fruktoz ana şekerler, malik asit ana organik asittir. HPLC-DAD ve LC-ESI-MS/MS teknolojileri birleştirilerek 25 adet fenolik bileşen tespit edilmiştir. *Prunus avium*, taze tüketime onu uygun yapan, yüksek meyve ağırlığı, yenilebilir kısım, şeker içeriği ve düşük asit içeriği ile karakterize edilmiştir. *Prunus cerasus*, onu iyi bir işlenen tür yapan, yüksek asit içeriği ve antosiyanin içeriğine sahip olduğu görülmüştür. *Prunus pseudocerasus* flavonol açısından zengin çeşitlere ve yüksek oranda hidroksisüamik asite sahiptir. Bir sağlık meyvesi olarak büyük bir gelişme potansiyeli gösteren *Prunus tomentosa*, yüksek toplam fenolik içerik (özellikle flavonol ve tanen) ve antioksidan aktivitesi ile karakterize edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, kirazların daha fazla gelişmesi ve kullanımı için teorik olarak literatüre katkı sağlamıştır.

Çapanoğlu ve arkadaşları (2011) 3 kiraz çeşidinin fitokimyasal yapısı ve antioksidan kapasitesi kıyaslandığında meyve eti, prosiyanidin konsantrasyonu, alt birim bileşimi ve polimerizasyon derecesi için, antosiyanin bileşimi için ve toplam antioksidan kapasitesi, toplam fenolik içerik ve toplam flavonoid içerik için değerlendirilmiştir. Uzun-zincirli prosiyanidinin yüksek konsantrasyonları (her 100 g kuru ağırlıkta 1 g'a kadar) Laurel kirazında bulunmuştur. Hâlbuki Cornelian kirazındaki prosiyanidin konsantrasyonları 25 kat daha düşük çıkmıştır. İlginçtir ki, kısa polimerlerin hakim olduğu ortalama zincir uzunluğu 4 monomer üniteli olan vişnenin (0,3 g/100 g kuru ağırlık), önemli ölçüde farklı prosiyanidin profiline sahip olduğu görülmüştür.

Picariello ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada *Prunus avium* ve *Prunus cerasus* türlerine ait beş kiraz çeşidinden polifenol bileşenlerinin karşılaştırması yapılmıştır. Toplam fenol içeriği, Folin-Ciocalteu yöntemi, ORAC ve ABTS metotları ile in vitro antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Renksiz polifenoller ve antosiyaninler, HPLC-PDA ve MALDI-TOF MS ve HPLC-ESI-Q-TOF-MS teknikleriyle karakterize edilmiştir. Polifenol profilinde klorojenik asit izomerleri ve kuersetin glikozitlerinin majör olduğu tespit edilmiştir. Kaempferol-3-O-rutinosid sadece *Prunus cerasus* çeşitlerinde gözlenmiş ve biyomarkır olarak değerlendirilmiştir.

Capanoglu ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı çalışmada *C. vulgaris* Miller., *Prunus lauracerasus* L. ve *Cornus mas* L. Taksonlarının toplam antioksidan kapasiteleri, toplam flavonoid ve toplam fenolik miktarları spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada antosiyanin türleri HPLC-PDA sistemi kullanılarak analiz edilmiştir (Capanoğlu ve diğ., 2011).

Wojdyto ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış olduğu çalışmada Polonya'da yetişen 33 farklı vişne kùltivarının biyoaktif bileşikleri (fenolik bileşikler, L-askorbik asit), antioksidan kapasiteleri ve fizikokimyasal özellikleri (meyve ağırlığı, kuru madde, suda çözünebilir kuru madde, pH, asitlik, toplam ve indirgen şekerler) incelenmiştir. Polifenoller LC-PDA-MS ile tanımlanmış ve UPLC-PDA-FL ile analizleri yapılmıştır. Vişne örneklerinde toplam 41 polifenolik bileşik tanımlanmıştır. Bunların ve 14'ü flavan-3-ol, 11'i antosiyanin, 5'i hidroksisinamik asit, 10'u flavonol ve 1'i flavon olarak gösterilmiştir (Wojdyto ve diğ., 2014).

Cerasus taksonlarının morfolojik ve genetik çeşitliliği meyve içeriklerinde de görülmektedir. Öyle ki Cao ve ark. (2015) dört *Prunus* taksonu (*Prunus avium*, *Prunus Cerasus*, *Prunus*

pseudocerasus, *Prunus tomentosa*) ile yaptığı çalışmada türler arası değişkenliğin tür içi farklılıklardan çok daha yüksek olduğunu göstermiştir.

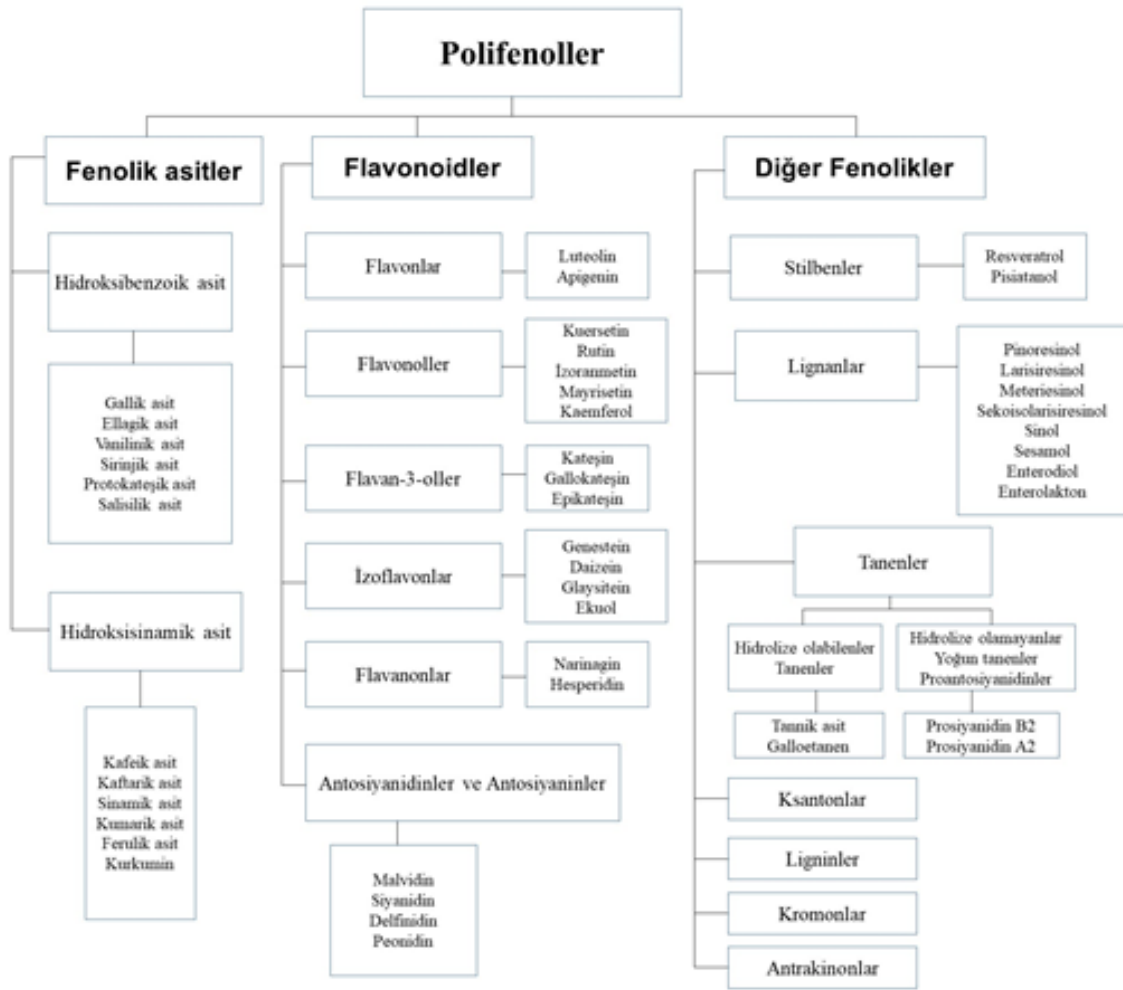
Li ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada, *Cerasus vulgaris* L. polifenollerini, ekstraksiyon etkinliği üzerinde mikrodalga destekli ekstraksiyonun (MDE) etkisini değerlendirmek için siyanidin 3 glikozit, toplam antosiyanin, klorojenik asit ve toplam fenolik madde için geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE) ile ekstre edildiğinde, MDE vişne polifenollerinin bileşimini etkilemediği görülmüş ve geleneksel ekstraksiyonla ve MDE ile elde edilen ekstraktlarda aynı bileşenler tespit edilmiştir. Fakat sonuçlar, MDE'nin geleneksel yöntemden daha etkili olduğunu göstermiştir. Tüm incelenen bileşikler, MDE ekstraktlarında daha yüksek konsantrasyon gösterdiği belirtilmiştir. MDE'nin yüksek ekstraksiyon verimliliğinin nedeni, genellikle mikrodalga radyasyon mekanizmasıdır (Sun ve diğ., 2007; Zhang ve diğ., 2008). Mikrodalga, bitki dokusunda bozulma ve sonucunda çözücüyü çevreleyen fenolik bileşenlerin yer değiştirmesine yol açan bölgesel sıcaklık artışına neden olur. Bundan dolayı, MDE, polifenollerin ekstraksiyonu için etkin ve hızlı bir yöntem olduğu belirlenmiştir (Li ve diğ., 2014).

Cerasus cinsinin meyveleri ile yapılmış olan fitokimyasal analizler belirli taksonlarla (*C. vulgaris*, *C. avium*) sınırlı kalmış ya da Türkiye'de doğal olarak yetişen taksonların büyük çoğunluğunu kapsamamıştır (Toydemir ve diğ., 2013; Yılmaz ve Gökmen, 2013; Li ve diğ., 2014; Pacifico ve diğ., 2014; Bastos ve diğ., 2015; Cao ve diğ., 2015). Diğer taraftan uluslararası anlamda *Cerasus vulgaris* bitkisi ve bu bitkiden elde edilen ürünler ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar daha çok polifenol içerikleri analizi odaklıdır. Bu çalışmalardan da anlaşılabacağı üzere, fitokimyasal çalışmalar genellikle ticari türler üzerinde yoğunlaşmış ve yabani kirazların potansiyelleri günümüze dek gizli kalmıştır.

2. 4. 1. Polifenollerin sınıflandırılması

Bitki bazlı besinler doğal olarak polifenol içerir; bu bileşikler çok çeşitli karmaşık yapılara sahiptir. Polifenollerdeki temel monomer fenolik halkadır ve genellikle bunlar fenolik asitler ve fenolik alkoller olarak sınıflandırılır (Şekil 6). Fenolik halkanın gücüne bağlı olarak, polifenoller birçok sınıfa ayrılabilir, ancak polifenollerin ana sınıfları fenolik asitler, flavonoidler, fenolik alkoller ve lignanlardır. Hidroksisinnamik ve hidroksibenzoik asitler, fenolik asitlerin iki sınıfıdır. Tarçın asidi ve benzoik asit türevleri sırasıyla C1-C6 ve C3-C6

omurgalarına sahiptir. Bazı fenolik asitler sebze ve meyvelerde serbest halde bulunur, ancak kabuk, kepek ve tohum, bağlı formda olan fenolik asitler içerir. Flavonoidler, yakındaki piran halkasından üç karbon zinciri ile bağlanabilen iki benzen halkasından oluşur. Ayrıca, altı flavonoid sınıfı, diğerlerinden, esas olarak merkezi karbonun oksidasyon durumuna göre farklılık gösterir; bu sınıflar arasında flavanonlar, flavanoller, flavonoller, izoflavonlar, flavonlar ve antosiyanidinler bulunur.



Şekil 6: Polifenollerin sınıflandırılması.

2. 5. KEMOTAKSONOMİ

Kimya uygulamasını kullanan taksonomi/sistematik; kemotaksonomi veya kimyasal taksonomi olarak adlandırılır (Bhargava ve diğ., 2013). Tek başına dış morfolojiye güvenmek, taksonların doğru bir şekilde tanımlanması için yeterli değildir, bu nedenle diğer çalışma dalları, bir

taksonun taksonomik basamağını ve filogenisinin doğru değerlendirilmesinde önemli bir değere sahiptir (Al-Tameme, 2015). Kemotaksonomi çalışmaları sayısındaki artış, kimyasal bileşiklerin izlerini bile tespit edebilen ileri tekniklerin geliştirilmesine yol açmıştır (Kalia, 2011). Kemotaksonomi, bitkiler arasındaki fitokimyasal varyasyonun sistematik çalışmasıyla ilgilenir. Bu varyasyon, yüzyıllar önce insanlık tarafından içgüdüsel olarak kullanılan ve yenilebilirlik, tat, renk, koku ve tıbbi değer gibi karakterleri içeren belirli fiziksel bitki özelliklerine dayanan kimyasal özellikler sınıflandırma amacıyla kullanılmıştır (Sathyamurthy, 2014). Avrupa kıtasında yayılış gösteren bitkilerin fitokimyasal özellikleri alanında yapılan çalışmalarda artış aslında bu bilim insanlarının bitkilerin tıbbi özellikleriyle duyduğu ilgiyle alakalıydı. On sekizinci ve on dokuzuncu yüzyıllar boyunca, bu alandaki bilgi arttı ve bazı taksonomistler, bitki taksonlarını tasvir etme ve filogenilerini gösterme girişimlerinde çeşitli kimyasal özelliklerden yararlandı (Jones, 1987). Yavaş yavaş, proteinleri, nükleik asitleri ve başlıca polisakkarit kategorilerini içerecek şekilde, tanınan doğal bitki ürünlerinin sayısı arttı. Aynı zamanda, bitki metabolizması üzerine yapılan araştırmalar, bitkilerin kimyasal işleyişinde benzerlikler ortaya çıkarırken, aynı zamanda taksonomik veya filogenetik olarak önemli olabilecek biyokimyasal özellikleri vurguladı.

Ancak, gelişmiş kimyasal analiz teknikleri ve birçok organik bileşiğin yapılarının aydınlatılması nedeniyle, fitokimyasalların hızlı karakterizasyonu ancak son yıllarda yapılabilir hale gelmiştir. Kromatografi alanındaki teknolojiye ilerlemeler, az miktarda numune ile analizleri basitleştirmiş ve daha hızlı analiz yapılmasını mümkün kılmıştır. Artık günümüzde, belirli bileşiklerin ve ilgili maddelerin belirli taksonomik gruplarına özgü olabileceği kabul edilmektedir (Wink ve Waterman, 1999; Sathyamurthy, 2014). Bununla birlikte, kemotaksonomik çalışmalar için fitokimyasalların araştırılması taksonomik sınıflandırmanın tüm birimlerinde kullanılmıştır (Smith, 1978; Stace, 1980; Singh, 2016). Çalışılan taksonların fitokimyasal içeriklerinde farklılık olması, kalıtsal olarak metabolik süreçler sayesinde kimyasal madde oluşturma kabiliyetlerinin korunduğunu göstermektedir.

Bu tez kapsamında Türkiye’de yayılış gösteren fitokimyasallarca zengin *Cerasus* taksonlarının kemotaksonomik olarak ayrılıp ayrılmayacağı ve besin amaçlı kullanım potansiyeli araştırılmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3. 1. HERBARYUM MATERYALİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yurt içinde ve yurtdışındaki herbaryumlarla elektronik posta ile irtibata geçilmiş ve önemli ölçüde *Cerasus* örneklerinin bulunduğu tespit edilen herbaryumlara (ISTF, ISTO, ISTE, E, B, GAT, JE) ziyaretlerde bulunularak ellerinde bulunan *Cerasus* örnekleri incelenmiş, fotoğraflanmış ve etiket bilgileri alınmıştır. Bizzat ziyaret edilemeyen herbaryumlardan (BULU, DUOF, VANF, KNYA, EGE, NGBB, ANK, HUB, MARE) örneklerin dijital kayıtları istenmiş ve incelemeler bu kayıtlar üzerinden sürdürülmüştür. Kayıtları elde edilmesi sonrası dağılım haritası çizilerek arazi çalışma programları yapılmış ve güncellenerek 3 sene boyunca arazi çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3. 2. BİTKİSEL MATERYALİN ELDESİ

Tez çalışması için 2017-2019 yılları arasında arazi çalışmaları gerçekleştirilmiş ve örnekler herbaryum örneği haline getirilmiş ve genç yapraklar DNA analizleri için silika jel muhafazası altında toplanmıştır. Ayrıca meyve polifenollerinin profili ve antioksidan aktivite çalışmaları için arazi çalışmaları kapsamında araç buzdolabı ile meyve toplama çalışmaları yapılmıştır. Yapılan arazi çalışmalarında toplanan bitkilerin konumlarına ait bilgiler ve toplayıcı numaraları Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4: Arazi çalışmalarında toplanmış olan örnekler ve lokasyon bilgileri. (Takson ID kısaltmaları için kısaltma listesine bakınız).

Topl. No.	Tax. ID	Lokasyon	Tarih
CP37	PGL	Denizli: Kazıkbeli Mevkii, Taşlık, 1028 m	24.04.2017
CP38	PGL	Isparta: Uluborlu, Özbahçe köyü, Tekkeli tepe, Taşlık yamaç, 1400	24.04.2017
CP47	PGL	Antalya: Elmalı - Korkuteli arası, Taşlık, kayalık, 1179 m	26.04.2017
CP48	MIT	Antalya: Elmalı, Orman, 1291 m	27.04.2017
CP53	MIM	Antalya: Elmalı, Finike yolu, Taşlık, kayalık, 1169 m	27.04.2017
CP57	AV	Düzce: Yığılca, Hasanlar barajı yakını, Yol kenarı, yamaç, 253 m	10.05.2017
CP58	AV	Düzce: Yığılca: Paşabükü mevkine giderken, Yol ve bahçe kenarı, 290 m	10.05.2017
CP59	AV	Düzce: Yığılca: Paşabükü mevkine giderken, Yol ve bahçe kenarı, 290 m	10.05.2017
CP60	AV	Düzce: Yığılca: Paşabükü köyünden 4 km sonra, Dere ve yol kenarı, 363 m	10.05.2017
CP61	AV	Düzce: Yığılca: Paşabükü köyünden 4 km sonra, Dere ve yol kenarı, 363 m	10.05.2017
CP62	VU	Bolu: Paşabükü-Yedigöller arası, Yamaç, yol kenarı, Fagus karışık ormanı, 945 m	10.05.2017

Tablo 4'ün devamı.

CP63	AV	Düzce: Yığılca: Paşabükü köyünden sonra, Dere ve yol kenarı, 363 m	10.05.2017
CP64	VU	Düzce: Paşabükü'nden Bolu Yedigöller'e giden orman yolu, ana yola 2-3 km uzaklıkta, Dere kenarı, GD yamaçlar, 1084 m	10.05.2017
CP66	AV	Bolu: Yedigöller yolu, karışık orman, 704 m	10.05.2017
CP67	AV	Zonguldak: Başyellice köyü, köy içi, 556 m	10.05.2017
CP68	VU	Bolu: Kartalkaya tepesi: Düvenlik yaylasına giderken yol kenarı, Abies ormanı kenarı, 1632 m	11.05.2017
CP70	VU	Bursa: Mudurnu: Yaylabeli köyü, Yol ve dere kenarı, 1059 m	11.05.2017
CP71	MAM	Bolu: Geben - Küsem köyü yol ayrımından sonra Küsem'e giderken, Yol kenarı	11.05.2017
CP72	MAM	Bolu: Geben, Küsem Köyü çıkışından sonra, yamaçlar, taşlık, 884 m	11.05.2017
CP74	MAA	Bolu: Geben, 950 m	11.05.2017
CP75	MAM	Bolu: Seben; Küsem-Kıbrısık, Yol kenarı, taşlık çayır, 1143 m	11.05.2017
CP78	MAA	Bolu: Kıbrısık'tan Beypazarı'na giderken yol üzerinde, Taşlık yamaç, 1060 m	11.05.2017
CP80	MAM	Ankara: Beypazarı'ndan Nallıhan'a giderken, Yol ve tarla kenarı, kumlu toprak, 594 m	12.05.2017
CP84	PRO	Afyonkarahisar - Keciözü yolu: Dinar'a 20 km kala, taşlık bozkır, kayalık yamac, 1180 m	12.05.2017
CP85	PRO	Afyon: Dinar - Karakuyu, eski yol, taşlık, kayalık cıplak yamac, 1029 m	12.05.2017
CP87	MAM	Manisa: Turgutlu: Aşağıbakır mh., 260 m	13.05.2017
CP88	MAM	Kayseri: Talas: Alidağ, yamac, yol kenarı, 1400 m	23.05.2017
CP89	MAA	Kayseri: Talas: Alidağ, çayır, 1677 m	23.05.2017
CP90	HIP	Sivas: Divriği yolunda, Divriği'ne yaklaşık 18 km kala, Karasar geçidi, yol kenarı, bozkır, 1822 m	23.05.2017
CP91	MIT	Sivas: Divriği: Demirdağ yolu, Demirdağ koyüne 1,5 km kala, yol kenarı 985 m	23.05.2017
CP92	HIP	Sivas: Divriği: Dumlucadağ, Dumluca koyüne 6 km kala, çayır, kayalık, 1629 m	23.05.2017
CP94	MIT	Sivas: Divriği - Kemaliye arası (taş yol) yol ayrımından yaklaşık 10 km sonra, <i>Paluiris spina-cristii</i> arasında, yol kenarı, 872 m	24.05.2017
CP95	MIT	Erzincan: Kemaliye: Yeşilyurt yolu, Apcaağa koyünü gectikten 2 km sonra, kayalık, taşlık yamac, 1143 m	24.05.2017
CP97	MIT	Erzincan: Kemaliye: Yeşilyurt köyü yol ayrımından girdikten 1 km sonra, yol kenarı, yamaç, 1073 m	24.05.2017
CP98	MIT	Erzincan: Kemah: Eriş köyü: Tuz taşı mv., kayalık, 1325 m	24.05.2017
CP99	MIT	Erzincan: Kemah: Eriş köyü: Tuz taşı mv., taşlık çayır, 1294 m	24.05.2017
CP101	ASI	Erzincan: Kelkit yolu, Kelkit'e 23 km kala, yol kenarı yamac, <i>Rosa</i> ile birlikte, 1618 m	25.05.2017
CP102	ASI	Erzincan: Tercan: Tercan barajı yolu, yamaç, kaya dibi, dikenli bitkilerle iç içe, 1461 m	25.05.2017
CP103	ANG	Erzincan: Tercan: Tercan barajı yolu, yamaçlar, 1520 m	25.05.2017
CP104	INC	Erzurum: Tortum: Uzundere'ye 2 km kala, Derekapı koyü, Yamac, taşlık, 1145 m	25.05.2017
CP106	INC	Erzurum: Tortum: Dikyar koyü mezraları, Yamac, dikenli cılırlarla birlikte, 1483 m	25.05.2017
CP109	MAM	Erzincan: Üzümlü: Karakaya koyü, koy içi, taş ev ortasında 1429 m	26.05.2017
CP110	ASI	Sivas: Karayün yolu: Hafik'ten Karayün'e giderken 7 km sonra, yamaç, kayalık, 1329 m	26.05.2017
CP111	PRO	Burdur: Ağlasun, Taşlar üzerinde, 1478 m	30.05.2017

Tablo 4'ün devamı.

CP112	AV	Kırklareli: Demirkoy - İğneada arası, Orman içi, 405 m	02.06.2017
CP113	MIT	Mardin: merkez: Zinnar (Senar), 900 m	19.06.2017
CP114	MIT	Mardin: merkez: Zinnar (Senar), 901 m	19.06.2017
CP115	MIM	Mardin: merkez: Zinnar (Senar), 902 m	19.06.2017
CP116	MAM	Mardin: merkez: Zinnar (Senar), 903 m	19.06.2017
CP117	MAM	Mardin: merkez: Zinnar (Senar), 904 m	19.06.2017
CP118	MIT	Mardin: Merkez, Nur Mahallesi, 965 m	19.06.2017
CP119	MIM	Mardin: Merkez, Nur Mahallesi, 965 m	19.06.2017
CP121	MIM	Antalya: Elmalı, Finike yolu, Taşlık, kayalık, 1169 m	03.07.2017
CP122	MIT	Antalya: Elmalı, 1291 m	03.07.2017
CP125	PRO	Fethiye: Kastabola, Yamaçlar, 1617 m.	03.07.2017
CP127	MIT	Malatya: Akçadağ - Dereli Yolu çıkışı, Akpınar mevki, Taşlık yamaç, 1220 m	6.07.2017
CP128	MIT	Malatya: Akçadağ - Dereli Yolu çıkışı, Akpınar mevki, Taşlık yamaç, 1220 m	6.07.2017
CP129	HIP	Malatya: Ellezler Bendi (İlyasların kayalığı) Demirciler köyü üstü, Kayalık, 1582 m	6.07.2017
CP130	MAM	Malatya: Doğanşehir - Dedeyazı: Karşı mevki, Bahçealtı, 1388 m	6.07.2017
CP131	MIT	Malatya: Doğanşehir - Dedeyazı: Karşı mevki, Bahçealtı, 1388 m	6.07.2017
CP132	AV	Malatya, Yol kenarı, 1377 m	7.07.2017
CP133	AV	Malatya, Yol kenarı, 1377 m	7.07.2017
CP134	AV	Malatya, Yol kenarı, 1377 m	7.07.2017
CP136	ANG	Erzincan: Kemah yolu, Mermerli köyü, Yol kenarı, 1122 m	8.07.2017
CP137	ANG	Erzincan: Kemah yolu, Mermerli köyü, Yol kenarı, 1122 m	8.07.2017
CP138	MIT	Erzincan: Kemah yolu, Mermerli köyü, Yol kenarı, 1122 m	8.07.2017
CP139	ASI	Erzincan: Kemah - Eriç yolu, Eskibağlar - Dedek arası, Karasu kenarı, Akasya Açıklıkları	8.07.2017
CP140	ANG	Erzincan: Kemah - Eriç yolu, Eskibağlar - Dedek arası, Karasu kenarı, Akasya Açıklıkları	8.07.2017
CP141	MAM	Erzincan: Kemah - Eriç yolu, 1017 m	8.07.2017
CP142	ANG	Erzincan: Kemah: Eriş: Göldibi mevki, 1346 m	8.07.2017
CP143	MIT	Erzincan: Kemah: Eriş: Göldibi mevki, 1346 m	8.07.2017
CP144	MIT	Erzincan: Kemah, Kemaliye- Kozlupınar arası yönünde, yolun sol tarafı, 1145 m	9.07.2017
CP145	MIT	Erzincan: Kemah, Kemaliye- Kozlupınar arası yönünde, yolun sol tarafı, 1145 m	9.07.2017
CP147	PGL	Antalya: Tahtalı Dağı: Çukur yaylayı geçtikten hemen sonra, 1688 m	28.07.2017
CP148	PRO	Antalya: Tahtalı Dağı, 2007 m	28.07.2017
CP161	MIM	Van Ahtaman Adası, Yamaçlar	21.05.2018
CP162	MIT	Van Bitlis Yolu Altınsaç köyüne giderken, Göl kenarı yamaçları	21.05.2018
CP163	MIT	Gevaş Altınsaç köyü yolu, 1658m (Göl kenarı yamaçları)	21.05.2018
CP164	BRA	Van Kuşkonmaz geçidi sağdan tali yola girince, 2286m	21.05.2018
CP165	BRA	Van Çatak yolu, Çatak'a 55 km kala ana yoldan sola sapınca, 2059m (KB yamaçlar, kayalık arazi)	22.05.2018
CP166	BRA	Van: Ahtaman iskelesini geçince Dokuzağaç köyü yolu, Göle bakan KB yamaçlar	22.05.2018

Tablo 4'ün devamı.

CP167	MIT	Van: Ahtaman iskelesini geçince Dokuzağaç köyü yolu, Göle bakan KB yamaçlar	22.05.2018
CP168	AV	Van: Ahtaman iskelesini geçince Dokuzağaç köyü yolu, Göle bakan KB yamaçlar	22.05.2018
CP170	MAM	Bitlis: Nemrut ılık(sıcak) göl, 2249m (Su kenarı, volkanik arazi)	22.05.2018
CP171	MIT	Bitlis: Kambos dağı çıkışı Dilektaş köyüne giderken 1km, Yamaçlar	22.05.2018
CP172	VU	Bitlis: Kambos dağı çıkışı Dilektaş köyüne giderken 1km, Yamaçlar	22.05.2018
CP173	BRA	Van: Gevaş Dağyöre köyüne 2,5 km kala, 1879m (kayalık arazi)	23.05.2018
CP177	PRO	Afyon: Dinar - Karakuyu, eski yol, taşlık, kayalık cıplak yamac, 1029 m	25.06.2018
CP179	PGL	Bozkır- Hadim arası 6km. Kala, 1730m (kayalık)	26.06.2018
CP181	VEL	Kayseri: Talas: Alidağ kuzey yamaçları, 1440m	27.06.2018
CP182	HIP	Sivas: Divriği: Demirdağ yolu, Demirdağ köyüne 1,5 km kala, yol kenarı 985 m	28.06.2018
CP184	ANG	Erzincan: otoyol Çağlayan arası Yamaçlı dönüşünden sonra, yol kenarı, kayalık	30.06.2018
CP185	INC	Erzurum: Tortum- Uzundere arası 20 km kala, 1300 m	30.06.2018
CP186	VU	Artvin: Borçka- Murgul arası, 750 m	1.07.2018
CP187	VU	Artvin: Borçka Karagöle giderken, 900 m	1.07.2018
CP188	VU	Artvin: Borçka Atanoğlu köyü, Zezemere mevki, 820 m	1.07.2018
CP189	VU	Artvin: Borçka Atanoğlu köyü, Zezemere mevki, 820 m	1.07.2018
CP191	MAM	Elazığ: Karakoçan Çayırözü köyü	
CP192	AV	Amasya	3.07.2018
CP193	AV	Giresun-Erikliman Köyü, 31 m	3.07.2018
CP194	AV	Giresun-Eğnesil, Kekliktepe, 284 m	3.07.2018
CP195	AV	Giresun-Eğnesil, Kekliktepe, 324 m	3.07.2018
CP196	VU	Samsun: Havza yağı: Mahmut Köyü, 821 m	3.07.2018
CP201	MAM	Maraş: Andırın-Göksun Yolu, 1210 m	20.05.2019
CP212	MIM	Sivas: Divriği- Dumluca Dağı yolu, 1537m	14.05.2019

3. 3. MOLEKÜLER ÇALIŞMALAR

3. 3. 1. DNA İzolasyonu

İlk aşamada laboratuvarımızda optimizasyonu yapılan ve bir süredir rutinde kullanılan Genespin izolasyon kiti kullanılmıştır. Tüm örnekler (eşit kütle miktarı = 10 mg) havan kullanılarak sıvı azot yardımı ile homojen toz haline getirildi. Elde edilen toz, üretici talimatlarına göre GeneSpin DNA İzolasyon kiti (katalog no: 52224400621, Eurofins) kullanılarak DNA izolasyonu için kullanıldı. DNA, elüsyonu iki kez tekrarlanarak (2 x 25 mikrolitre) toplam hacim olarak 50 mikrolitre elüsyon edildi.

3. 3. 2. GeneSpin (Eurofins) DNA Ekstraksiyon İşlemi

Sıvı azot yardımı ile homojenize edilmiş numuneler öncelikle lizis tamponu ile muamele edildi. Lizis CF tamponu 65°C de ısıtıldı. Isıtılan tampondan 550 µl, numune bulunan eppendorf tüpüne eklenerek ve 15 saniye (sn) vortekste karıştırıldı. 10 µl Proteinaz K eklendi ve 2-3 sn tekrar karıştırıldı. Eğer lizis tamponunun hacmi örneğin tamamen çözülmesi için yeterli değilse, numuneye yeniden tampon (Proteinaz K ile doğru orantılı olmak koşulu ile) ilave edilerek resüspanse edildi ve karışım 30 dk 65°C de inkübe edildi. Her 550 µl lizis tamponu için 10 µl RNase (20 mg/ml) eklendi. Vortekslenir ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Karışım 10 dk en az 11.000 x g de santrifüj edildi. Santrifüj edilen karışımın temiz süpernatantı (yaklaşık 300 µl) alınarak ve 1,5ml 'lik yeni reaksiyon tüpüne aktarıldı. Alınan süpernatant miktarı kadar C4 tamponu ve etanol ilave edildi (Örneğin 300 µl süpernatant aktarıldıysa 300 µl C4 ve etanol ilave edilir). Oluşan karışım 30 sn vortekslenir. 2 ml 'lik temiz toplama tüpüne GENESpin kolonu yerleştirilerek ve sonra kolona karışımdan 700 µl aktarıldı ve 1 dakika 11.000 x g de santrifüj yapıldı. Toplama tüpünde kalan solüsyon atıldı. Toplama tüpü en fazla 750 µl alabildiğinden bu işlem tekrar yapıldı. Genespin kolonu yeni bir toplama tüpüne alınarak üzerine 400 µl CQW tamponu eklendi ve 1 dk 11.000 x g'de santrifüj edildi. Toplama tüpünde kalan solüsyon atıldı. Genespin kolonu yeni bir toplama tüpüne alınarak üzerine 700 µl C5 tamponu eklenerek 1 dk 11.000 x g'de santrifüj edildi. Toplama tüpünde kalan solüsyon atıldı. Genespin kolonu yeni bir toplama tüpüne alınarak üzerine 200 µl C5 tamponu eklenerek 2 dk 11.000 x g 'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası kolonlar yeni bir 1.5 ml 'lik reaksiyon tüpüne oturtuldu. Önceden 70°C'ye ısıtılmış olan CE tamponundan membrana 25 µl eklendi. Oda ısısında (18-25°C) 5 dk inkübe edildi. DNA'yı toplamak için 1 dk 11.000 x g'de santrifüj edildi. Elde edilen DNA ağzı kapaklı eppendorf tüpüne alınarak kısa dönemli kullanım için +4°C' de, uzun süreli kullanım için -20°C' de saklandı.

DNA'nın miktar ve saflığı, nanofotometrede 260 ve 280nm dalga boylarında elde edilen değerler ile saptanmaktadır. Genespin DNA ekstraksiyon işlemi ile uygun miktar ve saflığa sahip olmayan örneklerle CTAB DNA ekstraksiyon işlemi uygulandı. Bu metodun kullanılma nedeni ticari izolasyon kitlerine göre modifiye edilmeye daha uygun olmasıdır. Eurofins marka izolasyon kiti ile bazı örneklerde düşük miktarda DNA izole edilmiştir, o yüzden CTAB DNA ekstraksiyon işlemi uygulandı.

3. 3. 3. CTAB DNA Ekstraksiyon İşlemi

Sıvı azot ile ezilmiş yaprak dokularının bulunduğu tüplerin her birine 2 ml ekstraksiyon solüsyonu ve 20 µl β-merkaptotanol pipet yardımıyla eklenerek karıştırılmıştır. Tüpler 65 °C'de 20 dakika bekletilmiş ve bu süreçte iki defa karıştırıcı yardımıyla karıştırılmıştır. Her bir tüpe 20 mg/ml Proteinaz K enziminden 20 ul konularak 65 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında, her örneğe 400 µl fenol: kloroform: izoamilalkol karışımından eklenerek 15 dakika süreyle karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Tüp içerisindeki karışım 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Bekleme sırasında her örnek için yeni temiz bir santrifüj tüpü hazırlayıp etiketlenmiştir ve her birinin içine 400 µl soğuk (-20 °C) izopropanol eklenmiştir. Santrifüj tamamlandığında tüplerin üst kısmındaki sıvı kısımdan 600 µl steril pipet aracılığıyla soğuk (-20 °C) izopropanol içeren santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüpler 1 saat süreyle -20 °C'de bekletilmiştir. Yirmi 14.000 rpm'de santrifüj edilen tüplerdeki üst sıvı dökülmüştür. Her tüpe 1 ml soğuk ETOH (%80) eklenmiştir ve 5 dakika 14.000 rpm'de yıkama yapılmıştır. Peletin kuruması için tüpler kağıt havlu üzerine ters bırakılarak bekletilmiştir. Kuruyan pelet 25 µl TE (Tris-EDTA) içerisinde çözülmüştür. CTAB ekstraksiyon işlemi sonrası sekonder metabolit içeriği yüksek bitkilerde saflık problemi görülmüş ve sekonder metabolitleri yüksek oranda ihtiva eden örnekler için özel üretilmiş olan HIMEDIA DNA ekstraksiyon kiti kullanılmıştır.

3. 3. 4. HIMEDIA Spin Kolon DNA Ekstraksiyon İşlemi

Sıvı azot ile iyice ezilip toz haline getirilen 15 mg yaprak örneğinin üstüne 400 µl lizis tampon eklendi. İki ml hacimli santrifüj tüpünde olan örnekler 1 dakika boyunca vorteks yapıldı. Daha önceden hazırlanmış olan 20 µl RNAz A solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında 10 dakika beklenerek karışıma 10 µl proteaz eklendi ve karışım 65 °C'de 10 dakika bekletildi. Daha sonra karışımın üstüne precipitation tampon eklenerek 5 dakika buz üstünde inkübe edildi. Karışıma binding buffer eklenerek lizattan 650 µl alındı ve kolona yüklendi. Bir dakika 6000 g'de santrifüj edildi. Kolonda tutulan DNA, wash solution ile santrifüj edilerek yıkama işlemi yapıldı. Son aşamada elüsyon tamponu kullanılarak kolona bağlanmış nuklear DNA çözüldü ve analize kadar -20 °C'de saklandı.

3. 3. 5. Gen Bölgelerinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılması

Polimeraz zincir reaksiyonu DNA fragmenti üzerinde doğrudan seçilen spesifik bir bölgeyi çoğaltmaya yarayan bir yöntemdir. Bu çoğaltma işlemi sırasında özel olarak sentezlenmiş primerlerden yararlanılır. Bu tez çalışmasında kullanılan primerlerin listesi Tablo 5’te verilmiştir. Bu primerler, DNA üzerinde çoğaltılmak istenen özel bölgeye uyumlu ve eşleşebilen tek zincirli olarak sentezlenir.

Elde edilen DNA’lar Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) işlemine kadar - 20 °C’de saklanmıştır. Çalışmada kullanılan DNA bölgeleri, amplifikasyon için kullanılan primerler ve bu primerlere ait referanslar Tablo 5’ de gösterilmiştir.

Tablo 5: Kullanılan primerler ve dizileri.

Bölge	İleri Primer	Geri Primer	Primer Kaynağı
ITS	ITS1: TCCGTAGGTGAACCTGCGG	ITS2: GCTGCGTTCTTCATCGATGC	Potter et al., 2007
matK	matK472F: CCC RTY CAT CTG GAA ATC TTG GTT C	matK1248R: GCT RTR ATA ATG AGA AAG ATT TCT GC	Yu vd. 2011
ycf1	ycf1bF: TCTCGACGAAAATCAGATTGTTGTGAAT	ycf1bR: ATACATGTCAAAGTGATGGAAAA	Dong vd. 2015.
trnL-trnF (1)	c : CGAAATCGGTAGACGCTACG	d :GGGGATAGAGGGACTTGAAC	Taberlet vd. 1991
trnL-trnF (2)	e:GGTTCAAGTCCCTCTATCCC	f : ATTTGAACTGGTGACACGAG	Taberlet vd. 1991

İlgili gen bölgeleri çoğaltılırken Genedirex marka karışımlar kullanılmış ve karışım çalışılan bütün DNA bölgeleri için aşağıdaki gibi hazırlanmıştır (Tablo 6).

Tablo 6: Kullanılan PZR karışımı.

Bileşen	Miktarı
Master Miks	12,5 µL
İleri primer	0,5 µL
Geri primer	0,5 µL
Hedef DNA	40 ng
PZR suyu	25 µL ye kadar
Toplam hacim	25 µL

3. 3. 6. PZR ürünlerinin DNA dizi analizine hazırlanması

Bu işlem Qiagen PZR saflaştırma kolonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu kolonlar 100 bp ve daha büyük fragmentleri bağlama özelliğine sahiptir, silika membran içerir, kolonlara eklenen PZR ürünlerinde bulunan tuzlar, enzimler ve diğer gereksiz bileşimler kolonlardan tutulmadan atılır, DNA ise bu kolonlara tutunur. Saflaştırma işleminden sonra elde edilen ürünlerin yine %1'lik agaroz jellerde kalite kontrolü yapıldı.

Belirlenmiş gen bölgelerinin PZR'da çoğaltılması işlemi sonrasında örnekler BM Laboratuvar Sistemleri'ne çift yön DNA dizi analizine gönderilmiştir. PZR ürünlerine purifikasyon işlemi (Qiagen jel purifikasyon kiti) yapılmıştır.

Prosedür;

1. DNA parçası temiz, keskin bir neşter ile agaroz jelden çıkarılır.
2. Jel parçası renksiz bir tüpte tartılır. 1 hacim jel (100 mg jel ~ 100 µl) 3 hacim Tampon QG ekleyin. Spin sütunu başına maksimum jel miktarı 400 mg'dır. >% 2 agaroz jelleri için 6 hacim Tampon QG eklenir.
3. 50 ° C'de 10 dakika inkübe edilir. Jeli eritmeye yardımcı olmak için tüp her 2-3 dakikada bir vortekslenir. Jel tamamen çözündükten sonra, karışımın renginin sarı olduğunu kontrol edilmelidir. Karışımın rengi turuncu veya mor ise, 10 µl 3 M sodyum asetat, pH 5.0 eklenir ve karıştırılır, karışımın sarardığı görülecektir.
4. Örneğe 1 jel hacimli izopropanol eklenir ve karıştırılır.
5. İki ml'lik toplama tüpüne veya vakum manifolduna bir QIAquick döndürme kolonu yerleştirilir. DNA bağlamak için, QIAquick sütununa örnek uygulanır ve 1 dakika boyunca santrifüj veya tüm örnekler sütunun içinden geçinceye kadar manifolda vakum uygulanır.
6. DNA daha sonra sekanslama, in vitro transkripsiyon veya mikroenjeksiyon için kullanılacaksa, QIAquick kolonuna 500 µl Tampon QG ekleyin ve 1 dakika santrifüjlenir.
7. Yıkamak için QIAquick kolonuna 750 µl Tampon PE eklenir ve 1 dakika santrifüjlenir.
8. QIAquick kolonunu temiz bir 1.5 ml mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilir.
9. DNA'yı elüe etmek için QIAquick membranının merkezine 50 µl Tampon EB (10 mM Tris · Cl, pH 8.5) eklenir ve 1 dakika boyunca kolon santrifüjlenir. Artan DNA

konsantrasyonu için, QIAquick membran merkezine 30 µl Tampon EB ekleyin, 1 dakika beklenir ve sonra 1 dakika santrifüjlenir. QIAquick membranına Tampon EB ilave edildikten sonra, inkübasyon süresinin 4 dakikaya çıkarılması saflaştırılmış DNA verimini artırabilir.

3. 3. 7. DNA dizilerinin analizi

Sanger Dizileme için, MacroGen Hollanda laboratuvarında, ABI 3730XL Sanger dizileme cihazı (Applied Biosystems, Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Dizileme Kiti kullanılmıştır (Applied Biosystems, Foster City, CA).

3. 3. 8. Haplotip Analizi

Kloroplast DNA'sından elde edilen matK ve ycf1 bölgelerinin sekansları PhyDE programı kullanılarak manuel bir şekilde hizalanmıştır. Haplotip haritası, Türkiye'de dağılım gösteren *Cerasus* taksonlarının birbiri ile olan ilişkilerini görselleştirmek amacıyla PopART v.1.7 programında yapılmıştır (Leigh ve Bryant, 2015). Parsimoni tabanlı bir analiz olan TCS ağı, hizalanmış sekanslar üzerinde uygulanmıştır (Clement ve diğ., 2002).

Elde edilen haplotip haritasının anlaşılır şekilde görselleştirilmesi için InkScape Portable 0.92 programı kullanılmıştır.

3. 3. 9. Filogenetik ağaçların oluşturulması

Tüm bölgeler için dizilemeden gelen kromatogramların kontrolleri Chromas 2.6.5 ve Genious Prime programlarında gerçekleştirilmiş, ileri ve geri yönlü sekanslar manuel olarak kontrol edilmiştir. Ardından PhyDE (Phylogenetic Data Editor) programı kullanılarak yine manuel olarak hizalamalar yapılmıştır.

Kloroplast bölgeleri için her üç bölgesi de (trnL-F, matK ve ycf1) çalışılmış ve NCBI'da mevcut olan *Prunus tomentosa* Buch.-Ham. Ex D.Don (NCBI Erişim Numarası: MF624726.1) dışgrup olarak seçilmiştir. Kloroplast DNA'sında matK, ycf1 ve trnL-F dizilerini kapsayan 2607 bazlık bir bölge çalışılmıştır. Manuel olarak hizalanan sekanslar öncelikle MEGA 7 programında Neighbor Joining ve Maximum Likelihood istatistik yöntemleri kullanılarak model seçimi yapılmıştır (Kumar vd., 2016). matK, ycf1, trnL-F kloroplast bölgeleri verisi için en düşük BIC (Bayesian Information Criterion) değerine sahip olan model T92 (Tamura 3-

parameter) olarak belirlenmiştir. T92 + G modeline uygun olarak Neighbor Joining filogenetik ağacı 1000 bootstrap replikasyonu ile oluşturulmuştur. Bu analizlerin ve filogenetik ağaçların düzenlenmesi işlemlerinin tamamı Mega 7 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Son olarak kloroplast verisi kullanılarak Bayesian MCMC filogenetik analizi (Yang ve Rannala, 1997) MrBayes v3.2.6 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Markov chain Monte Carlo (MCMC) algoritması 1.000.000 jenerasyon üzerinde uygulanmış ve 1000 örnekte bir ağaç oluşturulmuştur. Oluşturulan son filogenetik ağacın görsel düzenlemeleri FigTree v1.4.3. programı ve Mega7 kullanılarak yapılmıştır.

ITS bölgesi için de aynı analiz yolu izlenmiştir. Dış grup olarak *Prunus tomentosa* Maxim. (NCBI Erişim Numarası: AF318746) seçilmiştir. Mega7’de yapılan model seçiminde en düşük BIC değeri yine T92 (Tamura 3-parameter) olarak belirlenmiştir. NJ analizleri yapılırken bu model kullanılmıştır. Bayesian MCMC filogenetik analizi (Yang ve Rannala, 1997) yine MrBayes v3.2.6 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MCMC algoritması 1.000.000 jenerasyon üzerinde uygulanmış ve 1000 örnekte bir ağaç oluşturulmuştur. Oluşturulan son filogenetik ağacın görsel düzenlemeleri FigTree v1.4.3. programı kullanılarak yapılmıştır.

3. 4. FİTOKİMYASAL ÇALIŞMALAR

3. 4. 1. Meyve Örneklerinin Eldesi

Meyvelerin olgunlaşma zamanı takip edilerek benzer olgunluk dönemlerinde toplanmaya çalışılmıştır. Toplanan örnekler arazi koşullarında alüminyum folyo içinde muhafaza edilmiş, bozulmasına ya da sıvı kaybetmesine imkân vermeden kilitli plastik kaplara alınarak Ninkasa MEC 3846 COMBI 38 LT Soğutucu Araç Buzdolabında -16 ile -20 °C arasında dondurularak muhafaza edilmiştir. Gecelenen arazilerde dolap sabit bir güç kaynağına bağlanarak örneklerin laboratuvara getirilene kadar sabit sıcaklıkta kalmaları sağlanmıştır. Laboratuvara getirilen örnekler ise -80 °C de çalışılana kadar saklanmıştır.

3. 4. 2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Seryum(IV) sülfat tetrahidrat ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), Folin-Ciocalteu fenol reaktifi, neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) (Nc), bakır(II) klorür dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), kuersetin dihidrat (QR), trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) (TR), gallik asit (GA), kateşin (CAT), siyanidin-3-soforosit, sülfürik asit (H_2SO_4), hidroklorik asit (HCl), % 97’lik etil alkol

(EtOH), % 99,9'luk etil alkol, amonyum asetat (NH_4Ac), sodyum nitrit (NaNO_2), alüminyum klorid (AlCl_3), potasyum klorür (KCl), sodyum asetat (NaAc), sodyum hidroksit (NaOH), % 99.9 luk metil akol, % 97'lik metil alkol, isobutil alkol, whatman No:1 filtre kâğıdı, polipropilen filtre (0,45 μm), ultra saf su, ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radikali, potasyum persülfat. Kullanılan kimyasallar analitik saflıktadır.

3. 4. 3. Kullanılan Cihazlar

Fitokimyasal çalışmalarda kullanılan cihazlar Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7: Kullanılan cihazların adları ve markaları.

Etüv (Heraeus)
Buzdolabı (Thermo Scientific)
Parçalayıcı (Wisetis)
Ultrasonik Homojenizatör (Sonics Material)
Mikrodalga Ekstraktörü (Milestone)
Microplate Reader (Epoch)
UV-VİS spektrometre (Varian)
Mini karıştırıcı (Heidolph)
Ultrasonik su banyosu (Bandelin)
Makro ve mikropipetler (Eppendorf)
Hassas Terazı (Sartorius)
UHPLC-PDA-FL (Perkin Elmer)
HPLC-MS (Agilent)
Saf Su cihazı (Elga)

3. 5. KULLANILAN ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

3. 5. 1. CERAC yöntemi çözeltilerinin hazırlanması

$1,0 \times 10^{-3}$ M Ce(IV) sülfat çözeltisi hazırlamak için 0,0404 g $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ tartılıp üzerine bir miktar saf su eklendikten sonra 100 ml’lik balon jojeye aktarılmıştır. Daha sonra üzerine 17,0 ml % 98’lik H_2SO_4 eklendi ve 100 ml’ye saf su ile tamamlanmıştır.

3. 5. 2. CUPRAC yöntemi çözeltilerinin hazırlanması

$1,0 \times 10^{-2}$ M Cu(II) klorür çözeltisi hazırlamak için 0,4262 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılıp 250 ml’ye saf su ile tamamlanmıştır. $7,5 \times 10^{-3}$ M neocuproin (Nc) çözeltisi için 0,156 g tartılıp bir miktar % 97’lik etil alkolde çözüldükten sonra 100 ml’lik balon jojeye aktarılmış ve 100 ml’ye etil alkol ile tamamlanmıştır. 1,0 M amonyum asetat (NH_4Ac) hazırlamak için ise 19,27 g tartılıp üzerine

bir miktar saf su eklendikten sonra 250 ml'lik balon jojeye aktarılmış ve 250 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır.

3. 5. 3. Modifiye Folin-Ciocalteu yöntemi çözeltilerinin hazırlanması

Folin-Ciocalteu fenol reaktifinin 1:3 (v/v) oranında 1-propanol ile seyreltilmesi ile hazırlanmıştır. 0,1 M Sodyum hidroksit (NaOH) 'den 40 gr tartılarak bir miktar suda ultrasonik su banyosu yardımı ile çözülmüş ve 1000 ml 'lik balon jojeye aktarılarak saf su ile 1000 ml 'ye tamamlanmıştır.

3. 5. 4. $AlCl_3$ kolorimetrik yöntem çözeltilerinin hazırlanması

% 5 Sodyum Nitrit ($NaNO_2$) hazırlanması için 12,5 gr alınmış 100 ml saf suda çözülerek 250 ml 'lik balon jojeye aktarılmış ve 250 ml 'ye saf su ile tamamlanmıştır. % 10 alüminyum klorür ($AlCl_3 \cdot 6H_2O$) çözeltisi için 25 gr tartılarak 150 ml saf suda çözülmüş ve balon jodede 250 ml'ye tamamlanmıştır. 1 M sodyum hidroksit (NaOH) hazırlanması için ise 40 gr tartılmış ve belli bir miktar suda çözülerek 1000 ml'lik balon jojeye aktarılarak saf su ile tamamlanmıştır.

3. 5. 5. ABTS yöntemi çözeltilerinin hazırlanması

7,4 mM ABTS solüsyonu ile 2,45 mM potasyum persülfatın 50 mililitre distile su içerisinde çözüldürülerek 12-16 saat karanlıkta bekletildi ve aktif radikal oluşturması sağlanmıştır. Deneyden önce ABTS solüsyonunun 734 nm'de absorbanası $0,700 \pm 0,02$ olacak şekilde metanol ile seyreltilmiştir.

3. 5. 6. pH diferansiyel spektrofotometrik yöntem çözeltilerinin hazırlanması

pH 1 tamponu için 0,0025 M KCl çözeltisi hazırlanmıştır. 7,750 gr potasyum klorür tartılmış, 980 ml saf su kullanılarak çözülmüş ve % 37'lik hidroklorik asit kullanılarak pH metre ile pH 1'e ayarlanmıştır. pH 4,5 tamponu için ise 0,4 M sodyum asetat çözeltisi hazırlanmıştır. 108,86 gr sodyum asetat tartılarak 960 ml saf su ile tamamlanmış ve %37 'lik hidroklorik asit ile pH metre kullanılarak pH 4,5'a ayarlanmıştır. Kullanılan antioksidan çözeltilerinin derişimleri 1×10^{-3} M olacak şekilde mutlak etil alkolde hazırlanmıştır. 5 mg Siyanidin-3-soforosit klorür 25 ml balon jodede ultra saf su ile hazırlandı.

3. 6. KULLANILAN EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

3. 6. 1. Mikrodalga Destekli Çözücü Ekstraksiyonu ile Örneklerin Hazırlanması

Garofulic ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptıkları çalışmada gerçekleştirilen metot baz alınmış ve bazı modifikasyonlar yapılarak mikrodalga (Şekil 7) ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. 2,5 g $\pm$ 0.001 homojenize yaş meyve materyali çekirdeklerinden arındırılarak % 0,1 lik HCl içeren %80 metanol ile karıştırılmış, el homojenizatörü (650 rpm, 30 saniye) ile parçalanmış ve soğutma sistemine sahip çift boyunlu, dairesel tabanlı cam kaba konulmuş ve 4 dk boyunca 200 watt gücünde mikrodalga ışınlarına maruz bırakılmıştır. Ekstraksiyon işlemi; farklı sıcaklık, mikrodalga gücü ve ekstraksiyon sürelerinde, üç tekrar şeklinde gerçekleştirilmiştir. Oda sıcaklığında soğutulan örnekler Whatman No.1 filtre kâğıdı ve 0,45 μ m polipropilen filtreden süzülerek 150 ml'lik amber şişelere aktarıldı. Ekstraktlar analize kadar -18°C'de saklanmıştır.



Şekil 7: Mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi.

3. 6. 2. Ses Dalgaları (Ultrasonik) Destekli Sıvı Ekstraksiyonu ile Örneklerin Hazırlanması

Örnekler çekirdek ve saplarından ayrılarak, 20 khz frekans ve maksimum 750 watt gücünde ses dalgaları destekli sıvı ekstraksiyon cihazı (Şekil 8) kullanılarak ekstrakte edilmiştir. 2,5 g $\pm$ 0.001 homojenize materyal, % 0,1 lik HCl içeren %80 metanol ile karıştırılarak el homojenizatörü (650 rpm, 30 saniye) ile parçalanmış ve daha sonra behere alınarak 5 dakika

boyunca % 40 amplitude oranında ses dalgalarına maruz bırakılmıştır. Ekstrakt oda sıcaklığında soğutularak whatman No. 1 filtre kâğıdı ve 0,45 µm polipropilen filtreden süzülerek 150 ml'lik amber şişelere aktarılmış ve analize kadar -18°C de saklanmıştır.



Şekil 8: Ultrasonik (Ses Dalgaları) Destekli Ekstraksiyon Sistemi.

3. 6. 3. Geleneksel Ekstraksiyon ile Örneklerinin Hazırlanması

Tohumları ayrılarak homojenize edilen örneklerden 2,5 gr alınıp üzerine 40 ml % 80 (v/v)'lik metil alkol-% 0,1 HCl çözeltisi ilave edildikten sonra 1 saat çalkalayıcıda 350 rpm hızla çalkalanmıştır ve siyah bant süzgeç kâğıdından süzölmüştür. Kalıntıya 40 ml % 80 (v/v)'lik metil alkol-% 0,1 HCl ilave edilmiştir. 45 dakika çalkalayıcıda 350 rpm hızla çalkaladıktan sonra siyah bant süzgeç kâğıdından süzölmüştür. Kalıntıya tekrar 20 ml % 80 (v/v)'lik metil alkol-% 0,1 HCl ilave edilip ekstraksiyona devam edilmiştir. 15 dak çalkalayıcıda 350 rpm hızla çalkaladıktan sonra siyah bant süzgeç kâğıdından süzölmüştür. Her üç aşama da elde edilen süzöntüler whatman No. 1 filtre kâğıdı ve 0,45 µm polipropilen filtreden geçirilerek 150 ml'lik amber şişeye aktarılmış ve toplam hacim 100 ml'ye % 80 (v/v)'lik metil alkol-% 0,1 HCl çözeltisi ile tamamlanmıştır.

3. 6. 4. Ekstraksiyon verimlerinin hesaplanması

Ekstraksiyon verimi, fitokimyasal bileşenlerin ekstraksiyonu için çözücü ve yöntem verimliliğinin bir ölçüsüdür. Çalışmamız kapsamında *Cerasus* taksonlarının üç farklı yöntemle

ekstraksiyon verimliliği Zhang ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada bazı modifikasyonlar yapılarak hesaplanmıştır (Zhang ve diğ., 2007).

- 1 gr meyve örneği % 0,1 oranında HCl içeren % 80 metanol (toplam hacim=25 ml) karışımı kullanılarak parçalandı.
- Örnekler mikrodalga, ultrasonik ve geleneksel ekstraksiyona tabi tutuldu.
- Çözücü Miulab marka NKD-200/2 model azot altında uçurma sistemi ile uzaklaştırıldı (40°C, akış 1 ml/dk, süre 8 dk).
- Ekstrakt 1 saat -80 °C de bekletildikten sonra Christ marka Alpha 1-2LD model liyofilizatör ile -50 °C 0.05 mbar basınç altında 20 saat dondurarak kurutuldu ve numunenin tartımı alındı.

Ekstraksiyon verimi (%) = (dondurularak kurutulmuş ekstrenin ağırlığı x 100) / (orijinal numunenin ağırlığı)

3. 7. KULLANILAN ANALİZ YÖNTEMLERİ

Bu çalışmada TAC tayini için CERAC, CUPRAC ve ABTS/TEAC, toplam fenolik miktarını belirlemek için Modifiye Folin-Ciocalteu yöntemi, toplam flavonoid miktarlarının belirlenmesi için $AlCl_3$ kolorimetrik ve toplam antosiyanin miktarını belirlemek için ise pH fark ölçümleri yöntemleri kullanılmıştır.

3. 7. 1. Toplam Antioksidan Kapasiteleri (TAC)

3. 7. 1. 1. CERAC (seryum(IV) indirgeme antioksidan kapasitesi) yöntemi

CERAC yönteminin temelini, Ce(IV) ile antioksidanlar arasındaki redoks reaksiyonu oluşturmaktadır. Başlangıçtaki Ce(IV)'ün maksimum dalga boyundaki (320 nm) absorbans değeri, Ce(IV)'ün antioksidanlar ile reaksiyonu sonucu azalmaktadır. Ce(IV)'ün absorpsiyonundaki bu azalmadan yararlanarak toplam antioksidan miktarı hesaplanmıştır (Ozyurt ve diğ., 2007). CERAC yönteminde, $2,0 \times 10^{-4}$ M Ce(IV) çözeltisi üzerine antioksidan çözeltisi ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 30 dakika boyunca bekletilmiştir. Reaksiyon karışımının absorbansı 320 nm de saf suya karşı ölçülmüştür.

Prosedür;

1 ml 2×10^{-3} M $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ + x ml antioksidan çözeltisi + (9-x) ml H_2O olacak şekilde toplam hacim 10,0 ml'ye tamamlanır. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 320 nm de kör çözeltiye (saf suya) karşı absorbansları ölçülür (Ozyurt ve diğ, 2007).

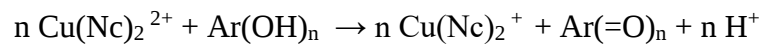
Hazırlanan ekstraktların mmol Troloks/g örnek eşdeğeri cinsinden TAC değerleri aşağıdaki eşitlik 1.1'den yararlanılarak hesaplandı.

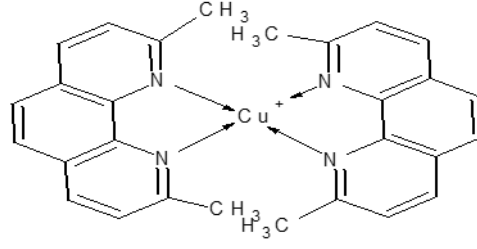
$$\text{TAC (mmol Troloks/g)} = (A_0 - A/\epsilon_{\text{Troloks}}) \times V_s / V_0 \times \text{SF} \times V_E / m \quad (1.1)$$

A_0	: Ce(IV) iyonlarının 320 nm deki başlangıç absorbansı
A	: Ölçülen absorbans
$\epsilon_{\text{Troloks}}$	: Troloksun molar absoprsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)
V_s	: Absorbansın ölçüldüğü son hacim (ml)
V_0	: Örnek hacmi (ml)
SF	: Seyreltme faktörü
V_E	: Ekstraktların veya infüzyonların hazırlandığı son hacim (ml)
m	: Örnek ağırlığı (g)

3. 7. 1. 2. CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasite) yöntemi

CUPRAC yöntemi, kromojenik bir oksidasyon aracı olan $\text{Cu}(\text{II})\text{-Nc}$ (bakır(II)-neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) reaktifinin antioksidanlar tarafından indirgenmesi sonucu oluşan $\text{Cu}(\text{I})\text{-Nc}$ (bakır(I)-neokuproin) kelatının 450 nm'de absorbansının ölçülmesi esasına dayanan spektrofotometrik antioksidan kapasite tayin yöntemidir (Apak ve diğ, 2004). CUPRAC yönteminde, $\text{Cu}(\text{II})$ klorür çözeltisi, neokuproin çözeltisi ve amonyum asetat ($\text{pH} = 7$ tamponu) çözeltilerinin karıştırılmasından sonra, çözeltinin üzerine antioksidan ilave edilir ve 30 dakika sonunda antioksidan bulunmayan referansa karşı 450 nm'de absorbans değerlerinin ölçülmesine dayanır.





CUPRAC: Bis(neocuproin)bakır(I) kelat katyonu

Şekil 9: Cu(I)-Nc kompleksinin (kelatının) kimyasal yapısı.

CUPRAC yönteminde oluşan mavi renkli Cu(II)-Nc kompleksi antioksidanlarla etkileşip sarı renkli Cu(I)-NC kompleksine indirgenmektedir (Apak ve diğ, 2004; Güçlü ve diğ, 2006).

Prosedür;

1,0 ml $1,0 \times 10^{-2}$ M CuCl_2 çözeltisi + 1,0 ml $7,5 \times 10^{-3}$ M neocuproin (Nc) çözeltisi + 1,0 ml 1,0 M NH_4Ac çözeltisi + x ml antioksidant çözeltisi + (1,1-x) ml H_2O olacak şekilde toplam hacmi 4,1 ml olan çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan çözeltiler 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 450 nm de kör çözeltiliye karşı absorbansları ölçüldü.

Hazırlanan ekstraktların mmol Troloks/g örnek eşdeğeri cinsinden TAC değerleri CUPRAC yöntemi için eşitlik 1.2'den yararlanılarak hesaplandı.

$$\text{TAC (mmol Troloks/g)} = (A/\epsilon_{\text{Troloks}}) \times V_s / V_0 \times \text{SF} \times V_E / m \quad (1.2)$$

A : Ölçülen absorbans

$\epsilon_{\text{Troloks}}$: Troloksun molar absoprsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)

V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (ml)

V_0 : Örnek hacmi (ml)

SF : Seyreltme faktörü

V_E : Ekstraktların veya infüzyonların hazırlandığı son hacim (ml)

m : Örnek ağırlığı (g)

3. 7. 1. 3. ABTS/TEAC Yöntemi

Seyreltilmiş ekstraktlardan 1 ml alındı ve 1 ml ABTS solüsyonu ile karıştırılarak toplam hacim 4 ml olacak şekilde metanol ile hazırlandı. Tüpler ağızları kapalı bir biçimde oda sıcaklığında 6 dakika bekletildikten sonra absorbansları 734 nm'de ölçüldü (Re ve diğ., 1999). Hazırlanan

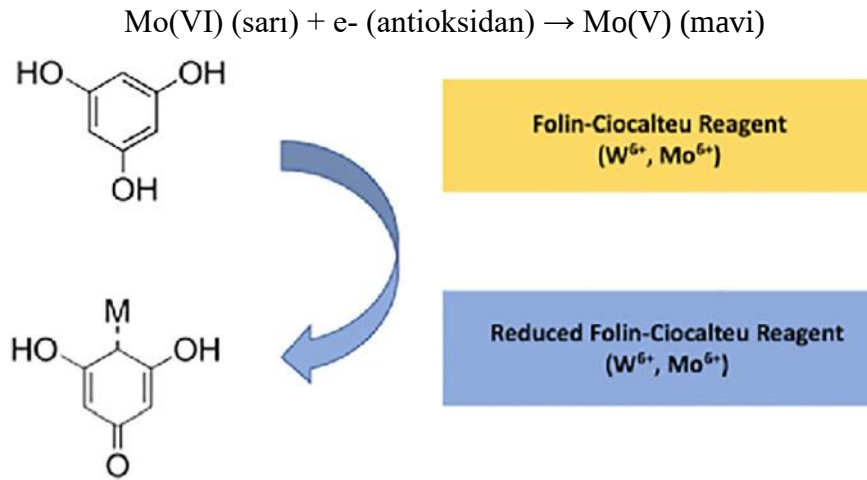
ekstraktların mmol Troloks/g örnek eşdeğeri cinsinden TAC değerleri ABTS yöntemi için ise eşitlik 1.3'den yararlanılarak hesaplandı.

$$\text{TAC (mmol Troloks/g)} = (A_0 - A/\epsilon_{\text{Troloks}}) \times V_s / V_0 \times \text{SF} \times V_E / m \quad (1.3)$$

- A_0 : ABTS radikalinin 734 nm deki başlangıç absorbansı
 A : Ölçülen absorbans
 $\epsilon_{\text{Troloks}}$: Troloksun molar absorpsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)
 V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (ml)
 V_0 : Örnek hacmi (ml)
 SF : Seyreltme faktörü
 V_E : Ekstraktların veya infüzyonların hazırlandığı son hacim (ml)
 m : Örnek ağırlığı (g)

3. 7. 2. Toplam Fenolik Miktar Tayini

Önceleri protein analizi için geliştirilen Folin-Ciocalteu yöntemi daha sonra toplam fenolik yapı tayininde kullanılmıştır (Folin ve Ciocalteu, 1927; Singleton ve diğ., 1999). Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR), molibdofosfotungstik heteropoliasittir ($3\text{H}_2\text{O} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 \cdot 13\text{WO}_3 \cdot 5\text{MoO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$). pH 10 ortamında FCR'nin yapısında bulunan Mo(VI)'ın fenolik yapılar varlığında Mo(V)'e indirgenmesiyle oluşan mavi renkli kompleksin absorbansının ölçülmesi esası üzerine dayanmaktadır (Şekil 10). Sonuçlar gallik asit eşdeğeri olarak (mg/L) ifade edilir.



Şekil 10: Mo(VI)'ın fenolik yapılar varlığında Mo(V)'e indirgenerek mavi renk vermesi durumu.

Folin-Ciocalteu (FC) yöntemi ile lipofilik antioksidanların ve askorbik asidin tayini yapılamamaktadır. Berker ve diğ.(2013) tarafından toplam fenolik (lipofilik ve hidrofilik antioksidanlar) tayinini yapacak şekilde modifiye edilmiştir. Modifiye Folin-Ciocalteu yönteminde FCR, iso-butil alkol ile 1:2 (v/v) oranında seyreltilerek çalışılmıştır. Alkali ortamda çalışılan bu yöntemde (pH 10) orjinal folin yöntemine göre daha kısa sürede (20 dakika) analizler yapılabilmektedir.

Prosedür;

0,3 ml folin reaktifi + x ml antioksidan çözeltisi + 3,0 ml 0,1 M NaOH çözeltisi (6,7-x) ml H₂O olacak şekilde toplam hacim 10,0 ml olan çözeltiler hazırlanıp oda sıcaklığında 20 dakika bekletildikten sonra 665 nm de kör çözeltiliye karşı absorbansları ölçülür (Berker ve diğ., 2013). Hazırlanan ekstraktların mmol gallik asit/g örnek eşdeğeri cinsinden toplam fenolik miktarı, modifiye Folin-Ciocalteu yöntemi için aşağıdaki eşitlik 1.4'den yararlanılarak hesaplandı.

$$\text{Toplam Fenolik miktarı (mmol Gallik Asit/g)} : (A/\epsilon_{\text{Gallik Asit}}) \times V_s / V_0 \times SF \times V_E / m \quad (1.4)$$

A : Ölçülen absorbans

$\epsilon_{\text{Gallik Asit}}$: Gallik asidin molar absorpsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)

V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (ml)

V_0 : Örnek hacmi (ml)

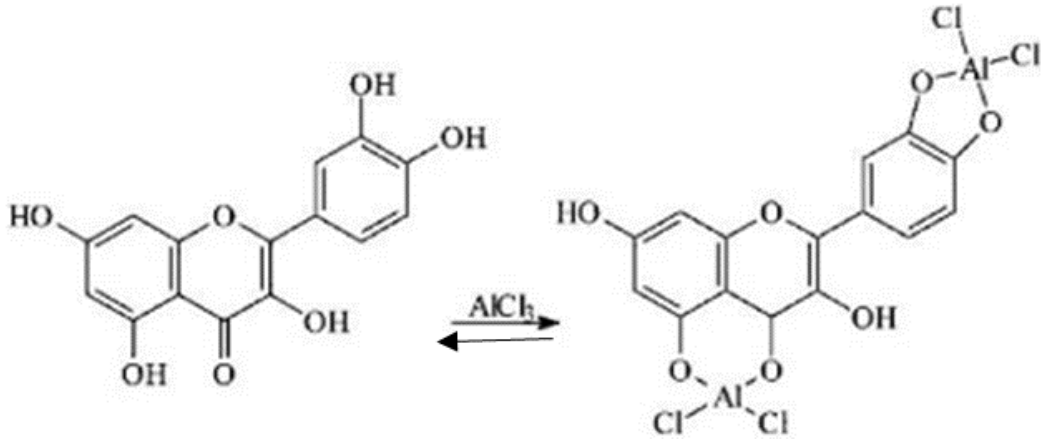
SF : Seyreltme faktörü

V_E : Ekstraktların hazırlandığı son hacim (ml)

m : Örnek ağırlığı (g)

3. 7. 3. Toplam Flavonoid Miktarı

Alüminyum klorür kolorimetrik metodun prensibi, alüminyum klorürün flavonların ve flavonollerin C-4 keto grubu ve C-3 veya C-5 hidroksil grubu ile asit kararlı kompleksler oluşturmasıdır (Şekil 11). C-3 ve C-5 hidroksil gruplarına sahip flavonollerin yanı sıra orto-dihidroksil grupları olan flavonoidler de asit kararlı kompleksler oluşturur ve bu komplekslerin maksimum dalga boyu 415- 440 nm olarak verilmiştir (Chang ve diğ., 2002).



Şekil 11: Flavonoidlerin AlCl_3 ile asidik ortamdaki reaksiyonu (Mabry ve arkadaşları, 1970).

Prosedür;

x ml antioksidan çözeltisi + (4-x) ml ultra saf su + 0,3 ml % 5'lik NaNO_2 karışımı 5 dakika oda sıcaklığında bekletilerek 0,6 ml %10'luk AlCl_3 çözeltisi eklenmiş ve 6 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra 1 ml 1 M NaOH çözeltisi ve 3,1 ml distile su eklenerek toplam hacim 10 ml'ye ayarlanarak 10 dakika sonra 510 nm de kör çözeltiye karşı absorbensları ölçülmüştür (Chang ve diğ., 2002).

Hazırlanan ekstraktların mmol kateşin/g örnek eşdeğeri cinsinden toplam flavonoid miktarı AlCl_3 kolorimetrik yöntemi için eşitlik 1.5'den yararlanılarak hesaplandı.

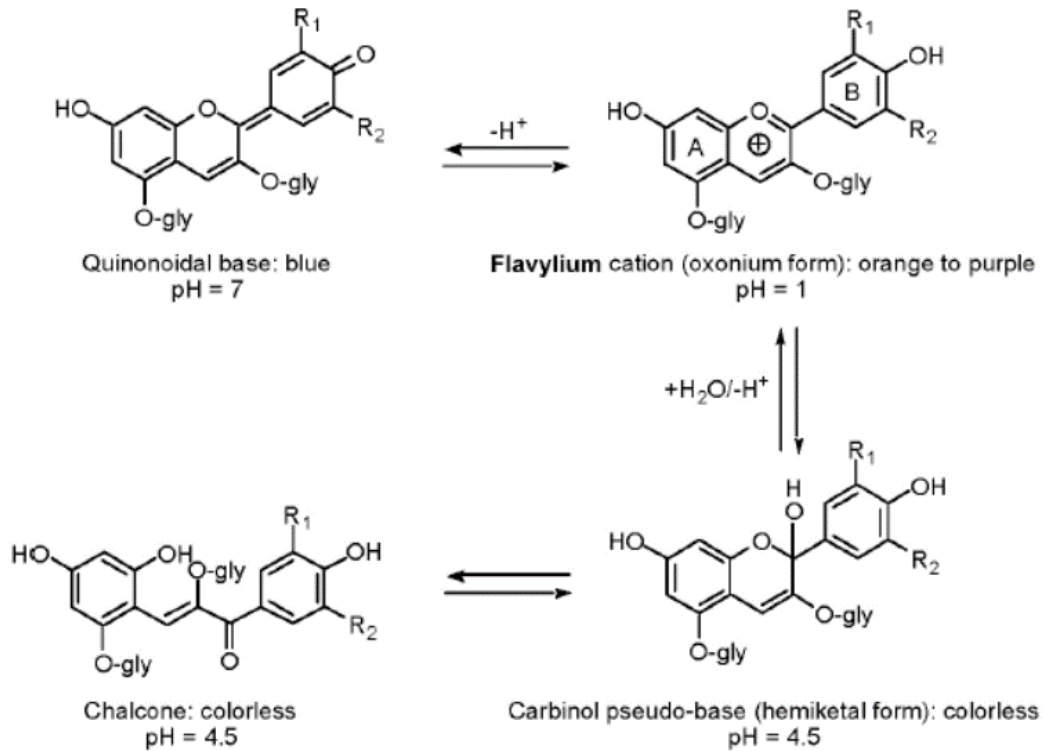
$$\text{Toplam Flavonoid Miktarı (mmol Kateşin/g)} = (A/\epsilon_{\text{Kateşin}}) \times V_s / V_0 \times \text{SF} \times V_E / m \quad (1.5)$$

- A : Ölçülen absorbens
 $\epsilon_{\text{Kateşin}}$: Kateşin molar absoprsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)
 V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (ml)
 V_0 : Örnek hacmi (ml)
 SF : Seyreltme faktörü
 V_E : Ekstraktların hazırlandığı son hacim (ml)
 m : Örnek ağırlığı (g)

3. 7. 4. Toplam Antosiyanin Miktarı

Antosiyanin pigmentleri gıdaların görünümüne ve renklerine katkılarından dolayı gıda kalitesi açısından önemlidirler. Antosiyaninlerin sağlığa katkılarından dolayı gıdaların antosiyanin içeriklerine ilgi artmaktadır. Ayrıca, antosiyanin pigment içeriği kalite kontrollünde yararlı bir kriter olabilir. Antosiyaninler, meyve, sebze ve tahıllarda kırmızı, mor ve mavi tonlardan sorumludur. Altı yaygın olarak bilinen antosiyanidin (pelargonidin, syanidin, peonidin, vb.) vardır.

Antosiyaninler, pH'a bağlı olarak (pH 1.0'da renkli oksonyum formu ve pH 4.5'te renksiz hemiketal formu; Şekil 12) tersinir bir yapısal dönüşüme uğrarlar. Pigmentin pH 1 ve pH 4.5 daki 520 ve 700 nm dalga boylarındaki absorbansları ölçülür. 520 nm de her iki pH'da ölçülen absorbanslar arasındaki fark pigment konsantrasyonu ile orantılıdır. Polimerize olmuş bozulmuş pigmentlerin ve diğer interfere bileşiklerin varlığında dahi toplam antosiyaninlerin doğru ve hızlı ölçümüne izin verir. (Lee ve diğ., 2005).



Şekil 12: Farklı pH'lar daki antosiyaninlerin yapısal değişimi (Lee ve diğ., 2005).

Prosedür;

x ml antioksidan çözeltisi + 4x ml pH 4,5 tamponu + (10-5x) ml ultra saf su eklenerek toplam hacim 10 ml'ye olan çözeltiler hazırlanıp oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 520 nm ve 700 nm de kör çözeltiye karşı absorbansları ölçülür (Giusti and Wrolstad, 2001).

Hazırlanan ekstraktların mg Siyanidin 3- sophoroside klorür (Syd-3-sop) /g örnek eşdeğeri cinsinden toplam antosiyanin içeriği pH Fark Ölçümleri Yöntemi için eşitlik 1.6'dan yararlanılarak hesaplandı.

$$\text{Toplam Antosiyanin Miktarı (mg Syd-3-sop/g)} = (A/(\epsilon_{\text{Siyanidin}} \times L)) \times M_A \times V_s / V_0 \times SF \times V_E / m \quad (1.6)$$

- A : $(A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})$ pH 1 – $(A_{520 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})$ pH 4,5
 $\epsilon_{\text{Syd-3-sop}}$: Siyanidin-3-sophoroside klorür molar absorpsiyon katsayısı ($\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$)
 L : Işık yolu (0,6 cm)
 M_A : Molekül Ağırlığı 646,98 g/mol
 SF : Seyreltme faktörü
 V_s : Absorbansın ölçüldüğü son hacim (ml)
 V_0 : Örnek hacmi (ml)
 SF : Seyreltme faktörü
 V_E : Ekstraktların hazırlandığı son hacim (ml)
 m : Örnek ağırlığı (g)

3. 8. KİRAZ ÖRNEKLERİN HPLC-MS İLE KANTİTATİF ANALİZİ

3. 8. 1. Örneklerin Ekstraksiyonu

5 gram meyve örneği tartılarak 5 ml %80 metil-alkol eklendi ve Kudos marka SK3310HP model ultrasonik su banyosunda 53 kHz frekans ve 160 watt parametreleri ile 30 dakika 40 °C'de tutuldu. Karışım +4 °C'de 10.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildikten sonra supernatantı alındı, kalan süzüntüye 5 ml %80 metanol eklenerek tekrar ultrasonik su banyosuna koyularak 30 dakika 40 °C'de ekstrakte edildi. Karışım +4°C'de 10.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek süpernatantı alındı. Birleştirilen süpernatantlar 0,22 µm membran filtresinden geçirildikten sonra 10 ml'ye %80 metanol ile tamamlanarak analize kadar -20 °C'de bekletildi.

3. 8. 2. Cihaz parametreleri

LC (Sıvı kromatografisi), Agilent 6460 sıvı kromatografisi sistemi kullanılmıştır. Kromatografik ayırım 150x3 mm boyutunda, 3,5 µM partikül genişliğine sahip kolonda, 35°C ortam ısısında ve dakikada 0,7 ml akış oranına ayarlanmış mobil fazda gerçekleştirilmiştir. Mobil faz içeriği, A çözücüsünde su içerisinde 5 mM oranında amonyum asetat solüsyonu, B çözücüsünde ise %50 metanol içerisinde %0,1 asetik asit olacak şekilde hazırlanmıştır. Sistem ilk olarak 0,7 dakika %96 oranında A çözücüsü kullanılarak başlatılmıştır. A çözücüsü oranı K kademeli olarak indirilerek 2,3'üncü dakika %2 oranına indirilmiştir. Bu oran 2,7 dakika sabit bırakılmış, 7'inci dakikada ise %0'a indirilmiştir. 7,10 dakika sonra sistem başlangıçtaki oranlara geri döndürülmüştür. Analizden önce bitki örnekleri oto örnekleyicide 4°C sıcaklıkta olması sağlanmıştır. Örnekler 10 µL hacminde kolona enjekte edilmiştir.

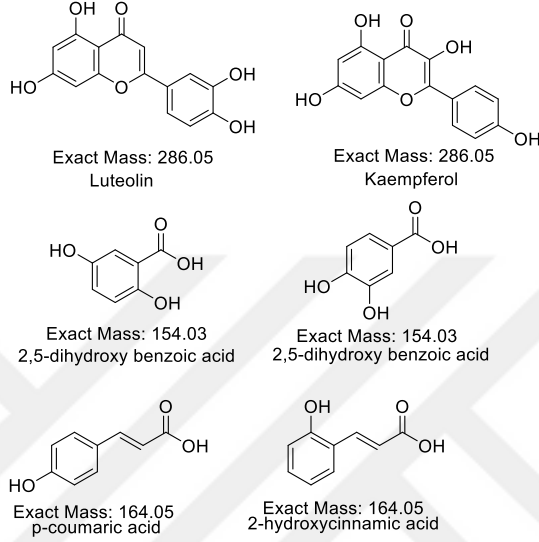
MS (Kütle spektrofotometresi) analizleri, elektrosprey iyonizasyon arayüzü ile donatılmış Agilent 6460 LC-MS üçlü dördü kütle spektrometresi üzerinde gerçekleştirildi. Elektrosprey iyonizasyonu negatif iyonizasyon modunda, kütle spektrofotometresi ise 500 milisaniye devir zamanında kullanılmıştır. Çalışılan birleşimin optimal iyon yolu ve iyon kaynak parametrelerini belirlemek için HPLC Agilent 1260 kullanılarak standartları doğrudan enjeksiyonu ile kantitatif optimizasyonu yapıldı. Her bir çözelti için baskın ürün iyonunun çoklu reaksiyon izleme modu, optimum koşullar altında yapıldı. İyon kaynağı parametreleri şu şekildedir, gaz sıcaklığı 300°C, gaz akış hızı 10L/dakika-40psi, kılcal damar: 3500V. Dinamik MRM modu, iyon çiftlerinin ve sıvı kromatografi alıkonma sürelerinin standartlarla karşılaştırılmasını ve örneklerde analitin tanımlanmasını onaylamak için kullanılmıştır. Veri toplama ve işleme, Agilent LC-MS yazılımı olan MassHunter kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3. 7. 6. 3. Kalibrasyon eğrileri ve kantitasyon limitleri

Numunelerdeki fenolik asit konsantrasyonları, aynı gün hazırlanan ve aynı analitik çalışmada analiz edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm kalibrasyon eğrileri konsantrasyonun ardından hazırlandı: boş, 5, 10, 25, 50, 100 ng / ml ve tüm noktalara 3 kez enjekte edildi. Bütün fenolik asitler doğrusallığı $R^2 \geq 0,995$ 'tir. Bu numuneler, numune hazırlama için tarif edilen prosedüre göre analiz edildi.

3. 7. 6. 4. Metot spesifikasyonu

Bu analiz yönteminin bazı önemli noktaları vardır. Tüm fenolik asitler 1 ng/ml'ye kadar duyarlılık analiz edildi ve izomer asitlerin bazıları kromatografi koşullarında ayırdı. Bu yöntemde altı izomer ayırdı, kalifiye edildi ve nicelleştirildi (Şekil 13).



Şekil 13: İzomerik fenolik asitler.

Her bir analitik standart için ayrı kalibrasyon eğrisi çizilmiş, örnek içinde metabolitlerin miktarına göre kalibrasyon aralıkları genişletilmiştir.

3. 9. İSTATİKSEL ANALİZLER

Tüm analizler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir ve veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak girilmiştir. Gruplar (geleneksel ekstraksiyon, ultrasonik ekstraksiyon, mikrodalga ekstraksiyonu) arasındaki farkları doğrulamak için, Student t-testi ve Mann-Whitney U testi bağımsız örnekler (CP47, CP54 ...) için yapıldı. Örnekler üç farklı ekstraksiyon tipi ve kendi içinde karşılaştırması yapılarak Brown-Forsythe testi ile varyansların homojenliği doğrulandıktan sonra tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. İstatiksel analizler Graphpad Prism 8.0 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4. 1. MOLEKÜLER ANALİZLER

Bu çalışma kapsamında, DNA izolasyonu, PZR ile gen bölgelerinin çoğaltılması ve diziler belirlenerek kullanılan 4 gen bölgesi (ITS, matK, ycf1, trnL-F) dizileri ile haplotip analizi ve filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir.

4. 2. HAPLOTİP ANALİZİ SONUÇLARI

Bu çalışmada, DNA dizi analizleri sayesinde SNP'lerin (Single Nucleotide Polymorphism=Tek Nükleotid Polimorfizmi) belirlenerek haplotip analizleri yapılmıştır, Haplotip analizi popülasyonlar arası ve popülasyonlar içi genetik uzaklıkların hesaplanması ve filogenetik ilişkilerin belirlenmesi için kullanılmaktadır. 65 bireyle yapılan haplotip analizi sonucunda 11 farklı haplotip tespit edilmiştir (Tablo 8).

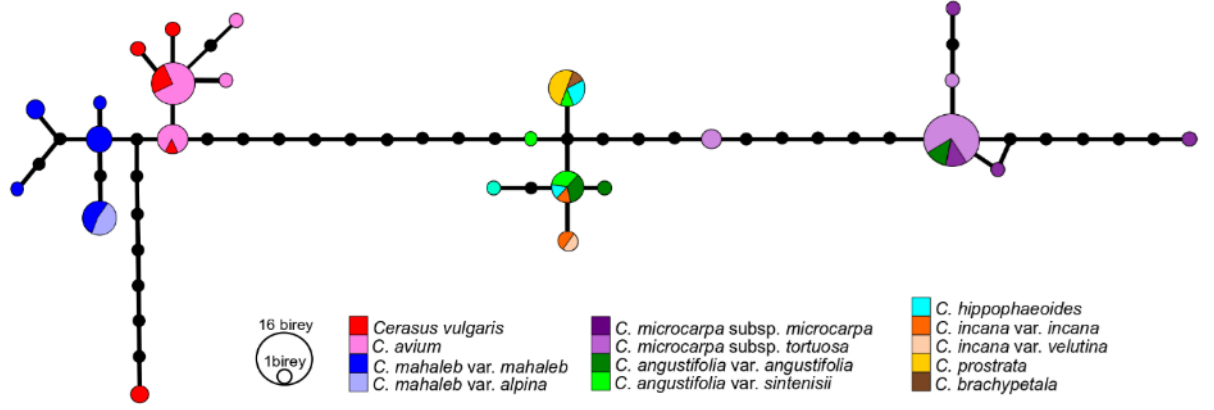
Tablo 8: Haplotiplerin karşılık geldiği örnek numaraları.

Haplotip 1	CP109	<i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>
	CP116	<i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>
	CP117	<i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>
	CP130	<i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>
Haplotip 2	CP58	<i>C. avium</i>
	CP59	<i>C. avium</i>
	CP62	<i>C. avium</i>
	CP66	<i>C. avium</i>
	CP194	<i>C. avium</i>
Haplotip 3	CP71	<i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>
	CP75	<i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>
Haplotip 4	CP57	<i>C. avium</i>
	CP63	<i>C. avium</i>
	CP67	<i>C. avium</i>
	CP68	<i>C. vulgaris</i>
	CP112	<i>C. avium</i>
	CP168	<i>C. avium</i>
	CP187	<i>C. vulgaris</i>
	CP188	<i>C. vulgaris</i>
	CP192	<i>C. avium</i>
	CP193	<i>C. avium</i>
	CP195	<i>C. avium</i>
Haplotip 5	CP72	<i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>
	CP74	<i>C. mahaleb</i> var. <i>alpina</i>
	CP78	<i>C. mahaleb</i> var. <i>alpina</i>
	CP80	<i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>
	CP88	<i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>
	CP89	<i>C. mahaleb</i> var. <i>alpina</i>
	CP141	<i>C. mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>
Haplotip 6	CP189	<i>C. vulgaris</i>
	CP196	<i>C. vulgaris</i>

Tablo 8'in devamı

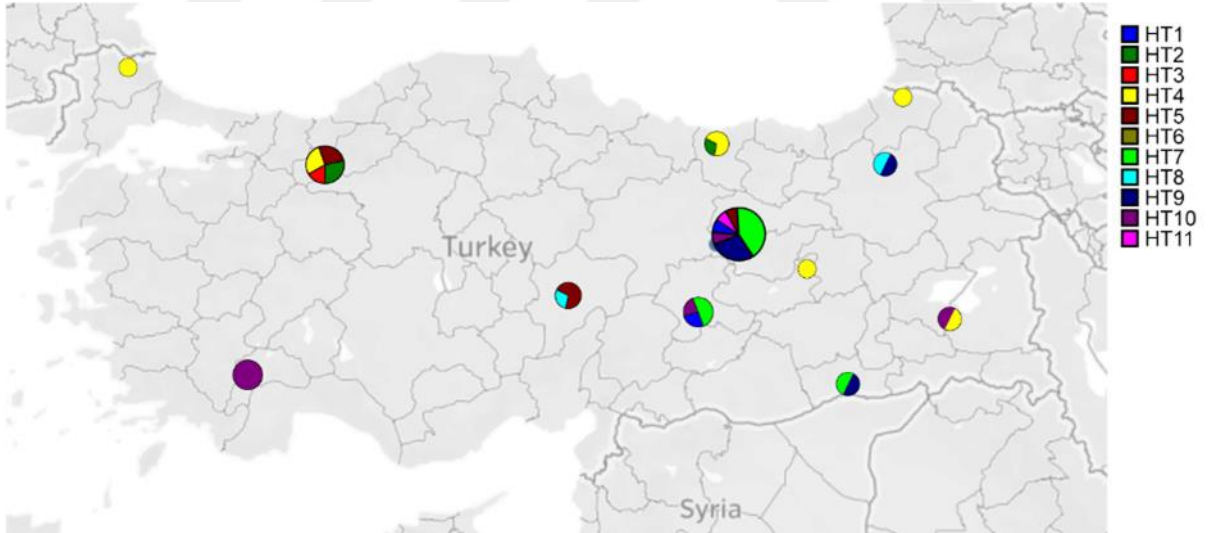
Haplotip 7	CP91	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>microcarpa</i>
	CP97	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
	CP98	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
	CP99	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
	CP113	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
	CP115	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>microcarpa</i>
	CP118	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
	CP119	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>microcarpa</i>
	CP127	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
	CP128	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
	CP131	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
	CP136	<i>C. angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>
	CP138	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
	CP140	<i>C. angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>
	CP143	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
	CP144	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
Haplotip 8	CP181	<i>C. incana</i> var. <i>velutina</i>
	CP185	<i>C. incana</i> var. <i>incana</i>
Haplotip 9	CP92	<i>C. hippophaeoides</i>
	CP101	<i>C. angustifolia</i> var. <i>sintensisii</i>
	CP103	<i>C. angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>
	CP104	<i>C. incana</i> var. <i>incana</i>
	CP139	<i>C. angustifolia</i> var. <i>sintensisii</i>
	CP142	<i>C. angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>
Haplotip 10	CP84	<i>C. prostrata</i> var. <i>prostrata</i>
	CP85	<i>C. prostrata</i> var. <i>prostrata</i>
	CP90	<i>C. hippophaeoides</i>
	CP110	<i>C. angustifolia</i> var. <i>sintensisii</i>
	CP111	<i>C. prostrata</i> var. <i>prostrata</i>
	CP129	<i>C. hippophaeoides</i>
	CP148	<i>C. prostrata</i> var. <i>glabrifolia</i>
	CP164	<i>C. brachypetala</i>
Haplotip 11	CP94	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>
	CP145	<i>C. microcarpa</i> subsp. <i>tortuosa</i>

Tek bir taksonda en fazla 3 farklı haplotip (*C. mahaleb* var. *mahaleb* ve *C. vulgaris*) ve aynı haplotipi paylaşan en fazla 5 takson (*C. prostrata* var. *prostrata*, *C. hippophaeoides*, *C. angustifolia* var. *sintensisii*, *C. prostrata* var. *glabrifolia*, *C. brachypetala*) bulunmuştur (Şekil 14).



Şekil 14: Haplotype haritası.

Tespit edilen haplotipler coğrafi olarak incelendiğinde genel olarak tüm haplotiplerin tüm Türkiye’de yayılış gösterdiği, ancak belli bazı haplotiplerin belirli bazı bölgelerle sınırlı kaldığı görülebilir. Özellikle en fazla haplotip çeşitliliği Anadolu diyagonalı üzerinde gözlenmektedir (Şekil 15).

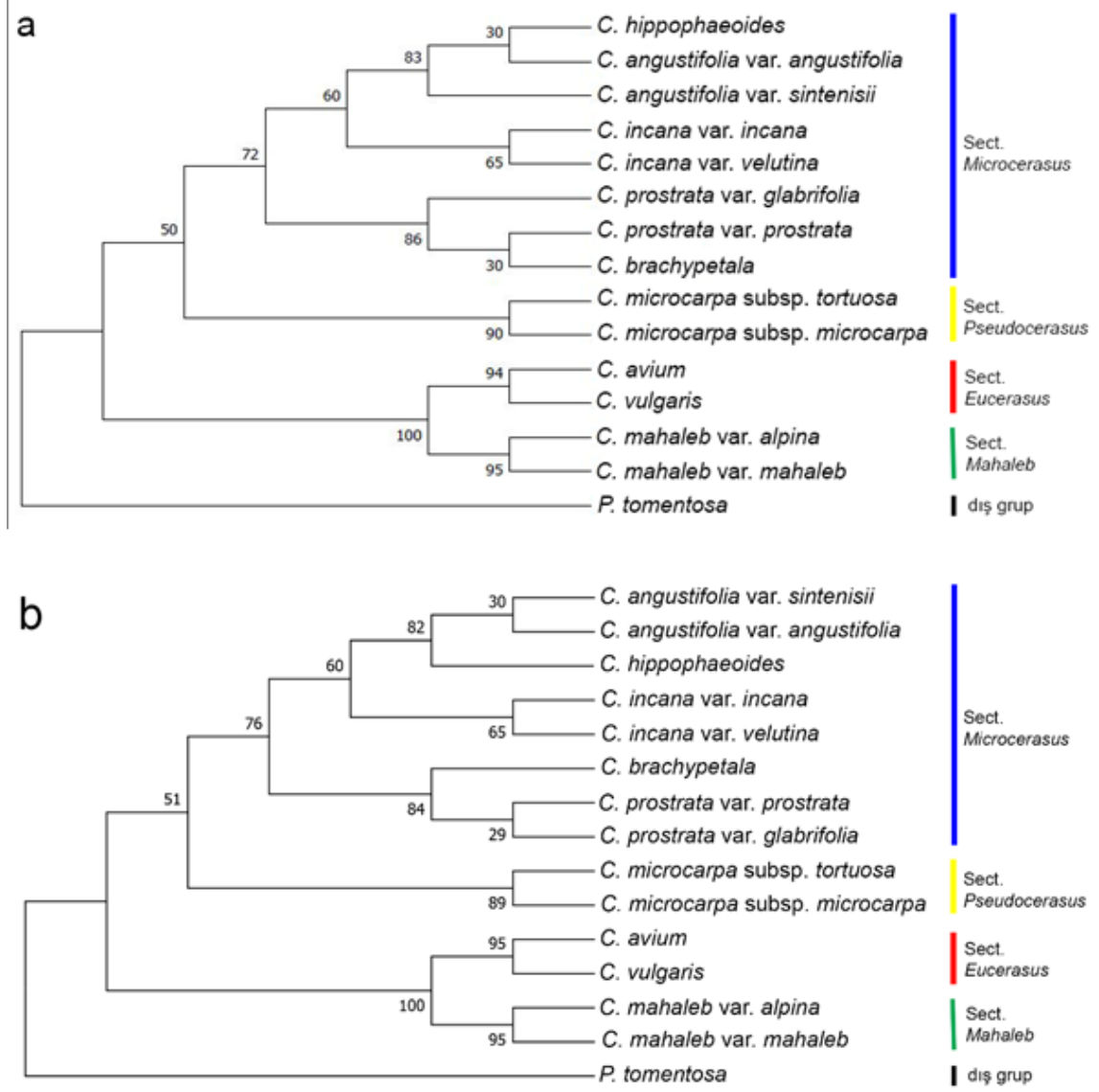


Şekil 15: Farklı haplotiplerin coğrafi olarak yayılışı ve yoğunluğu haritası. Haplotiplerin içerdiği örnekler için Tablo 8 incelenebilir.

4. 3. FİLOGENETİK ANALİZ SONUÇLARI

Filogenetik ağaç; takson ve türler arasındaki dallanma olaylarının nasıl, bazı durumlarda ise ne zaman gerçekleştiğini modeller. Taksonların birbirine akrabalık derecelerini gösterir.

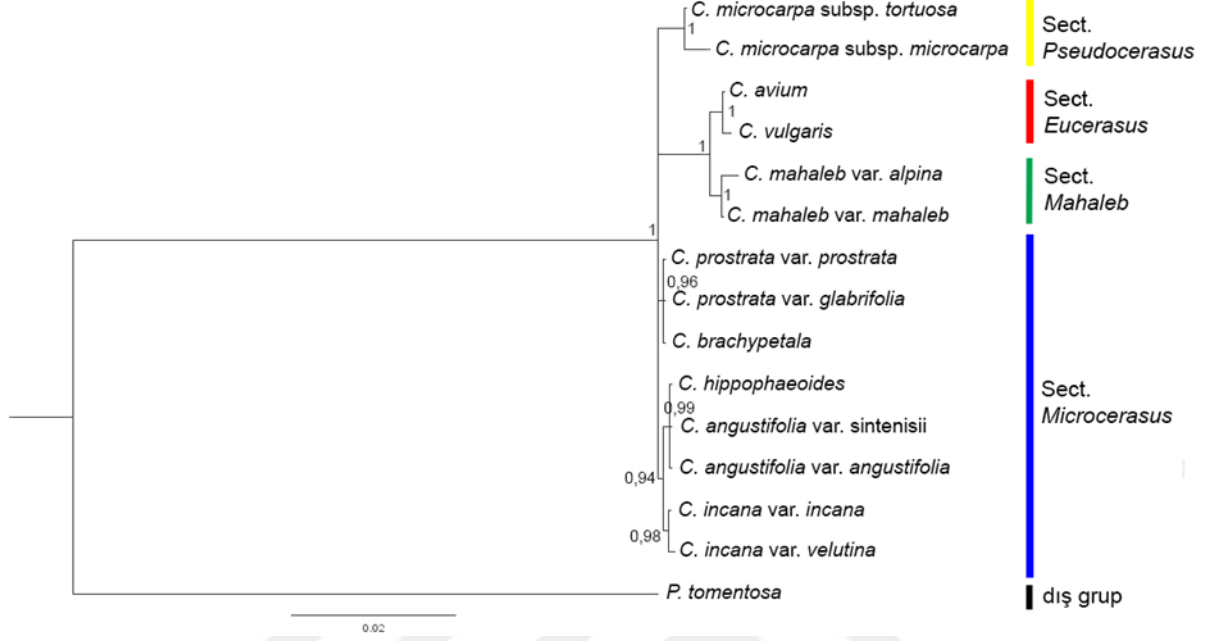
Kloroplast verisi ile gerçekleştirilen analizler sonucunda oluşturulmuş olan Neighbor Joining ve Bayesian Inference filogenetik ağaçları sırasıyla Şekil 16’da verilmiştir.



Şekil 16: Kloroplast verisinden (trnL-F, matK, ycf1) elde edilmiş Neighbor Joining (a) ve Maximum Likelihood (b) filogenetik ağacı. Bootstrap değerleri nodlarda yüzde cinsinden ifade edilmiştir. Seksiyonlar Rehner’e (1940) göre düzenlenmiştir.

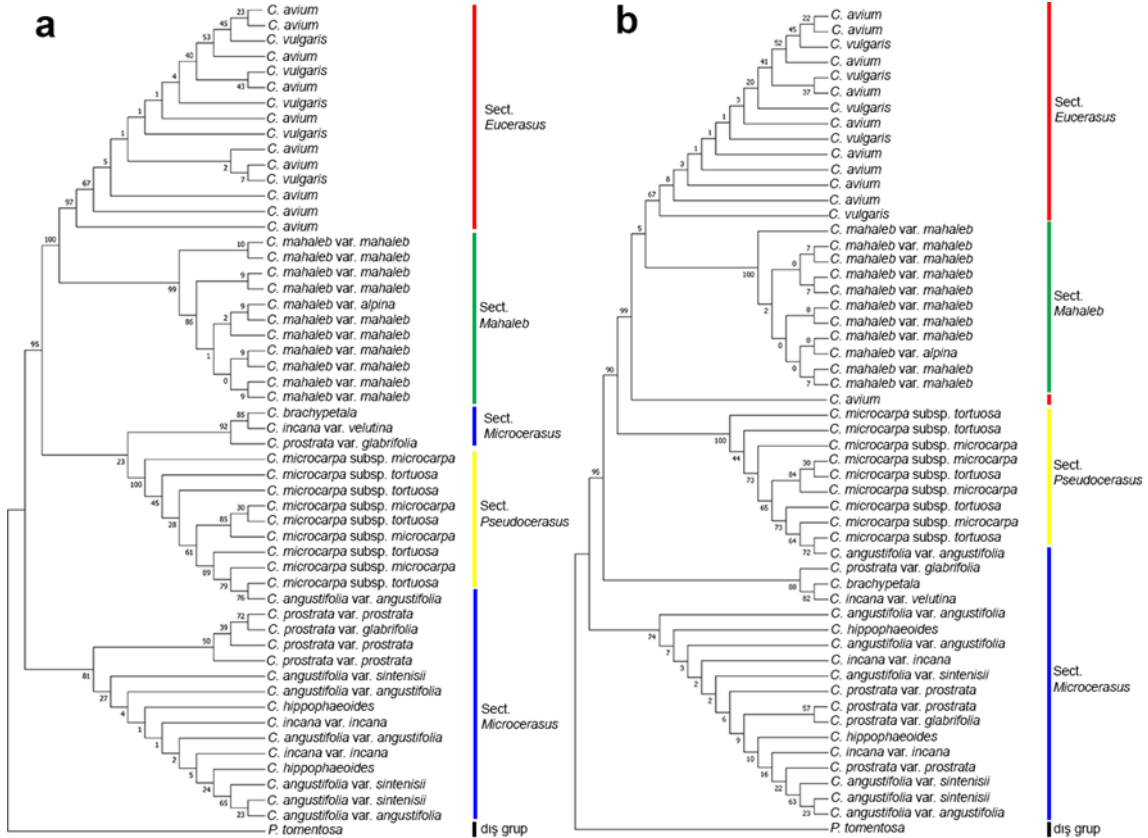
Kloroplast analizi sonucu elde edilen diziler, tamamlayıcı dizileri ile “DNA Baser v3.5” programı kullanılarak birleştirildi ve karşılaştırıldı. Birleştirilmiş diziler kromatogram görüntüleri ile birlikte incelendi ve kontrolü yapıldı. Kontrolü yapılmış diziler “MEGA”

programı dahilinde ClustalW kullanılarak hizalanmış, türler arasındaki baz farklılıkları tespit edilmiştir.

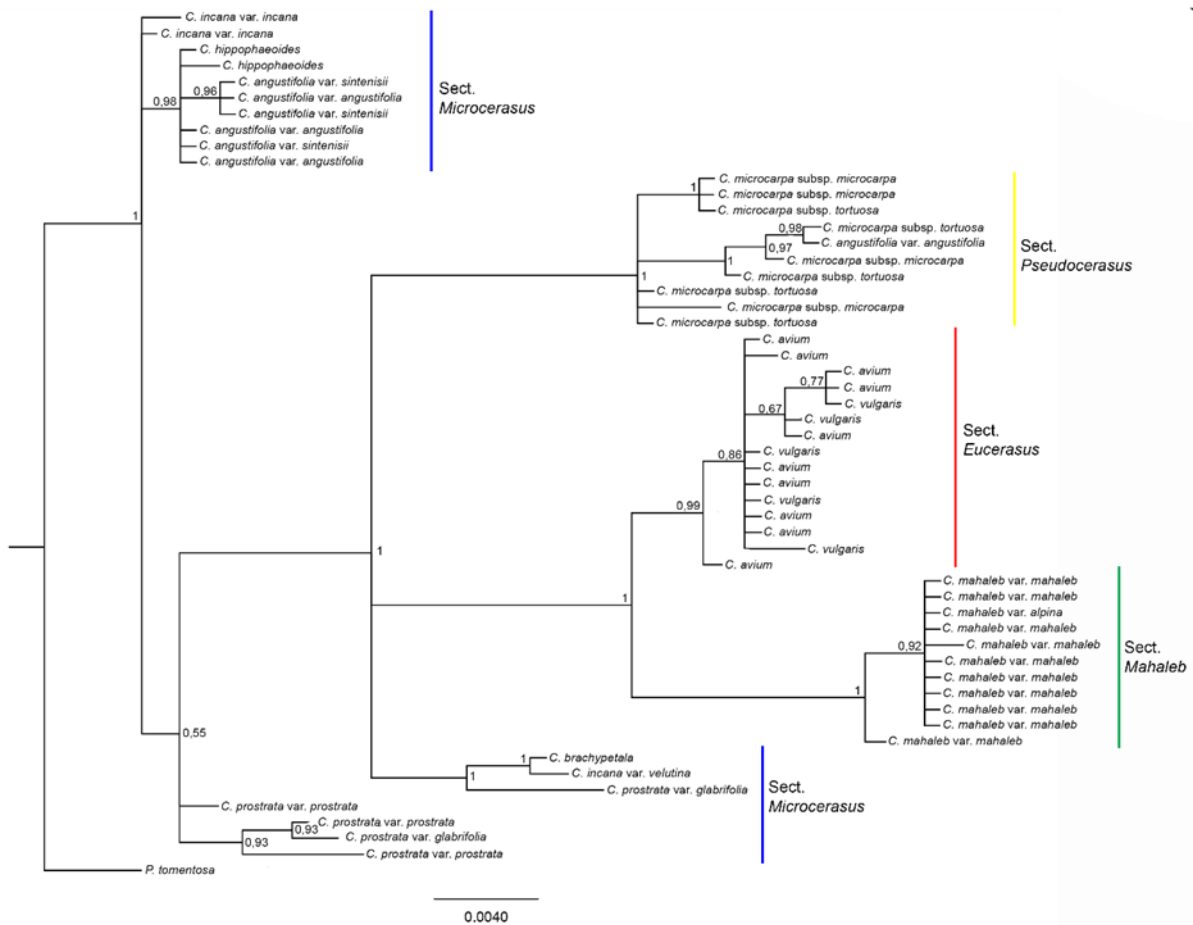


Şekil 17: Kloroplast verisinden elde edilmiş Bayesian Inference filogenetik ağacı. Probability değerleri nodlarda verilmiştir.

MEGA programı ile dizi analizinden elde edilen veriler kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Ağaçların oluşturulmasında, 100 bootstrap değeri seçilerek Maksimum Parsimoni ve Neighbour Joining metodları kullanılmıştır. ITS verisi ile gerçekleştirilen analizler sonucunda oluşturulmuş olan Neighbor Joining ve Bayesian Inference filogenetik ağaçları sırasıyla Şekil 18 ve Şekil 19’da verilmiştir.



Şekil 18: ITS verisinden elde edilmiş Maksimum Likelihood (a) ve Neighbor Joining (b) filogenetik ağaçları. Bootstrap değerleri nodlarda yüzde cinsinden ifade edilmiştir.

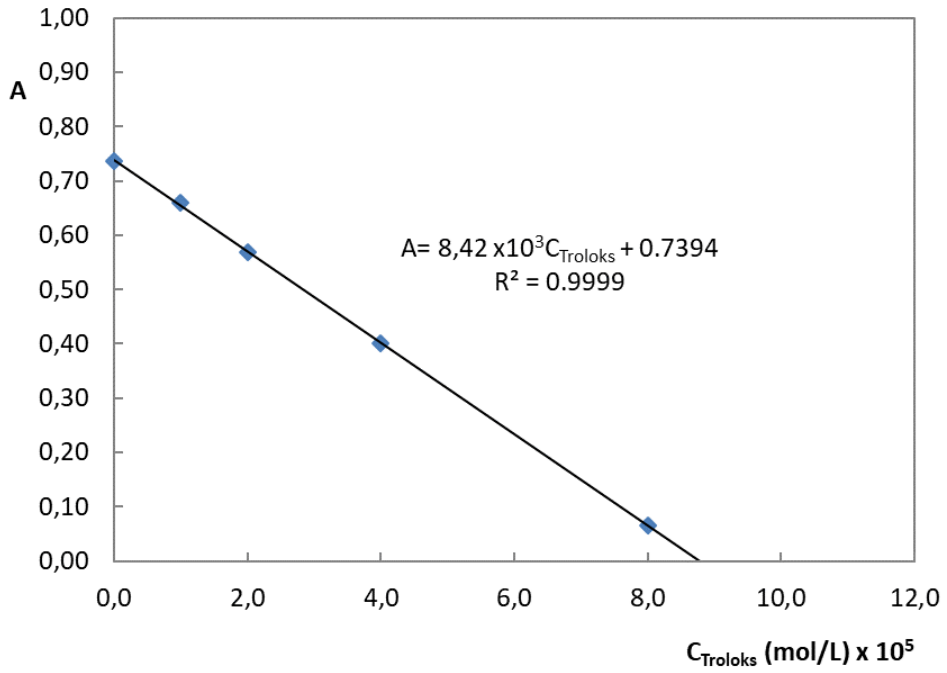


Şekil 19: ITS verisinden elde edilen dizilemeden Bayesian analizi ile çizilmiş filogenetik ağaç. Probability değerleri nodlarda ifade edilmiştir.

4. 4. FİTOKİMYASAL BULGULAR

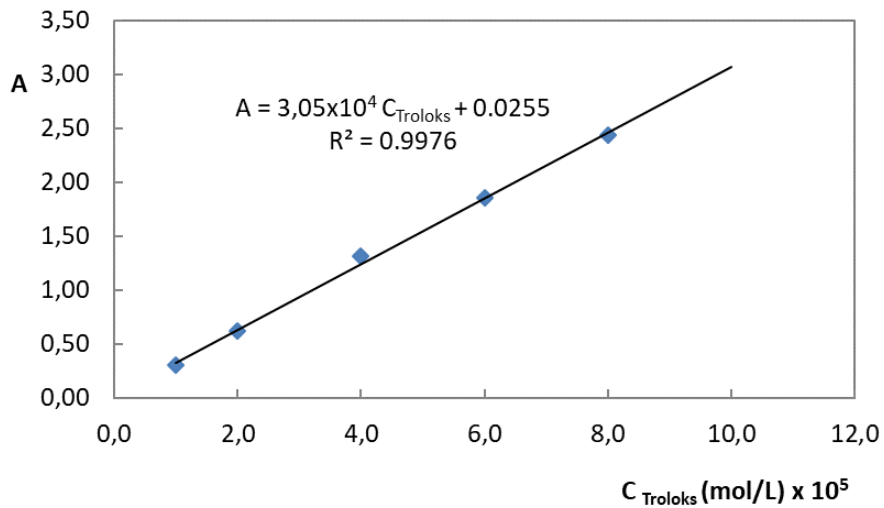
4. 4. 1. Spektrofotometrik Deneylerin Kalibrasyon Grafikleri

CERAC yöntemi için anlatılan prosedüre uygun olarak $1,0 \times 10^{-5} - 1,0 \times 10^{-4}$ M arasında değişen derişimlerdeki troloks çözeltileri ile kalibrasyon grafiğı çizildi (Şekil 20). Troloks için molar absorpsiyon katsayısı $8,42 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ bulundu.



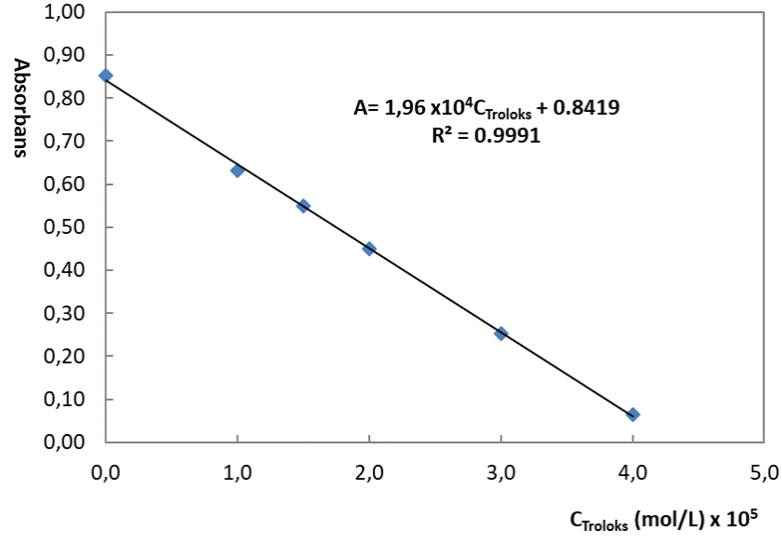
Şekil 20: CERAC yöntemi için kalibrasyon grafiği ($\lambda_{\text{mak}}=320$ nm).

CUPRAC yöntemi için anlatılan prosedüre uygun olarak $1,0 \times 10^{-5}$ - $1,0 \times 10^{-4}$ M arasında değişen derişimlerdeki troloks çözeltileri ile kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 21). Troloks için molar absorpsiyon katsayısı $3,05 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ bulunmuştur.



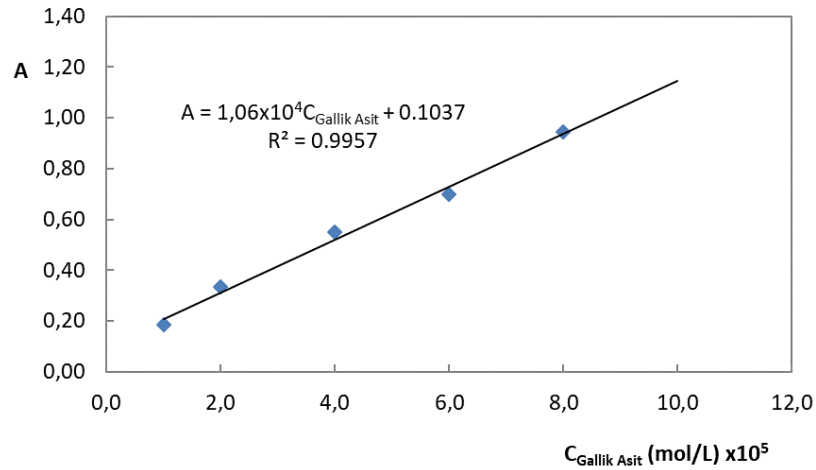
Şekil 21: CUPRAC yöntemi için kalibrasyon grafiği ($\lambda_{\text{mak}}=450$ nm).

ABTS/TEAC yöntemi için anlatılan prosedüre uygun olarak $1,0 \times 10^{-5} - 4,0 \times 10^{-5}$ M arasında değişen derişimlerdeki troloks çözeltileri ile kalibrasyon grafiğı çizildi (Şekil 22). Troloks için molar absorpsiyon katsayısı $8,42 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ bulundu.



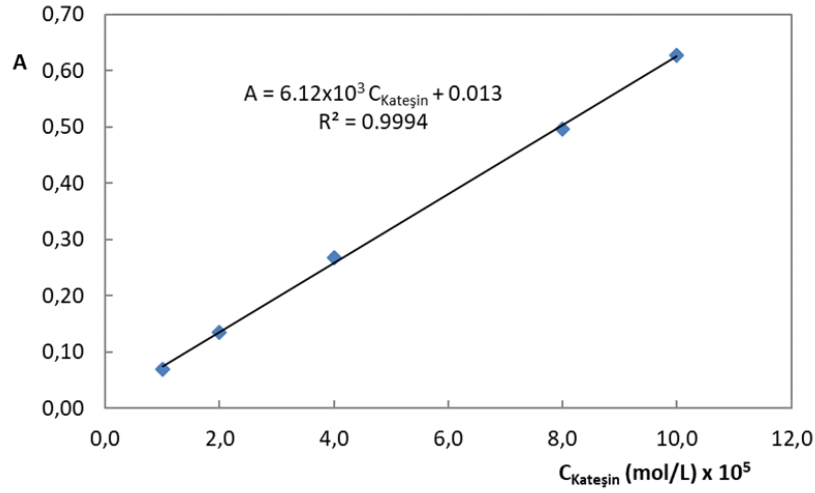
Şekil 22: ABTS/TEAC yöntemi için kalibrasyon grafiğı ($\lambda_{\text{mak}}=734 \text{ nm}$).

Modifiye Folin-Ciocalteu yöntemi için anlatılan prosedüre uygun olarak $1,0 \times 10^{-5} - 1,0 \times 10^{-4}$ M arasında değişen derişimlerdeki gallik asit çözeltileri ile kalibrasyon grafiğı çizildi. (Şekil 23). Gallik asitin molar absorpsiyon katsayısı $1,06 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ bulundu.



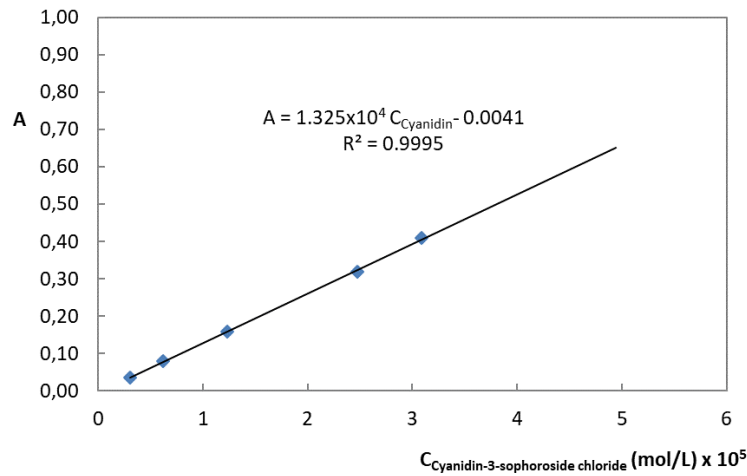
Şekil 23: Modifiye Folin-Ciocalteu yöntemi için kalibrasyon grafiğı ($\lambda_{\text{mak}}=665 \text{ nm}$).

AlCl_3 kolorimetrik yöntemi için anlatılan prosedüre uygun olarak $1,0 \times 10^{-5}$ – $1,0 \times 10^{-4}$ M arasında değişen derişimlerdeki kateşin çözeltileri ile kalibrasyon grafiğı çizildi. (Şekil 24). kateşinin molar absorpsiyon katsayısı $6,12 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ bulundu.



Şekil 24: AlCl_3 klorometrik yöntemi için kalibrasyon grafiğı ($\lambda_{\text{mak}}=510 \text{ nm}$).

pH diferansiyel spektrofotometrik yöntemi için anlatılan prosedüre uygun olarak $1,0 \times 10^{-5}$ – 1×10^{-4} M arasında değişen derişimlerdeki siyanidin-3-sophoroside çözeltileri ile kalibrasyon grafiğı çizildi. (Şekil 25). Siyanidin-3-sophoroside'in molar absorpsiyon katsayısı $1,32 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ bulundu.

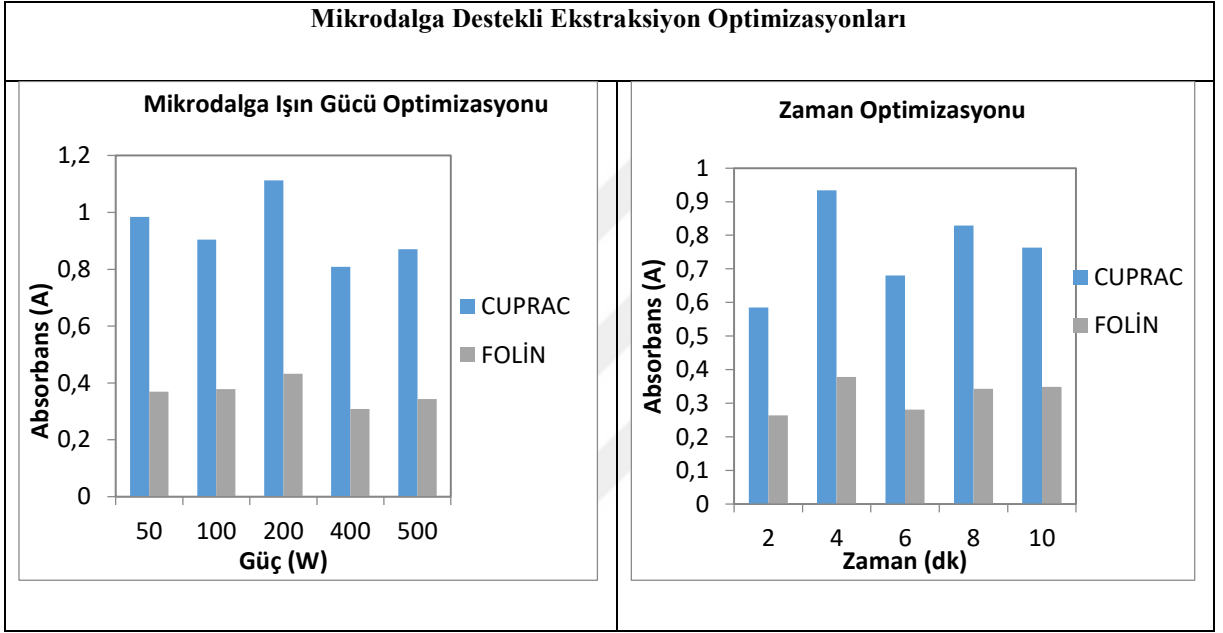


Şekil 25: pH diferansiyel spektrofotometrik yöntemi için kalibrasyon grafiğı ($\lambda_{\text{mak}}=520 \text{ nm}$).

4. 4. 2. Mikrodalga ve Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Sistemleri için Optimum

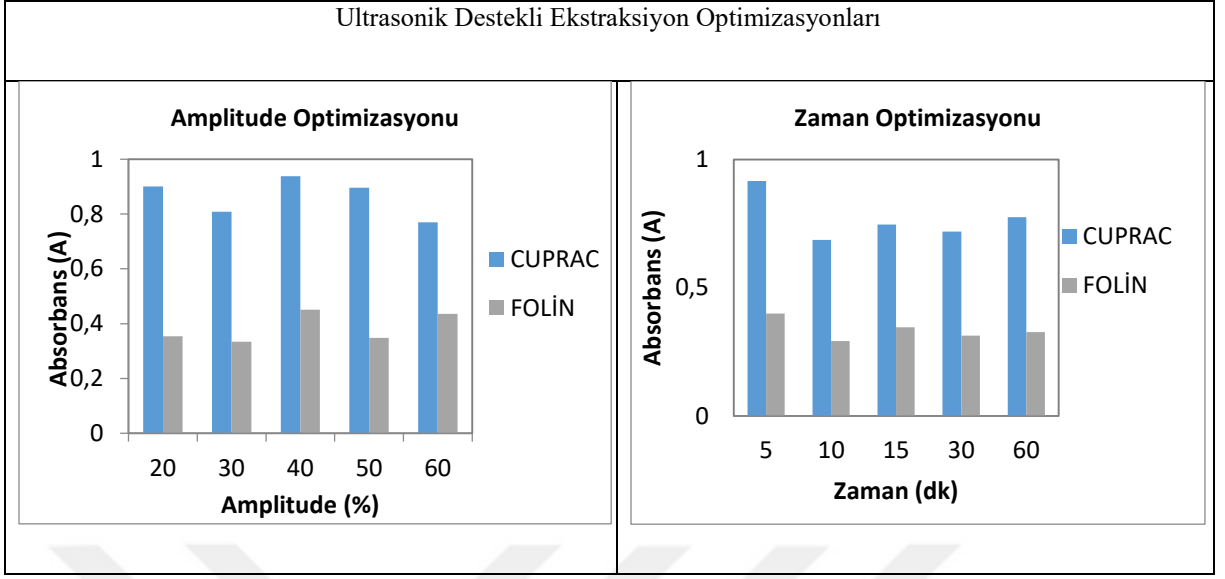
Deney Koşullarının Belirlenmesi

Bu tez çalışmasında, Türkiye'de yayılış gösteren *Cerasus* taksonları meyve örneklerinin fitokimyasal analizleri için mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon için optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Mikrodalga için güç ve zaman parametreleri (Şekil 26), ultrasonik için ise amplitud ve zaman parametreleri optimize edilmiştir (Şekil 27).



Şekil 26: Mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi güç ve zaman optimizasyonları.

Mikrodalga gücünün yüksek olması halinde, ayrıca sürenin uzaması ekstraktın aşırı ısıya maruz kalması sonucu ısıya duyarlı biyoaktif bileşenler olan fenolik komponentler bozunur. Sürenin ekstraksiyon verimine etkisini incelemek için mikrodalga gücü 50 W sabit tutularak süre arttırılmıştır. Çok kısa süre ve çok uzun sürelerde ekstraksiyon verimi düşmektedir. Şekil 26'daki zaman grafiğinde 2 dakika en düşük ekstraksiyon verimi iken 4 dakikadan sonrada verim azalmıştır. Dolayısıyla, düşük mikrodalga gücünde (50 W) ve 4 dakika gibi bir ekstraksiyon süresinde en yüksek ekstraksiyon performansı sergilenmiştir.



Şekil 27: Ultrasonik destekli ekstraksiyon sistemi güç ve zaman optimizasyonları.

Şekil 27 incelendiğinde genel olarak yüksek genliklere çıkması ile beraber özellikle fenolik madde miktarının azaldığı görülmüştür. Antioksidan kapasitede de en büyük katkının fenolik madde olduğu bilindiği için antioksidan kapasite de paralel bir azalış görülmektedir.

Mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon optimizasyonları sonucu antioksidan ve fenolik içerik analizleri sonrasında en yüksek absorbans değerlerinin okunduğu (en yüksek TAC ve toplam fenolik miktarı) mikrodalga için optimum koşulların 200 watt ve 4 dakika; ultrasonik için ise % 40 amplitude ve 5 dakika olduğu görüldü.

4. 4. 3. Kiraz Örneklerinin Spektrofotometrik Temelli Analizleri

Cerasus taksonlarının toplam antioksidan kapasitelerinin birbiri ile uyumlu olduğu fakat ekstraksiyon yöntemine göre farklılık gösterdiği görüldü. Bulgulara uygulanan varyans analizine göre antioksidan kapasite açısından ekstraksiyon yöntemleri arasında istatistik olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). *Cerasus* taksonlarının meyveleri antioksidan kapasite değerleri her bir ekstraksiyon için ayrı ayrı karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonuçları Tablo 9, Tablo 10 ve Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 9: *Cerasus* taksonlarına ait meyve örneklerin geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstratların toplam antioksidan miktarları (mmol troloks/ g örnek).

Örnek Numarası	CERAC	CUPRAC	ABTS/TEAC
CP47	0,1768± 0,0222	0,0733± 0,0035	0,0237±0,0003
CP54	0,1204± 0,0000	0,1613± 0,0009	0,0230±0,0000
CP60	0,0355± 0,0028	0,0085± 0,0007	0,0069±0,0006
CP62	0,0574± 0,0043	0,0155± 0,0003	0,0104±0,0002
CP71	0,0999± 0,0061	0,0240± 0,0020	0,0120±0,0001
CP75	0,0748± 0,0002	0,0157± 0,0016	0,0096±0,0004
CP78	0,1488± 0,0094	0,0452± 0,0018	0,0101±0,0001
CP80	0,1210± 0,0063	0,0309± 0,0045	0,0166±0,0005
CP84	0,0930± 0,0020	0,0211± 0,0002	0,0116±0,0003
CP87	0,0580± 0,0014	0,0117± 0,0008	0,0080±0,0001
CP88	0,1879± 0,0283	0,0343± 0,0037	0,0122±0,0000
CP91	0,0600± 0,0031	0,0220± 0,0002	0,0121±0,0000
CP95	0,0816± 0,0063	0,0286± 0,0031	0,0124±0,0001
CP97	0,0400± 0,0028	0,0089± 0,0009	0,0074±0,0002
CP102	0,1058± 0,0015	0,0255± 0,0012	0,0126±0,0000
CP111	0,1335± 0,0143	0,0334± 0,0024	0,0149±0,0008
CP113	0,0699± 0,0042	0,0192± 0,0022	0,0122±0,0000
CP114	0,0695± 0,0113	0,0188± 0,0016	0,0111±0,0001
CP115	0,0969± 0,0019	0,0256± 0,0013	0,0126±0,0000
CP116	0,0861± 0,0179	0,0187± 0,0006	0,0116±0,0001
CP118	0,0647± 0,0105	0,0128± 0,0007	0,0104±0,0004
CP119	0,0573± 0,0053	0,0134± 0,0013	0,0101±0,0001
CP120	0,1077± 0,0053	0,0178± 0,0020	0,0103±0,0000
CP126	0,1208± 0,0118	0,0270± 0,0007	0,0125±0,0000
CP127	0,0619± 0,0123	0,0143± 0,0007	0,0114±0,0007
CP128	0,0652± 0,0062	0,0165± 0,0009	0,0122±0,0001
CP129	0,3321± 0,0000	0,0823± 0,0000	0,0246±0,0003
CP130	0,2084± 0,0319	0,0252± 0,0003	0,0156±0,0008
CP132	0,0637± 0,0124	0,0178± 0,0021	0,0107±0,0002
CP133	0,0522± 0,0122	0,0140± 0,0017	0,0078±0,0015
CP134	0,0557± 0,0023	0,0088± 0,0030	0,0063±0,0001
CP135	0,1143± 0,0116	0,0285± 0,0002	0,0101±0,0014
CP136	0,0498± 0,0095	0,0097± 0,0070	0,0011±0,0004
CP137	0,1489± 0,0126	0,0396± 0,0083	0,0152±0,0011
CP138	0,0652± 0,0148	0,0172± 0,0063	0,0111±0,0001
CP144	0,0825± 0,0156	0,0372± 0,0016	0,0127±0,0003
CP145	0,1163± 0,0044	0,0369± 0,0012	0,0155±0,0002
CP146	0,0632± 0,0082	0,0205± 0,0018	0,0106±0,0000
CP180	0,2565±0,0758	0,0221±0,0020	0,0147±0,0009
CP181	0,2687±0,0822	0,0430±0,0029	0,0416±0,0011
CP182	0,2403±0,0702	0,0288±0,0039	0,0204±0,0005
CP184	0,2156±0,0502	0,0170±0,0037	0,0105±0,0003
CP185	0,1822±0,0440	0,0145±0,0006	0,0101±0,0009
CP192	0,1451±0,0497	0,0080±0,0008	0,0111±0,0000
CP193	0,1346±0,0542	0,0072±0,0012	0,0072±0,0004
CP194	0,1923±0,0358	0,0163±0,0010	0,0098±0,0001
CP195	0,1273±0,0431	0,0082±0,0010	0,0082±0,0002
CP196	0,2374±0,0562	0,0210±0,0005	0,0153±0,0003
CP197	0,1108±0,0379	0,0065±0,0004	0,0077±0,0003

Tablo 10: *Cerasus* taksonlarına ait meyve örneklerin mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstratların toplam antioksidan miktarları (mmol troloks/ g örnek).

Örnek Numarası	CERAC	CUPRAC	ABTS/TEAC
CP47	0,2156± 0,0700	0,0590± 0,0189	0,0554±0,0009
CP54	0,1161± 0,0413	0,1226± 0,0179	0,0603±0,0005
CP60	0,0503± 0,0091	0,0073± 0,0005	0,0161±0,0007
CP62	0,0790± 0,0167	0,0133± 0,0011	0,0226±0,0008
CP71	0,1477± 0,0043	0,0235± 0,0010	0,0252±0,0001
CP75	0,1308± 0,0122	0,0233± 0,0010	0,0245±0,0001
CP78	0,1885± 0,0296	0,0417± 0,0028	0,0119±0,0000
CP80	0,1754± 0,0160	0,0323± 0,0022	0,0107±0,0003
CP84	0,1341± 0,0077	0,0310± 0,0033	0,0111±0,0008
CP87	0,0742± 0,0108	0,0142± 0,0009	0,0185±0,0008
CP88	0,1827± 0,0226	0,0457± 0,0034	0,0250±0,0000
CP91	0,1714± 0,0153	0,0518± 0,0010	0,0114±0,0001
CP95	0,1486± 0,0056	0,0489± 0,0012	0,0121±0,0000
CP97	0,1322± 0,0037	0,0383± 0,0018	0,0101±0,0001
CP102	0,1245± 0,0071	0,0268± 0,0036	0,0090±0,0000
CP111	0,1854± 0,0151	0,0510± 0,0054	0,0121±0,0000
CP113	0,1216± 0,0010	0,0272± 0,0028	0,0256±0,0001
CP114	0,1860± 0,0159	0,0615± 0,0014	0,0121±0,0001
CP115	0,1795± 0,0091	0,0372± 0,0052	0,0123±0,0000
CP116	0,1201± 0,0042	0,0227± 0,0004	0,0247±0,0001
CP118	0,1442± 0,0021	0,0323± 0,0002	0,0114±0,0006
CP119	0,1405± 0,0030	0,0495± 0,0000	0,0212±0,0004
CP120	0,1097± 0,0071	0,0186± 0,0021	0,0207±0,0009
CP126	0,1670± 0,0050	0,0374± 0,0008	0,0113±0,0000
CP127	0,1719± 0,0034	0,0517± 0,0000	0,0119±0,0000
CP128	0,1395± 0,0061	0,0336± 0,0025	0,0112±0,0001
CP129	0,2245± 0,0786	0,1057± 0,0093	0,0598±0,0003
CP130	0,2071± 0,0542	0,0393± 0,0023	0,0096±0,0003
CP132	0,0632± 0,0051	0,0210± 0,0003	0,0231±0,0000
CP133	0,0349± 0,0015	0,0113± 0,0002	0,0170±0,0001
CP134	0,0410± 0,0021	0,0086± 0,0003	0,0192±0,0005
CP135	0,1165± 0,0032	0,0249± 0,0029	0,0089±0,0005
CP136	0,0839± 0,0169	0,0219± 0,0012	0,0249±0,0002
CP137	0,1809± 0,0315	0,0457± 0,0036	0,0070±0,0005
CP138	0,1257± 0,0036	0,0400± 0,0025	0,0117±0,0001
CP144	0,1950± 0,0482	0,0689± 0,0052	0,0111±0,0000
CP145	0,1961± 0,0548	0,0820± 0,0026	0,0538±0,0010
CP146	0,0413± 0,0060	0,0124± 0,0006	0,0193±0,0002
CP180	0,2852±0,0103	0,0270±0,0023	0,0242±0,0001
CP181	0,3176±0,1304	0,0529±0,0063	0,0612±0,0001
CP182	0,2493±0,0778	0,0371±0,0047	0,0238±0,0003
CP184	0,2186±0,0602	0,0194±0,0027	0,0161±0,0003
CP185	0,1901±0,0361	0,0231±0,0021	0,0137±0,0005
CP192	0,1454±0,0284	0,0110±0,0011	0,0106±0,0003
CP193	0,1254±0,0350	0,0071±0,0015	0,0065±0,0001
CP194	0,2456±0,0683	0,0253±0,0056	0,0106±0,0005
CP195	0,1582±0,0545	0,0110±0,0020	0,0092±0,0010
CP196	0,2304±0,0579	0,0240±0,0042	0,0142±0,0008
CP197	0,1053±0,0267	0,0054±0,0006	0,0044±0,0008

Tablo 11: *Cerasus* taksonlarına ait meyve örneklerin ultrosonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstratların toplam antioksidan miktarları (mmol troloks/ g örnek).

Örnek Numarası	CERAC	CUPRAC	ABTS/TEAC
CP47	0,1708±0,0183	0,0531±0,0008	0,0239±0,0001
CP54	0,0805±0,0048	0,1390±0,0001	0,0597±0,0003
CP60	0,0411±0,0081	0,0075±0,0001	0,0075±0,0002
CP62	0,0718±0,0058	0,0127±0,0004	0,0104±0,0002
CP71	0,1214±0,0069	0,0225±0,0009	0,0120±0,0000
CP75	0,0683±0,0061	0,0163±0,0007	0,0108±0,0000
CP78	0,1564±0,0108	0,0392±0,0026	0,0111±0,0001
CP80	0,0917±0,0072	0,0214±0,0006	0,0084±0,0005
CP84	0,1025±0,0015	0,0217±0,0007	0,0078±0,0001
CP87	0,0671±0,0072	0,0115±0,0009	0,0078±0,0001
CP88	0,1962±0,0333	0,0302±0,0026	0,0120±0,0001
CP91	0,0982±0,0032	0,0230±0,0006	0,0093±0,0000
CP95	0,0924±0,0007	0,0229±0,0006	0,0126±0,0001
CP97	0,0549±0,0041	0,0105±0,0007	0,0099±0,0001
CP102	0,0785±0,0133	0,0140±0,0025	0,0124±0,0000
CP111	0,1450±0,0015	0,0422±0,0050	0,0106±0,0002
CP113	0,0598±0,0101	0,0206±0,0019	0,0119±0,0000
CP114	0,0771±0,0100	0,0269±0,0020	0,0125±0,0001
CP115	0,1046±0,0091	0,0328±0,0039	0,0128±0,0001
CP116	0,0996±0,0056	0,0226±0,0014	0,0122±0,0000
CP118	0,0763±0,0114	0,0194±0,0025	0,0121±0,0000
CP119	0,0524±0,0146	0,0176±0,0017	0,0112±0,0000
CP120	0,0930±0,0113	0,0204±0,0016	0,0100±0,0000
CP126	0,1027±0,0120	0,0240±0,0020	0,0126±0,0001
CP127	0,0745±0,0084	0,0236±0,0002	0,0121±0,0001
CP128	0,0770±0,0090	0,0237±0,0005	0,0126±0,0000
CP129	0,2103±0,0476	0,1037±0,0000	0,0507±0,0002
CP130	0,1787±0,0194	0,0419±0,0052	0,0076±0,0004
CP132	0,0506±0,0030	0,0197±0,0009	0,0106±0,0002
CP133	0,0338±0,0002	0,0121±0,0016	0,0086±0,0001
CP134	0,0235±0,0017	0,0101±0,0010	0,0092±0,0002
CP135	0,0837±0,0001	0,0225±0,0023	0,0063±0,0003
CP136	0,0483±0,0006	0,0175±0,0181	0,0084±0,0002
CP137	0,1093±0,0133	0,0422±0,0061	0,0099±0,0005
CP138	0,0418±0,0161	0,0253±0,0011	0,0124±0,0000
CP144	0,1162±0,0021	0,0534±0,0028	0,0107±0,0006
CP145	0,1368±0,0052	0,0358±0,0257	0,0117±0,0003
CP146	0,0364±0,0070	0,0176±0,0027	0,0105±0,0000
CP180	0,2655±0,0843	0,0226±0,0025	0,0083±0,0003
CP181	0,2808±0,0944	0,0341±0,0026	0,0109±0,0003
CP182	0,2834±0,0898	0,0279±0,0017	0,0114±0,0000
CP184	0,2373±0,6755	0,0144±0,0013	0,0084±0,0003
CP185	0,2091±0,0528	0,0137±0,0005	0,0045±0,0001
CP192	0,1573±0,0454	0,0094±0,0005	0,0094±0,0003
CP193	0,1434±0,0490	0,0066±0,0012	0,0057±0,0008
CP194	0,2444±0,0805	0,0195±0,0019	0,0113±0,0001
CP195	0,1269±0,0390	0,0080±0,0007	0,0066±0,0001
CP196	0,1829±0,0289	0,0185±0,0009	0,0062±0,0003
CP197	0,1403±0,0484	0,0040±0,0012	0,0029±0,0005

Morfolojik ve anatomik incelemeler sonunda yapılan teşhislerde *Cerasus mahaleb* olarak belirlenen meyve örneklerinde antosiyanin miktarı diğer örneklerle göre yüksek bulundu, bu örneklerde ekstraksiyon karşılaştırılması yapıldığında geleneksel ekstraksiyonda daha yüksek bulunması antosiyanin ekstraksiyon süresinin daha uzun tutulmasına bağlandı (Tablo 12). Bu *Cerasus mahaleb* örnekleri (CP54, CP71, CP75, CP78, CP88, CP130) ekstraksiyon sırasında meyve ve ekstrat rengi açısından da morfolojik olarak gözlemlendi.

Tablo 12: *Cerasus* taksonlarına ait meyve örneklerin total antosiyanin miktarları.

Örnek Numarası	Geleneksel Ekstraksiyon	Mikrodalga Ekstraksiyonu	Ultrasonik Ekstraksiyonu
CP47	0,3215± 0,0278	0,1067± 0,0005	0,1259± 0,0006
CP54	4,6221± 0,2745	1,4150± 0,0071	1,4290± 0,0072
CP60	0,1407± 0,0997	0,0070± 0,0000	0,0455± 0,0002
CP62	0,4421± 0,0132	0,3935± 0,0020	0,3533± 0,0018
CP71	3,6173± 0,5626	1,2873± 0,0065	1,4062± 0,0071
CP75	3,2154± 0,2779	1,0739± 0,0054	0,9095± 0,0046
CP78	4,0192± 0,8474	1,1806± 0,0059	1,0757± 0,0054
CP80	0,2412± 0,0008	0,0402± 0,0002	0,0490± 0,0002
CP84	0,4019± 0,0147	0,1732± 0,0009	0,1644± 0,0008
CP87	1,8087± 0,2813	0,6454± 0,0032	0,7748± 0,0039
CP88	8,0385± 0,6947	2,4714± 0,0124	2,5396± 0,0128
CP91	0,0000± 0,0000	0,0105± 0,0001	0,0087± 0,0000
CP95	0,1206± 0,0154	0,0805± 0,0004	0,0647± 0,0003
CP97	0,0201± 0,0012	0,0070± 0,0000	0,0175± 0,0001
CP102	0,2813± 0,0293	0,0542± 0,0003	0,1084± 0,0005
CP111	0,3014± 0,0036	0,0997± 0,0005	0,1347± 0,0007
CP113	0,0000± 0,0000	-0,0017± 0,0001	0,0035± 0,0000
CP114	0,0201± 0,0042	0,0157± 0,0001	0,0017± 0,0000
CP115	0,0402± 0,0285	0,0175± 0,0001	0,0140± 0,0001
CP116	1,7082± 0,0101	0,6769± 0,0034	0,6891± 0,0035
CP118	0,3416± 0,0120	0,1382± 0,0007	0,1557± 0,0008
CP119	0,0201± 0,0012	0,0052± 0,0000	0,0017± 0,0001
CP120	2,0096± 0,0237	0,7276± 0,0037	0,7573± 0,0038
CP126	0,9646± 0,0034	0,2484± 0,0012	0,2134± 0,0011
CP127	0,0000± 0,0000	0,0035± 0,0000	0,0017± 0,0000
CP128	0,1407± 0,0017	0,0210± 0,0001	0,0315± 0,0002
CP129	0,3617± 0,0163	0,1399± 0,0007	0,0927± 0,0005
CP130	8,2395± 0,8371	2,6428± 0,0133	2,1863± 0,0110
CP132	0,4019± 0,0047	0,0875± 0,0004	0,0997± 0,0005
CP133	-0,0201± 0,0012	0,0017± 0,0001	0,0035± 0,0000
CP134	0,0000± 0,0000	0,0070± 0,0001	0,0052± 0,0001
CP135	0,8641± 0,0022	0,2221± 0,0011	0,2309± 0,0012
CP136	0,1809± 0,0081	0,0437± 0,0002	0,0525± 0,0003
CP137	1,1053± 0,0030	0,3463± 0,0017	0,3218± 0,0016
CP138	0,0201± 0,0042	0,0035± 0,0000	0,0035± 0,0000
CP144	0,1809± 0,0081	0,0227± 0,0001	0,0175± 0,0001
CP145	0,0201± 0,0142	0,0140± 0,0001	0,0052± 0,0000
CP146	1,0450± 0,7403	0,2589± 0,0013	1,0787± 0,1153
CP180	1,2363± 0,1649	1,0342± 0,0850	0,2676± 0,0013
CP181	0,2930± 0,0469	0,2139± 0,0264	0,2203± 0,0215
CP182	0,4863± 0,1055	0,5039± 0,1055	0,4630± 0,0330

Tablo 12'nin devamı.

CP184	0,4746±0,0879	0,4072±0,0732	0,4632±0,0667
CP185	0,1846±0,0381	0,1494±0,0146	0,1978±0,0021
CP192	0,0352±0,0059	0,0527±0,0117	0,0597±0,0067
CP193	0,0293±0,0000	0,0117±0,0000	0,0235±0,0001
CP194	1,9160±0,3109	3,1348±0,3867	3,0376±0,1540
CP195	0,0117±0,0059	0,0088±0,0029	0,0323±0,0209
CP196	1,3623±0,1494	1,4238±0,1758	0,9526±0,0036
CP197	0,2051±0,0234	0,0996±0,0117	0,1126±0,0148

Tablolar incelendiğinde mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile yapılan çalışmalarda toplam fenolik (Tablo 13) ve flavonoid (Tablo 14) birçok örnek için diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre yüksek bulunmuştur. Diğer yöntemler ile kıyaslandığında çok daha kısa sürede, daha yüksek verimle fenolik madde ve flavonoid madde elde edilebileceği görülmüştür.

Tablo 13: *Cerasus* taksonlarına ait meyve örneklerin total fenolik miktarları.

Örnek Numarası	Geleneksel Ekstraksiyon	Mikrodalga Ekstraksiyonu	Ultrasonik Ekstraksiyon
CP47	0,0638± 0,0052	0,0852± 0,0150	0,0725± 0,0065
CP54	0,1129± 0,0347	0,1283± 0,0440	0,1032± 0,0126
CP60	0,0117± 0,0008	0,0126± 0,0027	0,0178± 0,0011
CP62	0,0222± 0,0004	0,0212± 0,0027	0,0242± 0,0063
CP71	0,0310± 0,0028	0,0475± 0,0010	0,0397± 0,0085
CP75	0,0191± 0,0061	0,0345± 0,0027	0,0286± 0,0071
CP78	0,0533± 0,0019	0,0697± 0,0032	0,0549± 0,0004
CP80	0,0463± 0,0041	0,0463± 0,0004	0,0388± 0,0029
CP84	0,0337± 0,0015	0,0516± 0,0013	0,0422± 0,0043
CP87	0,0157± 0,0026	0,0120± 0,0053	0,0205± 0,0078
CP88	0,0500± 0,0090	0,0519± 0,0013	0,0486± 0,0049
CP91	0,0282± 0,0042	0,0703± 0,0011	0,0488± 0,0063
CP95	0,0321± 0,0034	0,0698± 0,0057	0,0426± 0,0077
CP97	0,0145± 0,0006	0,0550± 0,0012	0,0249± 0,0036
CP102	0,0345± 0,0033	0,0417± 0,0011	0,0331± 0,0028
CP111	0,0449± 0,0029	0,0657± 0,0020	0,0450± 0,0033
CP113	0,0289± 0,0030	0,0490± 0,0029	0,0309± 0,0070
CP114	0,0297± 0,0023	0,0722± 0,0051	0,0415± 0,0124
CP115	0,0315± 0,0015	0,0743± 0,0070	0,0463± 0,0032
CP116	0,0207± 0,0058	0,0365± 0,0020	0,0324± 0,0034
CP118	0,0209± 0,0018	0,0600± 0,0050	0,0368± 0,0036
CP119	0,0206± 0,0022	0,0560± 0,0047	0,0292± 0,0018
CP120	0,0269± 0,0030	0,0321± 0,0034	0,0290± 0,0050
CP126	0,0341± 0,0043	0,0595± 0,0036	0,0343± 0,0033
CP127	0,0156± 0,0030	0,0737± 0,0042	0,0333± 0,0082
CP128	0,0238± 0,0036	0,0557± 0,0028	0,0394± 0,0037
CP129	0,0943± 0,0242	0,1047± 0,0308	0,0829± 0,0143
CP130	0,0516± 0,0045	0,0566± 0,0007	0,0444± 0,0013
CP132	0,0195± 0,0014	0,0300± 0,0022	0,0260± 0,0047
CP133	0,0155± 0,0017	0,0185± 0,0016	0,0216± 0,0033
CP134	0,0076± 0,0033	0,0186± 0,0037	0,0185± 0,0057
CP135	0,0299± 0,0033	0,0471± 0,0040	0,0389± 0,0064
CP136	0,0168± 0,0007	0,0428± 0,0037	0,0284± 0,0069

Tablo 13'ün devamı.

CP137	0,0463± 0,0010	0,0710± 0,0037	0,0563± 0,0076
CP138	0,0215± 0,0029	0,0610± 0,0009	0,0327± 0,0051
CP144	0,0397± 0,0052	0,0786± 0,0035	0,0590± 0,0070
CP145	0,0451± 0,0027	0,0956± 0,0208	0,0603± 0,0014
CP146	0,0195± 0,0020	0,0213± 0,0041	0,0208± 0,0038
CP180	0,0812± 0,0026	0,0886± 0,0039	0,0374± 0,0015
CP181	0,1080± 0,0001	0,1430± 0,0026	0,1076± 0,0038
CP182	0,0987± 0,0119	0,1121± 0,0001	0,1029± 0,0042
CP184	0,0647± 0,0003	0,0581± 0,0004	0,0615± 0,0048
CP185	0,0551± 0,0045	0,0640± 0,0023	0,0518± 0,0038
CP192	0,0280± 0,0010	0,0342± 0,0004	0,0303± 0,0008
CP193	0,0225± 0,0004	0,0172± 0,0016	0,0189± 0,0007
CP194	0,0567± 0,0021	0,0664± 0,0063	0,0803± 0,0070
CP195	0,0227± 0,0014	0,0303± 0,0008	0,0246± 0,0036
CP196	0,0835± 0,0036	0,0705± 0,0035	0,0617± 0,0072
CP197	0,0174± 0,0011	0,0102± 0,0012	0,0107± 0,0014

Tablo 14: *Cerasus* taksonlarına ait meyve örneklerin total flavanoid miktarları.

Örnek Numarası	Geleneksel Ekstraksiyon	Mikrodalga Ekstraksiyonu	Ultrasonik Ekstraksiyon
CP47	0,0323± 0,0030	0,0610± 0,0186	0,0214± 0,0017
CP54	0,0813± 0,0147	0,0899± 0,0188	0,0098± 0,0009
CP60	0,0066± 0,0017	0,0041± 0,0005	0,0145± 0,0013
CP62	-	0,0070± 0,0005	0,0188± 0,0018
CP71	0,0117± 0,0015	0,0146± 0,0008	0,0097± 0,0002
CP75	0,0087± 0,0017	0,0116± 0,0010	0,0116± 0,0008
CP78	0,0218± 0,0026	0,0289± 0,0005	0,0084± 0,0006
CP80	-	0,0197± 0,0191	0,0079± 0,0079
CP84	0,0153± 0,0021	0,0221± 0,0021	0,0129± 0,0000
CP87	0,0068± 0,0017	0,0055± 0,0003	0,0136± 0,0007
CP88	0,0156± 0,0007	0,0185± 0,0017	0,0148± 0,0008
CP91	-	0,0307± 0,0039	0,0419± 0,0065
CP95	0,0139± 0,0023	0,0289± 0,0004	0,0147± 0,0010
CP97	0,0070± 0,0018	0,0225± 0,0009	0,0095± 0,0009
CP102	0,0151± 0,0013	0,0143± 0,0007	0,0069± 0,0004
CP111	0,0196± 0,0015	0,0300± 0,0025	0,0327± 0,0024
CP113	0,0141± 0,0020	0,0179± 0,0012	0,0963± 0,0105
CP114	0,0117± 0,0021	0,0334± 0,0024	0,0044± 0,0002
CP115	-	0,0324± 0,0026	0,0068± 0,0002
CP116	0,0095± 0,0014	0,0116± 0,0009	0,0098± 0,0003
CP118	0,0092± 0,0015	0,0241± 0,0010	0,0078± 0,0002
CP119	0,0095± 0,0017	0,0215± 0,0022	0,0217± 0,0007
CP120	-	0,0082± 0,0003	0,0130± 0,0009
CP126	0,0160± 0,0009	0,0257± 0,0012	0,0137± 0,0010
CP127	0,0087± 0,0017	0,0348± 0,0019	0,0044± 0,0001
CP128	0,0107± 0,0019	0,0240± 0,0015	0,0134± 0,0003
CP129	-	0,0560± 0,0200	0,0173± 0,0010
CP130	0,0186± 0,0012	0,0199± 0,0007	0,0158± 0,0011
CP132	0,0083± 0,0017	0,0107± 0,0004	0,0071± 0,0002
CP133	0,0095± 0,0018	0,0056± 0,0006	0,0109± 0,0002
CP134	0,0055± 0,0017	0,0050± 0,0006	0,0050± 0,0006
CP135	0,0138± 0,0022	0,0163± 0,0008	0,0110± 0,0005

Tablo 14'ün devamı.

CP136	0,0075±0,0019	0,0151±0,0003	0,0080±0,0007
CP137	0,0181±0,0011	0,0295±0,0020	0,0198±0,0021
CP138	0,0112±0,0015	0,0265±0,0019	0,0134±0,0008
CP144	0,0195±0,0013	0,0402±0,0101	0,0209±0,0035
CP145	0,0220±0,0009	0,0537±0,0034	0,0305±0,0030
CP146	0,0103±0,0019	0,0059±0,0003	0,0075±0,0003
CP180	0,0621±0,0062	0,0749±0,0082	0,2755±0,0030
CP181	0,1229±0,0082	0,1663±0,0086	0,4150±0,0327
CP182	0,0866±0,0065	0,0975±0,0120	0,3389±0,0214
CP184	0,0584±0,0038	0,0515±0,0058	0,1754±0,0166
CP185	0,0524±0,0058	0,0643±0,0006	0,1653±0,0060
CP192	0,0343±0,0060	0,0380±0,0064	0,1141±0,0065
CP193	0,0271±0,0059	0,0245±0,0067	0,0809±0,0155
CP194	0,0461±0,0094	0,0504±0,0009	0,2372±0,0236
CP195	0,0316±0,0077	0,0333±0,0052	0,0972±0,0094
CP196	0,0632±0,0069	0,0591±0,0037	0,2250±0,0120
CP197	0,0236±0,0073	0,0196±0,0066	0,0493±0,0147

4. 4. 4. Ekstraksiyon Verimlerinin Hesaplanması

Ekstraksiyon verimi, fitokimyasal bileşenlerin ekstraksiyonu için çözücü ve yöntem verimliliğinin bir ölçüsüdür. Çalışmamız kapsamında *Cerasus* taksonlarının üç farklı yöntemle ekstraksiyon verimliliği Zhang ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada bazı modifikasyonlar yapılarak hesaplanmıştır (Zhang ve diğ., 2007).

Tablo 15: Farklı yöntemler ile ekstrakte edilmiş meyvelerin ekstraksiyon verimleri.

Takson	Taze örnek ağırlığı (gr)	EKSTRAKSİYON VERİMİ (gr/100 ml)		
		Geleneksel Ekstraksiyon	Ultrasonik destekli ekstraksiyon	Mikrodalga destekli ekstraksiyon
<i>C.angustifolia</i> var. <i>sintenisii</i>	2,5	0,62	0,74	0,65
<i>C.angustifolia</i> var. <i>angustifolia</i>	2,5	0,66	0,71	0,64
<i>C.vulgaris</i>	2,5	0,51	0,67	0,79
<i>C.incana</i>	2,5	0,58	0,46	0,53
<i>C.incana</i> var. <i>velutina</i>	2,5	1,01	0,40	0,45
<i>C.mahaleb</i> var. <i>mahaleb</i>	2,5	0,33	0,45	0,43
<i>C.mahaleb</i> var. <i>alpina</i>	2,5	0,62	0,76	0,65
<i>C.microcarpa</i> var. <i>microcarpa</i>	2,5	0,37	0,44	0,51
<i>C.microcarpa</i> var. <i>tortuosa</i>	2,5	0,67	0,79	1,03
<i>C.prostrata</i> var. <i>prostrata</i>	2,5	0,37	0,40	0,46
<i>C.avium</i>	2,5	0,84	1,25	0,66
<i>C. brachypetala</i> var. <i>brachypetala</i>	2,5	0,89	0,98	0,81
<i>C. prostrata</i> var. <i>glabrifolia</i>	2,5	1,01	1,16	1,18
<i>C. hippophaeoides</i>	2,5	0,72	0,82	0,73

Ekstraksiyon verimi açısından, birçok örnek için ultrasonik destekli ekstraktların miktarları diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre daha yüksek çıkmıştır (Tablo 15). Ancak, ekstraksiyon veriminin toplam fenolik, flavonoid ve toplam antioksidan kapasite miktarları ile uyumlu olmadığı görülmüştür. Ultrasonik ekstraksiyon yönteminin de veriminin yüksek çıkmasının sebebi ise ultrason etkisiyle hücre duvarları hasar görerek, doku içindeki ekstrakte edilebilir bileşenlerin ekstrakta geçmesi olarak açıklanabilir (Vinatoru, 2001).

4. 4. 5. *Cerasus* Taksonlarının HPLC-MS ile Antioksidan İçeriği

4. 4. 5. 1. Kalibrasyon eğrileri ve kantitasyon limitleri

Numunelerdeki fenolik asit konsantrasyonları, aynı gün hazırlanan ve aynı analitik çalışmada analiz edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır. Tüm kalibrasyon eğrileri konsantrasyonun ardından hazırlandı: boş, 5, 10, 25, 50, 100 ng / ml ve tüm noktalara 3 kez enjekte edildi. Bütün fenolik asitler doğrusallığı $R^2 \geq 0,995$ 'tir. Bu numuneler, numune hazırlama için tarif edilen prosedüre göre analiz edildi. Fenolik asitlerin (S / N oranı üzerinden hesaplanan) LOD ve LOQ değerleri Tablo 16'da verilmiştir.

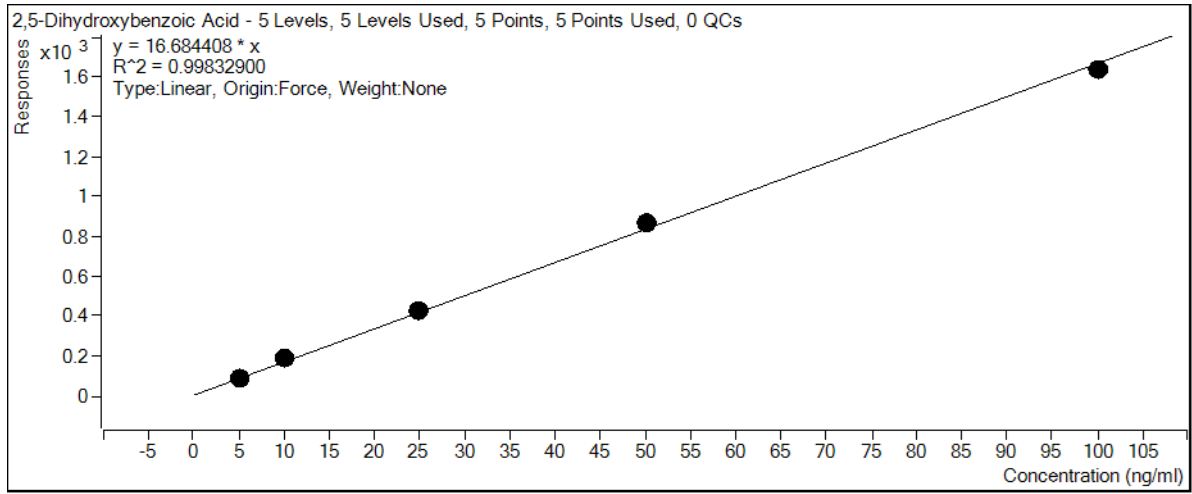
Tablo 16: Kalibrasyon ve kantitasyon limitleri.

Bileşikler	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
2,5-Dihydroxybenzoic Acid	0,14	0,47
2-Hydroxycinnamic Acid	0,48	1,58
Abscisic Acid	0,15	0,49
Caffeic Acid	0,05	0,17
Catechin	0,22	0,75
Epicatechin	0,18	0,71
Chlorogenic Acid	0,09	0,29
Ethyl gallate	0,09	0,28
Gallic Acid	0,31	1,02
Gibberellic Acid	0,95	3,16
Indole-3-acetic Acid	0,11	0,36
Isorhamnetin	0,06	0,18
Jasmonic Acid	0,06	0,19
Kaempferol	0,31	1,08
Luteolin	0,04	0,14
Myricetin	0,05	0,18
Naringin	0,07	0,24
<i>p</i> -Coumaric Acid	0,62	2,05
Phlorizin	0,02	0,08
Propyl gallate	0,07	0,24
Protocatechuic Acid	0,04	0,15
Quercetin	1,01	3,35
Resveratrol	0,27	0,89
Rutin	0,04	0,13
Salicylic Acid	0,08	0,26

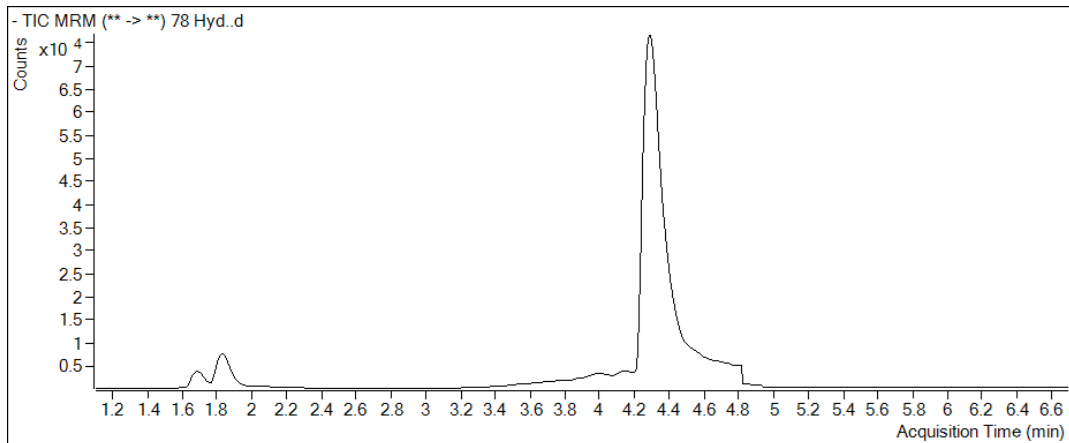
Tablo 16'nın devamı.

Sinapic Acid	0,91	2,97
Syringic Acid	1,01	3,34
Trans-ferrulic Acid	0,11	0,35

Her bir analitik standart için ayrı kalibrasyon eğrisi çizilmiş, örnek içinde metabolitlerin miktarına göre kalibrasyon aralıkları genişletilmiştir. Örnek olarak 2,5-dihidroksibenzoik asidin kalibrasyon eğrisi Şekil 28'de ve *Cerasus mahaleb* bitkisinin kromatogramı Şekil 29'da verilmiştir.

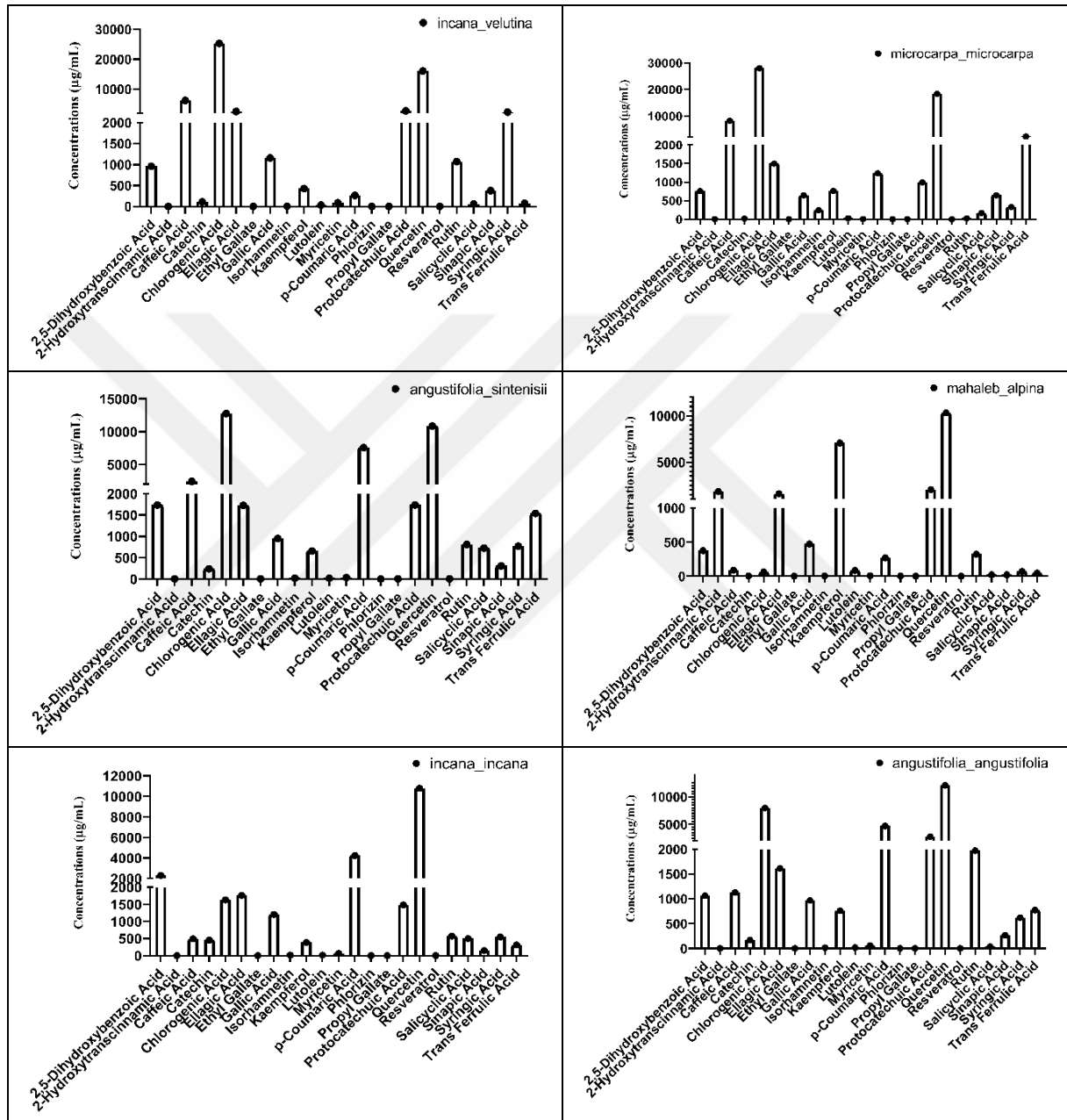


Şekil 28: 2-5 dihidroksi benzoik asit'in kalibrasyon eğrisi.

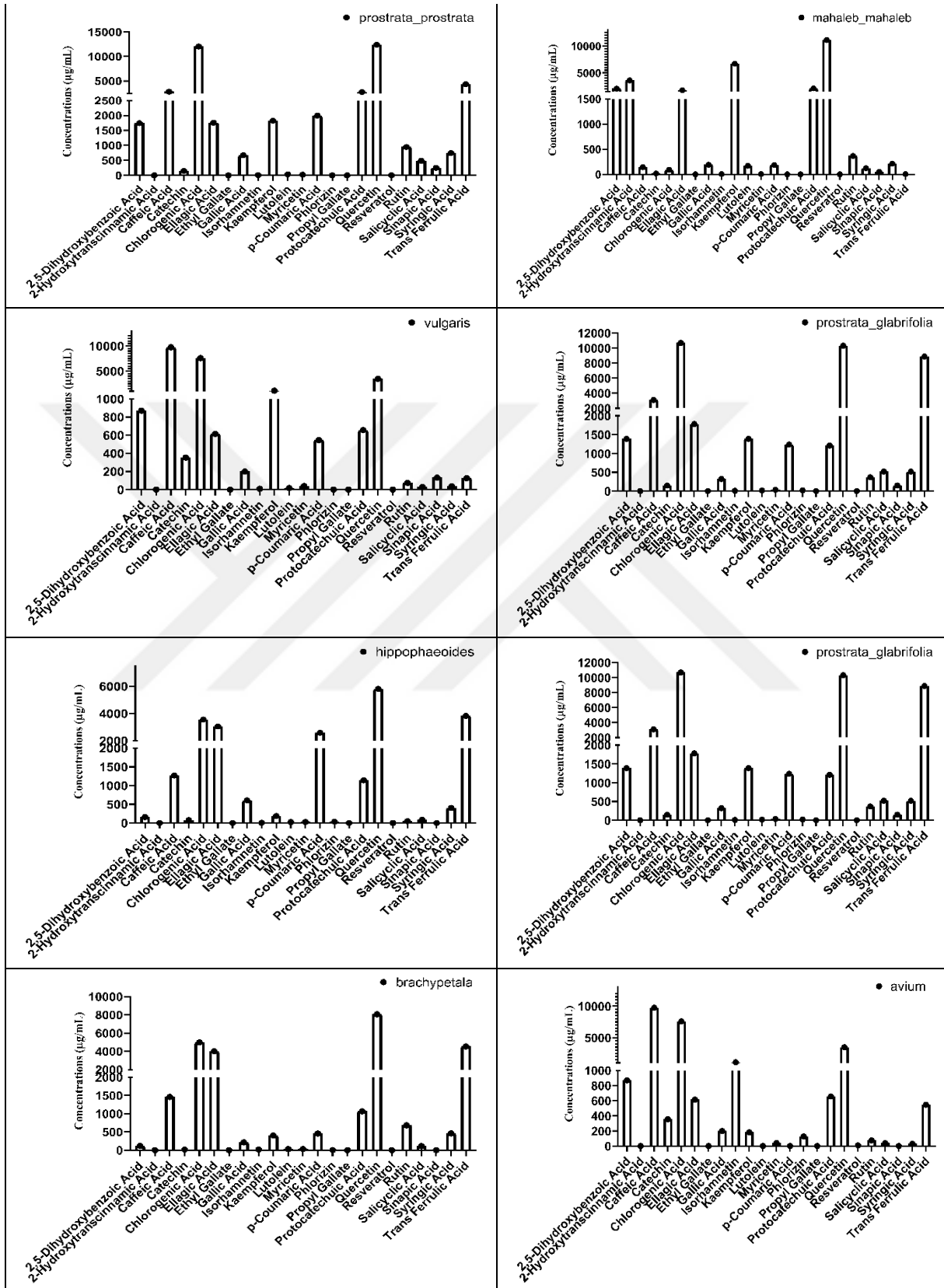
Şekil 29: *C. mahaleb* taksonunun kromatogramı.

Türkiye’de yayılış gösteren *Cerasus* taksonlarının polifenolik maddelerinin miktar analizinin grafiksel gösterimleri Tablo 17’de verilmiştir.

Tablo 17: Polifenolik bileşiklerin miktar analizi.



Tablo 17'nin devamı.

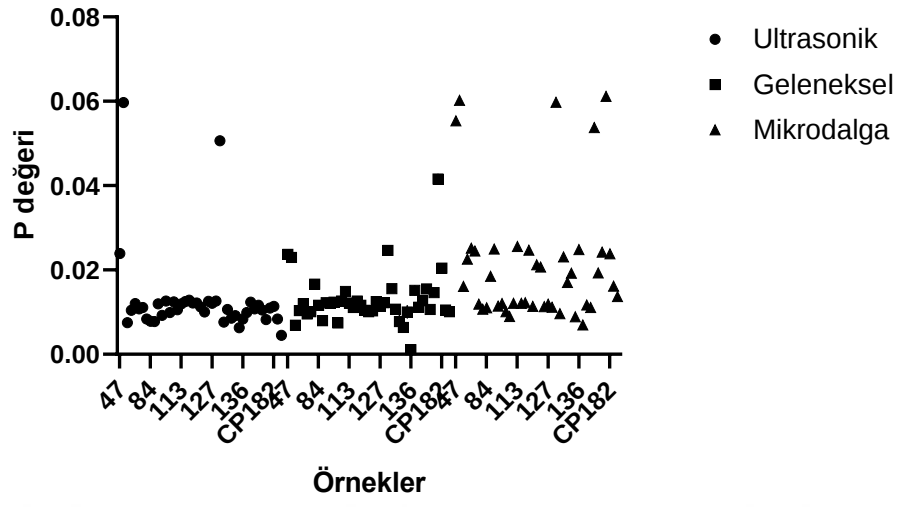


4. 4. 6. İstatiksel analizler

Tüm analizler üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir ve veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak girilmiştir. Gruplar (geleneksel ekstraksiyon, ultrasonik ekstraksiyon, mikrodalga ekstraksiyonu) arasındaki farkları doğrulamak için, Student t-testi ve Mann-Whitney U testi bağımsız örnekler (CP47, CP54 ...) için yapıldı. Örnekler üç farklı ekstraksiyon tipi ve kendi içinde karşılaştırması yapılarak Brown-Forsythe testi ile varyansların homojenliği doğrulandıktan sonra tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. İstatiksel analizler Graphpad Prism 8.0 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Brown-Forsythe testi özeti Tablo 18’de, bazı örneklerin p değerleri de Şekil 30’da verilmiştir.

Tablo 18: Brown-Forsythe testi, P testi ve F testi özet değerleri.

Table Analyzed	<i>Cerasus</i>				
Data sets analyzed	A-C				
ANOVA summary					
F	8,047				
P value	0,0005				
P value summary	***				
Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes				
R square	0,1133				
Brown-Forsythe test					
F (DFn, DFd)	5,694 (2, 126)				
P value	0,0043				
P value summary	**				
Are SDs significantly different (P < 0.05)?	Yes				
Bartlett's test					
Bartlett's statistic (corrected)	27,99				
P value	<0,0001				
P value summary	****				
Are SDs significantly different (P < 0.05)?	Yes				
ANOVA table					
Treatment (between columns)	SS	DF	MS	F (DFn, DFd)	P value
	0,001913	2	0,0009564	F (2, 126) = 8,047	P=0,0005
Residual (within columns)	0,01497	126	0,0001188		
Total	0,01689	128			
Data summary					
Number of treatments (columns)	9				
Number of values (total)	441				



Şekil 30: Bazı örneklerin ekstraksiyon farklılıklarının analizi sonucu p değerleri.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Cerasus (sensu Browicz) taksonları morfolojisi tür içinde büyük varyasyon göstermektedir. Özellikle tür altı kategorideki taksonların birbirinden ayrılmasında kullanılan yaprak ve çiçeklerdeki tüy durumu diyagnostik değildir. Genç, uzun sürgünlerin yaprak yapıları aynı bitki üzerinde farklılık arz etmektedir. Bu durum herbaryum örnekleri üzerinden çalışıldığında taksonların birbirinden ayrılmalarını güçleştirmektedir (116Z247 numaralı TÜBİTAK projesi sonuç raporu, 2020).

Arazi çalışmaları ve herbaryumlarda gerçekleştirilen çalışmalar *Cerasus erzincanica* Yıldırım'lı türünde temel ayırıcı faktör olarak kullanılan lentisellerin boyuna konumlanmasının çalışılan tüm taksonların genç, uzun sürgünlerinde gözlemlenen bir karakter olduğunu ortaya koymuştur. Bitkinin tip örneğini toplamak için yapılan arazi çalışmalarında toplanan tüm örneklerin *Cerasus angustifolia* taksonuna ait olduğu saptanmıştır. Bu durumda *Cerasus erzincanica*, *Cerasus angustifolia* taksonunun sinonimidir. Gerek yapılan arazi çalışmalarında ve gerekse laboratuvarındaki gözlemlerde *Cerasus brachypetala* var. *bornmuelleri* taksonunun Türkiye'deki varlığı ilgili veri saptanamamıştır. Güncel olarak *Cerasus brachypetala* var. *bornmuelleri* taksonu Türkiye siyasi sınırlarında yayılış göstermemektedir (116Z247 numaralı TÜBİTAK projesi sonuç raporu, 2020).

Filogenetik varsayımlar canlının akrabalık ilişkilerini anlamada çok önemli rol oynamaktadır ancak gen duplikasyonları ve kayıpları, hibritleşme gibi genetik süreçler bu varsayımların oluşmasını engellemektedir ya da yanıltıcı olmaktadır (Maddison vd., 1997). Ayrıca sınırlı sayıda gen bölgesi kullanılarak yapılan filogenetik analizlerde ilişkilerin tam olarak çözülmesi mümkün olmamaktadır (Massatti vd., 2016). Taksonların ve popülasyonların biparental (nuSSR) ve uniparental (organellar yani cpSSR ve mtSSR) olarak aktarılan markırlarla tespit edilen değişkenlik modellerinin karşılaştırılması evrim biyologları için tamamlayıcı bilgi sağlamaktadır. Bu tez çalışmasında, sonuçlar, her taksonun genetik profilini tanımlamamıza ve incelenen türler arasındaki genetik benzerlikleri tahmin etmemize olanak tanımıştır. Kloroplast genomunun nüklear genoma göre daha yavaş bir mutasyon oranına sahip olması nüklear belirteçler türler arasında kloroplast belirteçlerinden daha yüksek genetik çeşitlilik sergilemiştir. Kloroplast verisinden elde edilmiş ve iki farklı yöntemle (maksimum likelihood, neighbor joining) elde edilen filogenetik ağaçta *Microcerasus* seksiyonunun ayrıldığı

görülmüştür (Şekil 16). Halk arasında kiraz ve vişne adları ile bilinen *Cerasus avium* ve *Cerasus vulgaris* Eucerasus seksiyonu olarak ayrılmış, mahalep alt türleri ise nispeten yakın mesafede tespit edilmiştir. Bayesian analizi ile yapılan filogenetik analizlerde de benzer durum görülmüştür. Khadivi-Khub ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptığı çalışmada *Prunus avium* ve *Prunus microcarpa*'nın (subsp. *Diffusa* ve subsp. *Microcarpa*) morfolojik benzerliği kloroplast genomu analizleriyle de desteklenmiştir. *Prunus mahaleb*, diğer *Cerasus* cinsi türleriyle kloroplastta yüksek farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir (Bouhadida vd., 2007; Wen vd. 2008). Çalışmamızda ITS verisinden elde edilen filogenetik analizlerde (Şekil 18 ve Şekil 19) kloroplast bölgelerine nazaran daha fazla varyasyon görülmüştür. Maksimum likelihood yöntemi ile yapılan analizde endemik olan *Cerasus incana* var. *velutina*, ülkemizde bilinen tek lokasyondan toplanan *Cerasus prostrata* var. *glabrifolia* ve *Cerasus brachypetala* diğer *Microcerasus* seksiyonu üyelerinden farklı noktada tespit edilmiştir fakat Neighbor joining ile yapılan ağaçta diğer üyeler ile yakın konumda belirlenmiştir. Bayesian ve maksimum likelihood yöntemleri *Microcerasus* seksiyonunu moleküler açıdan doğrulamıştır. *C. prostrata*, *C. brachypetala* ve *C. incana* var. *velutina* taksonlarının birbirleri ile olan karmaşık ilişkilerinin açıklanması için 4 gen bölgesi yetersiz kalmıştır. Daha fazla örnek ve daha fazla gen bölgesi kullanılarak bu durum açıklığa kavuşturulabilir.

Cerasus cinsine ait günümüze kadar yapılan fitokimyasal ve fizikokimyasal çalışmaların; kültüre alınan ve gıda olarak tüketilen *Cerasus avium* ve *Cerasus vulgaris* taksonları ile sınırlı kaldığı görülmüştür. Browicz (1974)'e göre Türkiye'de yayılış gösteren 14 *Cerasus* taksonunun bütününe veya bir kısmına dair herhangi bir kimyasal çalışmaya rastlanmamıştır. Tez çalışmaları kapsamında arazi çalışmaları sırasında meyve örnekleri toplanan taksonların 3 farklı yöntem ile ekstraksiyonunu ve bu ekstraksiyon yöntemlerinin polifenollerin verimine katkıları araştırıldı. Bunun yanında 30 adet polifenolik bileşiğin standardı kullanılarak miktar analizleri gerçekleştirildi.

Bitki sekonder metabolitlerinin bir sınıfı olan polifenoller bitkilerdeki pentoz fosfat, shikimate ve fenilpropanoid yollarının türevleri olan bileşiklerdir. Polifenolik bileşikler, meyve ve sebzelerin renk ve duyuşal özelliklerine katkıda bulunmanın yanı sıra patojenlere ve yırtıcılara karşı koruma sağlamada, büyüme ve üremede önemli bir rol oynarlar (Borochoy -Neori vd., 2009). Polifenolik bileşikler, bitki sağlığı yanında insan sağlığına da anti-alerjik, anti-enflamatuar, anti-mikrobiyal, anti-oksidan, antitrombotik, kardiyoprotektif ve vazodilatör gibi

ekileri nedeniyle de faydalı özellikler sergiler. Polifenolik bileşiklerden türetilen bazı yararlı etkiler, esas olarak antioksidan aktivitelerinden kaynaklanmaktadır (Viswanath vd., 2009; Tagliazucchi vd., 2010). Polifenolikler gibi doğal antioksidanlar, beslenme ve terapötik değerleri nedeniyle son yıllarda ilgi çekmektedir. Polifenoliklerin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu ile ilgili çalışmalar esas olarak örneklerin toplanma alanları, ekstraksiyon tipi ve analitik yöntemler ile analizini içerir. Polifenolik bileşiklerin ve kaynaklarının geniş çeşitliliği nedeniyle, polifenol bileşiklerinin analitik çalışmaları hakkında genel bir fikir verecek hiçbir küresel ortak strateji geliştirilmemiştir. Polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonu esas olarak analitik tekniklere ve kullanılan çözücülere bağlıdır. Bu nedenle, sonuçlarda daha yüksek doğruluk elde etmek için polifenolik bileşiklerin uygun şekilde ekstraksiyonu, saflaştırılması ve karakterizasyonu için optimum ve uygun bir yöntem geliştirilmesi gerekmektedir. Ekstraksiyon ve analitik tekniklerin farklı yönleri hakkında birçok makale yayınlanmış olsa da standartlar geliştirilememiş ve bilgi kirliliği doğmuştur. Bu çalışma, farklı türdeki polifenolik bileşiklerin, polifenol ekstraksiyonlarının ve bu bileşiklerin karakterizasyonunu ortaya çıkarmak ve özetlemektedir. Ekstraksiyon ve analiz için benimsenecek kesin metodolojiyi tanımlamak için, farklı meyve tiplerinde çalışmalar yapmak gerekmektedir.

Arazi çalışmaları kapsamında toplanan meyve örneklerinin ilk arazi gözlemleri sırasında sertlik, tat, çekirdek büyüklüğü ve endokarp kalınlığı gibi özellikleri ile birbirinden ayrıldığı gözlenmiştir. *Cerasus mahaleb* meyvesinin çok sulu, *Cerasus microcarpa* 'nın ekşimsi tadı, *Cerasus angustifolia* 'nın sert kabukları gibi özellikleri nedeniyle birbirinden ayrılması sonuçlar arasında anlamlı farklılıkların doğmasına sebep oldu.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), doğal ürünlerin ekstraksiyon işlemlerinin verim ve kalitesinin artırılmasında büyük bir potansiyel göstermektedir. Ekstraksiyon süreleri ve çözücü tüketimi; konvansiyonel çözücü ekstraksiyonu (CSE) ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde düşüktür. Mikrodalga ekstraksiyonu ile daha yüksek verimler ve ekstraktların geliştirilmiş kalitesi elde edilmektedir, daha küçük donanımlar ve daha hızlı başlatma ve kapatma süreleri nedeniyle enerji gereksinimleri azaltılmıştır (Galan ve diğ., 2017).

Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Sistemlerinde ultrasonik etkiye maruz kalan bitkisel dokularda fiziksel değişimler meydana gelmektedir (Mason, 1998). Ultrason etkisiyle hücre duvarları hasar görerek, doku içindeki ekstrakte edilebilir bileşenlerin, ortaya çıkması hızlandırılmakta böylece difüzyon da kolaylaşmaktadır. Çözgen fazına bu maddelerin kütle

transferi ile aktarımı artmaktadır (Vinatoru, 2001). Bu nedenle ultrason destekli ekstraksiyonun gelecekteki uygulamalar için önemli bir potansiyele sahip olacağı görülmektedir (Vinatoru, 2001; Wu ve diğ., 2001; Li ve diğ., 2004).

Doğal kaynaklardan yeni kimyasal bileşikler arayışı hem gıda katkı maddesi olarak hem de tıpta tedavi için kullanımı açısından yüzyıllardır etkin bir çalışma alanıdır. Bu bağlamda, geleneksel tekniklere göre fitokimyasalları daha hızlı bir şekilde ekstrakte etme, analiz etme ve ayırma zorunluluğu vardır. Bunun için denenmiş ve test edilmiş yöntemlerden ikisi ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE) sistemlerdir. Ultrasonik destekli ekstraksiyon daha eskidir ve genellikle çözücü ekstraksiyonunu hızlandırma yöntemi, mikrodalga destekli ekstraksiyon ise bir çözücüye ihtiyaç duymadan uçucu bitki bileşenlerinin izolasyonu için özel uygulamalara sahip nispeten yeni bir teknolojidir. Analitik amaçlar için, her ikisi de çok başarılıdır ve bazı durumlarda hedef metabolitlerin izolasyonunu iyileştirmek için kullanılmıştır. Ultrason destekli ekstraksiyonun büyük ölçekli sistemleri mevcut iken mikrodalga ekstraksiyonu hala gelişim aşamasındadır.

Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Sistemlerinde ultrasonik etkiye maruz kalan bitkisel dokularda fiziksel değişimler meydana gelmektedir (Mason, 1998). Ultrason etkisiyle hücre duvarları hasar görerek, doku içindeki ekstrakte edilebilir bileşenlerin ortaya çıkması hızlandırılmakta böylece difüzyon da kolaylaşmaktadır. Çözgen fazına bu maddelerin kütle transferi ile aktarımı artmaktadır (Toma vd., 2001). Bu nedenle ultrason destekli ekstraksiyonun gelecekteki uygulamalar için önemli bir potansiyele sahip olacağı görülmektedir (Toma vd., 2001; Wu vd., 2001; Li vd., 2004). Lianfu ve Zelog (2008) ultrason ve mikrodalga kombinasyonun domatesten likopen ekstrakte etmede kullanmışlar ve iki yöntemin bir arada kullanılmasının sadece ultrason uygulamasına göre daha avantajlı olduğunu belirtmişlerdir.

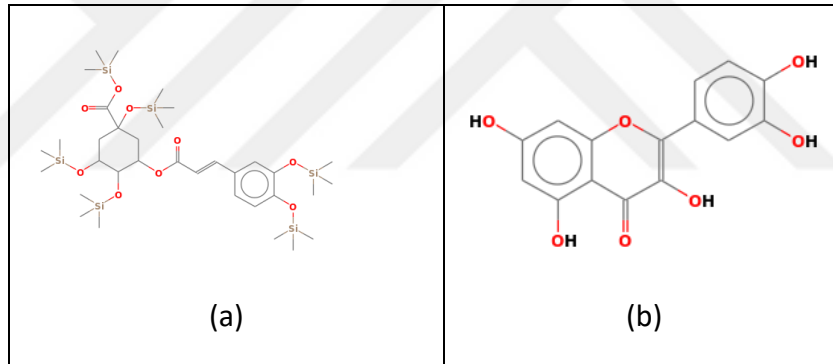
Bu tez kapsamında ise; örneklerde toplam antosiyanin madde miktarı geleneksel yöntem ile ekstraksiyonunda madde 0-8,23 mmol troloks/g, ultrasonik destekli ekstraksiyon ile 0,0017-3,0376 mmol troloks/g, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile 0,0017-3,1348 mmol troloks/g aralığında bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarları ise geleneksel yöntem ile 0,0076-0,1129 mmol troloks/g, ultrasonik yöntem ile 0,0107-0,1076 mmol troloks/g, mikrodalga ekstraksiyonu ile 0,0102-0,1430 mmol troloks/g arasında tespit edilmiştir. Toplam flavanoid madde açısından geleneksel yöntem 0-0,1229 mmol troloks/g, ultrasonik yöntem 0,0044-0,4150 mmol troloks/g, mikrodalga yönteminde ise 0,0041-0,1663 mmol troloks/g arasında

belirlenmiştir. Bu sonuçlar takson düzeyinde incelendiğinde anlamlı fark bulunmamakla beraber, geleneksel yöntem ile en yüksek toplam antosiyanin değerleri, mikrodalga yöntemi ile toplam fenolik madde değerleri ve ultrasonik ekstraksiyon ile en yüksek toplam flavanoid madde değerlerine ulaşılmıştır.

Ekstraksiyon uygulamasında metabolit sınıfları çözücü miktarı ve cinsi, sıcaklık, güç veya fiziksel etmenler nedeniyle kantitatif olarak değişim göstermektedir. Bu kapsamda *Cerasus* taksonları antosiyanin, flavanoid ve fenolik bileşenleri üç farklı yöntem ile ekstrakte edilmiştir (Geleneksel, Mikrodalga, Ultrasonik). Antosiyaninlerin, ultrasonik ve mikrodalga ekstraksiyonunda yüksek ısıya maruz kalması bozunmalara sebep olmuş, geleneksel ekstraksiyonunda kantitatif olarak daha yüksek tespit edilmiştir. Toplam fenolik ve flavanoid değerleri açısından ise mikrodalga ekstraksiyonu ışınların yaydığı sıcaklık etkisi nedeniyle daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Ekstraksiyonda zaman parametresinin de çok önemli olduğu bilinmektedir, bu kapsamda geleneksel ekstraksiyon hem uzun sürmesi hem de ekipman maliyeti nedeniyle dezavantaj yaratmaktadır. Mikrodalga ekstraksiyonun çok kısa zamanda ekstrakte edebilme yeteneği sayesinde potansiyel vadettiği tespit edilmiş olup, meyve kabuğu kalın ve yüksek selüloz içerikli bitkilerde ise daha yüksek metabolit ekstraksiyonu için ultrasonik destekli ekstraksiyonun daha kullanılabilir olduğu belirlenmiştir.

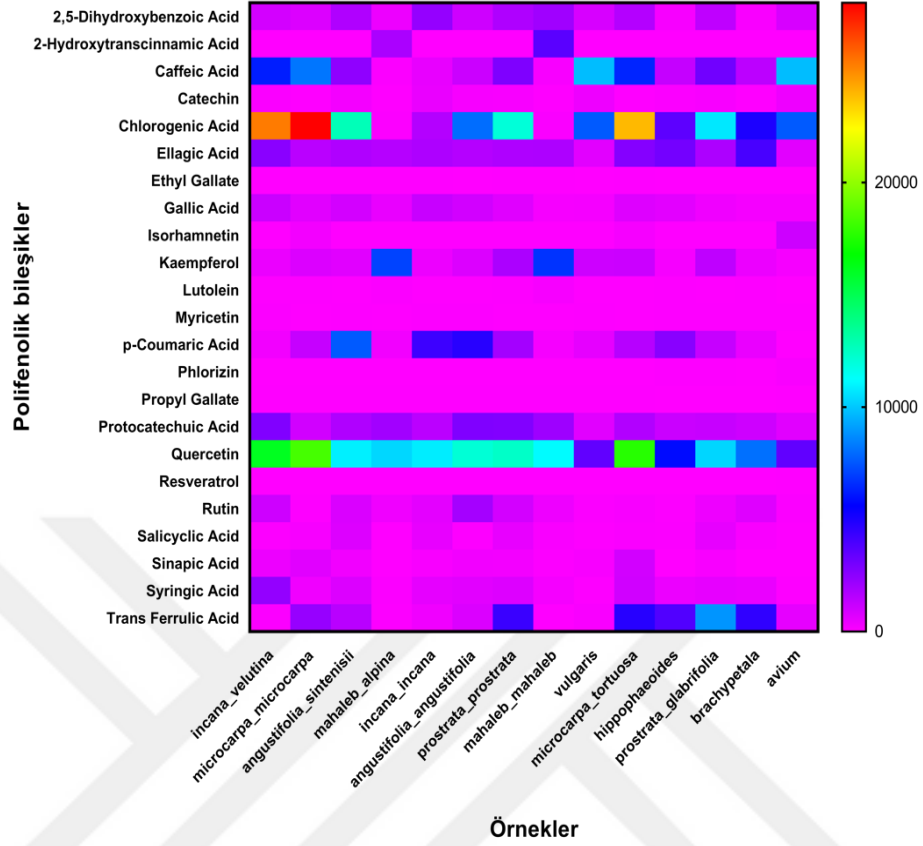
Çeşitli bitki türlerinde 8.000'den fazla polifenolik bileşik tanımlanmıştır. Bütün bitki fenolik bileşikleri, ortak bir ara ürün olan fenilalaninden veya yakın bir öncü bileşik olan şikimik asitten türetilir. Öncelikle bunlar, hidroksil gruplarına bağlı bir veya daha fazla şeker grubu ile konjuge formlarda ortaya çıkar, ancak şekerin (polisakkarit veya monosakkarit) bir aromatik karbona doğrudan bağlı da vardır. Karboksilik ve organik asitler, aminler, lipitler ve diğer fenollerle bağlanma gibi farklı bileşiklerle birleşme de yaygındır. Polifenoller, içerdikleri fenol halkalarının bir fonksiyonu olarak ve bu halkaları birbirine bağlayan yapısal elemanlar temelinde farklı gruplara sınıflandırılabilir. Ana sınıflar fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler ve ligninlerdir. Fenoliklerin dokudaki bitkilerde, hücresel ve alt hücresel seviyelerde dağılımı eşit değildir. Çözünmeyen fenolikler hücre duvarlarında bulunurken, çözünebilir fenolikler bitki hücre vakuollerinde bulunur. Çok sayıda faktör bitkilerin polifenol içeriğini etkiler, bunlar hasat sırasındaki olgunluk derecesi, çevresel faktörler, işlenme ve depolanma gibi faktörlerdir. Gıdaların polifenolik içeriği çevre faktörlerinden ve ayrıca toprak tipi, güneşe maruz kalma, yağış vb. gibi faktörlerden büyük ölçüde etkilenir. Ayrıca olgunluk derecesi, çeşitli

polifenollerin konsantrasyonlarını ve oranlarını önemli ölçüde etkiler. *Cerasus* taksonlarındaki fenolik bileşiklerin içeriği bulgular başlığında Tablo 17'de gösterilmiştir. Sonuçlar, tüm taksonlarda 2,5 dihidroksi benzoik asit, kafeik asit, rutin, kateşin, epikateşin, klorojenik asit, ellajik asit, gallik asit, izoramnetin, kaemferol, lutolein, mirisetin, kersetin, syrinjik asit ve trans ferulik asitin varlığını göstermiştir. 2-hidroksi trans sinamik asit sadece *Cerasus mahaleb* var. *mahaleb* ve *Cerasus mahaleb* var. *alpina* taksonlarında tespit edilmiştir. Phlorizin ise *Cerasus hippophaeoides*, *Cerasus prostrata* var. *glabrifolia*, *Cerasus brachypetala* ve *Cerasus avium* taksonlarında belirlenmiştir. Resveratrol maddesinin de *Cerasus avium*'a spesifik olduğu tespit edilmiş olup diğer taksonlardan farklı olarak para kumarik asiti ihtiva etmediği görülmüştür. Ekstraksiyon verimi nedeniyle, taksonların polifenolik bileşiklerin içeriği, Gonzalez-Gomez ve diğ., (2009) ve Usenik ve diğ., (2008) yaptıkları çalışmalarda elde edilen sonuçlarına kıyasla daha yüksektir. Bütün taksonlarda kersetin (Şekil 31) 3469 – 18297 mg/kg aralığında, klorojenik asit (Şekil 31) ise 64-25296 mg/kg aralığında majör bileşikler olarak tespit edilmiştir.



Şekil 31: Kersetin ve klorojenik asit moleküler yapıları.

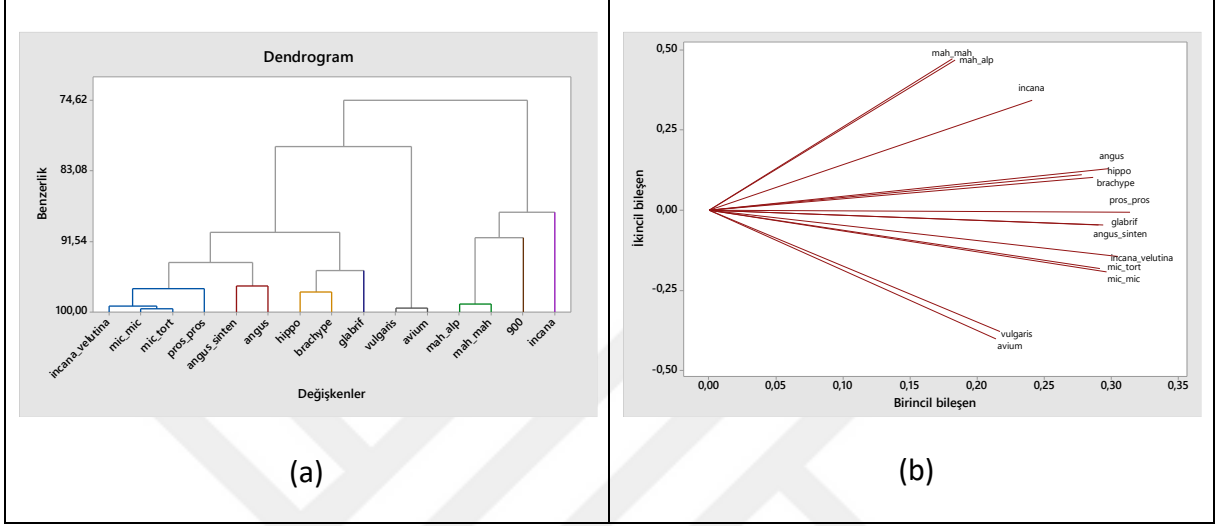
Gerçekleştirilen heat map analizinde bazı metabolitlerin bazı taksonlara spesifik olarak kantitatif değerlerinin fazla olduğu görülmüştür (Şekil 32). Kafeik asitin endemik bir bitki olan *Cerasus incana* var. *velutina*'ya spesifik olarak yüksek çıktığı, aynı şekilde *Cerasus microcarpa* var. *microcarpa* ve *Cerasus microcarpa* var. *tortuosa* taksonlarında yüksek oranda ihtiva ettiği tespit edilmiştir. Polifenolik madde toplam içeriğine bakıldığında *Cerasus microcarpa* türlerinin en yüksek toplam polifenol içeriğine sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 32: *Cerasus* taksonlarının polifenolik miktarları sıcaklık haritası analizi.

Tat, koku ve renk gibi duyular; bir organizmanın kimyası hakkında bilgi toplamak ve böylece onu önem ve alaka açısından sınıflandırmak için yüzyıllardır insanlar tarafından kullanılmaktadır. Aslında insanoğlunun, bitkilerle ilgili olarak çok uzun yıllardır kemotaksonomi biliminden yararlandığını söyleyebiliriz. ‘Kemotaksonomi (kimya-taksonomi)’ biyokimyasal bileşimlerdeki kanıtlanabilir farklılıklara ve benzerliklere göre organizmaları sınıflandırma ve tanımlama bilimidir. Biyoaktivite gösteren sekonder metabolitler, biyomarkır (belirli bir takson için spesifik olarak kabul edilen farmasötik bileşikler) olarak kullanıma potansiyeline sahiptir ve bu tip markır tanımlama ve izleme, tür, popülasyon ve birey düzeyinde kullanılabilir (Crockett ve Khan 2003). *Cerasus* taksonları polifenol içeriklerine göre hiyerarşik kümeleme ve temel bileşen analizleri gerçekleştirildi (Şekil 33), bu kapsamda Ward metodu kullanılarak hiyerarşik kümeleme analizinin varyeteleri aynı kümede birleştirdiği görüldü, temel bileşen analizi genel olarak benzer sonuçlar gösterse

de *Cerasus angustifolia* var. *angustifolia* ve *Cerasus angustifolia* var. *sintenisii* 'yi farklı kümелendirdiği saptandı.



Şekil 33: *Cerasus* taksonları hiyerarşik kümeleme analizi (a) ve temel bileşenler analizi (b).

Cerasus taksonlarının (*Cerasus avium* ve *Cerasus vulgaris* hariç) küçük meyveleri yüksek antioksidan kaynakları olduğu ortaya ortaya konmuştur. Antioksidan aktivite, bu çalışmada kullanılan örneklerde büyük farklılıklar sergilemiştir ve polifenolik bileşiklerin içerikleri ile yüksek derecede korelasyon göstermiştir. Bu çalışmada, *Cerasus* taksonlarının son derece zengin bir antioksidan kaynağı olduğunu ve gıda katkı maddesi olarak potansiyel kullanımının mümkün olduğunu göstermiştir.

Çalışmamız kapsamında, 30 fenolik bileşiğin eşzamanlı olarak belirlenmesi için yeni bir HPLC/MS/MS yöntemi geliştirilmiştir. Sonuçlar, yöntemin hızlı ve yüksek hassasiyetle uygulanabilir olduğunu, duyarlı olduğunu ve daha önce ayrılması zor olan bazı metabolitleri ayırabildiğini göstermiştir. Sonuçlarımız *Cerasus* taksonları arasında aynı bileşimlerin ancak farklı fenolik içeriğinin bulunduğunu göstermiştir. Naringin analiz edilen tüm kirazlarda saptanamazken, propil gallat ve etil gallat düşük seviyelerde tespit edilmiştir. Fenolik bileşiklerin PCA'sının, taksonların hepsinde majör metabolit olan klorojenik asit ve kersetin benzer taksonları gruplamak için etkili bir indeks olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca, antioksidan

aktiviteler ile fenolik bileşik içerikleri arasında güçlü korelasyonlar olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$).

Metabolitler, hücresel metabolizma sırasında kimyasal olarak dönüştürülen yapısal olarak çeşitli küçük moleküllerdir. On yıldan fazla bir süre önce, metabolomikler, yüksek verimli DNA sekanslama (genomik), mRNA ekspresyon profili (transkriptomik) ve protein profillemeye (proteomik) gibi iyi kurulmuş teknolojilerle birlikte, biyolojik sistemlerde karmaşık moleküler etkileşimler hakkındaki bilgi seviyemizi yükseltmek hızlanma potansiyeline sahip fonksiyonel genomikleri tamamlayıcı bir araç olarak ortaya çıktı. Bitki sekonder metabolit çalışmaları bu son 10 yılda müthiş bir ivme yakalayarak metabolit kütüphanelerinin kurulmasını hızlandırdı. Bu kapsamda QTOF-MS, MALDI-TOF-MS gibi sistemlerle bitki metabolomik çalışmalarının önü açılarak, daha geniş taramalar yapılmaya başlandı. Yakın geçmişe kadar HPLC sistemleri ile belli standartların kantitatif analizleri yapılıyorken, çeşitli metabolit kütüphaneleri yardımıyla bitki metabolitleri QTOF ve MALDI-TOF sistemleri ile kalitatif analizler yapılır hale gelindi. Bitki zenginliği açısından çok önemli bir konumda bulunan ülkemizin bitki metabolomik çalışmaları ile bu alanda yayın üretme potansiyeli çok yüksektir. Özellikle sistematik, genomik ve metabolomik çalışmalarının multidisipliner olarak uygulanması son derece önemlidir.

KAYNAKLAR

- Adanson, M. 1763. Familles des plantes. Vincent, Paris.
- Adanson, M. 1963. The Bicentennial of Michel Adanson's "Familles des plantes." George H. M. Lawrence (ed.). Part 1. xii, 392 pp.
- Al-Tameme HJM. Chemical profiles as chemotaxonomic tools for some species in Fabaceae in Iraq. Al-Qadisiyah Journal of Pure Science. 2015;20(1):88-99.
- American Heritage Dictionary. 2000. The American Heritage® Dictionary of the English Language, 4th ed. Houghton Mifflin Co.
- Angiosperm Phylogeny Group. 1998. Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG I Bot. J. Linn. Soc. 85:531–553.
- Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Bot. J. Linn. Soc. 141: 399–436.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., ve Karademir, S. E. 2004. "Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 7970 –7981.
- Barbero, G. F., Liaqid, A., Palma, M., Barroso, C.G. 2008. "Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers", Talanta 75: 1332–1337.
- Barthlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., Theisen, I., Wilhelmi, H., 1998. "Classification and terminology of plant epicuticular waxes." Botanical Journal of the Linnean Society, 126, 237-260.
- Bastos, C., Barros, L., Duenas, M., Calhella, R.C., Queiroz, M., Santos-Buelga, C., ve Ferreira I. 2015. "Chemical characterisation and bioactive properties of *Prunus avium* L.: The widely studied fruits and the unexplored stems", Food Chemistry 173 (2015) 1045–1053.
- Benedict, J. C., DeVore, M. L., & Pigg, K. B. (2011). *Prunus* and *Oemleria* (Rosaceae) flowers from the late early Eocene Republic flora of northeastern Washington State, USA. International Journal of Plant Sciences, 172(7), 948-958.
- Berker, K.I., Olgun F.A.O., Ozyurt, D., Demirata, B., ve Apak, R. 2013. "Modified Folin-Ciocalteu antioxidant capacity assay for measuring lipophilic antioxidants." Journal of Agricultural Food Chemistry, 61, 4783–4791.
- Bhargava VV, Patel SC, Desai KS. Importance of terpenoids and essential oils in chemotaxonomic approach. International Journal of Herbal Medicine. 2013;1(2):14– 21.

- Bianco, C. L., Fernández, J. A., Migliaro, D., Crinò, P., ve Egea-Gilabert, C. 2011. "Identification of F1 hybrids of artichoke by ISSR markers and morphological analysis." *Molecular breeding*, 27(2), 157-170.
- Birt, D. F., Hendrich, S., ve Wang, W. 2001. "Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*", 90(2–3), 157–177.
- Bonen, L. and J. Vogel 2001. The ins and outs of group II introns. *Trends in Genetics* . 6: 322–331.
- Bortiri, E., Oh, S. H., Jiang, J., Baggett, S., Granger, A., Weeks, C., ... & Parfitt, D. E. 2001. "Phylogeny and systematics of *Prunus* (Rosaceae) as determined by sequence analysis of ITS and the chloroplast trnL-trnF spacer DNA." *Systematic Botany*, 26(4), 797-807.
- Bouhadida, M., Martín, J. P., Eremin, G., Pinochet, J., Moreno, M. Á., & Gogorcena, Y. 2007. "Chloroplast DNA diversity in *Prunus* and its implication on genetic relationships." *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132(5), 670-679.
- Browicz, K. 1969. Sayfa 187-202. *Flora Iranica: Rosaceae No.66*. Editör: Rechinger, K. H. Avusturya: Akademische Druck Graz.
- Browicz, K. 1974. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol.4*. Editör: Davis, P.H. Edinburg: Edinburg University Press.
- Cao, J., Jiang, Q., Lin, J., Li, X., Sun, C., ve Chen, K. 2015. "Physicochemical characterisation of four cherry species (*Prunus* spp.) grown in China", *Food Chemistry* 173 (2015) 855–863.
- Capanoglu, E., Boyacioglu, D., Vos, R.C.H., Hall, R.D., ve Beekwilder J. 2011. "Procyanidins in fruit from Sour cherry (*Prunus Cerasus*) differ strongly in chainlength from those in Laurel cherry (*Prunus lauraCerasus*) and Cornelian cherry (*Cornus mas*)", *Journal of Berry Research* 1:137–146.
- Cevallos-Ferriz, S. R., ve Stockey, R. A. (1990). Vegetative remains of the Rosaceae from the Princeton chert (Middle Eocene) of British Columbia. *IAWA journal*, 11(3), 261-280.
- Chandra, A. K., ve De, N. 2010. "Goitrogenic/Antithyroidal potential of green tea extract in relation to catechin in rats", *Food and Chemical Toxicology*, 48(8–9), 2304–2311.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. ve Chern, J.C. 2002. "Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods", *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 10, No. 3, 2002, Pages 178-182.
- Chemat, S., Lagha, A., Aitamar, H., Bartels, P. V., & Chemat, F. 2004. "Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds." *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 188–195.
- Cherdshewasart, W., Subtang, S., ve Dahlan, W. 2007. "Major isoflavonoid contents of the phytoestrogen rich-herb *Pueraria mirifica* in comparison with *Pueraria lobata*", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43(2), 428–434.

- Chin, S. W., Shaw, J., Haberle, R., Wen, J., & Potter, D. 2014. "Diversification of almonds, peaches, plums and cherries—Molecular systematics and biogeographic history of *Prunus* (Rosaceae)". *Molecular phylogenetics and evolution*, 76, 34-48.
- Cronquist, A. 1981. *An integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia
- Dahlgren, R. M. T. 1980. A revised system of classification of the angiosperms. *Bot. J. Linn. Soc.* 80:91–124.
- Davis, P.H. 1974. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol.4*. Editör: Davis, P.H. Edinburg: Edinburg University Press.
- Dayrat, B. 2005. "Towards integrative taxonomy". *Biological Journal of the Linnean Society*, 85(3), 407-415.
- Dong, W., Liu, J., Yu, J., Wang, L. & Zhou, S. Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding. *PLOS ONE* 7, e35071 (2012).
- Dong, W., Xu, C., Li, C., Sun, J., Zuo, Y., Shi, S., Cheng, T., Guo, J., ve Zhou, S. 2015. "ycf1, the most promising plastid DNA barcode of land plants". *Scientific reports*, 5.
- Downie, S. R., & Palmer, J. D. (1992). Use of chloroplast DNA rearrangements in reconstructing plant phylogeny. In *Molecular systematics of plants* (pp. 14-35). Springer, Boston, MA.
- Dönmez, A. A. ve Yıldırım, Ş. 2000. Taxonomy of the Genus *Prunus* L. (Rosaceae) in Turkey, *Türk J Bot* 24:187-202.
- Dönmez, A. A., Yıldırım, Ş. 1999. "*Cerasus brachypetala* Boiss. var. *brachypetala* (Rosaceae), a new variety for the flora of Turkey", *Ot Sistemik Botanik Dergisi*, 6 (1): 13-16.
- Dönmez, A.A. 1997. *Türkiye Prunae (Rosaceae) tribusunun revizyonu*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Endress, P. K., Baas, P., & Gregory, M. 2000. "Systematic plant morphology and anatomy: 50 Years of progress". *Taxon*, 401-434.
- Erol, O., Küçüker, O., & Üzen, E. 2008. "Corm tunic morphology of Turkish Crocoideae (Iridaceae) and their systematic significance". *Nordic Journal of Botany*, 26(1-2), 66-73.
- FAOSTAT. (2018). Production database from the Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved from <http://www.fao.org/faostat/>.
- Farid, R., Rezaieyazdi, Z., Mirfeizi, Z., Hatef, M. R., Mirheidari, M. ve Mansouri, H. 2010. "Oral intake of purple passion fruit peel extract reduces pain and stiffness and improves physical function in adult patients with knee osteoarthritis", *Nutrition Research*, 30(9), 601–606.

- Forman, L. & Bridson, D., 1998, The herbarium handbook, Lubrecht & Cramer Ltd.
- Franceschi, V. R., & Horner, H. T. 1980. "Calcium oxalate crystals in plants". The Botanical Review, 46(4), 361-427.
- Franceschi, V. R., & Nakata, P. A. 2005. "Calcium oxalate in plants: formation and function". Annu. Rev. Plant Biol., 56, 41-71.
- Fuleki, T. ve Francis, F.J. 1968. "Purification of Cranberry Anthocyanins", Journal of Food Science, Volume 33, Issue 3, pages 266–274.
- Garofulic, I.E., Dragovic-Uzelac, V., Jambrak, R.A., ve Jukic, M. 2013. "The effect of microwave assisted extraction on the isolation of anthocyanins and phenolic acids from sour cherry Marasca (*Prunus Cerasus* var. marasca)", Journal of Food Engineering, Volume 117, Issue 4, Pages 437–442.
- Gilani, S. A., Qureshi, R. A., Khan, A. M., & Potter, D. 2010. "A molecular phylogeny of selected species of genus *Prunus* L. (Rosaceae) from Pakistan using the internal transcribed spacer (ITS) spacer DNA". African Journal of Biotechnology, 9(31), 4867-4872.
- Güner, A. 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (1. Basım) İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları Flora Dizisi 1.
- Han, K. K., Soares, J. M., Jr., Haidar, M. A., de Lima, G. R., ve Baracat, E. C. 2002. "Benefits of soy isoflavone therapeutic regimen on menopausal symptoms", Obstetrics and Gynecology, 99(3), 389.
- Hao DC, Huang BL, Chen SL et al. Evolution of the chloroplast trnL-trnF region in the gymnosperm lineages Taxaceae and Cephalotaxaceae. Biochem Genet 47: 351-369, 2009.
- Hausner, G., Olson, R., Simon, D., Johnson, I., Sanders, E. R., Karol, K. G., McCourt, R. M. and Zimmerly, S. 2006. Origin and evolution of the chloroplast trnK (matK) intron: A model for evolution of group II intron RNA structures. Molecular Biology and Evolution 23(2): 380-391.
- Herrera, M.C. ve Castro, L.M.D. 2005. "Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection", Journal of Chromatography A 1100:1-7.
- Hillis, D. M. 1987. "Molecular versus morphological approaches to systematics". Annual review of Ecology and Systematics, 23-42.
- Ignat, I., Volf, I., ve Popa, V. 2011. "A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables", Food Chemistry 126:1821–1835.
- Jones B, Luchsinger A. Plant systematics. Mc-Graw Hill Book Co. New York; 1987.

- Jušev, A. 1970. "Some anatomical characteristics of the leaves of cherry varieties of differing origin." Sborn. Trud. Aspirant. molod. nauc. Sotrud. vses. nauc.-issled. Inst. Rasten.(Rec. Wk. Postgrad, jun. Sci. All-Un. sci.-res. Inst. Pl. Industr., 15, 515-19.
- Jussieu, Antoine Laurent de. 1789. *Genera plantarum*.
- Kalia A. Textbook of Industrial Pharmacognosy. 6th ed, Navneet Publication, Mumbai. 2011;131-162.
- Kalkman, C. 2004. "Rosaceae". Flowering plants dicotyledons. Editor: Kubitzki, K. Berlin: Springer-Verlag.
- Kato, S., Matsumoto, A., Yoshimura, K., Katsuki, T., Iwamoto, K., Tsuda, Y., ... & Yoshimaru, H. 2012. "Clone identification in Japanese flowering cherry (*Prunus* subgenus *Cerasus*) cultivars using nuclear SSR markers". *Breeding science*, 62(3), 248.
- Khadivi-Khub, A., Zamani, Z., Fattahi, R., & Wünsch, A. 2014. "Genetic variation in wild *Prunus* L. subgen. *Cerasus* germplasm from Iran characterized by nuclear and chloroplast SSR markers." *Trees*, 28(2), 471-485.
- Kikuchi, S. et al. Uncovering the protein translocon at the chloroplast inner envelope membrane. *Science* 339, 571–574 (2013).
- Kirakosyan, A., Seymour, M.E., Noon, K.R., Llanes, U., Kaufman, P.B., Warber, S.L. ve Bolling, S.F. 2009. "Chemical profile and antioxidant capacities of tart cherry products", *Food Chemistry* 115 (2009) 20–25.
- Kirakosyan, A., Seymour, M.E., Noon, K.R., Llanes, U., Kaufman, P.B., Warber, S.L. ve Bolling, S.F. 2010. "Interactions of antioxidants isolated from tart cherry (*Prunus Cerasus*) fruits", *Food Chemistry* 122 (2010) 78–83.
- Kress, W. J. (2017). Plant DNA barcodes: Applications today and in the future. *Journal of systematics and evolution*, 55(4), 291-307.
- Kris-Etherton, P. M., ve Keen, C. L. 2002. "Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health", *Current Opinion in Lipidology*, 13(1), 41.
- Kumar, P., Gupta, V. K., Misra, A. K., Modi, D. R., & Pandey, B. K. (2009). Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant omics*, 2(4), 141.
- Lafontaine, D. L., & Tollervey, D. (2001). The function and synthesis of ribosomes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2(7), 514-520.
- Lako, J., V. Trenerry, C., Wahlqvist, M., Wattanapenpaiboon, N., Sotheeswaran, S., Premier, R. 2007. "Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods," *Food Chemistry* 101:1727–1741.
- Lee, J., Durst, R.W. ve Wrolstad, R.E. 2005. "Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH

- Differential Method: Collaborative Study”, *Journal of AOAC International*, Volume 88, Number 5, September 2005, pp. 1269-1278(10).
- Lee, S., & Wen, J. 2001. "A phylogenetic analysis of *Prunus* and the Amygdaloideae (Rosaceae) using ITS sequences of nuclear ribosomal DNA". *American Journal of Botany*, 88(1), 150-160.
- Lersten, N. R., & Horner, H. T. 2000. "Calcium oxalate crystal types and trends in their distribution patterns in leaves of *Prunus* (Rosaceae: Prunoideae)". *Plant Systematics and Evolution*, 224(1-2), 83-96.
- Li, W., Li, O., Zhanga, A., Li, L., Hao, J., Jin, J., ve Yin, S. 2014. “Genotypic diversity of phenolic compounds and antioxidant capacity of Chinese dwarf cherry (*Cerasus humilis* (Bge.) Sok.) in China”, *Scientia Horticulturae* 175 (2014) 208–213
- Lijun, W. ve Curtis, L.W. 2006. “Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants”, *Trends Food Sci Technol.* 17:300–312.
- Liu, Z. Y., Xing, J. F., Chen, W., Luan, M. W., Xie, R., Huang, J., Xiao, C. L. 2019. MDR: an integrative DNA N6-methyladenine and N4-methylcytosine modification database for Rosaceae. *Horticulture research*, 6(1), 1-7.
- Linnaeus, C. 1735. *Systema Natural*.
- Lipscomb, D., Platnick, N., Wheeler, Q., 2003. "The intellectual content of taxonomy: a comment on DNA taxonomy". *Trends Ecol. Evol.* 18(2), 64–66.
- Lu, J., Wu, D., Zheng, Y., Hu, B., Zhang, Z. ve Shan, Q. 2010. “Quercetin activates AMP activated protein kinase by reducing PP2C expression protecting old mouse brain against high cholesterol induced neurotoxicity”, *The Journal of Pathology*, 222(2), 199–212.
- Maddison, W. P. (1997). Gene trees in species trees. *Systematic biology*, 46(3), 523-536.
- Majumdar, S., ve Srirangam, R. 2010. “Potential of the bioflavonoids in the prevention/treatment of ocular disorders”. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62(8), 951–965.
- Manthey, J. A., Guthrie, N., ve Grohmann, K. 2001. “Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation”, *Current Medicinal Chemistry*, 8(2), 135–153.
- Massatti, R., Reznicek, A. A., & Knowles, L. L. 2016. Utilizing RADseq data for phylogenetic analysis of challenging taxonomic groups: A case study in *Carex* sect. *Racemosae*. *American Journal of Botany*, 103(2), 337-347.
- Mennen, L. I., Sapinho, D., de Bree, A., Arnault, N., Bertrais, S., ve Galan, P. 2004. “Consumption of foods rich in flavonoids is related to a decreased cardiovascular risk in apparently healthy French women”, *The Journal of Nutrition*, 134(4), 923–926.

- Middleton, E., Kandaswami, C., ve Theoharides, T. C. 2000. "The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer", *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673–751.
- Moosmann, B., ve Behl, C. 2002. "Antioxidants as treatment for neurodegenerative disorders", *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 11(10), 1407–1435.
- Murray, M. G., & Thompson, W. F. 1980. "Rapid isolation of high molecular weight plant DNA". *Nucleic acids research*, 8(19), 4321–4326.
- Mustapaa, A.N., Martina, A.N., Mato, R.B., ve Cocero, M.J. 2015. "Extraction of phytocompounds from the medicinal plant *Clinacanthus nutans* Lindau by microwave-assisted extraction and supercritical carbon dioxide extraction", *Industrial Crops and Products* 74 (2015) 83–94.
- Nakata, P. A. 2012. "Plant calcium oxalate crystal formation, function, and its impact on human health". *Frontiers in biology*, 7(3), 254–266.
- Nas, M. N., Bolek, Y., & Bardak, A. 2011. "Genetic diversity and phylogenetic relationships of *Prunus microcarpa* CA Mey. subsp. *tortosa* analyzed by simple sequence repeats (SSRs)". *Scientia Horticulturae*, 127(3), 220–227.
- Neuhaus H. and G. Link 1987. The chloroplast trnA lys (UUU) gene from mustard (*Sinapis alba*) contains a class II intron potentially coding for a maturase-related polypeptide. *Current Genetics* 11: 251–257.
- Ohta, S., Katsuki, T., Tanaka, T., Hayashi, T., Sato, Y. I., & Yamamoto, T. 2005a. "Genetic variation in flowering cherries (*Prunus* subgenus *Cerasus*) characterized by SSR markers". *Breeding science*, 55(4), 415–424.
- Ohta, S., Nishitani, C., & Yamamoto, T. 2005b. "Chloroplast microsatellites in *Prunus*, Rosaceae". *Molecular Ecology Notes*, 5(4), 837–840.
- Olden, E. J., & Nybom, N. 1968. "On the origin of *Prunus Cerasus* L." *Hereditas*, 59(2-3), 327–345.
- Ovesná, J., & Hodek, J. 2009. "Detection of Transgenic Papaya Lines: Extraction Protocol Optimisation and Verification of DNA Quality by PCR Assay." *Czech journal of food sciences*, 27, 75–81.
- Ozyurt, D., Demirata, B., ve Apak, R. 2010. "Modified cerium(IV)-based antioxidant capacity (CERAC) assay with selectivity over citric acid and simple sugars", *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 282–288.
- Pacifico, S., Di Maro, A., Petriccione, M., Galasso, S., Piccolella, S., Antonella M-A., Giuseppe, D., Scortichini, M., ve Monaco, P. 2014. "Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of autochthonous *Prunus avium* cultivars from Campania Region", *Food Research International* 64:188–199.

- Pacifico, S., Di Maro, A., Petriccione, M., Galasso, S., Piccolella, S., Antonella, M.A., Giuseppe, D., Scortichini, M. Ve Monaco, P. 2014. "Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of autochthonous *Prunus avium* cultivars from Campania Region", Food Research International 64 (2014) 188–199.
- Padilla, M., Palma, M. ve Barroso. G., 2005. "Determination of phenolics in cosmetic creams and similar emulsions", J. Chromatogr. A 1091:83–88.
- Palma, M. ve Barroso. C.G. 2002. "Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products" Anal. Chim. Acta 458:119–130.
- Pellegrini R.R., Proteggente, N., , Pannala, A., Yang, A. ve Rice-Evans, C. 1999. "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", Free Radical Biology & Medicine, 26, 1231-1237.
- Post, G. E. 1932. Flora of Syria, Palestine and Sinai Vol.1. Beirut: American Press.
- Potter, D., Eriksson, T., Evans, R. C., Oh, S., Smedmark, J. E. E., Morgan, D. R., ... & Campbell, C. S. 2007. "Phylogeny and classification of Rosaceae" Plant systematics and evolution, 266(1-2), 5-43.
- Potter, D., Still, S. M., Grebenc, T., Ballian, D., Božič, G., Franjić, J., ve Kraigher, H. 2007. "Phylogenetic relationships in tribe Spiraeae (Rosaceae) inferred from nucleotide sequence data." Plant Systematics and Evolution, 266 (1-2), 105-118.
- Raman, V., Horner, H. T., & Khan, I. A. 2014. "New and unusual forms of calcium oxalate raphide crystals in the plant kingdom." Journal of plant research, 127(6), 721-730.
- Reynders, S., & Salesses, G. 1989. "Study of the genetic relationships within the subgenus *Prunophora*. Restriction maps of the ribosomal genes in *P. cerasifera* and *P. spinosa*. In IV International Symposium on Plum and Prune" Genetics, Breeding and Pomology 283 (pp. 17-26).
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., ve Paganga, G. 1996. "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids", Free Radical Biology & Medicine, 20, 933-956.
- Rostagno, M.A., Palma, M., Barroso, C.G. 2003. "Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones", J. Chromatogr. A 1012:119–128.
- Ruas, P. M., Ruas, C. F., Rampim, L., Carvalho, V. P., Ruas, E. A., ve Sera, T. 2003. "Genetic relationship in *Coffea* species and parentage determination of interspecific hybrids using ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) markers." Genetics and molecular biology, 26(3), 319-327.
- Sathyamurthy B. BTH-103 General Microbiology (Theory). The Imprint. 2014; 218.
- Scotland, R. W., Olmstead, R. G., & Bennett, J. R. 2003. "Phylogeny reconstruction: the role of morphology". Systematic Biology, 539-548.

- Semagn, K., Bjørnstad, Å., & Ndjondjop, M. N. 2006. "An overview of molecular marker methods for plants". *African Journal of Biotechnology*, 5(25).
- Shahi-Gharahlar, A., Zamani, Z., Fatahi, R., & Bouzari, N. 2011. "Estimation of genetic diversity in some Iranian wild *Prunus* subgenus *Cerasus* accessions using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers". *Biochemical Systematics and Ecology*, 39(4), 826-833.
- Shi, S., Li, J., Sun, J., Yu, J., & Zhou, S. (2013). "Phylogeny and classification of *Prunus sensu lato* (Rosaceae)". *Journal of integrative plant biology*, 55(11), 1069-1079.
- Shui, G. ve Leong, L.P. 2002. "Seperation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 977, pp: 89-96.
- Singh R. Chemotaxonomy: A tool for plant classification. *Journal of Medicinal Plant Studies*. 2016;4(2):90–93.
- Smith, P. Chemical evidence in plant taxonomy. IN: Street, H. *Essays in plant Taxonomy*. Academic Press, London; 1978.
- Soni, M., Patidar, K., Jain, D. ve Jain, S. 2010. "Ultrasound assisted extraction (UAE): A novel extraction technique for extraction of neutraceuticals from plants", *J. Pharm. Res.* 3:636–638.
- Stace C. *Plant Taxonomy and Biosystematics*. Edwad Arnold (Publishers) Ltd. London; 1980.
- Stearn, W. T., 1991. *Botanical Latin history, grammar, syntax, terminology and vocabulary*. (4. Basım). İngiltere: Redwood
- Sun, Y., Liao, X., Wang, Z., Hu, X. ve Chen, F. 2007. "Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanin of extracts using high-performance liquid chromatography – mass spectrometry", *European Food Research and Technology* 225, 511–523.
- Szikriszt, B., Doğan, A., Ercisli, S., Akcay, M. E., Hegedűs, A., & Halász, J. 2013. "Molecular typing of the self-incompatibility locus of Turkish sweet cherry genotypes reflects phylogenetic relationships among cherries and other *Prunus* species". *Tree genetics & genomes*, 9(1), 155-165.
- Taberlet, P., Gielly, L., Pautou, G., ve Bouvet, J. 1991. "Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA." *Plant molecular biology*, 17(5), 1105-1109.
- Takhtajan, A. 1997. *Diversity and Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press, New York.
- Thorne, R. F. 1992. Classification and geography of flowering plants. *Bot. Rev.* 58: 225–348.
- Thorne, R. F. 2000. The classification and geography of the flowering plants: dicotyledons of the class Angiospermae. *Bot. Rev.* 66: 441–647.

- Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Cremin, P., Waterhouse, A.L., Hess-Pierce, B. ve Kader, A.A. 2001. "HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4748–4760.
- Townsend, C.C., Guest, E. ve Meikle, R.D. 1966. "*Cerasus*". *Flora of Iraq* Vol. 2. Glasgow: University Press.
- Toydemir, G., Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Boyacıoglu, D., Vos, R.C.H., Hall, R.D. ve Beekwilder, J. 2013. "Changes in sour cherry (*Prunus Cerasus* L.) antioxidants during nectar processing and in vitro gastrointestinal digestion", *Journal of Functional Foods*, Volume 5, Issue 3, Pages 1402–1413.
- Vavilov, N. I. 1951. "The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants." *Soil Science*, 72(6), 482.
- Will, K. W., & Rubinoff, D. 2004. "Myth of the molecule: DNA barcodes for species cannot replace morphology for identification and classification". *Cladistics*, 20(1), 47-55.
- Wink M, Waterman P. Chemotaxonomy in relation to molecular phylogeny of plants. In: "Biochemistry of plant secondary metabolism" (M. Wink, ed.), Sheffield Academic Press and CRC Press. *Annual Plants Review*. 1999;2:300- 341.
- Wojdyło, A., Nowicka, P., Laskowski, P., ve Oszmiański, J. 2014. "Evaluation of Sour Cherry (*Prunus Cerasus* L.) Fruits for Their Polyphenol Content, Antioxidant Properties, and Nutritional Components", *J. Agric. Food Chem*, 62, 12332–12345.
- Yaman, B. 2006. "Variations in quantitative vessel element characters of *Cerasus avium* (Rosaceae) wood in Euxine province of Turkey". In IV Balkan Botanical Congress (Book of abstracts). Sofia–Bulgaria. pp (Vol. 24).
- Yıldırım, Ş. 1993. "*Cerasus erzincanica* (Rosaceae), a new species from Turkey" *Candollea*, 48 (1): 115-118.
- Yıldırım, Ş., Dönmez, A. 1997. Türkiye Prunae (Rosaceae) Tribusunun Revizyonu, TBAG-1284 Tübitak Proje Raporu, Ankara
- Yılmaz, C. ve Gökmen, V. 2013. "Compositional characteristics of sour cherry kernel and its oil as influenced by different extraction and roasting conditions", *Industrial Crops and Products*, Volume 49, Pages 130–135.
- Yılmaz, K. U., Ercişli, S., Asma, B. M., Doğan, Y., & Kafkas, S. 2009. "Genetic relatedness in *Prunus* genus revealed by inter-simple sequence repeat markers". *HortScience*, 44(2), 293-297.
- Yu, J., XUE, J. H., ve ZHOU, S. L. 2011. "New universal matK primers for DNA barcoding angiosperms." *Journal of Systematics and Evolution*, 49(3), 176-181.
- Zhang, B., Yang, R. Ve Liu, C. 2008. "Microwave-assisted extraction of chlorogenic acid from flower buds of *Lonicera japonica* Thunb", *Separation and Purification Technology* 62, 480–483.

EKLER

DESKRİPSİYONLAR

Prunus prostrata Lab., ic. Pl. Syr. 1:15, t.6 (1791)

Basionym: *Cerasus prostrata* (Lab.) Ser. in D.C., prodr.: 2:538 (1825)

Synonym $\equiv$ *MicroCerasus prostrata* (Lab.) Roemer, syn. monogr. 2:93 (1847), = *Cerasus humilis* Moris (1827) Stirp. sard. el., 1: 17, syn. nov., $\equiv$ *Prunus humilis* (Moris) Colla (1834) Herb. Pedem., 2: 293., $\equiv$ *Prunus prostrata* var. *humilis* (Colla) Fiori (1924) Nuova Fl. Anal. Ital., 1: 734., = *Prunus prostrata* Lab. var. *glabrifolia* Moris, Fl. Sard. 2:14 (1840-1843), $\equiv$ *Cerasus prostrata* (Lab.) Ser. var. *glabrifolia* (Moris) Browicz Fl. Tur., 4:13 (1972), = *Cerasus prostrata* (Lab.) Ser. var. *discolor* Raulin, L'île de Crete, Botanique 446 (1869), $\equiv$ *Prunus prostrata* Lab. subsp. *discolor* (Raulin) O. Schwarz in Feddes Rep. 36:91 (1934), ic: Reichb., ic: Fl. Germ. 25: t. 89 (1913), = *Cerasus prostrata* (Lab.) Ser. var. *concolor* Boiss., Fl. Or. 2:648 (1872). Ic: Gartenflora 44:t. 1414 (1895), = *Prunus prostrata* Labill. subsp. *humilis* (Moris) Arrigoni, Parlatorea 8:55 (2006), syn. nov

Type: Lübnan dağları, Labillardiere G00437128 (Fotoğraf!)

Prostrat çalılar. Yapraklar genellikle obovat, eliptik, ovat, bazen baklavamsı, nadiren dairesel ya da oblong; petiyol uzunluğu 0,47-2,81 mm ($m1,35 \pm 0,56$); yaprak ucu genellikle obtus, sivri ya da yarı sivri, nadiren üçdişli; yaprak tabanı genellikle kuneat, attenuat, bazen dar kuneat, sivri, yamuk, dairesel, nadiren geniş kuneat ya da asimetrik; yaprak kenarları daima testere dişli; yaprak genişliği 2,68-8,87 mm ($m5,01 \pm 1,19$); yaprak uzunluğu 3,34-15,92 mm ($m9,62 \pm 2,53$); yaprak en-boy oranı 0,96-3,31 mm ($m1,93 \pm 0,43$). Çiçekler soliter/ikili; pedisel tüyleri glabroz, az pürüzlü ya da lanat; boyu 0,10-7,75 mm ($m1,81 \pm 2,03$); hipantiyum şekli silindirik; iç yüzeyi kaba tüylü ya da lanat ve dış yüzeyi glabroz ya da havlı; 2,61-6,13 mm ($m4,35 \pm 0,77$) boyunda; sepal şekli dar ovat; sepal kenarı tam, $\pm$ serrulat ya da $\pm$ dentat; sepal iç yüzey lanat, kaba tüylü, nadiren glabroz; dış yüzeyi glabroz, havlı; sepal boyu 1,63-3,15 mm ($m2,35 \pm 0,31$); petaller dar obovattan obovata, sırtta orta damar ipeksi tüylü, nadiren glabroz, pembe renkli; petal boyu 3,29-6,21 mm ($m4,81 \pm 0,63$); petal eni 1,05-2,91 mm ($m1,88 \pm 0,49$); petal boy/en oranı; 1,51-4,38 ($m2,73 \pm 0,77$) stilus ve ovaryum glabroz, lanat ya da villoz; stilus boyu 2,96-7,43 mm ($m5,52 \pm 1,00$); filament boyu 1,91-3,80 mm ($m2,67 \pm 0,52$). Drupa küresel, nadiren

kordat, tüylü ya da glabroz, kırmızı ya da bordo renkte; boyu 5,48-8,28 mm ($m7,16 \pm 0,76$); eni 6,66-9,62 mm ($m8,23 \pm 0,68$); en-boy oranı 0,72-1,11 ($m0,87 \pm 0,09$); Habitat Taşlık, taşlık yamaç, kayalık, çıplak yamaç, kayalık yamaç, 1028-2007 m, Çiçeklenme 4-7.

C. brachypetala Boiss. var. *bornmuelleri* (Schneider) Browicz

=*Prunus brachypetala* Walp., =*Cerasus boissieri* Pojark., =*Cerasus bornmuelleri* (C.K.Schneider) Woron., =*Cerasus brachypetala* Boiss., =*Cerasus incisa* Boiss., =*MicroCerasus prostrata* f. *brachypetala* (Boiss.) G.V. Eremin & A.A.Yushev, =*Prunus bornmuelleri* (C.K.Schneid.) Hand.-Mazz., =*Prunus brachypetala* var. *bornmuelleri* C.K.Schneider

Type: [N. Iraq] Kurdistania, in m. Sakri-Sakran (ad fines Pers.), 2100 m, Bornmüller 1036 (JE! LE).

Erken baharda çiçeklenen prostrat çalılar. Yapraklar genellikle obovat, ovat, oblong, bazen eliptik, baklava şeklinde, dairemsi, çok nadiren kaşıkı; yaprak ucu genellikle obtus, sivri, üçdişli; nadiren yuvarlak ya da akut; yaprak tabanı genellikle kuneat; bazen genişçe kuneat, yamuk, dairemsi; nadiren asimetrik, dar kuneat, obtus, sivri; yaprak kenarları testere dişli. Petiyol uzunluğu 1,79-5,38 mm ($m2,81 \pm 0,77$), yaprak genişliği 5,07-17,90 mm ($m10,43 \pm 2,72$), yaprak uzunluğu 9,27-25,3 mm ($m17,62 \pm 2,58$), en-boy oranı 1,11-2,68mm ($m1,75 \pm 0,37$). Çiçekler soliter ya da ikili; pedisel genellikle glabroz ya da nadiren az tüylü; hipantiyum şekli silindirik, iç ve dış yüzeyi glabroz ya da havlı; sepaller üçgen dar ovat ya da dar eliptik, sepal kenarı tam ya da serrat, sepal iç yüzeyi glabroz, nadiren villoz ya da lanat, dış yüzeyi havlı bazen glabroz; petal şekli dar obovat ya da eliptik-ovat, orta damar ipeksi tüylü; petal rengi pembe; stilus glabroz, ipeksi ya da villoz ve ovaryum glabroz ya da villoz. Pedisel boyu 0,10-13,00 mm ($m3,21 \pm 3,88$), hipantiyum boyu 1,85-5,89 mm ($3,96 \pm 1,24$), sepal boyu 1,17-3,42 mm ($m2,19 \pm 0,57$), petal boyu 3,69-7,23 mm ($m5,28 \pm 0,80$), petal eni 1,26-3,54 mm ($m2,13 \pm 0,60$), petal boy/en oranı 1,73-3,84 mm ($2,60 \pm 0,55$), stilus boyu 3,20-7,13 mm ($m5,57 \pm 0,95$), filament boyu 1,43-6,69 mm ($m3,24 \pm 1,44$). Drupa küresel ovat ya da yuvarlak, tüylü nadiren glabroz, bordo ya da kırmızı renkte; boyu 7,42-10,51 mm ($m9,22 \pm 1,07$), eni 8,16-10,61mm ($m9,07 \pm 0,73$), en-boy oranı 0,82-1,25 ($m1,02 \pm 0,13$). Habitat 1700-2300 m, KB yamaçlar, kaya yarıkları.

Cerasus incana var. *velutina* Browicz

Type: Türkiye: Kayseri: Talas; Ali Dağı, 1400 m, Balls 239 (holotype E00011263! iso. K!).

Yapraklar genellikle oblanceolat, oboovat ya da çok nadiren ovat; yaprak ucu sivri ya da obtus; yaprak tabanı dairemsi kuneat ya da genişçe kuneat; yaprak kenarları daima testere dişli; Petiyol uzunluğu 0,38-2,88 mm ($m_{1,62} \pm 0,58$); yaprak genişliği 12,55-19,54 mm ($m_{16,62} \pm 2,58$); yaprak uzunluğu 23,77-34,99 mm ($m_{28,83} \pm 3,79$); yaprak en-boy oranı 1,58-1,89 mm ($m_{1,74} \pm 0,09$). Çiçekler soliter, ikili ya da agregat; pedisel tüyleri lanat; pedisel boyu 0,24-2,34 mm ($m_{0,88} \pm 0,57$); hipantiyum şekli silindirik; hipantiyum boyu 3,90-5,21 mm ($m_{4,30} \pm 0,31$); iç yüzeyi villoz ve dış yüzeyi az çok havlı; sepal şekli dar ovat; sepal kenarı az çok dentat; sepal iç yüzeyi lanat tüylü; sepal boyu 1,94-2,59 mm ($m_{2,23} \pm 0,23$); dış yüzeyi az çok havlı; petaller ovat; pembe renkli; orta damar ipeksi tüylü; petal eni 1,29-2,02 mm ($m_{1,65} \pm 0,22$); petal boyu 3,08-5,74 mm ($m_{4,52} \pm 0,91$); petal boy/en oranı 2,03-3,95 mm ($m_{2,75} \pm 0,55$); stilus ve ovaryum villoz, stilus nadiren lanat; stilus boyu 4,59-7,76 mm ($m_{5,49} \pm 0,82$); filament boyu 1,65-2,70 mm ($m_{2,18} \pm 0,30$); Drupa küresel bazen kordat, tüylü ya da nadiren glabroz; kırmızı renkte; boyu 6,94-8,51 mm ($m_{7,66} \pm 0,43$); eni 8,31-9,27 mm ($m_{8,73} \pm 0,34$); en-boy oranı 0,89-1,04 mm ($m_{0,94} \pm 0,04$); Habitat Volkanik arazi, çarşak yamaçlar

Cerasus microcarpa

= *Cerasus antilbanotica* Post, = *Cerasus calycosa* (Aitch. & Hemsl.) Woronow, = *Cerasus diffusa* Boiss. & Haussk. ex Boiss., = *Cerasus furum* (Nábelek) Woronow, ≡ *Cerasus microcarpa* (C.A.Mey.) Boiss., ≡ *Cerasus microcarpa* (C.A.Mey.) K.Koch, = *Cerasus microcarpa* subsp. *diffusa* (Boiss. & Hausskn.) Browicz, = *Cerasus microcarpa* subsp. *tortuosa* (Boiss. & Hausskn.) Browicz, = *Cerasus microcarpa* var. *pubescens* Bornm., = *Cerasus orientalis* Spach, = *Cerasus tortuosa* Boiss. & Haussk. ex Boiss., ≡ *MicroCerasus microcarpa* (C.A.Mey.) Eremin & Yushev, = *MicroCerasus microcarpa* var. *diffusa* (Boiss. & Hausskn.) G.V. Eremin & A.A.Yushev, = *MicroCerasus microcarpa* var. *tortuosa* (Boiss. & Hausskn.) G.V.Eremin & A.A.Yushev, = *MicroCerasus orientalis* (Spach) M.Roem., = *Prunus antilbanotica* (Post) Dinsm., = *Prunus calycosa* Aitch. & Hemsl., = *Prunus diffusa* (Boiss. & Hausskn.) C.K.Schneid., = *Prunus furum* Nábelek, = *Prunus microcarpa* var. *pubescens* (Bornm.) Meikle, = *Prunus microcarpa* var. *tortuosa* (Boiss. & Hausskn.) C.K.Schneid.,

=*Prunus orientalis* (Spach) Walp., = *Prunus tortuosa* (Boiss. & Hausskn. ex Boiss.) Aitch. & Hemsl., = *Prunus tortuosa* (Boiss. & Hausskn.) K.H.Rechinger

Type: Beşparmak dağları, Kafkaslar C.A.Meyer LE

Dik, yayılıcı çalılar. Yapraklar genellikle ovat, eliptik, oblong, obovat, bazen dairesel, baklavamsı, nadiren yamuk; petiyol uzunluğu 1,06-11,95 mm ($m_{4,48} \pm 2,21$); yaprak ucu genellikle obtus, sivri, yarı sivri, bazen retus; yaprak tabanı genellikle kuneat, attenuat, yamuk, dar kuneat, sivri, nadiren geniş kuneat, obtus, dairesel, asimetrik; yaprak kenarları daima testere dişli; yaprak genişliği 2,72-25,62 mm ($m_{8,33} \pm 4,04$); yaprak uzunluğu 4,74-120,47 mm ($m_{16,42} \pm 7,87$); yaprak en-boy oranı 1,06-13,67 ($m_{2,11} \pm 0,81$). Çiçekler soliter/ikili, küme; pedisel glabroz ya da az pürüzlü; boyu 1,13-35,60 mm ($m_{11,05} \pm 9,99$); hipantiyum şekli silindirik; iç yüzeyi glabroz, az pürüzlü, havlı, villoza kadar ve dış yüzeyi glabrozdan az pürüzlüye; 2,56-6,03 mm ($m_{4,36} \pm 0,69$) boyunda; sepal şekli eliptik, eliptik ovat, dar ovat; sepal kenarı tam; sepal iç yüzey glabroz, havlı, fimbriyat; dış yüzeyi glabroz, havlı, fimbriyat; sepal boyu 1,42-4,89 mm ($m_{2,57} \pm 0,93$); petaller çok geniş obovat, glabroz, nadiren sırtta orta damar villoz, pembeden soluk pembeye; petal boyu 4,18-13,06 mm ($m_{6,56} \pm 2,86$); petal eni 2,05-11,46 mm ($m_{4,48} \pm 2,40$); petal boy/en oranı; 1,07-2,16 ($m_{1,55} \pm 0,27$) stilus ve ovaryum ovaryum glabroz, stilus nadiren az tüylü; stilus boyu 3,95-11,01 mm ($m_{6,34} \pm 2,14$); filament boyu 1,82-10,07 mm ($m_{3,96} \pm 2,07$). Drupa ovat, kordat ya da küresel, glabroz, sarı, turuncu, kırmızı renkte; boyu 5,65-11,39 mm ($m_{8,47} \pm 1,23$); eni 6,64-10,72 mm ($m_{8,06} \pm 0,81$); en-boy oranı 0,80-1,29 ($m_{1,05} \pm 0,11$); Habitat orman, taşlık, kayalık, yol kenarı, yamaç, taşlık çayır, *Paliurus spina cristii*, *Rosa* sp. ile, 872-1714 m, Çiçeklenme 3-5.

Prunus avium (L.) L.

Lectotype: Type: Herb. Burser XXIII: 60

20-30 m ye kadar ağaçlar, çapları 60 cm ye erişebilir, genellikle enine çatlaklı olan gövdelerde yaşlı ağaçlarda boyuna çatlaklar görülebilir. Yapraklar Genellikle baklava şeklinde ya da obovat; nadiren ovat, oblong, eliptik. Petiyol uzunluğu 8,33-49,67 mm ($m_{22,74} \pm 8,62$), yaprak genişliği 20,53-84,33 mm ($m_{47,46} \pm 14,05$), yaprak uzunluğu 29,66-148,35 mm ($m_{91,65} \pm 24,07$), en-boy oranı 1,43-2,70 ($m_{1,96} \pm 0,29$). Çiçekler soliter ya da ikili; pedisel glabros; hipantiyum testi şeklinde iç ve dış yüzeyi glabrous; sepaller dar eliptik, sepal kenarları tam, sepal iç ve dış yüzeyi glabros; petal şekli genişçe obovat, glabros, beyaz renklis tilus ve

ovaryum glabrous. Pedisel boyu 12,51-30,44 mm ($m_{18,46} \pm 5,71$), hipantiyum Boyu 3,78-6,20 mm ($m_{5,18} \pm 0,67$), sepal boyu 2,39-5,64 mm ($m_{3,94} \pm 1,01$) petal boyu 10,08-14,44 mm ($m_{11,34} \pm 1,43$), petal eni 6,44-9,77 mm ($m_{8,37} \pm 0,98$), petal boy/en oranı 1,05-1,68 ($m_{1,37} \pm 0,18$), stilus boyu 5,07-11,10 mm ($m_{9,17} \pm 1,35$), filament boyu 5,47-9,51 mm ($m_{7,12} \pm 1,17$). Drupa kordat nadiren küresel ya da yuvarlak, glabroz, bordo-siyah renkte; boyu 10,98-18,36 mm ($m_{14,19} \pm 1,91$), eni 10,79-19,57 mm ($m_{16,10} \pm 2,16$), en-boy oranı 0,72-1,02 ($m_{0,88} \pm 0,08$). Orman içi 290-1800 m.

Cerasus vulgaris Mill., Gard. Dict., ed. 8. n. 1 (1768).

Yapılan araştırmalar sonucunda bu ismin tipinin olmadığı görülmüştür. Miller'ın bitki örnekleri dört farklı herbaryumda bulunmaktadır (Britten, 1913; Stearn, 1972, 1974, Stafleu & Cowan, 1981, Luebert et al. 2010). Bunlar günümüzde Londra Doğa Tarihi Müzesi herbaryumunda bulunan Sloane Herbaryumu, Miller Herbaryumu ve Chelsea Fizik Bahçesi tarafından Londra Kraliyet cemiyetine gönderilen örnekler ve Linne herbaryumunda bulunan birkaç örnektir. Bunların dışında tiplendirme için kullanılabilecek bir diğer kaynak Gardeners Dictionary'nin 8. Edisyonu ile basılan Ehret'in çizimleridir. Bahsedilen herbaryumlarda bu isme ait örnek bulunmamaktadır ve Ehret'in çizimleri arasında da yine kullanılabilecek bir çizim yoktur, ayrıca protologda belirtilen "C. B. P. 449" yayınında da uygun bir çizim ve refere edilen örnek bulunmamaktadır. Hiç orijinal materyal bulunmadığından lektotip seçimi mümkün değildir dolayısıyla neotip seçilmesi gerekmektedir. Miller "Gardeners Dictionary" esrinde bu bitkinin "*Cerasus*" (Giresun) şehrinden Romalılar tarafından Avrupa kıtasına getirildiğini belirtmektedir. Bu nedenle biz de Karadeniz bölgesinden toplanmış örneği neotip olarak seçtik.

Prunus Cerasus L., Sp. Pl. 1: 474 (1753).

Yapılan araştırmalar sonucunda bu isme Ghora & Panigrahi (in Nair, Fasc. Fl. India 18: 16. 1984) tarafından 640.21 (LINN) numaralı örnek lektotip olarak seçilmiştir, fakat bu örnek aynı zamanda 2 numarasını taşımaktadır ve *Prunus virginiana* L. ismiyle ilişkilendirilmiştir ve Kuzey Amerika örneği olduğundan "Linne'nin Habitat in Europa" tanımına uymamaktadır. Protologda herhangi bir örneğe atıf yapılmamıştır. Protologda belirtilen kaynaklarda da örnek atfı ve çizim bulunmamaktadır. Linne herbaryumu tarandığında 640.15 numaralı örneğin "*Cerasus foliis ovata-lanceolatis*, Vir. 43" etiketi içerdiği görülmektedir her ne kadar bu örnek Majorov ve Sokoloff tarafından *Prunus Cerasus* L. var. *pumila* L. ismine lektotip olarak

seçilmiş olsa da (Cafferty & Jarvis 2002) “*Cerasus foliis ovata-lanceolatis*, Vir. 43” etiketi bunun *Prunus Cerasus* L. ismi ile ilişkilendirilmesinin daha doğru olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada 640.15 (LINN) örneği *Prunus Cerasus* L. ismine lektotip olarak seçilmiştir.

= *Cerasus acida* (Ehrh.) Borkh., = *Cerasus acida* (Ehrh.) P.Gaertn., B.Mey. & Scherb., = *Cerasus acida* Dumort., = *Cerasus austera* (L.) Borkh., = *Cerasus austera* (L.) M.Roem., = *Cerasus avicularis* Dulac, = *Cerasus avium* (L.) Moench, = *Cerasus avium* subsp. *acida* (Ehrh.) Bonnier & Layens, = *Cerasus avium* subsp. *duracina* (L.) J.Holub, = *Cerasus avium* subsp. *duracina* (L.) Janchen, = *Cerasus avium* subsp. *juliana* (L.) J.Holub, = *Cerasus avium* subsp. *juliana* (L.) Janchen, = *Cerasus avium* var. *albida* (Ehrh.) Soo, = *Cerasus avium* var. *amara* Sosn., = *Cerasus avium* var. *aspleniifolia* G.Kirchn., = *Cerasus avium* var. *dulcis* Sosn., = *Cerasus avium* var. *duracina* (L.) Lej. & Courtois, 1831, = *Cerasus avium* var. *duracina* (L.) R.Cinovskis, = *Cerasus avium* var. *duracina* (L.) Vulev, = *Cerasus avium* var. *erythrocarpa* Dierb., = *Cerasus avium* var. *juliana* (L.) R.Cinovskis, = *Cerasus avium* var. *melanocarpa* Dierb., = *Cerasus avium* var. *sativa* Dierb., = *Cerasus avium* var. *sylvestris* Dierb., = *Cerasus avium* var. *sylvestris* Ser., = *Cerasus brevipes* Poit. & Turpin, = *Cerasus caproniana* var. *griotta* Ser., = *Cerasus caproniana* var. *griotta* Ser. ex DC., 1825, = *Cerasus caproniana* var. *montmenrocyana* Ser., = *Cerasus caproniana* var. *montmenrocyana* Ser. ex DC., 1825, = *Cerasus caproniana* var. *sativa* Delastre, 1842, = *Cerasus Cerasus* (L.) Eaton & Wright, = *Cerasus collina* Lej. & Court., = *Cerasus communis* Poit. & Turpin, = *Cerasus conglobata* Poit. & Turpin, = *Cerasus dulcis* (L.) Gaertn. Mey. & Scherb., = *Cerasus duracina* (L.) DC., = *Cerasus fruticosa* Pall., = *Cerasus hortensis* Mill., = *Cerasus juliana* (L.) Delarbre, = *Cerasus longipes* Poit. & Turpin, = *Cerasus marasca* Host, = *Cerasus nigra* Mill., = *Cerasus nigricans* (Ehrh.) Borkh., = *Cerasus officinarum* Poit. & Turpin, = *Cerasus peracida* Poit. & Turpin, = *Cerasus propera* Poit. & Turpin, = *Cerasus recta* Liegel, = *Cerasus silvestris* Garsault, = *Cerasus varia* (Ehrh.) Borkh., = *Cerasus vulgaris* subsp. *acida* (Dumort.) J.Dostál, = *Cerasus vulgaris* subsp. *acida* (Dumort.) S, = *Cerasus vulgaris* subsp. *acida* Janch., 1959, = *Cerasus vulgaris* var. *austera* (L.) Janch., 1959, = *Cerasus vulgaris* var. *frutescens* (Neilr.) R.Cinovskis, = *Druparia avium* (L.), = *Druparia Cerasus* (Clairv.), = *Druparia Cerasus* (L.) Clairv., = *Prunus acida* (Dumort.) K.Koch, = *Prunus acida* Ehrh., = *Prunus aestiva* Salisb., = *Prunus austera* (L.) Ehrh., = *Prunus avium* (L.)L., = *Prunus avium* f. *nigricans* (Ehrh.) P.D.Sell, = *Prunus avium* f. *sylvestris* (Kirschl.) P.D.Sell, = *Prunus avium* subsp. *duracina* (L.) D.Rivera, Obón, S.Ríos, Selma, F.Méndez, Verde & F.Cano, = *Prunus avium* subsp. *duracina* (L.) P.Fourn., 1936, =

Prunus avium subsp. *duracina* (L.) Schübl. & G.Martens, = *Prunus avium* subsp. *duracina* Arcang., 1882, = *Prunus avium* subsp. *juliana* (L.) Schübl. & G.Martens, = *Prunus avium* subsp. *sylvestris* (Ser.) Schübl. & G.Martens, = *Prunus avium* var. *aspleniifolia* (G.Kirchn.) H.Jaeger, = *Prunus avium* var. *dulcis* (L.) Hayne, 1822, = *Prunus avium* var. *duracina* (L.) Arechav., = *Prunus avium* var. *duracina* (L.) L., = *Prunus avium* var. *duracina* Coss. & Germ., 1861, = *Prunus avium* var. *microcarpa* Mart., = *Prunus avium* var. *sylvestris* Rchb., 1832, = *Prunus avium* var. *sylvestris* (Ser.) G.Martens & Kemmler, = *Prunus avium* var. *sylvestris* (Ser.) Moris, 1843, = *Prunus caproniana* (L.) Gaudin, = *Prunus cerasus* L., = *Prunus cerasus* f. *marasca* (Host) C.K.Schneid., = *Prunus cerasus* f. *salicifolia* (H.Jaeger) Rehder, = *Prunus cerasus* f. *umbraculifera* (H.Jaeger) Rehder, = *Prunus cerasus* subsp. *acida* (Dumort.) Asch. & Graebn., = *Prunus cerasus* subsp. *acida* (Ehrh.) Schübl. & G.Martens, = *Prunus cerasus* subsp. *austera* (L.) Ehrh., 1789, = *Prunus cerasus* subsp. *avium* (L.) Hook.fil., = *Prunus cerasus* subsp. *Cerasus* L., 1753, = *Prunus cerasus* subsp. *samydoides* Schltdl., = *Prunus cerasus* var. *acida* (Ehrh.) Willd., 1796, = *Prunus cerasus* var. *actiana* L., 1753, = *Prunus cerasus* var. *austera* L., = *Prunus cerasus* var. *avium* L., = *Prunus cerasus* var. *caproniana* L., = *Prunus cerasus* var. *Cerasus* L., 1753, = *Prunus cerasus* var. *dulcis* L., 1753, = *Prunus cerasus* var. *duracina* L., = *Prunus cerasus* var. *juliana* L., = *Prunus cerasus* var. *marasca* (Host) Viv., = *Prunus cerasus* var. *rhenii* H.Jaeger, = *Prunus cerasus* var. *rhexii* H.Jaeger, = *Prunus cerasus* var. *salicifolia* H.Jaeger, = *Prunus cerasus* var. *samydoides* Schlechtendal, = *Prunus cerasus* var. *semperflorens* (Ehrh.) W.D.J.Koch, = *Prunus cerasus* var. *umbraculifera* H.Jaeger, = *Prunus duracina* (L.) Gaudin, = *Prunus duracina* (L.) Sweet, = *Prunus juliana* (L.) Gaudin, = *Prunus macrophylla* Poir., = *Prunus marasca* (Host) Rchb., = *Prunus nigricans* Ehrh., = *Prunus nigricans* var. *dulcis* Willd., 1796, = *Prunus recta* K.Koch, = *Prunus semperflorens* Ehrh., = *Prunus varia* Ehrh., = *Prunus varia* var. *albida* Ehrh., 1792, = *Prunus varia* var. *rubella* Ehrh., 1792, = *Prunus vulgaris* Schur

Lectotype: LINN-HS890-17! (photo) *Prunus Cerasus* L.

5-6 m ye kadar büyüyeabilen ağaçlar, tepeleri yuvarlak. Yapraklar genellikle ovat, obovat, baklava şeklinde nadiren eliptik, oblanceolat ya da yamuk; yaprak ucu genellikle akut, tepecikli, nadiren sivri ya da obtus; yaprak tabanı genellikle yamuk, bazen kuneat, sivri; nadiren attenuat, dairemsi, genişçe kuneat kısa angustat, retüz, yamuk retüz; yaprak kenarları ikili testere dişli ya da testere dişli, bazen aynı yaprak üzerinde her iki tip görülebilir. Petiyol uzunluğu 1,45-21,50 mm ($m11,80 \pm 4,59$), yaprak genişliği 6,86-77,24 mm ($m31,18 \pm 15,52$), yaprak uzunluğu

10,17-112,57 mm ($m59,82 \pm 26,34$), en-boy oranı, 1,43-2,70 ($m1,96 \pm 0,29$). Çiçekler soliter ya da ikili; pedisel glabroz; hipantiyum çan şeklinde, iç ve dış yüzeyi glabroz; sepaller dar eliptik, sepal kenarları tam, sepal iç ve dış yüzeyi glabroz; petal şekli genişçe obovat, beyaz, stilus ve ovaryum glabroz. Pedisel boyu 22,20-44,54 mm ($m33,22 \pm 4,58$), hipantiyum 2,94-5,02 mm ($m3,78 \pm 0,59$), sepal boyu 2,19-4,67 mm ($m3,33 \pm 0,57$), petal boyu 8,38-11,27 mm ($m9,80 \pm 0,73$), petal eni 6,73-9,20 mm ($m7,97 \pm 0,79$), petal boy/en oranı 0,91-1,66 mm ($m1,24 \pm 0,17$), stilus boyu 5,77-9,98 mm ($m7,76 \pm 0,94$), filament boyu 4,51-8,25 mm ($m6,27 \pm 0,87$). Drupa kordat nadiren küresel, glabroz, bordo-siyah renkte; boyu 10,76-15,31 mm ($m12,47 \pm 1,46$), eni 10,31-18,25 mm ($m13,75 \pm 2,76$), en-boy oranı 0,76-1,10 ($m0,92 \pm 0,09$). Orman içi, çit kenarları 800-1600 m.

Cerasus mahaleb L.

= *Cerasus corymbosa* St.-Lag., $\equiv$ *Cerasus mahaleb* (L.) Miller, = *Cerasus mahaleb* subsp. *simonkaii* (Pénzes) Terpó, = *Cerasus mahaleb* var. *alpina* Browicz, $\equiv$ *Druparia mahaleb* (L.), $\equiv$ *Padellus mahaleb* (L.) Vasil'chenko, $\equiv$ *Padellus mahaleb* (L.) Vassilcz., = *Padellus mahaleb* subsp. *cupaniana* (Gussone) J.Soják, = *Padellus mahaleb* subsp. *simonkaii* (Pénzes) J.Soják, $\equiv$ *Padus mahaleb* (L.) Borkh., = *Prunus cupaniana* Guss. ex Nym., = *Prunus mahaleb* subsp. *cupaniana* (Guss. ex Nyman) Raimondo & Spadaro, = *Prunus mahaleb* subsp. *simonkaii* Pénzes, = *Prunus odorata* Lam.

Type: İsviçre Linn 640/11 (Fotoğraf !)

Çalı ya da küçük ağaçlar. Yapraklar genellikle ovat, obovat, dairesel, oblong, bazen eliptik, baklavamsı, yamuk; petiyol uzunluğu 1,43-26,93 mm ($m11,23 \pm 4,96$); yaprak ucu genellikle sivri, akut, tepecikli, bazen yarı sivri, obtus; yaprak tabanı genellikle obtus, yamuk, retüz, kesik, bazen sivri, nadiren kuneat, asimetrik, geniş ya da dar kuneat, dairesel; yaprak kenarları testeredişli ya da kütdeşikli; yaprak genişliği 4,89-43,07 mm ($m21,79 \pm 8,58$); yaprak uzunluğu 8,66-74,04 mm ($m31,04 \pm 13,95$); yaprak en-boy oranı 0,98-2,24 ($m1,44 \pm 0,28$). Çiçekler rasemoz; pedisel glabroz; boyu 3,53-14,40 mm ($m7,87 \pm 2,15$); hipantiyum şekli çansı; iç yüzeyi glabroz ve dış yüzeyi glabroz; 1,92-3,42 mm ($m2,58 \pm 0,37$) boyunda; sepal şekli ovat ya da üçgensel; sepal kenarı tam; sepal iç yüzey glabroz; dış yüzeyi glabroz; sepal boyu 1,22-3,15 mm ($m2,14 \pm 0,38$); petaller obovattan çok geniş obovata, glabroz, beyaz renkli; petal boyu 3,81-7,15 mm ($m5,49 \pm 0,79$); petal eni 1,73-3,96 mm ($m2,88 \pm 0,60$); petal boy/en oranı; 1,31-

2,78 ($m1,96 \pm 0,36$) stilus ve ovaryum glabroz; stilus boyu 0,99-5,57 mm ($m4,53 \pm 0,84$); filament boyu 2,37-5,39 mm ($m3,61 \pm 0,66$). Drupa ovat, kordat, glabroz, siyah, kırmızı, turuncu renkte; boyu 7,11-10,53 mm ($m8,84 \pm 0,76$); eni 6,78-10,84 mm ($m8,84 \pm 0,91$); en-boy oranı 0,85-1,27 ($m1,01 \pm 0,10$); Habitat su kenarı, volkanik arazi, bahçealtı, yol kenarı yamaç, yol ve tarla kenarı, kumlu toprak, taşlık çayır, 260-1429, Çiçeklenme 3-5.

Cerasus incana

= *Prunus incana* Steven, = *Amygdalus incana* Pall., = *Cerasus blinovskii* L.A.Tochilina, = *Cerasus incana* (Pall.) Boiss., = *Cerasus incana* (Pall.) Spach, = *MicroCerasus incana* (Pall.) M.Roem., = *MicroCerasus incana* var. *blinovskii* (Totschilina) Eremin & Yushev, = *MicroCerasus prostrata* (Labill.) M.Roem., = *Prunus incana* (Pall.) Batsch, = *Prunus incana* (Pall.) Decne., = *Prunus incana* var. *velutina* Browicz,

Type: Türkiye: Amasya 380-700 m, Bornmüller (GOET010007!)

Yükselmeyen, dikensiz çalılar, 1 m ye kadar Yapraklar genellikle eliptik, ovat, obovat; bazen mızraksı; nadiren dairemsi ya da baklava şeklinde; yaprak ucu genellikle sivri; bazen yarı sivri, üçdisli, nadiren obtus; yaprak tabanı genellikle kuneat, sivri; nadiren yamuk, asimetrik, obtus; yaprak kenarları genellikle tam dişli, nadiren duble tam dişli; petiyol uzunluğu 0,38-2,88 mm ($m1,62 \pm 0,58$); yaprak genişliği 2,38-12,60 mm ($m6,88 \pm 2,16$); yaprak uzunluğu 6,71-25,75 mm ($m15,47 \pm 4,21$); yaprak en-boy oranı 1,35-4,34 mm ($m2,33 \pm 0,53$). Çiçekler soliter ya da ikili; pedisel tüyleri villoz, havlı ya da glabroz; 0,10-1,19 mm ($m0,48 \pm 0,28$); hipantiyum silindirik; 5,08-6,59 mm ($m5,73 \pm 0,42$); iç yüzeyi glabroz nadiren villoz ve dış yüzeyi az çok havlı; sepal şekli dar ovat; sepal kenarı az çok dentat; sepal iç yüzeyi lanat; dış yüzeyi glabroz nadiren lanat; sepal boyu 2,22-2,99 mm ($m2,80 \pm 0,22$); petaller ovat, orta damar ipeksi tüylü; pembe renkli; petal boyu 4,51-5,95 mm ($m5,00 \pm 0,37$); petal eni 2,46-3,65 mm ($m2,93 \pm 0,30$); petal boy/en oranı 1,39-2,07 mm ($m1,72 \pm 0,20$); stilus ve ovaryum villoz; stilus boyu 5,69-8,83 mm ($m6,50 \pm 0,78$); filament boyu 1,70-3,88 mm ($m2,64 \pm 0,60$). Drupa küresel, ovat ya da yuvarlak, tüylü, nadiren glabroz; kırmızı renkte; boyu 6,94-8,51 mm ($m7,66 \pm 0,43$); eni 7,75-9,26 mm ($m8,85 \pm 0,46$); en-boy oranı 0,81-0,97 mm ($m0,87 \pm 0,05$); Habitat vadi içi yamaçlar, 350-1500 m. Çiçeklenme 5-6.

Cerasus hippophaeoides (Bornm.) Bornm.

=*Prunus hippophaeoides* (Bornm.) Bornm., =*Amygdalus hippophaeoides* Bornm.,
 =*Amygdalus hippophaoides* Bornm., =*MicroCerasus incana* var. *hippophaeoides* (Bornm.)
 G.V. Eremin & A.A.Yushev

Type: Türkiye: Sivas: Divriği: Dumlucadağ Bornmüller 3359 (holo. JE !).

Boylanmayan çalılar. Yapraklar genellikle mızraksı, bazen ters mızraksı, eliptik, nadiren kaşksı, dar obobat ya da orbikulat; petiyol uzunluğu 0,23-4,34 mm ($m1,93 \pm 0,81$); yaprak ucu genellikle sivri, bazen obtus, nadiren retüz ya da yarı sivri; yaprak tabanı genellikle angustat bazen dar kuneat, attenuat, nadiren yamuk ve kuneat; yaprak kenarları daima testere dişli; yaprak genişliği 2,10-9,20 mm ($m5,06 \pm 1,54$); yaprak uzunluğu 9,83-38,38 mm ($m24,37 \pm 6,95$); yaprak en-boy oranı 2,82-8,48 mm ($m4,93 \pm 1,04$). Çiçekler soliter/ikili ya da aggregat; pedisel tüyleri villoz ya da lanat; boyu 0,59-3,12 mm ($m1,65 \pm 0,59$); hipantiyum şekli silindirik; iç yüzeyi lanat ve dış yüzeyi villoz nadiren glabroz; 4,14-6,35 mm ($m5,24 \pm 0,73$) boyunda; sepal şekli üçgensiz bazen dar ovat; sepal kenarı tam nadiren az çok serrat; sepal iç yüzey lanat; dış yüzeyi villoz nadiren glabroz; sepal boyu 2,42-3,46 mm ($m2,82 \pm 0,28$); petaller obovat nadiren dar obovat, pembe renkli; petal boyu 2,83-6,17 mm ($m4,57 \pm 0,76$); petal eni 1,34-3,41 mm ($m2,11 \pm 0,45$); petal boy/en oranı; stilus ve ovaryum glabroz, havlı, lanat ya da villoz; stilus boyu 1,59-2,87 mm ($m2,19 \pm 0,28$); filament boyu 1,77-3,31 mm ($m2,70 \pm 0,41$). Drupa yuvarlak ya da ovat; tüylü ya da çıplak olabilir, turuncu, kırmızı renkte; boyu 6,54-9,92 mm ($m7,89 \pm 0,93$); eni 6,10-9,20 mm ($m7,72 \pm 0,96$); en-boy oranı 0,91-1,16 mm ($m1,03 \pm 0,06$); Habitat açık çayırliklar, Çiçeklenme 5-6 .

Prunus angustifolia Marshall

= *Cerasus chिकास* (Michx.) Ser., = *Prunus angustifolia* subsp. *varians* W.Wight & Hedrick, = *Prunus angustifolia* var. *angustifolia*, = *Prunus angustifolia* var. *varians* W.Wight & Hedrick, = *Prunus chिकास* Michx., = *Prunus insititia* Walter, = *Prunus stenophylla* Raf., = *Cerasus angustifolia* (Spach.) Browicz var. *angustifolia*, = *Cerasus angustifolia* (Spach.) Browicz var. *sintenisii* (Schneider) Browicz

Type: Kapadokya, Aucher 1489, G00437145 (fotoğraf!)

Boylanmayan çalılar. Yapraklar genellikle mızraksı, ters mızraksı, bazen eliptik, oraksı ya da kaşksı, nadiren oblong; petiyol uzunluğu 0,98-5,24 mm ($m2,56 \pm 1,06$); yaprak ucu genellikle

sivri, obtus, yarı sivri; yaprak tabanı genellikle sivri, attenuat, dar kuneat, nadiren akuminat ya da dar kuneat; yaprak kenarları daima testere dişli; yaprak genişliği 2,93-13,92 mm ($m_{5,58} \pm 2,52$); yaprak uzunluğu 12,80-70,66 mm ($m_{34,63} \pm 12,55$); yaprak en-boy oranı 3,02-10,95 ($m_{6,53} \pm 1,80$). Çiçekler soliter/ikili ya da küme; pedisel glabroz; boyu 0,10-2,95 mm ($m_{1,20} \pm 0,64$); hipantiyum şekli silindirik; iç yüzeyi kaba tüylü ve dış yüzeyi glabroz; 3,06-6,82 mm ($m_{4,56} \pm 1,04$) boyunda; sepal şekli dar ovat; sepal kenarı tam, nadiren $\pm$ serrulat; sepal iç yüzey lanat; dış yüzeyi glabroz; sepal boyu 1,5-3,35 mm ($m_{2,20} \pm 0,50$); petaller obovattan dar obovata, orta damar üzeri nadiren tüylü, pembeden soluk pembeye; petal boyu 2,51-5,12 mm ($m_{4,07} \pm 0,79$); petal eni 1,44-2,83 mm ($m_{1,91} \pm 0,35$); petal boy/en oranı; 1,60-3,17 ($m_{2,16} \pm 0,43$) stilus glabroz nadiren strigoz, ovaryum glabroz nadiren $\pm$ lanat; stilus boyu 3,46-8,21 mm ($m_{5,77} \pm 1,29$); filament boyu 1,35-4,91 mm ($m_{2,62} \pm 0,83$). Drupa küresel, ovat, obovat, nadiren yuvarlak, glabroz, nadiren tüylü, kırmızı ya da bordo renkte; boyu 6,01-10,51 mm ($m_{7,82} \pm 1,04$); eni 6,63-9,10 mm ($m_{7,74} \pm 0,63$); en-boy oranı 0,86-1,19 ($m_{1,01} \pm 0,09$); Habitat yol kenarı, kayalık, akasya açıklıkları, yamaç, taşlık, kayalık, dikenli bitkilerle iç içe, 1020-1618.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Yusuf Can GERÇEK
Doğum Yeri	İstanbul
Doğum Tarihi	14.01.1989
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
Telefon	00902124555700
E-Posta Adresi	yusuf.gercek@istanbul.edu.tr
Web Adresi	https://avesis.istanbul.edu.tr/yusuf.gercek



Eğitim Bilgileri

Lisans

Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji
Mezuniyet Yılı	12.12.2014

Yüksek Lisans

Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji
Programı	Botanik

Doktora

Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji Anabilim Dalı
Programı	Botanik Programı

Makale ve Bildiriler

Makaleler

- Bayram, N. E., Cebi, N., Celik, S., Gercek, Y.C., Bayram, S., Samancı, A. E. T., Sagdic, O., Ozkok, A. (2021) Turkish Royal Jelly: Amino acid, physicochemical, antioxidant, multi-elemental, antibacterial and fingerprint profiles by analytical techniques combined with chemometrics, Journal of Apicultural Research, accepted.
- Bayram, N. E., Gerçek, Y. C., Öz, G. C. (2020). Screening for antioxidant capacity, pollen types and phytochemical profile by GC/MS and UHPLC from propolis, Progress in nutrition, 22(3).
- Bayram, S., Dengiz, C., Gerçek, Y. C., Cetin, I., Topcul, M. R. (2020). Bioproduction, structure elucidation and in vitro antiproliferative effect of eumelanin pigment

- from *Streptomyces parvus* BSB49. *Archives of Microbiology*, 202(9), 2401-2409.
- Ecem Bayram, N., Canlı, D., Gerçek, Y. C., Bayram, S., Çelik, S., Güzel, F., Morgil, H., Cevahir Oz, G. (2020). Macronutrient and micronutrient levels and phenolic compound characteristics of monofloral honey samples, *Journal of Food Nutrition and Research*, 22 (3).
- Mayda, N., Özkök, A., Bayram, N. E., Gerçek, Y. C., Sorkun, K. (2020). Bee bread and bee pollen of different plant sources: determination of phenolic content, antioxidant activity, fatty acid and element profiles. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-15.
- Morgil, H., Gerçek, Y. C., Tulum, I. (2020). Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in Plant Genetics and Breeding. In *The Recent Topics in Genetic Polymorphisms*. IntechOpen.
- Bayram, S., Bayram, N. E., Gerçek, Y. C., Aydoğan, M. N., Oz, G. C. (2017). Chemical analysis and antimicrobial effect of propolis from Hakkari province of turkey against some pathogenic microorganisms. *European Journal of Biology*, 76(2), 74-78.
- Bayram, S., Bayram, N. E., Gerçek, Y. C., & Sorkun, K. (2016). Anticytotoxic and antimutagenic effects of propolis on human lymphocytes in vitro. *Mellifera*, 16(2), 38-46.
- Ecem Bayram, N., Gerçek, Y. C. (2019). Appropriate maceration duration for the extraction of propolis. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(1), 188-192.
- Bayram, N. E., Gerçek, Y. C., Bayram, S., Toğar, B. (2019). Effects of processing methods and extraction solvents on the chemical content and bioactive properties of propolis. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-12.
- Bayram, N. E., Gerçek, Y. C. (2018). Major constituents of different propolis samples. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 45(4), 581-584.
- Gerçek, Y. C., Akman, G., Morgil, H., Calıkan, M., Oz, G. C. (2017). Organosulfur compounds of *Allium Tuncelianum* (Kollmann) Ozhatay, B. Mathew & Şiraneci extracts by SPME/GC-MS and determining their cytotoxic effect on HeLa cells. *International Journal of Advances in Science Engineering and Technology*, 5(2), 53-58.
- Morgil, H., Gerçek, Y. C., Caliskan, M., Oz, G. C. (2017). Investigation of the Mechanism of Physiological Tolerance in Lentil (*Lens culinaris* Medik.) Cultivars under Drought Stress Conditions. *European Journal of Biology*, 76(1), 31-35.
- Aras, A., Iqbal, M. J., Naqvi, S. K., Gerçek, Y. C., Boztas, K., Gasparri, M. L., Farooqi, A. A. (2014). Anticancer activity of essential oils: targeting of protein networks in cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev*, 15, 8047-8050.
- Perk, A. A., Shatynska-Mytsyk, I., Gerçek, Y. C., Boztaş, K., Yazgan, M., Fayyaz, S., Farooqi, A. A. (2014). Rutin mediated targeting of signaling machinery in cancer cells. *Cancer cell international*, 14(1), 1-5.

Bildiriler

- Ecem Bayram., Bayram S., GERÇEK Y. C. , MORGİL H., ÖZ G. The Main Active Ingredients of Propolis, 2nd International Conference on Advanced Engineering Technologies (ICADET), Bayburt, Türkiye, 21 - 23 Eylül 2017, ss.1563-1564
- Ecem Bayram N., Gercek Y. C., A Review on the Antibacterial Activities of Honey and Propolis 5th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, Muğla, Türkiye, 1 - 05 Kasım 2016, ss.427
- Bayram S., Ecem Bayram N., Gercek Y. C., Comparison of Antibacterial Activities of Water and Ethanol Extracts of Propolis, 5th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, Muğla, Türkiye, 1 - 05 Kasım 2016, ss.545
- Bayram S., Ecem Bayram N., Gercek Y. C., Effect of Propolis Extraction Time on Antibacterial Effects and Chemical Composition, 5th International Muğla Beekeeping and Pine Honey Congress, Muğla, Türkiye, 1 - 05 Kasım 2016, ss.545
- Gercek Y. C., Morgil H., Öz G., Analysis of Organosulfur Compounds of *Allium tuncelianum* (Kollmann) Ozhatay, Mathew & Sıraneci Extracts with SPME/GC-MS and Investigation of Their Cytotoxic Effects on Hela Cells, “29th International Symposium on the Chemistry of Natural Products and the 9th International Conference on Biodiversity” (ISCNP-29 & ICOB-9), İzmir, Türkiye, 24 - 27 Eylül 2016, ss.6
- Gercek Y. C. , Tuğcu F. T. , Morgil H., Öz G., Determination of Essential Oil Content of *Thuja orientalis* L. Mature Cones by GC-MS, “29th International Symposium on the Chemistry of Natural Products and the 9th International Conference on Biodiversity” (ISCNP-29 & ICOB-9), İzmir, Türkiye, 24 - 27 Eylül 2016, ss.6
- Öz G., Gercek Y. C. , Turhan K., Tuğcu T., Türkiye’de Üretilen *Nigella sativa* Tohum Yağının Farmakolojik Özellikleri, 2. Ulusal Botanik Kongresi, Afyon, Türkiye, 25 - 28 Ağustos 2015, cilt.1, no.1, ss.92
- Öz G., Turhan K., Tuğcu T., Gercek Y. C. Türkiye’de Üretilen *Nigella sativa* Tohum Yağının Kimyasal Araştırması, 2.Ulusal Botanik Kongresi, Afyon, Türkiye, 25 - 28 Ağustos 2015, cilt.1, no.1, ss.109
- Öz G., Caliskan M., Gercek Y. C., Tuğcu T., *Thuja orientalis* L. Bitkisinin Uçucu Yağ İçeriklerinin GC-MS ile Belirlenmesi, II. Ulusal Botanik Kongresi, Afyon, Türkiye, 25 - 28 Ağustos 2015, cilt.1, no.1, ss.64
- Ceylan F. D., Çapanoğlu E., Aras Perk A., Gercek Y. C. Boztaş K., Yanar O., Antioxidant Properties Of Seabuckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.) Leaves And Branches, IUPAC 2014 International Workshop on Determining Antioxidants as Reactive Species Scavengers, İstanbul, Türkiye, 27 - 29 Ekim 2014, ss.43
- Gercek Y. C. , Öz G., Tuğcu T. Ozonlamanın *Citrus aurantium* Bitkisinin Uçucu Yağlarının Kimyasal İçeriklerine Etkisi, I. Ulusal Botanik Kongresi, İstanbul, Türkiye, 25 - 28 Ekim 2014, ss.92-93
- Tuğcu T., Çetin İ., Topçul M. R. Ünlü Y. S. , Gercek Y. C. , Öz G., Evaluation cytotoxic and genotoxic effects of some novel synthesized iminothiazolidinon derivatives

on hela cell line (CCL2), 4th International Meeting on Pharmacy & Pharmaceutical Sciences, İstanbul, Türkiye, 18 - 21 Eylül 2014, ss.178

Gercek Y. C. , Baris I., Kavakli H., Oz G. C., Transcriptional regulation of the starch synthases isoforms in the leaf and the stem under long and short photoperiod in lentil, FEBS EMBO 2014 Conference, Paris, Fransa, 30 Ağustos - 04 Eylül 2014, cilt.281, ss.694-695

