



KSÜ Tarım ve Doğa Derg

KSU J. Agric Nat

e-ISSN : 2619-9149

T.C.

KAHRAMANMARAŞ

SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Journal of Agriculture and Nature

Cilt-Volume 25 Sayı-Number 6 Yıl-Year: 2022



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGISİ

Dergimiz aşağıdaki indeksler tarafından taranmaktadır (This journal is indexed and abstracted by)

- Emerging Sources Citation Index
- TUBİTAK-TR Dizin
- CAB Abstracts
- CiteFactor
- DRJI (Directory of Research Journal Indexing)
- Google Scholar
- Index Copernicus
- International Directory of Agriculture, Food and The Environment
- Journal Index
- Scientific Indexing Services (SIS)
- The International Plant Names Index

Yazışma Adresi / Corresponding Address
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Tarım ve Doğa Dergisi,
46100 – Kahramanmaraş/TÜRKİYE
Tel : (+90-344) 300 2108

E-mail: dogabilimleri@ksu.edu.tr
Web: <http://dergipark.org.tr/ksudobil>
<http://dogadergi.ksu.edu.tr>

Bu dergi hakemli olup yılda 6 kez yayınlanır.
This journal is peer-reviewed and published 6 issues per year.

Dergimiz, herhangi bir başvuru veya yayımlama ücreti almamaktadır
The Journal doesn't have APC or any submission charges.

Derginin Eski Adı/Previous Name of Journal

KSU Fen ve Mühendislik Dergisi
KSU Journal of Science and Engineering
KSU Doğa Bilimleri Dergisi
KSU Journal of Natural Science

Derginin Eski ISSN Numarası/Previous ISSN Number
1301-2053

Cilt-Volume **25**

Sayı-Number **6**

Yıl-Year **2022**



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Sahibi/ Owner

Prof.Dr. Alptekim YASIM
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörü

Editörler / Editors

[Prof.Dr. Ali KAYGISIZ](#) (Baş Editör/Editor in Chief)
KSÜ Ziraat Fak. Zootečni Böl.
dogabilimleri@ksu.edu.tr

[Prof.Dr. İ. Ersin AKINCI](#)
KSÜ Ziraat Fak.
Bahçe Bitkileri Böl.
akinci.ie@ksu.edu.tr

[Prof.Dr. İsmail AKYOL](#)
Ankara Üniv. Ziraat Fak.
Zootečni Böl.
ismail.akyol@ankara.edu.tr

[Prof.Dr. Burhan ARSLAN](#)
Tekirdağ Namık Kemal Üniv.
Ziraat Fak. Tarla Biti Böl.
barslan@nku.edu.tr

[Prof.Dr. Sakine Serap AVGIN](#)
KSÜ Eğitim Fak.
Biyoloji Böl.
ssavgin@ksu.edu.tr

[Doç.Dr. Ali ÇAYLI](#)
KSÜ Türkoğlu MYO
alicyayli@ksu.edu.tr

[Prof.Dr. Kerim Mesut ÇİMRİN](#)
Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak.
Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Böl.
mcimrin@mku.edu.tr

[Doç.Dr. Mustafa KÜSEK](#)
KSÜ Ziraat Fak.
Bitki Koruma Böl.
mkusek@ksu.edu.tr

[Prof. Dr. Mustafa YILDIRIM](#) KSÜ
Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl.
m.yildirim@ksu.edu.tr

İngilizce Editörü/English Editor

[Dr. Öğr. Üyesi Sabahattin CÖMERTPAY](#)
KSÜ Ziraat Fak.
Tarımsal Biyoteknoloji Böl.
sacometpay@gmail.com

İstatistik Editörü/Statistics Editor

[Prof. Dr. Hikmet ORHAN](#)
SDÜ Tıp Fak. Biyoistatistik
ve Tıbbi Bilişim ABD.
hikmetorhan@sdu.edu.tr

[Doç.Dr. Senol CELİK](#)
Bingöl Üniv. Ziraat Fak.
Zootečni Böl.
senolcelik@bingol.edu.tr

Alan Editörleri/Associate Editors

[Dr. Öğr. Üyesi Sabahattin CÖMERTPAY](#)
KSÜ Ziraat Fak.
Tarımsal Biyoteknoloji Böl.
sacometpay@gmail.com

[Doç.Dr. Ahmet Levent İNANC](#)
KSÜ Mühendislik-Mimarlık
Fak. Gıda Müh.Böl.
linanc@ksu.edu.tr

[Doç.Dr. Köksal KARADAS](#)
İğdır Üniv. Ziraat Fak.
Tarım Ekonomisi Böl.
kkaradas2002@gmail.com



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Uluslararası Danışmanlar Kurulu (International Advisory Board)

Doç. Dr. Khairulmazmi AHMAD Putra University, MALAYSIA	Prof. Dr. Larisa CAÏSİN State Agrarian University, MOLDOVA	Prof.Dr. Mohammed H. Abu-DİEYEH Qatar University, QATAR
Assist.Prof. Dr. Eslam FAID-ALLAH Minoufiya University, EGYPT	Prof.Dr. Wayne GARDNER The University of Georgia, USA	Prof.Dr Stanislaw HURUK Jan Kochanowski Univ. POLAND
Prof. Dr. Khalid JAVED University of Veterinary and Animal Sciences, PAKİSTAN	Prof.Dr. A Salah KHATTAB Tanta University, EGYPT	Prof.Dr. K Mahmood KHAWAR Ankara Üniversitesi, ANKARA
Dr. Ram Prasad MAINALI National Agriculture Genetic Resources Center, NEPAL	Prof. Dr. Alisa PİRLOG State Agrarian University, MOLDOVA	Assist.Prof. Dr. Mehdi RAHİMİ Graduate University of Advanced Technology, İRAN
Dr. Ahmad K. SALAMA Autonomous University of Barcelona, SPAIN	Dr. Vivekanandarajah SARAVANAN KnowledgeLink Group, Inc., SRI LANKA	Prof.Dr Vytautas TAMUTIS Uniwersytet Aleksandra, LITVANIA
Prof. Dr. Muhammed Masood TARIQ Balochistan University, PAKİSTAN	Dr. Thobela Louis TYASI University of Limpopo Polokwane, SOUTH AFRICA	Prof.Dr. Abdulmojeed YAKUBU Nasarawa State University, NIGERIA
Doç. Dr. Daniel ZABORSKI West Pomeranian University of Technology, POLAND	Prof.Dr. Navid GHAVİ HOSEİN-ZADEH University of Guilan, Rasht, IRAN	Prof.Dr. Jose Cola ZANUNCIO Federal Univ. of Vicoso, BRAZIL

Ulusal Danışmanlar Kurulu (Advisory Board)

Doç.Dr. Tugay AYASAŞAN Korkutata Üniversitesi OSMANİYE	Prof. Dr. Fikri BALTA Ordu Üniv. ORDU	Prof. Dr. Levent BAT Sinop Üniv. SİNOP
Prof. Dr. H. Murat BÜYÜKÇAPAR Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. KAHRAMANMARAŞ	Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ Sağlık Bilimleri Üniv. İSTANBUL	Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN Atatürk Üniv. ERZURUM
Prof.Dr. Rüştü HATİPOĞLU Çukurova Üniversitesi, ADANA	Prof.Dr. Murat KÜTÜK Gaziantep Üniv. GAZİANTEP	Prof. Dr. Ramazan MERAL Bingöl Üniv. BİNGÖL
Prof.Dr. Yeşim Yalçın MENDİ, Çukurova Üniversitesi, ADANA	Prof.Dr. Fatih SATIL Balıkesir Üniv. Balıkesir	Prof.Dr. Hüseyin SÜZEK Muğla Sıtkı Koçman Üniv. MUĞLA
Prof.Dr. Nazım ŞEKEROLU Kilis 7 Aralık Üniv. KİLİS	Prof. Dr. İbrahim YILMAZ Akdeniz Üniv. ANTALYA	Prof. Dr. Kadir YILMAZ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. KAHRAMANMARAŞ



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

İÇİNDEKİLER

ARAŞTIRMA MAKALESİ - RESEARCH ARTICLE

- Bazı Lamiaceae Bitkilerinin Yağ Asidi İçeriği Tayini* 1199 – 1204
Fatty Acid Compositions of Some Lamiaceae Plants
Pelın TAŞTAN, Derviş BİRİM, Tuğçe FAFAL, Güliz ARMAGAN, Bijen KIVÇAK
- Abelmoschus esculentus* (Bamya Çiçeği) Çiçeğinin Fitokimyasal Profili, Antioksidan, Antikolinergik ve Antibakteriyel Özellikleri 1205 - 1215
Phytochemical Profile, Antioxidant, Anticholinergic and Antibacterial Properties of Flowers of *Abelmoschus Esculentus* (Okra Flowers)
Arzu KAVAZ YÜKSEL Emrah DİKİCİ Mehmet YÜKSEL Mesut IŞIK
- Biological Activities of The Methanol Extracts of *Smyrniun connatum* Boiss. and Kotschy. 1216 - 1224
Smyrniun connatum Boiss. and Kotschy. Metanol Ekstresinin Biyolojik Aktivitesi
Fatma AYZ Nurangiye ERUYGUR Tuğsen DOĞRU Yavuz BAĞCI Süleyman DOĞU
- Antioxidant Activity of lyophilized water extract of aerial parts of *Anchusa azurea* Mill (Italian bugloss) 1225 - 1233
Anchusa azurea Mill'in (İtalyan bugloss) toprak üstü kısımlarının liyofilize su ekstraktının antioksidan aktivitesi
Hatice KIZILTAŞ
- Light-mediated biosynthesis of phenylpropanoid metabolites in cell suspension cultures of Turkish yarrow (*Achillea gypsicola* Hub. Mor.) 1234 - 1242
Türk Civanperçemi (*Achillea gypsicola* Hub. Mor.) Hücre Süspansiyon Kültürlerinde Fenilpropanoid Metabolitlerin Işık Aracılığıyla Biosentezi
Muhammed Akif AÇIKGÖZ, Ebru BATI AY, Ahmet AYGÜN, Şevket Metin KARA
- Trimetilolpropan Triakrilat'ın Potansiyel Toksik, Genotoksik ve Mutajenik Etkilerinin *Drosophila melanogaster* Kullanılarak Araştırılması 1243 - 1253
Investigation of Potential Toxic, Genotoxic and Mutagenic Effects of Trimethylolpropane Triacrylate Using *Drosophila melanogaster*
Fatma TURNA DEMİR
- Population Dynamics of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) (Scorpiones:Buthidae) Distributed in Şanlıurfa 1254 - 1263
Şanlıurfa'da Yayılış Gösteren Kara Akrep (*Androctonus crassicauda*) (Olivier, 1807; Scorpiones: Buthidae)'in Popülasyon Dinamizminin Araştırılması
Nevin ASLAN, Şahin TOPRAK
- Macrofungi of Yenice (Karabük) District and New Records for Turkey 1264 - 1278
Yenice (Karabük) İlçesinin Makrofungusları ve Türkiye için Yeni Kayıtlar
Giyasettin KAŞIK, Sinan ALKAN, Sinan AKTAŞ, Celaleddin ÖZTÜRK, Hatice Esra AKGÜL
- Bazı Asma Çeşitlerinin Doğal Koşullarda Mildiyö Hastalığına Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi 1279 - 1286
Determination of Reactions Some Grapevine Varieties Againts Downy Mildew Under Natural Conditions
Duygu MERMER DOĞU, Damla ZOBAR, Koray DOĞU, Nuray ÖZER, Harun BAYRAKTAR
- Mardin Geofitleri Üzerine Etnobotanik Bir Araştırma (Güneydoğu Anadolu, Türkiye) 1287 - 1304
An Ethnobotanical Research on Geophytes of Mardin (South East Anatolia, Turkey)
Mehmet Maruf BALOS, Hasan AKAN, Musa GEÇİT



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

- Critical Period for Weed control in Sunflower and Effects of Applications on Weed Species and Diversity** 1305 - 1314
Ayçiçeğinde Yabancı Ot Kontrolünde Kritik Periyot ve Uygulamaların Yabancı Ot Türleri ve Çeşitliliğine Etkileri
Mine ÖZKİL, Hilmi TORUN, Serdar EYMİRLİ, İlhan ÜREMİŞ, Yücel KARAMAN, Nihat TURSUN
- Investigating In Vitro Genotoxic Effects Of Sweetener XYLITOL** 1315 - 1325
Tatlandırıcı Olan XYLITOL'ün In Vitro Genotoksik Etkilerinin İncelenmesi
Ece AVULOĞLU YILMAZ, Deniz YÜZBAŞIOĞLU, Fatma ÜNAL
- Amik Ovası Havuç Ekim Alanlarında Sorun Olan Fungal ve Bakteriye Hastalık Etmenlerin Belirlenmesi** 1326 - 1340
Determination of Fungal and Bacterial Diseases Agents Encountered in Carrot Growing Fields in Amik Plain of Turkey
Soner SOYLU, Merve KARA, Aysun UYSAL, Şener KURT, Emine Mine SOYLU, İlhan ÜREMİŞ, Erdal SERTKAYA, İmam Adem BOZKURT, Murat OZTURK
- Bazı *Meloidogyne* Türlerinin Bulunduğu Toprakların Fiziksel ve Kimyasal Özellikler** 1341 - 1349
Texture, pH and Electrical Conductivity of Soils with Some Meloidogyne Species
Betül GÜRKAN, Ramazan ÇETİNTAŞ
- Relationship between Some Plants Species Belonging to Brassicaceae, Chenopodiaceae and Urticaceae Families, and Mycorrhizal Fungi and Rhizobacteria** 1350 - 1360
Brassicaceae, Chenopodiaceae ve Urticaceae Familyalarına Ait Bazı Bitki Türlerinin Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) ve Rhizobacteria Arasındaki İlişkii
Hasret GÜNEŞ, Semra DEMİR, Ahmet AKKÖPRÜ
- Availability of the *Laurus nobilis* oils (Lauraceae) on Controlling *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae)** 1361 - 1368
Aphis faba (Hemiptera: Aphididae) mücadelesinde *Laurus nobilis* (Lauraceae) yağlarının kullanılabilirliği
Veli ÇELİKTAŞ, Hande OTU BORLU, Sema DÜZENLİ, Asime Filiz ÇALIŞKAN KEÇE,
- Zonguldak İlinde Plum pox virus'un Tespiti, Karakterizasyonu ve Takibi** 1369 - 1377
Detection, Characterization, and Monitoring of Plum pox virus in Zonguldak Province
Ali Ferhan MORCA, Sevgi COŞKAN, Birol AKBAŞ
- Characterization of *Diaporthe ampelina* isolates and their Sensitivity to Hot-Water Treatments and Fungicides in in vitro** 1378 - 1389
Diaporthe ampelina İzolatlarının Karakterizasyonu ve in vitro'da Bazı Fungisitlere ve Sıcak Su Uygulamalarına Duyarlılıkları
Davut Soner AKGÜL, Qamar Nawaz AWAN
- Bazı Nanogümüş Partiküllü (AgNPs) Bitki Su Ekstraktlarının Kök-Ur Nematodları (*Meloidogyne spp.*)'na Karşı İn vitro Koşullarda Etkinliğinin Belirlenmesi** 1390 - 1400
Determination of The Effectiveness of Some Plant Water Extracts whit Nanosilver Particulated (AgNPs) Against Root Knot Nematodes (*Meloidogyne spp.*) In Vitro Conditions
Onur DURA, İlker KEPENEKÇİ
- Pentanema divaricatum* Cass. (Inuleae, Asteraceae), A New Record for the Flora of Turkey** 1401 - 1405
Pentanema divaricatum Cass. (Inuleae, Asteraceae), Türkiye Florası İçin Yeni Bir Bitki Türü Kaydı
Yakup YAPAR, Lütfi BEHÇET
- Kinetic Modelling of Changes in Phenolic Contents of Thermosonicated Strawberry Nectar During Storage** 1406 - 1413
Termosonikasyon Uygulanan Çilek Nektarının Depolama Boyunca Fenolik İçeriklerindeki Değişimlerin Kinetik Modellenmesi
Burcu DÜNDAR, Asiye AKYILDIZ



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

- İşleme ve Isıl İşlem Sırasında Karadut Suyunun Antibakteriyal ve Antifungal Aktivitesi** 1414 - 1422
Antibacterial and Antifungal Activity of Black Mulberry Juice During Processing
Buket ASKİN, Şeref TAĞI, Erdogan KÜÇÜKÖNER
- Meat Consumption and Sustainability** 1423 - 1433
Türkiye’de Et Tüketimi ve Sürdürülebilirlik
Hülya YILMAZ ÖNAL, Aysun YÜKSEL, Ayhan PARMAKSIZ, İdil ALPAT
- Determination of Some Yield and Quality Properties of *Origanum dubium* Boiss Grown in Different Ecological Conditions** 1434 - 1447
Farklı Ekolojik Koşullarda Yetiştirilen *Origanum dubium* Boiss'in Bazı Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi
Hasan MARAL, Saliha KIRICI
- Harran Ovasında Buğday Tarımı; Son 20 Yılda Ne Başardık?** 1448 - 1464
Wheat Cultivation in Harran Plain; What We Achieved in Last 20 Years
İrfan ÖZBERK, Fethiye ÖZBERK, İbrahim BİŞKEN, M. Fatih OLGUN, Hakan YALÇINKAYA , Muhammed Mustafa KAYAOĞLU, Kübra KÖSE, İsmail ŞAHAP, Rehat TOPRAK
- Hatay Yöresinde Tıbbi ve Aromatik Bitkilerde Pazarlama Organizasyonun Etkinliğinin ve Üretici Memnuniyetinin Belirlenmesi** 1465 - 1478
Determining Marketing Organization Efficiency and Producer Satisfaction in Medicinal and Aromatic Plants in the Hatay Province
Ahmet Duran ÇELİK, Aykut GÜL
- Deniz Salyangozu (*Rapana venosa*) İşlem Basamaklarında Besin Kompozisyonu Analizleri ve Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Düzeylerinin Belirlenmesi** 1479 - 1488
Determination of Nutrient Composition and Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) Levels in Sea Snail (*Rapana venosa* Valenciennes, 1846) Process Steps
Koray KORKMAZ, Furkan PİNAL
- Gökçeada Kıyılarındaki (Kuzey Ege Denizi, Türkiye) Trol Balıkçılığında Iskarta, Hedef Dışı ve Hedef Av İçin Birim Çabadaki Av Miktarı** 1489 - 1501
Catch per Unit Effort (CPUE) for Discard, Bycatch and Target Catch of Trawl Fishery in the Coasts of Gökçeada Island (North Aegean Sea, Turkey)
Deniz ACARLI, Semih KALE, Kamil ÇAKIR
- Bingöl İlinde Halk Elinde Yetiştirilen Akkaraman Koyunlarda Yaş, Cinsiyet ve Doğum Tipine Göre Canlı Ağırlık ve Sütten Kesim Ağırlığının İncelenmesi** 1502 - 1509
Investigation of Live Weight and Weaning Weight According to Age, Sex and Birth Type in Akkaraman Sheep
Mehmet Ali KUTLU, Şenol ÇELİK, Erdal KAYGUSUZUOĞLU
- Barn and Environmental Characteristics of Cattle Enterprises in Central County of Ağrı Province** 1510 - 1522
Ağrı İli Merkez İlçesi Sığırcılık İşletmelerinin Barınak ve Çevre Özellikleri
Recep AYDIN, Abdülkerim DİLER, Veysel Fatih ÖZDEMİR, Mete YANAR, Rıdvan KOÇYİĞİT, Ahmet YILMAZ



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

HAKEMLER/Referees*

Dr. Öğr. Üyesi Asli CAN AGCA	Ankara Yıldırım Beyazıt Üniv. Halk Sağlığı Enst. Ankara
Prof. Dr. İzzet AKÇA	Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Samsun
Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL	Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Adana
Dr. Öğr. Üyesi Benian PINAR AKTEPE	Osmaniye Korkut Ata Üniv. Kadırlı Uygulamalı Bilimler Fak. Osmaniye
Prof. Dr. Hüseyin ARIKAN	Ege Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. İzmir
Prof. Dr. Metin ARTUKOĞLU	Ege Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. İzmir
Dr. Öğr. Üyesi Burcu ATEŞ ÖZCAN	Marmara Üniv. Sağlık Bilimleri Fak. Beslenme ve Diyetetik Böl. İstanbul
Dr. Öğr. Üyesi Ertan ATEŞ	Tekirdağ Namık Kemal Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Tekirdağ
Prof. Dr. Zeki AYTAÇ	Gazi Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Ankara
Prof. Dr. İsmet BALIK	Akdeniz Üniv. Kemer Denizcilik Fak. Denizcilik İşletmeleri Yönetimi Böl. Antalya
Doç. Dr. Cem BALTACIOĞLU	Niğde Ömer Halisdemir Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Niğde
Prof. Dr. Erol BAYHAN	Dicle Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Diyarbakır
Dr. Öğr. Üyesi Işıl BARUTÇU MAZI	Ordu Üniv. Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Ordu
Dr. Öğr. Üyesi Nazlı BATAR	İstanbul Kültür Üniv. Sağlık Bilimleri Fak. Beslenme ve Diyetetik Böl. İstanbul
Doç. Dr. Maghsoud BESHARATI	Tabriz Univ. Department of Animal Science, Tabriz-İRAN
Dr. Öğr. Üyesi İmam Adem BOZKURT	Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Hatay
Doç. Dr. Özgür CENGİZ	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Su Ürünleri Fak. Su Ürünleri Avlama ve İşleme Tek. Böl. Van
Prof. Dr. Ayhan CEYHAN	Niğde Ömer Halisdemir Üniv. Bor MYO. Veterinerlik Böl. Niğde
Doç. Dr. Zafer CEYLAN	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Turizm Fak. Gastronomi ve Mutfak Sanatları Böl. Van
Prof. Dr. Uğur ÇAKILCIOĞLU	Munzur Üniv. Pertek Sakine Genç MYO Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Böl. Tunceli
Prof. Dr. Emine BUDAKLI ÇARPICI	Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Bursa
Dr. Öğr. Üyesi Ali ÇELİK	Bolu Abant İzzet Baysal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Bolu
Doç. Dr. Saliha Esin ÇELİK	İstanbul Üniv.-Cerrahpaşa/Mühendislik Fak. Kimya Böl. İstanbul
Doç. Dr. Şenol ÇELİK	Bingöl Üniv. Ziraat Fak. Zootekni Böl. Bingöl
Prof. Dr. Ramazan ÇETİNTAŞ	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Kahramanmaraş
Prof. Dr. Ömer Utku ÇOPUR	Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Bursa
Prof. Dr. Halit DEMİR	Van Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Fak. Kimya Böl. Van
Doç. Dr. Engin DEMİRAY	Pamukkale Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Denizli
Prof. Dr. Harun DIRAMAN	Afyon Kocatepe Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Afyon
Doç. Dr. Seher DİRİCAN	Sivas Cumhuriyet Üniv. Sivas Teknik Bilimler MYO Sivas
Doç. Dr. Mustafa DURMUŞ	Çukurova Üniv. Su Ürünleri Fak. Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Böl. Adana
Prof. Dr. Sait ENGİNDENİZ	Ege Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomisi Böl. İzmir
Dr. Öğr. Üyesi Fatma ERGÜN	Kırşehir Ahi Evran Üniv. Sağlık Bilimleri Fak. Beslenme ve Diyetetik Böl. Kırşehir
Dr. Fatma Dolunay ERDOĞUŞ	Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müd. Ankara
Prof. Dr. Makbule ERDOĞDU	Kırşehir Ahi Evran Üniv. Ziraat Fak. Peyzaj Mimarlığı Böl. Kırşehir
Prof. Dr. Ömer ERİNCİK	Aydın Adnan Menderes Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Aydın

* Soyada göre sıralanmıştır.



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

- Doç. Dr. Tamer ERYİĞİT
Prof. Dr. Mona GAZEL
Doç. Dr. Tuba MERT GÖNENÇ
Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN
Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN
Prof. Dr. Medine GÜLLÜCE
Dr. Nurdan GÜNGÖR SAVAŞ
Dr. Öğr. Üyesi Ramazan GÜRBÜZ
Prof. Dr. Ergin HAMZAOĞLU
Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU
Prof. Dr. Doğan İŞİK
Doç. Dr. Ahmet Levent İNANÇ
Doç. Dr. Mahmut İSLAMOĞLU
Prof. Dr. Gülay KAÇAR
Prof. Dr. Şevket Metin KARA
Dr. Öğr. Üyesi Murat KARACA
Doç. Dr. Güngör KARAKAŞ
Doç. Dr. Güngör KARAKAŞ
Prof. Dr. Yasemin KAVDIR
Prof. Dr. Abdullah KAYA
Dr. Öğr. Üyesi Elife KAYA
Dr. Öğr. Üyesi Elife KAYA
Prof. Dr. Mukaddes KAYIM
Dr. Öğr. Üyesi Gökmen KOÇ
Prof. Dr. Mehmet KOYUNCU
Doç. Dr. Hasan KILIÇGÜN
Prof. Dr. Saliha KIRICI
Dr. Sevcan MAMUR
Prof. Dr. Hatice MERGEN
Prof. Dr. Figen MERT
Doç. Dr. A. Mustafa OKANT
Dr. Cansu ÖKSEL
Prof. Dr. Hikmet ORHAN
Prof. Dr. Abdulhabip ÖZEL
Prof. Dr. Fevzi ÖZGÖKÇE
Prof. Dr. Hülya ÖZGÖNEN ÖZKAYA
Prof. Dr. Hülya ÖZGÖNEN ÖZKAYA
Doç. Dr. Selçuk ÖZYÜREK
Dr. Valiollah PALANGİ
Dr. Leyla PAŞAYEVA
- Van Yüzüncü Yıl Üniv. Gevaş MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Böl. Van
Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Hatay
İzmir Katip Çelebi Üniv. Eczacılık Fak. İzmir
Atatürk Üniv. Fen Fak. Kimya Böl. Erzurum
Atatürk Üniv. Fen Fak. Kimya Böl. . Erzurum
Atatürk Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Erzurum
Manisa Bağcılık Araştırma Enst. Müd. Manisa
İğdır Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. İğdır
Gazi Üniv. Gazi Eğitim Fak. Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Böl. Ankara
Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Adana
Erciyes Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Kayseri
KSÜ Mühendislik-Mimarlık Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Kahramanmaraş
Adıyaman Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Adıyaman
Bolu Abant İzzet Baysal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Bolu
Ordu Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Ordu
Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Konya
Hitit Üniv. İktisadi ve İdari Bilimler Fak. Uluslararası Ticaret ve Loj. Böl. Çorum
Hitit Üniv. İktisadi ve İdari Bilimler Fak. Uluslararası Ticaret ve Loj. Böl. Çorum
Çanakkale Onsekiz Mart Üniv. Ziraat Fak. Toprak Bil. ve Bitki Bes. Böl. Çanakkale
Gazi Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Ankara
KSÜ Teknik Bilimler MYO Gıda İşleme Böl. Kahramanmaraş
KSÜ Teknik Bilimler MYO Gıda İşleme Böl. Kahramanmaraş
Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Adana
Çukurova Üniv. Pozantı MYO/Bitkisel ve Hayvansal Üretim Böl. Adana
Bursa Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Zootehni Böl. Bursa
Erzincan Binali Yıldırım Üniv. Sağlık Bilimleri Fak. Beslenme ve Diyetetik Böl. Erzincan
Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Adana
Gazi Üniv. Yaşam Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi Ankara
Hacettepe Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Ankara
Çanakkale Onsekiz Mart Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Çanakkale
Harran Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Şanlıurfa
Tekirdağ Namık Kemal Üniv. Fen Bilimleri Enst. Bitki Koruma ABD Tekirdağ
Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fak. Temel Tıp Bilimleri Böl. Isparta
Harran Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Şanlıurfa
Van Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Fak. Moleküler Biyoloji ve Genetik Böl. Van
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Isparta
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Isparta
Erzincan Binali Yıldırım Üniv. Çayır MYO Veterinerlik Böl. Erzincan
Ataturk Üniv. Ziraat Fak. Zootehni Böl. Erzurum
Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Erciyes University, Kayseri



KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TARIM ve DOĞA DERGİSİ

Prof. Dr. Rıdvan POLAT

Prof. Dr. Eyyüp RENCÜZOĞULLARI

Dr. Vivekanandarajah SARAVANAN

Prof. Dr. Ali SATAR

Prof. Dr. Selami SELVİ

Prof. Dr. Semih Metin SEZEN

Prof. Dr. Emine Mine SOYLU

Doç. Dr. Adem Yavuz SÖNMEZ

Prof. Dr. Mustafa SÜRMEK

Prof. Dr. Cemalettin ŞAHİN

Prof. Dr. Ramazan ŞEVİK

Prof. Dr. İbrahim TAPKI

Prof. Dr. Şener TARLA

Prof. Dr. Murat TAŞAN

Prof. Dr. Ali Rıza TEKİN

Doç. Dr. Halil TOKTAY

Doç. Dr. Elif TOZLU

Dr. Öğr. Üyesi Fatma TURNA DEMİR

Dr. Öğr. Üyesi Musa TÜRKMEN

Doç. Dr. Mustafa USTA

Prof. Dr. Yusuf UZUN

Prof. Dr. Fatma ÜNAL

Prof. Dr. Ersen Aydın YAĞMUR

Doç. Dr. Elif YAVUZASLANOĞLU

Prof. Dr. Mustafa YILDIRIM

Dr. Öğr. Üyesi Ersel YILMAZ

Prof. Dr. Uğur ZULKADİR

Bingöl Üniv. Ziraat Fak. Peyzaj Mimarlığı Böl. Bingöl

Adıyaman Üniv. Fen-Edebiyat Fak. Biyoloji Böl. Adıyaman

KnowledgeLink Group, Inc., Waltham, Ma 02451, USA

Dicle Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Diyarbakır

Balıkesir Üniv. Altınoluk MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Böl. Balıkesir

Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Tarımsal Yapılar ve Sulama Böl. Adana

Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Hatay

Kastamonu Üniv. Su Ürünleri Fak. Su Ürünleri Temel Bilimleri Böl. Kastamonu

Aydın Adnan Menderes Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Aydın

Recep Tayyip Erdoğan Üniv. Su Ürünleri Fak. Rize

Afyon Kocatepe Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Afyon

Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Zootekni Böl. Hatay

Uşak Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Uşak

Tekirdağ Namık Kemal Üniv. Ziraat Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Tekirdağ

Gaziantep Üniv. Mühendislik Fak. Gıda Mühendisliği Böl. Gaziantep

Niğde Ömer Halisdemir Üniv. Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fak. Niğde

Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Erzurum

Antalya Bilim Üniv. Sağlık Hizmetleri MYO Antalya

Hatay Mustafa Kemal Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Hatay

Van Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl. Van

Van Yüzüncü Yıl Üniv. Eczacılık Fak. Eczacılık Meslek Bilimleri Böl. Van

Gazi Üniv. Fen Fak. Biyoloji Böl. Ankara

Manisa Celâl Bayar Üniv. Alaşehir MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Böl. Manisa

Karamanoğlu Mehmetbey Üniv. Teknik Bilimler MYO Karaman

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Böl. Kahramanmaraş

Aydın Adnan Menderes Üniv. Ziraat Fak. Biyosistem Mühendisliği Böl. Aydın

Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Zootekni Böl. Konya

Bazı Lamiaceae Bitkilerinin Yağ Asidi Bileşiminin Belirlenmesi

Pelin TAŞTAN¹, Derviş BİRİM², Tuğçe FAFAL³, Güliz ARMAGAN⁴, Bijen KIVÇAK⁵

^{1,3,5}Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı, 35100, Bornova, İzmir, ^{2,4}Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 35100, Bornova, İzmir

¹<https://orcid.org/0000-0003-0913-5369>, ²<https://orcid.org/0000-0002-7445-5855>, ³<https://orcid.org/0000-0001-7645-1930>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-5094-9949>, ⁵<https://orcid.org/0000-0001-6466-2263>

✉: pelintastan35@gmail.com

ÖZET

Lamiaceae familyası birçok cins ve türü içinde barındıran geniş bir familyadır. Bu çalışmada, familyadaki türlerden olan *Stachys lavandulifolia*, *Salvia verticillata*, *Phlomis herba venti* sp. *pungens* ve *Phlomis sieheana* bitkilerinin GC/MS yöntemi kullanılarak yağ asidi içerikleri tayin edilmiştir. Buna göre tekli doymamış yağ asidi oranının %18-%34 ve çoklu doymamış yağ asidi oranının ise %24-%49 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Ayrıca her bir bitki için bulunmuş olan majör doymuş yağ asitleri trikozanoik asit ve lignoserik asit olarak bulunmuşken, majör doymamış yağ asitleri ise nervonik asit, eikodadienoik asit ve dokozadienoik asit olarak tespit edilmiştir. Yağlar, başta yüksek bir enerji kaynağı olmak üzere, sağlık üzerinde birçok faydalı etkiye sahiptir. Yüksek miktarda doymamış yağ asidi içeriği sayesinde, bitkilerin sağlık üzerinde pozitif etkisi olduğu desteklenmektedir. Elde edilen sonuçlar, bu bitkilerle yapılacak her bir çalışmaya ışık tutacaktır.

Biyokimya

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 19.08.2021

Kabul Tarihi : 19.11.2021

Anahtar Kelimeler

Lamiaceae

Yağ asidi bileşimi

Phlomis

Stachys

Salvia

Fatty Acids Compositions of Some Lamiaceae Plants

ABSTRACT

The Lamiaceae family is a large family that includes many genera and species. In this study fatty acid compositions of the plants *Stachys lavandulifolia*, *Salvia verticillata*, *Phlomis herba venti* sp. *pungens* and *Phlomis sieheana* were determined by using GC/MS method. Accordingly, it was determined that the ratio of monounsaturated fatty acids varied between 18-34% and the ratio of polyunsaturated fatty acids between 24-49%. Besides, the major saturated fatty acids found for each plant were tricosanoic acid and lignoceric acid, while the major unsaturated fatty acids were determined as nervonic acid, eicodadienoic acid and docosadienoic acid. Fats have many beneficial effects on health, especially as a high energy source. Thanks to its high content of unsaturated fatty acids, it is supported that plants have a positive effect on health. The results obtained will shed light on each study to be made with these plants.

Biochemistry

Research Article

Article History

Received : 19.08.2021

Accepted : 19.11.2021

Keywords

Lamiaceae

Fatty acid composition

Phlomis

Stachys

Salvia

Atıf Şekli: Taştan P, Birim D, Fafal T, Armağan G, Kıvçak B 2022. Bazı Lamiaceae Bitkilerinin Yağ Asidi Bileşiminin Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1199-1204. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.984818>.

To Cite: Taştan P, Birim D, Fafal T, Armağan G, Kıvçak B 2022. Fatty Acids Compositions of Some Lamiaceae Plants. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1199-1204. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.984818>.

GİRİŞ

Lamiaceae (Labiatae) familyası 250 cins ve 6500 adet tür içeren çok geniş bir familyadır. Familya çoğu tıbbi ve aromatik özellikte olan adaçayı (*Salvia* sp.), kekik (*Thymus* sp.), nane (*Mentha* sp.), mercanköşk (*Majorana* sp.), biberiye (*Rosmarinus* sp.), lavanta (*Lavandula* sp.), reyhan (*Ocimum* sp.) gibi pek çok bitkiyi kapsamaktadır. Angiospermlerin 6. büyük familyası olan Lamiaceae familyasının üyeleri,

içerdiği uçucu yağdan dolayı antibiyotik olarak (*Salvia*, *Lavandula*, *Rosmarinus*, *Mentha*, *Marrubium* ve *Pogostemon*) ve baharat olarak (*Salvia*, *Origanum*, *Thymus*, *Ocimum*, *Satureja*) kullanıldıkları gibi farmakoloji ve kozmetik sanayiinde de yer aldıkları için ekonomik ve tıbbi bir öneme sahiptir (Davis ve Kit, 1988; Seçmen ve ark., 1989; Baytop, 1991). Bunlardan çalba adı ile bilinen *Phlomis* cinsi, Asya, Avrupa ve Afrika'da dağılım gösteren birçok türden

oluşur. Türkiye’de ise 30 tanesi endemik olmak üzere toplam 46 türü yetişmektedir (Davis, 1982; Li ve ark.,1994). Daha önce yapılmış olan çalışmalarda farklı *Phlomis* türlerinde iridoitler, flavonoitler, fenilpropanlar, lignanlar, neolignanlar, diterpenoitler, alkaloitler ve uçucu yağlar gibi birçok madde içerdikleri tespit edilmiştir (Kamel ve ark., 2000; Kyriacopoulo ve ark., 2001; Saracoglu ve ark., 2003; Kirmizibekmez ve ark., 2004). Diğer *Phlomis* türleri üzerinde yapılmış olan çalışmalarda, bu türün antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Dellai ve ark., 2009; Keser ve ark., 2012). Halk arasında silvanok adı ile bilinen *Phlomis herba venti* sp. *pungens* bitkisinin sinonim ismi *Phlomis pungens* var. *pungens* olarak bilinmektedir.

Bir diğer bitki türünün içerisinde yer aldığı adaçayı olarak bilinen *Salvia* cinsi ise, Türkiye’de 58 tanesi endemik olmak üzere 99 türden oluşmaktadır. *Salvia verticillata* subsp. *verticillata* bitkisi, halk arasında dadırak ismi ile bilinmektedir. Literatür çalışmaları incelendiğinde, bir diğer *Salvia verticillata* alt türü olan *Salvia verticillata* subsp. *atnasica* türü üzerinde antioksidan aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiş ve bunun yanında total fenolik ve flavonoit içerikleri tespit edilmiştir (Sulniute ve ark., 2016; Zengin ve ark., 2018). Ayrıca yine söz konusu türün uçucu yağ kompozisyonunun tayininin yapıldığı çalışmalar da mevcuttur (Rajabi ve ark., 2014; Forouzin ve ark., 2015). 2012 yılında İran’dan toplanmış olan *S. verticillata* ile yapılmış bir çalışmada ise, bitkinin etil asetat ekstresinden izole edilmiş olan krizoeriol bileşiğinin üzerinde antioksidan aktivite testleri uygulanmış ve hem ekstrede, hem de etken maddede aktivitenin olduğu tespit edilmiştir (Nickavar ve ark., 2016). Bu türle yapılmış bir başka çalışmada giberellik asit uygulamalarının bitkide çimlenmeyi olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir (Tursun, 2019).

Deliçay adıyla bilinen *Stachys* cinsi ise, Türkiye’de 51 tanesi endemik olmak üzere 89 tür olarak yayılım göstermektedir. Sinonim isimleri *Zietenia orientalis*, *Zietenia lavandulifolia* ve *Stachys tomentosa* olan *Stachys lavandulifolia* bitkisi tüylü çay adı ile bilinmektedir. *Stachys* türleri ile yapılmış bir çalışmada, bitki ekstrelerinin doza bağlı antibakteriyal etkilerinin olduğu, fakat antifungal aktivite göstermediği görülmüştür (Saeedi ve ark., 2008). Yine bu türden yeşil sentez yöntemi ile elde edilmiş İran’dan toplanmış olan *S. lavandulifolia* türü ile yapılmış bir çalışmada, antiglikasyon ve antioksidan aktiviteleri test edilmiştir (Safari ve ark., 2018). Başka *Stachys* türleri ile yapılmış çalışmalar da incelendiğinde, fenolik bileşiklere sahip olduklarını, uçucu yağlarının bileşenlerinin tayin edildiği ve antioksidan, sitotoksik ve antimikrobiyal gibi birçok farmakolojik aktiviteye sahip oldukları görülmüştür (Mohamed ve ark., 2018; Elfalleh ve ark., 2019; Bahadori ve ark., 2019).

Ayrıca literatür çalışmaları içerisinde arı türlerinin de söz konusu Lamiaceae genusunda yer alan bitkileri konak olarak seçtiği görülmektedir. Bombus arı türleri tarafından en çok ziyaret edilen Lamiaceae türleri içerisinde yer almaktadırlar (Aslan ve ark., 2017).

Endemik türlerinin sayısı oldukça fazla olan bu cinsler, terapötik potansiyelleri olması nedeniyle kıymetlidir. Bu cinsler içerisinde yer alan türlerin yukarıda bahsedildiği gibi, tedavide birçok terapötik etkilerinden dolayı kullanıldığı bilinmektedir.

Yüksek miktarda tayin edilecek doymamış yağ asidi miktarı, bitkilerin sağlık açısından daha güvenilir olduğunu kanıtlayacak nitelikte olacaktır. Bu sebeple bu çalışmada kullanılan 4 ayrı Lamiaceae türünün yağ asidi içerikleri tayin edilerek, bundan sonra bu türlerle yapılması olası her bir çalışmaya ışık tutması hedeflenmektedir.

MATERYAL ve METOD

Bitkisel Materyal

Çalışmada kullanılan *Stachys lavandulifolia*, *Salvia verticillata*, *Phlomis herba venti* sp. *pungens* ve *Phlomis sieheana* bitkileri Haziran 2019’da Elazığ Harput’dan toplanmış olup, teşhisleri Doç. Dr. Uğur Çakılcıoğlu (Munzur Üniversitesi, Pertek Sakine Genç MYO) tarafından yapılmıştır. Çok yıllık bu bitkiler ile ilgili botanik bilgiler Çizelge 1’de verilmiştir (Tübives).

Droglar açık havada gölgede kurutulduktan sonra değirmende toz edilmiştir. Toplanan ve uygun koşullarda kurutulmuş olan bitkiler, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim dalı herbaryumunda saklanmaktadır. Bitkilerin topraküstü kısımları, çalışılacak drogları oluşturmuştur.

Gaz kromatografisi yöntemi ile yağ asitleri tayini

40 g toz edilmiş her bir drog, petrol eteri ile Soxhlet apereyinde 60 °C de 24 saat süreyle ekstre edilmiştir. Süre sonunda çözücü alçak baskıda rotavaporda uzaklaştırılmış, bu şekilde her bir bitkinin petrol eteri ekstresi hazırlanmıştır (Yıldırım ve ark., 2009). Esterleştirmede elde edilen petrol eteri ekstresinden 0.2 gram şilifli balona tartılmış ve önce %2’lik NaOH çözeltisinden 4 ml eklenerek sabunlaşmanın gerçekleşmesi için kaynatılmıştır. Sabunlaşma tamamlandıktan sonra 5 ml %14 BF₃-metanol kompleksi eklenerek kaynatma işlemine devam edilmiştir. Sonra üzerine 2 ml n-heptan eklenerek kaynama sonunda 4 ml doymuş NaCl çözeltisinden eklenmiştir. Karışımlarda faz ayrımı oluşunca, alttaki sulu kısım atıldıktan sonra üstteki sarı renkli kısım viallere konmuş ve analiz edilinceye kadar -20 C°de saklanmıştır. Kromatografi analizi 3 paralel şekilde yapılmıştır.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan bitkilere ait botanik bilgiler
Table 1. Botanical information on the plants used in the study

Bitki adı (Plant name)	Çiçeklenme (Blooming)	Habitat (Habitat)	Yükseklik (Altitude)	Endemik (Endemic)	Dağılımı (Distribution)
<i>Stachys lavandulifolia</i>	5-8	Kalkerli volkanik kaya yamaçları	1000-3660	-	D. ve G. Anadolu
<i>Salvia verticillata</i>	6-8	Koruluk, çayırlar	0-2300	-	K. ve GD. Anadolu
<i>Phlomis herba venti</i> sp. <i>pungens</i>	6-8	Pinus ormanları, bozkır, yamaçlar	250-2400	-	D. Anadolu
<i>Phlomis sieheana</i>	5-7	Taşlı yamaçlar	870-2300	+	O. Anadolu

Gaz kromatografi analizleri HP (Hewlett Packard) Agilent marka 6890 N model FID (Flame Ionization Detector: Alev iyonlaştırma dedektörü) dedektörlü ve otomatik injektörlü gaz kromatografisi ile gerçekleştirilmiştir. HP-88 kapiller kolon (100 m x 0.25 mm İD x 0.2 um) kullanılmış olup, injektör bloğu sıcaklığı 250°C, dedektör sıcaklığı ise 260°C olarak ayarlanmıştır. Kolona sıcaklık programı uygulanmış olup, kolonun başlangıç sıcaklığı 120°C olarak ayarlanmıştır. Sonrasında dakikada 4°C artarak 185°C'ye ve sonra dakikada 1°C artarak 240°C'ye ulaşılmıştır. Bu sıcaklıkta 5 dakika bekletilmiştir. Gaz akış hızları sırasıyla hidrojenin 30 ml dk⁻¹, kuru havanın 300 ml dk⁻¹ ve taşıyıcı gaz olarak kullanılan helyumun ise 1 ml dk⁻¹ olarak ayarlanmıştır.

Yağ asidi metil esterleri standartları ile karşılaştırılarak sonuçlar kaydedilmiştir. Standartların bağıl alıkonma zamanları (relative retention time) da cihazda aynı koşullar kullanılarak analizlenmiştir. Böylece standartların bağıl alıkonma zamanları referans alınarak, kromatogramlardaki piklere karşılık gelen yağ asitleri tespit edilmiştir. 3 tekrarlı yapılarak elde edilen kromatogramlardaki piklerin yüzde alanlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Stachys lavandulifolia, *Salvia verticillata*, *Phlomis herba venti* sp. *pungens* ve *Phlomis sieheana* bitkilerinden hazırlanmış olan petrol eteri ekstraktları kullanılarak GC yöntemi ile gerçekleştirilmiş olan yağ asidi tayini sonucunda elde edilen bulgular, Çizelge 2'de verilmiştir.

Elde edilmiş olan sonuçlara göre majör doymuş yağ asidi ve majör doymamış yağ asidi sırasıyla *Phlomis herba venti* sp. *pungens* için trikozanoik asit ve cis-11,14-eikodadienoik asit; *Phlomis sieheana* için trikozanoik asit ve nervonik asit; *Stachys lavandulifolia* için lignoserik asit ve cis-13,16-dokozadienoik; *Salvia verticillata* için ise palmitik asit ve nervonik asit olarak tespit edilmiştir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmada kullanılan bitkilerin yağ asidi bileşimi belirlenerek, ayrı ayrı bileşenler analiz edilmiştir. Bu

analiz sonucunda 4 bitki için genel olarak majör doymuş yağ asitleri, trikozanoik asit ve lignoserik asit olarak; majör doymamış yağ asitleri ise cis-11,14-eikodadienoik asit, cis-13,16-dokozadienoik asit ve nervonik asit olarak bulunmuştur.

Doymuş yağ asitleri karbonhidrat metabolizması ile oluşan moleküllerden sentezlenerek tüketimi olmasa dahi insan vücudunda sentez edilebilirler. Doymamış yağ asitleri bulundukları çift bağlar sayesinde, doymuş yağ asitlerine göre daha reaktiftir. Ki bu reaktivite, yağ asidi zincirinde bulunan çift bağın sayısı ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Doymamış yağ asitleri, dokuların sağlıklı bir gelişim sürdürmesi, organların dengeli çalışmasının yanı sıra, vücudun biyokimyasal ve fizyolojik aktiviteleri üzerinde de yapıcı ve onarıcı görevler üstlenmektedir (Gogus ve Smith, 2010). Bu yağ asitlerinin kalp damar hastalıkları, depresyon, migren, eklem romatizmaları, şeker hastalığı, yüksek kolesterol, tansiyon, alerji ve kanser gibi birçok hastalığı önlemede anahtar rol oynadığı da bilinmektedir (Wassell ve ark., 2010).

Çalışmada yer alan bitkilerin yağ asitleri bileşiminin belirlenmesine dair literatür çalışmaları incelenerek majör yağ asitleri belirlenmiştir (Sefidkon ve Khajavi, 1999; Morteza-Semnani ve ark., 2004; Pitarokili ve ark., 2006; Khalilzadeh ve ark., 2008; Iscan ve ark., 2012; Pirbalouti ve ark., 2012; Ozdemir ve ark., 2017). Bitki içerik maddeleri bitkinin toplandığı yer, zaman, bitkinin kullanılan kısmı, ekstre hazırlanması için kullanılan solvan ve analiz koşulları gibi birçok faktörden etkilenerek farklılık göstermektedir. Bu da daha önce yapılmış çalışmalarla birebir aynı sonuçların elde edilmesini mümkün kılmamaktadır.

Buna göre doymamış yağ asit miktarı oldukça yüksek olarak bulunmuş olan *Stachys lavandulifolia*, *Salvia verticillata*, *Phlomis herba venti* sp. *pungens* ve *Phlomis sieheana* bitkilerinin önemi aşikardır. Daha önce bu bitkilerin yağ asidi kompozisyonlarının belirlenerek karşılaştırılması olarak sunulduğu herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmaması da, bu çalışmanın önemini arttırmaktadır. İleride bu bitkilerle yapılması olası her bir çalışma için, bulunmuş olan bu veriler ışık tutacaktır.

Çizelge 2. Bitkilerin yağ asidi bileşimi
Table 2. Fatty acid compositions of the plants

Yağ asitleri (Fatty acids)	PP	PS	SL	SV
6:0 Kaproik asit	0.415±0.02	0.0833±0.01	0.204±0.03	0.832±0.02
8:0 Kaprilik asit	0.677±0.03	0.785±0.02	0.148±0.03	2.33±0.03
10:0 Kaprik asit	0.373±0.02	0.274±0.04	0.2±0.01	1.053±0.02
11:0 Undekanoik asit	0.755±0.02	0.427±0.03	7.963±0.02	0.31±0.01
12:0 Laurik asit	0.268±0.03	0.310±0.02	0.673±0.02	0.28±0.02
13:0 Tridekanoik asit	0.323±0.04	0.275±0.01	0.229±0.02	0.268±0.02
14:0 Miristik asit	1.49±0.01	0.657±0.02	0	1.252±0.04
14:1 Miristoleik asit	0	0	0	0.089±0.03
15:0 Pentadekanik asit	0.347±0.02	1.007±0.03	1.067±0.03	0.482±0.04
15:1 Cis-10-pentadekanik asit	1.167±0.03	0	0.179±0.02	0.885±0.02
16:0 Palmitik asit	6.347±0.02	3.918±0.04	1.834±0.01	10.83±0.02
16:1 Palmitoleik asit	0	0.385±0.02	0	3.157±0.01
17:0 Heptadekanik asit	2.5±0.03	3.25±0.04	1.145±0.02	1.443±0.02
17:1 Cis-10-heptadekanik asit	0	0	0	0.063±0.01
18:0 Stearik asit	0.837±0.04	1.345±0.02	1.133±0.03	2.948±0.02
18:1 Oleik asit	1.468±0.02	0.877±0.03	0.824±0.04	4.349±0.03
18:1 trans Elaidik asit	0.714±0.03	0.558±0.02	0.248±0.02	0.253±0.01
18:2 cis Linoleik asit	7.98±0.01	5.68±0.01	2.037±0.02	5.123±0.04
18:2 trans Linoleik asit	0	0	0.118±0.01	5.837±0.03
18:3n3 Linolenik asit	1.043±0.02	1.845±0.03	0.328±0.02	4.967±0.02
18:3n6 T-linoleik asit	0.956±0.02	0.88±0.02	0.36±0.01	0.93±0.02
20:0 Araşidik asit	1.36±0.03*	1.095±0.01	0.26±0.02	0.427±0.03
20:1 Cis-11-eikozenoik asit	4.967±0.04	1.864±0.02	1.267±0.04	3.66±0.04
20:2 Cis-11,14-eikodadienoik asit	25.37±0.02	12.976±0.04	8.179±0.02	0.707±0.03
20:3n3 Cis-11,14,17-eikozatrienoik	0	0	0.44±0.02	2.23±0.03
20:3n6 Eikozatrienoik	0.87±0.02	1.322±0.03	1.34±0.03	1.1±0.02
20:4 Araşidonik asit	0,83±0.03	0	2,5±0.03	0.417±0.02
20:5 Eikozapentaenoik asit	0.76±0.01	1.376±0.02	3.05±0.02	2.913±0.02
21:0 Heneikozanoik asit	0.233±0.04	0.307±0.02	0.446±0.03	7.963±0.04
22:0 Behenik asit	5.16±0.04	0.94±0.03	2.48±0.02	3.337±0.02
22:1 Erusik asit	0	0	0.18±0.01	0.543±0.03
22:2 Cis-13,16-dokozadienoik	1.124±0.02	0	26.75±0.02	0
22:6 Dokosahekzaenoik asit	2.869±0.02	0.91±0.02	3.557±0.02	2.97±0.02
23:0 Trikozanoik asit	16.286±0.04	36.357±0.03	0.238±0.04	10.11±0.03
24:0 Butirik asit	0	0	0	0
24:0 Lignoserik asit	2.86±0.03	0.837±0.01	9.577±0.03	4.76±0.04
24:1 Nervonik asit	9.93±0.04	19.427±0.02	21.71±0.04	12.047±0.02
DYA	39.816	51.867	27.597	48.625
TDYA	18.246	23.111	33.985	25.046
ÇDYA	41.802	24.989	48.656	26.777
Total	100.3	99.9	100.7	100.9

*Standart sapma, DY A: Doymuş yağ asitleri, TDYA: Tekli doymamış yağ asitleri, ÇDYA: Çoklu doymamış yağ asitleri, PP: *Phlomis herba venti* sp. *pungens*, PS: *Phlomis sieheona*, SL: *Stachys lavandulifolia*, SV: *Salvia verticillata*.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında TKB-2019-20575 kodu ile desteklenmiştir. Yapılmış olan çalışmaların bir kısmı için Ege Üniversitesi Matal'dan (Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi) hizmet alımı yapılmıştır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamışlardır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları arasında herhangi bir çıkar çatışması söz konusu değildir.

KAYNAKLAR

Aslan MM, Ücük C, Candan G 2017. Kahramanmaraş ili *Bombus* arı türleri ve buldukları bitki örtüsünün belirlenmesi. KSÜ Doğa Bil Derg 20(4): 334-338.

- Bahadori MB, Kirkan B, Sarikurkcu C 2019. Phenolic ingredients and therapeutic potential of *Stachys cretica* subsp. *smyrnaea* for the management of oxidative stress, Alzheimer's disease, hyperglycemia, and melasma. *Industrial Crops and Products* 127: 82-87.
- Baytop A 1991. Türkiye'de Kullanılan Yabani ve Yetiştirilmiş Aromatik Bitkiler, Doğa-Turkish Journal of Pharmacy 1(2): 76-88.
- Davis PH, Kit Tan MRD (eds) 1988. Flora of Turkey and East Aegean Islands, 10, supplement University Press, Edinburgh.
- Davis, PH 1982. Flora of Turkey and East Aegean Islands, University Press, Edinburg, Scotland 7.
- Dellai A, Mansour HB, Limem I, Bouhlel I, Sghaier MB, Boubaker J, Ghedira K, Chekir Ghedira L 2009. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in different extracts from the flowers of *Phlomis crinita* Cav. ssp *mauritanica* munby from the center of Tunisia, *Drug and Chemical Toxicology* 32:3: 283-292.
- Elfalleh W, Kirkan B, Sarikurkcu C 2019. Antioxidant potential and phenolic composition of extracts from *Stachys tmolea*: An endemic plant from Turkey. *Industrial Crops and Products* 127: 212-216.
- Forouzin F, Jamei R, Heidari R 2015. Compositional Analysis and Antioxidant Activity of Volatile Components of Two *Salvia* spp. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 14(11): 2009-2013.
- Gogos U, Smith C 2010. n-3 Omega fatty acids: a review of current knowledge. *Int. J Food Sci Technol* 45: 417-436.
- Iscan G, Demirci B, Demirci F, Goger F, Kirimer N, Kose YB, Baser KHC 2012. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Stachys lavandulifolia* subsp *lavandulifolia* Essential Oil and its Infusion. *Natural Product Communications* 7(9): 1241-1244.
- Kamel MS, Mohamed KM, Hassanean HA, Ohtani K, Kasai R, Yamasaki K 2000. Iridoid and megastigmane glycosides from *Phlomis aurea*. *Phytochemistry* 55(4): 353-357.
- Keser S, Turkoglu S, Celik S, Turkoglu I 2012. Determination of Antioxidant Capacities of *Phlomis pungens* Willd. var. *hispida* Hub.-Mor. *Asian Journal of Chemistry* 24(6): 2780-2784.
- Khalilzadeh MA, Tajbakhsh M, Rineh A 2008. Study of the essential oils composition of leaves and flowers of two subspecies *Phlomis herba-venti* (Pungens and Lenkoranica) from Iran. *Journal of Essential Oil Research* 20(1): 46-48.
- Kirmizibekmez H, Calis I, Perozzo R, Brun R, Donmez AA, Linden A, Rueedi P, Tasdemir D 2004. Inhibiting activities of the secondary metabolites of *Phlomis brunneogaleata* against parasitic protozoa and plasmodial enoyl-ACP reductase, a crucial enzyme in fatty acid biosynthesis. *Planta Med* 70(8): 711-717.
- Kyriacopoulou I, Magiatis P, Skaltounis A, Aligiannis N, Harvala C, Samioside R. Samioside 2001. A new phenylethanoid glycoside with free radical scavenging and antimicrobial activities from *Phlomis samia*. *J Nat Pro* 64(8): 1095-1097.
- Li XW., Hedge, IC. in eds.: Wu ZY., Raven PH 1994. *Phlomis*, Flora of China, Science Press, China.
- Mohamed TA, Elshamy AI, Hamed AR, Shams KA, Hegazy MEF 2018. Cytotoxic neo-clerodane diterpenes from *Stachys aegyptiaca*. *Phytochemistry Letters* 28: 32-36.
- Morteza-Semnani K, Azadbakht M, Goodarzi A 2004. The essential oils composition of *Phlomis herba-venti* L. leaves and flowers of Iranian origin. *Flavour and Fragrance Journal* 19(1): 29-31.
- Nickavar B, Rezaee J, Nickavar A 2016. Effect-Directed Analysis for the Antioxidant Compound in *Salvia verticillata*. *Iran J Pharm Res* 15(1): 241-246.
- Ozdemir FA, Kilic O, Yildirimli S 2017. Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of Endemic *Phlomis sieheana* Rech. From Bingol (Turkey). *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 20(2): 516-523.
- Pirbalouti AG, Malekpoor F, Mohammadi M, Yousefi M 2012. Composition of the Essential Oil of *Stachys lavandulifolia* from Central Zagros Mountains. *Acta Horticulturae* 955: 101-104.
- Rajabi Z, Ebrahimi M, Farajpour M, Mirza M, Ramshini H 2014. Compositions and yield variation of essential oils among and within nine *Salvia* species from various areas of Iran. *Industrial Crops and Products* 61: 233-239.
- Saeedi M, Morteza-Semnani K, Mahdavi MR, Rahimi F 2008. Antimicrobial Studies on Extracts of Four Species of *Stachys*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 70(3): 403-429.
- Safari MR, Azizi O, Heidary S, Kheiripour N, Ravan AP 2018. Antiglycation and antioxidant activity of four Iranian medical plant extracts. *J Pharmacopuncture* 21(2): 82-89.
- Saracoglu I, Varel M, Calis I 2003. Neolignan, Flavonoid, Phenylethanoid and Iridoid Glycosides from *Phlomis integrifolia*. *Turk J Chem* 27(6): 739-748.
- Seçmen Ö, Gemici Y, Leblebici E, Görk, G, Bekat L 1989. Tohumlu Bitkiler Sistematigi, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir 276.
- Sefidkon F, Khajavi MS 1999. Chemical composition of the essential oils of two *Salvia* species from Iran: *Salvia verticillata* L. and *Salvia santolinifolia* Boiss. *Flavour and Fragrance Journal* 14(2): 77-78.
- Sulniute V, Ragažinskienė O, Rimantas Venskutonis P 2016. Comprehensive evaluation of antioxidant potential of 10 *Salvia* species using high pressure methods for the isolation of lipophilic and hydrophilic plant fractions. *Plant Foods for*

- Human Nutrition 71: 64-71.
- Tursun AÖ 2019. *Salvia verticillata* L. (Dadırağ)'nın tohum dormansisinin kırılmasında farklı uygulamaların etkileri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22 (Ek Sayı 1): 30-37.
- Wassell P, Bonwick G, Smith CJ, AlmironRoig E, Young NVG 2010. Towards a multidisciplinary approach to structuring in reduced saturated fat-based systems – a review. Int J Food Sci Technol 45: 642–655.
- Yildirim N, Sunar S, Agar G, Bozari S, Aksakal O 2009. Biochemical and molecular characterization of some *Centaurea* species growing in the Eastern Anatolia region of Turkey. Biochem Genetics 47: 850- 859.
- Zengin G, Llorent-Martinez EJ, Fernandez-de Cordova ML, Bahadori MB, Mocan A, Locatelli M, Aktumsek A 2018. Chemical composition and biological activities of extracts from three *Salvia* species: *S. blepharochlaena*, *S. euphratica* var. *leiocalycina* and *S. verticillata* subsp *amasiaca*. Industrial Crops and Products 111: 11-21.

Abelmoschus esculentus (Bamya) Çiçeğinin Fitokimyasal Profili, Antioksidan, Antikolinerjik ve Antibakteriyel Özellikleri

Arzu KAVAZ YÜKSEL¹, Emrah DİKİCİ², Mehmet YÜKSEL^{3*}, Mesut İŞİK⁴

¹Atatürk Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü, Erzurum, Türkiye, ²Aksaray Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Aksaray, Türkiye, ³Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum, Türkiye, ⁴Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Bilecik, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-8292-9259>, ²<https://orcid.org/0000-0002-3086-8156>, ³<https://orcid.org/0000-0001-6566-1385>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-4677-8104>

✉: mehmet.yuksel@atauni.edu.tr

ÖZET

Bu araştırmanın amacı, *Abelmoschus esculentus*'a ait çiçek kısmının etanolik ekstraktının antioksidan ve antikolinerjik özelliklerini, fenolik bileşik profilini ve antibakteriyel aktivitesini araştırmaktır. Fenolik bileşiklerin analizi LC-MS/MS ile gerçekleştirilmiştir. Antioksidan kapasitesi (radikal giderme, metal indirgeme gücü ve toplam antioksidan aktivite) DPPH, ABTS, Cu²⁺-Cu⁺ indirgeme (CUPRAC), Fe³⁺-Fe²⁺ indirgeme ve ferrik tiyosiyanat yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Antibakteriyel aktivite, disk difüzyon ve MIC (Minimum inhibitör konsantrasyonu) yöntemleri ile belirlenmiştir. Antikolinerjik özellik ise, asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonu ile tespit edilmiştir. Bitki özütünde miktar bakımından en fazla bulunan başlıca fenolik bileşiğin asetohidroksamik asit olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, sırasıyla kuarsetin, myrisetin, fumarik asit, vanillik asit, ellagik asit, 4-hidroksibenzoik asit, salisilik asit, kafeik asit, kemferol, bütein, protokateşik asit, kateşin hidrat, oleuropein ve diğer bileşenler tespit edilmiştir. Bitkinin etanolik özütü, %29.41 DPPH radikal giderme aktivitesi gösterirken, %20.59 ABTS radikal giderme aktivitesine ve ayrıca orta düzeyde metal indirgeme potansiyeline sahiptir. Ayrıca ekstrakt, 0.18 mg mL⁻¹ IC₅₀ değeri ile AChE üzerinde bir inhibisyon etkisi göstermiştir. Bitkinin etanol özütü, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella Typhimurium* üzerinde farklı düzeylerde antibakteriyel etki göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, *A. esculentus* çiçek özütünün, sahip olduğu antioksidan, antikolinerjik ve antibakteriyel özellikleri ile bazı hastalıkların tedavisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Biyokimya

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 30.07.2021

Kabul Tarihi : 26.11.2021

Anahtar Kelimeler

Abelmoschus esculentus

Antioksidan

Fitokimyasal analiz

Asetilkolinesteraz

Antibakteriyel

Phytochemical Profile, Antioxidant, Anticholinergic and Antibacterial Properties of Flowers of *Abelmoschus esculentus* (Okra)

ABSTRACT

The aim of this research was to investigate the antioxidant, and anticholinergic properties, phenolics profile and antibacterial activities of *Abelmoschus esculentus* ethanol extract. The analysis of phenolic compounds was performed with LC-MS/MS. The antioxidant capacity (radical scavenging, metal-reducing power and total antioxidant activity) was assessed by DPPH, ABTS, Cu²⁺-Cu⁺ reducing (CUPRAC), Fe³⁺-Fe²⁺ reducing and ferric thiocyanate methods. The antibacterial activity was determined by disc diffusion and MIC (Minimum inhibitory concentration) methods and the anticholinergic property was predicted by inhibition of acetylcholinesterase (AChE). Acetohydroxamic acid was determined as the main phenolic compound with the highest amount in the flower extract. Also, quercetin, myricetin, fumaric acid, vanillic acid, ellagic acid, 4-hydroxybenzoic acid, salicylic acid, caffeic acid,

Biochemistry

Research Article

Article History

Received : 30.07.2021

Accepted : 26.11.2021

Keywords

Abelmoschus esculentus

Antioxidant

Phytochemical analysis

Acetylcholinesterase

Antibacterial

kaempferol, butein, protocatechic acid, catechin hydrate, oleuropein and other components were detected, respectively. The ethanolic extract of the plant has 29.41% DPPH radical scavenging activity, 20.59% ABTS radical scavenging activity, and also moderate metal reduction potential. Also, the extract showed an inhibition effect on the AChE with IC₅₀ values (0.18 mg mL⁻¹). The ethanol extract of the plant showed antibacterial effect on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella Typhimurium* at different levels. These results suggested that extract of the flowers of *A. esculentus* extract might play a role in the treatment of some diseases with its antioxidant, anticholinergic, and antibacterial activity.

Atf Şekli: Kavaz Yüksel A, Dikici E, Yüksel M, Işık M 2022. *Abelmoschus esculentus* (Bamya) çiçeğinin fitokimyasal profili, antioksidan, antikolinerjik ve antibakteriyel özellikleri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1205-1215. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.976717>

To Cite : Kavaz Yüksel A, Dikici E, Yüksel M, Işık M 2022. Phytochemical profile, antioxidant, anticholinergic and antibacterial properties of flowers of *Abelmoschus esculentus* (Okra). KSU J. Agric Nat 25 (6): 1205-1215. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.976717>

GİRİŞ

Abelmoschus esculentus L. (Moench), *Malvaceae* familyasına ait, yenilebilir olgunlaşmamış meyveleri için yaygın olarak kullanılan bir sebze türüdür. Kadın parmağı, bamya, bhindi veya gumbo gibi diğer bazı yerel adlarda daha yaygın olarak bilinen tek yıllık bir bitkidir (Carney ve Richard, 2009; Dhaliwal, 2010; Kumar ve ark. 2013; Xia ve ark. 2015). Genel olarak, Afrika'ya özgü olan bu bitki dünyanın farklı ülkelerinde, özellikle tropikal, subtropikal ve ılıman bölgelerde (Güney Avrupa, Orta Doğu, Asya ve Amerika) yetiştirilmektedir (Xia ve ark. 2015, Durazzo ve ark. 2019). Bamya meyvesi önemli bir tıbbi değere sahiptir olup çeşitli hastalıkları ve rahatsızlıkları kontrol etmek için kullanılmaktadır (Sabitha ve ark. 2011). Bununla birlikte bitkinin sadece meyvesi değil aynı zamanda yaprakları, çiçekleri, sapları ve özellikle zengin bir yağ ve protein kaynağı olan tohumları dahil olmak üzere diğer kısımları da çeşitli amaçlarla kullanılabilir (Camciuc ve ark. 1998; Adetuyi ve Osagie, 2011, Gemede ve ark. 2015). Antik çağlardan beri *A. esculentus* bitkisinin infüzyonları ve kaynatılması ile elde edilen sıvılar halk hekimliğinde diüretik ve ishal, akut iltihap, mide ve bağırsak tahrişi, nezle enfeksiyonları, bel soğukluğu, diş rahatsızlıkları, bronşit ve pnömoni gibi rahatsızlıkları tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır (Habtemariam, 2019).

A. esculentus meyveleri ve tohum fraksiyonları büyük ölçüde fenolik madde ve pektin içeriğine sahiptir (Petropoulos ve ark. 2018). Bamya, zamksı bir yapıdadır ve kalorisi düşüktür. Bununla birlikte nötrositik içerik açısından zengindir ve iyi bir yenilebilir diyet lifi kaynağıdır. Çalışmalar, *A. esculentus*'un C vitamini, karoten, tiamin, folik asit, riboflavin, oksalik asit, niasin ve amino asitler gibi önemli biyoaktif bileşikleri içerdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, iyi bir protein ve mineral (K, Ca, P ve Mg) kaynağıdır (Adelakun ve ark.2009;

Habtemariam, 2019). Ayrıca, toplam yağ asitlerinin%70'inden fazlasını oluşturan özellikle linoleik ve palmitik asitler gibi yağ asitlerinin önemli bir kaynağı olma özelliğini göstermektedir (Berry, 1980). *A. esculentus* bitkisi doğrudan tüketiminin yanı sıra biyopolimer, polisakarit ve flavonoid gibi biyoaktif molekülleri yüksek miktarda içermesi nedeniyle, ilaç ve gıda endüstrisinde emülgatör olarak ve eczacılıkta ise kan hacmini artırıcı ilaç formülasyonlarının yapımında kullanılmaktadır (Liu ve ark. 2019).

A. esculentus'un sağlığı geliştirici etkisi sahip olduğu çeşitli biyolojik aktivitelerden kaynaklanmaktadır. Bitkinin farklı bölümlerindeki biyoaktif bileşen profili birbirinden farklılık göstermektedir. *A. esculentus*'un kabuğu, polifenolik bileşikler, karoten, folik asit, tiamin, riboflavin, niasin, C vitamini, oksalik asit ve amino asitler bakımından zengindir (Petropoulos ve ark. 2018); tohumu, polifenolik bileşikler özellikle de oligomerik kateşinler ve flavonol türevleri, protein (yani yüksek lizin seviyeleri) ve yağ fraksiyonu (özellikle palmitik, oleik ve linoleik asit) içerir (Arapitsas, 2008; Wei, ve ark. 2016); kök, karbonhidratlar ve flavonol glikozitleri (Sunilson ve ark. 2008) ve yapraklar ise, mineraller, tanenler ve flavonol glikozitlerinin önemli bir kaynağıdır (İdris, ve ark. 2009; Caluete ve ark. 2014).

Son beş yılda yapılan farmakolojik çalışmalar, *A. esculentus* özütlerinin kardiyolojik, renal, gastro ve nöro-koruyucu etkiler (Habtemariam, 2019) gibi önemli biyolojik aktivitelerin yanı sıra antioksidan, antihipertansif, antihiperlipidemik ve antihiperglisemik (Durazzo ve ark. 2019), yorgunluk giderici, antibakteriyel (Petropoulos ve ark. 2018), antiinflamatuvar ve analjezik özellikler (Alves ve ark. 2018) gibi çeşitli biyoaktivitelere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Sabitha ve ark. 2011; Lu ve ark. 2016; Graham ve ark. 2017; Zhang ve ark. 2018).

A. esculentus bitkisinin çeşitli kısımlarının

antioksidan aktivitesini inceleyen Khomsug ve ark. (2010) ve Liao ve ark. (2012), etanolik tohum ekstraktlarının önemli antioksidan potansiyeli gösterdiğini ve bununda bitkinin fenolik madde içeriği ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Singh (2012) *A. esculentus*'ün antimikrobiyal özelliklerini incelemiş ve *A. esculentus* meyvesi ve tohumlarının *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas fluorescens*'e karşı önemli bir inhibisyon gösterdiğini saptamıştır.

Bu çalışmanın amacı, *A. esculentus*'ün daha önce araştırılmamış çiçek kısımlarının fenolik bileşik profili ve bazı biyoaktif özelliklerinin değerlendirilmesini sağlamaktır. Bu çalışmada, *A. esculentus* çiçeklerinin fenolik bileşik profilleri, antioksidan, antikolinergik ve antibakteriyel özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca bu çalışma ile *A. esculentus* hakkında birçok yenilikçi bilginin de bir araya getirilmesi mümkün olmuştur.

MATERYAL ve METOD

Materyal

A. esculentus'ün çiçekleri (Temmuz-Ağustos 2020) Gaziantep, Türkiye'den toplanmıştır. Bitkiler, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi tarafından uygun ve botanik olarak tanımlanmıştır [Sayık ve ark. 2017; Adamczak ve ark. 2019]. Aynı bölgeden elde edilen bitki materyalinin çiçek kısımları (2.30 kg) deiyonize su ile yıkanarak oda sıcaklığında gölgede 5-7 gün süreyle kurutulduktan sonra bir öğütücü (Lavion Herb Spice Öğütücü Değirmen Makinası) yardımıyla öğütülerek numune kaplarına konulmuş ve analiz edilene kadar 4°C'de muhafaza edilmiştir (Sayık ve ark. 2017). Antioksidan analizlerinde literatürde sıklıkla kullanılan (Köksal ve Gülçin, 2008; Tohma ve ark. 2017) Troloks, BHT ve BHA gibi bileşikler referans olarak kullanılmış ve kullanılan diğer tüm kimyasallar ticari olarak satın alınmıştır. (Chamberlain ve Raven 1972; Sayık ve ark. 2017; Adamczak ve ark. 2019). Tüm analizler üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Bitki Ekstraktının Hazırlanması

Ekstraksiyon, daha önce Atmani ve ark. (2009) tarafından açıklanan yöntemle göre minör modifikasyonlarla gerçekleştirildi. Kurutulan numune ile çözücü (etanol) 1:10 oranında karıştırıldı ve 24 saat süreyle çalkalayıcıda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Ekstrakt filtre kâğıdından (Whatman No.1) süzülde ve sonrasında evaporatör ile çözücü uzaklaştırıldı. Hazırlanan numuneler, analizlerde kullanılmak üzere kapalı kaplarda 4°C'de saklanmıştır. LC-MS/MS analiz sonuçları toplam kuru madde oranı dikkate alınarak belirlenmiştir.

LC-MS/MS Analizi

A. esculentus'ün fenolik içeriği, bir tandem MS cihazına bağlı bir Nexera model Shimadzu UHPLC kullanılarak LC-MS/MS ile belirlendi. Yirmi farklı fenolik madde için geliştirilen yöntemin validasyon çalışmaları Harran Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Analizler için LC-30AD ikili pompalar, DGU-20A3R gaz giderici, CTO-10ASVP kolon fırını ve SIL-30AC otomatik numune alıcı kullanılmıştır. Kromatografik ayırma, C18 Inertsil ODS-4 (3.0 mm x 100 mm, 2 µM) analitik kolonu ile gerçekleştirilmiştir. Kolon sıcaklığı 40°C'de sabitlenmiş ve elüsyon gradyanı, mobil faz A'dan (su ve %0.1 formik asit) ve mobil faz B'den (metanol ve %0.1 formik asit) oluşturulmuştur. Enjeksiyon hacmi 4 µL'ye ayarlanmış ve solvent akış hızı 0.5 mL dk⁻¹'de sabitlenmiştir. MS tespiti, Shimadzu LC-MS 8040 model üçlü, dört kutuplu ve ESI kaynak işlemi ile donatılmış bir kütle spektrometresi kullanılarak hem pozitif hem de negatif iyonizasyon modlarında yapılmıştır. LC-MS/MS veri hesaplamaları Lab Solutions yazılımı (Shimadzu, Kyoto, Japonya) ile yapılmış ve analizi ölçmek için çoklu reaksiyon izleme (MRM) modu kullanılmıştır (Köksal ve ark. 2017). Deneyde her bir bileşik analizi için üç uygulama yapılmış, ortalaması alınmış ve sonuçlar nicel olarak sunulmuştur.

Antioksidan Aktivite

Toplam İndirgenme Kapasitesi

A. esculentus ekstraktlarının metal indirgeme kabiliyeti, Elmastaş ve ark. (2006a) tarafından bildirilen yöntemin modifikasyonu ile yapıldı. Farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstraktları (10, 20, 40 µg mL⁻¹), 2.5 mL fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.6) ve 2.5 mL %1 potasyum ferrisiyanür [K₃Fe(CN)₆] ile karıştırıldı. Karışımlar, 50°C'de 20 dakika süreyle inkübe edildi. Daha sonra her karışıma trikloroasetik asit (2.5 mL, %10) ve FeCl₃ (0.25 mL, %0.1) ilave edildi ve 3.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Karışımın absorbans değerleri 700 nm'de ölçüldü. İndirgeme gücü değerleri absorbans olarak ifade edildi ve elde edilen sonuçlar standart antioksidanlarla karşılaştırıldı (Elmastaş ve ark. 2006b).

Cu (II) İyonu İndirgeme Kapasitesi (CUPRAC)

Cu (II) -Nc'nin Cu (I) -Nc kompleksinin indirgenmesine dayanan CUPRAC yöntemi uygulandı (Apak ve ark. 2006, Gülçin, 2008). Test tüpüne 1 mL CuCl₂ (0.01 M) solüsyonu, 1 mL neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) ve 1 mL amonyum asetat (NH₄Ac) tampon çözelti eklendi ve vorteks kullanılarak karıştırıldı. Daha sonra farklı konsantrasyonlardaki ekstraktlar (10, 20, 40 µg mL⁻¹) ilave edildi ve toplam hacim ultra saf su kullanılarak 4 mL'ye ayarlandı. Oda sıcaklığında 30 dakika

inkübasyondan sonra absorbands 450 nm'de kaydedildi. Karışımdaki reaksiyonla artan absorbands, Cu iyonu indirgeme kapasitesinin arttığını gösterir. Sonuçlar absorbands olarak verildi ve standart antioksidanlarla karşılaştırıldı.

DPPH Radikal Giderme Aktivitesi

A. esculentus ekstraktlarının ve standart antioksidanların DPPH serbest radikal giderme aktivitesinin belirlenmesi için Blois yöntemi (1958) kullanıldı. Bu analiz için metanol içinde 0.1 mM DPPH çözeltisi hazırlandı. Stok çözeltilerden elde edilen numuneler (10, 20, 40 µg mL⁻¹) bu çözeltinin 1 mL'si ile karıştırıldı ve etanol ile 3 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltiler iyice vortekslendi ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildi. Örneklerin absorbandsı, 517 nm'de bir spektrofotometre kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar, radikal giderme aktivitenin yüzdesi olarak rapor edildi.

ABTS Radikal Giderme Aktivitesi

Bu yöntem, renkli ABTS⁺ katyon radikalının bir ekstrakt ile işlenmesi sonucu renk değişimi ilkesine dayanmaktadır (Re ve ark. 1999). ABTS (2 mmol L⁻¹) çözeltisi, 2.45 mmol L⁻¹ potasyum persülfat (K₂S₂O₈) çözeltisi ile karıştırıldı. Elde edilen solüsyon karanlıkta oda sıcaklığında 14 saat inkübe edildi. İlk olarak ABTS⁺ radikal çözeltisi, 734 nm'de 0.750±0.025 absorbands elde edilene kadar sodyum fosfat tamponu (0.1 mol L⁻¹, pH 7.4) ile seyreltildi. Daha sonra 10, 20, 40 µg mL⁻¹ ekstrakte edilmiş stok çözeltiler alınarak hacmi 3 mL olana kadar fosfat tamponu ile tamamlanmıştır. Hazırlanan 1 mL ABTS⁺ solüsyonu, ekstrakt örnekleri ile karıştırıldı ve vortekslendi. Absorbans, 734 nm'de bir spektrofotometre kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar, radikal giderme aktivitesinin yüzdesi olarak rapor edildi.

$$\text{Radikal giderme aktivitesi (\%)} = \frac{\text{Kontrol absorbands değeri} - \text{Örnek absorbands değeri}}{\text{Kontrol absorbands değeri}} \times 100$$

Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi

A. esculentus ekstresinin AChE enzimi üzerindeki inhibitör etkisi Ellman spektrofotometrik yöntemi ile belirlendi (Ellman ve ark. 2002). 50 µl 5,5'-ditiyo-bis (2-nitro-benzoik) asit (DTNB), 100 µl Tris-HCl tampon (1 M, pH 8.0) ve 50 µL AChE (5.32x10⁻³ U) içeren reaksiyon solüsyonu 30°C'de inkübe edildi ve 15 dakika karıştırıldı. Sonuç olarak, substrat olarak kullanılan 50 µL asetiltiokolin iyodür (AChI) ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Substratın enzimatik hidrolizi, 412 nm'de spektrofotometri ile tespit edildi (Necip ve Isik 2019). Farklı konsantrasyon aralıklarında (0.8-0.25 mg mL⁻¹) *A. esculentus*'un etanolik özütünün AChE üzerindeki etkisi tarandı. IC₅₀ değerleri, ekstrakt için aktivite (%)-[Ligand]

grafiklerinden hesaplandı (Demir ve ark. 2017; Necip ve Isik 2019; Türkeş ve ark. 2021).

Abelmoschus esculentus Ekstraktının Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi

Kültürlerin Hazırlanması

A. esculentus ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi için *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ve *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028) kültürleri kullanılmış ve bu kültürler analizlere kadar -80°C'de saklanmıştır. Bu kültürler, 35-37°C'de 24 saat süreyle Trypticase Soy Maya Extract (TSYE) içinde aktive edilmiş ve kültürlerin yoğunlukları 0.5 McFarland standardı ile 1x10⁸ CFU mL⁻¹e getirilmiştir (Zapata ve Ramirez-Arcos, 2015).

Disk Difüzyon Yöntemi

Steril ve 9 cm çapında petri kutuları, 20 mL Mueller-Hinton Agar kullanılarak hazırlandı. Her bakteri süspansiyonunun standart miktarları (10⁸ CFU mL⁻¹) hazırlanan petrilere aktarıldı (Gülçin ve ark. 2004). Daha sonra hazırlanan petri plakları üzerine 20 µL EMS özü emdirilmiş steril kâğıt diskler (6 mm) yerleştirildi. Hazırlanan plaklar 4°C'de 1 saat tutuldu ve daha sonra 37°C'de 24-48 saat inkübe edildi. Kontrol diski dahil bakterisidal alanların çapları (mm) değerlendirildi. Bu analiz için pozitif kontrol olarak siprofloksasin (5 µg disk⁻¹) kullanılmıştır (Umar ve ark. 2019).

Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MIC) Yöntemi

Bu analiz için, 312 mg mL⁻¹ (ağırlık/hacim) konsantrasyonunda %35 Dimetil sülfoksit (DMSO) içinde *A. esculentus* özütleri hazırlandı. Elde edilen karışım 0.45 um Millipore filtreler (Fransa) ile sterilize edildi. Steril örnekler, antibakteriyel aktivite testleri yapılabildiye kadar 4°C'de 1.5 mL Eppendorf tüplerde muhafaza edildi. Her bakteri inokulumunun 10 uL'si mikrokuyucuklara ilave edildi ve elde edilen bitki özütü, nutrient broth (NB) kullanılarak 312, 156, 78, 39, 19.5, 9.75 mg mL⁻¹e seyreltildi. Sterilize DMSO solüsyonu bir kuyucukta negatif kontrol olarak kullanıldı. Hazırlanan mikrokuyucuklar 35-37°C'de 24 saat inkübe edildi. Mikrokuyucuklarda bulanıklık ve büyüme pozitif sonuç olarak yorumlandı. İnkübasyon periyodunun sonunda kuyucuklar, çoğalmanın varlığı veya yokluğu açısından değerlendirildi. Her test en az üç kez tekrarlandı (Umar ve ark. 2019).

İstatistik Analizler

Elde edilen veriler GraphPad Prism sürüm 6 (GraphPad Software, La Jolla, California, ABD) kullanılarak değerlendirildi. Sonuçlar ortalama±standart sapma (%95 güven aralığı) olarak

gösterildi. Veri setleri arasındaki farklar, p değeri ≤ 0.05 yani istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Tüm analizler 2 paralel ve 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

LC-MS/MS ile Fitokimyasal Fenolik Bileşik Analizi

Cihaz kütüphanesinde bulunan standart bileşiklerin doğrusal regresyon değerleri ve doğrusallık aralıkları verilmiştir (Çizelge 1). Doğrulama parametreleri, doğrusallık, tekrarlanabilirlik, tespit limitleri (LOD) ve nicelme (LOQ) olarak belirlendi. Bildirilen yöntem için her bir bileşik için doğrusallık, standart çözelti analiz edilerek belirlendi. Her bir bileşiğin doğrusallık aralıkları Çizelge 1'de verilmiştir. Standart eğrilerin korelasyon katsayıları (R^2) 0.99'dan yüksek bulunmuştur. Kullanılan analitik yöntemde LOD; $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ - $142.3 \mu\text{g L}^{-1}$ ve LOQ; $0.3 \mu\text{g L}^{-1}$ - $274.6 \mu\text{g L}^{-1}$ değerlerinin belirtilen aralıklarda değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Genel olarak fenolik bileşiklerin geri kazanım değerleri %96.6 ila %101.1 arasında değişim göstermiştir. Literatürde fenolik bileşiklerin tayini için yapılan metod validasyon çalışmaları incelendiğinde bu çalışmada elde edilen verilerle paralellik gösterdiği tespit edilmiştir (Zhu ve ark. 2012). Ayrıca elde edilen R^2 değerleri literatürde mevcut olan verilerin sınırları içinde olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, çalışmada elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. *A. esculentus*'un fenolik bileşen (flavonoidler ve fenolik asitler) profili standartlara uygun olarak tespit edilmiştir. Çizelge 1'e göre, *A. esculentus*'da en fazla bulunan bileşen asetohidroksamik asit ($2335.00 \mu\text{g L}^{-1}$) olarak belirlenmiş ve bunu sırasıyla kuarsetin, myricetin, fumarik asit, vanillik asit, ellagik asit, 4-hidroksibenzoik Asit, salisilik asit, kafeik asit, kaempferol, bütein, protokateşik asit, kateşin hidrat, oleuropein ve diğer bileşenler takip etmiştir. Elde edilen değerler $2335.00 \mu\text{g L}^{-1}$ 'den $2.32 \mu\text{g L}^{-1}$ 'ye doğru düşüş göstermiştir. Bu çalışmada tespit edilen bileşikler, esas olarak fenolikler, flavonoidler, glikozitler, fenolik asitler ve türevlerden oluşmaktadır. *A. esculentus* bitkisinin fenolik bileşik içeriği ve gösterdiği biyoaktif özellikler, çeşitlerinden, yetiştirme koşullarından, meyve boyutlarından, çiçek özelliklerinden ve hasat zamanından etkilenmektedir (Olivera ve ark. 2012; Petropoulos ve ark. 2018).

Abelmoschus esculentus'un Antioksidan Özellikleri

Bir fenolik bileşiğin antioksidan özellikleri, serbest radikal giderme yeteneğinden, metal iyonlarını şelatlamasından veya hidrojen atomu elektronu vermelerinden kaynaklanmaktadır (Sayık ve ark. 2017; Amarowicz ve ark. 2004). Fenolik bileşiklerin yapısı, metal şelatlama aktiviteleri ve radikal giderme aktiviteleri bakımından temel bazı özelliklere sahiptir. *A. esculentus*, yüksek DNA bağlama kapasitesi ve zengin kimyasal bileşimi

nedeniyle, kanser ve bakteriyel hastalıklar için mükemmel bir engelleyici ön ilaç olarak kabul edilebilmektedir (Sayık ve ark. 2017, Amarowicz ve ark. 2004).

Ekstraktların serbest radikal temizleme etkinliği önemli bir değerlendirilmez ve bu özellikler, DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) serbest radikal temizleme değeri ve ABTS (% 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikal giderme aktivite yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Serbest radikaller, oksitlenebilir substrat görevi görür ve farklı yöntemler kullanılarak indirgenebilir (Prior ve Cao, 1999). ABTS radikal katyonu, ABTS'nin potasyum persülfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) ile oksidasyonu ile elde edilmiştir (Gülçin ve ark. 2005). *A. esculentus* özütü, 0.2 mg mL^{-1} konsantrasyonunda %29.41±0.19 DPPH radikal giderme aktivitesi ve %20.59±1.36 ABTS radikal giderme aktivitesi göstermiştir (Çizelge 2). DPPH radikal giderme aktivitesi en yüksek Troloks (%81.19±5.63) standardında bulunurken, bunu sırasıyla BHA (%71.82±4.86), BHT (%46.3±2.64) ve *A. esculentus* (%29.41± 0.19) izlemiştir. *A. esculentus* bitkisinin standart antioksidanlardan daha düşük antioksidan aktiviteleri, yapısındaki düşük miktardaki antioksidan bileşiklerin varlığından kaynaklanabilir. *A. esculentus* bitkisine ait DPPH ve ABTS giderme sonuçları, bu bitkiye ait ekstraktın serbest radikalleri temizleme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, bazı serbest radikallerden kaynaklanan zincir reaksiyonlarının başlamasını ve yayılmasını önleme yeteneğine de sahip olabileceğini ortaya koymuştur.

CUPRAC analizi, çok çeşitli polifenoller için basit, hızlı, etkili, kararlı ve seçici bir antioksidan ölçüm yöntemidir (Apak ve ark. 2006). Antioksidan aktivitenin önemli bir özelliği, Fenton tipi reaksiyonları ve hidroperoksit ayrışmasını katalize edebilen geçiş metallere şelatlanması/deaktivasyonudur (Dorman ve ark. 2003). Çizelge 2'de görüldüğü gibi CUPRAC testinde ve Fe^{3+} - Fe^{2+} indirgeme aktivitesinde en yüksek değer sırasıyla BTH, BHA, Trolox ve *A. esculentus* olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, *A. esculentus* özütünün standart antioksidanlardan (BHA, BHT ve Troloks) daha düşük bakır ve demir indirgeme aktivitesine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçlardan yola çıkarak, *A. esculentus*'da bulunan bazı fenolik bileşiklerin önemli ölçüde radikal giderme ve metal şelatlama kapasitesine sahip olduğu söylenebilir. *A. esculentus*'un içeriğindeki fenolik bileşiklerin serbest radikalleri yok etme etkisinden dolayı oksidatif stresin azaltılmasında rol oynayabileceği düşünülmektedir. Aliyu ve ark. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada *A. esculentus* yapraklarının %80'lik metanolik özütünün yüksek radikal temizleme aktivitesi ve DPPH indirgeme potansiyeli gösterdiğini ortaya koymuştur.

Çizelge 1. Banya (*Abelmoschus esculentus*) çiçeğinin fitokimyasal içeriğinin LC-MS/MS yöntemi ile kantitatif olarak belirlenmesi

Table 1. Quantitative determination of phytochemical content of okra (*Abelmoschus esculentus*) flower by LC-MS/MS method

Standart bileşikler	^a MRM	^b RSD %	^c LOD/LOQ (µg L ⁻¹)	Geri kazanım (%)	^d RT	^e R ²	Denklem	Konsantrasyon (µg L ⁻¹)
Quercetin	301.1>151	1.36	13.7/25.7	100.130	3.891	0.999	y=(13.7831) x+(146.951)	2137.15
Acetohydroxamic Acid	76.10>43.10	0.82	2.8/8.6	100.075	0.406	0.999	y=(150.982) x+(23.1833)	2335.00
Catechinhydrate	291.10>139.00	2.36	7.3/18.4	0.99404	2.532	0.999	y=(79.2933) x+(-2406.22)	23.67
Vanillic Acid	168.80>93.00	0.62	82.6/142.2	100.093	2.762	0.998	y=(48.0522) x+(-876.904)	712.50
Resveratrol	229.10>135.00	1.31	7.2/18.3	0.9985	3.606	0.998	y=(46.4361) x+(-1314.61)	4.84
Fumaric Acid	115.20>71.00	0.47	18.4/32.7	0.99748	0.809	0.999	y=(20.2986) x+(-762.592)	819.02
Gallic acid	169.20>125.00	1.36	0.90/1.6	100.004	1.278	0.999	y=(65.3835) x+(-2699.84)	18.59
Caffeic Acid	179.20>135.00	1.37	6.3/10.7	100.917	2.836	0.996	y=(124.785) x+(-487.132)	164.19
Phloridzin dihydrate	435.00>273.10	5.64	61.0/207.0	10.001	3.594	0.999	y=(33.4069) x+(-1396.90)	2.32
Oleuropein	539.10>377.20	6.94	0.5/1.4	0.997	3.567	0.999	y=(25.9240) x+(-558.916)	21.26
Ellagic Acid	300.90>145.10	8.56	0.10/0.3	100.232	3.681	1.000	y=(5.25903) x+(-1167.31)	450.91
Myricetin	317.10>150.90	0.79	36.4/59.6	0.99982	3.644	0.999	y=(37.0934) x+(2684.23)	1817.59
Protocatechuic acid	181.20>108.00	1.29	21.3/46.5	101.070	3.556	0.994	y=(526.954) x+(23026.1)	54.61
Bütein	271.10>135.00	1.45	17.5/36.7	0.9989	3.935	0.999	y=(49.3543) x+(367.917)	59.55
Naringenin	271.10>150.90	2.05	4.2/6.8	0.9998	3.952	0.996	y=(317.241) x+(33733.3)	N.D.
Luteolin	285.20>132.90	0.57	0.5/2.5	0.99883	4.069	0.998	y=(34.6668) x+(3721.79)	7.18
Kaempferol	285.10>116.90	1.44	142.3/274.6	100.772	4.298	0.999	y=(2.63905) x+(-206.494)	136.71
Alizarin	239.20>210.90	3.51	45.2/76.5	0.9667	4.594	0.998	y=(3.97487) x+(1614.23)	N.D.
4-Hydroxybenzoic Acid	137.20>93.00	1.54	28.6/52.2	0.99662	3.664	0.999	Y=(735.804) X+(-498.102)	331.38
Salicylic acid	137.20>93.00	1.24	4.2/7.6	100.989	3.558	0.999	y=(746.369) x+(6072.41)	246.25

^aMRM: Çoklu reaksiyon izleme, ^bRSD: Göreceli standart sapma, ^cLOD/LOQ (µg L⁻¹): Tespit limiti/ kantitasyon limiti, ^dRT: Tutma süresi, ^eR²: Belirleme katsayısı, N.D: Tespit edilmedi

Çizelge 2. Bamyacı çiçeği (*Abelmoschus esculentus*) ekstraktının antioksidan aktivitesi ve AChE üzerine inhibisyon etkisi

Table 2. The antioxidant activity and inhibition effect on AChE of extract from flowers of *Abelmoschus esculentus*

Antioxidants	DPPH ^a (0.2 mg mL ⁻¹)	ABTS ^a (0.2 mg mL ⁻¹)	FRAP ^b (0.2 mg mL ⁻¹)	CUPRAC ^b (0.2 mg mL ⁻¹)	AChE	
					IC ₅₀ (mg mL ⁻¹)	R ²
<i>A. esculentus</i>	29.41± 0.19	20.59±1.36	0.13±0.01	0.37± 0.01	0.18±0.01	0.965± 0.02
BHA	71.82± 4.86	83.67±5.41	0.45±0.02	0.58 ± 0.02		
BHT	46.33± 2.64	48.35±3.20	0.62± 0.02	0.64 ± 0.02		
Troloks	81.19± 5.63	80.06± 6.32	0.25± 0.01	0.52± 0.02		

Standart antioksidanlar (BHA, bütillenmiş hidroksianisol; BHT, bütillenmiş hidroksitoluen, troloks)

^aDeğerler yüzde radikal giderme aktivitesi olarak ifade edildi

^bDeğerler absorbands olarak ifade edildi. Yüksek absorbands, yüksek metal indirgeme kapasitesini gösterir

Antikolinerjik Etki

Nörotransmitter asetilkolinin hidrolizindeki artış, Alzheimer hastalığının (AD) gelişmesine yol açmaktadır. Bu amaçla, AChE inhibitörleri bu hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. AD'nin semptomatik tedavisinde kullanılan AChE inhibitörlerinin antioksidan üretimini arttırdığı ve hücreleri oksidatif hasardan koruduğu da bilinmektedir (Işık, 2019). Çizelge 2'de gösterilen sonuçlar, *A. esculentus*'un etanolik özütünün AChE üzerinde bir inhibisyon etkisine sahip olduğunu ortaya koymuştur (IC₅₀: 0.18±0.01 mg mL⁻¹). Fenolik bileşiklerin nöroprotektif etkileri, AD tedavisindeki önemli rollerinden kaynaklanmaktadır. AChE inhibitörlerinin kullanımı ile hastalığın (beyindeki asetilkolin oranının yükselmesinden kaynaklanan) tedavisi için birçok önemli yaklaşım

bulunmaktadır. Birçok çalışma flavonoid ve fenolik bileşiklerin anti-asetilkolinesteraz aktivitesine sahip olduğunu bildirmiştir (Necip ve Isik, 2019). Günümüzde yaygın olarak kullanılan donepezilin, ellajik asitten yaklaşık 10000 kat daha güçlü bir AChE inhibitör etkisi olduğu bilinmektedir (Fan ve ark. 2008; Jha ve ark. 2018). Bununla birlikte, sentetik referans inhibitörlerinin yan etkileri nedeniyle, doğal kaynaklı alternatif bileşiklerin belirlenmesi özellikle önemlidir (Bettaieb ve ark. 2011).

A. esculentus'un Antibakteriyel Özellikleri

A. esculentus ekstresinin antibakteriyel aktiviteleri *S. aureus*, *E. coli* ve *S. Typhimurium*'a karşı belirlendi (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

Çizelge 3. Bamyacı çiçeği (*Abelmoschus esculentus*) ekstraktının antibakteriyel etkisi (Zon çapı, mm)

Table 3. Antibacterial effect of (*Abelmoschus esculentus*) Okra flowers extracts (Zone diameter, mm)

Örnek (6.24 mg disk ⁻¹)	Konsantrasyon	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Esherichia coli</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>
<i>Abelmoschus esculentus</i>	312 mg/mL	12.0±0.20	8.0±0.10	7.0±0.22
Kontrol (Siprofloksasin)	5 µg	21.0±0.12	20.0±0.12	17.0±0.20

Çizelge 4. Bamyacı Çiçeği (*Abelmoschus esculentus*) ekstraktının MIC (Minimum inhibitör konsantrasyonu) sonuçları

Table 4. Results of minimum inhibitory concentration (MIC) of (*Abelmoschus esculentus*) Okra flowers extracts

<i>Abelmoschus esculentus</i>	Konsantrasyon (mg mL ⁻¹)	İnokulum miktarı (µL)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Esherichia coli</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>
	312	10	-	-	-
	156	10	-	+	+
	78	10	+	+	+
	39	10	+	+	+
	20	10	+	+	+
	10	10	+	+	+
Besiyeri+ İnokulum	0	10	+	+	+
Besiyeri+Solvent(DMSO)	0	10	+	+	+
Besiyeri	0	0	-	-	-

(+): Çoğalma var, (-): Çoğalma yok

Çizelge 3'te görüldüğü gibi, 312 µg mL⁻¹ *A. esculentus* özütü, *S. aureus* üzerinde yüksek inhibisyon zon çapı oluşturdu (12.0±0.20 mm) ve bunu ise sırasıyla *E.*

coli (8.0±0.10 mm) ve *S. Typhimurium* (7.0±0.22 mm) izledi. *A. esculentus* ekstraktının bakteri kültürleri üzerindeki inhibisyon etkisi, siprofloksasin

antibiyotiğine göre düşük bulunmuştur. Elde edilen MIC (Minimum inhibitör konsantrasyonu) sonuçları, 10 µL bitki özünün, 312 µg mL⁻¹, 156 µg mL⁻¹, 78 µg mL⁻¹, 39 µg mL⁻¹, 20 µg mL⁻¹, ve 10 µg mL⁻¹ gibi 6 farklı konsantrasyonda uygulandığında doğru sonuçlar verdiğini göstermiştir (Çizelge 4). Belirlenen sonuçlar incelendiğinde 312 µg mL⁻¹ konsantrasyonunun tüm bakteriler üzerinde en etkili olduğu tespit edilmiştir. 156 µg mL⁻¹ bitki konsantrasyonunun ise, *S. aureus* dışındaki diğer bakteriler üzerinde herhangi bir etki gösteremediği belirlenmiştir. Bununla birlikte, çalışılan diğer dört konsantrasyonun herhangi bir bakteri üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır. Elde edilen verilerden, *A. esculentus*'un çalışılan bakterilere karşı antibakteriel etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan çalışmalar, bitkilerin terapötik etkilerinin, sahip oldukları tek bir bileşenden değil, birden fazla bileşimin sinerjik etkisinden kaynaklandığını ortaya koymuştur. Bitkiler, antioksidan aktivitelerinin yanı sıra, ihtiva ettikleri pek çok fenolik bileşik önemli düzeyde antibakteriyel aktivite sergileyebilmektedir. Altemimi ve ark. (2017) yaptığı bir çalışmada, *A. esculentus*'un %80'lik metanolik yaprak özlerinin çok iyi antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik özelliklere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Carvalho ve ark. (2011) ise *A. esculentus* özütlerinin antibakteriyel özelliğini araştırdığı bir çalışmada, bu bitkiden elde edilen ekstraktların, *Mycobacterium* suşları X. Py2 ve *S. aureus*'un gelişimini inhibe etmede etkili olduğu, ancak *R. erythropolis* ve *E. coli*'ye karşı etkisiz olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışmada *A. esculentus* çiçek özütlerinin *E. coli* üzerine antibakteriyel etki gösterdiği tespit edildi.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmadan elde edilen sonuçlar, *A. esculentus* çiçek ekstraktlarının antioksidan (metal indirgeme, serbest radikal süpürücü ve anti-lipid peroksidasyonu), antikolinerjik ve antibakteriyel aktivitelere sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca tespit edilen bulgular, bu türün önemli özelliklerinden dolayı çeşitli amaçlarla değerlendirilebileceği sonucunun ortaya çıkmasını sağlamıştır. Son olarak, bu türün kemo-çeşitliliği, sahip olduğu antibakteriyel ve antioksidan bileşik profili nedeniyle önemli sağlık sorunlarının tedavisi için umut verici bir kaynak olabileceğini göstermiştir. Sonuç olarak, *A. esculentus* önemli bir doğal antioksidan kaynağı ve gıdalar için kısmen iyi bir antibakteriyel madde ve ayrıca farmasötik ve gıda maddelerinin raf ömrünü uzatan bir ajan olarak değerlendirilebilir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Adamczak A, Dreger M, Seidler-Łożykowska K, Wielgus K 2019. Fireweed (*Epilobium angustifolium* L.): botany, phytochemistry and traditional uses. A review. *Herba Polonica* 65: 51-63.
- Adelakun, OE, Oyelade OJ, Ade-Omowaye BIO, Adeyemi IA, Van de Venter M, Koekemoer TC 2009. Influence of pre-treatment on yield chemical and antioxidant properties of a Nigerian okra seed (*Abelmoschus esculentus* moench) flour. *Food and Chemical Toxicology* 47(3): 657-661.
- Adetuyi F, Osagie A 2011. Nutrient, antinutrient, mineral and zinc bioavailability of okra *Abelmoschus esculentus* (L) Moench variety. *American Journal of Food and Nutrition* 1(2): 49-54.
- Aliyu AB, Musa AM, Ibrahim MA, Ibrahim H, Oyewale AO 2009. Preliminary phytochemical screening and antioxidant activity of leave extract of *Albizia Chevalieri* harms (*Leguminosae mimosoideae*). *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences* 2(1): 149-153.
- Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG, Lightfoot DA 2017. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Platns* 6(42): 1-23.
- Alves SM, Freitas RS, doVal DR, Vieira LV, de Assis EL, Gomes FIF, Gadelha CAdA, Gadelha TS, de Lacerda JTJG, Clemente-Napimoga JT, ve ark. 2018. The efficacy of a lectin from *Abelmoschus Esculentus* depends on central opioid receptor activation to reduce temporomandibular joint hypernociception in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 101:478-484.
- Amarowicz R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil JA 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry* 84(4): 551-562.
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Esin Karademir S, Erçağ E 2006. The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International journal of food sciences and nutrition*, 57(5-6): 292-304.
- Arapitsas P 2008. Identification and quantification of polyphenolic compounds from okra seeds and skins. *Food Chemistry* 110(4): 1041-1045.
- Atmani D, Chaher N, Berboucha M, Ayouni K, Lounis H, Boudaoud H, Debbache N, Atmani D 2009. Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food*

- Chemistry 112(2): 303-309.
- Berry SK 1980. The fatty acid composition and cyclopropene fatty acid content of the maturing okra (*Hibiscus esculentus* L.) fruits. *Pertanika* 3(2): 82-86.
- Bettaieb I, Hamrouni-Sellami I, Bourgou S, Limam F, Marzouk B 2011. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. *Acta Physiologiae Plantarum* 33(4), 1103-1111.
- Blois MS 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-2000.
- Caluete MEE, de Souza LMP, dos Santos Ferreira E, de Franca AP, de Akneuda Gadelha CA, de Souza Aquino J, Santi-Gadelha T 2014. Nutritional, antinutritional, phytochemical status of okra leaves (*Abelmoschus esculentus*) subjected to different processes. *African Journal of Biotechnology* 14, 683-687.
- Camciuc M, Deplagne M, Vilarem G, Gaset A 1998. Okra-*Abelmoschus esculentus* L.(Moench.) a crop with economic potential for set aside acreage in France. *Industrial Crops and products* 7(2-3): 257-264.
- Carney J, Richard NR 2009. *The Shadow of Slavery: African's Botanical Legacy in the Atlantic World*. University of California Press: Berkeley, CA, USA,
- Carvalho CCCR, Cruz PA, Froncecca MMR, Xavier-Filho L 2011. Antibacterial Properties of the Extract of *Abelmoschus esculentus*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 16: 971-977.
- Chamberlain DF, Raven PH 1972. *Epilobium* L. In: PH (ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 4 Pp. 183-195, Edinburgh: Edinburgh University Press.
- Demir Y, Işık M, Gülçin İ, Beydemir Ş 2017. Phenolic compounds inhibit the aldose reductase enzyme from the sheep kidney. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 31(9): e21936.
- Dhaliwal MS 2010. Okra (*Abelmoschus esculentus*) L (Moench). In *Handbook of Vegetable Crops*, 3rd ed.; Kalyani Publishers: New Delhi, India.
- Dorman HD, Koşar M, Kahlos K, Holm Y, Hiltunen R 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(16): 4563-4569.
- Durazzo A, Lucarini M, Novellino E, Souto EB, Daliu P, Santini A 2019. *Abelmoschus esculentus* (L.): Bioactive components' beneficial properties-focused on antidiabetic role-for sustainable health applications. *Molecules* 24(1): 38.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres Jr V, Featherstone RM 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7(2): 88-95.
- Elmastaş M, Gülçin İ, Beydemir Ş, İrfan Küfrevioğlu Ö, Aboul-Enein HY 2006a. A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (*Juniperus communis* L.) fruit extracts. *Analytical letters* 39(1): 47-65.
- Elmastaş M, Türkekul İ, Öztürk L, Gülçin İ, Işıldak Ö, Aboul-Enein HY 2006b. The antioxidant activity of two wild edible mushrooms (*Morchella vulgaris* and *Morchella esculanta*). *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening* 9(6): 443-448.
- Fan P, Hay AE, Marston A, Hostettmann K 2008. Acetylcholinesterase-inhibitory activity of linarin from *Buddleja davidii*, structure-activity relationships of related flavonoids, and chemical investigation of *Buddleja nitida*. *Pharmaceutical Biology* 46: 596-601.
- Gemedede HF, Ratta N, Haki GD, Woldegiorgis AZ, Beyene F 2015. Nutritional quality and health benefits of okra (*Abelmoschus esculentus*): A review. *Journal of Food Processing & Technology* 6(458): 2.
- Graham JO, Agbenorhevi JK, Kpodo FM 2017. Total Phenol Content and Antioxidant Activity of Okra Seeds from Different Genotypes. *American Journal of Food and Nutrition* 5: 90-94.
- Gülçin İ 2008. Measurement of antioxidant ability of melatonin and serotonin by the DMPD and CUPRAC methods as trolox equivalent. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 23(6): 871-876.
- Gülçin İ, Berashvili D, Gepdiremen A 2005. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankinensis* decne. *Journal of Ethnopharmacology* 101: 287-293.
- Gülçin İ, Küfrevioğlu Öİ, Oktay M, Büyükkuroğlu ME 2004. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology* 90: 205-215.
- Gülçin İ, Topal F, Öztürk Sarıkaya SB, Bursal E, Gören AC, Bilsel M 2011. Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.). *Records of Natural Products* 5(3): 158-175.
- Habtemariam S 2019. The chemical and pharmacological basis of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) as potential therapy for type 2 diabetes. In *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands 307-332.
- Idris S, Yisa J, Itodo A 2009. Proximate and mineral composition of the leaves of *Abelmoschus esculentus*. *International Journal of Tropical Agriculture and Food Systems* 3: 50037.
- Işık M 2019. The Binding Mechanisms and Inhibitory Effect of Intravenous Anesthetics on AChE *In Vitro* and *In Vivo*: Kinetic Analysis and Molecular Docking. *Neurochemical Research* 44: 2147-2155.

- Jha AB, Panchal SS, Shah A 2018. Ellagic acid: Insights into its neuroprotective and cognitive enhancement effects in sporadic Alzheimer's disease. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 175: 33-46.
- Khomsug P, Thongjaroenbuangam W, Pakdeenarong N, Suttajit M, Chantiratikul P 2010. Antioxidative activities and phenolic content of extracts from okra (*Abelmoschus esculentus* L.). *Research Journal of Biological Sciences* 5(4): 310-313.
- Köksal E, Gülçin İ 2008. Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 32(1): 65-78.
- Köksal E, Tohma H, Kılıç Ö, Alan Y, Aras A, Gülçin İ, Bursal E 2017. Assessment of antimicrobial and antioxidant activities of *Nepeta trachonitica*: Analysis of its phenolic compounds using HPLC-MS/MS. *Scientia pharmaceutica* 85(2): 24.
- Kumar DS, Tony DE, Kumar AP, Kumar KA, Rao DBS, Nadendla R 2013. A review on: *Abelmoschus Esculentus* (okra). *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences* 3: 129-132.
- Liao H, Dong W, Shi X, Liu H, Yuan K 2012. Analysis and comparison of the active components and antioxidant activities of extracts from *Abelmoschus esculentus* L. *Pharmacognosy Magazine* 8(30): 156-161.
- Liu Y, Qi J, Luo J, Qin W, Luo Q, Zhang Q, Wu D, Lin D, Li S, Dong H 2019. Okra in food field: Nutritional value, health benefits and effects of processing methods on quality. *Food Reviews International* 37(1): 67-90.
- Lu Y, Demleitner MF, Song L, Rychlik M, Huang D 2016. Oligomeric proanthocyanidins are the active compounds in *Abelmoschus esculentus* Moench for its α -amylase and α -glucosidase inhibition activity. *Journal of Functional Foods* 20: 463-471.
- Necip A, Işık M 2019. Bioactivities of *Hypericum perforatum* L. and *Equisetum arvense* L. fractions obtained with different solvents. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology* 2: 221-230.
- Olivera DF, Mugridge A, Chaves AR, Mascheroni RH, Vina SZ 2012. Quality attributes of okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) pods as affected by cultivar and fruit size. *Journal of Food Research* 1(4): 224-235.
- Petropoulos S, Fernandes Â, Barros L, Ferreira ICFR 2018. Chemical composition, nutritional value and antioxidant properties of Mediterranean okra genotypes in relation to harvest stage. *Food Chemistry* 242: 466-474.
- Prior RL, Cao G 1999. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine* 27(11-12): 1173-1181.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26(9-10): 1231-1237.
- Sabitha V, Ramachandran S, Naveen KR, Panneerselvam K 2011. Antidiabetic and antihyperlipidemic potential of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* 3(3): 397-402.
- Sanjeet K, Dagnoko S, Haougui A, Ratnadass A, Pasternak D, Kouame C 2010. Okra (*Abelmoschus* spp.) in West and Central Africa: potential and progress on its improvement. *African Journal of Agricultural Research* 5(25): 3590-3598.
- Sayık A, Yusufoglu AS, Acık L, Türker G, Aydın B, Arslan L 2017. DNA-Binding, Biological Activities, and Chemical Composition of Wild Growing *Epilobium angustifolium* L. Extracts from Canakkale, Turkey. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry* 4: 811-840.
- Singh K 2012. Phytochemical determination and antibacterial activity of *Trichosanthes dioica* Roxb (patal), *Cucurbita maxima* (pumpkin) and *Abelmoschus esculentus* Moench (okra) plant seeds, National Institute of Technology, India.
- Sunilson JAJ, Jayaraj P, Mohan MS, Kumari AAG, Varatharajan R 2008. Antioxidant and hepatoprotective effect of the roots of *Hibiscus esculentus* Linn. *International Journal of Green Pharmacy* 2(4): 200-203.
- Tohma H, Gulcin İ, Bursal E, Gören AC, Alwasel SH, Köksal E 2017. Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *Journal of Food Measurement and Characterization* 11(2): 556-566.
- Türkeş C, Akocak S, Işık M, Lolak N, Taslimi P, Durgun M, Beydemir Ş 2021. Novel inhibitors with sulfamethazine backbone: synthesis and biological study of multi-target cholinesterases and α -glucosidase inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 1-13.
- Umar H, Kavaz D, Rizaner N 2019. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using albizia lebeck stem bark, and evaluation of its antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities on human breast cancer cell lines. *International Journal of Nanomedicine* 14: 87-100.
- Wei C, Yang X, Wang D, Fang F, Lai J, Wang F, Wu T 2016. Fatty acid composition and evaluation on antioxidation activities of okra seed oil under ultrasonic wave extraction. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association* 31: 89-93.
- Xia F, Zhong Y, Li M, Chang Q, Liao Y, Liu X, Pan R 2015. Antioxidant and anti-fatigue constituents of okra. *Nutrients* 7(10): 8846-8858.
- Zapata A, Ramirez-Arcos S 2015. A comparative study of McFarland turbidity standards and the

- Densimat photometer to determine bacterial cell density. *Current microbiology* 70(6): 907-909.
- Zhang T, Xiang J, Zheng G, Yan R, Min X 2018. Preliminary characterization and anti-hyperglycemic activity of a pectic polysaccharide from okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Journal of Functional Foods*, 41: 19–24.
- Zhu ZW, Li J, Gao XM, Amponsem E, Kang LY, Hu LM, Chang, YX 2012. Simultaneous determination of stilbenes, phenolic acids, flavonoids and anthraquinones in *Radix polygoni multiflori* by LC–MS/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 62: 162-166.



Biological Activities of the Methanol Extracts of *Smyrniun connatum* Boiss. and Kotschy.

Fatma AYAZ^{1*}, Nuraniye ERUYGUR², Tuğsen DOĞRU³, Yavuz BAĞCI⁴, Süleyman DOĞU⁵

^{1,2,3}Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Selcuk University, Konya 42250, Türkiye, ⁴Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Selcuk University, Konya 42250, Türkiye, ⁵Department of Animal and Plant Production, Meram Vocational School, Necmettin Erbakan University, Konya 42090, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-3994-6576>, ²<https://orcid.org/0000-0002-4674-7009>, ³<https://orcid.org/0000-0003-0101-9742>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-2343-3672>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-5352-9288>

✉: fatma.ayaz@selcuk.edu.tr

ABSTRACT

Smyrniun connatum Boiss. and Kotschy is known as “yabani kereviz” in Turkey and its roots are used to treat asthma. *Smyrniun* species are used by people in different regions as diuretic, depurative and laxative. The aim of this analysis was to test the biological activities of methanol extracts obtained from aerial parts and roots of *S. connatum* using a Soxhlet extractor, ultrasonic assisted extraction, and maceration procedures. The extracts of *S. connatum* aerial parts and roots were tested for their acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and tyrosinase inhibitory activities, radical scavenging activity, and iron chelating activities at various concentration using microplate reader. In this study, significant differences were found in acetylcholinesterase, and butyrylcholinesterase inhibition and antioxidant determinations between plant extracts prepared using different extraction methods. *S. connatum* aerial parts generally was detected to be more active in terms of antioxidant activity assay. *S. connatum* aerial parts and roots showed high inhibition activity against both cholinesterase enzymes. All extracts showed moderate inhibitory activity against tyrosinase. The biological activity of the aerial parts of *S. connatum* was generally found to be more active than roots of *S. connatum*. It was assumed that the determination of enzyme inhibitor and antioxidant capacity of the plant had remarkable potentials on the treatment of neurodegenerative diseases.

Biochemistry

Research Article

Article History

Received : 24.09.2021

Accepted : 20.12.2021

Keywords

Smyrniun connatum

Enzyme inhibition

Antioxidant activity

Extraction

Smyrniun connatum Boiss. and Kotschy. Metanol Ekstresinin Biyolojik Aktivitesi

ÖZET

Smyrniun connatum Boiss. and Kotschy bitkisi Türkiye'de "yabani kereviz" olarak bilinir ve bitkinin kökleri astım tedavisinde kullanılır. Farklı bölgelerde *Smyrniun* türleri insanlar tarafından diüretik, depuratif ve laksatif amaçlarla kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Soxhlet ekstraktörü, ultrasonik destekli ekstraksiyon ve maserasyon yöntemleri kullanılarak *S. connatum* toprak üstü ve köklerinden hazırlanan metanol ekstratlarının biyolojik aktivitelerini değerlendirmektir. *S. connatum* toprak üstü ve kök ekstratları, çeşitli konsantrasyonlarda asetilkolinesteraz, bütirilkinesteraz ve tirozinaz inhibitör aktiviteleri, radikal temizleyici potansiyelleri ve demir şelatlama kapasiteleri bakımından mikropilaka okuyucu kullanılarak test edildi. Yapılan araştırmalarda, farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak hazırlanan bitki ekstratları arasında hem enzim inhibisyonu hem de antioksidan aktiviteleri önemli ölçüde farklı bulunmuştur. *S. connatum* toprak üstü kısımlarının antioksidan aktivitesi bakımından genel olarak daha yüksek tespit edilmiştir. *S. connatum* toprak üstü kısımları ve kökleri, her iki kolinesteraza karşı da yüksek inhibitör aktivite göstermiştir. Tüm ekstratlar, tirozinaza karşı orta düzeyde inhibitör aktivite göstermiştir. Genel olarak *S.*

Biyokimya

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 24.09.2021

Kabul Tarihi : 20.12.2021

Anahtar Kelimeler

Smyrniun connatum

Enzim inhibisyonu

Antioksidan aktivite

Ekstraksiyon

connatum'un toprak üstü kısımlarının biyolojik aktivitesi köklerine göre daha aktif bulundu. Enzim inhibitörü ve antioksidan kapasite tayinlerinin sonucunda bitkinin nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kayda değer sonuçlar verebilecek potansiyellere sahip olduğu düşünülmektedir.

Atıf Şekli: Ayaz F, Eruygur N, Doğru T, Bağcı Y, Doğu S 2022. *Smyrniium connatum* Boiss. and Kotschy. Metanol Ekstresinin Biyolojik Aktivitesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1216-1224. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogava.vi.997780>

To Cite : Ayaz F, Eruygur N, Doğru T, Bağcı Y, Doğu S 2022. Biological Activities of The Methanol Extracts of *Smyrniium connatum* Boiss. and Kotschy. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1216-1224. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogava.vi.997780>

INTRODUCTION

Smyrniium L., which comprises 38 species worldwide, contains six taxa in the Turkish flora; *S. olusatrum* L., *S. perfoliatum* L. subsp. *perfoliatum*, *S. perfoliatum* subsp. *rotundifolium* (Miller) Hartwig, *S. cordifolium* Boiss., *S. connatum* Boiss. and Kotschy and *S. creticum* Miller. (Stevens, 1972; Mungan et al., 2008; Mungan et al., 2011; Abbasi et al., 2019). *Smyrniium* taxa is widely used for the treatment of various diseases by people in different regions such as diuretic, depurative, and aperient activities, especially through their roots. However, because of the high vitamin C concentration, they may have the best antiscorbutic properties (Caprioli et al., 2014). Carminative and stomachic effects are present in the fruit (Bermejo and León, 1994; Minareci and Kalyoncu, 2012). Aerial parts, roots, and seeds of *S. cordifolium* have traditionally been used for the problems on urinary tracts and prostate, gynecological area, stomachic, and indigestion according to the ethnobotanical data, as well as for its properties, such as aromatic bitterness, heated effects, tonic, antihelmintic, antipyretic, antiworm in Iran (Amiri and Joharchi, 2016). In Manisa Turgutlu, it was reported that the decoction of *S. olusatrum* roots were used for abortion (Bulut and Tuzlaci, 2013). In an ethnobotanical study conducted in Andırın, Kahramanmaraş, it was reported that the fresh roots of *S. connatum* were used for the treatment of asthma (Demirci et al., 2014).

S. connatum is biennials, their stems are sturdy and ridged, measuring 70-150 cm in length. Ultimate segments are oval, at least 2x1.5 cm, bluntly serrate; basal leaves are 3-pinnate/ternate. Upper stem leaves are opposite, with at least some connate, oblong, up to 10 cm long, and subentire to obscurely serrulate. Umbels 10-17 have been rayed. Style is 0.9-1.3 mm, reflexed; mericarps are 2.8x2.3 mm, dorsal ridges are indistinct (Davis, 1972).

Overproduction of oxidants (reactive oxygen species and reactive nitrogen species) in the human body have serious adverse effects in the pathogenesis of many chronic diseases such as cardiovascular diseases, diabetes, obesity, neurological disorders (Alzheimer's, and Parkinson's disease etc.), and skin

diseases. Therefore, protective role of phytochemicals such as polyphenolics, triterpenes, saponins, and alkaloids could be linked to their antioxidant activity (Zhang et al., 2015).

Alzheimer's disease is a progressive neurodegenerative condition marked by cholinergic system impairments and beta amyloid deposition in the form of neurofibrillary tangles and plaques. As a result, inhibition of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE) has been identified as a significant target for the effective management of Alzheimer's disease, resulting in an increase in acetylcholine availability in brain areas and a decrease in amyloid plaque development (Anand and Singh, 2013; Alam and Sharma, 2019).

Melanogenesis is the process of synthesizing melanin, which is the pigment that gives color to human skin, eyes, and hair. Tyrosinase (TYR) is a crucial enzyme that catalyzes a rate-limiting step in the production of melanin. As a result, many TYR inhibitors have been developed for skin whitening in recent years (Pillaiyar et al., 2017).

The aim of this study is to evaluate the cholinesterase and TYR inhibition and antioxidant activities of the extracts obtained from *S. connatum* aerial parts (ASC) and roots (RSC) and to compare the effects of the extracts prepared by different extraction methods on the activity. Moreover, purpose was the determination of the antioxidant properties of the extracts using iron-chelating activities, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) cation decolorization test.

MATERIALS and METHODS

Plant material

S. connatum aerial parts and roots were collected from Adana, Turkey. The plant material was identified by Prof. Dr. Yavuz Bağcı. The voucher specimen was kept at the Herbarium of Selçuk University in Konya (KNYA) Turkey.

Extraction methods

The methanol extracts prepared from *S. connatum*

aerial parts (ASC) and roots (RSC) with soxhlet extractor, ultrasound assisted and maceration methods.

Maceration: The aerial parts and roots of *S. connatum* were separately macerated in 70% MeOH at room temperature for one day, three times and then filtered. The filtrate was evaporated at 40 °C temperature with rotary evaporator (Bennour et al., 2020).

Ultrasound assisted: The aerial parts and roots of *S.*

connatum were separately extracted in 70% MeOH using ultrasonic cleaner for 20 minutes with four times. After filtration, the filtrate was evaporated at 40 °C temperature with rotary evaporator.

Soxhlet extractor: The aerial parts and roots of *S. connatum* were separately extracted using soxhlet apparatus with 70% methanol for 6 h and then filtered. Methanol was removed using a rotary evaporator. In Table 1, the location and extraction yields of *S. connatum* are given.

Table 1. The location and extraction yields of *S. connatum*

Çizelge 1. *S. connatum*'ün ekstre verimleri ve lokasyon bilgileri

Plant material <i>Bitki materyali</i>	Location <i>Lokasyon</i>	Part <i>Kısım</i>	Extraction methods <i>Ekstraksiyon metodları</i>	Yield (%) <i>Verim(%)</i>
<i>S. connatum</i>	C4 Adana, Pozantı, Pozantı Ulukışla yolu 17. km, roadside slopes, 29.05.2017, S.Doğu 3290 & Y. Bağcı (C4 Adana, Pozantı, Pozantı Ulukışla yolu 17. km, yol kenarı yamaçlar, 29.05.2017, S.Doğu 3290 & Y. Bağcı)	Aerial parts Toprak üstü	Soxhlet extractor	24.16
			Soxhlet ekstraktörü	
			Ultrasound assisted	22.82
			Ultrasonik destekli	
		Roots Kök	Maceration	21.4
			Maserasyon	
			Soxhlet extractor	57.26
			Soxhlet ekstraktörü	
Ultrasound assisted	31.73			
Ultrasonik destekli				
Maceration	8.07			
Maserasyon				

Antioxidant assay

Determination of Total Phenolic Content (TPC)

The spectrophotometric Folin-Ciocalteu (F-C) technique was used to evaluate the TPC in the extracts of *S. connatum* aerial parts and roots, with some modifications to Clarke's et al methods (Clarke et al., 2013). 10 µL of extract, suitably diluted with DMSO, were combined with 100 µL of freshly 10-fold diluted F-C reagent in distilled water. After 5 minutes, 100 µL of Na₂CO₃ were added to the mixture.

Determination of Total Flavonoid Content (TFC)

The total flavonoid concentration in *S. connatum* aerial parts and roots extracts was determined using the aluminum chloride colorimetric technique (Yang et al., 2012a). On a 96-well plate, the test solution (150 µL) produced with ethanol was mixed with 2% AlCl₃. In a microplate reader, the absorbance was measured at 435 nm. On a dry weight basis, the total flavonoid concentration was estimated as quercetin equivalent /g extract (mg QE/g).

DPPH radical scavenging activity

Free radical scavenging ability of the extracts was tested by DPPH radical scavenging assay as described by Eryugur et al. (2019). In a 96-well plate, 180 µL of DPPH solution were mixed with MeOH after 20 µL of test solution. After 15 minutes of incubation in the dark, the plate was measured at 540 nm with an

Elisa reader using (Multiscan Sky, USA) (Eryugur et al., 2019). As a positive control, ascorbic acid was employed. The results were expressed as mean standard deviation (SD). The findings were expressed as a percentage of DPPH scavenging efficiency:

$$\% \text{ DPPH Scavenging Effect} = (\text{Control Absorbance} - \text{Sample Absorbance}) / \text{Control Absorbance} \times 100. \quad (1)$$

ABTS

According to Re et al., ABTS cation radical decolorization activity of the extracts was done (Re et al., 1999) with modest modifications. The stock solution of ABTS+ radical was prepared by allowing 15 mL of 7 mM ABTS and 264 µL of 140 mM potassium persulfate solution to stand in the dark at room temperature for 16 h before the assay. The ABTS working solution was freshly produced by diluting the stock solution with 80% MeOH and measuring the absorbance to give 0.70 ± 0.02 at 734 nm. Sample solution were combined with ABTS working solution in a 96-well plate. For comparison of the ABTS+ scavenging activity, ascorbic acid was utilized as an antioxidant standard. The following equation was used to calculate the percent ABTS scavenging effect:

$$\% \text{ ABTS Scavenging Effect} = (\text{Control Absorbance} - \text{Sample Absorbance}) / \text{Control Absorbance} \times 100. \quad (2)$$

Iron-chelating activities

The iron chelating activity of the extracts was

assessed by the interaction of ferrozine-Fe²⁺ complex, according to Chai et al. (Chai et al., 2014). In all, 0.4 mL of 0.2 mM ferrozine, 0.2 mL of 0.1 mM FeSO₄, and 0.2 mL of extract in different concentrations were mixed and incubated for 10 mins at room temperature. The absorbances were recored at 562 nm. EDTA was employed as a positive control.

Enzyme inhibition assay

Acetylcholinesterase and butrylcholinesterase inhibition

This experiment was conducted according to the method fo Ellman et al. with some modifications (Šinko et al., 2007). At 25 °C, a mixture of 20 µL of test sample/reference standard, 140 µL of 200 mM phosphate buffer (PBS buffer) (pH 7.7), 10 µL of 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB), and 20 µL of enzyme (0.22 U mL⁻¹ for acetylcholinesterase 0.1 U mL⁻¹ for butyrylcholinesterase produced in PBS buffer). Following the addition of 10 µL of 0.5 mM DTNB, 10 µL of substrate (0.2 mM butyrylthiocholine iodide/ 0.71 mM acetylthiocholine iodide) was mixed and incubated for another 5 minutes. When the substrate was added, the absorbance was measured at 0 and 5 minutes at 412 nm. As a positive control, galantamine hydrobromide was used. The following equation was used to express the findings:

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[\text{Absorbance of control}_{0-5\text{min}} - \text{Absorbance of test sample}_{0-5\text{min}}]}{\text{Absorbance of control}_{0-5\text{min}}} \times 100 \quad (3)$$

Tyrosinase (TYR)inhibition

20 µL of sample solution was diluted with 80% methanol, 100 µL of phosphate buffer (0.1 M), and 20 µL of mushroom TYR (250 U mL⁻¹) were combined in a 96 well plate and incubated for about 10 minutes. After adding 20 µL of 3 mM L-tyrosine as a substrate,the mixture was further incubated for 30

minutes. The absorbance was measured at 492 nm (Yang et al., 2012b). Kojic acid was employed as positive control. The inhibitory effects of the extracts on mushroom TYR was calculated by the following formula:

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[\text{Absorbance of control} - \text{Absorbance of test sample}]}{\text{Absorbance of control}} \times 100 \quad (4)$$

RESULTS

Antioxidant activity

The total phenol content of the extracts was measured as mg gallic acid equivalent (GAE) g⁻¹ extract, while mg quercetin equivalent (QUE) g⁻¹ extract was used to calculate total flavonoid content. In Figure 1, total phenol and flavonoid contents of *S. connatum* extracts prepared by soxhlet extractor, ultrasonic assisted extraction, and maceration procedures are given. While the total phenol content of the methanol extract with maceration was found as the highest in the extracts of *S. connatum* roots, ultrasonic assisted method was determined as the highest one in the extracts of *S. connatum* aerial parts. The highest phenolic content was detected in the methanol extract of *S. connatum* aerial parts (133,77±6,69 mg GAE g⁻¹) with ultrasonic assisted method. The methanol extract of the roots of *S.connatum* was found to have lower total flavonoid content than aerial parts using ultrasonic assisted methods. Among the aerial parts of the plant extracts, the highest flavonoid content (124.19±4.24 mg QUE g⁻¹) was determined in the methanol extract prepared by ultrasonic assisted method. Total flavonoid content in the aerial parts of the plant extract prepared by maceration could not be measured because of the the nondetermination of the absorbance. In addition, it was measured that the extract of aerial parts has higher phenolic compounds than the extract of roots.

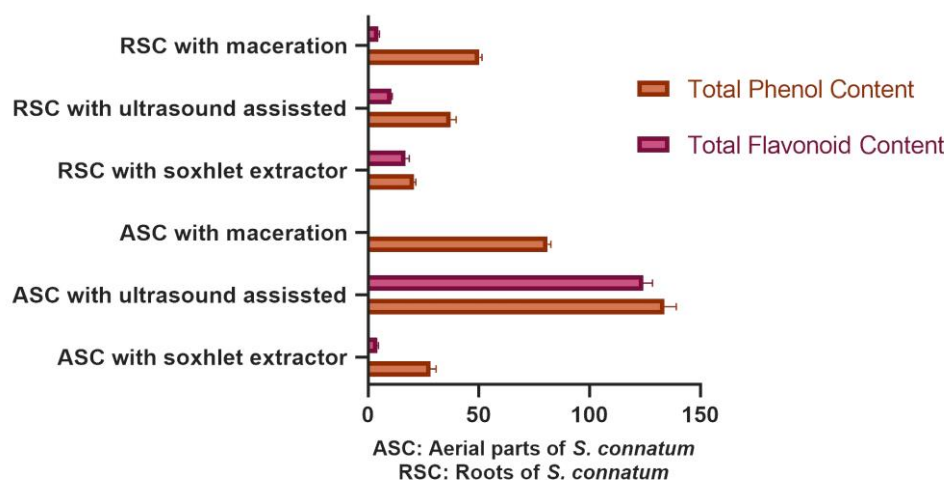


Figure 1. Total phenol and total flavonoid contents of the methanol extracts of *S. connatum*
Şekil 1. *S. connatum* metanol ekstrelininin total fenol ve flavonoit içerikleri

The methanol extracts of *S. connatum* aerial parts and roots were examined for *in vitro* antioxidant activities such as DPPH and ABTS radical scavenging effects, as well as iron chelating capacities (Table 2). All antioxidant activity assays were proceeded in quadruplicate, and the findings were expressed as mean \pm standard deviation (SD). Inhibition values of the extracts were given in Figure 2-4 at different concentrations. In antioxidant activity on DPPH, ASC with ultrasound assisted ($IC_{50}= 32.28\pm 1.22 \mu\text{g mL}^{-1}$) and ASC with maceration ($IC_{50}= 49.63\pm 2.17 \mu\text{g mL}^{-1}$) showed the high antioxidant activities. Aerial parts and root extracts of *S. connatum* prepared with soxhlet extractor had the low antioxidant activities with 15.41, 9.38 % inhibitor values, respectively. The methanol extracts prepared by maceration and ultrasonic assisted techniques from *S. connatum* roots ($IC_{50}=157.65\pm 2.47, 158.40\pm 2.55 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectively), and aerial parts ($IC_{50}= 100.17\pm 5.77 \mu\text{g mL}^{-1}$; $IC_{50}= 19.18\pm 1.69 \mu\text{g mL}^{-1}$) have higher iron chelating ability than the the roots and aerial parts extracts with soxhlet extractor. When ABTS scavenging activity

was evaluated, ASC and RSC with soxhlet extractor showed moderate activity, while other extracts exhibited similar activity using ascorbic acid as a positive control.

Enzyme inhibition activity

In enzyme inhibition activity assays, the highest inhibitory activity against both AChE ($IC_{50}= 57.47\pm 2.81 \mu\text{g mL}^{-1}$) and BuChE ($IC_{50}= 38.91\pm 5.31 \mu\text{g mL}^{-1}$) was observed in the extract of ASC with ultrasound assisted. Similar activities against BuChE were observed in the aerial parts ($IC_{50}= 58.53\pm 4.63 \mu\text{g mL}^{-1}$) and roots extracts ($IC_{50}= 58.72\pm 2.44 \mu\text{g mL}^{-1}$) with soxhlet extractor.

Remarkable inhibitory activity was also determined against AChE in extracts with soxhlet extractor. and IC_{50} values were found in aerial parts ($IC_{50}= 65.83\pm 5.66 \mu\text{g mL}^{-1}$) and root extracts ($IC_{50}= 86.86\pm 13.79 \mu\text{g mL}^{-1}$), respectively. RSC with maceration have moderate and lower activity than

Table 2. ABTS, and DPPH radical scavenging effects, and iron chelating activities of the extracts of *S. connatum*
Çizelge 2. *S. connatum* ekstralarının ABTS ve DPPH radikal süpürücü etkileri ve demir şelasyon aktiviteleri

Methods Metodlar	ABTS (Inhibition percentage \pm S.D. % ^a) (İnhibisyon Yüzde \pm S.D. ^a) IC_{50} : $\mu\text{g mL}^{-1}$ 166.666 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ^b	DPPH (Inhibition percentage \pm S.D. % ^a) (İnhibisyon Yüzde \pm S.D. ^a) IC_{50} : $\mu\text{g mL}^{-1}$ 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ^b	Iron-chelating activities (Inhibition percentage \pm S.D. % ^a) (İnhibisyon Yüzde \pm S.D. ^a) IC_{50} : $\mu\text{g mL}^{-1}$ 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ^b
ASC with soxhlet extractor <i>Soxhlet ekstraktörü ile</i> <i>ASC</i>	41.53 \pm 3.67 (IC_{50} : 187.2 \pm 0.85)	15.41 \pm 0.55	8.28 \pm 2.60
ASC with ultrasound assisted <i>Ultrasonik destekli ile</i> <i>ASC</i>	85.85 \pm 0.20 (IC_{50} : 35.36 \pm 2.79)	69.18 \pm 2.13 (IC_{50} : 32.28 \pm 1.22)	78.56 \pm 0.73 (IC_{50} : 19.18 \pm 1.69)
ASC with maceration <i>Maserasyon ile ASC</i>	87.37 \pm 1.62 (IC_{50} : 52.15 \pm 3.57)	48.90 \pm 1.79 (IC_{50} : 49.63 \pm 2.17)	59.38 \pm 4.91 (IC_{50} : 100.17 \pm 5.77)
RSC with soxhlet extractor <i>Soxhlet ekstraktörü ile</i> <i>RSC</i>	52.21 \pm 4.38 (IC_{50} : 189.37 \pm 3.59)	9.38 \pm 1.25	17.08 \pm 2.53
RSC with ultrasound assisted <i>Ultrasonik destekli ile</i> <i>RSC</i>	85.41 \pm 0.48 (IC_{50} : 96.5 \pm 5.39)	22.18 \pm 1.54 (IC_{50} : 121.37 \pm 2.37)	40.25 \pm 1.70 (IC_{50} : 158.40 \pm 2.55)
RSC with maceration <i>Maserasyon ile RSC</i>	77.10 \pm 2.85 (IC_{50} : 104.3 \pm 3.70)	19.48 \pm 0.61 (IC_{50} : 148.25 \pm 5.30)	35.65 \pm 2.80 (IC_{50} : 157.65 \pm 2.47)
References <i>Referanslar</i>	87.51 \pm 0.17 ^c	93.91 \pm 0.14 ^c	87.06 \pm 0.34 ^d

^aStandard deviation ^bFinal concentration ^cAscorbic acid (2 mg mL⁻¹) ^dEDTA (2 mg mL⁻¹)

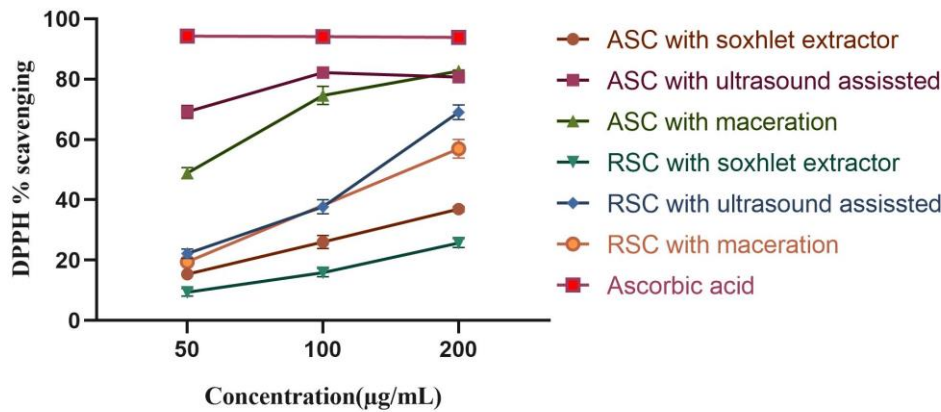


Figure 2. DPPH radical scavenging activity of the methanol extracts of *S. connatum*
Şekil 2. *S. connatum* metanol ekstrelerinin DPPH radikal süpürücü aktiviteleri

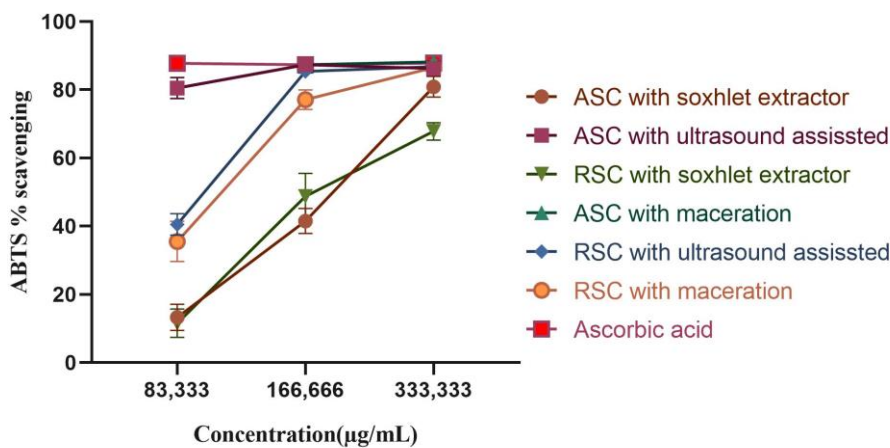


Figure 3. ABTS radical scavenging activity of the methanol extracts of *S. connatum*
Şekil 3. *S. connatum* metanol ekstrelerinin ABTS radikal süpürücü aktiviteleri

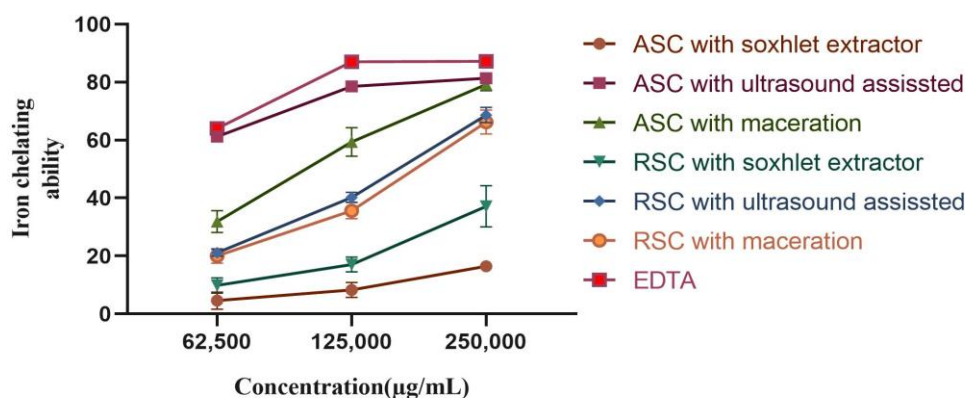


Figure 4. Iron-chelating activities of the methanol extracts of *S. connatum*
Şekil 4. *S. connatum* metanol ekstrelerinin demir şelasyon aktiviteleri

other extracts against AChE ($IC_{50} = 147.0 \pm 11.17 \mu\text{g mL}^{-1}$) and BuChE ($IC_{50} = 144.68 \pm 5.19 \mu\text{g mL}^{-1}$). All of the extracts showed moderate inhibitory activity against TYR. Similar activities were found in *S. connatum* root extracts prepared with three different methods. The RSC extract with ultrasound assisted

had the smallest IC_{50} value and was the most effective extract ($IC_{50} = 189.90 \pm 3.82 \mu\text{g mL}^{-1}$) than other extract.

The IC_{50} values of the extracts are summarized in Table 3.

Table 3. Enzyme inhibitory activities of the methanol extracts of *S. connatum*
Çizelge 3. *S. connatum* metanol ekstrelerinin enzim inhibitör aktiviteleri

Methods Metodlar	AChE (Inhibition percentage± S.D. % ^a) (İnhibisyon Yüzde ± S.D. ^a) IC ₅₀ : µg mL ⁻¹ 200 µg mL ⁻¹ ^b	BuChE (Inhibition percentage± S.D. % ^a) (İnhibisyon Yüzde ± S.D. ^a) IC ₅₀ : µg mL ⁻¹ 200 µg mL ⁻¹ ^b	TYR (Inhibition percentage± S.D. % ^a) (İnhibisyon Yüzde ± S.D. ^a) IC ₅₀ : µg mL ⁻¹ 250 µg mL ⁻¹ ^b
ASC with soxhlet extractor <i>Soxhlet ekstraktörü ile ASC</i>	73.83±3.30 (IC ₅₀ : 65.83±5.66)	75.54±2.59 (IC ₅₀ : 58.53±4.63)	46.13±1.96
ASC with ultrasound assisted <i>Ultrasonik destekli ile ASC</i>	93.10±2.09 (IC ₅₀ : 57.47±2.81)	83.81±7.63 (IC ₅₀ : 38.91±5.31)	34.11±1.02
ASC with maceration <i>Maserasyon ile ASC</i>	74.68±3.83 (IC ₅₀ : 117.3±0.78)	69.96±4.60 (IC ₅₀ : 74.83±4.28)	44.31±2.32
RSC with soxhlet extractor <i>Soxhlet ekstraktörü ile RSC</i>	75.09±8.42 (IC ₅₀ : 86.86±13.79)	99.82±6.23 (IC ₅₀ : 58.72±2.44)	54.53±7.58 (IC ₅₀ : 213.40±7.92)
RSC with ultrasound assisted <i>Ultrasonik destekli ile RSC</i>	83.64±0.90 (IC ₅₀ : 75.90±2.70)	61.87±2.03 (IC ₅₀ : 119.10±3.82)	54.49±5.65 (IC ₅₀ : 189.90±3.82)
RSC with maceration <i>Maserasyon ile RSC</i>	56.45±4.10 (IC ₅₀ : 147.0±11.17)	62.83±2.91 (IC ₅₀ : 144.68±5.19)	54.87±3.78 (IC ₅₀ : 198.40±3.25)
References <i>Referanslar</i>	99.10±1.18 ^c	84.34±4.85 ^c	80.96±0.51 ^d

^aStandard deviation ^b Final concentration ^c Galanthamine hydrobromür ^d Kojic acid

DISCUSSION

Extraction is a crucial stage in the process of discovering bioactive components in medicinal plants. The biological activity of plant extracts differed significantly depending on the extraction method used, highlighting the necessity of choosing the right extraction process (Murugan and Parimelazhagan, 2014). In this study, significant differences were found in both enzyme inhibition and antioxidant determinations between plant extracts prepared using different extraction methods. By evaluating the yield differences in the extraction methods used, it is predicted that the content of the extracts may be different. The yield of the prepared root extraction in soxhlet extraction (57%) is considerably higher than the others.

In a study by Minareci et al., the antioxidant activity of the *S. connatum* aerial parts extract prepared by maceration was evaluated by the DPPH radical scavenging method. DPPH radical scavenging activity was observed as 92.51 ± 0.09% at 1.09 mg mL⁻¹ concentration (Minareci and Kalyoncu, 2012). ABTS radical scavenging activity, iron chelation activity, total phenol, and total flavonoid contents studies have

not been performed on *S. connatum* before, and they were conducted for the first time. In this study, the biological activities of the extracts obtained from different parts of the *S. connatum* prepared using three different methods were evaluated. Total phenol contents of roots and aerial parts with soxhlet were lower than extracts prepared with other methods. *S. connatum* aerial parts has a much higher total phenol and total flavonoid content than its roots. For this reason, *S. connatum* aerial parts generally may have been found to be more active in antioxidant activity assay.

Enzyme inhibition studies have not been performed on *S. connatum* and this study was carried out for the first time. In studies on different *Smyrniium* species; it was determined that *S. olansatrum* has low inhibitory activity against AChE, BuChE, and TYR (Orhan et al., 2016). In another study, it was determined that the methanol extract of *S. cordiifolium* have high cholinesterase inhibitory activity (2.92 and 2.64 mg galantamine equivalent/g extract, for acetyl- and butyrylcholinesterase, respectively) and good TYR inhibitory activity (137.54 mg kojic acid equivalent/g extract) (Zengin et

al., 2019). In this study, it was observed that extracts of *S. connatum* aerial parts and roots showed high inhibition activity against both cholinesterase's and moderate inhibition activity against TYR. Also, it was determined that ASC with ultrasound assisted extract had the highest antioxidant and cholinesterase inhibitory activity.

CONCLUSION

The biological activity of the aerial parts of *S. connatum* generally was found to be more active than its roots. We discovered that the enzyme inhibitors and antioxidant capacity we investigated were effective in treating neurodegenerative disorders. As a result of the enzyme inhibition and antioxidant activity studies, the *S. connatum* deserves to performing further *in vivo* biological activity and phytochemical analysis studies.

Author Contributions

The plant material belonging to this study was collected by Y.B. and S.D., and the species identification was carried out by Y.B. In order to carry out the study, the facilities of the Faculty of Science and the Faculty of Pharmacy were used. Designing the study and deciding on the appropriate experimental methods were carried out by F.A., N.E., and T.D. Experimental analyzes of the study were proceeded by F.A., N.E., and T.D. Article draft text was written by T.D. with the supervision of F.A. The manuscript was finalized with the critical feedback on the study, analyzes and article provided by F.A., Y.B., S.D., and N.E.

Conflict of Interest

The authors declare that they do not have any competition and any conflicts of interest.

REFERENCES

- Abbasi N, Rafieian-Kopaei M, Karami N, Ghanadi K 2019. An Ethnobotanical Study of Hepatoprotective Herbs from Shahrekord, Chaharmahal and Bakhtiari Province, Southwest of Iran. *EJVS* 50 (2): 129-134.
- Alam J, Sharma L 2019. Potential Enzymatic Targets in Alzheimer's: A Comprehensive Review. *Curr Drug Targets* 20(3): 316-339.
- Amiri MS, Joharchi MR 2016. Ethnobotanical Knowledge of Apiaceae Family in Iran: A review. *Avicenna J Phytomedicine* 6(6): 621-635.
- Anand P, Singh B 2013. A Review on Cholinesterase Inhibitors for Alzheimer's Disease. *Arch Pharm Res* 36(4): 375-399.
- Bennour N, Mighri H, Eljani H, Zammouri T, Akrouit A 2020. Effect of Solvent Evaporation Method on Phenolic Compounds and the Antioxidant Activity of *Moringa oleifera* Cultivated in Southern Tunisia. *S Afr J Bot* 129: 181-190.
- Bermejo JEH, León J. 1994. Neglected crops: 1492 from a different perspective. *Plant Production and Protection Series No. 26*, FAO, Rome, Italy, 320 p.
- Bulut G, Tuzlaci E 2013. An Ethnobotanical Study of Medicinal Plants in Turgutlu (Manisa-Turkey). *J Ethnopharmacol* 149(3): 633-647.
- Caprioli G, Fiorini D, Maggi F, Marangoni M, Papa F, Vittori S, Sagratini G 2014. Ascorbic Acid Content, Fatty Acid Composition and Nutritional Value of the Neglected Vegetable Alexanders (*Smyrniolum olusatrum* L., Apiaceae). *J Food Compost Anal* 35(1): 30-36.
- Chai T, Mohan M, Ong H, Wong F 2014. Antioxidant, Iron-chelating and Anti-glucosidase Activities of *Typha domingensis* Pers (Typhaceae). *Trop J Pharm Res* 13(1): 67-72.
- Clarke G, Ting KN, Wiart C, Fry J 2013. High Correlation of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Radical Scavenging, Ferric Reducing Activity Potential and Total Phenolics Content Indicates Redundancy in Use of All Three Assays to Screen for Antioxidant Activity of Extracts of Plants from the Malaysian Rainforest. *Antioxidants* 2(1): 1-10.
- Davis PH 1972. *Flora of Turkey and East Aegean Island*. Edinburg University Press, Edinburgh, 338-339 p.
- Demirci S, Özkan EE, Demirci S 2014. Ethnobotanical Studies of Some Apiaceae Plants in Kahramanmaraş and A review of Their Phytochemical Studies. *Istanbul J Pharm* 44(2): 241-250.
- Eruygur N, Ucar E, Akpulat HA, Shahsavari K, Safavi SM, Kahrizi D 2019. In vitro Antioxidant Assessment, Screening of Enzyme Inhibitory Activities of Methanol and Water Extracts and Gene Expression in *Hypericum lydium*. *Mol Biol Rep* 46(2): 2121-2129.
- Minareci E, Kalyoncu F 2012. Proximate Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Six Wild Edible Celeries (*Smyrniolum* L.). *AJPP* 6(13): 968-972.
- Mungan F, Yıldız K, Kılıç M, Kuh M 2008. A Morphological Study of *Smyrniolum* Apiaceae from Turkey. *Biodivers Conserv* 8(3): 54-59.
- Mungan F, Yıldız K, Minareci E, Kiliccedil M 2011. A Palynological Study of the Genus *Smyrniolum* (Umbelliferae) from Turkey. *J Med Plant Res* 5(6): 997-1003.
- Murugan R, Parimelazhagan T 2014. Comparative Evaluation of Different Extraction Methods for Antioxidant and Anti-inflammatory Properties from *Osbeckia parvifolia* Arn.—An In vitro Approach. *J King Saud Univ Sci* 26(4): 267-275.
- Orhan IE, Tosun F, Skalicka-Woźniak K 2016. Cholinesterase, Tyrosinase Inhibitory and

- Antioxidant Potential of Randomly Selected Umbelliferous Plant Species and Chromatographic Profile of *Heracleum platytaenium* Boiss. and *Angelica sylvestris* L. var. *sylvestris*. J Serbian Chem Soc 81(4): 357-368.
- Pillaiyar T, Manickam M, Namasivayam V 2017. Skin Whitening Agents: Medicinal Chemistry Perspective of Tyrosinase Inhibitors. J Enzyme Inhib Med Chem 32(1): 403-425.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C 1999. Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. Free Radic Biol Med 26(9-10): 1231-1237.
- Šinko G, Čalić M, Bosak A, Kovarik Z 2007. Limitation of the Ellman Method: Cholinesterase Activity Measurement in the Presence of Oximes. Anal Biochem 370(2): 223-227.
- Stevens PF 1972. *Smyrniium* L. (Flora of Turkey and East Aegean Island, Edinburg University Press, Edinburg: Ed. Davis PH), vol. 4, 337-341.
- Yang Z, Wang Y, Wang Y, Zhang Y 2012a. Bioassay-guided Screening and Isolation of α -Glucosidase and Tyrosinase Inhibitors from Leaves of *Morus alba*. Food Chem 131(2): 617-625.
- Yang Z, Zhang Y, Sun L, Wang Y, Gao X, Cheng Y 2012b. An Ultrafiltration High-performance Liquid Chromatography Coupled with Diode Array Detector and Mass Spectrometry Approach for Screening and Characterising Tyrosinase Inhibitors from Mulberry Leaves. Anal Chim Acta 719: 87-95.
- Zengin G, Mahomoodally MF, Paksoy MY, Picot-Allain C, Glamocilja J, Sokovic M, Diuzheva A, Jekó J, Cziáky Z, Rodrigues MJ 2019. Phytochemical Characterization and Bioactivities of Five Apiaceae Species: Natural Sources for Novel Ingredients. Ind Crops Prod 135: 107-121.
- Zhang YJ, Gan RY, Li S, Zhou Y, Li AN, Xu DP, Li HB 2015. Antioxidant Phytochemicals for the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. Molecules 20(12): 21138-21156.

Antioxidant Activity of Lyophilized Water Extract of Aerial Parts of Italian Bugloss (*Anchusa azurea* Mill.)

Hatice KIZILTAŞ^{1*}

¹Van Yüzüncü Yıl University, Van Health Services Vocational School, Van, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-0833-3358>

✉: haticekiziltas@yyu.edu.tr

ABSTRACT

In many studies, an increase in fruit and vegetable consumption has been shown to reduce the death rate from age-related diseases such as coronary heart disease and cancer. For this reason, given the potential health benefits of natural antioxidants from plants, investigations on them have increased. Italian bugloss (*Anchusa azurea* Mill.), in some regions of Turkey is a plant consumed as a vegetable and used in traditional medicine therefore it is important to evaluate the biological activity. In this study, the antioxidant properties of Italian bugloss (*Anchusa azurea* Mill.) were investigated. The antioxidant capacity of water-based lyophilized extract obtained from air parts was evaluated with ferric ions (Fe³⁺) reducing, CUPRAC, FRAP, DPPH• and ABTS•+ scavenging antioxidant methods. In addition, total phenol and flavonoid contents were determined. This investigation could be a basis for further phytochemical investigations of Italian bugloss (*Anchusa azurea* Mill.).

Biyokimya

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 23.04.2021

Kabul Tarihi : 27.03.2022

Anahtar Kelimeler

Anchusa azurea
Antioxidant activity
Reducing power
Radical scavenging
Total phenolic content

İtalyan Bugloss (*Anchusa azurea* Mill.) Toprak Üstü Kısımlarının Liyofilize Su Ekstresinin Antioksidan Aktivitesi

ÖZET

Birçok çalışmada meyve ve sebze tüketimindeki artışın koroner kalp hastalığı ve kanser gibi yaşa bağlı hastalıklardan ölüm oranını azalttığı gösterilmiştir. Bu nedenle, bitkilerden elde edilen doğal antioksidanların potansiyel sağlık yararları göz önüne alındığında, bunlarla ilgili araştırmalar artmıştır. İtalyan bugloss (*Anchusa azurea* Mill.), Türkiye'nin bazı bölgelerinde sebze olarak tüketilen ve geleneksel tıpta kullanılan bir bitkidir, bu nedenle biyolojik aktivitesini değerlendirmek önem taşımaktadır. Bu çalışmada, İtalyan bugloss'un antioksidan özellikleri araştırılmıştır. Toprak üstü kısımlarından elde edilen liyofilize su ekstresinin antioksidan kapasitesi demir iyonlarını (Fe³⁺) indirgeyici, CUPRAC, FRAP, DPPH• ve ABTS•+ süpürücü antioksidan yöntemleri ile değerlendirildi. Ayrıca toplam fenol ve flavonoid içerikleri de belirlendi. Bu araştırma, İtalyan bugloss'un (*Anchusa azurea* Mill.) daha ileri fitokimyasal incelemeleri için bir temel oluşturabilir.

Biochemistry

Research Article

Article History

Received : 23.04.2021

Accepted : 27.03.2022

Keywords

Anchusa azurea
Antioksidan aktivite
İndirgeme gücü
Radikal giderme
Toplam fenol içeriği

Atf Şekli: Kızıltaş H 2022. İtalyan Bugloss (*Anchusa azurea* Mill.) Toprak Üstü Kısımlarının Liyofilize Su Ekstresinin Antioksidan Aktivitesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1225-1233. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.926519>

To Cite : Kızıltaş H 2022. Antioxidant Activity of Lyophilized Water Extract of Aerial Parts of Italian Bugloss (*Anchusa azurea* Mill.) KSU J. Agric Nat 25 (6): 1225-1233. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.926519>

INTRODUCTION

The *Anchusa* genus belongs to the family Boraginaceae (Chamberlain, 1978; Ceramella et al., 2019). *Anchusa azurea* (*A. azurea*), also known as 'Hamham' in some regions, is widely distributed in the Mediterranean region, especially in Algeria and Morocco, as well as in Southern Europe and North

Africa (Baghiani et al., 2013; Ceramella et al., 2019). *Anchusa* species are used in the treatment of arthritis, stomach diseases, rheumatism, antitussive, open wounds and cuts, as well as a diuretic agent, in traditional medicine (Uz et al., 2010; 2012; Baghiani et al., 2013; Ceramella et al., 2019). Furthermore *A. azurea* is used as a pomade to treat burns (Uz et al.,

2012; Baghiani et al., 2013). Antioxidant, anticancer, antibacterial and antifungal activity has been observed in studies conducted on some *Anchusa* species (Uz et al., 2012; Hu et al., 2020). In some study, it was reported that *A. azurea* have both protective and therapeutic effects on ulcers (Uz et al., 2010; 2012). *Anchusa* genus is represented by 15 species in the flora of Turkey (Chamberlain, 1978). *A. azurea*, popularly known as 'tort', is also known as 'ballık otu' and 'sığırdili' in different regions, In Turkey. The leaves of *A. azurea* are consumed as a vegetable in many regions of Turkey. The leaves are boiled and roasted with onions, especially in spring and summer, and consumed as food, used in pastries. The root bark is grinded together with wheat and used in the treatment of inflamed wounds. It is useful against wild plant poisoning (Murathan & Özdiñç, 2018).

Since ancient times, people primarily benefited from plants in order to obtain nutrients and eliminate health problems (Gulcin et al., 2006; Köksal & Gulcin, 2008; Tohma et al., 2016a). Especially Anatolian people used plants for food and medicinal purposes (Murathan & Özdiñç, 2018). In recent years, new herbal compounds have been studied extensively for their potential to treat many diseases without any side effects (Hussain et al., 2019). Experimental animal studies have shown that plant extracts could have lower toxicity than synthetic drugs. This is one of the most important advantages of herbal medicines (Uz et al., 2012).

Oxidation is essential for many living organisms to generate energy to fuel biological processes (Gulcin, 2012). But, uncontrolled production of oxygen-induced free radicals plays a role in the formation of many diseases such as cardiovascular disorders, cancer, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, nervous disorders, alcohol-related liver disease, ulcerative colitis, atherosclerosis and degenerative processes associated with aging (Wong et al., 2006; Baghiani et al., 2013; Aliyazıcıoğlu et al., 2018). A nutritious diet which is rich in antioxidant compounds for health is important (Tohma et al., 2016b; Altay et al., 2018) because of their roles in preventing many neurodegenerative diseases, cancer, Parkinson's, Alzheimer's diseases and cardiovascular diseases (Baghiani et al., 2013; Bursal et al., 2019). Various synthetic antioxidants are currently widely used. However, there are doubts that these compounds have toxic and carcinogenic effects (Gulcin et al., 2010a). which has accelerated the attempts to discover natural and safer sources of antioxidants that will constitute an alternative to synthetic antioxidants in foods (Gulcin, 2006; 2007; Huo et al., 2011).

In this study, the antioxidant capacities of lyophilized water extract of aerial part of Italian bugloss

(*Anchusa azurea* Mill.) (WEAA) were determined by 5 different in vitro antioxidant activity methods as: ferric ions (Fe³⁺) reducing, cupric ions (Cu²⁺) reducing capacity (CUPRAC), Fe³⁺-TPTZ reducing capacity (FRAP), DPPH and ABTS radical scavenging methods. Furthermore, total phenol and flavonoid contents were also investigated.

MATERIALS and METHODS

Chemicals

Compounds which are used for antioxidant activity suchlike neocuproine (2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline), 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), ascorbic acid, 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), BHT (butylated hydroxytoluene), 3-(2-pyridyl)-5,6-bis (4-phenyl-sulfonic acid)-1,2,4-triazine (Ferrozine), α -tocopherol and trichloroacetic acid (TCA) were obtained from Sigma (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Germany). Ammonium thiocyanate and all other chemicals used were of analytical grade and obtained from either Sigma-Aldrich or Merck.

Collection and Identification of the Plant Material

Italian bugloss (*Anchusa azurea* Mill. var. *azurea*) was collected from Beytüşşebap, Şırnak, in July 2019 (Location: 37°36'31.0"N 43°13'14.3"E; Herbarium code: M.P 16520). The plant was identified by botanist Dr. Süleyman Mesut PINAR, Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics. Plant samples were deposited at Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Science, Herbarium of the Biology Department (VANF), Van, Turkey.

Preparation of Lyophilized Water Extract

To prepare WEAA, 25 g aerial parts were taken from the shade-dried Italian bugloss (*Anchusa azurea* Mill.) and finely powdered in a grinder, boiling with 400 mL distilled water for 15 minutes in a magnetic stirrer then, it is lyophilized in a (Labconco, Freezone 1L) brand lyophilizer at -50°C at of 5 mm-Hg a pressure setting, the yield of the extract was found as 1.08 % and stored at -20 °C until use. (Gulcin 2005; Gulcin et al., 2008).

Radical Scavenging Methods

DPPH• scavenging activity

For evaluating the DPPH• scavenging potential of the extract, the concentration of WEAA and standard antioxidants were prepared as 10-30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 1 mL of DPPH• (0.1 mM) was added to each sample. After 30 minutes of incubation, absorbance was recorded at 517 nm (Blois, 1958; Taslimi et al., 2020).

ABTS^{•+} scavenging activity

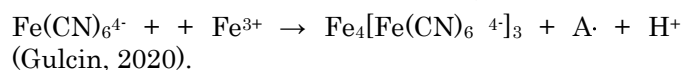
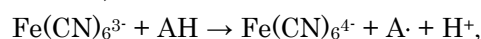
The method in a previous study was used to

determine the ABTS^{•+} scavenging effects of WEAA (Bingöl & Bursal, 2018). First, 2.45 mM persulfate solution was added to 2 mM ABTS solution to generate ABTS radicals. The absorbance of the ABTS^{•+} radical control solution was adjusted to 0.750 ± 0.025 nm at 734 nm with a phosphate buffer of 0.1 M and pH 7.4. Then 1 mL of ABTS^{•+} solution was added to different WEAA concentrations and after 30 minutes incubation absorbances were recorded at 734 nm (Gulcin et al., 2005; Gulcin et al., 2011; Huyut et al., 2017).

Reducing Ability Assay

Fe³⁺ Reducing Ability

The Fe³⁺ reducing ability of WEAA was carried out by the Fe³⁺(CN)₆-Fe²⁺(CN)₆ reduction procedure. In this method, the reducing capacity of a bioactive compound can be measured by direct reduction of Fe[(CN)₆]₃ to Fe[(CN)₆]₂. As a result, the Prussian blue complex of Perl, which has a strong absorbance at 700 nm, leads to the formation of Fe₄[Fe(CN)₆]₃ (Gulcin, 2015).



Briefly, different concentrations of WEAA (10-30 lg/mL) in 0.75 mL of deionized water were added to 1mL of phosphate buffer (0.2 M, pH 6.6) and 1 mL of potassium ferricyanide [K₃Fe(CN)₆] (1%). The mixture was incubated at 50 °C for 20 min. After the incubation period, TCA was added (1 mL, 10%). Last, a portion of FeCl₃ (0.5 mL, 0.1%) was transferred to this mixture and the absorbance value was spectrophotometrically recorded at 700 nm. A decrease in absorbance indicates increased ferric reducing power (Gulcin et al., 2003; Köksal & Gulcin, 2008; Gulcin et al., 2010b; Bursal & Gulcin, 2011).

CUPRAC Test

To determine the CUPRAC of WEAA, Apak et al. (2006) method was applied with some changes. Briefly, 0.25 mL of 10 mM copper (II) chloride solution, 0.25 mL of 7.5 mM ethanolic neocuproine solution and 0.25 mL of 1.0 M ammonium acetate buffer solutions were added to a test tube and mixed with 0.25 mL of different concentrations (10-30 µg/mL) of WEAA. The total volume was completed with distilled water to 2 mL followed by vigorously shaking. The tubes were stoppered and kept at room temperature. Absorbance was measured at 450 nm against a reagent blank after 30 min of incubation. Increased absorbance indicates increased Cu²⁺-Cu⁺ reduction (Ak & Gulcin, 2008; Erkan et al., 2008).

FRAP Test

FRAP is based on the reduction of a colorless Fe³⁺-TPTZ complex to intense blue Fe²⁺-TPTZ when

interacting with a potential antioxidant. This method is useful for comparing the effectiveness of antioxidant capacities of different compounds (Spiegel et al., 2020). TPTZ solution (2.25 ml, 10 mM TPTZ in 40mM HCl) was freshly prepared and transferred to FeCl₃ (2.25 ml, 20 mM) and acetate buffer (25 ml, 0.3 M, pH 3,6) solution (Bursal et al., 2019). Different concentrations (10–30 lg/mL) of WEAA were dissolved in 5 mL of appropriate buffer, vortexed and incubated for 30 min. At 37°C. The increased absorbance was measured at 593 nm (Köse et al., 2015; Aksu et al., 2016).

Determination of Total Phenolics and Flavonoids Concentration

The total amount of phenolic found in WEAA was performed as previously described by Köksal et al. (2008). 1 mg of WEAA was diluted with 23 ml of distilled water. 0.5 ml of Folin-Ciocalteu reagent was added to the volumetric flask, followed by 1.5 ml of 2% Na₂CO₃ solution after 3 minutes. The mixture was then allowed to stand for 2 hours with intermittent shaking. The absorbance of the samples was read at 760 nm. Transactions were carried out in triplicate. Distilled water was used instead of sample for control (Köksal et al., 2008). Gallic acid was used as a standard and the amount was determined as gallic acid equivalent (GAE) (Gulcin et al., 2004).

The determination of total amount of flavonoids found in WEAA was made according to the method applied by Park et al. (1997). 1000 µg of extract was diluted with 4.3 ml of 80% aqueous ethanol solution containing 0.1 ml (1 M) CH₃COOK and 0.1 ml (10%) Al (NO₃)₃ solutions. After 40 minutes incubation at room temperature, their absorbance at 415 nm was recorded. Quercetin is used as a standard and quantity was determined as microgram quercetin equivalent (QE) from the equation obtained from the standard quercetin plot (Eruygur et al., 2019).

Statistical Analyses

The results of the experiments were determined by averaging the triplicate analyses. For statistical analysis one-way analysis of variance (ANOVA) test was used. Differences between groups were made with Duncan's correction. Statistical significance level was taken as p<0.05; p<0.001 was very significant and SPSS statistical software version 19.0 (SPSS Inc, Chicago, III, USA) package was used for analysis.

RESULTS and DISCUSSION

According to the methods of DPPH radical scavenging activity, the antioxidants reduce the DPPH[•], and the specific purple color of the radical solution turns yellow, which can be observed with a decrease in absorbance (Gadow et al., 1997; Gulcin, 2020). DPPH[•] scavenging activities of WEAA and positive controls

were investigated. Also, IC₅₀ values of both extract and standard antioxidants were determined. The IC₅₀ (µg/mL) values WEAA and standard antioxidants demonstrated in following order: Ascorbic acid (17.325 ± 0.004, r²: 0.9509) < α-Tocopherol (30.130 ± 0.043, r²: 0.9578) < BHT (38.500 ± 0.023, r²: 0.9858) < WEAA (231.0 ± 0.059, r²: 0.9926) (Table 1 and Figure 1a). The lower IC₅₀ values demonstrate an effective DPPH• scavenging activity. Ascorbic acid was found to have the most effective DPPH• scavenging activity when considering other samples. When we examine the results of previous studies, DPPH radical scavenging activity of the extracts prepared from *A.*

azurea aerial parts with distilled water was determined in only one study and the IC₅₀ has been found as 88.65 mg mL⁻¹ (Uz et al., 2010). In the study of Conforti et al (2011), 70% aqueous ethanol extract of the flowers of *A. azurea* was used and the IC₅₀ of the DPPH• scavenging activity found as 84 ± 1.3 µg mL⁻¹. When we evaluate all the results together with the WEAA results, we see that the IC₅₀ values are quite high in all studies in general. The results of this study consistent with the literature and it was determined that the Italian bugloss (*Anchusa azurea* Mill.) water extract has a low effective DPPH• scavenging activity.

Table 1. Determination of IC₅₀ (µg/mL) values for DPPH• and ABTS^{•+} scavenging activity
 Çizelge 1. DPPH• ve ABTS^{•+} giderme aktivitesi için IC₅₀ (µg/mL) değerlerinin belirlenmesi

Antioxidants	DPPH• scavenging		ABTS ^{•+} scavenging	
	IC ₅₀ (µg/mL)	r ²	IC ₅₀ (µg/mL)	r ²
Ascorbic acid	17.325 ± 0.004	0.9509	7.533 ± 0.037	0.9519
BHT	38.500 ± 0.023	0.9858	5.824 ± 0.011	0.9539
α-Tocopherol	30.130 ± 0.043	0.9578	8.058 ± 0.008	0.9606
WEAA	231.0 ± 0.059	0.9926	16.500 ± 0.005	0.9710

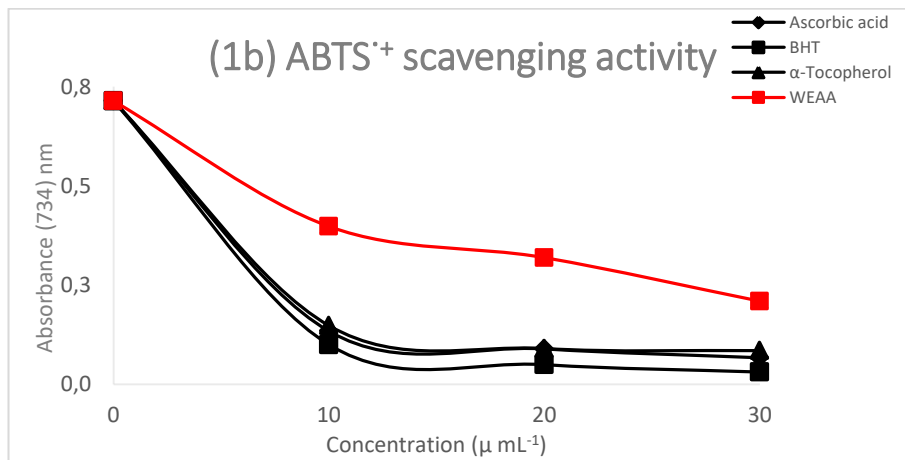
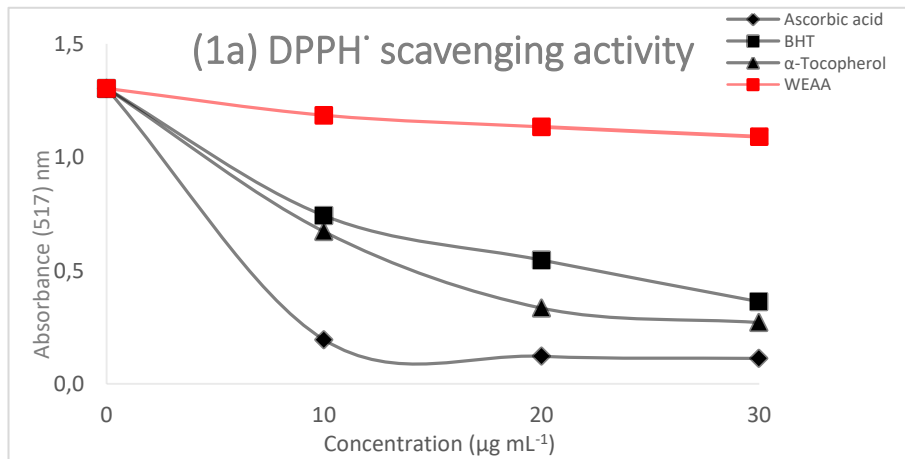


Figure 1. Radical scavenging activity of WEAA (DPPH free radical and ABTS cation radical scavenging methods)
 Şekil 1. WEAA'nın radikal giderme aktivitesi (DPPH serbest radikal ve ABTS katyon radikal giderme yöntemleri)

According to ABTS cation radical scavenging activity methods, a stable form of the radical is produced in the experiment and form blue-green ABTS^{•+} by reacting with an antioxidant, and decolorization indicates the rate of ABTS^{•+} inhibition (MacDonald-Wicks et al., 2006). The IC₅₀ (µg/mL) values of ABTS^{•+} scavenging for WEAA and standard antioxidants were determined in following order: BHT (5.824 ± 0.011, r²: 0.9539) < Ascorbic acid (7.533 ± 0.037, r²: 0.9519) < α-Tocopherol (8.058 ± 0.008, r²: 0.9606) < WEAA (16.500 ± 0.005, r²: 0.9710) (Table 1 and Figure 1b). It was found that WEAA has an efficient ABTS^{•+} scavenging activity in a concentration-based way (10–30 µg/mL) and differences have been found statistically significant (p<0.001). In the literature search, no publication was found in which ABTS^{•+} scavenging activity was measured in *A. azurea* extracts, this work provides a reference.

The antioxidant profile of lyophilized water extract of Italian bugloss (*Anchusa azurea* Mill.) has been characterized using the ferric ions (Fe³⁺) reducing, CUPRAC and FRAP assays, as shown in Table 2 and Figure 2. Reduction capacity is an important factor in determining whether a molecule has antioxidant activity (Meir et al., 1995). According to the study, the concentrations of positive controls and WEAA were increased steadily (10-30 µg mL⁻¹). The reducing power of WEAA and positive controls were as follows: Ascorbic acid (1.540 ± 0.014, r²: 0.9998) > BHT (1.198 ± 0.038, r²: 0.9997) > α-Tocopherol (0.939 ± 0.083, r²: 0.9984) > WEAA (0.150 ± 0.017, r²: 0.9787) (Table 2 and Figure 2a). The results demonstrated that lyophilized water extract of *A. azurea* had marked

ferric ions (Fe³⁺) reducing ability (p<0.001) (Table 2). However, this reducing power was lower than the standard antioxidants. The CUPRAC of 30 mg/mL concentration of WEAA and positive controls are demonstrated in Table 2 and Figure 2b.

The CUPRAC of WEAA and positive controls were measured depending on the concentration of (10-30 µg mL⁻¹) and were as follows: BHT (1.003 ± 0.151, r²: 0.9987) > α-Tocopherol (0.780 ± 0.064, r²: 0.9938) > Ascorbic acid (0.496 ± 0.029, r²: 0.9861) > WEAA (0.211 ± 0.029, r²: 0.9820). The last method studied in this regard is the FRAP method. The FRAP of WEAA and standard antioxidants decreased in the following order: Ascorbic acid (1.221 ± 0.054, r²: 0.9891) > BHT (0.820 ± 0.028, r²: 0.9908) > α-Tocopherol (0.700 ± 0.023, r²: 0.9816) > WEAA (0.376 ± 0.014, r²: 0.9327) (Table 2 and Figure 2c). According to the method, higher absorbance values represent the higher reduction ability of the Fe³⁺-TPTZ complex. Furthermore, WEAA demonstrates effective FRAP reduction ability (p<0.001) (Table 2). In the literature search we came across only one study that includes the reducing abilities of *A. azurea*. In this study which conducted by Morales et al. (2014), the result of Fe³⁺-Fe²⁺ reducing power was found as (EC₅₀: 0.01 mg mL⁻¹) in the methanol extract of *A. azurea*. In conclusion, it has been determined that evaluated by using different antioxidant activity assays, the lyophilized water extract of Italian bugloss's (*Anchusa azurea* Mill.) aerial part had a value of antioxidant activity which is close to the standard antioxidants. On the other hand, standard antioxidants have showed the best results.

Table 2. The reducing abilities of WEAA and standard antioxidants at the same concentration (30 µg/mL) (Çizelge 2. WEAA ve standart antioksidanların aynı konsantrasyondaki (30 µg/mL) indirgeme yetenekleri)

Antioxidants	Fe ³⁺ -Fe ²⁺ reducing*		CUPRAC*		FRAP*	
	λ ₇₀₀ (nm)	r ²	λ ₄₅₀ (nm)	r ²	λ ₅₉₃ (nm)	r ²
Ascorbic acid	1.540 ± 0.014a	0.9998	0.496 ± 0.029c	0.9861	1.221 ± 0.054a	0.9891
BHT	1.198 ± 0.038b	0.9997	1.003 ± 0.151a	0.9987	0.820 ± 0.028b	0.9908
α-Tocopherol	0.939 ± 0.083c	0.9984	0.780 ± 0.064b	0.9938	0.700 ± 0.023c	0.9816
WEAA	0.150 ± 0.017d	0.9787	0.211 ± 0.029d	0.9820	0.376 ± 0.014d	0.9327

*Different letters in the same column indicate statistically significant difference between the means (p<0.001 regarded as significant).

Many biologically active phytochemicals such as phenolic compounds and flavonoids and phenolic constituents, are the major components of plants, which show antioxidant activity (Baghiani et al., 2013; Çakmak & Gulcin, 2019). Plants which contain phenolic compounds and flavonoids are beneficial for human health due to their antiallergic, anticancer, anti-viral, antioxidant, and antimicrobial properties (Boussoulim et al., 2015; Bursal et al., 2019). Secondary metabolites can protect against oxidative

reactions because of their antioxidant properties such as hydrogen donor functions, reducing activity or metal chelating activity (Bursal et al., 2019).

Flavonoids are also known to be potent inhibitors of various enzymes, including xanthine oxidase, cyclooxygenase and lipoxygenase (Lin et al., 2002; Boussoulim et al., 2015). The content of total phenolic and flavonoid compounds in WEAA was found to be 18.18 ± 0.3 µg GAE and 12.42 ± 0.5 µg QE, respectively (Table 3). It was shown that there is

a positive correlation between total phenolic and flavonoid contents in WEAA and antioxidant activities. Baghiani et al. (2013) investigated the aerial parts' water extract of *A. azurea* and they found the total phenol and flavonoid content as 32.77 ± 0.59 mg GAE gE⁻¹ and 1.32 ± 0.33 mg QE gE⁻¹, respectively. In a study conducted in 2015, *A. azurea* was extracted with 70% aqueous ethanol and the amount of total flavonoid was found as 0.9 ± 0.1 mg g⁻¹ (Marrelli et al., 2015). In another study, 70%

aqueous ethanol extract of the flowers of *A. azurea* was used and the total phenolics content was found as 85.5 ± 1.3 Chlorogenic acid equivalents (mg g⁻¹) (Conforti et al., 2011). The results obtained in the previous studies mentioned above were found to be sometimes higher and sometimes lower than results of this study. The reason for this is thought to be due to differences in ecological and soil structure of the region where the plant is grown, analysis methods, solvents and extraction conditions.

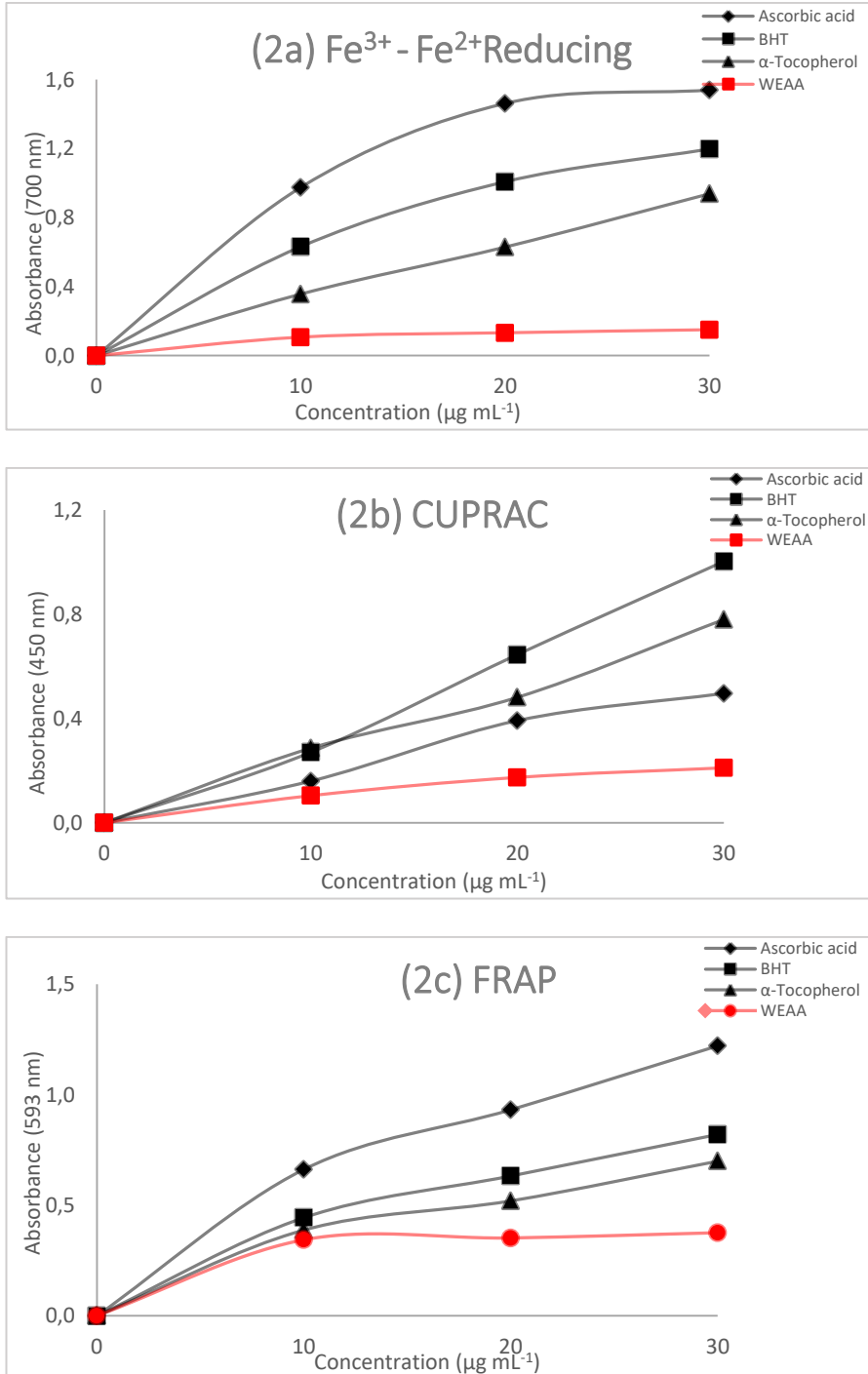


Figure 2. The reducing abilities of WEAA and standard antioxidants at the same concentration ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Şekil 2. WEAA ve standart antioksidanların aynı konsantrasyondaki ($30 \mu\text{g mL}^{-1}$) indirgeme yetenekleri)

Table 3. The total phenolic and flavonoid contents of WEAA

Çizelge 3. WEAA'nın toplam fenolik ve flavonoit içeriği

	Total phenolics (GAE µg mL ⁻¹ extract)	Total flavonoid (QE µg mL ⁻¹ extract)
WEAA	18.18 ± 0.3	12.42 ± 0.5

CONCLUSION

In conclusion, this study provides important information about the phytochemical properties and bioactivity of Italian bugloss (*Anchusa azurea* Mill.) through the determination of its antioxidant capacity and phenolic and flavonoid contents. The results showed that Italian bugloss (*Anchusa azurea* Mill.) has an effective antioxidant activity and also includes high phenolic and flavonoid content. In addition, it was observed that there was a statistically significant difference between the group averages. These results support the potential use of Italian bugloss (*Anchusa azurea* Mill.) as a natural source of antioxidants and may be a basis for further phytochemical studies.

Conflict of Interest Statement

All authors declare that there is no material or other substantive conflict of interest in their article that could affect the results or comments.

REFERENCES

- Ak T, Gulcin I 2008. Antioxidant and Radical Scavenging Properties of Curcumin. *Chemico Biological Interaction* 174: 27-37.
- Aksu K, Özgeriş B, Taslimi P, Naderi A, Gulcin I, Göksu, S 2016. Antioxidant Activity, Acetylcholinesterase, and Carbonic Anhydrase Inhibitory Properties of Novel Ureas Derived from Phenethylamines. *Archiv Der Pharmazie* 349(12): 944-954.
- Aliyazıcıoğlu R, Korkmaz N, Akkaya Ş, Şener SÖ, Özgen U, Karaoğlu ŞA 2018. *Dactylorhiza osmanica*'nın Toprak üstü Kısımlarında Antioksidan, Antimikrobiyal ve Tirozinaz İnhibitör Aktivitelerinin Araştırılması. *Firat Medical Journal* 23(2): 50-57.
- Altay A, Koktepe T, Durmaz L, Topal F, Gulcin I, Köksal E 2018. Purification and Selected Biochemical Properties of Peroxidase from Cress (*Lepidium sativum* sub sp. sativum). *International Journal of Food Properties* 21(1): 2610-2621.
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE, Erça E 2006. The Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity and Polyphenolic Content of Some Herbal Teas. *International Journal of Food Science and Nutrition* 57: 292-304.
- Baghiani A, Boussoulim N, Trabsa H, Aouachria S, Arrar L 2013. In vivo Free Radical Scavenging, Antihemolytic Activity and Antibacterial Effects of *Anchusa Azurea* Extracts. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 46(1): 1113-1118.
- Bingol MN, Bursal E 2018. LC-MS/MS Analysis of Phenolic Compounds and in vitro Antioxidant Potential of *Stachys lavandulifolia* Vahl. var. brachydon Boiss. *International Letters of Natural Sciences* 72:28-36.
- Blois MS 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature* 26: 1199-1200.
- Boussoulim N, Baghiani A, Krache I, Trabsa H, Kenouf S, Arrar L 2015. Inhibitory Effects of *Anchusa Azurea* Extracts on Xanthine Oxidase Activity and Its Hypouricemic Effects on Mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 7(8):195-199.
- Bursal E, Gulcin I 2011. Polyphenol contents and In vitro Antioxidant Activities of Lyophilized Aqueous Extract of Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Food Research International* 44:1482-1489.
- Bursal E, Aras A., Kılıç Ö, Taslimi P, Gören AC, Gulcin I 2019. Phytochemical Content, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibition Effect of *Salvia eriophora* Boiss. & Kotschy against acetylcholinesterase, α-amylase, butyrylcholinesterase, and α-glycosidase Enzymes. *Journal of Food Biochemistry* 43(3):1-13.
- Ceramella J, Loizzo MR, Iacopetta D, Bonesi M, Sicari V, Teresa Maria Pellicanò, TM, Saturnino C, Fréon AM, Tundis R, Sinicropi MS 2019. *Anchusa azurea* Mill. (Boraginaceae) Aerial Parts Methanol Extract Interfering with Cytoskeleton Organization Induces Programmed Cancer Cells Death. *Food Functions* 10:4280-4290.
- Çakmak KÇ, Gulcin I 2019. Anticholinergic and Antioxidant Activities of Usnic Acid-An Activity-Structure Insight. *Toxicology Reports* 6:1273-1280.
- Chamberlain DF 1978. *Anchusa L.* In: *Flora of Turkey and East Aegean Islands*. Ed: P.H. Davis, 6, 388-402, University Press, Edinburgh.
- Conforti F, Marrelli M, Carmela C, Menichini F, Valentina P, Uzunov D, Statti GA, Pierre Duez, P, Menichini F 2011. Bioactive Phytonutrients (omega fatty acids, tocopherols, polyphenols), In Vitro Inhibition of Nitric Oxide Production and Free Radical Scavenging Activity of Non-Cultivated Mediterranean Vegetables. *Food Chemistry* 129:1413-1419.
- Erkan N, Ayranci G, Ayranci E 2008. Antioxidant Activities of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract, Blackseed (*Nigella sativa* L.) Essential Oil, Carnosic Acid, Rosmarinic Acid and Sesamol. *Food Chemistry* 110(1):76-82.
- Eruygur N, Atas M, Tekin M, Taslimi P, Koçyiğit UM, Gulcin I 2019. In Vitro Antioxidant,

- Antimicrobial, Anticholinesterase and Antidiabetic Activities of Turkish Endemic *Achillea cucullata* (Asteraceae) from ethanol extract. *South African Journal of Botany* 120: 141–145.
- Gadow AV, Joubert E, Hansmann CF 1997. Comparison of The Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus Linearis*), α -Tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45:632-638.
- Gulcin I 2005. The Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Black Pepper (*Piper nigrum*) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 56:491–499.
- Gulcin I 2006. Antioxidant Activity of Caffeic Acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology* 217: 213–220.
- Gulcin I 2007. Comparison of In vitro Antioxidant and Antiradical Activities of L-tyrosine and L-Dopa. *Amino Acids* 32:431–438.
- Gulcin I 2012. Antioxidant Activity of Food Constituents: An Overview. *Archives of Toxicology* 86(3):345-391.
- Gulcin I 2015. Fe³⁺–Fe²⁺ Transformation Method: An Important Antioxidant Assay. *Methods in Molecular Biology* (1208):233-46.
- Gulcin I 2020. Antioxidants and Antioxidant Methods-An Updated Overview. *Archives of Toxicology* 94(3):651-715.
- Gulcin I, Beydemir Ş, Şat İG, Küfrevioğlu Öİ 2005. Evaluation of Antioxidant Activity of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.). *Acta Alimentaria* 34: 193-202.
- Gulcin I, Büyükkuroğlu ME, Oktay M, Kufrevioğlu Öİ 2003. Antioxidant and Analgesic Activities of Turpentine of *Pinus nigra* Arn. subsp. pallsiana (Lamb.) Holmboe. *Journal of Ethnopharmacology* 86:51–58.
- Gulcin I, Elias R, Gepdiremen A, Chea A, Topal F 2010a. Antioxidant Activity of Bisbenzylisoquinoline Alkaloids from *Stephania Rotunda*: Cepharanthine and Fangchinoline. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 25:44–53.
- Gulcin I, Kirecci E, Akkemik E, Topal F, Hisar O 2010b. Antioxidant, Antibacterial, and Anticandidal Activities of An Aquatic Plant: Duckweed (*Lemna minor* L. Lemnaceae). *Turkish Journal of Biology* 34: 175-188.
- Gulcin I, Mshvildadze V, Gepdiremen A, Elias R 2006. Antioxidant Activity of a Triterpenoid Glycoside Isolated from the Berries of *Hedera colchica*: 3-O-(β -D-glucopyranosyl)-hederagenin. *Phytotherapy Research* 20: 130-134.
- Gulcin I, Sat G, Beydemir Ş, Küfrevioğlu Öİ 2004. Evaluation of the In Vitro Antioxidant Properties of Broccoli Extracts (*Brassica oleracea* L.) *Italian Journal of Food Science* 16:17-30.
- Gulcin I, Tel AZ, Kirecci E 2008. Antioxidant, Antimicrobial, Antifungal and Antiradical Activities of *Cyclotrichium niveum* (Boiss.) Manden and Scheng. *International Journal of Food Properties* 11:450–471.
- Gulcin I, Topal F, Sarıkaya SBÖ, Bursal E, Bilsel G, Gören AC 2011. Polyphenol Contents and Antioxidant Properties of Medlar (*Mespilus germanica* L.). *Records of Natural Products* 5: 158-175.
- Hu B, Khutsishvili M, Fayvush G, Atha D, Borris R. P 2020. Phytochemical Investigations and Antimicrobial Activities of *Anchusa azurea*. *Chemistry of Natural Compounds*. 56(1): 119-121. doi:10.1007/s10600-020-02958-8
- Huo L, Lu R, Li P, Liao Y, Chen R, Deng C, Lu C, Wei X, Li Y 2011. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoid of Extracts from the Stems of *Jasminum nervosum* Lour. *Grasas y Aceites* 62(2): 149-154.
- Hussain FHS, Ahamad J, Osw PS 2019. A Comprehensive Review on Pharmacognostical and Pharmacological Characters of *Anchusa azurea*. *Advances in Medical, Dental and Health Sciences* 2(3): 33-37.
- Huyut Z, Beydemir S, Gulcin I 2017. Antioxidant and Antiradical Properties of Selected Flavonoids and Phenolic Compounds. *Biochemistry Research International* 7616791.
- Köksal E, Gulcin I 2008. Antioxidant Activity of Cauliflower (*Brassica oleracea* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 32:65 –78.
- Köksal E, Gulcin I, Sevim B, Sarıkaya Ö, Bursal E 2008. In vitro Antioxidant Activity of Silymarin. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 24:395-405.
- Köse LP, Gulcin I, Gören AC, Namiesnik J, Martinez-Ayala AL, Gorinstein S 2015. LC-MS/MS Analysis, Antioxidant and Anticholinergic Properties of Galanga (*Alpinia officinarum* Hance) Rhizomes. *Industrial Crops and Products* 74:712–721.
- Lin CM, Chen CS, Chen CT, Liang YC, Lina JK 2002. Molecular Modeling of Flavonoids That Inhibits Xanthine Oxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 294(1):167-172.
- MacDonald-Wicks LK, Wood LG, Garg ML 2006. Methodology for the Determination of Biological Antioxidant Capacity In vitro: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (86):2046–2056.
- Marrelli M, Cristaldi B, Menichini F, Conforti F 2015. Inhibitory effects of wild dietary plants on lipid peroxidation and on the proliferation of human cancer cells. *Food and Chemical Toxicology* (86):16-24.
- Meir S, Kanner J, Akiri B, Hadas SP 1995. Determination and Involvement of Aqueous Reducing Compounds in Oxidative Defense

- Systems of Various Senescing Leaves. *Journal Agricultural Food Chemistry* 43:1813-1819.
- Morales P, Ferreira ICFR, Carvalho AM, MCS Mata, Camara M, Ruiz VF, Santayana MP, Tardio J 2014. Mediterranean Non-Cultivated Vegetables as Dietary Sources of Compounds with Antioxidant and Biological Activity. *LWT-Food Science and Technology* 55:389-396.
- Murathan ZT, Özdiç M 2018. Ardahan ve Elazığ illerinde Yetişen *Anchusa azurea* Miller var. *Azurea* Bitkisinin Biyoaktif Bileşenleri ve Antioksidan Kapasitesi Üzerine Bir Araştırma. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi* 21(4):529-534.
- Park YK, Koo MH, Ikegaki M, Contado JL 1997. Comparison of the Flavonoid Aglycone Contents of *Apis Mellifera Propolis* from Various Regions of Brazil. *Arquivos de Biologiae Technologia* 40: 97-106.
- Spiegel M, Kapusta K, Kolodziejczyk W, Saloni J, Zbikowska B, Hill GA, Sroka Z 2020. Antioxidant Activity of Selected Phenolic Acids-Ferric Reducing Antioxidant Power Assay and QSAR Analysis of the Structural Features. *Molecules*, 25(13), 3088–. doi:10.3390/molecules25133088.
- Taslimi P, Köksal E, Gören AC, Bursal E, Aras A, Kılıç, Ö, Alwasel S, Gulcin I 2020. Anti-Alzheimer, Antidiabetic and Antioxidant Potential of *Satureja Cuneifolia* and Analysis of Its Phenolic Contents by LC-MS/MS. *Arabian Journal of Chemistry* 13:4528-4537.
- Tohma H, Gulcin I, Bursal E, Gören AC, Alwasel SH, Köksal E 2016(a). Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *Journal of Food Measurement and Characterization* 11: 556-566.
- Tohma H, Köksal E, Kılıç O, Alan Y, Yılmaz MA, Gulcin I, Bursal E, Alwasel SH 2016(b). RP-HPLC/MS/MS Analysis of The Phenolic Compounds, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Salvia* L. Species. *Antioxidants* 5(4):38-53.
- Uz AK, Güvenalp Z, Kazaz C, Salih B, Demirezer ÖL 2010. Four New Triterpenes from *Anchusa azurea* var. *azurea*. *Helvetica Chimica Acta* 93: 457-465.
- Uz AK, Suleyman H, Cadirci E, Guvenalp Z, Demirezer LO 2012. Investigation on Anti-Inflammatory and Antiulcer Activities of *Anchusa azurea* Extracts and their Major Constituent Rosmarinic Acid. *Zeitschrift für Naturforschung* 67:360–366.
- Wong C-C, Li HB, Cheng KW, Chen F 2006. A Systematic Survey of Antioxidant Activity of 30 Chinese Medicinal Plants Using the Ferric Reducing Antioxidant Power Assay. *Food Chemistry* 97:705–711.



Light-Mediated Biosynthesis of Phenylpropanoid Metabolites in Cell Suspension Cultures of Turkish Yarrow (*Achillea gypsicola* Hub. Mor.)

Muhammed Akif AÇIKGÖZ^{1*}, Ebru BATI AY², Ahmet AYGÜN³, Şevket Metin KARA⁴

^{1,4}Ordu Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ordu, ²Amasya Üniversitesi, Suluova Meslek Yüksekokulu, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Programı, Amasya, ³Kocaeli Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Kocaeli

¹<https://orcid.org/0000-0003-2436-5605>, ²<https://orcid.org/0000-0002-9210-6907>, ³<https://orcid.org/0000-0002-9210-6907>

⁴<https://orcid.org/0000-0001-7755-1394>

✉: makifacikgoz@gmail.com

ABSTRACT

Turkish yarrow (*Achillea gypsicola* Hub. Mor.) contains medicinally valuable bioactive metabolites. Light plays a key role in many physiological events in plants such as the accumulation of phenylpropanoid metabolites, particularly photosynthesis. The aim of this study was to determine the effects of light on the biosynthesis of phenylpropanoid metabolites and biomass growth in Turkish yarrow cell suspension cultures. *In vitro* plantlets obtained from seeds were used as explant sources and cell cultures of *A. gypsicola* were established using stem segment-derived callus tissues. Then, 8-day-old cell cultures kept in a B5 medium supplemented with 0.5 mg/L BA (benzylaminopurine)+0.5 mg/L NAA (naphthalene acetic acid) were incubated in light and dark environments. Cells were harvested five times (1st, 2nd, 3rd, 6th, and 12th day) in total. The amount of camphor was determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Other parameters were calculated using the spectrophotometric method. The total phenolic amount increased depending on the sampling time in dark and light conditions. Phenolic accumulation was increased by 29.25% compared to the initial culture. Also, light application increased the amount of camphor 1.12 times, the amount of flavanol 4.9 times, and the amount of flavonol 0.5 times. These results clearly demonstrate the effect of light on cell growth and phenylpropanoid metabolite accumulation in *A. gypsicola* cell cultures.

Agricultural Biotechnology

Research Article

Article History

Received : 22.04.2021

Accepted : 07.12.2021

Keywords

Abiotic elicitor
Bioactive compounds
Callus culture
Secondary metabolites

Türk Civanperçemi (*Achillea gypsicola* Hub. Mor.) Hücre Süspansiyon Kültürlerinde Fenilpropanoid Metabolitlerin Işık Aracılığıyla Biosentezi

ÖZET

Türk civanperçemi (*Achillea gypsicola* Hub. Mor.) tıbbi açıdan değerli metabolitler içerir. Işık, bitkilerde başta fotosentez olmak üzere fenilpropanoid metabolitlerin birikimi gibi birçok fizyolojik olayda kilit bir rol oynar. Bu çalışmanın amacı, ışığın Türk civanperçemi hücre süspansiyon kültüründe fenilpropanoid metabolitlerin biosentezi ve biyokütle artışı üzerindeki etkilerini belirlemektir. Tohumlardan elde edilen *in vitro* bitkicikler eksplant kaynağı olarak kullanılmış ve gövde segmentinden türetilen kallus dokularından hücre kültürleri oluşturulmuştur. Daha sonra, 0.5 mg/L BA (benzilaminopurin)+0.5 mg/L NAA (naftalen asetik asit) ile desteklenmiş B5 ortamında muhafaza edilen 8 günlük hücre kültürleri, aydınlık ve karanlık ortamlarda inkübe edilmiştir. Toplamda beş kez (1, 2, 3, 6 ve 12. gün) hücre hasadı yapılmıştır. Kamfor miktarı gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) ile belirlenmiştir. Diğer parametreler spektrofotometrik yöntem kullanılarak hesaplanmıştır. Toplam fenolik miktarı karanlık ve aydınlık koşullarda örnek alma zamanına bağlı olarak artış göstermiştir. Fenolik madde birikimi başlangıç kültürüne göre %29.25 artmıştır. Işık uygulaması kamfor miktarını 1.12 kat,

Tarımsal Biyoteknoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 22.04.2021

Kabul Tarihi : 07.12.2021

Anahtar Kelimeler

Abiyotik elisitör
Biyoaktif bileşikler
Kallus kültürü
Sekonder metabolit

flavanol miktarını 4.9 kat ve flavonol miktarını 0.5 kat artırmıştır. Bu sonuçlar bize *A. gypsicola* hücre kültürlerinde ışığın hücre büyümesi ve sekonder metabolit birikimindeki etkisini açıkça ortaya koymuştur.

Atıf Şekli: Açıkgöz MA, Batı-Ay E, Aygün A, Kara M 2022. Türk Civanperçemi (*Achillea gypsicola* Hub. Mor.) Hücre Süspansiyon Kültürlerinde Fenilpropanoid Metabolitlerin Işık Aracılığıyla Biosentezi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1234-1242. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.926160>

To Cite : Açıkgöz MA, Batı-Ay E, Aygün A, Kara M 2022. Light-mediated biosynthesis of phenylpropanoid metabolites in cell suspension cultures of Turkish yarrow (*Achillea gypsicola* Hub. Mor.). KSU J. Agric Nat 25 (6): 1234-1242. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.926160>

INTRODUCTION

Achillea gypsicola Hub. Mor. is an important herb with medicinal properties such as antimicrobial and anticarcinogenic activities (Saeidnia et al., 2011). *A. gypsicola* essential oil was composed of various volatile compounds, and the main compounds in *A. gypsicola* essential oil were borneol, camphor, and 1,8-cineole (Açıkgöz, 2019; Açıkgöz, 2020). Camphor terpene has potential benefits for health in antimicrobial (antibacterial, antifungal, antiviral), antitussive, antinociceptive, antimutagenic, anticarcinogenic, and cardiovascular terms (Edris, 2007; Lin et al., 2007; Cheng et al., 2009; Zuccarini, 2009; Abdel-Rahman et al., 2015). The contents and components of these compounds differ according to several factors such as diseases, used plant parts, growing stage, harvesting time, soil, and climate conditions (Açıkgöz, 2019; Açıkgöz, 2020). Therefore, there is a need to develop some methods to support the production of high-value bioactive metabolites in terms of quantity and quality. Among these methods, plant cell culture techniques to be used for secondary metabolite production is of great importance (Batı Ay et al., 2022). Further, plant cell cultures reduce the demand for expensive chemicals due to their simple extraction methods. Various strategies can be used to develop valuable secondary metabolite products in plant cell cultures. It is known that biotic and abiotic stress factors are used especially to initiate or increase the synthesis of phenylpropanoid metabolites (Açıkgöz, 2021; Dağlioğlu et al., 2022).

Among abiotic stress factors, light is one of the most significant environmental factors that regulate the growth, development, and metabolism of plants. Light is not only effective in photosynthesis, growth, and development, but also has a significant function in the biosynthesis of primary and secondary metabolites by increasing phenylalanine ammonia-lyase (PAL) in cell cultures (Khan et al., 2013; Murthy et al., 2014).

The reactions of plant cells to light occur through the interactions of the main photomorphogenic 1/suppressor of phytochrome A (COP1/SPA) proteins associated with pokeweed antiviral protein (PAP). In the dark, these two proteins are suppressed by ubiquitin ligase. In light environments, it causes

instability of SPA1 and SPA2 proteins, which are among the SPA proteins, thus causing the COP1 protein to be more active (Liu et al., 2011; Zuo et al., 2011; Weidler et al., 2012). This causes various metabolic activities such as the biosynthesis of chlorophyll and anthocyanins as well as development and growth responses such as phototropism and flowering induction (Kami et al., 2010).

Light also plays an active role in the generation of important phytochemicals in most medicinal plant species. Many phenolic compounds, cinnamic acid, flavonoids, anthocyanins, and caffeic acid derivatives cichoric, caftaric, chlorogenic, and caffeic acid in plants are produced by PAL initiated phenylpropanoid pathway (Shohael et al., 2006; Sreelakshmi and Sharma, 2008). In previous studies (Zhao et al., 2010; Ali and Abbasi, 2014; Tariq et al., 2014; Georgieva et al., 2015; Ahmad et al., 2016; Açıkgöz et al., 2018), it has been shown that light conditions increase the dry weight of the cell, total phenolic, anthocyanin, flavanol, and flavonol compared to dark conditions. This study was conducted to determine the effect of light on phenylpropanoid metabolite production in cell cultures of *A. gypsicola*.

MATERIAL and METHOD

Plant material

As plant material, seeds of *A. gypsicola*, endemic to Turkey, collected from native flora are used. *A. gypsicola* plants were detected in the hills on the right side of "Çorum-İskilip" at the 26th and 47th kilometers and plant samples were taken for species identification. The plant samples were subjected to the herbarium and kept in room conditions until identification. Species diagnosis was made by Prof. Dr. Hayri Duman, Gazi University, Faculty of Science, Department of Biology.

Callus establishment

In vitro plantlets obtained from these seeds were used as explant sources and cell suspension cultures of *A. gypsicola* were established using stem segment-derived callus tissues (Açıkgöz, 2017). The cultures were maintained in a B5 medium supplemented with 0.5 mg/L benzylaminopurine+0.5 mg/L naphthalene

acetic acid and grown in three 250 mL Erlenmeyer flasks containing 50 mL of liquid medium and 2.5 g of green fragile calluses. Then, they were cultured on a rotary shaker at 105 rpm at 25 °C and a light/dark photoperiod 16/8.

Treatment of light

After the cell cultures were placed in a shaker at an average speed of 105 rpm, they were kept at 25 °C and under continuous light of an average of 8.000 lux for different periods. The control group was cultured at 25 °C in dark conditions. For the light application, sampling was done five times, starting from the 1st day to the 2nd, 3rd, 6th, and 12th days, and the 1st-day sampling was done 8 h after the application.

Sample extraction

The extraction was done based on the method of Abbasi et al. (2012). Briefly, 2 g of the crushed samples were taken and 10 ml of 96% ethanol was added. After 2 min of mixing in the homogenizer, they were kept in a water bath at 45°C for one night. At the end of this period, the samples were centrifuged at 4000 rpm for 5 min and the supernatant part containing phenolic compounds was removed and evaporated in a rotary evaporator until completely dry at 75°C.

Determination of cell number

Cell number was determined according to Moscatiello et al. (2013) with the following formula:

$$acn = \sum c_{40i} = 1 \cdot 20 \cdot df$$

acn: average cell number

c: cell number

df: dilution factor

Determination of dry cell weights

It was obtained by weighing the filtered cells after being kept in the drying oven at 55 °C for 48 h.

Determination of total phenolic content

The extracts evaporated in a rotary evaporator were dissolved in 1 ml of methanol and used in the phenolic compound analysis. Analysis was performed using the Folin Ciocalteu reagent based on the Chan et al. (2007) method. Spectrophotometer readings were carried out at a wavelength of 765 nm, and the total phenolic compound amounts were determined as gallic acid equivalent mg/g fresh cell weight using the curve prepared from the standard gallic acid solution.

Determination of total flavanol content

The dimethylamino cinnamaldehyde method used by Sun et al. (1998) was used to determine the total flavanols in cell suspension cultures. The readings

were carried out in the spectrophotometer at 640 nm wavelength. The results were determined as mg/g fresh cell weight as the equivalent of catechin by using the curve prepared from the catechin standard.

Determination of total flavonol content

Total flavonol analysis was made according to the method used by Kumaran and Joel Karunakaran (2007), using the Neu solution. Accordingly, after adding a mixture of 1% 2-aminoethyl diphenylborinate solution and methanol to the extracts and mixing thoroughly, the absorbance values at 410 nm were determined. The amount of total flavonols was determined as mg/g fresh cell weight as a routine equivalent by using the curve prepared from the routine standard.

Determination of total anthocyanin content

Anthocyanin analyzes were carried out using McIlvain's buffer (pH=3) according to the method used by Giusti and Wrolstad (2000). The readings in the spectrophotometer were made at a wavelength of 570 nm and the anthocyanin amounts were calculated as color values and the results were given as CV/g fresh cell weight.

Determination of camphor content

Camphor compound was determined by GC-MS device in the study. For Headspace GC-MS analysis, Shimadzu QP2010 Ultra GC-MS was integrated into the device and Shimadzu AOC-5000 plus autosampler was used. Capillary column separation was determined by RTX-5M 30m. The camphor standard was given to the device first for analysis. The mass fragments and retention time of the compound were determined. The precision of the work and to increase the accuracy, 9 major ion peaks were selected. Later camphor the calibration curve of the compound was drawn and the amount of the sample was determined as µg/g.

Statistical analysis

One way factor analysis of variance was used to evaluate the data. Different averages were determined with the Tukey test and the results were expressed in the letter representation alongside the averages. Significance level (5%) was used in calculations and interpretations. All calculations were used with SPSS statistical package program.

RESULTS and DISCUSSION

Cell numbers, dry cell weight

In this study, the effect of light and dark situations on cell number and dry cell weight was investigated in the callus culture of *A. gypsicola* species. While the

number of cells was 85.300 in the initial culture in bright conditions, it was determined to reach 104.300 at the end of the 12th day. The lowest cell number was obtained from the initial cultures of dark and light treatments (84.100 and 85.300, respectively) (Figure 1). It has been determined that dry cell weight (g/l) increases in both light and dark conditions. While the highest dry cell weight (13.7219 g/l and 13.3981 g/l, respectively) was obtained from the cells that incubated in light for 6 and 12 days, in the cells incubated in the dark, this value was determined as 12.128 g/l maximum on day 12. It has been reported by many researchers that stress factors are very efficient in the development of secondary

metabolites and cell growth (Georgieva et al., 2015; Ahmad et al., 2016). The age of cell culture, the duration of exposure to the elicitor, and the type of elicitor are important in improving the effectiveness of these treatments. Light is one of the major elicitors that stimulates the production of secondary metabolites and developmental processes (Khan et al. 2013). Previous studies have revealed that light plays an important role in cell growth. Zhao et al. (2010), Ali and Abbasi (2014), Silva et al. (2017), and Anjum et al. (2017) reported in their studies that light promotes cell growth. Similarly, it has been shown that light has an important role in cell growth in *A. gypsicola*.

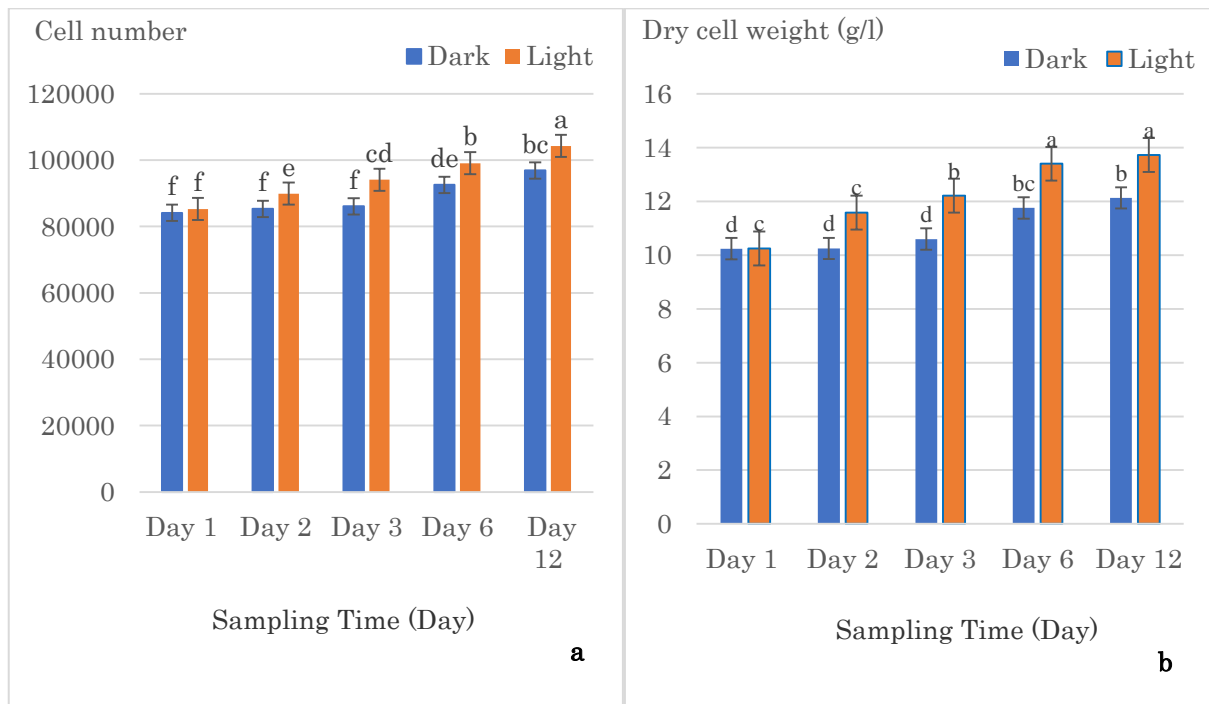


Figure 1. Effects of light treatments (dark and light) and sampling times (days) on cell number (number) (a), cell dry weight (g/l) (b) in cell suspension cultures of *A. gypsicola* species.

Şekil 1. *A. gypsicola* türünde hücre süspansiyon kültürlerinde ışık uygulamalarının (karanlık ve aydınlık) örnek alma zamanı (gün), hücre sayısına (adet) (a), hücre kuru ağırlığına (g/l) (b) etkileri

Error bars show standard deviation values. Means with a similar letter are not significant at the 5% level of the Tukey test.

Total phenolic, flavanol and flavonol content

Plant phenolics and flavonoids have strong biological activity. In this study, we researched the influence of light applied to *A. gypsicola* cultures for different periods on total phenolic, total flavanol, and total flavonol content. The total amount of phenolic substance (mg/g) increased regularly both in dark conditions and in the light environment depending on the application period (Figure 2). While the total amount of phenolic matter was an average of 0.7720 mg/g in the initial culture in the dark environment, it increased to 0.9543 mg/g at the end of the 12th day. In light application, the phenolic substance accumulation, which was 0.7744 mg/g in the initial culture, increased to 0.9978 mg/g at the end of the

12th day. It was determined that total flavanol accumulation (mg/g) was mostly in bright environments when light and dark environments were compared and flavanol accumulation increased significantly starting from the 1st day. The amount of flavanol, which was 0.0160 mg/g in the initial culture in bright conditions, increased to 0.0725 mg/g at the end of the 12th day. The amount of flavonol, which was 0.0123 mg/g in the initial culture under dark conditions, reached 0.0535 mg/g at the end of the 12th day. Total flavanol accumulation (mg/g) generally increased in dark and light environments. In the dark environment, while the total amount of flavanol in the initial culture was 0.0417 mg/g, it reached 0.0654 mg/g at the end of the 12th day. In light application,

the amount of flavanol, which was 0.0434 mg/g in the initial culture, increased to 0.0814 mg/g at the end of the 12th day. It was determined that light treatments were 53.24% more effective in flavanol accumulation when light and dark environments are compared. The remarkable point here is that the amounts of total phenolic, flavanol, and flavanol increase with light application. Light has an important function in the biosynthesis of primary and secondary metabolites by increasing PAL activity in cell cultures (Khan et al., 2013; Murthy et al., 2014). Many phenolic compounds, caffeic acid, cinnamic acid, flavonoids, anthocyanins, and caffeic acid derivatives in plants are

produced by the phenylpropanoid pathway initiated by PAL (Shohael et al., 2006; Sreelakshmi and Sharma, 2008). Therefore, it can be said that light increases the total amount of flavonoids by stimulating the biosynthetic pathway. In previous studies, Fazal et al. (2016), Nadeem et al. (2018), and Shohael et al. (2006) reported that light promotes secondary metabolite accumulation more than dark conditions. In this study, it was revealed that light conditions increase the amount of total phenolic, flavanol, and flavanol other active ingredients compared to dark conditions.

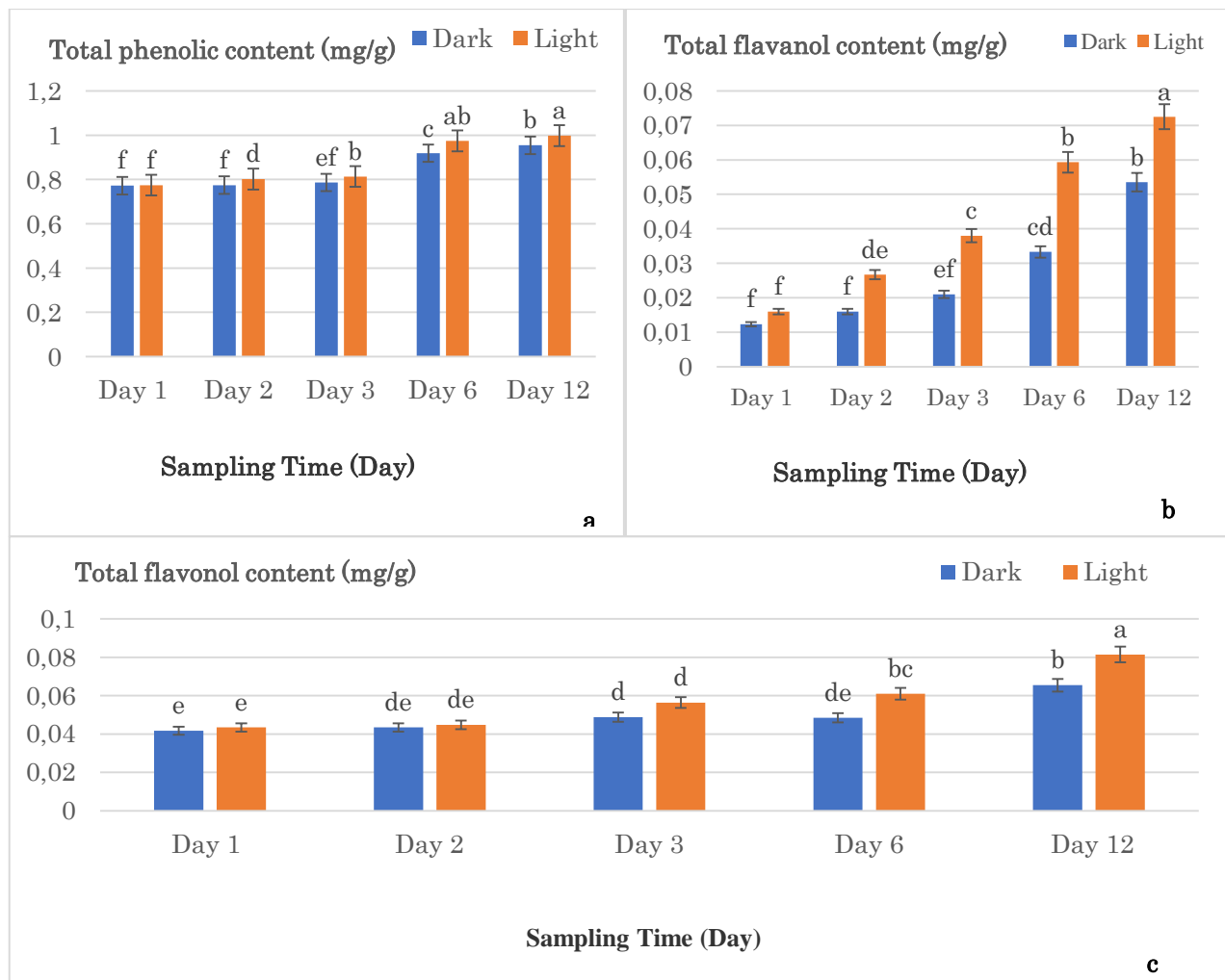


Figure 2. Effects of light treatments (dark and light) and sampling times (days) on total phenolic (mg/g) (a), flavanol (mg/g) (b), flavanol content (mg/g) (c) in cell suspension cultures of *A. gypsicola* species.

Şekil 2. *A. gypsicola* türünde hücre süspansiyon kültürlerinde ışık uygulamalarının (karanlık ve aydınlık) toplam fenolik madde (mg/g) (a), flavanol (mg/g) (b), flavanol içeriğine (mg/g) (c) etkileri

Error bars show standard deviation values. Means with a similar letter are not significant at the 5% level of the Tukey test.

Total anthocyanin content

Anthocyanins constitute an important part of flavonoids, a common group of secondary metabolites. Anthocyanins found in plant tissues are synthesized in different concentrations depending on the genetic

structure of the plant, environmental factors, and the stress conditions that the plant is exposed to (Schwinn et al., 2004). In this study, when the total anthocyanin accumulation in dark and light environments was compared, it was determined that

the anthocyanin accumulation occurred highest in light with 0.0097 CV/g and the lowest value was in the cells incubated with 0.0058 CV/g in the dark (Figure 3). Therefore, we can say that the light

increases anthocyanin accumulation. The role of anthocyanins against light stress has been widely documented (Merzlyak et al., 2000; Trojak et al., 2017).

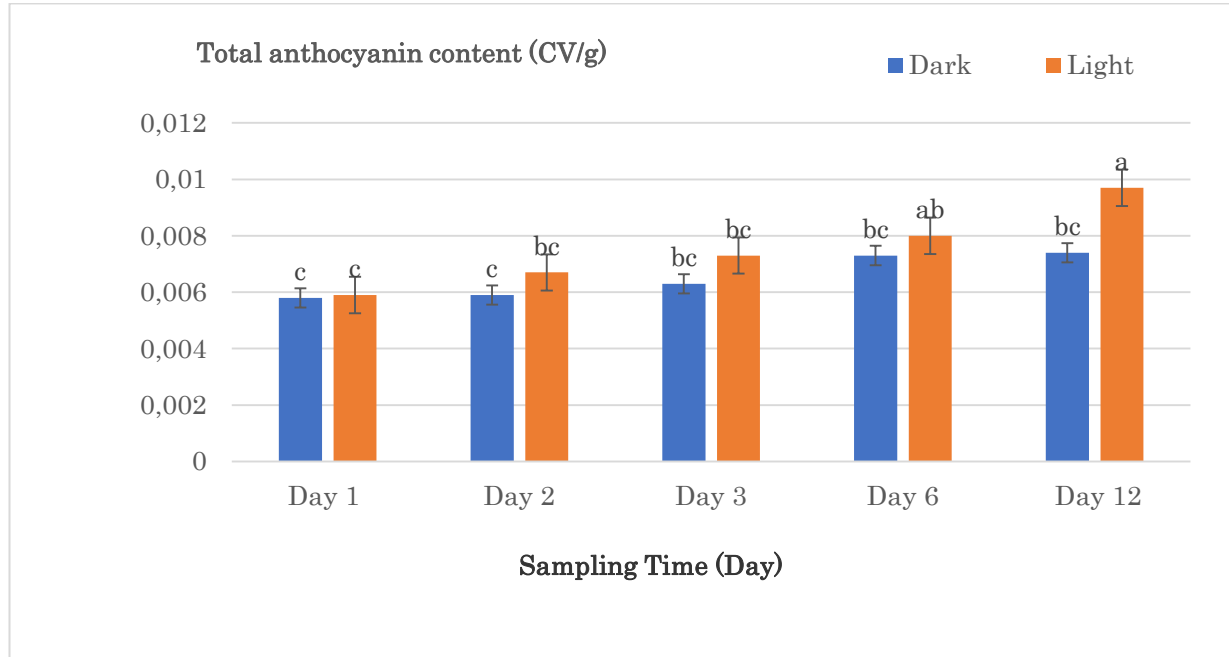


Figure 3. Effects of light treatments (dark and light) and sampling times (days) on the total anthocyanin content (CV/g) in cell suspension cultures of *A. gypsicola* species

Error bars show standard deviation values. Means with a similar letter are not significant at the 5% level of the Tukey test.

Şekil 3. *A. gypsicola* türünde hücre süspansiyon kültürlerinde ışık uygulamalarının (karanlık ve aydınlık) toplam antosiyanin miktarına (CV/g) etkileri

Camphor content

Camphor is an important ingredient found in the essential oil of plants that has medicinal effects such as antimicrobial and anticarcinogenic (Saeidnia et al., 2011). In the study, the amount of camphor, which was 0.7162 µg/g in the initial culture in the light environment, increased to 0.9693 µg/g 3 days after the application, to 1.1173 µg/g after 6 days, and after 12 days, it increased by 111.77% and reached 1.5167 µg/g (Figure 4). The highest camphor accumulation in cells incubated in the dark was 1.1153 µg/g at the end of the 12th day. The remarkable point here is that light treatments promote camphor accumulation more than dark conditions. Previously, Nieto-Trujillo et al. (2017) studies on *Tanacetum parthenium* and Razavizadeh et al. (2017) on *Carum copticum* species showed that stress factors raise the amount of phenylpropanoid metabolites. In addition, Silva et al. (2017) examined the effects of the light source applied to the culture environment at different intensities to increase the secondary metabolite accumulation in a study conducted on *Plectranthus amboinicus* species and they showed that carvacrol accumulation continuously increased depending on the intensity of light.

CONCLUSIONS

In this study, it was determined for the first time that light treatment in *A. gypsicola* cell suspension culture promoted cell number and dry cell weight, total flavanol, flavonol, phenolic, anthocyanin, and camphor content more than in dark conditions. Looking at the sampling times, it is seen that the highest value of cell growth and phenylpropanoid metabolite accumulation is reached on the 12th day, while the lowest value is reached in the initial cultures. The amount of camphor increased from 0.7162 µg/g in the initial culture to 1.5167 µg/g after 12 days with an increase of 111.77% in cells cultured in the light environment. It was determined that sampling times in dark environments do not have a significant effect on the amount of anthocyanin in total anthocyanin accumulation. The total amount of phenolic content increased regularly both in dark conditions and in the light environment and the accumulation of phenolic content in the initial culture in the light environment increased by 29.25% at the end of the 12th day. It has been determined that flavanol accumulation is mostly in bright environments. The amount of flavanol, which was 0.0160 mg/g on the 1st day, increased 4.9 times and reached 0.0725 mg/g at the end of the 12th day. When the light and dark environments are compared in

total flavonol accumulation, it was determined that light conditions were 53.24% more effective in flavanol accumulation. These results showed us that

light treatments in *A. gypsicola* cell suspension cultures significantly promoted cell growth and phenylpropanoid metabolite accumulation.

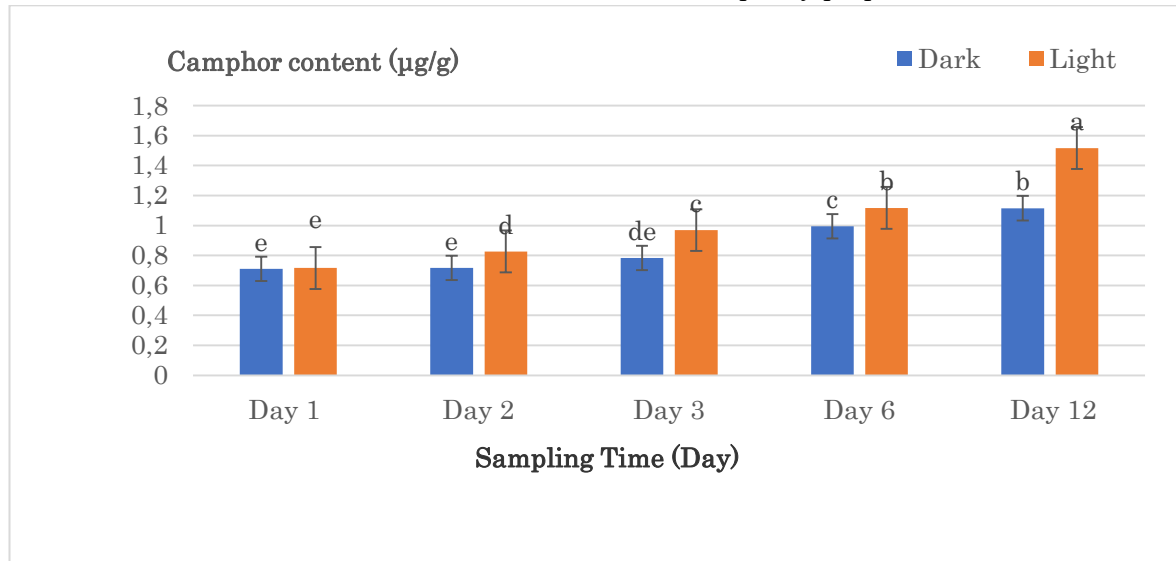


Figure 4. Effects of light treatments (dark and light) and sampling times (days) on camphor content ($\mu\text{g/g}$) in cell suspension cultures of *A. gypsicola* species

Error bars show standard deviation values Means with a similar letter are not significant at the 5% level of the Tukey test.

Şekil 4. *A. gypsicola* türünde hücre süspansiyon kültürlerinde ışık uygulamalarının (karanlık ve aydınlık) kamfor miktarına ($\mu\text{g/g}$) etkileri

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) for providing financial support for this work under Project No. 1001- 1140564. This study is a part of Dr Muhammed Akif Açıkgöz's doctorate thesis.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

Statement of Conflict of Interest

The authors have declared no conflict of interest.

REFERENCES

- Abbasi BH, Stiles AR, Saxena PK, Liu CZ 2012. Gibberellic acid increases secondary metabolite production in *Echinacea purpurea* hairy roots. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 168(7): 2057–2066.
- Abdel-Rahman R, Alqasoumi S, El-Desoky A, Soliman G, Paré G, Hegazy ME 2015. Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and anti-ulcerogenic potentials of *Achillea fragrantissima* (Forssk.). *South African Journal of Botany*, 98: 122-127.
- Açıkgöz MA 2017. *Achillea gypsicola* türünde kallus kültürü ile sekonder metabolit üretim potansiyelinin belirlenmesi. Ordu Üniversitesi, Doktora Tezi (Basılı), Ordu.
- Açıkgöz MA, Kara ŞM, Batı E, Odabaş S 2018. Effect

of light on biosynthesis of alkalamide, caffeic acid derivatives and echinacoside in *Echinacea purpurea* L. callus cultures. *Akademik Ziraat Dergisi*, 7(2): 179-184.

- Açıkgöz MA, Kara ŞM, Aygün A, Özcan MM, Ay EB 2019. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of camphor and phenolic compounds in cell suspension culture of endemic Turkish yarrow (*Achillea gypsicola*) species. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 43(3): 351-359.
- Açıkgöz MA 2020. Establishment of cell suspension cultures of *Ocimum basilicum* L. and enhanced production of pharmaceutical active ingredients. *Industrial Crops & Products*. 148: 112278.
- Açıkgöz MA 2021. Effects of sorbitol on the production of phenolic compounds and terpenoids in the cell suspension cultures of *Ocimum basilicum* L. *Biologia*, 76(1): 395-409.
- Ahmad N, Rab A, Ahmad N 2016. Light induced biochemical variations in secondary metabolite production and antioxidant activity in callus cultures of *Stevia rebaudiana* (Bert). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 154: 51-56.
- Ali M, Abbasi BH 2014. Light-induced fluctuations in biomass accumulation, secondary metabolites production and antioxidant activity in cell suspension cultures of *Artemisia absinthium* L. *Journal of Photochemistry and Photobiology B Biology*, 140: 223-227.

- Anjum S, Abbasi BH, Doussot J, Favre-Réguillon A, Hano C 2017. Effects of photoperiod regimes and ultraviolet-C radiations on biosynthesis of industrially important lignans and neolignans in cell cultures of *Linum usitatissimum* L.(Flax). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 167: 216-227.
- Chan KY, Dorahy C, Tyler S 2007. Determining the agronomic value of composts produced from greenwaste from metropolitan areas of New South Wales, Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 47: 1377-1382.
- Cheng LH, Eugene ICW, Yu CS 2009. Essential oil compositions and bioactivities of the various parts of *Cinnamomum camphora* Sieb.var, *Linaloolifera fujuta*, *Journal of Forestry Research*, 2: 77-96.
- Dağlioğlu Y, Açıkgöz MA, Özcan MM, Kara ŞM 2022. Impact of application of alumina oxide nanoparticles on callus induction, pigment content, cell damage and antioxidant enzyme activities in *Ocimum basilicum*. *Journal of International Environmental Application and Science*, 17(1): 22-33.
- Batı Ay E, Kocaman B, Karaca Öner E, Açıkgöz MA 2022. Effects of elicitors on secondary metabolite (SM) production and antioxidant activity in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) cell suspension cultures. *Notulae Scientia Biologicae*, 14(2): 11246-11246.
- Edris AE 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents. *Phytotherapy Research*, 4: 308-323.
- Fazal H, Abbasi BH, Ahmad N, Ali M, Ali S 2016. Sucrose induced osmotic stress and photoperiod regimes enhanced the biomass and production of antioxidant secondary metabolites in shake flask suspension cultures of *Prunella vulgaris* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 124(3): 573-581.
- Georgieva L, Ivanov I, Marchev A, Aneva I, Denev P, Georgiev V, Pavlov A 2015. Protopine production by *Fumaria* cell suspension cultures: effect of light. *Applied biochemistry and biotechnology*, 176(1): 287-300.
- Giusti MM, Wrolstad RE 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by uv-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken.
- Kami C, Lorrain S, Hornitschek P, Fankhauser C 2010. Chapter two light regulated plant growth and development. *Current Topics in Developmental Biology*, 91: 29-66.
- Khan MA, Abbasi BH, Ahmed N, Ali H 2013. Effects of light regimes on *in vitro* seed germination and silymarin content in *Silybum marianum*. *Industrial Crops and Products*, 46: 105-110.
- Kumaran A, Joel Karunakaran R 2007. *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT- Food Science and Technology*, 40: 344-352.
- Lin TC, Chu FH, Tseng YH, Tsai JB, Chang ST, Wang SY 2007. Bioactivity Investigation of Lauraceae trees grown in Taiwan. *Pharmaceutical Biology*, 8: 638-644.
- Liu B, Zuo Z, Liu H, Liu X, Lin C 2011. *Arabidopsis cryptochrome 1* interacts with SPA1 to suppress COP1 activity in response to blue light. *Genes Development*, 25: 1029-1034.
- Moscatiello R, Baldan B, Navazio L 2013. *Plant cell suspension cultures*. Humana Press, Totowa.
- Merzlyak MN, Chivkunova OB 2000. Light stress induced pigment changes and evidence for anthocyanin photoprotection in apple fruit. *Journal of Photochemistry and Photobiology B Biology*, 55: 154-162.
- Murthy HN, Dandin VS, Zhong JJ, Paek KY 2014. Strategies for enhanced production of plant secondary metabolites from cell and organ cultures. In *Production of biomass and bioactive compounds using bioreactor technology*. Springer Netherlands, 471-508.
- Nieto-Trujillo A, Buendía-González L, García-Morales C, Román-Guerrero A, Cruz-Sosa F, Estrada-Zúñiga ME 2017. Phenolic compounds and parthenolide production from *in vitro* cultures of *Tanacetum parthenium*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2): 371-383.
- Saeidnia S, Ghohari AR, Mokhber-Dezfuli N, Kiuchi F 2011. A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus *Achillea*. *Daru*. 19(3): 173-186.
- Schwinn KE, Davies KM 2004. Flavonoids, in plant pigments and their manipulation. *Annual Plant Reviews*, Vol 14 (Ed. K Davies), Blackwell Publishing, 92-149.
- Shohael AM, Ali MB, Yu KW, Hahn EJ, Islam R, Paek KY 2006. Effect of light on oxidative stress, secondary metabolites, and induction of antioxidant enzymes in *Eleutherococcus senticosus* somatic embryos in bioreactor. *Process Biochemistry*, 41(5): 1179-1185.
- Silva A, Cavero S, Begley V, Solé C, Böttcher R, Chávez S, de Nadal E 2017. Regulation of transcription elongation in response to osmotic stress. *PLoS Genetics*, 13(11): e1007090.
- Sreelakshmi Y, Sharma R 2008. Differential regulation of phenylalanine ammonia lyase activity and protein level by light in tomato seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(4): 444-451.
- Sun Y, Jan LY, Jan YN 1998. Transcriptional regulation of atonal during development of the *Drosophila* peripheral nervous system. *Development* 125(18): 3731--3740.
- Tariq U, Ali M, Abbasi BH 2014. Morphogenic and biochemical variations under different spectral

- lights in callus cultures of *Artemisia absinthium* L. *Journal of Photochemistry and Photobiology B Biology*, 130: 264-271.
- Trojak M, Skowron E 2017. Improvement of plant heat tolerance by modification of xanthophyll cycle activity. *World Scientific News*, 70(2), 51-70.
- Weidler G, Zur Oven-Krockhaus, S, Heunemann M, Orth C, Schleifenbaum F, Harter K, Hoecker U, Batschauer A 2012 Degradation of Arabidopsis CRY2 is regulated by SPA proteins and phytochrome A. *Plant Cell*, 24: 2610–2623.
- Zhao SZ, Sun HZ, Chen M, Wang BS 2010. Light-regulated betacyanin accumulation in euhalophyte *Suaeda salsa* calli. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 102(1): 99-107.
- Zuccarini P 2009. Camphor: Risks and benefits of a widely used natural product. *Journal Applied Science Environmental Management*, 2: 69-74.
- Zuo Z, Liu H, Liu B, Liu X, Lin C 2011. Blue light-dependent interaction of CRY2 with SPA1 regulates COP1 activity and floral initiation in Arabidopsis. *Current Biology*, 21(10): 841-847.

Trimetilolpropan Triakrilat'ın Potansiyel Toksik, Genotoksik ve Mutajenik Etkilerinin *Drosophila melanogaster* Kullanılarak Araştırılması

Fatma TURNA DEMİR¹

¹Antalya Bilim Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Antalya

¹<https://orcid.org/0000-0001-8045-8641>

✉: fatma.demir@antalya.edu.tr

ÖZET

Trimetilolpropan triakrilat (TMPTA), mürekkepler, plastikler, ahşap ve metal kaplamalar gibi farklı malzeme ve formüllerde yaygın olarak kullanılan bir kimyasaldır. Birçok alanda yaygın olarak kullanılmasına rağmen bu maddenin genotoksik potansiyeli çeşitli *in vivo* ve *in vitro* yaklaşımlarla net olarak ortaya konmamıştır. TMPTA'nın olası riskleri hakkında literatürdeki *in vitro* ve *in vivo* verilerin çelişkili olması nedeniyle, bu kimyasal toksisite ve genotoksisite analizleri için kullanılmaya devam etmektedir. Bu bağlamda çalışmanın amacı, *in vivo* bir model olan *Drosophila melanogaster* ile TMPTA'nın potansiyel toksik ve genotoksik etkilerini ortaya çıkarmaktır. Bu amaç doğrultusunda *Drosophila* Comet, kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon (SMART) testleri uygulanmış ve fenotipik değişiklik belirlenmiştir. SMART yönteminde kromozom kırılması, nokta mutasyonu ve mitotik rekombinasyon tek tip klonlara neden olurken; mitotik rekombinasyon ise ikiz klonların oluşmasına neden olmaktadır. *Drosophila* hemosit hücrelerinde DNA hasarını tespit etmek için Comet testi uygulanmıştır. Deneme konsantrasyonu olarak 10 mM konsantrasyon canlılık açısından toksik etki gösterdiğinden, *Drosophila*'da genotoksisite ve mutajenite çalışmaları için 10 mM'nin altındaki konsantrasyonlarda testler yapılmıştır. Özellikle test edilen tüm toksik olmayan konsantrasyonlarda (0.5, 1, 2.5 ve 5 mM) TMPTA, *Drosophila* SMART testinde mutajenik etkiler ve Comet testinde genotoksik etkiler göstermiştir. Ancak, TMPTA'nın toksik olmayan konsantrasyonlarında kanatlar, göğüs kılı ve gözler açısından fenotipik değişiklikler tespit edilmemiştir. Bu çalışma, TMPTA'nın *Drosophila*'daki toksik ve genotoksik etkilerinin değerlendirildiği literatürdeki ilk çalışmadır.

Biyoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 27.08.2021

Kabul Tarihi : 19.11.2021

Anahtar Kelimeler

Trimetilolpropan triakrilat
Drosophila melanogaster
Genetik hasar
Somatik mutasyon
Hemosit

Investigation of Potential Toxic, Genotoxic and Mutagenic Effects of Trimethylolpropane Triacrylate Using *Drosophila melanogaster*

ABSTRACT

Trimethylolpropane triacrylate (TMPTA) is a chemical which is commonly used in different materials and formulas such as inks, plastics, wood and metal coatings. Although it is widely used in many fields, the genotoxic potential of this substance has not been clearly demonstrated. Because of the conflictive *in vitro* and *in vivo* data in the literature about possible risks of TMPTA, this chemical remains to be used for toxicity and genotoxicity analyses. In this context, the aim of this study is to reveal the potential toxic and genotoxic effects of TMPTA in *Drosophila melanogaster* as an *in vivo* model. In accordance with this aim, *Drosophila* Comet, wing somatic mutation and recombination test (SMART) were performed and phenotypic alterations were determined. In SMART method, chromosome breakage, point mutation and mitotic recombination cause single spots while mitotic recombination causes twin spots. Comet assay applied to detect DNA damage in *Drosophila* hemocyte

Biology

Research Article

Article History

Received : 27.08.2021

Accepted : 19.11.2021

Keywords

Trimethylolpropane triacrylate
Drosophila melanogaster
Genetic damage
Somatic mutation
Hemocyte

cells. Since the trial concentration of 10 mM showed toxic effect in terms of viability, tests were carried out at concentrations below 10 mM. All the tested non-toxic concentrations (0.5, 1, 2.5, and 5 mM) of TMPTA showed mutagenic effects in the Drosophila Comet Assay, and genotoxic effects were observed by SMART Assay. However, phenotypic alterations were not detected in non-toxic concentrations of TMPTA in terms of wings, thorax bristle, and eyes. This is the first study in the literature to evaluate the toxic and genotoxic effects of TMPTA in Drosophila.

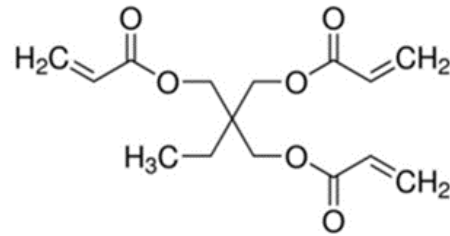
Atıf Şekli: Turna Demir, F 2022. Trimetilolpropan Triakrilat'ın Potansiyel Toksik, Genotoksik Ve Mutajenik Etkilerinin Drosophila Melanogaster Kullanılarak Araştırılması. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1243-1253. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.988017>

To Cite : Turna Demir, F 2022. Investigation of Potential Toxic, Genotoxic and Mutagenic Effects of Trimethylolpropane Triacrylate Using Drosophila melanogaster. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1243-1253. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.988017>

GİRİŞ

Son yüzyılda, endüstriyel, ticari ve tarımsal kullanımlardan evsel ve kişisel kullanımlara kadar çeşitli biçimlerde çok sayıda kimyasal madde ile çevrili durumdayız. Bu kimyasalların insanlar da dahil olmak üzere çevredeki farklı canlı organizmalar üzerinde etkisi vardır. Yapılan çalışmalar, bu etkilerin önemli bir konsantrasyon seviyesinde istenmeyen maruziyet durumunda çoğunlukla tehlikeli olabildiğini doğrulamıştır (van Leeuwen ve Vermeire, 2007; Konduracka, 2019). Yapılan çalışmalar, istenmeyen kimyasal maruziyetinin doza bağlı olarak insanlarda ölümcül zehirlenmelere neden olduğunu göstermiştir (Karunarathne, 2021). Bununla birlikte kimyasalların ve ağır metallerin düşük konsantrasyonlarda ekosistemde yer alan diğer canlı organizmalarda ve cansız ortamda birikime ve uzun vadede olumsuz etkilere neden olduğu bildirilmiştir (Turna Demir ve Yavuz, 2020; Naidu ve ark., 2021). Genetik toksikolojinin temel amacı, pek çok yöntem kullanılarak çeşitli çevresel etkenlerin neden olduğu DNA hasarının tespit edilmesidir. Kansere yol açan çok aşamalı olaylarda yer alan birçok gendeki mutasyonlar, genetik materyalin çeşitli mekanizmalar ile etkileşimleri ve modifikasyonları tarafından üretilebilir. Örneğin, Feron ve Vogelstein (1996) tarafından tanımlanan kolorektal kanser örneğinde gösterildiği gibi DNA'daki moleküler değişiklikler bu hastalığın oluşumunda önem taşımaktadır (Feron ve Vogelstein, 1996). Genotoksik kanserojen ifadesi, hedef hücrelerin genetik materyalini doğrudan değiştirerek kansere neden olan kimyasallar için kullanılırken, genotoksik olmayan kanserojenler doğrudan genetik hasarı ile ilgili olmayan bazı ikincil mekanizmalarla kansere neden olan kimyasalları ifade etmek için kullanılmaktadır (Hayashi, 1992). Mutajen test sistemlerinin genotoksik kanserojen bileşikler tespit etme potansiyeli, çevresel mutagenез ve genetik toksikoloji biliminin geliştirilmesi ve uygulanması için önemli bir uyarıcı olmuştur (Parry ve Parry, 2012). Trimetilolpropan triakrilat (TMPTA), üç işlevli

bir akrilat monomerdır ve serbest radikal kaynaklarına maruz kaldığında hızlıca polimerleşir. TMPTA'nın kimyasal yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. TMPTA'nın açık formülü
Figure 1. Open formula of TMPTA

TMPTA reaktif bir seyreltici ve polimer yapı taşı olarak yaygın olarak kullanılır. Üst baskı vernikleri ve mürekkepleri ile çeşitli ahşap, plastik ve metal kaplamaların formülasyonları TMPTA içermektedir. Son yıllarda çeşitli alanlarda kullanılan bu maddenin neden olduğu genotoksik ve kanserojenik etkiler sınırlı sayıda çalışma ile farklı test yöntemleri kullanılarak *in vivo* ve *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Tg.AC hemizigot farelerde yapılan 6 aylık bir dermal çalışmada TMPTA'nın hem erkek hem de dişi farelerde dermal uygulama bölgesinde deri papillomlarının görülme sıklığını ve çeşitliliğini önemli ölçüde artırdığı sonucuna varılmış olup ayrıca dişi farelerde TMPTA uygulamasına bağlı skuamöz hücreli karsinomların ve kronik inflamasyonun TMPTA uygulama bölgesinde meydana geldiği saptanmıştır (Anonim, 2005). Ayrıca 2 yıllık bir dermal kanserojenite çalışması sonuçlarına göre, TMPTA uygulamasının erkek F344/N sıçanlarda marjinal olarak artmış malign mezotelyoma görülme sıklığına neden olduğu ve dişi farelerde ise nadir görülen malign hepatik neoplazmalar (hepatoblastoma ve hepatokolanjiyokarsinom) ve uterusun stromal polip veya stromal sarkomu görülme sıklıklarının arttığını gösteren bazı kanıtlar tespit edilmiştir (Anonim, 2012). Bu çalışmalarda F344/N sıçanlar ve B6C3F1/N

fareler olmak üzere farklı iki türe ait örnekler TMPTA topikal olarak uygulanmıştır. Bu çalışmada uygulama bölgesinde tümör görülme sıklığında artış olmamasına karşın inflamasyon dahil olmak üzere çeşitli cilt deformasyonlarının (epidermal hiperplazi, hiperkeratozis, nekroz ve kronik inflamasyon) gözlemlendiği bildirilmiştir (Anonim, 2012). Bu nedenle son yıllarda, TMPTA'nın genotoksitesinin olası rolünün tespit edilmesinin bu tümörlerin etiyojisinin anlaşılmasında önemli bulgular içerebileceği belirtilmektedir (Kirkland ve Fowler, 2018).

Son yıllarda *Drosophila melanogaster* farklı moleküler ve genetik toksikoloji alanındaki çalışmalarda çeşitli avantajları nedeniyle uygun bir model organizma olarak kullanılmaktadır. Özellikle kısa yaşam döngüsüne sahip olması, kültüre alınmasının kolay olması ve üretilmesinin oldukça düşük masrafa neden olması ile kısa yaşam döngüsü nedeniyle çok sayıda nesli kısa sürede çalışma imkanı sunması ve insan DNA'sı ile yaklaşık %60, insan hastalıklarından (otizm, diyabet ve kanser gibi) sorumlu genetik materyallerin yaklaşık %75'nin *Drosophila*'da fonksiyonel bir homoloğa sahip olması sebepleri bu canlının ilgi çeken bir model olarak kullanılmasına neden olmuştur (Lloyd ve Taylor 2010; Ong ve ark., 2016).

Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART), *Drosophila*'da larval evrede kimyasal maruziyetinden sonra yetişkin (ergin) sineklerin somatik hücrelerindeki genetik hasar tetiklenmesini değerlendirmeyi amaçlayan *in vivo* hassas bir yöntemdir (Graf ve ark., 1984).

Comet testi, Östling ve Johanson (1984) tarafından tasarlandıktan ve daha sonra Singh ve arkadaşları (1988) tarafından modifiye edilmesinin ardından bugüne kadar çok faydalı bir genotoksitesite analizi haline gelmiştir (Speit ve Hartmann, 1999; Tice ve ark., 2000; Hartmann ve ark., 2003; Collins, 2004). Çeşitli ökaryotik canlılarda kullanılabilen bu yöntem, *Drosophila* hemositlerinde genotoksitesite ve antigenotoksitesitenin tespit edilmesi için son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Turna ve ark., 2014; Liman ve ark., 2020).

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde TMPTA'nın toksik ve genotoksik etkilerinin bir model organizma olan *D. melanogaster* kullanılarak yapılan bir çalışmanın olmadığı tespit edilmiştir. Bu bağlamda, yapılan bu çalışmada *D. melanogaster* kullanılarak TMPTA'nın toksik ve genotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaçlar kapsamında TMPTA'nın olası toksik etkileri canlılık testi ve fenotipik değişiklik tespiti ile değerlendirilirken, genotoksik etkileri hemosit hücrelerinde Comet Testi ve mutajenik, rekombinojenik etkileri ise SMART ile değerlendirilmiştir. TMPTA'nın olası toksik etkileri ve fenotipik değişiklik oluşturma potansiyelinin

tespiti ve genotoksitesite testlerinden olan Comet testi için yabancı tip Oregon-R⁺ hattı kullanılmış olup, TMPTA'nın olası mutajenik ve rekombinojenik etkilerinin değerlendirilmesi için uygulanan Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) için *mwh* ve *flr³* hatları kullanılmıştır.

MATERYAL ve METOD

Kullanılan *Drosophila* hatları, toksitesite ve kimyasal uygulamaları

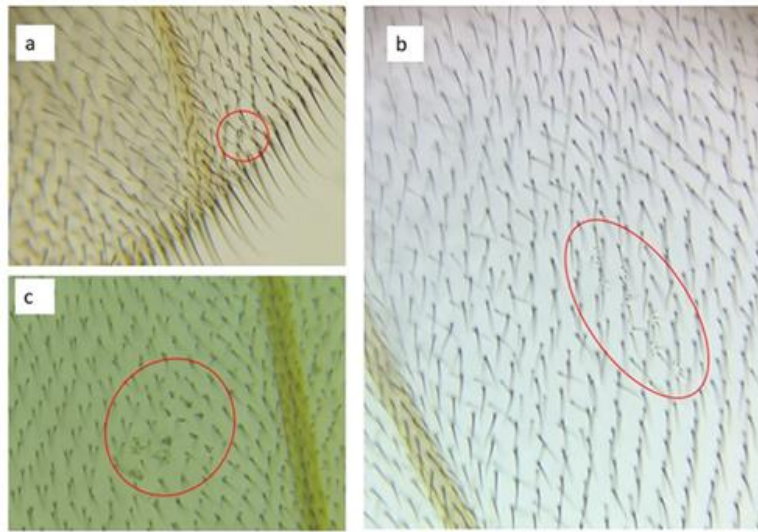
TMPTA'nın (Trimethylolpropane Triacrylate, Saflık: >%75.0, Cas Numarası: 15625-89-5, TCI Chemicals, UK) olası toksik etkileri ve fenotipik değişiklik oluşturma potansiyelinin tespiti ve genotoksitesite testlerinden olan Comet testi için yabancı tip Oregon-R⁺ hattı kullanılmış olup, TMPTA'nın olası mutajenik ve rekombinojenik etkilerinin değerlendirilmesi için uygulanan SMART için *mwh* (*mwh/mwh*) ve *flr³* (*flare-3* hatları *flr³* /In(3LR) TM3, Bds genetik yapısına sahiptir) hatları kullanılmıştır. SMART için kullanılan *mwh* ve *flr³* hatlarının genetik markörleri ve fenotipleri için daha detaylı bilgilere Lindsley ve Zimm (1992)'in yayınından ulaşılabilir. Çalışmalarda kullanılan *Drosophila* hatlarının kültürasyonu standart şartlarda (25±1 °C'de, ~ %60 nem) mısır unu, maya, agar, şeker ve asit (ortofosforik asit ve propiyonik asit) karışımından hazırlanan besi yerleri ile literatürde yer alan çalışmalarda detaylı anlatıldığı biçimde yapılmıştır (Demir ve ark., 2014; Turna ve ark., 2014). TMPTA'nın *D. melanogaster*'deki toksik etkileri canlılık testi ile değerlendirilmiştir. Yumurta verimliliği açısından 3-7 günlük bireyler tercih edilmiştir. Bu *Drosophila* bireyleri yeni bir besin şişesine alınarak 8 saat boyunca yumurta bırakmaları için bekletilmiş ve ardından bu bireyler uzaklaştırılmıştır. Oregon-R⁺ erkek ve dişi bireylerinden bahsedilen biçimde 8 saatlik yumurtalar toplanmış ve bu canlılar 72 ±4 saatlik olduklarında *Drosophila* hazır besi yeri (Carolina Biological Supply Co., Burlington, NC, USA) TMPTA'nın farklı konsantrasyonlarının 9 mL'si ile ıslatılmış ve ardından TMPTA konsantrasyonları çözücü kontrol olarak %0.5 Dimetilsülfoksit (DMSO) distile su ile hazırlanmış olup, her bir deney için negatif kontrol olarak çözücü kontrol (%0.5 DMSO) ve ayrıca distile su, *Drosophila* Comet testi için 4 mM, SMART için 1 mM Etil metan sülfonat (EMS) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. EMS, genotoksik etkileri literatürdeki mevcut çalışmalarda tespit edilmesi nedeniyle pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Turna ve ark., 2014; Demir ve Marcos, 2017). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde TMPTA'nın çözücüsü olarak DMSO kullanıldığı belirlenmiş olup (Willems, 1976; Cameron ve ark., 1991; Moore ve Doerr, 1990; Haddouk, 2005) %0.5 ve %0.3 DMSO'nun sırasıyla SMART (Demir ve ark., 2010) ve *Drosophila* Comet yönteminde

(Mukhopadhyay ve ark., 2004) çözücü kontrol olarak kullanılabilirdiği belirlenmiştir. Ergin bireylerdeki fenotipik değişiklik tespiti için her bir konsantrasyon için literatürdeki benzer çalışmalarda belirtildiği şekilde 50 birey kanat, toraks kılları ve göz yapıları açısından değerlendirilmiştir (Mishra ve ark., 2017). Tüm deneyler üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

Drosophila Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)

Bu test, kimyasal ajanlara maruz bırakılan Drosophila larvalarının somatik hücrelerindeki heterozigotluk kaybına dayanmaktadır (Graf ve ark., 1984). Transheterozigot bireyler elde etmek amacıyla, pupadan ergin evreye geçen döllenmemiş *flr³* dişi (her bir şişeye 40) ergin bireyleri *mwh* (her bir şişeye 40) erkek bireyler ile çaprazlanmıştır. Bu deney için döllenmemiş dişi bireylere ihtiyaç duyulduğundan 4 saatlik zaman dilimlerinde pupadan çıkan dişi *flr³* bireyler erkek bireylerden ayrılarak temiz bir besin şişesine alınmıştır. Deneyler için yeterli larva elde edilebilmesi için çaprazlanan bireylerden 8 saatlik yumurtalar taze besinlere bu bireyler koyularak toplanmıştır. Üç gün sonunda (72 ± 4 saat sonra) larvalar toplanmış ve bu larvalar daha önce toksik etki göstermediği tespit edilmiş olan TMPTA konsantrasyonları (0.5, 1, 2.5 ve 5 mM), çözücü

kontrol, distile su ve EMS (1 mM) konsantrasyonları ile ıslatılmış hazır besi yerlerine aktarılmıştır. Larvalar kimyasal uygulanmış bu besi yerleri ile pupa evresine geçinceye kadar beslenmiştir. Pupa evresinden sonra ergin evreye geçen bireyler toplanarak %70 etanol içeren tüplere aktararak 4°C'de buzdolabında saklanmıştır. Mikroskobik analiz için Faure solüsyonu içerisinde ergin bireylerin kanatları ince uçlu pens yardımıyla Stereo mikroskop altında kesilerek preparatlara yapıştırılmış ve tespit edilmiştir. Ardından ışık mikroskobu altında (400X büyütmede) üç tip klon sayılmıştır (Demir ve ark., 2011; Demir ve ark., 2014). Her bir konsantrasyon için 40 bireye ait 80 kanat değerlendirilmiştir. Mutant klonların sayımı esnasında göz önünde bulundurulmuş klonlar literatürde belirtildiği üzere; küçük tek tip klon, büyük tek tip klon ve ikiz klon olmak üzere üç tiptir (Graf ve ark., 1984). Bu sınıflandırmaya göre küçük tek tip klonlar; 1 veya 2 tane *mwh* hücrelerinden (Şekil 2a), büyük tek tip klonlar; 3 veya daha fazla *mwh* (Şekil 2b) ya da 4 veya daha fazla flare mutant hücrelerinden (Şekil 2c), ikiz klonlar ise *mwh* ve *flr* hücrelerinin aynı klon içerisinde beraber bulunduğu klonlardan oluşmaktadır. Bahsi geçen klonların bazılarında ait mikroskobik görüntüler Şekil 2'de gösterilmiştir.

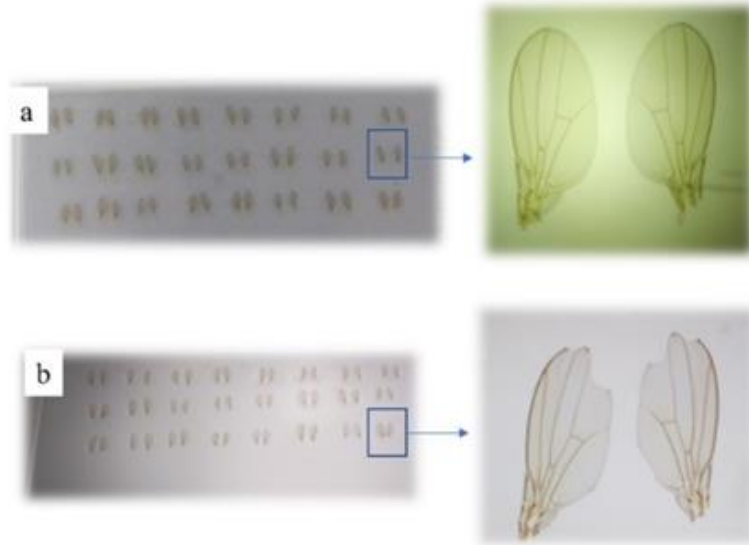


Şekil 2. Mutant klonların mikroskop görüntüleri a) Küçük tek tip klon (*mwh* 1-2)
b) Büyük tek tip *mwh* klon (*mwh* >2) c) Büyük tek tip *flr³* klon (*flr³* > 4) (Orijinal)

Figure 2. Microscopic views of mutant clones a) small single spot (*mwh* 1-2)
b) large single spot *mwh* clone (*mwh* >2) c) large single spot *flr³* clone (*flr³* > 4) (Original)

Bahsi geçen *flr³* geni homozigot durumda embriyolarda ölümcül (letal etki) gösterdiği için bu etkiden bireylerin korunması amacıyla TM3 dengeleyici kromozomu kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra dengeleyici kromozom rekombinasyonu baskılamak suretiyle mutasyon ve rekombinasyonun birbirinden ayırt edilebilmesine olanak sağlamaktadır (Graf ve ark., 1984; Graf ve ark.,

1992). Normal fenotipe sahip kanatlar incelendiğinde bu kanatların kenarları düzgün bir yapıya sahipken (Şekil 3a), *Bd^S* (Beaded Serrat) genini taşıyan bireylerin kanatları incelendiğinde bu bireylerin kanat kenarlarının düzgün olmadığı (Şekil 3b) gözlenmektedir. Normal kanat ve serrat kanat fenotiplerinin ışık mikroskobu altındaki görüntüleri Şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Hazırlanan kanat preparatları ve kanat fenotiplerinin görüntüsü a) Normal Kanat b) Serrat Kanat (Orijinal)
Figure 3. Image of prepared wing slides and wing phenotypes a) Normal wing b) Serrate wing (Original)

Homozigot halde letal etki gösteren dominant Bd^S geni, $TM3$ dengeleyici kromozomunun üzerinde yer alır ve böylelikle $TM3$ dengeleyici kromozomuna sahip bireyler kanat fenotiplerinin incelenmesiyle diğer bireylerden kolaylıkla ayrılabilir (Graf ve ark., 1984; Graf ve ark., 1992). Ayrıca $TM3$ dengeleyici kromozomu rekombinasyonların baskılanması açısından önem taşımaktadır (Graf ve ark., 1984; Graf ve ark., 1992). Rekombinasyonun dengeleyici kromozomun ($TM3$) tarafından baskılanması sebebiyle serrat kanat fenotipi gösteren bireylerde tespit edilen mutant klonlar yalnızca mutasyon sonucu meydana gelmektedir. Bu nedenle serrat kanat fenotipine sahip bireylerden elde edilen sonuçlar ile normal kanat fenotipine sahip bireylerden elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak etkisi saptanmaya çalışılan kimyasalın mutajenik ve/veya rekombinojenik etkileri tespit edilebilmektedir (Frei ve ark., 1985; Vogel, 1992; Gonzales-Cezar ve Ramos-Morales, 1997; Demir ve ark., 2013).

Drosophila Hemositlerinde Comet Testi

Drosophila hemosit hücrelerindeki DNA hasarının tespit edilmesi için Comet testi uygulanmıştır. Bu amaçla literatürde Drosophila hemositlerinde Comet testi protokolü (Demir ve ark., 2014; Turna ve ark., 2014) takip edilmiştir. Oregon-R+ hattı 72 ± 4 saatlik larvalar toplanmıştır ve ardından bu larvalar çalışmadaki kimyasal konsantrasyonları, çözücü kontrol ve distile su ile uygulanan hazır besi yeri ile 24 ± 2 saat beslenmiştir. Bu sürenin sonunda larvalar musluk suyu altından nazikçe toplanmıştır ve stereo mikroskop altında hemosit izolasyonu Carmona ve arkadaşları (2011) tarafından belirtilen basamaklar izlenerek tamamlanmıştır. Hemolenfteki hemositler, stereo mikroskop altında larvaların kütükülleri ince

uçlu pensler ile kaldırılarak %0.07 Feniltiyöre içeren soğuk Fosfat Tamponu içerisine aktarılmıştır ve ardından mikrosantrifüj tüplerine alınarak santrifüj (300 g, 10 dakika) edilmiştir. Süpernatant atılmış ve pelet $20 \mu\text{L}$ soğuk Fosfat Tampon Solusyonu (PBS) içinde yeniden süspanse edilmiştir. Hemosit izolasyonundan sonra tripan mavisi kullanılarak canlılık değerlendirilmesi yapılmıştır (Pool-Zobel ve ark. 1993). Comet testi uygulamaları yapılmadan önce izole edilen hücrelerde canlılığın kontrol edilmesi ve kimyasal uygulamasının akabinde izole edilen hücrelerdeki canlılık sonuçlarının canlı hayvan deneylerindeki hedef doku ve hücreler için %70-80'in altında olması durumunun "aşırılık" belirttiği literatürdeki çalışmalarda belirtilmektedir (Henderson, 1998; Tice ve ark., 2000; Azqueta ve Collins, 2013). Tüm konsantrasyonlarda tripan mavisi ile yapılan canlılık testi sonuçlarının %70'in üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Hemosit izolasyon basamağının ardından Comet yöntemi uygulamaları Singh ve arkadaşları (1988) tarafından belirtilen basamaklar takip edilerek Demir ve arkadaşlarının (2014) detaylandığı şekilde uygulanmıştır. Bu basamaklar kısaca şöyledir: $20 \mu\text{L}$ hemosit örneği $140 \mu\text{L}$ %0.75'lik düşük erime sıcaklığına sahip agaroz ile karıştırılarak, daha önceden %1'lik normal erime sıcaklığına sahip agaroz ile kaplanmış preparata yayılmış ve üzeri lamelle kapatılarak 10 dakika $+4^\circ\text{C}$ 'de bekletilmiştir. Süre bitiminde lameller kaldırılmış ve preparatlar taze hazırlanmış DMSO içermeyen soğuk lizis (2.5 M NaCl, 100 mM Na_2EDTA , 10 mM Tris, %1 Triton X-100 ve %1 N-lauroylsarcosinate, pH 10) solüsyonunda $+4^\circ\text{C}$ 'de 2 saat ışık almayacak biçimde bekletilmiştir. Ardından takip edilen tüm basamaklar ek genetik hasar oluşmaması için loş ışık altında gerçekleştirilmiştir. DMSO izole edilen Drosophila hücreleri lizis

basamağı için sitotoksik etki gösterebilme potansiyeli nedeniyle, bu olası etkiden kaçınılması amacıyla lizis solüsyonu hazırlanırken kullanılmamıştır (Mukhopadhyay ve ark., 2004; Siddique ve ark., 2005). Preparatlar soğuk elektroforez tamponu (1 mM Na₂EDTA ve 300 mM NaOH, pH >13) içeren yatay elektroforez tankına yerleştirilmiştir ve DNA açılma-çözme işlemi için 25 dakika bekletilmiştir. Elektroforez işlemi aynı tampon çözelti içerisinde güç kaynağı 25 V ve 300 mA olarak ayarlanarak 20 dakika boyunca çalıştırılmıştır. Elektroforez basamağından sonra preparatlar nötralizasyon tamponu (0.4 M Tris, pH 7.5) içerisinde 5'er dakika 3 kez bekletilmiştir. DNA hasarını floresans mikroskop altında tespit etmek amacıyla Etidyüm Bromür (EtBr) solüsyonu (60 µg mL⁻¹) ile boyama yapıp 10 dakika bekletilmiştir ve ardından görüntüler floresans mikroskopta 400X büyütmede elde edilmiştir. Hemositlerdeki DNA hasarının skorlanması için CaspLab Yazılımı kullanılmış ve yüzde olarak kuyruk DNA (% DNA kuyruk yoğunluğu) parametresi değerlendirilmiştir. Bu parametre Comet testinde yaygın olarak önerilen ve kullanılan bir parametredir (Kumaravel ve Jha, 2006). Her bir konsantrasyon için 100 hemosit seçilmiş ve değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Analizler

Comet testinin istatistiksel analizi için SPSS 20 (SPSS, Chicago, IL) kullanılmış ve t-testi uygulanmıştır. SMART için ise MICROSTA Paket Programı kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık değeri olarak p<0.05 alınmıştır. Tüm yöntemlerde, istatistiksel açıdan değerlendirmeler yapılırken TMPTA'nın uygulama konsantrasyonlarından (0.5, 1, 2.5 ve 5 mM) elde edilen sonuçlar çözücü kontrol ile karşılaştırılmış olup, çözücü kontrol ise distile su ile karşılaştırılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

TMPTA'nın toksik konsantrasyonlarının tespiti amacıyla, TMPTA'nın 0.5, 1, 2.5, 5 ve 10 mM konsantrasyonlarına maruz bırakılan Oregon-R+ yabanıl tip 3. evre (72±4 saat) *D. melanogaster* larvalarının gelişerek ergin birey oluşturma (canlılık) yüzdeleri %70'in üzerinde olan konsantrasyonlar (0.5, 1, 2.5 ve 5 mM) tespit edilmiş olup bu konsantrasyonlar SMART ve Comet testi ile fenotipik değişiklik tespiti için uygulanmıştır. Yapılan bu çalışmanın sonuçlarına göre TMPTA'nın 0.5, 1, 2.5 ve 5 mM konsantrasyonlarının *D. melanogaster* ergin fenotipinde kanat, toraks kılları ve göz yapısı açısından herhangi bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir. Fakat, SMART ve Comet testlerinin sonuçları göz önünde bulundurulduğuna her iki test için de sırasıyla mutajenik etkinin (Çizelge 1) ve DNA hasarının tetiklendiği gözlenmiştir (Şekil 4).

Drosophila SMART testinden elde edilen sonuçlar Çizelge 1'de gösterilmiştir. TMPTA'nın hem normal kanat fenotipine sahip bireylerden elde edilen hem de serrat kanat (*mwh/TM3*) fenotipine sahip bireylerden elde edilen kanatlarda uygulanan TMPTA derişimlerinde (0.5, 1, 2.5 ve 5 mM) ikiz klon gözlenmemiş olup, büyük tek tip, küçük tek tip, toplam *mwh* klonlar ve toplam klonlarda istatistiksel anlamda önemli pozitif sonuçlar elde edilmiştir (Çizelge 1).

Bu bağlamda, uygulanan konsantrasyonların hepsinin *Drosophila* SMART yönteminde mutajenik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca pozitif kontrol olarak kullanılan EMS (1 mM) güçlü rekombinojenik ve mutajenik etkisi ile tüm klon tiplerinde pozitif sonuç göstermiştir. *Drosophila* Comet testinden elde edilen sonuçlar Şekil 4'te gösterilmiştir.

Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde hesaplanmıştır. Pozitif kontrol olarak 4 mM EMS, çözücü kontrol olarak %0.5 DMSO uygulanmıştır. TMPTA konsantrasyonları ve pozitif kontrol çözücü kontrol ile, çözücü kontrol distile su ile karşılaştırılmış ve t testi uygulanmıştır (*= p<0.001; **= p<0.001; ***= p<0.001).

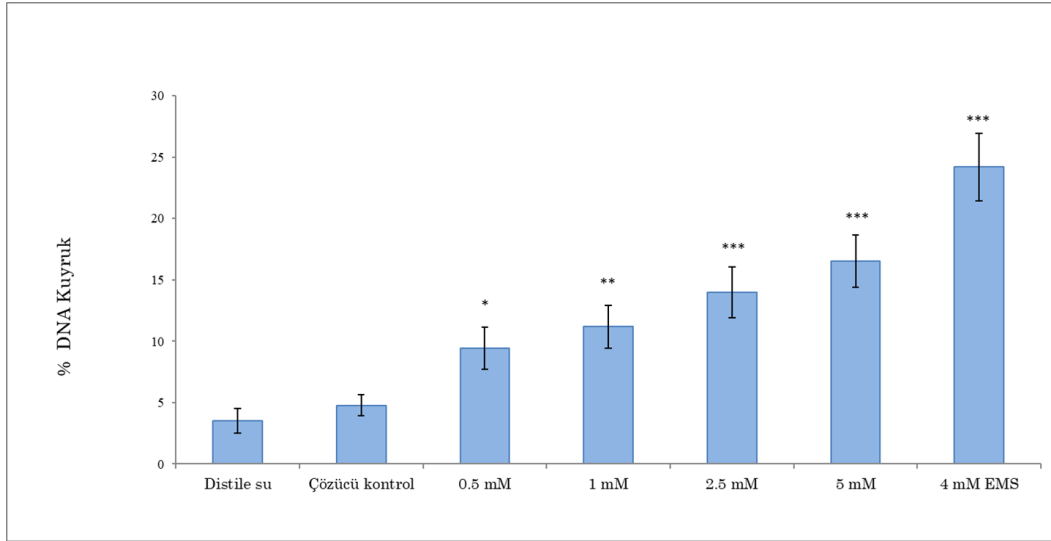
Gerçekleştirilen istatistiksel analizler sonucunda, TMPTA konsantrasyonlarının (0.5, 1, 2.5 ve 5 mM) *Drosophila* hemositlerinde % kuyruk yoğunluğu parametresi açısından çözücü kontrol ile istatistiksel açıdan (p<0.05) önemli fark olduğu ve konsantrasyona bağlı bir biçimde DNA hasarı oluşumunu arttırdığı tespit edilmiştir. Çözücü kontrol (%0.5 DMSO)'un distile su ile karşılaştırılması sonucu çözücü kontrol ile distile su arasında istatistiksel bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Literatürdeki *in vitro* çalışmaların sonuçları incelendiğinde, TMPTA'nın bakteriyel mutasyon testi Ames testi ile mutajenitesi hakkında farklı araştırmacılar tarafından yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur (Ames ve ark., 1975; Gelbk, 1989; Cameron ve ark., 1991; Anonim, 2018; Anonim, 2021). Bu çalışmaların sonuçları göz önünde alındığında çoğunlukla TMPTA'nın çalışılan suşlarda ve konsantrasyonlarda mutajenite oluşturma bakımında negatif (Anonim, 2018) ve bazı suşlarda ve konsantrasyonlarda ise zayıf pozitif etkiler (Gelbk, 1989) gösterdiği tespit edilmiştir. Memeli hücre kültürü mutajenite testlerinden biri olan Fare Lenfoma testinde (Mouse Lymphoma Assay-MLA) testi kullanılarak TMPTA'nın mutajenik etkileri farklı araştırmacılar tarafından araştırılmış (Myhr, 1979; Dearfield ve ark., 1989; Moore ve ark., 1989; Cameron, ve ark., 1991) ve sonuç olarak *tk* mutasyon sonuçları elde edilmiştir. Moore ve arkadaşları (1989) tarafından yapılan çalışmada, fare lenfoma hücrelerinde TMPTA uygulamasının MLA'da küçük koloni *tk* mutantlarının sıklığının kontrole göre

Çizelge 1. *Drosophila* SMART testinde TMPTA'nın genotoksik (mutajenik) etkisi
 Table 1. Genotoxic (mutagenic) effect of TMPTA in the *Drosophila* SMART test

TMPTA (mM)	Kanat sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 cells) (m=2)			Büyük tek tip klonlar (> 2 cells) (m=5)			İkiz klonlar (m=5)			Toplam <i>mwh</i> klonları (m=2)			Toplam klonlar (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (10 ⁵ hücre)
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Marker heterozigot kanatlar (<i>mwh/flr</i> ³) - Normal Kanat																	
Distile Su	80	9	(0.11)		2	(0.03)		0	(0.00)		11	(0.14)		11	(0.14)		0.56
Çözücü Kontrol	80	11	(0.14)	i	2	(0.03)	i	0	(0.00)	i	13	(0.16)	i	13	(0.16)	i	0.67
1 mM EMS	80	59	(0.74)	+	71	(0.89)	+	8	(0.10)	+	118	(1.48)	+	138	(1.73)	+	6.05
0.5	80	34	(0.43)	+	9	(0.11)	+	0	(0.00)	i	43	(0.54)	+	43	(0.54)	+	2.20
1	80	38	(0.48)	+	16	(0.20)	+	0	(0.00)	i	54	(0.68)	+	54	(0.68)	+	2.77
2.5	80	49	(0.61)	+	20	(0.25)	+	0	(0.00)	i	65	(0.81)	+	69	(0.86)	+	3.33
5	80	42	(0.53)	+	21	(0.26)	+	0	(0.00)	i	62	(0.78)	+	63	(0.79)	+	3.18
Balancer (Dengeleyici) heterozigot kanat (<i>mwh/TM3</i>) - Serrat Kanat																	
Distile Su	80	12	(0.15)		2	(0.03)					14	(0.18)		14	(0.18)		0.72
Çözücü Kontrol	80	15	(0.19)	i	4	(0.05)	i				19	(0.24)	i	19	(0.24)	i	0.97
1 mM EMS	80	78	(0.98)	+	43	(0.54)	+				121	(1.51)	+	121	(1.51)	+	6.20
0.5	80	88	(1.10)	+	16	(0.20)	+				104	(1.30)	+	104	(1.30)	+	5.33
1	80	77	(0.96)	+	21	(0.26)	+				98	(1.23)	+	98	(1.23)	+	5.02
2.5	80	96	(1.20)	+	15	(0.19)	+				111	(1.39)	+	111	(1.39)	+	5.69
5	80	89	(1.11)	+	34	(0.43)	+				121	(1.51)	+	123	(1.54)	+	6.20

No: değerlendirilen kanat sayısı; Fr: frekans; D: istatistik sonuçlarının gösterimi (Frei ve Würglers 1988): +: pozitif; -: negatif; i: önemsiz fark; m: çarpım faktörü; olasılık düzeyi: 0.05.



Şekil 4. Comet testinde TMPTA maruziyet sonuçları
Figure 4. TMPTA exposure results in the Comet test

anlamli olarak arttiğı ve ayrıca hem Çin hamster yumurtalık hücrelerinde (Chinese hamster ovary cell-CHO) hem de fare lenfoma hücrelerinde kromozom aberasyonunu arttiğı gösterilmiştir ve bu sonuçların klastojenik etki ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. TMPTA'nın klastojenik potansiyeli L5178Y fare lenfoma hücreleri ve insan lenfositleri kullanılarak yapılan kromozom aberasyon testlerinden ve L5178Y hücreleri kullanılarak yapılan mikronükleus (MN) testlerinden elde edilen pozitif sonuçlar ile doğrulanmıştır (Dearfield ve ark., 1989; Haddouk, 2005). TMPTA'nın genotoksik etkilerinin değerlendirildiği bir derlemede literatürdeki çalışmalar özetlenmiştir (Kirkland ve Fowler, 2018).

Literatürde yer alan çalışmalarda TMPTA'nın *in vivo* klastojenitesi, farelerde kemik iliği ve periferel kan örneklerinde MN çalışmaları ile araştırılmıştır (Haddouk, 2006; Anonim, 2012). Ayrıca, 3 ve 6 ay boyunca B6C3F1 or Tg.AC hemizigos farelerde yapılan cilt maruziyeti (cilt boyama) çalışmalarında, uygulama bölgesinde tahriş ve iltihaplanmaya neden olan dozlarda TMPTA'nın MN'li eritrositlerin sıklığında artışa neden olmadığı gözlenmiştir (Anonim, 2012). Bunun yanı sıra oral yoldan TMPTA uygulanan farelerde kemik iliği polikromotik eritrositlerinde MN artışı olmamıştır (Haddouk, 2006). İntravenöz TMPTA uygulanan CD-1 farelerde kemik iliği ve karaciğer örneklerinde Comet testi gerçekleştirilmiştir (Keig-Shevlin, 2017). Yapılan deneylerin birinde düşük ve orta dozlarda kemik iliğinde Comet kuyruk yoğunluğunda önemli artışlar görülmesine rağmen, diğer deneyde sonuçlar benzer dozlarda tekrarlanmamıştır ve karaciğerde Comet kuyruk yoğunluğunda artış gözlenmemiştir (Keig-Shevlin, 2017). Literatürde TMPTA'nın *in vitro* düşük

konsantrasyonlarda klastojenik etki gösterdiği halde *in vivo* olarak çok daha yüksek konsantrasyonlarda DNA zincir kırılmalarını tetikleyememesinin nedenini açık olmadığı ve bu hususun açıklanmasında maruz kalma süresinin kritik bir faktör olabileceği belirtilmiştir (Kirkland ve Fowler, 2018). *In vitro* çalışmalarda durağan 34 saatlik TMPTA uygulamalarının DNA hasarı ve kromozom kırıklarının tetiklenmesi için yeterli olduğu fakat bu sonuçların oluşması için dinamik *in vivo* maruziyetlerin yeterli olmadığı belirtilmiştir. Bunun en önemli bir diğer nedeni olarak da memeli sağlıklı dokulardaki doğal antioksidan ve detoksifikasyon yeteneklerinin, sitotoksikite ve DNA hasarına karşı hücreleri korumada *in vitro* kültürlenmiş hücrelere göre daha etkili olabilmesi gösterilmektedir (Kirkland ve Fowler, 2018). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, bu çalışmanın sonuçları ile uyumlu bir şekilde TMPTA'nın insan lenfositlerinde ve Çin hamster yumurtalı hücrelerinde (CHO) kromozom anomalilerini ve muhtemel olarak L5178Y fare lenfoma hücrelerinde bir klastojenik etki yolu ile mutajenik yanıtları tetiklediği gösterilmiştir (Dearfield ve ark., 1989; Haddouk, 2005; Anses, 2019). Yapılan bu çalışmanın SMART sonuçları TMPTA uygulamasının *D. melanogaster*'de mutajenik etkilere neden olduğunu göstermiştir. TMPTA'nın genotoksik ve mutajenik potansiyelinin değerlendirilmesinde göz önünde bulundurulacak bir diğer husus deneylerde kullanılan çözücüdür. TMPTA'nın çözücü kontrolü olarak sırasıyla DMSO ve Polietilenglikol 400 (PEG-400) kullanılarak yapılan bir *in vitro* çalışmada, PEG-400'de çözünen TMPTA uygulaması sonuçlarının DMSO'da çözünen TMPTA uygulamasına göre 4 kat daha az genotoksik olduğu tespit edilmiştir (Hegarat ve ark., 2020).

Özellikle *in vivo* çalışmalarda çözücülerin sadece kimyasal bileşiğin kendisini modifiye etmesinin yanı sıra aynı zamanda kimyasal bileşiğin toksikokinetiğini ve dolayısıyla toksisitesini de etkileyebilme potansiyeli olduğu belirtilmektedir. Çözücü madde antioksidan ve anti-enflamatuvar özellik göstererek kimyasalın tetiklediği biyolojik yanıtı engelleyebilme potansiyeline sahiptir. Örneğin PEG-400 ilaç formülasyonlarında kullanılan ve etken maddelerin gastrointestinal emilimlerini etkileyen inaktif yapıda bir bileşiktir (Ma ve ark., 2017).

SONUÇ

Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar literatür ile karşılaştırıldığında, çeşitli *in vitro* çalışmalarda tetiklenen mutajenik ve genotoksik etki ile benzer şekilde *D. melanogaster*'de mutajenik ve genotoksik etkiler gözlenmiştir. Yapılan bu *in vivo* SMART çalışmasında deneysel maruziyet modeli göz önünde bulundurulduğunda bu maruziyet tipinin Graf (1995)'in belirtmiş olduğu üzere larvalarda akut değil kronik maruziyet biçimi olduğu bilinmektedir. Bu bağlamda, literatürdeki *in vivo* çalışmalarda maruziyet biçimlerindeki ve canlı türündeki farklılıklardan kaynaklı olarak hem genotoksik etki gözlenen hem de gözlenmeyen sonuçlar görülmüş ve bu çalışmada *Drosophila* SMART ile elde edilen sonucun açıklanmasında kronik bir maruziyetin söz konusu olması nedeniyle maruz kalma süresinin kritik bir faktör olabileceği düşünülmektedir.

İlerleyen çalışmalarda, mekanistik açıdan değerlendirmeler ile TMPTA'nın olası genotoksik ve mutajenik etkilerinin farklı test sistemleri ve canlı türleri ile incelenerek aydınlatılması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca son yıllarda TMPTA'nın nanoteknolojik yöntemlerle modifikasyonunu ve farklı formlarının biyomedikal malzemelerin üretimlerini konu alan çalışmaların (Forghani ve ark., 2018) olması nedeniyle, üretilen bu modifiye ürünlerin olası biyolojik etkilerinin değerlendirilmesi önem taşıyacaktır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Araştırmanın tasarımı, verilerin toplanması, kaynakların araştırılması, analizlerin yapılması ve makalenin yazımı makale yazarı tarafından yapılmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarı herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

Ames BN, McCann J, Yamasaki E 1975. Methods For Detecting Carcinogens and Mutagens With The

Salmonella/mammalian-microsome Mutagenicity Test. *Mutat Res* 31: 347-364.

Anonim 2005. NTP report (GMM 3) On The Toxicology Studies of Trimethylolpropane Triacrylate (Technical grade) in F344/N Rats, B6C3F1 Mice And Genetically Modified (FVB Tg. AC hemizygous) Mice (Dermal studies), US National Toxicology Program, P.O. Box 12233, Research Triangle Park, NC 27709, October, 2005, https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/gmm_rpts/gmm3.pdf.

Anonim 2012. NTP Technical Report (TR-576) On The Toxicology And Carcinogenesis Studies Of Trimethylolpropane Triacrylate (Technical grade) In F344/N Rats And B6C3F1/N Mice (Dermal studies), US National Toxicology Program, P.O. Box 12233, Research Triangle Park, NC 27709, December 2012.

Anonim 2018. Willems MI 2018. Evaluation Of TMPTA, PETA and PEGDA in The Salmonella/microsome Mutagenicity Test, Report No. R5144, TNO Laboratories, Zeist, The Netherlands, 2018 (September 1976).

Anonim 2021. NTP. https://manticore.niehs.nih.gov/cebssearch/test_article/15625-89-5.

Anses 2019. Substance Evaluation Conclusion Document For 2-ethyl-2-[[[(1-oxoallyl) oxy] methyl]-1,3-propanediyl Diacrylate (Trimethylolpropane triacrylate), EC No 239- 701-3, CAS No 15625-89-5. In: Evaluating Member State(s): France.

Azqueta A, Collins AR 2013. The Essential Comet Assay: A Comprehensive Guide to Measuring DNA Damage and Repair. *Arch Toxicol* 87(6): 949-968.

Collins AR 2004. The Comet Assay for DNA Damage and Repair. Principles, Applications, and Limitations. *Mol Biotechnol* 26: 249-261.

Cameron TP, Rogers-Back AM, Lawlor TE, Harbell JW, Seifried HE, Dunkel VC 1991. Genotoxicity of multifunctional acrylates in the Salmonella/mammalian-Microsome Assay and Mouse Lymphoma TK+/-assay. *Environ Mol Mutagen* 17: 264-271.

Carmona ER, Creus A, Marcos R 2011. Genotoxic Effects of Two Nickel-Compounds in Somatic Cells of *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res* 718: 33-37.

Dearfield KL, Millis CS, Harrington-Brock K, Doerr CL, Moore MM 1989. Analysis Of The Genotoxicity Of Nine Acrylate/methacrylate Compounds In L5178Y Mouse Lymphoma Cells. *Mutagenesis* 4: 381-393.

Demir E, Kocaoğlu S, Kaya B 2010. Antigenotoxic Properties of Chlorophyllin and Chlorophylls in The *Drosophila* Wing Spot Test. *Fresen Environ Bull* 19(12): 3131-3138.

Demir E, Marcos R 2017. Assessing The Genotoxic Effects of Two Lipid Peroxidation Products (4-oxo-2-nonenal and 4-hydroxy-hexenal) in Haemocytes

- and Midgut Cells of *Drosophila melanogaster* Larvae. *Food Chem Toxicol* 105: 1-7.
- Demir E, Turna F, Kaya B, Creus A, Marcos R. 2013. Mutagenic/recombinogenic effects of four lipid peroxidation products in *Drosophila*. *Food Chem Toxicol* 53: 221-227.
- Demir E, Turna F, Aksakal S, Kaya B, Marcos R 2014. Genotoxicity of Different Sweeteners in *Drosophila*. *Fresenius Environmental Bulletin* 23 (12c): 3426-3432.
- Demir E, Vales G, Kaya B, Creus A, Marcos R 2011. Genotoxic Analysis of Silver Nanoparticles in *Drosophila*. *Nanotoxicology* 5: 417-424.
- Feron ER, Vogelstein B 1996. A Genetic Model For Colorectal Tumour Genesis. *Cell* 62: 759-767.
- Forghani A, Garber L, Chen C, Tavangarian F, Tighe TB, Devireddy R, Pojman JA, Hayes D. 2018. Fabrication and characterization of thiol-triacrylate polymer via Michael addition reaction for biomedical applications. *Biomed Mater* 14(1): 015001.
- Frei H, Würgler FE, Juon, Hall CB, Graf U 1985. Aristolochic Acid is Mutagenic and Recombinogenic in *Drosophila* Genotoxicity Tests. *Arc Toxicol* 56: 158-166.
- Frei H, Würgler FE 1995. Optimal Experimental Design and Sample Size for The Statistical Evaluation of Data From Somatic Mutation And Recombination Test (SMART) In *Drosophila*. *Mutat Res* 334: 247-258.
- Gelbk H-P 1989. Report on the Study of Trimethylolpropanetriacrylat (ZST Test Substance No.: 88/998) In The Ames Test, Project No.: 40M0998/884398, BASF AG, Department of Toxicology, Z 470, 6700 Ludwigshafen/Rh., Federal Republic of Germany, February 1989.
- Gonzales-Cesar E, Ramos-Morales P 1997. Sodium Azide Induces Mitotic Recombination in *Drosophila melanogaster*. *Mutat Res* 389 (2 3):157-165.
- Graf U 1995. Analysis Of The Relationship etween Age Of Larvae At Mutagen Treatment and Frequency and Size of Spots for The Wing Somatic Mutation and Recombination Test n *Drosophila melanogaster*. *Experimentia* 51: 168-117.
- Graf U, Van Schaik N, Würgler FE 1992. Mutation Genetics. *Drosophila Genetics A pratical Course*, Springer, New York, 239 sy.
- Graf U, Würgler FE, Katz AJ, Frei H, Juan H, Hall CB, Kale PG 1984. Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*. *Environ Mutagen* 6: 153-188.
- Haddouk H 2005. Trimethylolpropane Triacrylate. In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test in Cultured Human Lymphocytes. Study number 28205 MLH. CIT Laboratories, BP 563, 27005 Evreux, France, December 2005.
- Haddouk H 2006. Trimethylolpropane triacrylate. Bone marrow micronucleus test by oral route in mice. Study number 29406 MAS. CIT Laboratories, BP 563, 27005 Evreux, France, June 2006.
- Hartmann A, Agurell E, Beevers C, Brendler-Schwaab S, Burlinson B, Clay P, Collins A, Smith A, Speit G, Thybaud V, Tice RR 2003. Recommendations for Conducting The In Vivo Alkaline Comet Assay. *Mutagenesis* 18: 45-51.
- Hayashi, Y. (1992). Overview of genotoxic carcinogens and non-genotoxic carcinogens. *Exp Toxicol Pathol* 44(8): 465-471.
- Hegarat LL, Huet S, Pasquier E, Charles S 2020. Impact of Solvents on The in vitro Genotoxicity o TMPTA in Human HepG2 Cells. *Toxicol In Vitro* 69: 105003.
- Henderson L, Wolfreys A, Fedyk J, Bourner C, Windebank S 1998. The Ability of The Comet Assay To Discriminate Between Genotoxins and Cytotoxins. *Mutagen* 13: 89-94.
- Karunarathne A, Bhalla A, Sethi A, Perera U, Eddleston M 2021. Importance of pesticides for lethal poisoning in India during 1999 to 2018: a systematic review. *BMC Public Health* 21(1): 1-13.
- Keig-Shevlin Z 2017. TMPTA. Mouse alkaline comet assay. Study number 8354612, Covance Laboratories Ltd., Harrogate, UK, October 2017.
- Kirkland D, Fowler P 2018. A Review of The Genotoxicity of Trimethylolpropane triacrylate (TMPTA). *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 828: 36-45.
- Kirkland D, Speit G 2008. Evaluation Of The Ability Of A Battery of Three in vitro Genotoxicity Tests to Discriminate Rodent Carcinogens and Non-carcinogens: III. Appropriate Follow-up Testing in vivo. *Mutat Res Gen Tox En* is 654 (2): 114-132.
- Konduracka E. 2019. A link between environmental pollution and civilization disorders: a mini review. *Rev Environ Health* 34(3): 227-233
- Kumaravel TS, Jha AN 2006. Reliable Comet Assay Measurements for Detecting DNA Damage Induced by Ionising Radiation And Chemicals. *Mutat Res Gen Tox En* 605(1-2): 7-16.
- Liman R, Kursunlu AN, Çiğerci İH, Özmen M, Acikbas Y 2020. Assessment of the Cytotoxic and Genotoxic Potential of Pillar [5] Arene Derivatives by *Allium cepa* Roots and *Drosophila melanogaster* Haemocytes. *Ecotoxicol Environ Saf* 192: 110328.
- Lindsley DL, Zimm GG 1992. The Genome of *Drosophila melanogaster*. Academic Press, San Diego, 1133 sy.
- Lloyd TE, Taylor JP 2010. Flightless Flies: *Drosophila* Models of Neuromuscular Disease. *Ann N Y Acad Sci* 1184: E1-20.
- Ma BL, Yang Y, Dai Y, Li Q, Lin G, Ma YM 2017. Polyethylene Glycol 400 (PEG400) Affects the Systemic Exposure of Oral Drugs Based on

- Multiple Mechanisms: taking Berberine as an Example. RSC advances, 7(5), 2435-2442.
- Mishra M, Sabat D, Ekk, B, Sahu S, Unnikannan P, Dash, P 2017. Oral Intake of Zirconia Nanoparticle Alters Neuronal Development and Behaviour of *Drosophila melanogaster*. J Nanopart Res 19(8): 1-12.
- Moore MM, Doerr CL 1990. Comparison of Chromosome Aberration Frequency and small-colony TK-deficient Mutant Frequency in L5178Y/TK+/-3.7.2C Mouse Lymphoma Cells. Mutagenesis 5: 609-614.
- Moore MM, Harrington-Brock K, Doerr CL, Dearfield KL 1989. Differential Mutant Quantitation at The Mouse Lymphoma tk And CHO Hgprr loci. Mutagenesis 4: 394-403.
- Mukhopadhyay I, Chowdhuri DK, Bajpayee M, Dhawan A 2004. Evaluation Of In Vivo Genotoxicity of Cypermethrin in *Drosophila melanogaster* Using The Alkaline Comet Assay. Mutagenesis 19(2):85-90.
- Myhr B 1979. Mutagenicity Evaluation Of Trimethylolpropane Triacrylate In The Mouse Lymphoma Forward Mutation Assay, LBI Project No. 20989, Litton Bionetics Inc., 5516 Nicholson Lane, Kensington, Maryland, USA, January 1979.
- Naidu R, Biswas B, Willett IR, Cribb J, Singh BK, Nathanail CP, Coulon F, Semple KT, Jones KC, Barclay A, Aitken RJ 2021. Chemical pollution: A growing peril and potential catastrophic risk to humanity. Environ Int 156: 106616.
- Ong C, Lee Q Y, Cai Y, Liu X, Ding J, Yung L-Y L, Bay B-H, Baeg G-H 2016. Silver Nanoparticles Disrupt Germline Stem Cell Maintenance in The *Drosophila* Testis. Sci Rep 6: 20632.
- Östling O, Johanson KJ 1984. Microelectrophoretic Study Of Radiation- induced DNA Damages in Individual Mammalian Cells. Biochem Biophys Res Commun 123: 291-298.
- Parry JM, Parry EM 2012. Genetic Toxicology Principles and Methods. Springer, New York, 433 sy.
- Pool-Zobel BL, Guigas C, Klein R, Neudecker CH, Renner HW, Schmezer P 1993. Assessment of Genotoxic Effects By Lindane. Food Chem Tox 31(4): 271-283.
- Singh NP, McCoy MT, Tice RR Schneider EL 1988. A Simple Technique For Quantitation of Low Levels of DNA Damage in Individual Cells. Exp Cell Res 175: 184-191.
- Siddique HR, Chowdhuri DK, Saxena D, Dhawan, A 2005. Validation Of *Drosophila melanogaster* As an in vivo Model for Genotoxicity Assessment Using Modified Alkaline Comet Assay. Mutagenesis 20: 285-290.
- Speit G, Hartmann A 1999. The Comet Assay (Single Cell Gel Test). A Sensitive Genotoxicity Test for The Detection of DNA Damage And Repair. Methods Mol Biol 113: 203-212.
- Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu JC, Sasaki, YF 2000. Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines For in vitro and in vivo Genetic Toxicology Testing. Environ Mol Mutagen 35(3): 206-221.
- Turna Demir F, Yavuz M. 2020. Heavy metal accumulation and genotoxic effects in levant vole (*Microtus guentheri*) collected from contaminated areas due to mining activities. Environ Pollut 256: 113378.
- Turna F, Aksakal S, Demir E, Kaya B. 2014. Antigenotoxic Effects of Resveratrol in Somatic Cells Of *Drosophila melanogaster*. Fresenius Environ Bull 23: 2116-2125.
- Van Leeuwen CJ, Vermeire TG 2007. Risk Assessment of Chemicals: An Introduction. Springer, Dordrecht, 686 sy.
- Vogel EW 1992. Tests For Recombinogens In Somatic Cells of *Drosophila*. Mutat Res 284: 159-175.

Investigations of Bio-Ecology on *Androctonus crassicauda*: Buthidae Occuring in Sanliurfa

Nevin ASLAN¹, Şahin TOPRAK^{2*}

^{1,2}Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Şanlıurfa-Türkiye
¹https://orcid.org/0000-0002-6191-5613, ²https://orcid.org/0000-0002-9630-3377
✉: stoprak@harran.edu.tr

ABSTRACT

Androctonus crassicauda scorpion species lives in nature both as a prey and a predator. So it has venom that can be effective for hunting and protection. It can cause venoming and death by stinging people and animals. It is of great importance to know the ecological characteristics and density of this scorpion species, especially in regions where venoming cases are high. In the present study, Şanlıurfa province, where the scorpion species *Androctonus crassicauda* is prevalent, was chosen as the research area. 289 samples were collected after field studies in all districts of Şanlıurfa province. Owing to desolated and stony structure, *Androctonus crassicauda* was observed to be more intensive in Harran district. It was generally found from April to October. The most abundant period of the species is June, July, and August. Considering the seasonal expectation, test results of correlation for a series with non-normal distribution were listed in two options, Kendall'stau_b correlation coefficient and Spearman'srho correlation coefficient. There was a positive correlation of 0,168 (16%) at 1% significance between month and population for the former (Kendall'stau_b) coefficient. A positive correlation of 0,231 (23%) at 1% significance level between month and population for the latter (Spearman'srho) coefficient. In the view of regional expectation, results of correlation test for a non-normal distribution were presented in two options. A negative correlation of 0,099 (9%) was found at 5% significance level between region and population for the former coefficient. There was a negative correlation of 0,128 (12%) at 5% significance level between region and population for the second coefficient. The study revealed a variation between seasons and districts.

Biology

Research Article

Article History

Geliş Tarihi : 15.09.2021

Kabul Tarihi : 14.11.2021

Keywords

Scorpion

Androctonus crassicauda

Bioecology

Population dynamics

Şanlıurfa

Şanlıurfa İlinde Yaylış Gösteren *Androctonus crassicauda*:Buthidae Türünün Biyo-Ekolojisi Üzerine Araştırmalar

ÖZET

Androctonus crassicauda akrep türü doğada hem av hem de yırtıcı olarak yaşar. Bu yüzden avlanma ve korunma için etkili olabilecek zehirlere sahiptir. İnsanları ve hayvanları sokarak zehirlenmeye ve ölüme neden olabilmektedir. Özellikle zehirlenme vakalarının yoğun olduğu bölgelerde bu akrep türünün ekolojik özelliklerinin ve yoğunluğunun bilinmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, araştırma alanı olarak *Androctonus crassicauda* akrep türünün yaygın olduğu Şanlıurfa ili seçilmiştir. Şanlıurfa ilinin tüm ilçelerinde yapılan saha çalışmaları sonucunda 289 örnek toplanmıştır. Harran ilçesinde ıssız ve taşlı yapısı nedeniyle *Androctonus crassicauda*'nın daha yoğun olduğu görülmüştür. Genellikle Nisan'dan Ekim'e kadar bulunmuştur. En yoğun olduğu dönem Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarıdır. Mevsimsel beklenti gözetilerek ve normal dağılmayan bir seri için yapılan koraasyon testi sonuçları Kendall'stau_b korelasyon katsayısı ve Spearman'srho korelasyon katsayısı şeklinde iki opsiyon şeklinde listelenmiştir. İlk (Kendall'stau_b) katsayı için ay ile popülasyon

Biyoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Received : 15.09.2021

Accepted : 14.11.2021

Anahtar Kelimeler

Akrep

Androctonus crassicauda

Biyoeoloji

Popülasyon dinamik

Şanlıurfa

arasında %1 anlamlılık seviyesine göre 0,168 (%16) pozitif bir korelasyon söz konusudur. İkinci (Spearman'srho) katsayı için ay ile popülasyon arasında %1 anlamlılık seviyesine göre 0,231 (%23) pozitif bir korelasyon olduğu görülmektedir. Bölgesel beklenti gözlemlenerek ve normal dağılmayan bir seri için yapılan korelasyon testi sonuçları iki opsiyon şeklinde listelenmiştir. Önceki katsayı için bölge ve popülasyon arasında %5 anlamlılık düzeyinde 0,099 (%9) negatif korelasyon bulunmuştur. İkinci katsayı için bölge ve popülasyon arasında %5 anlamlılık düzeyinde 0,128 (%12) negatif korelasyon bulunmaktadır. Bu çalışma mevsimler ve ilçeler arasındaki değişiklikleri ortaya çıkarmaktadır.

To Cite : Aslan N, Toprak Ş 2022. Investigations of Bio-Ecology on *Androctonus crassicauda*: Buthidae Occuring in Sanliurfa. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1354-1363. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.995964>
Atf Şekli: Aslan N, Toprak Ş 2022. Şanlıurfa İlinde Yayılış Gösteren *Androctonus crassicauda*:Buthidae Türünün Biyo-Ekolojisi Üzerine Araştırmalar. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1354-1363. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.995964>

INTRODUCTION

Scorpion habitats are hot and dry regions, and generally prefer to stay away from residential areas (Mansouri et al., 2021). It is a nocturnal animal that hibernates in winter and is active in warm seasons (Demir, 2020). Scorpions are at the top of the food chain because they feed as predators in nature. Therefore, they are of great importance in keeping insect populations in balance and in ensuring ecological balance (Ayhan, 2015). Scorpions are distributed in subtropical, tropical, and temperate climate zones on all grand continents and large islands on earth, except Antarctic and New Zealand (Nenilin and Fet, 1992; Yağmur, 2011). Scorpions body size and variety increased towards Equator (Yaman, 1996; Özcel and Daldal, 1997; Demirsoy et al., 2001; Özkan, 2009). Because scorpions living under stones, in cracks of trees and under tree barks mostly choose moist and warm environments, they are rather found beside plants such as sugar cane, palm tree, banana tree (Yaman, 1996; Özkan and Yaman, 2004; Özkan and Karaer, 2007; Özkan, 2009). Ground scorpions thriving in cracks, hollows, and soil prefer very dry areas and move deep inside the ground to seek for a humid environment. The species *Alacran tartarus* was observed to go 812 m deep down in the soil (Özkan and Yaman, 2004; Özkan, 2009).

All of the scorpion species are venomous however only a small number has venom that is fatal to humans. But scorpion stings cause significant social and economic impacts on people around the world (Shah et al., 2018). A majority is as venomous as honeybee. There is no any danger unless the person who stung is allergic to that venom. This feature indicates that the poison is effective, not that the scorpion is deadly. For example, *Aegaeobuthus gibbosus* has an potent venom but is not usually deadly. Although *Compsobuthus matthiesseni* species, which is also found in Şanlıurfa province, has a very thin chela, its poison is quite ineffective (Herms, 1956; Yağmur,

2005). Scorpions with a dense distribution in all regions of Turkey are very abundant in the Southeast and consequently envenomation cases are frequent in this region (Altınkurt and Altan, 1980; Çalışkan, 2008). According to the latest sources, it has been shown that there are 41 scorpion species in Turkey in four families (Buthidae, Iuridae, Scorpionidae, Euscorpiidae) and 15 genera (Filazi and Özkan, 2021). One of these species, *Androctonus crassicauda* which belongs to the family of Buthidae, is a dangerously venomous species and widely distributed in the Middle East, including *A. crassicauda* has been recorded from Armenia, Azerbaijan, Bahrain, Egypt (Sinai), Iran, Iraq, Israel, Jordan, Kuwait, Oman, Saudi Arabia, Syria, Turkey, United Arab Emirates and Yemen (Fet & Lowe, 2000; Hendrixson, 2006). *Androctonus crassicauda* was first detected in Tuzluca (Iğdır) (Birula, 1904; Vachon, 1951; Tulga, 1960; 1964) in our country.

Later, its distribution was determined in most provinces of eastern and southeastern Anatolia regions (Vachon, 1947; Vachon, 1951; Tolunay, 1959; Crucitti, 1999; Crucitti and Cicuzza, 2001; Karataş, 2001; Crucitti, 2003; Yağmur, 2005). It is understood that *A. crassicauda* is mostly found in the provinces of Elazığ, Diyarbakır, Sanliurfa, Mardin, Gaziantep, Adana, Hatay, in the South East Anatolia and East Anatolia regions of Turkey (Vachon, 1947a; 1951; Tolunay, 1959; Tulga, 1960; 1964; Merdivenci, 1981; Crucitti, 1999; Demirsoy et al., 2001; Crucitti, 2003; Crucitti and Cicuzza, 2001; Crucitti and Vignoli, 2002; Ozkan et al. Filazi, 2004; Karataş and Colak, 2005; Karataş and Kurtüllü, 2006; Yağmur et al., 2008).

In Şanlıurfa, this species has been determined to be both common and effective in scorpion stings (Özkan et al., 2006). According to Yağmur et al. (2008), other records of *A. crassicauda* known from Şanlıurfa are the village of Horoz, the town of Kısas, the area around Harran, the area around Birecik, the village

of Çiçekalan and the village of Körkürün. The number of studies on this scorpion have recently increased in Turkey and especially in Southeastern Anatolian Region (Crucitti, 1999; Crucitti and Cicuzza, 2000; 2001; Crucitti and Vignoli, 2002; Crucitti (2003); Karataş & Karataş (2003); Karataş & Gharkheloo (2006); Karataş (2007); Koç and Yağmur (2007), Yağmur ve ark. 2007; 2008a; 2008b; 2009; Kovařík ve ark., 2010; 2011; 2013; Lowe ve ark., 2014; Kovařík ve ark., 2018; 2019; Varol ve ark. 2006; Yağmur ve ark. 2008a; 2008b; Yağmur, 2010).

Research on bioecological characteristics and especially seasonal population dynamics is quite limited. The present study assessed population dynamics of *Androctonus crassicauda* in Şanlıurfa province where scorpion sting is frequent, the species is commonly found and revealed seasonal variations with distribution of population size by districts. The purpose of the selection of Şanlıurfa for this species; considering the ecological conditions, it is seen that the most suitable habitat and place to breed is Şanlıurfa.

A. crassicauda is an opportunistic species that uses the innumerable cracks and crevices in the walls of the rammed earth rural houses, made up of from a mixture of mud, straw and small Stones. It moves

quickly both on the floor and on the walls, internal and external, of buildings or ruderal environments (Crucitti & Cicuzza, 1999; Crucitti, 2003). The activity of *A. crassicauda* is carried out with an ambient air temperature and of the substrate not lower than 30 °C (Crucitti & Cicuzza, 2001, Crucitti, 2003).

Although *Androctonus crassicauda* is found under stones and in the steppe, it is commonly collected in villages, ruins, adobe houses and steppe lands around the houses (Crucitti, 2000, 2001; Crucitti and Vignoli, 2002; Crucitti, 2003; Yağmur, 2005; Özkan, 2009).

MATERIAL and METHOD

Şanlıurfa province is located between 36° 40' - 38° 02' north latitudes and 37° 50' - 40° 12' east longitudes. It is surrounded by Mardin in the east, Syria in the south, Gaziantep in the west, Adiyaman in the northwest, and Diyarbakır in the north. Şanlıurfa with 19.451 km² of surface area is the seventh largest city in Turkey (Figure 1). Summers are very dry and hot, winters are rainy and relatively mild. Şanlıurfa is located in a region closer to the Equator and far from the sea effect due to its mathematical location. It has suitable conditions for scorpions to live.

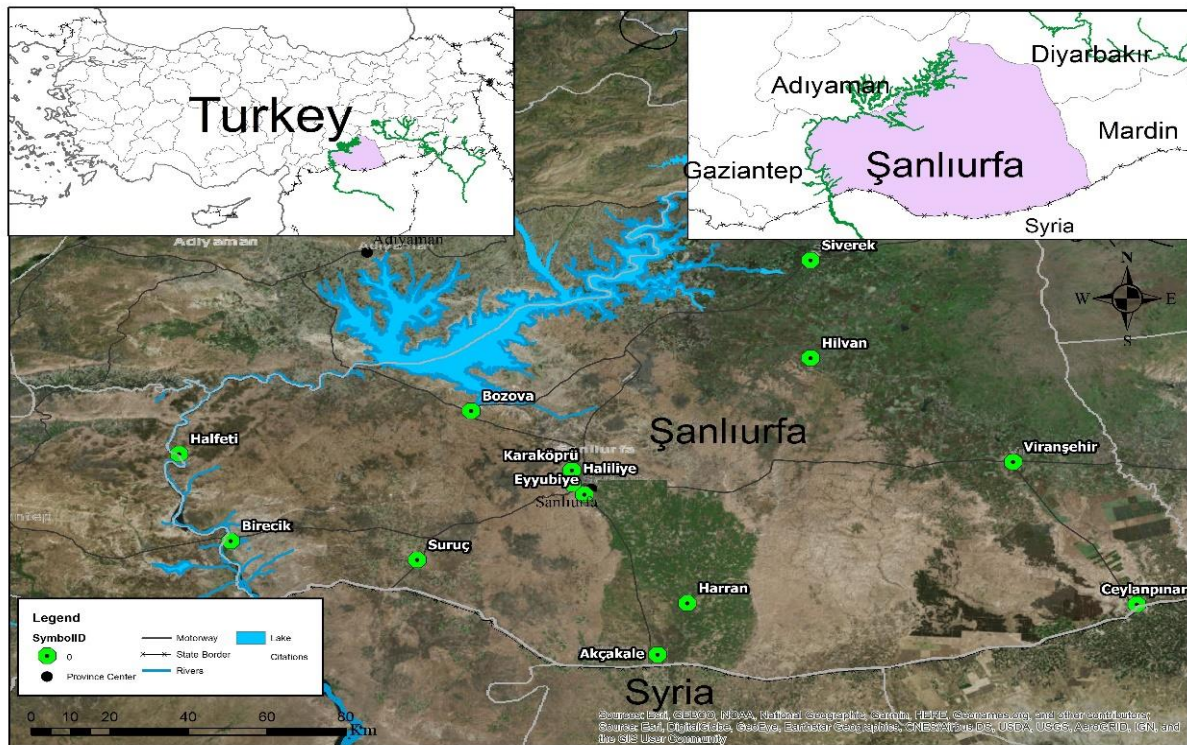


Figure 1. Black Scorpion sampling areas map in the study area of Şanlıurfa Province.
Şekil 1. Şanlıurfa ili çalışma alanında Kara Akrep örnekleme alanları haritası.

Field studies were carried out regularly and in monthly periods to cover the whole of Şanlıurfa. The localities where the samples were collected are marked in Figure 1. Scorpions were collected by field

survey during day and night. Field survey carried out at 21:00-24:00 during night using ultraviolet torch, on the days with convenient temperature. Samples were collected with the help of forceps from under stones

and rocks, bottom of plants and ground (Figure 2). On the day survey, samples were collected from under stones, under and inside decayed logs by using forceps. Samples were kept in jars with plastic lid then transferred to laboratory.

Live samples were placed in to 18x22x11 cm glass

tanks with some soil, under 50-60% humidity, 26 ± 2 °C of ambient conditions in Ecological Sciences Laboratory (Figure 2). Animals such as grasshopper, insect, fly were left in the tank to feed them. Samples that were collected dead were kept in glass jar with 96% ethanol.



Figure 2. Images of *A. crassicauda* sampled in the field and living samples in the laboratory.
Şekil 2. Kalınkuyruklu Akrep'in tarlada ve laboratuvarında yaşayan örneklerin görüntüleri.

The studied localities and coordinates are given in Table 1.

Androctonus crassicauda specimens we collected are between 80 and 100 millimeters in length. Its color is black and dark brown, although rarely, dark yellow or cream-colored specimens are encountered. The tip of the telson is black or reddish. The walking legs and ventral of the mesosomal are lighter in color. Its tail is curved and its claws are stocky. There are lateral eyes and there are three. In chela, the manus part is shorter than the fingers. There are 14 oblique granules in the fixed finger and 15 in the moving finger (Figure 3) (Vachon, 1951; 1952a; Demirsoy ve ark., 2001; Yağmur, 2005; Kürtüllü, 2006; Ozkan ve ark., 2006c; Rein, 2008; Özkan, 2009). Species identification key was used to identify species (Levy

and Amitai, 1980; Farzanpay, 1990; Yağmur, 2011). Figure 4 shows the general image of the black scorpion and its body parts. Prosoma is the front part of the body and the part where the eyes are. The mesosoma region is the front of the abdomen. The clamped fourth and fifth segments of the pedipalps are called Chela. Identified samples were classified according to location and months, and their averages and standard deviations were calculated. A series of correlation tests were listed as Kendall's tau b correlation coefficient and Spearman's rho correlation coefficient in order to determine the change in population density of *Androctonus crassicauda* species by months. All statistical analyzes were made in the SPSS statistical program.

Table 1. The studied localities and coordinates
Çizelge 1. Çalışılan lokaliteler ve koordinatlar

Localities	Coordinates		Altitude (m)
	K	D	
Harran	3651'52.73	3901'52.57	372
Akçakale	3643'02.17	3857'07.22	482
Ceylanpınar	3651'41.93	4003'33.22	366
Viranşehir	3713'34.93	3946'33.24	553
Siverek	3744'31.20	3918'47.91	743
Hilvan	3729'12.62	390224.38	672
Bozova	3721'22.90	3832'12.12	592
Birecik	3701'27.07	3759'13.86	429
Suruç	3658'32.42	3824'48.98	499
Halfeti	3714'45.83	3752'08.44	430
Eyyübiye	3708'32.24	3847'44.50	507
Karaköprü	3712'15.68	3846'01.67	587
Haliliye	3710'15.68	3846'01.67	587



Figure 3. Preparation of samples for identification.
Şekil 3. Tanımlama için numunelerin hazırlanması.



Figure 4. General appearance and body parts of *A. crassicauda*
Şekil 4. Kalınkuyruklu Akrep'in genel görünümü ve vücut bölümleri.

RESULTS and DISCUSSION

In this study, since Harran and Eyyübiye districts contain suitable habitats for the natural distribution of scorpions, especially in these districts, it is quite a lot in areas such as ruined houses, cemeteries, barns, and the highest collection in these areas is in harmony with the literature (Crucitti, 2003).

It has been observed that *Androctonus crassicauda* prefers arid and hot habitats (Crucitti, 2003) and spreads in the south of the Eastern Taurus Mountains (Yağmur, 2011).

A total number of 289 scorpion samples were collected via day and night survey from the survey area, Şanlıurfa province, in between June 2016 and May 2017. Within the research area, the highest number of individuals, 54 were collected from Harran district and secondly from Eyyübiye district with 30

individuals. The lowest number of samples were collected from Karaköprü with 10 and Haliliye with 12 individuals respectively (Table 1). Desolated and stony structure of Harran district led *Androctonus crassicauda* to be observed more intensively. Species was seen less frequently in Karaköprü and Haliliye districts because of recent urbanization and settlement. Research revealed that population size was smaller in Siverek and Viranşehir districts because of higher altitude and harsh climate conditions compared to other districts.

As seen in Table 2, when the seasonal variation of the collected samples is examined, it has been determined that winter months are the least frequent, spring and autumn months are rarely, and summer months are the most intense.

Table 2. Distribution table of *A. crassicauda* population in Sanliurfa by sampling areas and months.

Çizelge 2. Şanlıurfa'daki Kalıncuysuklu akrep popülasyonunun örnekleme alanları ve aylara göre dağılım tablosu.

Years Localities / Months	2016							2017					Localities	
	Jun	Jul	Agu	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Total	Average
Harran	9	12	10	7	4	0	0	0	0	1	4	7	54	4.50
Akçakale	6	8	10	5	3	0	0	0	0	0	1	2	35	2.92
Ceylanpınar	5	6	7	3	1	0	0	0	0	0	0	1	23	1.92
Viranşehir	3	3	4	2	1	0	0	0	0	0	0	1	14	1.17
Siverek	4	5	5	2	1	0	0	0	0	0	0	2	19	1.58
Hilvan	3	4	5	2	1	0	0	0	0	0	0	1	16	1.33
Bozova	4	5	5	3	2	0	0	0	0	0	0	1	20	1.67
Birecik	3	4	4	1	1	0	0	0	0	0	1	1	15	1.25
Suruç	3	3	5	2	1	0	0	0	0	0	0	1	15	1.25
Halfeti	4	5	3	3	1	0	0	0	0	0	0	1	17	1.42
Eyyübiye	9	10	8	6	3	0	0	0	0	0	0	3	39	3.25
Karaköprü	2	3	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	10	0.83
Haliliye	3	2	3	2	1	0	0	0	0	0	0	1	12	1.00
Total	58	70	72	39	21	0	0	0	0	1	6	22	289	1.85
Monthly avrg.	4.46	5.38	5.54	3.00	1.62	0.0	0.0	0.0	0.0	0.08	0.46	1.69		
S.deviation	2.26	2.96	2.47	1.87	1.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.28	1.13	1.75		

Even though seasonal distribution of the scorpion species *A. crassicauda* showed small differences by localities, it was found to display seasonal variation throughout Şanlıurfa province.

Table 3 shows ANOVA analysis between months, which is 2,806 for inter-groups F value; 0,002 for P value. Scorpion population in Şanlıurfa was seen to rise from April to May when they start to emerge, was at maximum level in July and August, declined beginning form October and disappeared in November (Table 2). Sampling survey carried out between November and March did not found any scorpions.

Table 3. Analysis of ANOVA among different months.

Çizelge 3. ANOVA'nın farklı aylar arasında analizi.

ANOVA (Months)						
Source variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between groups	2563.119	11	233,011	2.806	0.002	1.850
Within groups	12952.286	156	83.027			
Total	15515.405	167				

One scorpion was sampled in March only in Harran district.

In general, male individuals are more actively wandering and foraging as they seek females for mating. It is also eaten by females. For this reason, as the number of men is less, it has been observed that there is a decrease from May to October. However, since July, the number of offspring or under-adults has increased due to births.

Table 4 indicates ANOVA analysis between localities, which is 2.229 for inter-groups F value; 0.013 for P value.

Table 4. Analysis of ANOVA between different localities
Çizelge 4. Farklı lokaliteler arasında ANOVA analizi.

ANOVA (Localities)						
Source variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between groups	163.526	12	13.627	2.229	0.013	1.820
Within groups	874.083	143	6.112			
Total	1037.609	155				

Distribution of scorpions by districts varied depending on temperature, altitude, humidity, and habitat conditions. One of our targets is to show the correlation by giving the increase in the spring, the activation temperature and humidity measurements, which reach the highest level in July and August.

Populational status of scorpions were also parallel in the similar localities (Harran, Akçakale, and Eyyübiye) with the most appropriate habitat, temperature, and altitude for scorpions. In Siverek and Viranşehir districts where altitude is high and average temperature is lower, scorpion population was smaller. According to Koç and Yağmur (2007), it has been determined that the number of males is higher than females, the activity of females starts earlier in the year than males, and the activity of both sexes is at the highest level in August.

Average population density was found to be 1,85 individuals after population study conducted in 13 districts during a year within entire survey area. Evaluation of mean population by months revealed that while monthly average of June, July, August, and September was higher than overall average, other months remained below overall average. When mean population was assessed by districts, average value of Harran, Akçakale and Eyyübiye districts was greater than overall average (1,85), other districts had mean population lower than overall average. Ceylanpınar district displayed average population which is very close to overall average.

Significant differences were determined between districts of survey area in terms of population density (Table 1). These differences were found to be statistically significant. Considering the seasonal variation, statistically significant differences by months were revealed for scorpion population.

Scorpions live in dry and temperate regions, the number of species increases towards equator (Özkan and Karaer, 2007; Ramel, 2010; Kovarik, 2009; Rein, 2010).

During their past in the nature, scorpions has acquired various levels of adaptation under diverse ecological conditions (Navidpour et al., 2015). Scorpions are arthropods with medicinal importance that can survive in warm and dry environments, are classified within Arachnida class (Farzanpay, 1990). Therefore, ecological and climatic conditions are important parameters for distribution of scorpions. Şanlıurfa, the survey area with 19.451 km² of wide

surface area, is the 7th largest city of Turkey, has different districts that poses various biogeographical and ecological conditions. Thus, scorpion populations of the districts vary too. It was found that Harran, Akçakale, and Eyyübiye districts of Şanlıurfa were locations convenient for scorpions in terms of their ecological and climatic conditions and the largest scorpion population was found in these districts. Scorpion populations were smaller in the districts Siverek, Viranşehir, Halfeti, Karaköprü and Hilvan where climate is more harsh and ecological conditions are not suitable for scorpions. This was compatible with the literature data about distribution areas of scorpions (Özkan and Karaer, 2007; Ramel, 2010; Kovarik, 2009; Rein, 2010; Navidpour et al., 2015). *Androctonus crassicauda* (black scorpion) population was considerably variant by districts of Şanlıurfa. This difference was statistically significant (df:12, P=0,013).

It was found that *A. crassicauda* population displayed seasonal variation within the survey area (df 11, p= 0,002), population started to increase in May, reached to maximum size in July and August, declined beginning from October. These results were parallel to the findings of other studies conducted in Turkey (Özkan et al., 2006), Saudi Arabia (Jarrar et al., 2008) and Iran (Nazar and Hassan, 2016).

Overall average of the all individuals of *A. crassicauda* sampled from the survey area during a year and all of the districts was 1,8 individuals. Monthly average of June (4,5 individuals) July (5,4 individuals), August (5,5 individuals), and September (3,0 individuals) was far above the overall average, it was below overall average for the remaining months. By the districts of the survey area, average number of scorpions found in Harran (4,5), Eyyübiye (3,3), Akçakale (2,92), and Ceylanpınar (1,92) was higher than the overall average, on the other hand remaining districts were below overall average.

All scorpions have venomous sting and tens of thousands of people die because of scorpion sting every year. This mortality ratio is caused by approximately 25 species of scorpions, including the speies *A. crassicauda* (Keegan, 1980; Polis, 1990). Hazardous results of scorpion sting consist of severe and fatal hemolysis, acute renal failure, deep necrotic wound, severe rheumatoid arthritis, temporary and permanent psychosis, and death (Mohseni et al., 2013). Scorpion sting remains to be a crucial public

health problem within Şanlıurfa, the survey area, particularly during summer. Clinical findings and epidemic of scorpion sting was evaluated in terms of public health by (Özkan et al., 2006b) in Şanlıurfa province of Turkey for the first time. The relevant study revealed that all of the scorpions collected for identification of the species playing active role in scorpion sting within the region was *A. crassicauda* and scorpion sting cases occurred in August most (Özkan et al., 2006; Özkan, 2009). This result was compatible with our findings. As the result of this study, distribution of venomous *A. crassicauda* (black scorpion) was determined in the districts of Şanlıurfa and populational status was presented by months. Results of this study pose significant data for prevention of and avoiding from scorpion sting in Şanlıurfa province.

In Turkey, scorpion sting which is frequent particularly during summer is an important public health problem. Since people sleep outside, on the roof, and garden during summer in Şanlıurfa, they are always exposed to the risk of scorpion sting. It is necessary to take continuous precautions especially in months and habitats with abundance of scorpions. These precautions should be taken as physical, mechanical and chemical spraying.

As a result, people are vulnerable to scorpion stings, as there is intensive agriculture and livestock farming is practiced even in urban centers in many districts. As a result, people are vulnerable to scorpion stings, as there is intensive agriculture and livestock farming is practiced even in urban centers in many districts. Therefore, we think that *Androctonus crassicauda*, which is represented by a dense population in Şanlıurfa, should be protected in its distribution areas.

ACKNOWLEDGEMENTS

The present study was derived from master thesis of Nevin Aslan. We would like to thank to Harran University Research Fund for funding this study (Project No: 17034).

Statement of Conflict of Interest

Authors declare that there is no conflict of interest.

Author's Contributions

The authors declare that they have contributed equally to the article.

REFERENCES

- Altınkurt O, Altan M 1980. Antagonistic responses of streptomycin to many of these effects with the pharmacological effects of scorpion *Androctonus crassicauda* poison in Urfa region. Journal of Ankara Faculty of Pharmacy 10: 41-60.
- Ayhan H 2015. Determining the variations and genotyping the populations of *Leiurus abduhbayrami* Yağmur, Koç & Kunt 2009. (Scorpiones: Buthidae) in Turkey. Mustafa Kemal University Institute of Science, PhD Thesis, 175 pp.
- Crucitti P 1999. The scorpions of Anatolia: Biogeographical patterns. Biogeo 20: 81-94
- Crucitti P, Ciccuzza D 2000. Gli Scorpioni del Parco Nazionale del Monte Nemrut (Turchia sud-orientale) (Scorpiones). Mem Soc Entomol Ital 78(2): 275-294.
- Crucitti P, Ciccuzza D 2001. Scorpions of Anatolia: Ecological patterns, p. 225-234 in Fet, V. & P.A. Selden (eds.). Scorpions 2001: In Memoriam Gary A. Polis. Burnham Beeches, Bucks: British Arachnological Society.
- Crucitti P, Vignoli V 2002. Gli scorpioni (Scorpiones) dell'Anatolia sud-orientale (Turchia), Bollettino del Museo Regionale di Scienze naturali. Torino 19 (2): 433-480.
- Crucitti P 1999. The scorpions of Anatolia: Biogeographical patterns. Biogeographica 20: 81-94.
- Crucitti P 2003. Ricerche bio-ecologiche su *Androctonus crassicauda* nell'Anatolia sud-orientale (Scorpiones Buthidae). Bollettino della Società entomologica italiana 135: 3-14.
- Çalışkan F 2008. Purification of peptide toxins from *Androctonus crassicauda* type scorpion venom and investigation of their biochemical effects in cell culture. Eskişehir Osmangazi University Institute of Science, PhD Thesis, Eskişehir.
- Demir MA 2020. Determination of morphological properties of *Androctonus crassicauda* (Oliver, 1807) scorpion species with scanning electron microscope and biochemical analysis of venom. Kastamonu University Institute of Science, MSc Thesis, 98 pp.
- Demirsoy A, Durmuş Y, Akbulut A 2001. Turkey Scorpiones (Scorpions) from the systematic investigation of fauna and biological aspects. Project No: 1998 K 1001 40. Ministry of Environment, General Directorate of Environmental Protection, Animal Protection Department, Ankara, 118.
- Farzanpay R 1990. A catalogue of the scorpions occurring in Iran, up to January 1986. Archives de l'Institut Razi (Iran Islamic Republic). Braunwalder, M.E. Catalog of the Scorpions of the World (1758-1998). The New York Entomological Society, New York, 690 pp.
- Filazi A, Özkan Ö 2021. Türkiye'de akrep serumunun tarihi. Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji 78(1).
- Herms W 1956. Medical Entomology. The Canadian Veterinary Journal, Canada, pp.593-601.
- Jarrar B, Al-Rowaily M 2008. Epidemiological aspects

- of scorpion stings in Al-Jouf province. *Annals of Saudi Medicine* 28(3):183.
- Karataş A, Karataş A 2003. *Mesobuthus eupeus* (C. Koch, 1839) (Scorpiones: Buthidae) in Turkey. *Euscorpius* 2003(7): 1-6.
- Karataş A, Çolak M 2005. Scorpions of Gaziantep province (Turkey) (Arachnida: Scorpiones), *Euscorpius* — Occasional Publications in Scorpiology. *Euscorpius* 30: 1-7.
- Karataş A, Kürtüllü M 2006. Duplication of pedipalp segments in the scorpion *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) (Scorpiones: Buthidae) *Euscorpius* — Occasional Publications in Scorpiology. *Euscorpius* 43: 1-4.
- Karataş A, Gharkheloo MM 2006. A contribution to the knowledge of *Hottentotta sauleyi* (Simon, 1880) (Scorpiones: Buthidae). *Zoology in the Middle East* 38(1): 85-92.
- Karataş A 2007. *Mesobuthus nigrocinctus* (Ehrenberg, 1828) (Scorpiones: Buthidae) in Turkey: Distribution and morphological variation. *Euscorpius* 56: 1-10.
- Keegan HL 1980. Scorpions of medical importance. University Press of Mississippi.
- Koç H, Yagmur EA 2007. Dağmarmara (Turgutlu-Manisa) Yöresinde Dağılım Gösteren *Mesobuthus gibbosus* (Scorpiones: Buthidae)'un Yüze Aktivitesinin Çukur Tuzaklarla Belirlenmesi. *Ekoloji* 17(65): 60-64.
- Kovařík F, Fet V, Soleglad ME, Yağmur EA 2010. Etudes on iurids, III. Revision of the genus *Iurus* Thorell, 1876 (Scorpiones: Iuridae), with a description of two new species from Turkey. *Euscorpius* 95: 1-212.
- Kovařík F, Yağmur EA, Fet V, Navidpour S 2011. On two subspecies of *Mesobuthus eupeus* (C. L. Koch, 1839) in Turkey (Scorpiones: Buthidae). *Euscorpius* 109: 1-15.
- Kovařík F, Yağmur EA, Moradi M 2018. Two new *Hottentotta* species from Iran, with a review of *Hottentotta sauleyi* (Scorpiones: Buthidae). *Euscorpius* 265: 1-14.
- Kovařík F, Yağmur EA, Fet V, Hussen FS 2019. A review of *Orthochirus* from Turkey, Iraq, and Iran (Khoozestan, Ilam, and Lorestan Provinces), with descriptions of three new species (Scorpiones: Buthidae). *Euscorpius* 278: 1-31.
- Kürtüllü M 2006. Distribution and systematic examination of scorpion species (Ordo: Scorpiones) in Mardin province. Niğde University Institute of Science, MSc Thesis, 51pp.
- Levy G, Amitai P, 1980. Scorpiones, in: fauna Palaestina, Arachnida. 1. Israel Acad Science Human, Jerusalem, 130 pp.
- Lowe G, Yağmur EA, Kovařík F 2014. A review of the genus *Leiurus* Ehrenberg, 1828 (Scorpiones: Buthidae) with description of four new species from the Arabian Peninsula. *Euscorpius* 191: 1-129.
- Mansouri NJS, Akbarzadeh K, Jahanifard E, Vazirianzadeh B, Rafinejad J 2021. Species diversity and abundance of scorpions in Ahvaz city, Southwest Iran. *Biodiversitas* 22 (2): 763-768. DOI: 10.13057/biodiv/d220229.
- Merdivenci A. 1981. Medikal entomoloji, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları Rektörlük No:2811 Dekanlık No.74: 285-289.
- Mohseni A, Vazirianzadeh B, Hossienzadeh M, Salehcheh M, Moradi A, Moravvej SA, 2013. The roles of some scorpions, *Hemiscorpius lepturus* and *Androctonus crassicauda*, in a scorpionism focus in Ramhormoz. *Journal of Insect Science*, 13(1): 89, Southwestern Iran.
- Navidpour S, Vazirianzadeh B, Mohammadi A, 2015. Burrowing activities of *Scorpio maurus towsendi* (Arachnida: Scorpionida: Scorpionidae) in province of Khoozestan sw Iran.
- Nazari M, Hassan R, 2016. Study on distribution of scorpions to provide prevention and interventions in combating scorpionism in Poldokhtar County, Lorestan Province, Iran. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, December, 10 (12): LC05-LC09.
- Nenilin AV, Fet V, 1992. Zoogeographical analysis of the World scorpion fauna (Arachnida, Scorpiones). *Arthropoda Selecta* 1 (2): 3-31.
- Özcel MA, Daldal N, 1997. Arthropod diseases and vectors in parasitology. Turkey Parasitology Association Publication, No. 13; Izmir, 461-464.
- Özkan Ö, Filazi A. 2004. The determination of acute lethal dose-50 (LD50) levels of venom in mice, obtained by different methods from scorpions, *Androctonus crassicauda* (Olivier 1807). *Acta Par Turcica* 28(1): 50-53.
- Özkan Ö, Yaman N 2004. Scorpions. Ankara Region Chamber of Veterinary Medicine Bulletin, Ankara, November, 15-18.
- Özkan Ö, Adıgüzel S, Yakıştıran S, Cesaretli Y, Orman M, Karaer KZ 2006. *Androctonus crassicauda* (Olivier 1807) scorpionism in the Sanliurfa provinces of Turkey. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 30(3): 239-45.
- Özkan Ö, Karaer KZ, 2007. Biology of Scorpions, Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology, 64(1): 51-60.
- Özkan Ö 2009. Genotyping and phylogenetic position of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807; Scorpiones: Buthidae). Ankara University Institute of Health Sciences, PhD Thesis, Ankara, 237pp. Polis G A, 1990. The biology of scorpions. Stanford University Press.
- Shah A, Sarvat R, Shoaib S, Ayodele AE, Nadeem M, Qureshi TM, Ishtiaq M, Abbas A 2018. An ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of snakebite and scorpion sting among the people of namal valley, mianwali

- district, Punjab, Pakistan. Applied Ecology and Environmental Research 16(1):111-143.
- Rein JO, 2008. The Scorpion Files. Norwegian University of Science and Technology. Erişim:[<http://www.ub.ntnu.no/scorpion-files/>]. Erişim Tarihi: 2008.
- Tolunay MA 1959. Zur Verbreitung der Skorpione in der Türkei, Zeitschr. f. Angew. Entomol., 43 (4): 366-370.
- Tulga T. 1960. Türkiye’ de varlığı ilk defa tespit edilen bir akrep türü (*Buthus quinquestriatus*) ile *Prionurus crassicauda*’ya karşı hazırladığımız akrep serumları arasında çapraz proteksiyon. Türk Hij Tecr Biyol Derg 20(2): 191- 203.
- Tulga T 1964. Türkiye akrepleri ve Türkiye’de hazırlanmış anti-*Androctonus crassicauda* akrep serumunun paraspesifik etkisi. Türk Hij Tecr Biyol Derg 29(2): 146–155.
- Vachon M 1947. Remarques préliminaires sur le faunedes Scorpions de Turquie, Bull Mus Natl Hist Nat 19 (2): 161-164.
- Vachon M 1951. A propes de quelques Scorpions de Turquie collectes par M.le Professeur Dr.CurtKosswig. -ProfKosswig tarafından Türkiye’de toplanan akrepler hakkında, İÜ Fen Fak Mec B 16 (4): 341-344.
- Vachon M 1952a. Description des scorpions du Nord-Ouest de L’Afrique (Maroc, Algerie, Tunisie, Fezzan, Sahara et Sahel). A. Familiedes Buthidae E. Simon, 1879. [Part I: Genera Cicileus, Buthiscus, Lissothus, Butheoloides and Anoplobuthus]. In: VACHON M. Etudes Sur Les Scorpions. Inst. Pasteur D’ Algerie, 71-115.
- Varol İ, Yağmur EA, Özasan M, Yalçın M 2006. A scorpion *Compsobuthus schmiedeknechti* (Scorpions: Buthidae) New to the Turkish fauna. Journal of Biological Sciences 9(8): 1559-1562.
- Yağmur EA 2005. Gaziantep scorpions (Ordo: Scorpiones) and their zoogeographic distributions. Gaziantep University Institute of Science, MSc Thesis, Gaziantep, 150 pp.
- Yağmur EA, Koç H, Kesmezoğlu S, Yalçın M 2007. Scorpions of Kilis Province, Turkey (Arachnida: Scorpiones). Serket 10(3): 91-105.
- Yağmur EA, Yalçın M, Çalışır G 2008. Distribution of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) and *Buthacus macrocentrus* (Ehrenberg, 1828) (Scorpiones: Buthidae) in Turkey. Serket 11(1): 13-18.
- Yağmur EA, Koç H, Yalçın M 2008. Distribution of *Hottentotta saulcyi* (Simon, 1880) (Scorpiones: Buthidae) in Turkey. Euscorpius 76: 1-6.
- Yağmur EA, Koç H, Yalçın M 2008. Distribution of *Compsobuthus matthiesseni* (Birula, 1905) and *Compsobuthus schmiedeknechti* Vachon, 1949 (Scorpiones: Buthidae) in Turkey. Turkish Journal of Arachnology 1(1): 59-66.
- Yağmur EA, Koç H, Akkaya A 2008. New localities for *Iurus dufourei* asiaticus Birula, 1903 (Scorpiones: Iuridae) in Turkey. Turkish Journal of Arachnology 1(2): 154-159.
- Yağmur EA, Koç H, Kunt KB 2009. Description of a New Species of *Leiurus* Ehrenberg, 1828 (Scorpiones: Buthidae) from Southeastern Turkey. Euscorpius 85: 1-20.
- Yağmur EA 2010. First *Orthochirus* Karsch, 1892 (Scorpiones, Buthidae) Record from Turkey. Anatolian Journal of Natural Sciences 1(1): 15-19.
- Yağmur EA 2011. Southeastern Anatolian Scorpion (Arachnida: Scorpion) Fauna: Systematics and Zoogeography. Ege University Institute of Science, PhD Thesis, Izmir, 220 pp.
- Yağmur EA, Soleglad ME, Fet V, Kovařík F 2013. Etudes on iurids, VI. Further revision of *Calchas birula*, 1899 (Scorpiones: Iuridae), with a description of a new genus and two new species. Euscorpius 159: 1-36.
- Yaman N, 1996. Scorpions and their medical importance, Australian Health and Science Institute, Seminar in the Department of Parasitology, Entomology and Protozoology.

Macrofungi of Yenice (Karabük) District and New Records for Turkey

Gıyasettin KAŞIK¹, Sinan ALKAN², Sinan AKTAŞ³, Celâleddin ÖZTÜRK⁴, Hatice Esra AKGÜL⁵

^{1,3,4,5}Selçuk University, Science Faculty, Biology Department, Konya, TURKEY, ²Selçuk University, Çumra Academy of Applied Sciences, Organic Agriculture Administration Department, Konya, TURKEY.

¹<https://orcid.org/0000-0001-8304-6554>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7725-1957>, ³<https://orcid.org/0000-0003-1657-5901>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-4119-9004>, ⁵<https://orcid.org/0000-0003-2479-280X>,

✉: sinanalkan@selcuk.edu.tr

ABSTRACT

215 taxa have been identified from different localities of Yenice (Karabük) District between 2012-2014 years. As a result of the field and laboratory studies, 32 taxa belonging to 21 genera, 14 families from *Ascomycota*, 183 taxa belonging to 107 genera, 44 families, from *Basidiomycota* were determined. According to the present literature on the macrofungi, two taxa are new records for the Turkish macrofungi. These are *Hygrocybe substrangulata* (P.D. Orton) P.D. Orton & Watling and *Hygrophorus atramentosus* (Alb. & Schwein.) H. Haas & R. Haller Aar. ex Bon.

Biology

Research Article

Article History

Received : 02.03.2021

Accepted : 23.12.2021

Keywords

Macrofungus

New records

Karabük

Yenice

Turkey

Yenice (Karabük) İlçesinin Makrofungusları ve Türkiye için Yeni Kayıtlar

ÖZET

Karabük İli Yenice İlçesi ve çevresindeki farklı lokalitelerden 2012-2014 yılları arasında 215 takson teşhis edilmiştir. Arazi ve laboratuvar çalışmaları sonucunda; *Ascomycota* bölümünden 14 familya, 21 cinse ait 32 takson, *Basidiomycota* bölümünden 44 familya, 107 cinse ait 183 takson tespit edilmiştir. Makromantarlarla ilgili mevcut literatüre göre, iki takson *Hygrocybe substrangulata* (P.D. Orton) P.D. Orton & Watling ve *Hygrophorus atramentosus* (Alb. & Schwein.) H. Haas & R. Haller Aar. ex Bon türleri Türkiye için yeni kayıt olarak belirlenmiştir.

Biyoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 02.03.2021

Kabul Tarihi : 23.12.2021

Anahtar Kelimeler

Makromantar

Yeni kayıtlar

Karabük

Yenice

Türkiye

Atıf Şekli: Kaşık G, Alkan S, Aktaş S, Öztürk C, Akgül HE 2022. Yenice (Karabük) İlçesinin makrofungusları ve Türkiye için Yeni Kayıtlar. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1264-1278. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.889463>

To Cite : Kaşık G, Alkan S, Aktaş S, Öztürk C, Akgül HE 2022. Macrofungi of Yenice (Karabük) District and New Records for Turkey. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1264-1278. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.889463>

INTRODUCTION

Fungi have a wide distribution area, just like plants and animals. Therefore, mushrooms have been a curiosity for humans since prehistoric times. Organisms known as fungi are eukaryotic, chlorophyll-free, generally filamentous, and spore forming organisms, usually having structures with complex carbohydrates and chitin or cellulose or both (Kaşık, 2010).

Since the existence of human beings, mushrooms have been consumed by societies as food. In addition,

it is the fact that in Turkey, which is very rich in terms of natural mushroom species, our people do not know mushrooms enough. While some mushrooms are known as edible in one or a few regions of Turkey, they are recognized or known as poisonous in another region. Turkey is particularly rich in mushroom diversity due to its favourable ecological conditions. If the forests in the Mediterranean, Aegean, Marmara and the Black Sea regions are visited in autumn, it will be noticed that these forests are very rich in terms of both mushroom species and the amount grown.

The number of flowering plant species in Turkey is almost equal to the number of flowering plant species in almost all of Europe. This clearly shows that the flowering plant flora of Turkey has quite a number of species. This abundance of species also allows other living things to develop in large numbers in this geography. For this reason, besides the climatic conditions, this rich flowering plant flora of Turkey has an important share in the interpretation of the richness in terms of mushroom diversity (Mat, 1998).

Mushrooms; can be seen in all seasons. So, they grow under suitable humidity and temperature, under coniferous and broad-leaved forests, in meadows rich in organic matter and on decaying branches, stumps, or live tree trunks.

Many studies on the macrofungi of Turkey are continuing rapidly. In this way, the macrofungal biodiversity and species distribution in Turkey will be determined, while at the same time, it will contribute to the recognition of these mushrooms by the local people and the knowledge of poisonous ones.

With this study, it is aimed to contribute to the macrofungi of Turkey by determining the macrofungi grown in the Yenice district of Karabük and their distribution areas. New records were also added to the list of Turkey Macrofungi.

In terms of these systematic studies, there are projects made in different regions of Turkey. The earliest known first study published on macrofungi in Turkey was made by Rigler (1852) with an article named "Die Türkei und deren Bewohner". In Turkey, a lot of studies have been done on macrofungi in recent years and a checklist regarding the studies has been published (Sesli et al. 2020). However, numerous publications have also been made after the checklists; Akata et al. (2014), Güngör et al. (2014), Sesli and Kobayashi, (2014), Solak et al. (2014a), Solak et al.

(2014b), Şen et al. (2014), Türkoğlu and Castellano, (2014), Acar et al. (2015), Çolak et al. (2015), Demirel et al. (2015), Doğan and Akata, (2015), Güngör et al. (2015a), Güngör et al. (2015b), Türkoğlu et al. (2015), Sesli et al. (2015), Uzun et al. (2015), Karacan et al. (2015), Kaya, (2015), Kaya and Uzun, (2015), Kaya et al. (2015), Akata et al. (2016), Akçay and Uzun, (2016), Demirel and Koçak, (2016), Demirel et al. (2016), Doğan and Kurt, (2016), Güngör et al. (2016), Kaya et al. (2016), Öztürk et al. (2016), Sesli and Sesli, (2016a), Sesli and Sesli, (2016b), Sesli et al., (2016), Uzun et al., (2016), Demirel et al., (2017), Kaşık et al., (2017), Keleş et al., (2017), Sesli and Vizzini, (2017), Uzun et al. (2017), Akata et al. (2018), Işık and Türkekul, (2018), Kaya and Uzun, (2018), Uzun et al. (2018), Akçay, (2019).

An important part of Yenice's surface area, which has a total area of 1150 km², is covered with fertile forests. Since the land structure has the characteristics of the Western Black Sea Region, it has almost no flat and plain land. The sloping and rugged land structure is not suitable for agriculture (Fig. 1).

Yenice Forests, one of Turkey's most pristine and uninterrupted forest, trees in the monumental, natural old forests, deep valleys, river ecosystems and the diversity of wildlife hosts one of the best-preserved private mountainous areas of Turkey. Therefore, Yenice Forests are determined as one of the 9 hot spots in Turkey. With this study, it is aimed to determine the macrofungi list of Yenice District of Karabük Province, which is one of the richest places in Turkey in terms of forest. In addition, it is aimed to identify the fungi that have not been detected in the macrofungi list of Turkey before, and to add them to this list.

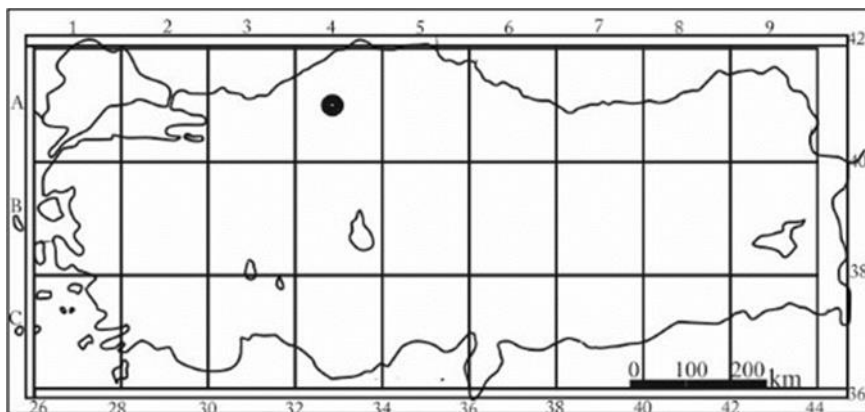


Figure 1. The location of the research area in Turkey.

Şekil 1. Araştırma alanının Türkiye'deki konumu

MATERIAL and METHOD

The study material consists of fungal samples collected between 2012-2014. In the preliminary

study of the research, the geographical structure of the research area, rivers, lakes and plant diversity and suitable environments for fungi were determined.

In this study we conducted on the macrofungi of Karabük Yenice District, a total of 37 localities were determined in the forest areas within the borders of the district and in other areas where mushrooms

grow (Table 1). Locations determined by the Magellan explorisit XL GPS device are given on the google earth map, respectively (Fig. 2).

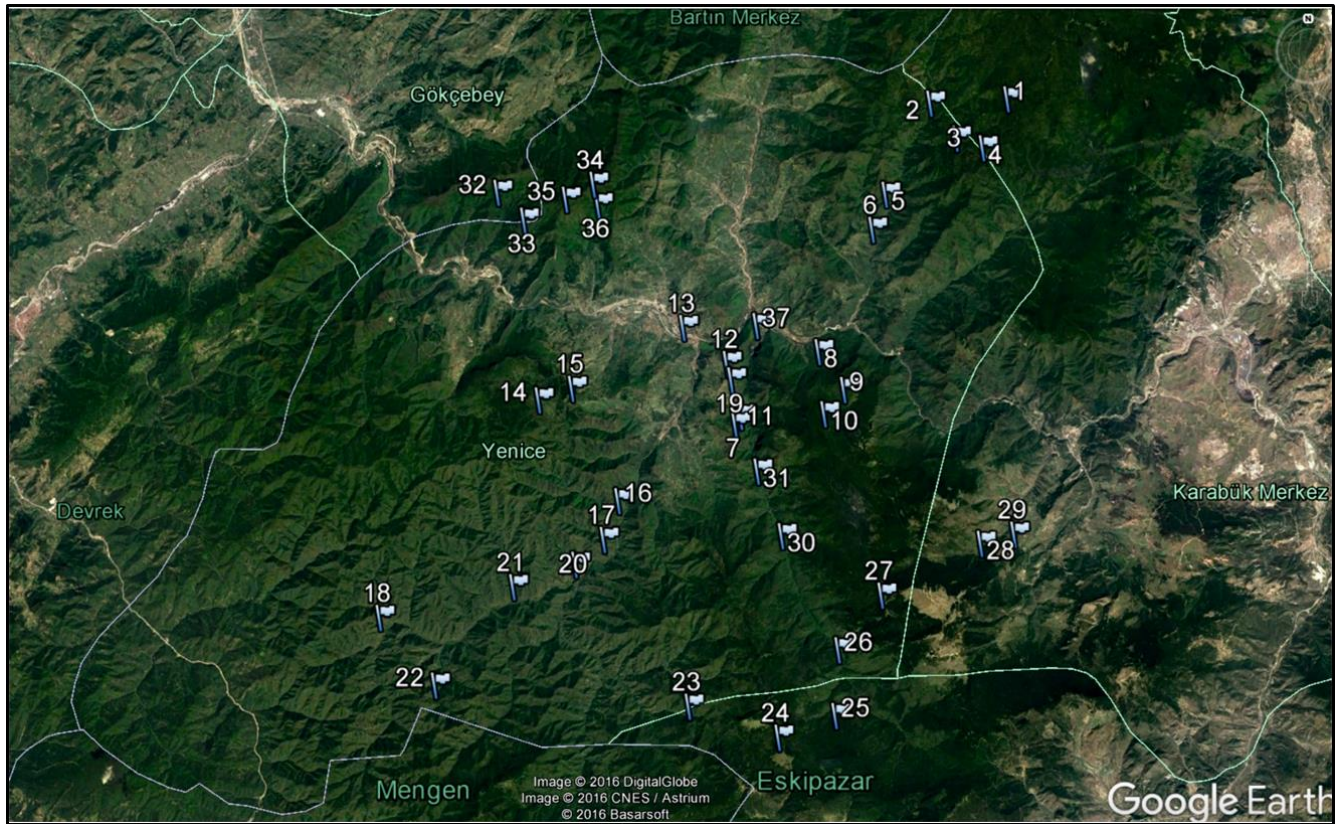


Figure 2. Localities in the study
Şekil 2. Çalışma lokaliteleri

Attention was paid to the fact that the fungi detected in the field studies show all stages of their development and the growing environment during the photoshoots. Later, the sample number was given and its ecological and morphological characteristics were recorded in the field book. Each sample collected was individually placed in an aluminum foil and brought to the laboratory. Species were identified by the obtained data obtained from mushroom samples with the help of available literature (Watling, 1973; Watling and Gregory, 1977; Dennis, 1981; Phillips, 1981; Watling, 1982; Breitenbach and Kranzlin, 1983; Moser, 1983; Grünert and Grünert, 1984; Breitenbach and Kranzlin, 1986; Hennig and Kreisel, 1987; Dahncke, 1988, Svreck, 1988; Trudell and Ammirati, 1989; Watling and Gregory, 1989; Webster, 1989; Bresinsky and Besl, 1990; Ellis and Ellis, 1990; Breitenbach and Kranzlin, 1991; Dahncke, 1993; Pacioni, 1993; Breitenbach and Kranzlin, 1995; Jordan, 1996; Smith and Smith, 1996; Winkler, 1996; Pace, 1998; Riva, 2003; Jordan, 2004; Kranzlin, 2005; Medardi, 2006; Cannon and Kirk, 2007; Trudell and Ammirati, 2009).

Fungarium samples identified within the vicinity of

Yenice district of Karabük province are stored in the Fungarium of the Mushroom Application and Research Center of Selçuk University.

RESULTS and DISCUSSION

Macrofungi species determined as a result of field and laboratory studies belonged to *Ascomycota* and *Basidiomycota* divisions. The systematic sequence of the species was prepared according to Index Fungorum (URL1: see www.indexfungorum.org) [date of visit: 13.07.2021].

The numbers of mushrooms collected from each locality are given in Table 1.

The ecological properties of all the samples other than the new records are in agreement with Sesli et al., (2020). In the list, Turkish name(T.N.) of each taxon was also given in paranthesis, after the author(s) name.

Table 1 Information of stations determined in the study area A: Ascomycota, B: Basidiomycota
 Çizelge 1. Araştırma alanında belirlenen istasyon bilgileri: A: Ascomycota, B: Basidiomycota

Locality	GPS	Height	Division	The numbers of the mushroom detected
1. Yalak Yanı	41°17'23N 32°30'46E	1470m	A	
			B	146
2. Büyük Düz	41°17'21N 32°28'11E	933m	A	14, 18, 19
			B	52, 55, 78, 84, 96, 168, 174, 195, 207
3. Tütünlük	41°16'27N 32°29'00E	1236m	A	13, 14, 14, 30
			B	43, 64, 71, 75, 82, 90, 96, 156, 162, 174, 195, 204
4. Kara Kaya	41°16'10N 32°29'52E	1369m	A	16, 14, 30
			B	41, 49, 58, 72, 124, 138, 138, 146, 146, 150, 151, 155, 171, 174, 176, 179, 198, 200, 201, 206,
5. Kızıl Kaya	41°15'06N 32°26'32E	399m	A	28, 30
			B	42, 48, 52, 55, 57, 58, 68, 72, 72, 73, 77, 82, 86, 96, 100, 105, 125, 125, 126, 146, 172, 179, 198, 198, 198, 201, 206, 207, 209
6. Gökbel	41°14'14N 32°26'03E	308m	A	14
			B	85, 87, 93, 96, , 127, 138, 139, 140, 140, 163, 167, 173, 174, 178, 197, 198, 207, 207, 211
7. Şen Köy Taşhoğlu Mahallesi	41°14'47N 32°23'38E	698m	A	2, 9,
			B	34, 35, 42, 47, 48, 54, 65, 92, 96, 99, 108, 109, 112, 122, 134, 148, 184, 192, 201, 212, 213
8. Arberatum	41°11'12K 32°24'04E	529m	A	9, 30,
			B	44, 55, 83, 84, 125, 133, 141, 162, 172, 174, 174, 195, 198, 198, 198, 207
9. Kuz Dağı	41°10'14N 32°24'51E	1071m	A	5
			B	38, 56, 82
10. Anıt Porsuk	41°09'38N 32°24'10E	1201m	A	
			B	52, 172, 198, 201
11. Seyir Tepesi	41°09'40N 32°21'22E	470m	A	1, 6, 25, 27, 32
			B	39, 41, 45, 46, 50, 52, 55, 56, 63, 65, 74, 79, 84, 84, 88, 89, 90, 91, 94, 98, 119, 122, 123, 136, 138, 141, 142, 143, 145, 146, 147, 151, 152, 154, 158, 160, 160, 162, 164, 168, 168, 169, 172, 174, 174, 180, 184, 186, 194, 195, 195, 195, 197, 198, 200, 201, 201, 201, 201, 207, 209, 214
12. İnce Bacaklar Üstü	41°11'00N 32°20'59E	549m	A	
			B	76, 180, 196
13. Yenice Forest Management Directorate	41°11'57N 32°19'35E	182m	A	
			B	33, 199
14. Göktepe Piknik Alanı	41°10'17N 32°14'39E	946m	A	
			B	82, 197, 207
15. Göktepe Yaylası	41°10'32N 32°15'47E	812m	A	1
			B	197, 207
16. Fındık Altı	41°07'40N 32°17'11E	334m	A	2, 5, 6, 6, 7, 9, 11, 13, 19, 23, 28, 29, 30, 32
			B	42, 47, 52, 52, 53, 55, 58, 66, 66, 67, 72, 83, 84, 92, 111, 118, 121, 122, 137, 137, 138, 140, 147, 148, 148, 149, 149, 151, 151, 163, 169, 172, 174, 179, 195, 196, 197, 197, 198, 206, 207, 207, 207
17. Mollu Ömer	41°06'43N 32°16'38E	375m	A	7, 7, 19,
			B	41, 47, 48, 72, 83, 84, 88, 92, 95, 111, 113, 116, 118, 121, 124, 127, 144, 148, 149, 160, 169, 169, 189, 192, 197, 205, 206, 207,
18. Gelen Dere	41°04'59N 32°09'05E	634m	A	3
			B	42
19. İncebacaklar Köyü	41°10'58N 32°20'57E	562m	A	4
			B	101, 129, 130, 131, 208, 104, 115

20. Doksan Deposu	41°06'07N 32°15'39E	442m	A	6, 8, 12, 14, 21, 22, 23, 30
			B	38, 83, 96, 109, 116, 132, 168, 173, 174, 174, 195, 203
21. Akçam Makası	41°05'37N 32°13'34E	481m	A	
			B	42, 47, 83, 93, 95, 106, 163, 174, 174, 179, 195, 206, 207
22. Han Deresi	41°03'14N 32°10'50E	695m	A	
			B	61, 81, 84, 125, 148, 149, 151, 163, 164, 172, 174, 174, 198, 201, 207, 207
23. Kuru Çeşme	41°02'27N 32°19'14E	946m	A	32
			B	111, 162
24. Eğri Ova Göleti	41°01'35N 32°22'11E	1450m	A	
			B	82, 82, 102, 124, 162
25. Somunlu	41°02'04N 32°24'06E	1247m	A	
			B	88
26. Şeker Meşe	41°03'43N 32°24'18E	804m	A	14, 14,
			B	137, 157, 162, 168, 1168, 172, 173, 198
27. Gölet	41°05'02N 32°25'48E	1348m	A	30
			B	
28. Belen Yaylası	41°06'13N 32°29'11E	1093m	A	3
			B	40, 58, 82, 178
29. Sipahiler Köyü	41°06'25N 32°30'19E	979m	A	16, 30
			B	96, 140, 215
30. Darı Yazısı	41°06'37N 32°22'34E	532m	A	
			B	46, 111, 164, 196
31. Kanyon Girişi	41°08'16N 32°21'51E	456m	A	10, 12, 14, 18, 19, 19, 24, 26, 30, 31
			B	37, 47, 51, 55, 55, 62, 68, 69, 70, 74, 97, 103, 118, 120, 128, 139, 153, 156, 161, 163, 165, 166, 172, 172, 174, 174, 175, 177, 190, 191, 192, 193, 195, 195, 198, 202, 207
32. Bataklık	41°15'33N 32°13'33E	466m	A	13,
			B	36, 39, 121, 122, 148, 165, 170, 181, 187, 188, 178, 195, 196, 200
33. Kaya Arkası	41°14'49N 32°14'24E	430m	A	
			B	162, 195
34. Yolun Sonu	41°15'39N 32°16'46E	875m	A	
			B	196
35. Boletus Yeri	41°15'18N 32°15'50E	915m	A	
			B	60, 162
36. Yağ Basan	41°15'08N 32°16'54E	626m	A	7, 15
			B	36, 43, 52, 103, 116, 117, 156, 162, 164, 173, 196, 201, 207
37. Kanyon Tesisleri	41°11'53N 32°21'59E	165m	A	17, 20
			B	80, 102, 114, 159

ASCOMYCOTA (T.N.: Keseli mantarlar)

DIATRYPACEAE (T.N.: Kabukyarasıgiller)

1. *Diatrype disciformis* (Hoffm.) Fr. (T.N.: Gürgenyarası)

DISCINACEAE (T.N.: Dibiburuşukgiller)

2. *Gyromitra esculenta* (Pers.) Fr. (T.N.: Kuzugöbeğiesesi)
3. *Gyromitra infula* (Schaeff.) Quél. (T.N.: Taraklıgöbeğiesesi)

GELATINODISCACEAE

4. *Ascocoryne cylichnium* (Tul.) Korf (T.N.: Mordamak)

HELOTIACEAE (T.N.: Mihmantarıgiller)

5. *Hymenoscyphus calyculus* (Fr.) W. Phillips (T.N.: Sarımih)

HELVELLACEAE (T.N.: Semermantarıgiller)

6. *Dissingia leucomelaena* (Pers.) K. Hansen & XH Wang (T.N.: Çukur semermantarı)
7. *Helvella acetabulum* (L.) Quél. (T.N.: Kuzukulağımantarı)
8. *Helvella crispa* (Scop.) Fr. (T.N.: Delikli semermantarı)
9. *Helvella elastica* Bull. (T.N.: Esnek semermantarı)
10. *Helvella lacunosa* Afzel. (T.N.: Bet semermantarı)
11. *Helvella latispora* Boud (T.N.: Kertik semermantarı)

12. *Helvella pezizoides* Afzel. (T.N.: Çanak semermantarı)

HYPOXYLACEAE

13. *Jackrogersella multiformis* (Fr.) L. Wendt, Kuhnert & M. Stadler (T.N.: Çok dalbeni)

14. *Hypoxylon fragiforme* (Pers.) J. Kickx f. (T.N.: Pasdamla)

15. *Hypoxylon fuscum* (Pers.) Fr. (T.N.: Pütürdamla)

LACHNACEAE (T.N.: Akçanakgiller)

16. *Lachnellula subtilissima* (Cooke) Dennis (T.N.: Killitas)

17. *Lachnum virgineum* (Batsch) P. Karst. (T.N.: Akçanak)

18. *Neodasyscypha cerina* (Pers.) Spooner (T.N.: Kayınkadehi)

MOLLISACEAE

19. *Mollisia cinerea* (Batsch) P. Karst. (T.N.: Boztepsi)

20. *Tapesia fusca* (Pers.) Fuckel (T.N.: Alakulp)

MORCHELLACEAE (T.N.: Kuzugöbeğigiller)

21. *Morchella semilibera* DC., Lamarck & de Candolle (T.N.: Hacitakkesi)

22. *Morchella elata* Fr. (T.N.: Siyah göbek)

23. *Morchella esculenta* (L.) Pers. (T.N.: Kuzugöbeği)

PEZIZELLACEAE

24. *Calycina citrina* (Hedw.) Gray (T.N.: Sarıdamla)

PYRONEMATAACEAE (T.N.: Külörtengiller)

25. *Humaria hemisphaerica* (F.H. Wigg.) Fuckel (T.N.: Sarı tüylüfincan)

26. *Otidea alutacea* (Pers.) Masee (T.N.: Yerkulağı)

27. *Scutellinia scutellata* (L.) Lambotte (T.N.: Dikenlitabak)

SARCOSYPHACEAE (T.N.: Alçanakgiller)

28. *Sarcosypha coccinea* (Gray) Boud. (T.N.: Alçanak)

TARZETTACEAE

29. *Tarzetta catinus* (Holmsk.) Korf & J.K. Rogers (T.N.: Ak dişlitas)

XYLARIACEAE (T.N.: Ölüparmağigiller)

30. *Xylaria hypoxylon* (L.) Grev. (T.N.: Güdük ölüparmak)

31. *Xylaria longipes* Nitschke (T.N.: Uzun ölüparmak)

32. *Xylaria polymorpha* (Pers.) Grev. (T.N.: Çok ölüparmak)

BASIDIOMYCOTA (T.N.: Topuzlu mantarlar)

AGARICACEAE (T.N.: İçikızılgiller)

33. *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach (T.N.: Kültürmantarı)

34. *Agaricus macrocarpus* F.H. Möller (T.N.: Çayır mantarı)

35. *Agaricus xanthodermus* Genev. (T.N.: Ağulu kızıl)

36. *Coprinus comatus* (O.F. Müll.) Pers. (T.N.: Söbelen)

37. *Lepiota wasseri* Bon (T.N.: Yarık pullu)

38. *Macrolepiota fuliginosa* (Barla) Bon (T.N.: Dedebörtü)

39. *Macrolepiota mastoidea* (Fr.) Singer (T.N.: Turnabacağı)

40. *Macrolepiota procera* (Scop.) Singer (T.N.: Kartalayağı)

AMANTACEAE (T.N.: Keselimantargiller)

41. *Amanita citrina* Pers. (T.N.: Patateskesesi)

42. *Amanita muscaria* (L.) Lam. (T.N.: Gelin mantarı)

43. *Amanita pantherina* (DC.) Krombh. (T.N.: Panter mantarı)

ATHELLACEAE (T.N.: Havlımantargiller)

44. *Byssocorticium pulchrum* (S. Lundell) M.P. Christ. (T.N.: Has göktozu)

AURICULARIACEAE (T.N.: Kulakmantarıgiller)

45. *Auricularia auricula-judae* (Bull.) Quel. (T.N.: Kulakmantarı)

46. *Auricularia mesenterica* (Dicks.) Pers. (T.N.: Boz kulakmantarı)

47. *Exidia glandulosa* (Bull.) Fr. (T.N.: Kıvrık karabeyin)

48. *Exidia recisa* (Ditmar) Fr. (T.N.: Şeker karabeyin)

BOLETACEAE (T.N.: Boletgiller)

49. *Boletus edulis* Bull. (T.N.: Çörek mantarı)

50. *Boletus reticulatus* Schaeff. (T.N.: Ayı mantarı)

51. *Butyriboletus regius* (Krombh.) Arora & J.L. Frank (T.N.: Süslübolet)

52. *Leccinellum pseudoscabrum* (Kallenb.) Mikšik (T.N.: Gürgenmantarı)

53. *Leccinum scabrum* (Bull.) Gray (T.N.: Pullu örgübacak)

54. *Neoboletus erythropus* (Pers.) C. Hahn (T.N.: Kuzumantarı)

55. *Rubroboletus satanas* f. *satanas* (Lenz) Kuan Zhao & Zhu L. Yang (T.N.: Şeytanbolet)

56. *Xerocomellus chrysenteron* (Bull.) Šutara (T.N.: Pöslen)

CLAVARIACEAE (T.N.: Çomakmantarıgiller)

57. *Clavaria acuta* Sowerby (T.N.: Sivriçomak)

58. *Ramariopsis subtilis* (Pers.) R.H. Petersen (T.N.: Cadısaçağı)

CLAVARIADELPHACEAE (T.N.: Topuzmantarıgiller)

59. *Clavariadelphus truncatus* Donk (T.N.: Topuzmantarı)

CREPIDOTACEAE

60. *Crepidotus cesatii* (Rabenh.) Sacc. (T.N.: Oymalı ayaksız)

61. *Crepidotus mollis* (Schaeff.) Stauder (T.N.: Acur ayaksız)

DACRYMYCETACEAE (T.N.: Altınpeltegiller)

62. *Calocera cornea* (Batsch) Fr. (T.N.: Sarıboynuz)

63. *Calocera viscosa* (Pers.) Fr. (T.N.: Yaş sarıboynuz)

64. *Dacrymyces stillatus* Nees (T.N.: Süslü altınpelte)

65. *Dacrymyces variisporus* McNabb (T.N.: Alaca altınpelte)

DIPLOCYSTIDIACEAE (T.N.: Dişliyıldızgiller)

66. *Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morgan (T.N.: Dişliyıldız)

ENTOLOMATACEAE (T.N.: Kıvrıkbaşgiller)

67. *Clitopilus prunulus* (Scop.) P. Kumm. (T.N.: Armut unmantarı)

FOMITOPSIDACEAE (T.N.: Kızılağlayangiller)

68. *Daedalea quercina* (L.) Pers. (T.N.: Kenetlabirent)

69. *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst. (T.N.: Çam kızağlayanı)

70. *Rhodofomes roseus* (Alb. & Schwein.) Vlasák (T.N.: Göknarkavı)

GEASTRACEAE (T.N.: Yeryıldızgiller)

71. *Geastrum pectinatum* Pers. (T.N.: Alımlı yeryıldızı)

72. *Geastrum rufescens* Pers. (T.N.: Kızıl yeryıldızı)

GLOEOPHYLLACEAE (T.N.: Kütüktereğigiller)

73. *Gloeophyllum abietinum* (Bull.) P. Karst. (T.N.: Göknartereği)

GOMPHACEAE (T.N.: Mortopaçgiller)

74. *Ramaria aurea* (Schaeff.) Quél. (T.N.: Gelintelicesi)

75. *Ramaria flava* (Schaeff.) Quél. (T.N.: Tellice)

76. *Ramaria lutea* Schild (T.N.: Saritellice)

GOMPHIDIACEAE (T.N.: Gabaramantarigiller)

77. *Chroogomphus rutilus* (Schaeff.) O.K. Mill. (T.N.: Geyikmantarı)

HERICIACEAE (T.N.: Dedesakalımantarıgiller)

78. *Heridium coralloides* (Scop.) Pers. (T.N.: Dedesakalı mantarı)

79. *Heridium erinaceus* (Bull.) Pers. (T.N.: Tülübüzük)

HYDNACEAE (T.N.: Sığırdilimantarigiller)

80. *Cantharellus cibarius* Fr. (T.N.: Sarıkızmantarı)

81. *Cantharellus cinereus* (Pers.) Fr. (T.N.: Gümüşkızmantarı)

82. *Cantharellus friesii* Quél. (T.N.: Cücekızmantarı)

83. *Clavulina cinerea* (Bull.) J. Schröt. (T.N.: Gümüş

tepelimercan)

84. *Clavulina rugosa* (Bull.) J. Schröt. (T.N.: Kaba tepelimercan)

85. *Craterellus cornucopioides* (L.) Pers. (T.N.: Borazanmantarı)

86. *Craterellus tubaeformis* (Fr.) Quél. (T.N.: Cıvcıvayağı)

87. *Hydnum repandum* L. (T.N.: Sığırdilimantarı)

HYDNANGIACEAE (T.N.: Düzenbazgiller)

88. *Laccaria laccata* (Scop) Cooke (T.N.: Düzenbaz)

HYGROPHORACEAE (T.N.: Gaypaşukgiller)

89. *Arrhenia oniscus* (Fr.) Redhead, Lutzoni Moncalvo & Vilgalys (T.N.: Çukur yosunmantarı)

90. *Hygrocybe conica* (Schaeff.) P. Kumm. (T.N.: Alaca mummantarı)

91. *Hygrocybe substrangulata* (P.D. Orton) P.D. Orton & Watling (T.N.: Altboğumlu mummantarı)

It is new record for Turkey (Figure 3). Detailed information on the taxon is available in Candusso, (1997).

Seyir tepesi, 41°09'40N, 32°21'22E, 470m, 24.11.2013.



Figure 3. *Hygrocybe substrangulata* basidiocarpus

Şekil 3. *Hygrocybe substrangulata* bazidiyokarları

92. *Hygrophorus atramentosus* (Alb. & Schwein.) H. Haas & R. Haller Aar. ex Bon (T.N.: Mürkekkep gaypaşuk)

It is new record for Turkey (Figure 4). Detailed information on the taxon is available in Ludwig, (2012).

Şen köy, Taşhoğlu Mah., 41°14'47N, 32°23'38E, 698m, 08.11.2014.

93. *Hygrophorus chrysodon* (Batsch) Fr. (T.N.: Sarı gaypaşuk)

94. *Hygrophorus eburneus* (Bull.) Fr. (T.N.: Ak gaypaşuk)

95. *Hygrophorus marzuolus* (Fr.) Bres. (T.N.: Yanık gaypaşuk)



Figure 4. *Hygrophorus atramentosus* basidiocarps
Şekil 4. *Hygrophorus atramentosus* bazidiyokarpları

HYMENOCHAETACEAE (T.N.: Daltarçınıgiller)

96. *Fomitiporia robusta* (P. Karst.) Fiasson & Niemelä (T.N.: Kalın terekmantarı)
97. *Hymenochaete fuliginosa* (Pers.) Lév. (T.N.: Kahve daltarçını)
98. *Hymenochaete rubiginosa* (Dicks.) Lev. (T.N.: Kızıl daltarçını)
99. *Phellinus hartigii* (Allesch. & Schnabl) Pat. (T.N.: Göknartoynağı)

HYMENOGASTRACEAE (T.N.: Papazküregiller)

100. *Galerina marginata* (Batsch) Kühner (T.N.: Kenar galerina)

INOCYBACEAE (T.N.: Kümbetmantarıgiller)

101. *Inocybe splendens* R. Heim (T.N.: Haskümbet)
102. *Pseudosperma rimosum* (Bull.) Matheny & Esteve-Rav. (T.N.: Uysalkümbet)

INCERTAE SEDIS

103. *Clitocybe bresadolana* Singer (T.N.: El hunimantarı)
104. *Clitocybe dealbata* (Sowerby) P. Kumm. (T.N.: Ağulu hunimantar)
105. *Clitocybe odora* (Bull.) P. Kumm. (T.N.: Rakılı hunimantar)
106. *Cyathus striatus* (Huds.) Willd. (T.N.: Diken çizgiliyuva)
107. *Cystoderrella granulosa* (Batsch) Harmaja (T.N.: Topuzluderi)
108. *Fistulina hepatica* (Schaeff.) With. (T.N.: Biftekmanarı)
109. *Infundibulicybe gibba* (Pers.) Harmaja (T.N.: Koca hunimantar)
110. *Laeticutis cristata* (Schaeff.) Audet (T.N.: Semerderi)
111. *Lepista nuda* (Bull.) Cooke (T.N.: Mavi cincile)
112. *Lepista personata* (Fr.) Cooke (T.N.: Diken mantarı)
113. *Melanoleuca brevipes* (Bull.) Pat. (T.N.: Kısa

yılanmantarı)

114. *Melanoleuca exscissa* (Fr.) Singer (T.N.: Boz yılanmantarı)
115. *Melanoleuca stridula* (Fr.) Singer (T.N.: Ağ yılanmantarı)
116. *Panaeolus fimicola* (Pers.) Gillet (T.N.: Yoz tersçanı)
117. *Panaeolus papilionaceus* (Bull.) Qué. (T.N.: Süslü tersçanı)
118. *Pleurocybella porrigens* (Pers.) Singer (T.N.: Mermermantarı)
119. *Trichaptum abietinum* (Dicks.) Ryvarden (T.N.: Göknar morkeneti)
120. *Trichaptum fuscoviolaceum* (Ehrenb.) Ryvarden (T.N.: Morkenet)
LYOPHYLLACEAE (T.N.: Karadönek giller)
121. *Calocybe gambosa* (Fr.) Donk (T.N.: Gugule)
LYCOPERDACEAE
122. *Bovista plumbea* Pers. (T.N.: Pufmantarı)
123. *Bovistella utrififormis* (Bull.) Demoulin & Rebriev (T.N.: Yan poslak)
124. *Lycoperdon excipuliforme* (Scop.) Pers. (T.N.: Çakalosuruğu)
125. *Lycoperdon lividum* Pers. (T.N.: Efosliyen)
126. *Lycoperdon mammiforme* Pers. (T.N.: Pelte poslak)
127. *Lycoperdon molle* Pers. (T.N.: Zayıf poslak)
128. *Lycoperdon perlatum* Pers. (T.N.: Fıssakuri)
129. *Lycoperdon pyriforme* Schaeff. (T.N.: Fosmantarı)
MARASMIACEAE (T.N.: Paraşütmantarıgiller)
130. *Marasmius bulliardii* Qué. (T.N.: El paraşütü)
131. *Marasmius rotula* (Scop.) Fr. (T.N.: Paraşütmantarı)
132. *Marasmius oreades* (Bolton) Fr. (T.N.: Mıhbaşı)
MERIPILACEAE (T.N.: Karakıçmantarıgiller)
133. *Meripilus giganteus* (Pers.) P. Karst. (T.N.: Karakıçmantarı)
MYCENACEAE (T.N.: Kukulcukgiller)
134. *Mycena crocata* (Schrad.) P. Kumm. (T.N.: Şiş kukulcuk)
135. *Mycena epipterygia* (Scop.) Gray (T.N.: Yel kukulcuk)
136. *Mycena pura* (Pers.) P. Kumm. (T.N.: Mor kukulcuk)
137. *Panellus mitis* (Pers.) Singer (T.N.: Cüceyelpaze)
138. *Panellus stipticus* (Bull.) P. Karst. (T.N.: Ser yüceyelpaze)
139. *Xeromphalina campanella* (Batsch) Kühner & Maire (T.N.: Göbekliçan)

140. *Xeromphalina caudicinalis* (With.) Kühner & Maire (T.N.: Sarı göbekliçan)

OMPHALOTACEAE (T.N.: Ağulumantargiller)

141. *Gymnopus dryophilus* (Bull.) Murrill (T.N.: Sarı çırpıbacak)

142. *Mycetinis alliaceus* (Jacq.) Earle ex A.W. Wilson & Desjardin (T.N.: Kokar boynukara)

143. *Rhodocollybia butyracea* (Bull.) Lennox (T.N.: Göverttek)

PHANEROCHAETACEAE (T.N.: Dalceketigiller)

144. *Bjerkandera adusta* (Willd.) P. Karst. (T.N.: Kandermantarı)

PHYSALACRIACEAE (T.N.: Balmantarigiller)

145. *Armillaria mellea* (Vahl) P. Kumm. (T.N.: Balmantarı)

146. *Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink (T.N.: Külahlı balmantarı)

147. *Hymenopellis radicata* (Relhan) R.H. Petersen (T.N.: Boz zarderi)

148. *Mucidula mucida* (Schrad.) Pat. (T.N.: Odun perisi)

149. *Strobilurus stephanocystis* (Kühner & Romagn. ex Hora) Singer (T.N.: El kozalakebesi)

150. *Strobilurus tenacellus* (Pers.) Singer (T.N.: Kozalakebesi)

151. *Xerula pudens* (Pers.) Singer (T.N.: Cıvıksert)

PLEUROTACEAE (T.N.: İstiridyemantarigiller)

152. *Pleurotus eryngii* (DC.) Qué. (T.N.: Çakşırmantarı)

153. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (T.N.: İstiridyemantarı)

PLUTEACEAE (T.N.: Çıtkırdıgiller)

154. *Volvopluteus gloiocephalus* (DC.) Vizzini, Contu & Justo (T.N.: Kakilvik)

155. *Pluteus phlebophorus* (Ditmar) P. Kumm. (T.N.: Fukara çıtkırdı)

156. *Pluteus salicinus* (Pers.) P. Kumm. (T.N.: Söğüt çıtkırdı)

POLYPORACEAE (T.N.: Bindelikmantarigiller)

157. *Cerioporus squamosus* (Huds.) Qué. (T.N.: Görkemli)

158. *Daedaleopsis nitida* (Durieu & Mont.) Zmitr. & Malysheva (T.N.: Çıplak sarıkenet)

159. *Fomes fomentarius* (L.) Fr. (T.N.: Kavmantarı)

160. *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. (T.N.: Terek reyşi)

161. *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. (T.N.: Reyşi)

162. *Lentinus arcularius* (Batsch) Zmitr. (T.N.: Delikli kaplanmantarı)

163. *Lentinus brumalis* (Pers.) Zmitr. (T.N.: Küt

kaplanmantarı)

164. *Lentinus tigrinus* (Bull.) Fr. (T.N.: Kaplanmantarı)

165. *Lenzites betulinus* (L.) Fr.

166. *Neofavolus alveolaris* (DC.) Sotome & T. Hatt. (T.N.: Tüylüyanak)

167. *Picipes melanopus* (Pers.) Zmitr. & Kovalenko (T.N.: Koyu ağaçdeliklisi)

168. *Pycnoporus cinnabarinus* (Jacq.) P. Karst. (T.N.: Kızılkenet)

169. *Trametes gibbosa* (Pers.) Fr. (T.N.: Boz hindikuyruğu)

170. *Trametes hirsuta* (Wulfen) Lloyd (T.N.: Kırçılı hindikuyruğu)

171. *Trametes pubescens* (Schumach.) Pilát (T.N.: Tüylü hindikuyruğu)

172. *Trametes versicolor* (L.) Lloyd (T.N.: Hindikuyruğu)

PANACEAE

173. *Panus neostrigosus* Drechsler-Santos & Wartchow (T.N.: Yivli panus)

PSATHYRELLACEAE (T.N.: Pulcuklugiller)

174. *Coprinellus micaceus* (Bull.) Vilgalys, Hopple & Jacq. Johnson (T.N.: Pullumürekkap)

175. *Coprinopsis atramentaria* (Bull.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo (T.N.: Kütük döbeleni)

176. *Coprinopsis picacea* (Bull.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo (T.N.: Billur döbelen)

177. *Psathyrella candolleana* (Fr.) Maire (T.N.: Güzel pulcuklu)

177. *Psathyrella tephrophylla* (Romagn.) M.M. Moser (T.N.: Zarif sevelen)

PSEUDOCLITOCYBACEAE

179. *Pseudoclitocybe cyathiformis* (Bull.) Singer (T.N.: Pslivan)

RHIZOPOGONACEAE (T.N.: Tavşanböbreğigiller)

180. *Rhizopogon ochraceorubens* A.H. Sm. (T.N.: Sarı tavşanböbreği)

181. *Rhizopogon roseolus* (Corda) Th. Fr. (T.N.: Al tavşanböbreği)

RUSSULACEAE (T.N.: Kirmitgiller)

182. *Lactarius aurantiacus* (Pers.) Gray (T.N.: Alsütlüce)

183. *Lactarius blennius* (Fr.) Fr. (T.N.: Bozsütlüce)

184. *Lactarius deliciosus* (L.) Gray (T.N.: Kanlıca mantarı)

185. *Lactarius fulvissimus* Romagn. (T.N.: Günsütlüsü)

186. *Lactarius scrobiculatus* (Scop.) Fr. (T.N.: Beneklimelki)

187. *Lactarius vellereus* (Fr.) Fr. (T.N.: Biberlice)

188. *Lactifluus bertillonii* (Neuhoff ex Z. Schaef.) Verbeke (T.N.: Aksütlüce)
189. *Russula amoenolens* Romagn (T.N.: Cemre kirit)
190. *Russula aurea* Pers. (T.N.: Elikmantarı)
191. *Russula cyanoxantha* var. *cyanoxantha* (Schaeff.) Fr. (T.N.: Kıvrık kirit)
192. *Russula delica* Fr. (T.N.: Akçınar)
193. *Russula emetica* (Schaeff.) Pers. (T.N.: Ağulu kirit)
194. *Russula ochroleuca* Fr. (T.N.: Oyalı kirit)
- SCHIZOPHYLLACEAE** (T.N.: Kımukgiller)
195. *Schizophyllum commune* Fr. (T.N.: Kımuk)
- STEREACEAE** (T.N.: Katmantarıgiller)
196. *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers. (T.N.: Killi katmantarı)
197. *Stereum ochraceoflavum* (Schwein.) Sacc. (T.N.: Sarı katmantarı)
198. *Stereum subtomentosum* Pouzar (T.N.: Tüylü katmantarı)
- STROPHARIACEAE** (T.N.: Çayırçüçesigiller)
199. *Agrocybe dura* (Bolton) Singer (T.N.: Yaz meteliği)
200. *Agrocybe praecox* (Pers.) Fayod (T.N.: Bahar meteliği)
201. *Deconica coprophila* (Bull.) P. Karst. (T.N.: Tez kefgarik)
202. *Hypholoma fasciculare* (Huds.) P. Kumm. (T.N.: Ağulu sarıpapak)
203. *Hypholoma marginatum* J. Schröt. (T.N.: Dalgalı sarıpapak)
204. *Pholiota adiposa* (Batsch) P. Kumm. (T.N.: Kıvrık pulbaş)
205. *Pholiota limonella* (Peck) Sacc. (T.N.: Saman pulbaş)
206. *Stropharia aeruginosa* (Curtis) Qué. (T.N.: Mavi cüçüle)
207. *Stropharia caerulea* Kreisel (T.N.: Yer cüçülesi)
- TREMELLACEAE** (T.N.: Sarıpeltegiller)
208. *Tremella mesenterica* Retz. (T.N.: Sarıpelte)
- TRICHOLOMATACEAE** (T.N.: Karakızmantarıgiller)
209. *Aspropaxillus candidus* (Bres.) M.M. Moser Bres. (T.N.: Ak hunimantar)
210. *Tricholoma fracticum* (Britzelm.) Kreisel (T.N.: Vaykarakız)
211. *Tricholoma orirubens* Qué. (T.N.: Esmerkarakız)
212. *Tricholoma saponaceum* (Fr.) P. Kumm. (T.N.: Kokulukarakız)
213. *Tricholoma stiparophyllum* (N. Lund) P. Karst. (T.N.: Gelinkarakız)

214. *Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm. (T.N.: Karakızmantarı)
215. *Tricholoma virgatum* (Fr.) P. Kumm (T.N.: Sivrikarakız)

With this study, 215 taxa were determined belonging to 2 divisions and 58 families by evaluating the samples collected as a result of field studies carried out between 2012-2014 in the vicinity of Yenice district of Karabük province, selected as a research area. While 32 of the collected taxa belong to *Ascomycota*, 183 of them belonged to *Basidiomycota* division. *Hygrocybe substrangulata* (P.D. Orton) P.D. Orton & Watling, and *Hygrophorus atramentosus* (Alb. & Schwein.) H. Haas & R. Haller Aar. ex Bon, have been identified as new records for Turkey.

The taxa that are commonly found in the study area are *Trametes versicolor*, *Tremella mesenterica*, *Stereum subtomentosum*, *Schizophyllum commune*, *Fomes fomentarius*, *Hypholoma fasciculare*, *Hypoxyton fragiforme*, *Xylaria hypoxyton*, *Ganoderma lucidum*, *Trametes hirsuta*, *Auruularia auricula-judae*, *Exidia glandulosa*, *Fomitopsis pinicola*, *Armillaria mellea*, *Lentinus arcularius*, *Stereum hirsutum*, *Stereum ochraceoflavum* respectively.

Distribution of the determined taxa to the families are given in Figure 5. As it is also indicated on the figure, the most common families in the region are *Polyporaceae* and *Russulaceae* respectively.

Considering the studies conducted in the region and its close environs, the results are given below in comparison (Fig. 6).

A study named "The Macrofungi of Karabük Province" was conducted in the region and 121 species were identified (Yağız et al., 2005). Again, 224 species were collected in a doctoral thesis named "Macrofungal diversity of Ilgaz Mountain National Park and its environs (Turkey)" in Çankırı, which is a neighbour to the region we researched (Akata, 2008).

As a result of the comparison of the studies, 21 common families were identified in three studies (Yağız et. all, 2005; Akata 2008; Kaşık et. All, 2022). Considering the number of species belonging to these families, it can be said that except for four families, the number of taxa is mostly similar and they are almost the same species. As a result of the changes in the systematic of macrofungi since the first study, many families we have identified in our study could not be detected in the other two studies (Yağız et. all, 2005; Akata 2008), especially in the first study, it was found that this number was higher. This is because in some families, the samples are not found intensely in nature or the habitats where the samples are collected are not the same. Or even if the same taxa have been found, the systematic arrangements of taxa are in different families. For

this reason, in our study, some taxa were identified in different families as a result of systematic developments. However, in general, the similarity

rate of the detected taxa is higher than the rate of difference, since the study areas are close to each other.

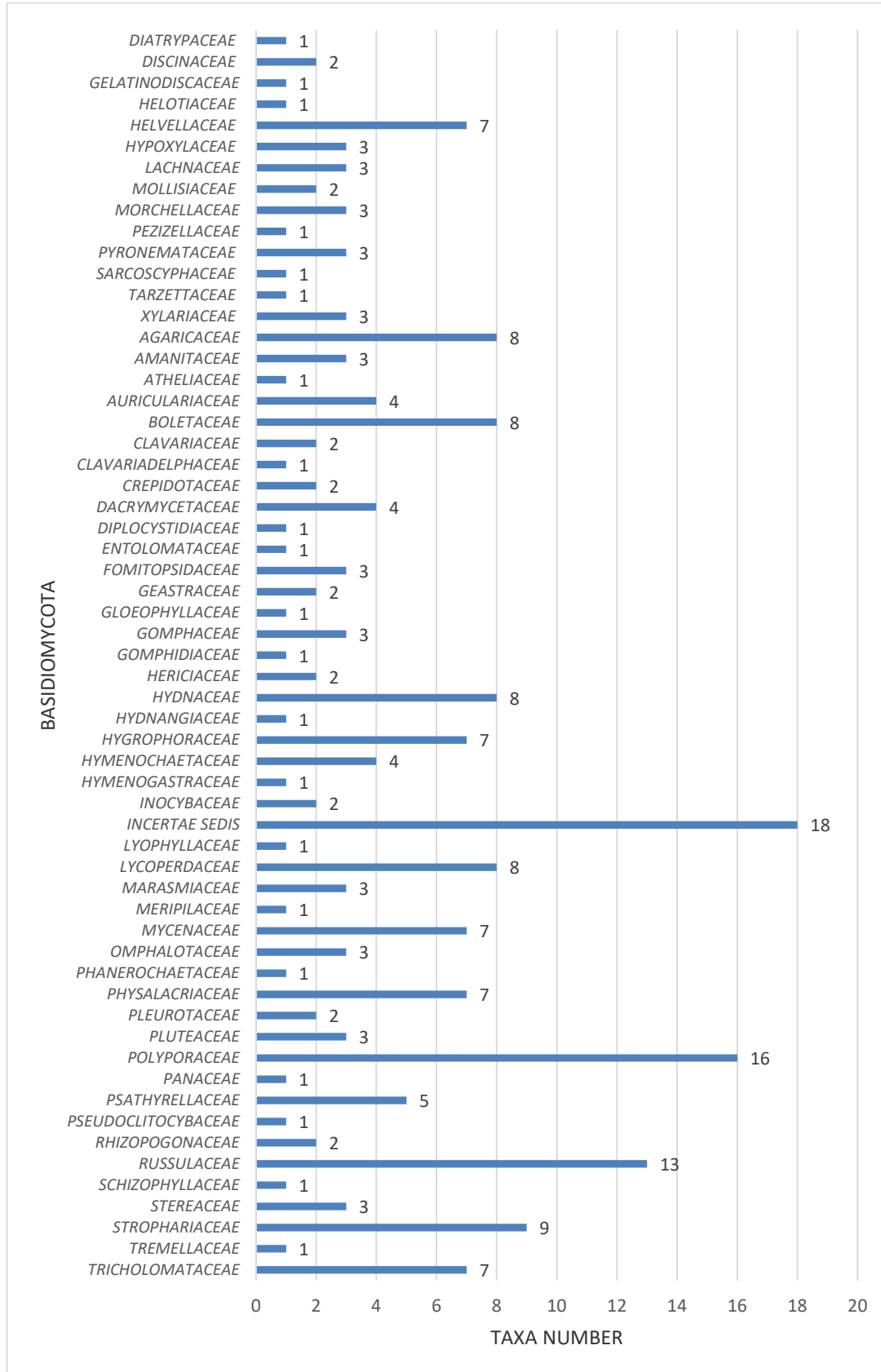


Figure 5. Taxa numbers of *Ascomycota* and *Basidiomycota* according to families
 Şekil 5. Familyalara göre *Ascomycota* ve *Basidiomycota* takson sayıları

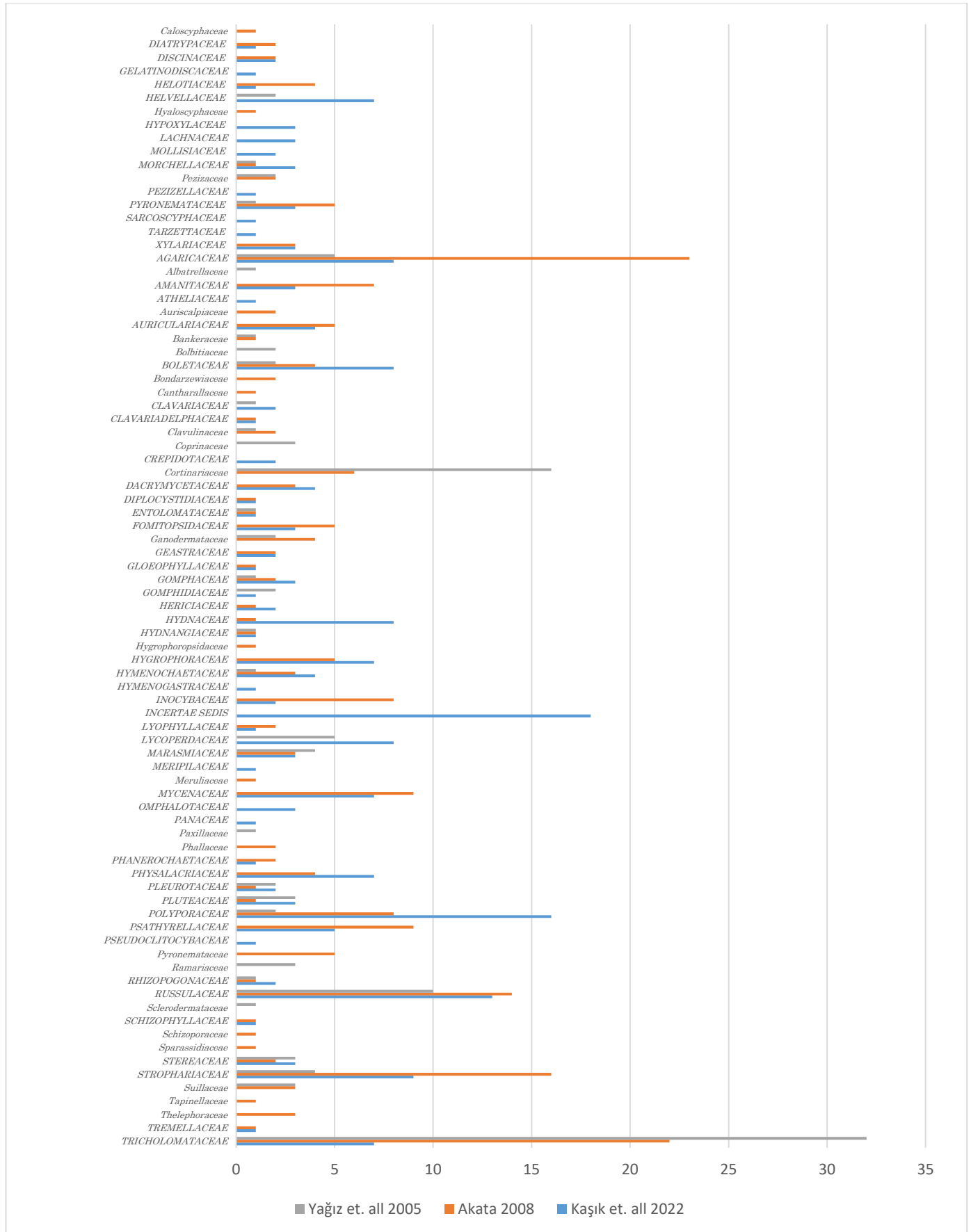


Figure 6. Comparisons of taxon numbers according to families
 Şekil 6. Familyalara göre takson sayılarının karşılaştırılması

CONCLUSION

Kingdom fungi is a diverse one and contains many kinds of fungal species among which some helpful to human while some harmful or neutral. To be able to use such properties of this group of living things for the benefit of humanity, it is necessary to know the members of this kingdom.

With this study, which we carried out within the boundaries of Yenice district of Karabük province, 215 species belonging to 55 families and 2 divisions were determined. Besides, two species, which were not presented from Turkey before, are reported as new record, by contributing to the fungal list of Turkey.

ACKNOWLEDGEMENT

We would like to thank Selçuk University BAP coordination for supporting this work with project number 13401026 and Yenice Forest Management Directorate for their support in field studies.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

REFERENCES

- Acar İ, Uzun Y, Demirel K, Keleş A 2015. Macrofungal diversity of Hani (Diyarbakır/Turkey) District. *Biological Diversity and Conservation* 8(1): 28-34.
- Akata I 2008. Ilgaz Dağı Milli Parkı ve Yakın Çevresinin Makrofungus Florası. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 470 sy.
- Akata I, Kabaktepe Ş, Sevindik M, Akgül H 2018. Macrofungi determined in Yuvacık basin (Kocaeli) and its close environs. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty* 18(2): 152-163.
- Akata I, Uzun Y, Kaya A 2014. Macromycetes determined in Yomra (Trabzon) district. *Turkish Journal of Botany* 38: 999-1012. doi:10.3906/bot-1309-22
- Akata I, Uzun Y, Kaya A 2016. Macrofungal diversity of Zigana Mountain (Gümüşhane/Turkey). *Biological Diversity and Conservation* 9(2): 57-69.
- Akçay ME 2019. A new edible macrofungus record for Turkey. *Journal of Natural & Applied Sciences of East* 2(1): 10-15.
- Akçay ME, Uzun Y 2016. *Belonidium mollissimum* (Lachnaceae): A New Record for The Mycota of Turkey. *Mantar Dergisi* 7(2): 118-121.
- Breitenbach J, Kränzlin F 1983. *Fungi of Switzerland* (Vol. Volume 1. Ascomycetes). CH-6000 Luzern 9, Switzerland: Verlag Mykologia.
- Breitenbach J, Kränzlin F 1986. *Fungi of Switzerland* (Vol. Volume 2. Nongilled Fungi). CH-6000 Luzern 9, Switzerland: Verlag Mykologia.
- Breitenbach J, Kränzlin F 1991. *Fungi of Switzerland* (Vol. Volume 3. Boletes and Agarics 1. Part). CH-6000 Luzern 9, Switzerland: Verlag Mykologia.
- Breitenbach J, Kränzlin F 1995. *Fungi of Switzerland* (Vol. Volume 4.). CH-6000 Luzern 9, Switzerland: Verlag Mykologia.
- Bresinsky A, Besl H 1990. *A Colour Atlas of Poisonous Fungi*. London: Wolf Publishing.
- Candusso M 1997. *Fungi Europaei* 7. *Hygrophorus* s.l. Alassio(SV) Italy: Via Vigo 31 I-17021.
- Cannon PF, Kirk PM 2007. *Fungal Families of the World*. USA: Cambridge
- Çolak ÖF, Şen İ, Alkan N, Işıloğlu M 2015. A New and Interesting Peziza Record from Sweet Gum Forest in Turkey. *Mantar Dergisi* 6(1): 10-12.
- Dahncke RM 1988. *Grundschule Für Pilzsammler*. Stuttgart: AT Verlag.
- Dahncke RM 1993. *1200 Pilze*. Stuttgart: AT Verlag.
- Demirel K, Acar İ, Ömeroğlu Boztepe G 2016. Lice (Diyarbakır) Yöresi Makrofungusları. *Mantar Dergisi* 7(1): 29-39.
- Demirel K, Koçak MZ 2016. Zilan Vadisi'nin (Erciş-VAN) Makrofungus Çeşitliliği. *Mantar Dergisi* 7(2): 122-134.
- Demirel K, Uzun Y, Akçay ME, Keleş A, Acar İ, Efe V 2015. Van Yöresi Makromantarlarına Katkılar. *Mantar Dergisi* 6(2): 13-28.
- Demirel K, Uzun Y, Keleş A, Akçay ME, Acar İ 2017. Macrofungi of Karagöl-Sahara National Park (Şavşat-Artvin/Turkey). *Biological Diversity and Conservation* 10(2): 32-40.
- Dennis RWC 1981. *British Ascomycetes*. Germany: A. R. Gantner Verlag K. G., FL-9490.
- Doğan HH, Akata I 2015. New Additions to Turkish Gasteroid Fungi. *Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi*, 2015, 15 (2) 329-333
- Doğan HH, Kurt F 2016. New macrofungi records from Turkey and macrofungal diversity of Pozantı-Adana. *Turk J. Bot.* 40: 209-217.
- Ellis MB, Ellis JP 1990. *Fungi Without Gills* (Hymenomycetes and Gasteromycetes). London: Chapman and Hill.
- Grünert H, Grünert R 1984. *Pilze*. München: Mosaik Verlag, GmbH.
- Güngör H, Güngör MY, Solak MH 2014. New *Crepidotus* (Fr.) Staude record for Turkish mycota. *Biological Diversity and Conservation* 7(2): 127-128.
- Güngör H, Solak MH, Allı H, Işıloğlu M, Kalmış E 2015b. New records for Turkey and contributions to the macrofungal diversity of Isparta Province. *Turkish Journal of Botany* 39: 67-877.
- Güngör H, Solak MH, Allı H, Işıloğlu M, Kalmış E 2016. Contributions to the macrofungal diversity

- of Hatay province, Turkey. *Biodicon* 9(1): 101-106.
- Güngör H, Şen İ, Allı H, Solak MH 2015a. Two new Ascomycete records for Turkish Mycota. *Biological Diversity and Conservation* 8(1): 19-21.
- Hennig B, Kreisel H 1987. *Taschenbuch für Pilzfreunde*. München: Gustav Fischer Verlag.
- Işık H, Türkekul İ 2018. *Leucopaxillus lepistoides*: Yozgat Yöresinden Türkiye Mikotası için Bir Yeni Kayıt. *Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Sciences* 22(2): 402-405.
- Jordan K 1996. *The New Guide to Mushrooms*. Singapore: Anness Publishing Ltd.
- Jordan K 2004. *The Encyclopedia of Fungi of Britian and Europe*. London: Royal Botanic Garden.
- Karacan İH, Uzun Y, Kaya A, Yakar S 2015. *Pulvinula Boud.*, a new genus and three pulvinuloid macrofungi taxa new for Turkey. *Biological Diversity and Conservation* 8(2): 161-164.
- Kaşık G 2010. *Mantar Bilimi: Marifet Matbaa ve Kağıtçılık*.
- Kaşık G, Aktaş S, Alkan S, Öztürk C 2017. Selçuk Üniversitesi Alaeddin Keykubat Kampüsü (Konya) Mantarlarına İlaveler. *Mantar Dergisi* 8(2): 129-136.
- Kaya A 2015. Contributions to the macrofungal diversity of Atatürk Dam Lake basin. *Turkish Journal of Botany* 39: 162-172. doi:10.3906/bot-1404-70.
- Kaya A, Karacan İH, Uzun Y 2015. Three Phragmites Adans. inhabiting fungi taxa, new for Turkey. *Biological Diversity and Conservation* 8(1): 143-146.
- Kaya A, Uzun Y 2015. Six new genus records for Turkish Pezizales from Gaziantep Province. *Turk J. Bot.* 39: 506-511.
- Kaya A, Uzun Y 2018. New Contributions to the Turkish Ascomycota. *Turk J Bot.* 42(6): 644-652.
- Kaya A, Uzun Y, Karacan İH, Yakar S 2016. Contributions to Turkish Pyronemataceae from Gaziantep province. *Turkish Journal of Botany* 40: 298-307.
- Keleş A, Polat T, Demirel K 2017. Türkiye Mikobiyotası için Yeni Bir Kayıt (*Hygrocybe calciphila* Arnolds). *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 22(2): 139-141.
- Kränzlin F 2005. *Fungi of Switzerland (Volume 6): Andrag Mykologia*.
- Ludwig E 2012. *Pilzkommendium (Vol. Band 3)*. Berlin-Germany: Fugicon Verlag & Verlagsbuchhandlung.
- Mat A 1998 *Türkiye'de Mantar Zehirlenmeleri ve Zehirli Mantarlar (A. Mat Ed.)*. Ankara: Tübitak matbaası.
- Medardi G 2006. *Ascomiceti d'Italia*. Italy: Via G. Mazzini.
- Moser M 1983. *Keys to Agarics and Boleti*: Gustav Fisher Verlag.
- Öztürk Ö, Doğan HH, Şanda MA 2016. Some new additions to Turkish mycobiota from Sakarya region. *Biological Diversity and Conservation* 9(1): 97-100.
- Pace G 1998. *Mushrooms of The World*. Ontario, Canada: Firefly Books Ltd.
- Pacioni G 1993. *Mushrooms and Toadstools*. London: Mac Donald and Ltd.
- Phillips R 1981. *Mushrooms and Other Fungi of Great Britain and Europe*. London: Pan Books Ltd.
- Rigler L 1852. *Die Türkei und deren bewohner*.
- Riva A 2003. *Fungi Europaei. Italia*: Massimo candusso.
- Sesli E, Asan A, Selçuk F (edits.), Abacı Günyar Ö, Akata I, Akgül H, Aktaş S, Alkan S, Allı H, Aydoğdu H, Berikten D, Demirel K, Demirel R, Doğan HH, Erdoğan M, Ergül CC, Eroğlu G, Giray G, Haliki Uztan A, Kabaktepe Ş, Kadaifçiler D, Kalyoncu F, Karaltı İ, Kaşık G, Kaya A, Keleş A, Kırbag S, Kıvanç M, Ocak İ, Ökten S, Özkale E, Öztürk C, Sevindik M, Şen B, Şen İ, Türkekul İ, Ulukapı M, Uzun Ya, Uzun Yu, Yoltaş A 2020. Türkiye mantar listesi (The Checklist of Fungi of Turkey). Ali Nihat Gökyiğit Vakfı Yayını. İstanbul. 1177pp.
- Sesli E, Kobayashi T 2014. A new record for the Turkish Mycota: *Inocybe phaeodisca* Kühner var. *phaeodisca*. *Biological Diversity and Conservation* 7(1): 44-46.
- Sesli E, Vizzini A, Contu M 2015. *Lyophyllum turcicum* (Agaricomycetes: Lyophyllaceae), a new species from Turkey. *Turkish Journal of Botany* 39: 512-519. doi:10.3906/bot-1407-16
- Sesli E, Sesli TA 2016a. A new genus record (*Tephroderma*) for the Turkish mycota. *Biological Diversity and Conservation* 9(2): 202-206.
- Sesli E, Sesli TA 2016b. Türkiye için üç yeni kayıt: *Chalciporus piperatoides*, *Gymnopus menehune* ve *Lyophyllum shimeji*. *Mantar Dergisi* 7(1): 61-66.
- Sesli E, Türkekul İ, Akata I, Niskanen T 2016. New records of Basidiomycota from Trabzon, Tokat, and İstanbul provinces in Turkey. *Turkish Journal of Botany* 40(2): 531-545.
- Sesli E, Vizzini A 2017. Two new *Rhodocybe* species (sect. *Rufobrunnea*, Entolomataceae) from the East Black Sea coast of Turkey. *Turkish Journal of Botany* 41: 200-210.
- Smith A, Smith WN 1996. *The Mushroom Hunter's Field Guide*. Michigan: Thunder Bay Press, University of Michigan.
- Solak MH, Allı H, Işiloğlu M, Güngör H, Kalmış E 2014a. Contributions to the macrofungal diversity of Kilis Province. *Turkish Journal of Botany* 38: 180-185. doi:10.3906/bot-1301-19
- Solak MH, Allı H, Işiloğlu M, Güngör H, Kalmış E 2014b. Contributions to the macrofungal diversity of Antalya Province. *Turkish Journal of Botany* 38: 386-397. doi:10.3906/bot-1302-15.

- Svreck M 1988. The Illustrated Book of Mushrooms and Fungi. London.
- Şen İ, Allı H, Işıloğlu M 2014. Bigadiç (Balıkesir) Yöresi Makrofungusları. *Mantar Dergisi* 5(2): 9-16.
- Trudell S, Ammirati J 2009. Mushrooms of the Pacific Northwest. Oregon: Timber press field.
- Türkoğlu A, Castellano MA 2014. New records of some Ascomycete truffle fungi from Turkey. *Turkish Journal of Botany* 38: 406-416. doi:10.3906/bot-1303-24
- Türkoğlu A, Castellano MA, Trappe JM, Yaratanakul G, Gungör M 2015. Turkish truffles I: 18 new records for Turkey. *Turk J. Bot.* 39: 359-376.
- URL1 2020. <http://www.indexfungorum.org>. (accessed 13.07.2021).
- Uzun Y, Acar İ, Akçay ME, Kaya A 2017. Contributions to the macrofungi of Bingöl, Turkey. *Turkish Journal of Botany* 41(5): 516-534.
- Uzun Y, Karacan İH, Yakar S, Kaya A 2018. New additions to Turkish Tricholomataceae. *Anatolian Journal of Botany* 2(2): 65-69.
- Uzun Y, Kaya A, Karacan İH, Kaya ÖF, Yakar S 2015. Macromycetes determined in Islahiye (Gaziantep/Turkey) district. *Biological Diversity and Conservation* 8(3): 209-217.
- Uzun Y, Kaya A, Yakar S, Karacan İH 2016. Hyaloriaceae Lindau, A New Family Record for Turkish Mycobiota. *Mantar Dergisi* 7(1): 24-28.
- Watling R 1973. Identification of The Larger Fungi: Hulton Educational Publications Ltd.
- Watling R 1982. British Fungus Flora, Bolbitiaceae 3: *Agrocybe, Bolbitius, Conocybe*. Edinburgh: HMSO.
- Watling R, Gregory NM 1977. Larger Fungi from Turkey, Iran and Neighbouring Countries. *Karstenia* 17: 59-72.
- Watling R, Gregory NM 1989. British Fungus Flora, Agarics and Boleti 6: *Crepidotaceae, Pleurotaceae and Other Pleurotoid Agarics*. Edinburgh: HMSO.
- Webster J 1989. Introduction to Fungi. Melbourne: Cambridge University Press.
- Winkler R 1996. 2000 Pilze Einfach Bestimmen. Aarau, Schweiz.: AT Verlag.
- Yağız D, Afyon A, Konuk M 2005. Karabük Yöresi Makrofungusları. *Turkish Journal of Botany* 29: 345-353.

Bazı Üzüm Çeşitlerinin Doğal Enfeksiyon Koşullarında Mildiyö Hastalığına Karşı Reaksiyonları

Duygu MERMER DOĞU¹, Damla ZOBAR², Koray DOĞU³, Nuray ÖZER⁴, Harun BAYRAKTAR⁵

¹Türkiye Milli Botanik Bahçesi Müdürlüğü, Üniversiteler Mah., Eskişehir Yolu 6001.Cadde, 06800 Ankara- Türkiye, ²Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Karadeniz Mahallesi, Eski Malkara Yolu Caddesi No:4, 59200 Tekirdağ – Türkiye], ³Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Üniversiteler Mah. Dumlupınar Bulvarı, Eskişehir Yolu 10. Km, 06800 Ankara- Türkiye, ⁴Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, No:1, 59030 Tekirdağ – Türkiye, ⁵Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki

¹ <https://orcid.org/0000-0003-4577-1741>, ² <https://orcid.org/0000-0002-3559-3833>, ³ <https://orcid.org/0000-0001-6876-7580>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-8946-2249>, ⁵<https://orcid.org/0000-0003-2562-4461>

✉: duygumermer@gmail.com

ÖZET

Bağcılığın önemli sorunlarından biri *Plasmopara viticola* tarafından neden olunan mildiyö hastalığıdır. Bu çalışmanın amacı bazı üzüm çeşitlerinin doğal enfeksiyon koşullarında mildiyö hastalığına karşı reaksiyonlarını tespit etmektir. Bu amaçla Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü bağ alanlarında 2016 ve 2017 yıllarında mildiyö hastalığı şiddeti (%) dikkate alınarak 21 üzüm çeşidi değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, çeşitlerin hastalık şiddetinin yıllara göre değişkenlik gösterdiği ve çeşitler arasında önemli derecede farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Ancak değerlendirmelerin yapıldığı yıllarda çiçeklenme döneminde yeterli yağışların olmaması nedeniyle çok sayıda çeşitte hastalık şiddeti yüksek olmamıştır. 2016 ve 2017 yıllarında en yüksek hastalık şiddetleri sırasıyla %14 ve %10.25 ile 'Cabernet Sauvignon'da görülmüştür. 'Isabella' ise en düşük hastalık şiddetini sergilemiş, söz konusu yıllarda hastalık şiddetleri sırasıyla %0 ve %0.50 olmuştur. Bu çeşidi 2016 ve 2017 yıllarında sırasıyla %0.75 ve %0.25'lik hastalık şiddetleri ile 'Semillon', %1.25 ve %1.00'lik hastalık şiddetleri ile 'Yapıncak', %0.75 ve %1.50'lik hastalık şiddetleri ile 'Reçel Üzümü' izlemiştir. Çeşitlerin tane rengi, olgunlaşma dönemi ve yaprak tüylülük durumu gibi bazı ampelografik özellikleri ile mildiyö hastalığı şiddeti arasında bir ilişki olmadığı görülmüştür. Bu çalışma 17 üzüm çeşidinin ('Sultani Çekirdeksiz', 'Çavuş', 'Müşküle', 'Barış', 'Yalova İncisi', 'Bozbeş', 'Cardinal', 'Reçel Üzümü', 'Tekirdağ Çekirdeksizi', 'Güzgülü', 'Yapıncak', 'Chardonnay', 'Semillion', 'Gamay', 'Kalecik Karası', 'Papaz Karası' ve 'Cinsaut') doğal enfeksiyon koşullarında mildiyö hastalığına karşı duyarlılıkları yönünden ilk bulguları içermektedir.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 07.04.2021

Kabul Tarihi : 02.10.2021

Anahtar Kelimeler

Plasmopara viticola

Vitis spp.

Mildiyö

Üzüm çeşitleri

Hastalık şiddeti

Reactions of Some Grape Cultivars to Downy Mildew Disease Under Natural Infection Conditions

ABSTRACT

Downy mildew disease caused by *Plasmopara viticola* is one of the most important problems of viticulture. The aim of this study was to determine the reactions of some grape cultivars against downy mildew disease under natural infection conditions. This was done through evaluating 21 grape cultivars based on the severity of downy mildew disease (%) in vineyard of Tekirdağ Viticulture Research Institute through the years of 2016 and 2017. It was determined that the disease severity of the cultivars was varied between the years and there were significant differences among the cultivars. However, the disease severities of the cultivars were not high due to the lack of sufficient rainfall during the flowering period in the evaluation years. The highest disease severities of 14.00% and 10.25% in 2016 and 2017, respectively, were observed in 'Cabernet Sauvignon'.

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 07.04.2021

Accepted : 02.10.2021

Keywords

Plasmopara viticola

Vitis spp.

Downy mildew

Grape cultivars

Disease severity

'Isabella' exhibited the lowest disease severity; the disease severities in this cultivar were 0% and 0.50%, respectively, for two consecutive years. 'Semillion' with the disease severities of 0.75% and 0.25%, 'Yapıncak' with 1.25% and 1.00%, and 'Reçel Üzümü' with 0.25% and 2.50% in 2016 and 2017, respectively, followed 'Isabella'. There was no relationship between disease severity and some ampelographic characteristics such as fruit ripening time, berry color and leaf hairiness. This study includes the first data for susceptibility of 17 grapevine cultivars ('Sultani Çekirdeksiz', 'Çavuş', 'Müşküle', 'Barış', 'Yalova İncisi', 'Bozbey', 'Cardinal', 'Reçel Üzümü', 'Tekirdağ Çekirdeksizi', 'Güzgülü', 'Yapıncak', 'Chardonnay', 'Semillion', 'Gamay', 'Kalecik Karası', 'Papaz Karası' and 'Cinsaut') to downy mildew disease under natural infection conditions.

Atf Şekli: Mermer Doğu D, Zobar D, Doğu K, Özer N, Bayraktar H 2022. Bazı Üzüm Çeşitlerinin Doğal Enfeksiyon Koşullarında Mildiyö Hastalığına Karşı Reaksiyonları. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1279-1286. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoge.vi.911000>

To Cite : Mermer Doğu D, Zobar D, Doğu K, Özer N, Bayraktar H 2022. Reactions of Some Grape Cultivars to Downy Mildew Disease Under Natural Infection Conditions. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1279-1286. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoge.vi.911000>

GİRİŞ

Vitis cinsi içerisinde yer alan asma, yaprağı ve meyvesi olan üzüm kullanılarak birçok şekilde değerlendirilebilen (salamura yaprak, pekmez, kuru üzüm, üzüm suyu, pestil) ülke ekonomisine büyük katkı sağlayan çok yıllık bir bitkidir. Ayrıca iç piyasa açısından önem taşıyan ve milli değeri olan yiyecek ve içeceklerin üretiminde kullanılan tarımsal ürünlerin başında yer almaktadır (Canpolat ve Maden, 2020). Üzüm yetiştiriciliği eski medeniyetlerden günümüze ulaşan bir kültür olup gerek coğrafi konum gerekse ekolojik faktörlerin elverişliliği, dünyadaki tüm bölgelerde bağcılık kültürünün varlığına imkan sağlamıştır (Oroman ve Ağaoğlu, 1970; Ergenoğlu ve Tangolar, 2000).

Bağlarda hastalık ve zararlılardan kaynaklı sorunlar, sağlıklı ürün eldesini zorlaştırmakta ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bağlarda ortaya çıkan önemli hastalıklardan birisi de bağ mildiyö (Plasmopara viticola) (Berk. & M.A.Curtis) Berl. & De Toni'dür. Hastalık, Anadolu'daki birçok bölgede önemli kayıplara neden olmaktadır (Mermer Doğu ve Zobar, 2014). Obligat bir etmen olan *P. viticola*'nın neden olduğu hastalık, asmanın tüm yeşil aksamında görülmekte, genç sürgünlerde zayıflamaya, yapraklarda lekeler ve dökülmelere, salkımlarda ise tane kaybı ile birlikte ürünün tamamen yok olmasına varan zararlara neden olabilmektedir (Selim, 2013).

Etmenin gelişimine uygun koşullarda %100'e varan ürün kaybına neden olabilen bu hastalığın önlenmesinde, kültürel uygulamalar (hastalıklı kısımların kesilerek yok edilmesi, yere dökülen yaprakların toplanarak imha edilmesi, aşırı sulamadan kaçınılması vb.), dayanıklı çeşit ve kimyasal mücadele kullanılmaktadır (Emmett ve ark., 1992; Ash, 2000). Bunlar arasında kimyasal mücadele oldukça yoğun bir şekilde

uygulanmaktadır. Bununla birlikte etmenin çok sayıda fungusite karşı dayanıklılık kazanmış olması (Gisi, 2002; Chen ve ark., 2007; Matasci ve ark., 2008; Blum ve ark., 2010) kimyasal mücadelenin başarısını kısıtlamaktadır. Ayrıca fungusit uygulamaları sonucunda ortaya çıkan kalıntılar insan ve hayvan sağlığı için önemli bir tehlike durumundadır. Tüm bunların sonucu olarak diğer bitki hastalıklarının mücadelesinde olduğu gibi söz konusu hastalığın önlenmesinde dayanıklı çeşit ya da melezlerin belirlenmesi büyük bir önem taşımaktadır. Mildiyö hastalığına karşı dayanıklılığın belirlenmesi yaprak testleri ile mümkün olsa da, patojenin virülensinde fenotipik (Rouxel ve ark., 2013; Delmotte ve ark., 2014; Li ve ark., 2016) ve genotipik (Gobbin ve ark., 2006; Scherer ve Gisi, 2006; Rouxel ve ark., 2012 ve 2013; Yin ve ark., 2014; Li ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2017) varyasyonlar olması nedeniyle, farklı virülens derecelerindeki popülasyonlarının yer aldığı doğal enfeksiyon koşullarında değerlendirmelerin gerçekleştirilmesinin ayrı bir değeri bulunmaktadır. Doğal enfeksiyon koşullarında ülke bağlarında mildiyö hastalığına karşı dayanıklılığın belirlenmesine yönelik çeşitli çalışmalar ile karşılaşmıştır. Bunlar arasında Özer ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada ıslah çalışmaları sonucu hastalığa karşı dayanıklı olanlar arasından seçilen çeşit adaylarının mildiyö hastalığına karşı reaksiyonları bir yıl incelenmiş, 'Bx1-252', 'Bx1-272', 'Bx1-454', 'Bx2-149' ('Özer Karası'), 'Bx5-504' ve 'Bx6-58' yaprakları düşük düzeyde hastalanan melezler olmuştur. İzleyen yıllarda Isparta/Eğirdir ekolojik koşullarında gerçekleştirilen bir çalışmada 10 adet üzüm çeşidinin 2 yıl süre ile mildiyö hastalığına karşı reaksiyonları tespit edilmiş, 'Siyah Gemre' ve 'Trakya İlkeren' çeşitlerinde enfeksiyonun yüksek olduğu, 'Red Globe' ve 'Burdur Dimridi' çeşitlerinde düşük olduğu bildirilmiştir (Gargın ve Öztürk, 2013). Yalova

ili doğal enfeksiyon koşullarında 13'ü *V. vinifera* çeşidi, 8'i *V. labrusca* çeşidi, 6'sı türlerarası melez olmak üzere toplam 27 adet üzüm çeşidi/melez iki yıl süre ile mildiyö hastalığına karşı duyarlılıkları açısından değerlendirilmiş ve *V. labrusca* çeşitlerinde ('53 Güneysu 02') ve türlerarası melezlerde ('Mortensen', 'Kay Grey', 'Canadice') hastalığın görülmediği, bazılarının yapraklarında ('Köfteci Üzümlü', 'Alden', 'Seneca') oldukça düşük şiddette olduğu (%1-3) ileri sürülmüştür (Atak, 2017). Aynı ilde iki yıl süre ile yine doğal enfeksiyon koşullarında yapılan diğer bir çalışmada ise 3'ü *V. vinifera*, 6'sı türler arası melez ve 26'sı *V. labrusca* olmak üzere 35 çeşit/melez gözlemlenmiş ve özellikle bazı *V. labrusca* çeşitlerinin yapraklarında hastalığın oluşmadığı ('57 Gerze 04', 'Rizessi', 'Ülkemiz', '55 Merkez 09', '57 Gerze 01'), bazılarında ise ('57 Ayancık 01', '57 Erfelek 03', '28 Merkez 01', '57 Merkez 07', 'Isabella-Yalova') oldukça düşük şiddette meydana geldiği (%1-2) belirtilmiştir (Atak ve ark., 2017).

Dış ülkelerde doğal enfeksiyon koşullarında ülkelere özgü bazı üzüm çeşit veya melezlerin mildiyö hastalığına karşı duyarlılıkları 1 yıl (Matasci ve ark., 2010; Van Leeuwen ve ark., 2013; Gaforio ve ark., 2015), 2 yıl (Cadle-Davidson, 2008; Boso ve ark., 2011; Calonnec ve ark., 2013; Venuti ve ark., 2013; Projongiai ve ark., 2014), 3 yıl (Boso ve ark., 2004; Boso ve ark., 2014), 4 yıl (Toffolatti ve ark., 2016) ve 6 yıl (Pavloušek, 2012) süre ile değerlendirilmiş, farklı skalalar ile hastalık şiddetleri belirlenerek dayanıklı ve hassas çeşit yada aday melezler ortaya konmuştur. Bu çalışmalarda yapraklarda hastalık şiddetinin düşük olduğu belirtilen çeşitler arasında 'Solaris', 'Isabella' (Matasci ve ark., 2010), 'Doña Blanca', 'Brancellao Blanco', 'Blanca', 'Follajeiro', 'Monstruosa', 'Chasselas Dorée' (Boso ve ark., 2011), 'Seyve Villard 12375', 'Siebel 13666', 'Augustovskyi', 'Riton', 'Morela', 'Merlan', 'Bianca' (Pavloušek, 2012), 'Cabernet Sauvignon', 'Mencia', 'Chasselas Doré' (Boso ve ark., 2014) ve 'Mgaloblishvili N' (Toffolatti ve ark., 2016) bulunmaktadır. Ayrıca, yapraklardaki mildiyö hastalık şiddeti ile bazı ampelografik özellikler arasındaki ilişkilere yönelik olarak yapılan bir çalışmada tane rengi beyaz olan üzüm çeşitlerinin mildiyö hastalığına karşı dayanıklı oldukları bildirilse de (Pavloušek, 2012), daha sonraki yıllarda yapılan incelemelerde mildiyö hastalık şiddeti ile çeşit yada melezlerin tane rengi, tane sıklığı, filizlenme, yaprak tüylülüğü ve meyve olgunlaşma zamanı arasında bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir (Boso ve ark., 2011; Boso ve ark., 2014; Toffolatti ve ark., 2016).

Bu çalışmada Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsünde bulunan bazı üzüm çeşitlerinde doğal enfeksiyon sonucu oluşan mildiyö hastalığı şiddetini belirleyerek, üzüm çeşitlerinin hastalığa karşı reaksiyonlarının ortaya konması amaçlanmıştır.

Türkiye'de bulunan zengin asma gen kaynağı kapsamı göz önüne alındığında, bu çalışmada daha önce mildiyöye karşı doğal enfeksiyon koşullarında reaksiyonları ilk kez gözlenen üzüm çeşitleri bulunmaktadır.

MATERYAL ve METOD

Materyal olarak Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (40.97°N, 27.51°E) bünyesinde yer alan üzüm koleksiyonundaki çeşitlerinden 21 tanesi ile çalışılmıştır. Çalışmada kullanılan çeşitler, kullanım şekli (sofralık, kurutmalık ve şaraplık) ve bazı ampelografik özellikler (Olgunlaşma, tane rengi ve yaprak tüylülüğü) göz önüne alınarak seçilmiştir (Çizelge 1). Çeşitlerin 20'ü *V. vinifera* türüne ait olup, 'Isabella' çeşidi *V. labrusca*'ya aittir. Çalışma telli terbiye sistemi ile 2.5×1.5 m aralıklı olarak üzüm çeşitlerinin dikilmiş olduğu bağda gerçekleştirilmiştir.

Söz konusu bağda seçilen üzüm çeşitlerinin doğal enfeksiyon koşullarında mildiyö hastalık şiddeti değerlendirmeleri, Meyve Bağ Hastalıkları Standard İlaç Deneme Metodları dikkate alınarak, tesadüf blokları deneme deseninde, her biri 6 omca içeren 4 tekrarlı parsellerde, ortadaki 4 omcada çiçeklenmeden 3 hafta sonra gerçekleştirilmiştir. (Anonim 2020). Her omcadan 25 yaprak olmak üzere 4 omcadan toplam 100 yaprakta 0-4 skalası (Çizelge 2) kullanılarak iki gelişme sezonu (2016 ve 2017) süresince sayımlar yapılmıştır.

Yapraklardaki hastalık şiddeti (%) Townsend-Heuberger formülüne (Townsend ve Heuberger, 1943) göre (Hastalık şiddeti %: $[\sum(n.V)/Z.N].100$, n; Değişik belirti gruplarına giren yaprak sayısı, V; Gruplara ayrılmış belirti seviyeleri, N; Toplam yaprak sayısı, Z; Sıfır grubu hariç grup adedi, aynı zamanda en yüksek skala değerinin grup değeri) hesaplanmıştır. Elde edilen veriler SPSS istatistik programı kullanılarak tek yönlü varyans analizine tabii tutulmuş, ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma testine (P=0.05) göre belirlenmiştir. Bağlarda her iki sezon boyunca herhangi bir pestisit uygulaması yapılmamıştır. İklim verileri (sıcaklık, nem ve yağış) çalışma süresince bağdaki meteoroloji istasyonu ile kayıt edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada 21 üzüm çeşidinde doğal enfeksiyon koşullarında bağ mildiyö hastalığı etmeni *P. viticola*'nın yapraklarda oluşturduğu hastalık şiddeti 2 yıl süreyle (2016-2017) değerlendirilmiştir. Yetiştiricilikte bir adım öne geçmeyi sağlayacak çeşitlerdeki hastalık şiddeti yıl bazında değişim göstermiş ancak genelde düşük oranlarda seyretmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan üzüm çeşitleri, kullanım şekilleri ve bazı ampelografik özellikleri

Table 1 The grape cultivars used in the study, type of the use and some ampelographic characteristics

No	Çeşit	Kullanım şekli	Olgunlaşma	Tane Rengi	Yaprak Tüylülük Durumu**
1	Sultani Çekirdeksiz	Kurutmalık ve sofralık	Orta mevsim	Yeşil-Sarı	1
2	Çavuş	Sofralık	Orta erken	Sarımsı-Yeşil	9
3	Müşküle	Sofralık	Geç	Yeşil-Sarı	3
4	Barış	Sofralık	Orta mevsim	Sarımsı-Yeşil	3
5	Yalova İncisi	Sofralık	Erken	Yeşil-Sarı	3
6	Bozbey	Sofralık	Orta mevsim	Yeşil-Sarı	1
7	Trakya İlkeren	Sofralık	Çok erken	Mavi-Siyah	3
8	Cardinal	Sofralık	Erken	Kırmızı-Mor	1
9	Reçel Üzüümü	Kurutmalık ve sofralık	Orta mevsim	Kırmızı	
10	Tekirdağ Çekirdeksizi	Sofralık	Orta mevsim	Koyu kırmızı-Mor	1
11	Güzgülü	Sofralık	Geç	Pembe	1
12	Isabella	Sofralık	Geç	Mor-Siyah	1
13	Yapıncak	Şaraplık	Geç	Kahverengi benekli kınalı sarı	5
14	Chardonnay	Şaraplık	Orta erken	Amber sarısı	1
15	Semillon	Şaraplık	Orta mevsim	Amber sarısı-Hafif pembe	5
16	Cabernet Sauvignon	Şaraplık	Geç	Yoğun mavi gri puslu siyah	7
17	Gamay	Şaraplık	Orta erken	Mavi-Siyah	1
18	Kalecik Karası	Şaraplık	Orta mevsim	Mavi puslu	7
19	Papaz Karası	Şaraplık	Geç	Gri puslu	9
20	Özer Karası	Şaraplık	Orta mevsim	Koyu kırmızı-Menekşe	1
21	Cinsaut	Şaraplık	Orta geç	Mor-Siyah	5

*(Çelik 2006; Boz ve ark., 2012)

**OIV (84-1) olgun yaprak tüylülük yoğunluğu (1:yok veya çok zayıf; 3:zayıf; 5:orta; 7:sık; 9:çok sık)

Çizelge 2. Yaprakta bağ mildiyüsü hastalığı değerlendirme skalası

Table 2 Disease rating scale on leaves for grapevine downy mildew

Skala Değeri	Tanım
0	Yaprakta hiç leke yok
1	Yaprakta 1 leke
2	Yaprağın 1/4'ü lekeli
3	Yaprağın 1/2'sine kadar lekeli
4	Yaprağın 1/2'sinden fazlası

Bunun çiçeklenmeyi izleyen Nisan sonu ile Haziran ayları arasında sıcaklığın yüksek ve yağışların az olmasından (Şekil 1) kaynaklandığı düşünülmektedir. Bununla birlikte hastalık etmeni için çok uygun olmayan koşullarda dahi 'Cabernet Sauvignon' çeşidinde hastalık şiddeti, 2016 ve 2017 yıllarında en yüksek değerler olan sırası ile %14 ve %10.25'e ulaşmış, her iki yıl için 'Cabernet Sauvignon'daki hastalık şiddeti ile diğer çeşitlerdeki hastalık şiddeti arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 3). Bu sonuç etmen için uygun iklim koşullarında söz konusu çeşidin hastalığa karşı daha hassas olabileceğini göstermektedir. Her iki yılda yüksek hastalık şiddeti açısından 'Cabernet Sauvignon'u izleyen çeşitler 'Trakya İlkeren' (%7.25, %7.00) ve 'Yalova İncisi' (%5.25, %6.00) olmuştur.

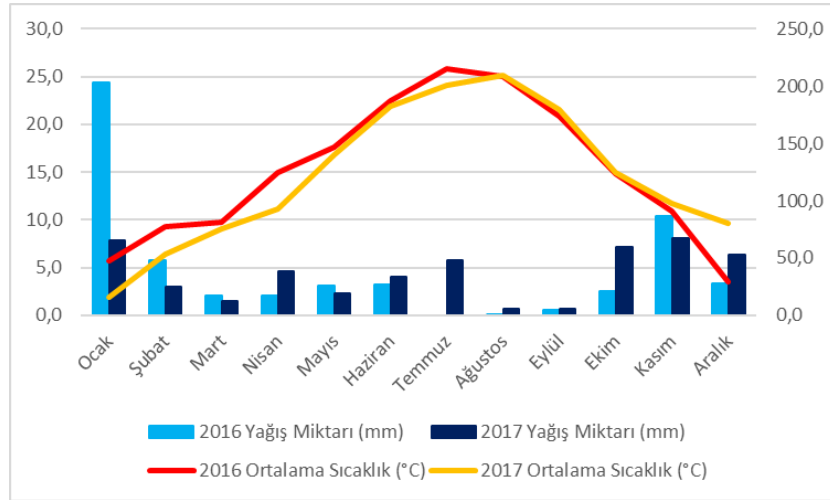
Dış ülkelerde doğal enfeksiyon koşullarında yapılan çalışmalarda 'Cabernet Sauvignon' çeşidinde hastalık şiddetinin %25-75 (Boso ve ark., 2011), 5.43-25.71 (Boso ve ark., 2014) arasında değiştiği bildirilmektedir. Hastalık şiddetindeki bu değişiklikler iklim koşulları ile birlikte fungusun farklı virülens derecelerindeki popülasyonlarının varlığından ileri gelebilir. Bu çalışmada yüksek hastalık şiddeti gösteren 'Trakya İlkeren' çeşidi daha önce Isparta/Eğirdir koşullarında, aynı skala (0-4) ile mildiyö hastalığına karşı reaksiyonu değerlendirilmiş ve yüksek skala değerine sahip olduğu (1.33) belirtilmiştir (Gargın ve Öztürk, 2013).

Araştırma içerisinde yer alan diğer çeşitlerden 'Tekirdağ Çekirdeksizi' (%5.75, %2.75), 'Chardonnay' (%5.50, %1.00), 'Güzgülü' (%10.50, %3.00) ve 'Özer Karası' (%5.75, %1.00)'nda hastalık şiddetinin 2016 yılında 2017 yılına göre daha yüksek olduğu, 'Barış' (%3.00, %7.00) çeşidinde ise tam tersi bir durumun söz konusu olduğu görülmüştür. Bu çeşitler arasında sadece 'Özer Karası'nın OIV tarafından önerilen 1-5 skalası kullanıldığında 2 skala değerini aldığı ve yapraklarında orta düzeyde hastalık şiddeti sergilediği (Özer ve ark. 2005) bildirilmiştir.

Çalışmada değerlendirilen çeşitlerden 'Isabella'da 2016 yılında hastalık görülmemiş, 2017 yılında ise en düşük (%0.50) hastalık şiddeti belirlenmiştir. Diğer çeşitlerden 'Reçel üzümü', 'Yapıncak' ve 'Semillon'

her iki yılda da 'Isabella' ile aynı istatistikî grupta yer almıştır. Bu çeşitler arasında 'Isabella' gerek Türkiye'de (Atak ve ark. 2017), gerekse dış ülkelerde

(Cadle-Davidson, 2008; Matasci ve ark., 2010) doğal enfeksiyon koşullarında en düşük hastalık şiddeti gösteren çeşitler arasında bildirilmektedir



Şekil 1. 2016 ve 2017 yıllarında aylık ortalama sıcaklık ve yağış değerleri.

Figure 1. The monthly average temperature and rainfall of years 2016 and 2017.

Çizelge 3. Bazı üzüm çeşitlerinde doğal enfeksiyon koşullarında mildiyö hastalığı şiddeti

Table 3 Downy mildew disease severity in some grape cultivars under natural infection conditions

No	Çeşit	Hastalık Şiddeti (%)*	
		2016	2017
1	Sultani Çekirdeksiz	2.00 gh ₁	1.50 fgh ₁
2	Çavuş	0.25 ₁	2.50 def
3	Müşküle	1.75 gh ₁	1.75 efg _h
4	Barış	3.00 fgh	7.00 b
5	Yalova İncisi	5.25 cde	6.00 b
6	Bozbey	2.75 fgh	0.50 h ₁
7	Trakya İlkeren	7.25 c	7.00 b
8	Cardinal	0.00 ₁	3.50 d
9	Reçel Üzümlü	0.75 h ₁	1.50 fgh ₁
10	Tekirdağ Çekirdeksizi	5.75 cde	2.75 def
11	Güzgülü	10.50 b	3.00 de
12	Isabella	0.00 ₁	0.50 h ₁
13	Yapıncak	1.25 gh ₁	1.00 gh ₁
14	Chardonnay	5.50 cde	1.00 gh ₁
15	Semillon	0.75 h ₁	0.25 ₁
16	Cabernet Sauvignon	14.00 a	10.25 a
17	Gamay	1.00 h ₁	4.75 c
18	Kalecik Karası	1.00 h ₁	2.00 efg
19	Papaz Karası	3.50 efg	3.00 de
20	Özer Karası	5.75 cde	1.00 gh ₁
21	Cinsaut	1.50 gh ₁	1.50 fgh ₁

* Her bir değer 4 tekrarın ortalamasıdır. Birbirinden farklı harflerle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma testine göre önemlidir (P=0.05).

* Each value is the mean of 4 replicates. Means in each column followed by a different letter differ significantly according to the Duncan's Multiple Range test (P=0.05).

Ayrıca, hastalık şiddetinin bazı ampelografik özellikler ile ilişkisine yönelik yapılan

değerlendirmeler sonucunda yaprak tüylülüğü, tane rengi ve olum zamanı açısından çeşitler ve mildiyö hastalık şiddeti arasında herhangi bir ilişki görülmemiştir. Örnek verilecek olursa hastalık şiddeti oluşmayan veya oldukça az görülen 'Isabella' ve 'Cardinal' çeşitleri ile daha yüksek hastalık şiddeti tespit edilen 'Güzgülü' çeşidinin aynı yaprak tüylülüğü değerine (1) sahip olduğu görülebilir (Çizelge 1). Diğer çeşitler için de benzer örneklemeyi yapmak mümkündür. Bu sonuçlar mildiyö hastalık şiddeti ile çeşit ya da melezlerin tane rengi ve meyve olgunlaşma zamanı ile ilişkili olmadığı bildiren Boso ve ark. (2011 ve 2014) ve Toffolatti ve ark. (2016)'ın bulgularıyla uyum içerisinde.

Bu çalışmada ticari olarak da üretimi yapılan 'Sultani Çekirdeksiz', 'Çavuş', 'Müşküle', 'Barış', 'Yalova İncisi', 'Bozbey', 'Cardinal', 'Reçel Üzümü', 'Tekirdağ Çekirdeksizi', 'Güzgülü', 'Yapıncak', 'Chardonnay', 'Semillion', 'Gamay', 'Kalecik Karası', 'Papaz Karası' ve 'Cinsaut' üzüm çeşitlerinde her ne kadar iklim koşulları hastalık etmeni için çok uygun olmasa doğal enfeksiyon koşullarında mildiyö hastalık şiddeti ilk kez tespit edilmiştir. Doğal enfeksiyon koşullarında çeşitli fungal hastalıklara karşı duyarlılığın tespiti aynı zamanda ticari olarak da üretimde kullanılan çeşitlerde yapıldığında, çalışma süresince herhangi bir fungusit kullanılmaması zorunluluğu gözlem süresini çoğu kez kısıtlamaktadır. İslah materyallerinin testlenmesinde ise bu süre daha uzun olabilmektedir. Söz konusu kısıtlama çalışmanın 2 yıl süre ile yapılmasına neden olmuştur. Bu nedenle mevcut çalışmada mildiyö hastalığına karşı duyarlılıkları değerlendirilen üzüm çeşitlerinin farklı yıllarda tekrar gözlenmesinde ve ayrıca suni inokulasyonun kullanıldığı yaprak testlerine tabii tutulmasında yarar bulunmaktadır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada doğal enfeksiyon koşullarında yapılan değerlendirmeler sonucunda üzüm çeşitlerinin mildiyö hastalığına karşı reaksiyonlarının farklı düzeylerde olduğu görülmüştür. Bununla birlikte benzer ampelografik özelliklere sahip olma ile hastalık şiddeti arasında net bir ilişki belirlenmemiştir. Çeşitler yıllara göre hastalık şiddeti bakımından istatistiki olarak farklı gruplarda yer almışlardır. Bunun iklim faktörlerinin değişiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bağcılıkta mildiyö önemli bir hastalık olup ilaç mücadelesi ve özellikle de ilaçlama zamanı önemlidir. Genel anlamda mildiyö hastalığı açısından değerlendirme yapılan çeşitlerde hastalık şiddetinin önceki yıllara göre daha az görüldüğü tespit edilmiştir. Zira sıcaklık ve nem değerleri çalışmanın yürütüldüğü yıllarda etmenin bitkiyi enfekte etmesi açısından yeterli olmamıştır. Bununla birlikte 2016 ve 2017 yıllarında hastalık şiddetinin çok yüksek

olmaması ürün kalitesi ve verim açısından fayda sağlamıştır. Üzüm çeşitlerinin farklı yöntemler ile desteklenen çalışmalara konu edilerek, aralarında değişen iklim koşullarına uyum sağlayabilecek olanların belirlenmesi gerekmektedir. Ayrıca en az mücadele ile en iyi ürünün elde edilebileceği kombinasyonlar için hastalıklara dayanıklılık konusunda çalışmalara devam edilmeli, orta düzeyde dayanıklı ve dayanıklı çeşitlerin ortaya konması gerekmektedir. Farklı üzüm çeşitleri ile yapılan bu çalışmanın diğer çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada toplam 21 farklı üzüm çeşidi kullanılmış, bilinen çeşitler dışında Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün tescil ettirdiği çeşitler ('Tekirdağ Çekirdeksizi', 'Trakya İlkeren', 'Güzgülü', 'Bozbey', 'Özer Karası', 'Barış', 'Reçel Üzümü') de çalışmaya dâhil edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre 2016 ve 2017 yıllarında oldukça düşük hastalık şiddeti gösteren Isabella, Reçel Üzümü, Yapıncak ve Semillion çeşitlerinin istenilen tüketim alanına göre üretimde kullanılabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı TAGEM-BS-15/08-04/02-15 nolu proje kapsamında destekleyen Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne teşekkür ederiz.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Anonim 2020. Bitki Hastalıkları Standart İlaç Deneme Metotları. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, 208sy.
- Ash G 2000. Downy mildew of grape. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2000-1112-01.
- Atak A 2017. Determination of Downy Mildew and Powdery Mildew Resistance of Some Grape Cultivars. South African Journal of Enology and Viticulture, 38: 1-17.
- Atak A, Akkurt M, Polat Z, Çelik H, Kahraman KA, Akgül DS, Özer N, Söylemezoğlu G, Sire GG, Eibach R 2017. Susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) and powdery mildew (*Erysiphe necator*) of different *Vitis* cultivars and genotypes. Ciência e Técnica Vitivinícola, 32(1): 23-32.
- Blum M, Waldner M, Gisi U 2010. A single point

- mutation in the novel PvCesA3 gene confers resistance to the carboxylic acid amide fungicide mandipropamid in *Plasmopara viticola*. Fungal Genetics and Biology, 47: 499–510.
- Boso S, Alonso-Villarverde V, Gago P, Santiago JL, Martínez MC 2011. Susceptibility of 44 grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties to downy mildew in the field. Australian Journal of Grape and Wine Research 17: 394–400.
- Boso S, Alonso-Villarverde V, Gago P, Santiago JL, Martínez MC 2014. Susceptibility to downy mildew (*Plasmopara viticola*) of different *Vitis* varieties. Crop Protection 63: 26-35.
- Boso S, Santiago JL, Martínez MC, 2004. Resistance of eight different clones of the grape cultivar Albariño to *Plasmopara viticola*. Plant Disease, 88: 741-744.
- Boz Y, Uysal T, Yaşasın AS, Gündüz A, Avcı GG, Sağlam M, Kıran T, Öztürk L 2012. Türkiye Asma Genetik Kaynakları. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Tekirdağ Bağcılık Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Kitabı, 412sy.
- Cadle-Davidson L 2008. Variation within and between *Vitis* spp. for foliar resistance to the downy mildew pathogen *Plasmopara viticola*. Plant Disease, 92: 1577-1584.
- Calonnec A, Wiedemann-Merdinoglu S, Delière L, Cartolaro P, Schneider C, Delmotte F 2013. The reliability of leaf bioassays for predicting disease resistance on fruit: a case study on grapevine resistance to downy and powdery mildew. Plant Pathology, 62(3): 533-544.
- Canpolat S, Maden S 2020. Reactions of some common bean cultivars grown in Turkey against some isolates of angular leaf spot disease, caused by *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Crous & U. Braun. Bitki Koruma Bülteni, 61 (2): 45-54.
- Chen WJ, Delmotte F, Richard-Cervera S, Douence L, Greif C, Corio-Costet MF 2007. At least two origins of fungicide resistance in grapevine downy mildew populations. Applied and Environmental Microbiology, 73: 5162–5172.
- Çelik H 2006. Üzüm Çeşit Kataloğu. Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi:3 ISBN 975-96656-1-1.
- Delmotte F, Mestre P, Schneider C, Kassemeyer HH, Kozma P, Cervera S, Rouxel M, Delière L 2014. Rapid and multiregional adaptation to host partial resistance in plant pathogenic oomycete: Evidence from European populations of *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew. Infection, Genetics and Evolution, 27: 500-508.
- Emmett RW, Wicks TJ, Magarey PA 1992. Downy mildew of grapes. Pages 90-128 in: Plant Diseases of International Importance. RS Singh, ed. Prentice Hall. Englewood Cliffs, NJ.
- Ergenoğlu F, Tangolar S 2000. Bağcılık için Pratik Bilgiler. TÜBİTAK Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, TARP Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi Yayınları, 33s.
- Gaforio L, Cabello F, Muñoz Organero G, Gaforia L, Cabello F, Munoz Organero G 2015. Evaluation of resistance to downy mildew in grape varieties grown in Spanish collection. Vitis, 54 (Special Issue): 187-191.
- Gargın S, Öztürk Y 2013. Eğirdir Koşullarında Bazı Üzüm Çeşitlerinin Bağ Mildiyösüne *Plasmopara viticola* (Berk. et. Curt.) Karşı Reaksiyonlarının Araştırılması. Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi 6 (1): 134-136.
- Gisi U 2002. Chemical Control of Downy Mildews. (Advances in Downy Mildew Research, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: Ed. Spencer PTN, Gisi U, Lebeda A) 119-159.
- Gobbin D, Rumbou A, Linde CC, Gessler C 2006. Population genetic structure of *Plasmopara viticola* after 125 years of colonization in European vineyards. Molecular Plant Pathology, 7(6): 519-531.
- Li X, Yin L, Ma L, Zhang Y, An Y, Lu J 2016. Pathogenicity variation and population genetic structure of *Plasmopara viticola* in China. Journal of Phytopathology, 164(11-12): 863-873.
- Matasci CL, Gobbin D, Schärer HJ, Tamm L, Gessler C 2008. Selection for fungicide resistance throughout a growing season in populations of *Plasmopara viticola*. European Journal of Plant Pathology, 120: 79-83.
- Matasci CL, Jermini M, Gobbin D, Gessler C 2010. Microsatellite based population structure of *Plasmopara viticola* at single vine scale. European Journal of Plant Pathology, 127: 501-508.
- Mermer Doğu D, Zobar D 2014. Determination of Disease Prevalence of *Plasmopara viticola* in Tekirdağ, Çanakkale and Edirne. Balkan Agriculture Congress, 8-10 Eylül, Edirne, 750.
- Oroman N, Ağaoğlu S 1970. Bazı Üzüm Çeşitlerinde İklim Faktörleri ile floral gelişme safhaları arasındaki ilişkiler üzerinde bir araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı, 19: 468-502.
- Özer C, Özer N, Kiracı MA, Yağcı A, Akman B 2005. Melezleme İslahı İle Hastalıklara Dayanıklı Yeni Üzüm Çeşitlerinin Eldesi Üzerine Çalışmalar. 6. Türkiye Bağcılık Sempozyumu, 19-23 Eylül, Tekirdağ, 476-481.
- Pavloušek P 2012. Evaluation of foliar resistance of grapevine genetic resources to downy mildew (*Plasmopara viticola*). Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 60: 191-197.
- Projongjai T, Poolsawat O, Pornbungkerd P, Wongkaew S, Tantasawatt PA 2014. Evaluation of grapevines for resistance to downy mildew (*Plasmopara viticola*) under laboratory and field

- conditions. South African Journal of Enology and Viticulture, 35(1): 43-50.
- Rouxel M, Mestre P, Comont G, Lehman BL, Schilder A, Delmotte F 2013. Phylogenetic and experimental evidence for host-specialized cryptic species in a biotrophic oomycete. New Phytologist, 197(1): 251-263.
- Rouxel M, Papura D, Nogueira M, Machefer V, Damien D, Cervera SC, Carrere S, Mestre P, Delmotte F 2012. Microsatellite markers for characterization of native and introduced populations of *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew. Applied and Environmental Microbiology, 78(17): 6337-6340.
- Scherer E, Gisi U 2006. Characterization of genotype and mating type in European isolates of *Plasmopara viticola*. Journal of Phytopathology, 154(7-8): 489-495.
- Selim M 2013. Elicitation of grapevine defense responses against *Plasmopara viticola*, the causal agent of downy mildew. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.) der Naturwissenschaftlichen Fachbereiche der Justus-Liebig-Universität Gießen, 246s.
- Toffolatti SL, Maddalena G, Salomoni D, Maghradze D, Bianco PA, Failla O, 2016. Evidence of resistance to downy mildew agent *Plasmopara viticola* in the Georgian *Vitis vinifera* germplasm. Vitis, 55: 121-128.
- Townsend GR, Heuberger JW 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. Plant Disease Reporter, 27: 340-343.
- Van Leeuwen C, Robby JP, Alonso-Villaverde V, Gindro K 2013. Impact of clonal variability in *Vitis vinifera* Cabernet franc on grape composition, wine quality, leaf blade stilbene content, and downy mildew resistance. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61: 19-24.
- Venuti S, Copetti D, Foria S, Falginella L, Hoffmann S, Bellin D, Cindrić P, Kozma P, Scalabrin S, Morgante M, Testolin R, Di Gaspero G 2013. Historical introgression of downy mildew resistance gene Rpv12 from the Asian species *Vitis amurensis* into grapevine varieties. Plos One, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061228>.
- Yin L, Zhang Y, Hao Y, Lu J 2014. Genetic diversity and population structure of *Plasmopara viticola* in China. European Journal of Plant Pathology, 140(2): 365-376.
- Zhang W, Manawasinghe IS, Zhao W, Xu J, Brooks S, Zhao X, Hyde KD, Thilini Chethana KW, Liu J, Li X, Yan J 2017. Multiple gene genealogy reveals high genetic diversity and evidence for multiple origins of Chinese *Plasmopara viticola* population. Scientific Reports, 7, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17569-7>.

Mardin (Türkiye) Geofitleri Üzerine Etnobotanik Bir Araştırma

Mehmet Maruf BALOS¹, Hasan AKAN², Musa GEÇİT³

^{1,2}Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, 63300, Haliliye/Şanhurfa, ²Nur Mahallesi Kamu Caddesi, Buluş Apt, 47200 Artuklu/Mardin/Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-9590-5237>, ²<https://orcid.org/0000-0002-3033-4349>, ³<https://orcid.org/0000-0002-6653-1352>

✉: hakan@harran.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, 2019-2021 yıllarında Mardin'in 9 ilçesine bağlı 18 farklı yerleşim yeri gezilmiş ve toplam 61 kaynak kişi ile görüşülmüştür. Yörede Kürt, Türk, Arap, Süryani gibi farklı etnik gruplar olduğundan, farklı kültürel gruplardan kişiler seçilerek etnobotanik içerikli görüşmeler yapılmıştır. 18-85 yaş arasındaki kaynak kişilerle görüşmeler sağlanmış, farklı eğitim düzeyleri ve farklı yaş grupları tercih edilmiştir. Yapılan etnobotanik araştırmada 18 familya ve 28 cinse ait 61 geofit taksonun etnobotanik özellikleri tespit edilmiştir. Familya bazında en fazla kullanım Amaryllidaceae (13), Iridaceae (12), Araceae (7); cins bazında ise en fazla kullanım; *Allium* (10), *Iris* (6) ve *Crocus* (4) olarak belirlenmiştir.

Botanik

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 29.07.2021

Kabul Tarihi : 28.10.2021

Anahtar Kelimeler

Etnobotanik

Geofit

Geleneksel kullanım

Mardin

Şifalı bitkiler

An Ethnobotanical Research on Geophytes of Mardin (Turkey)

ABSTRACT

In this study, 18 different settlements in 9 districts of Mardin were visited in 2019-2021 and a total of 61 informants were interviewed. Since there are different ethnic groups such as Kurds, Turks, Arabs and Assyrians in the region, the information was consulted from the informants of different cultures. Interviews were made with informants between the ages of 18-80, different education levels and different age groups were preferred. Ethnobotanical characteristics of 61 geophytic taxa belonging to 18 families and 27 genus were determined in the ethnobotanical research. The highest usage on the basis of family is Amaryllidaceae (13), Iridaceae (12), Araceae (7); on the basis of the genus with the highest number of taxa; *Allium* (10), *Iris* (6) and *Crocus* (4).

Botanic

Research Article

Article History

Received : 29.07.2021

Accepted : 28.10.2021

Keywords

Ethnobotany

Geophyte

Mardin

Medicinal plants

Traditional use

Atıf Şekli: Balos MM, Akan H, Geçit M 2022. Mardin (Türkiye) Geofitleri Üzerine Etnobotanik Bir Araştırma. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1287-1304. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.976110>

To Cite : Balos MM, Akan H, Geçit M 2022. An Ethnobotanical Research on Geophytes of Mardin (Turkey). KSU J. Agric Nat 25 (6): 1287-1304. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.976110>

GİRİŞ

Türkiye, doğal bitkiler açısından dünyanın en zengin ülkelerinden birisidir. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) kitabına göre; Türkiye'de 167 familya, 1320 cins ve bu cinslere ait toplam 11707 takson bulunmaktadır. Taksonlardan 3649'u Türkiye için endemiktir (Ekim ve ark., 2000; Güner ve ark., 2012). Geofitler; metamorfoza uğramış gövdeleri toprak altında olan, olumsuz çevre koşullarına dayanıklı, soğanlı, yumrulu, korumlu ve rizomlu bitkilere verilen addır (Akan ve ark., 2005; Seyidoğlu, 2009; Demir ve Eker, 2015). Geofit (Geophyta), latince bir kelime olup "yer" anlamına gelen "geo" ile bitki anlamına gelen "phyta" kelimelerinin

birleşmesiyle meydana gelmiş ve "yer bitkileri, gizli bitkiler" anlamına gelen bir kelimedir (Şekil 1).

Süs, gıda ve ilaç sektörü başta olmak üzere çok farklı kullanım alanlarını barındıran geofitler; Türkiye'nin floristik zenginliğinde de oldukça önemli bir konuma sahiptir (Ekim, 1991; Başköşe ve ark., 2013; Sargın ve ark., 2013; Avcu ve ark. 2016; Çeneli ve Selvi, 2019). Türkiye Florasında, 100'ü tohumuz geofit, 1000-1200'ü dikotiledon geofit, 200-250 civarında petaloid olmayan monokotiledon geofit ve yaklaşık 1000 civarında petaloid monokotiledon geofit taksonu bulunmaktadır (Demir ve Eker, 2015). Şekil 1'de Türkiye florasında yetişen bazı geofit bitkiler ve toprak altı organları örnek olarak sunulmuştur.



Şekil 1. Bazı geofitlerde toprakaltı yapılar A-*Iris gatesii* Foster rizomu, B-*Sternbergia clusiana* (Ker Gawl.) Ker Gawl. ex Spreng. soğanı, C-*Crocus cancellatus* Herb kormu, D-*Colchicum kotschy* Boiss. kormu, E-*Biarum bovei* Blume yumrusu

Figure 1. Some Geophytes in underground structures, A- rhizome of *Iris gatesii*, B-Bulb of *Sternbergia clusiana*, C-Cormus of *Crocus cancellatus*, D- Cormus of *Colchicum kotschy*, E-Tuber of *Biarum bovei*

Etnobotanik, bitkiler ve insanlar arasındaki ilişkiyi inceleyen disiplinler arası bir alandır (Balick ve Cox, 1996; Ertuğ, 2014). İlk kez 1895 yılında Amerikalı botanikçi John William Harshberger tarafından Aborjinler'in kullandığı bitkiler ile ilgili bir çalışmada kullanılmıştır (De Albuquerque ve ark., 2005). Etnobotanik sözcüğünün anlamı, 100 yıldan günümüze kadar giderek genişlemiştir. İnsanların bitkilerden somut ya da soyut şekillerde yararlanmaları, hatta etrafındaki bitkilere sadece isim vermiş olmaları bile etnobotanik konusuna girmiştir (Ertuğ, 2005). Etnobotanik araştırmalar, deneme yanılma yoluyla edinilmiş, nesilden nesile aktararak günümüze ulaşmıştır (Sadıkoğlu, 1998).

İlkçağlardan günümüze insanoğlu kendi yöresinde bulunan bitkilerden farklı amaçlarla ve çeşitli şekillerde faydalanmıştır. Yabancı bitkiler, besin hammaddesi olarak kullanımı yanında, baharat ve içecek olarak iştah açıcı, sindirimi kolaylaştırıcı, hastalıkları tedavi edici olarak da kullanılmıştır (Özer ve ark., 2004).

Mardin sınırları içerisinde farklı habitatların, yeryüzü şekillerinin, çeşitli yükseltilerin ve mikroklima özelliği gösteren kesimlerin olması floristik zenginliğin varlığına işaret etmektedir. Bu zenginliğin belirtisi olarak ülkemiz araştırmacıları

tarafından çeşitli etnobotanik çalışmalar da yapılmıştır (Arasan, 2014; Fırat, 2015; Demirci Kayıran ve Özkan, 2017; Babacan ve Eker, 2017; Akgül ve ark., 2018; Kılıç, 2019; Yeşil ve ark., 2019; Yeşil ve İnal, 2019; Ayaz, 2020; Eksik, 2020; Demirci Kayıran ve Özhatay, 2020; Kılıç ve ark., 2020, Yeşil ve İnal, 2021, Yıldırım ve ark., 2021).

Bu çalışmada; 1) Mardin'de doğal yayılış gösteren geofitlerin etnobotanik özelliklerinin belirlenmesi ve kültürel bilgilerin gelecek kuşaklara taşınması, 2) geofit bitkilerin farklı etnik gruplar tarafından kullanım biçimleri, 3) bitki türlerine verilen yöresel isimlerin belirlenmesi ve 4) Türkiye'nin etnobotanik bilgi birikimine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Alan seçimi ve özellikleri

Mardin, kültürel açıdan çok zengin bir yere sahip olduğundan dolayı geleneksel bitki kullanımının da fazla olacağı düşüncesiyle araştırma yapılmaya değer bulunmuştur.

Araştırma alanı seçilen Mardin (Şekil 2); Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan çok kültürlü bir ildir. Tarih boyunca farklı etnik çeşitliliği ve birden fazla dini bünyesinde bulundurmış, günümüzde de halen bir hoşgörü medeniyetinin önemli şehirlerinden biri olarak bilinmektedir (Demir, 2010). Yüzölçümü 8891 km²'dir. Bulunduğu koordinatlar 39°56'-42°54' doğu boylamları ve 36°55'-38°51' kuzey enlemleridir. Davis'in kareleme (Grid) sistemine göre C8 karesinde yer almaktadır (Davis, 1965-1985). Denizden yüksekliği yaklaşık 1.083 metredir (Şekil 2). Mardin il topraklarının %52'si dağlarla %32'si platolarla ve %25'i ovalarla kaplıdır. Dağlar çoğunlukla doğu-batı yönünde uzanmaktadır. Mardin'in %18.57'si orman-çalılıkları ve %10.26 oranında doğal çayırılık alanlar bulunur. İklimsel açıdan Mardin, Akdeniz iklimi ile karasal iklimin ortak özelliklerini taşımaktadır (Mercan ve Arpağ, 2020). Bölgede hâkim olan genel bitki örtüsü steptir. Floristik kompozisyon açısından değerlendirildiğinde; Poaceae ve Fabaceae familyaları ön plana çıkmaktadır (Demir, 2010; Aydın, 2019).

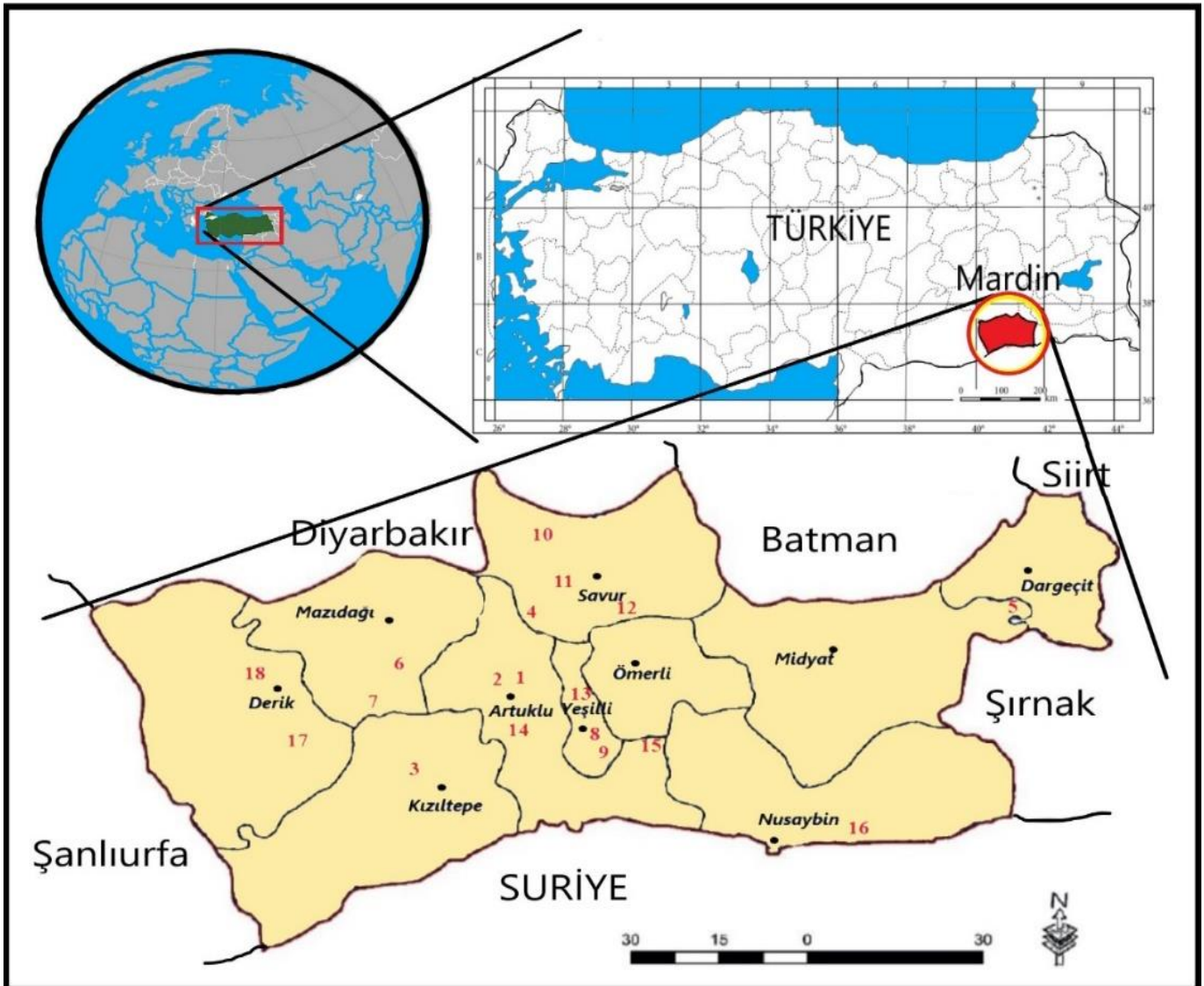
Bitki örneklerinin değerlendirilmesi

Çalışma materyalini 2019-2021 yılları arasında Mardin ilinde gerçekleştirilen etnobotanik araştırmalarda halkın kullandığı geofit örnekleri oluşturmaktadır. Toplanan bitki örnekleri, lokaliteleri ile birlikte gerekli arazi kayıtları yazılarak numaralandıktan sonra herbaryum materyali haline getirilmiş, toplayıcı numarası ile Harran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Herbaryumu (HARRAN)'nda muhafaza altına alınmıştır.

Bitkilerin teşhisinde temel kaynak olarak Türkiye ve Ege Adaları Florası (Davis, 1965-1985; Davis ve ark.,

1988; Güner ve ark., 2000), Resimli Türkiye Florası (Güner ve ark., 2018), Irak Florası (Townsend and Guest, 1985), İran Florası (Rechinger, 1990), Suriye, Filistin ve Sina Florası (Post ve Dinsmore, 1933) ve

floristik revizyon çalışmalarından yararlanılmıştır (Genç, 2010; Koçyiğit, 2010; Ekşi, 2012; Fritsch ve Abbasi, 2013; Eker ve ark., 2014; Uysal ve ark., 2014; Tekşen ve Erkul 2015; Eroğlu, 2020).



Şekil 2. Araştırma alanı; 1-Artuklu- Çağlar (Dazerke), 2-Artuklu Hamzabey (Zınnar), 3- Kızıltepe-Yüceli (Hursanavi), 4- Savur-Yeşilalan (Barman), 5- Midyat-Danışman (Herabreş), 6- Mazıdağı-Cevizli (Cevzat), 7- Mazıdağı-Konur (Şebe), 8- Yeşilli-Bülbül (Binebil), 9- Yeşilli-Sancar (Tuhube), 10-Savur- Evkuran (Dersilav), 11-Savur-Başkavak (Ahmediye), 12-Savur-Kayatepe (Mineyzi), 13-Yeşilli-Kabala, 14-Artuklu-Merkez, 15- Artuklu-Yaydere (Kurdise), 16- Nusaybin-Tepealtı (Tılakub), 17-Derik- Değirmenli (Susık), 18-Derik-Merkez

Figure 2. Study area; 1-Artuklu- Çağlar (Dazerke), 2-Artuklu Hamzabey (Zınnar), 3- Kızıltepe-Yüceli (Hursanavi), 4- Savur-Yeşilalan (Barman), 5- Midyat-Danışman (Herabreş), 6- Mazıdağı-Cevizli (Cevzat), 7- Mazıdağı-Konur (Şebe), 8- Yeşilli-Bülbül (Binebil), 9- Yeşilli-Sancar (Tuhube), 10-Savur- Evkuran (Dersilav), 11-Savur- Başkavak (Ahmediye), 12-Savur-Kayatepe (Mineyzi), 13-Yeşilli-Kabala, 14-Artuklu-Centre, 15- Artuklu-Yaydere (Kurdise), 16- Nusaybin-Tepealtı (Tılakub), 17- Derik- Değirmenli (Susık), 18-Derik-Centre

Türkçe bitki isimleri ve bitki yazar isimlerinin yazımında "Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler) (Güner, 2012)" adlı eser baz alınmıştır. Yöre insanların kendine özgü kullandıkları yöresel bitki isimleri orijinal haliyle kayıt edilmiştir.

Kaynak kişilerin seçimi

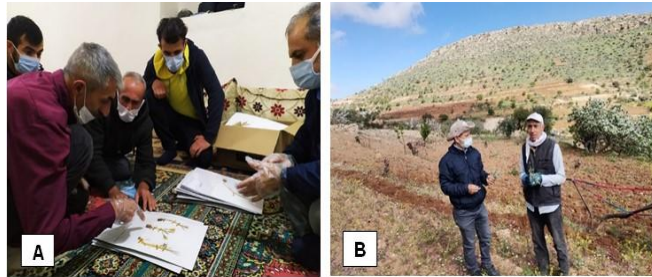
Tespit edilen bitki örneklerinin geleneksel bilgi kullanımları daha önceden hazırlanmış etnobotanik bilgi formlarına işlenmiştir (Çizelge 1). Kaynak kişilere bitkinin yerel ismi, kullanım amacı,

kullanılan kısmı ve kullanım şekli sorulmuştur. Ayrıca, yüz yüze görüşmeler ile yarı yapılandırılmış ve katılımlı gözlem tekniği kullanılarak görüşmeler sağlanmıştır (Şekil 3 A-B)

Çizelge 1. Etnobotanik bilgi formu

Table 1. Ethnobotanical information sheet

Bilgiyi kaydedenin adı-soyadı:.....			
Tarih:.....			
Görüşme yapılan kişinin adı-soyadı:			
Cinsiyeti:			
Mesleği:			
Eğitim durumu:			
Yaşı:			
Yaşadığı yer:			
Adres:			
Kullanılan Geofitlere İlişkin Alınan Bilgiler:			
Bitkinin Adı	Kullanılan kısmı	Neler Yapılır? (İlaç/ börek/ salata/kavurma gibi)	Nasıl hazırlanır?



Şekil 3. Kaynak kişilerle yüz yüze görüşme A) Yüceli mahallesi B) Artuklu mahallesi

Figure 3. Face-to-face meeting with the interview people A) Yüceli neighborhood B) Artuklu neighborhood

Yörede Kürt, Türk, Arap, Süryani gibi farklı kültürel (etnik, dini) gruplardaki kaynak kişilerin bilgilerine başvurulmuştur. 18-85 yaş arasındaki kaynak kişilerle görüşmeler sağlanmıştır. Ayrıca, farklı eğitim düzeyleri ve farklı yaş grupları tercih edilmiştir. Bu bağlamda 9 ilçeye bağlı 18 farklı kırsal yerleşim alanında (mahalle / köy) 61 kaynak kişi ile görüşmeler yapılmıştır. Etnobotanik özelliği olan bazı taksonların görselleri Şekil 4'te verilmiştir.

Sonuçların Değerlendirilmesi

UV (Use Value) veya Kullanım değeri (KD) değeri bölgede iyi bilinen türler arasındaki bağıntıyı göstermektedir. $UV = U/N$ ile formüle edilmektedir. UV: Başvurulan türlerin kullanım değeri, U: Tür başına düşen atıf sayısı, N: Bilgilendirici sayısı (Trotter ve Logan, 2019).

Bulgularda etnobotanik özelliği olan bitkiler ailesine göre, aileye altında da cins sırasına göre alfabetik olarak verilmiştir.



Şekil 4. A- *Sternbergia vernalis*, B- *Crocus cancellatus* subsp. *damascenus*, C- *Geranium tuberosum*, D- *Arum rupicola* yaprağı, E- *Arum rupicola* yaprağından sarma yapımı, F- *Arum rupicola* yaprak ve saplarından çorba yapımı

Figure 1. A- *Sternbergia vernalis*, B- *Crocus cancellatus* subsp. *damascenus*, C- *Geranium tuberosum*, D- Leaf of *Arum rupicola*, E- Wrapping from *Arum rupicola* leaf, F- Making soup from the leaves and stems of *Arum rupicola*

BULGULAR ve TARTIŞMA

Araştırma alanından tespit edilen bitkilerin geleneksel kullanım amaçları ve kullanım şekilleri Çizelge 2'de alfabetik sıraya göre verilmiştir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Mardin ili genelinde 3 yıllık süreçte yapılan arazi çalışmaları sonucunda, halkın kullandığı geofitler; 18 familyaya bağlı 28 cinse ait toplam 61 takson olarak tespit edilmiştir. Bunların 27'si soğan, 17'si yumru, 9'u rizom ve 8'i korm'dur.

Takson sayısı açısından en çok kullanımına rastlanan familyalar sırasıyla; Amaryllidaceae (13), Iridaceae (12), Araceae (8), Asparagaceae (5), Liliaceae (3) ve Asteraceae (3) şeklindeyken en fazla kullanımı olan cinsler *Allium* (10), *Iris* (6), *Crocus* (4) ve *Eminium* (3), *Biarum* (3), *Ornithogalum* (3), *Sternbergia* (3) ve *Scorzonera* (3)'dür (Şekil 5).

Araştırma alanındaki kaynak kişilerin yaş ortalaması 45'dir. Görüşme yapılan kaynak kişilerden 50 yaş üstü oranı %38'dir. Çalışmada, görüşme yapılan kaynak kişilerin %22'si kadın, %78'i ise erkeklerden oluşmaktadır. Bilgisinden yararlanan kaynak kişiler genellikle ileri yaşta olup eğitim durumları nisbeten genç nesile göre düşüktür. Araştırma alanındaki kaynak kişiler, 18-39, 40-50, 51-64 ve 65 üstü olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 6A).

Çizelge 2. Bitkilerin geleneksel kullanım amaçları ve kullanım şekilleri
Table 2. Traditional uses and usage patterns of plants

Bitkinin Familyası	Bitkinin bilimsel adı,	Bitkinin yöresel adı	Toplayıcı no	Geofit tipi	Kullanım şekli	Kullanılan kısım	Kullanım amacı	Kullanım değeri (KD)	Literatür
Amaryllidaceae	<i>Allium ampeloprasum</i> L.	Sirdım, sıra mara, sirke, fuveyme, pırasa	M. Balos 4336, 4532	soğan	Taze yaprakları çiğ veya kavrulularak yenir. Taze yaprakları otlu peynire de katılır. Tıbbi amaçlı olarak, taze yaprakları eklemlere ve idrar yollarında ve soğuk algınlığında kullanılır.	Yaprak	Gıda, tıbbi	0.59	Yeşil ve ark., 2019; Yeşil ve İnal, 2019; Ayaz, 2020
	<i>A. armerioides</i> Boiss.	Sirka penir, sirik, fuveyme, mardınsoğanı	M. Balos 4353	soğan	Taze yaprakları otlu peynir yapımında kullanılmaktadır. Tıbbi olarak, yaprakları eklemlere ve idrar yollarına, ayrıca soğuk algınlığına kullanılır.	Yaprak, Soğan	Gıda, tıbbi	0.18	-
	<i>A. atroviolaceum</i> Boiss.	Sirka penir, sirik, fuveyme, liflikörmen	M. Balos 4335	soğan	Yaprakları pişirilerek ya da pilavın yanında çiğ tüketilir. Kavrulularak peynirli böreğe katılır. Otlı peynire katılır.	Yaprak	Gıda	0.18	-
	<i>A. dictyoprasum</i> C.A.Mey. ex Kunth	Sirke, süveyme, topoğan	M. Balos 4866	soğan	Taze yaprakları taze tüketilir. Kavrulularak peynirli börek yapımında kullanılır. Otlı peynire katılır. Tıbbi amaçlı olarak, taze yaprakları eklem, idrar yolları ve soğuk algınlığında kullanılır.	Soğan, yaprak	Gıda, tıbbi	0.065	-
	<i>A. kharputense</i> Freyn & Sint.	Sirdım, sirke, pıvaz, sirik, silovask, fuveyme, sir, bıssayla, soryaz, harputsoğanı	M. Balos 4808	soğan	Taze yaprakları bulgur pilavına, otlu peynire, tandır ekmeğinin hamuruna katılır, haşlanarak yumurta ile kavrulur. Soğanları hem taze yenir hem de yörede turşu, cacık ve patlıcan ezmesine katılır. Tıbbi amaçlı ise soğanı tansiyon düşürücü amaçlı dil altına konur. Taze yaprakları eklemlere ve idrar yollarında, ayrıca soğuk algınlığında kullanılır. Yöre çocukları ellerine desen yapmak amaçlı skapadan çıkan kırmızı bir sıvı ile renk maddesi elde ederler.	Tümü	Gıda, tıbbi, renk maddesi	0.59	Yeşil ve İnal, 2019; Ayaz, 2020
	<i>A. noëanum</i> Reut. ex Regel	Sirik, ekinsoğanı	M. Balos 4183	soğan	Taze yaprakları çiğ olarak yenebildiği gibi kavrulularak da börek yapımına katılır. Tıbbi amaçlı olarak, taze yaprakları eklemlere ve idrar yollarında, ayrıca soğuk algınlığında kullanılır.	Taze yaprakları	Gıda, tıbbi	0.081	Kılıç, 2019; Ayaz, 2020

	<i>A. rotundum</i> L.	Sirik, sirim, sirmi, delipirasa	<i>M. Balos</i> 4692	soğan	Taze iken yaprakları toplanarak yemeklerin yanında çiğ olarak tüketilir. Tıbbi amaçlı olarak, taze yaprakları eklemlere ve idrar yollarında, ayrıca soğuk algınlığında kullanılır.	Taze yaprakları, Soğan	Gıda, tıbbi	0.098	-
	<i>A. pustulosum</i> Boiss. & Hausskn.	Sirdım, sirim, sirik, beysogan	<i>M. Balos</i> 4819	soğan	Taze yaprakları yenir, pilavın yanında çiğ olarak tüketilir, kavrulur peynirli böreğe katılır, ayrıca otlu peynir yapımında kullanılır.	Taze yaprakları	Gıda	0.098	-
	<i>A. vineale</i> L.	Sirdım, sirim, sirik, sirmo	<i>M. Balos</i> 4803	soğan	Taze yaprakları yenir, pilavın yanında çiğ olarak tüketilir, kavrulur peynirli böreğe katılır, ayrıca otlu peynir yapımında kullanılır.	Taze yaprakları	Gıda	0.098	-
	<i>A. wendelboanum</i> Kollmann	Sirdım, sirim, sirik, sirmo	<i>M. Balos</i> 4638	soğan	Taze yaprakları yenir, pilavın yanında çiğ olarak tüketilir, kavrulur peynirli böreğe katılır, ayrıca otlu peynir yapımında kullanılır.	Taze yaprakları	Gıda	0.098	-
	<i>Sternbergia clusiana</i> (Ker Gawl.) Ker Gawl. ex Spreng.	Nergiza payizi, verde tışrin, nergizeltışrin, nergiza navtırba, vargetgülü	<i>M. Balos</i> 4358	soğan	Mezarlıklarda süs amacıyla dikilir.	Tümü	Süs	0.131	-
	<i>S. vernalis</i> (Mill.) Gorner & J.H. Harvey	Nergiza payizi, sosın, kışnergisi	<i>M. Balos</i> 4397	soğan	Ev bahçeleri ve mezarlıklarda süs amacıyla ekilir.	Tümü	Süs	0.098	-
	<i>S. lutea</i> (L.) Ker Gawl. ex Spreng.	Nergiza payizi, sosın, karanergis	<i>M. Balos</i> 4398	soğan	Ev bahçeleri ve mezarlıklarda süs amacıyla ekilir.	Tümü	Süs	0.098	-
Apiaceae	<i>Bunium paucifolium</i> DC.	Ceviz il arz. güzê ardê	<i>M. Balos</i> 4510	yumru	Yumrusu çiğ olarak yenir.	Yumru	Gıda	0.098	Ayaz, 2020
Araceae	<i>Arum rupicola</i> var. <i>rupicola</i> Boiss.	Kardi, kardiyya, kardiya mezin, kırık mijo, zıbbıl rum, dağsorsalı	<i>M. Balos</i> 4634	yumru	Taze toplanan yapraklar sumakla beraber suda kaynatılır, suyu döküldükten sonra, içine bulgur, pirinç, kıyma ya da parça et konularak sarması yapılır. Kavurması için ise; yaprak sapları doğranır ve aynı işlem yapılır, soğanla kavrulur ve yenir. Çorba yapımı için; yaprak, körpe iken toplanır. Sumakla 30 dakika kaynatılır ya da suda 12 saat bekletildikten sonra suyu dökülür. Elde edilen ürün doğranarak içine soğan, bulgur, dövme buğday ya da pirinç konularak çorbası yapılır. Genellikle mevsiminde tüketilir bazen de köylerde dondurucuya konur kışın tüketilir. Karaciğer ve dalak için faydalı olduğu iddia edilmektedir. Dinç tuttuğuna, bitkiyi yedi defa yiyen kişiyi yılan soksa bile tesir etmediğine, güçlü	Yaprak,	Gıda, tıbbi	0.737	Yeşil ve ark., 2019; Yeşil ve İnal, 2019; Kılıç, 2019; Ayaz, 2020

					bir bağışıklık sağladığına inanılmaktadır.				
	<i>A.rupicola</i> var. <i>virescens</i> (Stapf) P.C.Boyce	Kardi, kardiyya, kardiya mezin, kırık mijo, zıbbıl rum, dağsorsalı	<i>M. Balos</i> 4207	yumru	Taze toplanan yapraklar sumakla beraber suda kaynatılır, suyu döküldükten sonra, içine bulgur, pirinç, kıyma ya da parça et konularak sarması yapılır. Kavurması için ise; yaprak sapları doğranır ve aynı işlem yapılır, soğanla kavrulur ve yenir. Çorba yapımı için; yaprak, körpe iken toplanır. Sumakla 30 dakika kaynatılır ya da suda 12 saat bekletildikten sonra suyu dökülür. Elde edilen ürün doğranarak içine soğan, bulgur, dövme buğday ya da pirinç konularak çorbası yapılır. Genellikle mevsiminde tüketilir bazen de köylerde dondurucuya konur kışın tüketilir. Karaciğer ve dalak için faydalı olduğu iddia edilmektedir. Dinç tuttuğuna, bitkiyi yedi defa yiyen kişiyi yılan soksa bile tesir etmediğine, güçlü bir bağışıklık sağladığına inanılmaktadır.	Yaprak,	Gıda, tıbbi	0.737	-
	<i>Biarum carduchorum</i> (Schott) Engl.	Kerkaereba, kirkekuçuk, kırık mijo, kardiya reş, kırka sa, zıbbıl rum, kirke rum, kirke huço, kirke kelo, kirke elo, kardi	<i>M. Balos</i> 4898	yumru	Yaprakları sumakla kaynatılır, soğanla kavrulur ve yenir. Yumrusu boncuk şeklinde iplere dizilerek koçların boynuna süs amaçlı takılır. Spadiks denilen kısmı halk arasında kalem olarak isimlendirilir ve ayakkabıları siyaha boyamada kullanılır. Yumruları kirpi ve tilki tarafından yenir. Bitkiyi yemiş hayvanların etlerinin bölgede sırt ağrılarını giderdiğine inanılır.	Tümü	Gıda, tıbbi, süs	0.639	Kılıç, 2019; Ayaz, 2020
	<i>B. bovei</i> Blume	Kerkaereba, kirkekuçuk, kırık mijo, kardiya reş, kırka sa, zıbbıl rum, kirke rum, kirke huço, kirke kelo, kirke elo, kardi, Yılanpancarı	<i>M. Balos</i> 4929	yumru	Yaprakları sumakla kaynatılır, soğanla kavrulur ve yenir. Yumrusu boncuk şeklinde iplere dizilerek koçların boynuna süs amaçlı takılır. Spadiks denilen kısmı halk arasında kalem olarak isimlendirilir ve ayakkabıları siyaha boyamada kullanılır. Yumruları kirpi ve tilki tarafından yenir. Bitkiyi yemiş hayvanların etlerinin bölgede sırt ağrılarını giderdiğine inanılır	Tümü	Gıda, tıbbi, süs	0.491	-

<i>B. aleppicum</i> J.Thiébaud	Kerkaereba, kirkekuçuk, kırık mjo, kardiya reş, kırka sa, zıbbıl rum, kirke rum, kirke huço, kirke kelo, kirke elo, kardi, Urfa yılanpancarı	<i>M. Balos</i> 4900	yumru	Yaprakları sumakla kaynatılır, soğanla kavrulur ve yenir. Yumrusu boncuk şeklinde iplere dizilerek koçların boynuna süs amaçlı takılır. Spadiks denilen kısmı halk arasında kalem olarak isimlendirilir ve ayakkabıları siyaha boyamada kullanılır. Yumruları kirpi ve tilki tarafından yenir. Bitkiyi yemiş hayvanların etlerinin bölgede sırt ağrılarını giderdiğine inanılır.	Tümü	Gıda, tıbbi, süs	0.491	-
<i>Eminium intortum</i> (Banks & Sol.) Kuntze	Kırkasa, kardi, Kırık mjo, Gunke ıco, Zıbbıl rum, Kırke rum, Kirke huço, Kirke kelo, Kirke elo, Zımangolık, çarpık yılanbacağı	<i>M. Balos</i> 4561	yumru	Taze toplanan yapraklar sumakla beraber suda kaynatılır, suyu döküldükten sonra, içine bulgur, pirinç, kıyma ya da parça et konularak sarması yapılır. Kavurması için ise; yaprak sapları doğranır ve aynı işlem yapılır, soğanla kavrulur ve yenir. Çorba yapımı için; yaprak, körpe iken toplanır. Sumakla 30 dakika kaynatılır ya da suda 12 saat bekletildikten sonra suyu dökülür. Elde edilen ürün doğranarak içine soğan, bulgur, dövme buğday ya da pirinç konularak çorbası yapılır. Genellikle mevsiminde tüketilir bazen de köylerde dondurucuya konur kışın tüketilir. Karaciğer ve dalak için faydalı olduğu iddia edilmektedir. Dinç tuttuğuna, bitkiyi yedi defa yiyen kişiyi yılan soksa bile tesir etmediğine, güçlü bir bağışıklık sağladığına inanılmaktadır.	Yaprak	Gıda, tıbbi	0,022	-
<i>E. spiculatum</i> (Blume) Schott	Gerdi, kırkasa, gunke ıco, kirke huço, kirke kelo, kirke elo, zımangolık, Yılanbacağı	<i>M. Balos</i> 4557	yumru	Taze toplanan yapraklar sumakla beraber suda kaynatılır, suyu döküldükten sonra, içine bulgur, pirinç, kıyma ya da parça et konularak sarması yapılır. Kavurması için ise; yaprak sapları doğranır ve aynı işlem yapılır, soğanla kavrulur ve yenir. Çorba yapımı için; yaprak, körpe iken toplanır. Sumakla 30 dakika kaynatılır ya da suda 12 saat bekletildikten sonra suyu dökülür. Elde edilen ürün doğranarak içine soğan, bulgur, dövme buğday ya da pirinç konularak çorbası yapılır. Genellikle mevsiminde tüketilir bazen de köylerde dondurucuya konur kışın tüketilir. Karaciğer ve dalak için faydalı olduğu iddia edilmektedir. Dinç tuttuğuna, bitkiyi yedi defa yiyen kişiyi	Yaprak	Gıda, tıbbi	0.491	Kılıç, 2019; Ayaz, 2020

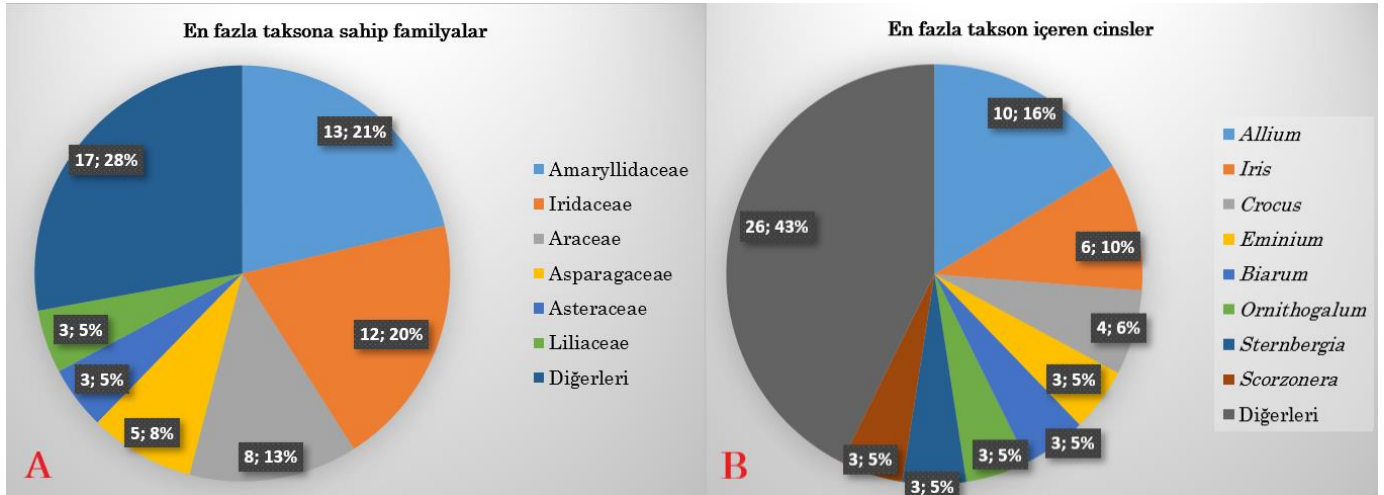
					yılan soksa bile tesir etmediğine, güçlü bir bağışıklık sağladığına inanılmaktadır				
	<i>E. rauwolfii</i> var. <i>rauwolfii</i> (Blume) Schott	Gerdi, kirkasa, Gunke ıco, kirke huço, kirke kelo, kirke elo, zımangolık, Yılanbacağı	<i>M. Balos</i> 4456	yumru	Taze toplanan yapraklar sumakla beraber suda kaynatılır, suyu döküldükten sonra, içine bulgur, pirinç, kıyma ya da parça et konularak sarması yapılır. Kavurması için ise; yaprak sapları doğranır ve aynı işlem yapılır, soğanla kavrularak yenir. Çorba yapımı için; yaprak, körpe iken toplanır. Sumakla 30 dakika kaynatılır ya da suda 12 saat bekletildikten sonra suyu dökülür. Elde edilen ürün doğranarak içine soğan, bulgur, dövme buğday ya da pirinç konularak çorbası yapılır. Genellikle mevsiminde tüketilir bazen de köylerde dondurucuya konur kışın tüketilir. Karaciğer ve dalak için faydalı olduğu iddia edilmektedir. Dinç tuttuğuna, bitkiyi yedi defa yiyen kişiyi yılan soksa bile tesir etmediğine, güçlü bir bağışıklık sağladığına inanılmaktadır	Yaprak	Gıda, tıbbi	0.344	-
Asparagaceae	<i>Hyacinthella siirtensis</i> B.Mathew	Sümbülü cebel, siirtkopçası	<i>M. Balos</i> 4514	soğan	Güzel koku ve süs amacıyla kullanılır	Tümü	Süs,k oku	0.098	-
	<i>Muscari discolor</i> Boiss. & Hausskn.	Sümbülü cebel, alacamüşkürüm	<i>M. Balos</i> 4663	soğan	Güzel koku ve süs amacıyla kullanılır	Tümü	Süs, koku	0.098	
	<i>Ornithogalum orthophyllum</i> Ten.	Serpısık, serspik, bayıryıldızı	<i>M. Balos</i> 4254	soğan	Yaprakları doğranır, haşlanır ve yumurta ile kavrulur.	Yaprak	Gıda	0.081	-
	<i>O. montanum</i> Cirillo	Serpısık, serspik, dağakyıldızı	<i>M. Balos</i> 4193	soğan	Yaprakları doğranır, haşlanır ve yumurta ile kavrulur.	Yaprak	Gıda	0.098	Ayaz, 2020
	<i>O. narbonense</i> L.	Serpısık, serspik, akbaldır	<i>M. Balos</i> 4313	soğan	Yaprakları doğranır, haşlanır ve yumurta ile kavrulur.	Yaprak	Gıda	0.098	
Asteraceae	<i>Scorzonera pseudolanata</i> Grossh.	Xılhılok, hılhılok, pırçıkı pire, hilok, hilonk, gizer, lovık, hınerek, hıyarul cebel, hirok, gızbelok, helhelok, halefrefo, keçimemesi	<i>M. Balos</i> 4184, 4243, 4400	yumru	Yaprakları taze iken yenir. Ispanak gibi soğanla kavrularak yemeği yapılır.	Tümü	Gıda	0.606	Yeşil ve İnal, 2019
	<i>S. phaeopappa</i> (Boiss.) Boiss.	Xılhılok, hılhılok, pırçıkı pire, hilok, hilonk, gizer, lovık, hınerek,	<i>M. Balos</i> 5128	yumru	Yaprakları taze iken yenir. Ispanak gibi soğanla kavrularak yemeği yapılır.	Yaprak	Gıda	0.737	-

		hıyarul cebel, hirok, ğızbelok, helhelok, halefrefo,							
	<i>S. kotschy</i> Boiss.	Xılhilok, hılhllok, pırçıkı pire, hilok, hilonk, gizer, lovık, hınerek, hıyarul cebel, hirok, ğızbelok, helhelok, halefrefo,	<i>M. Balos</i> 5123	yumru	Yaprakları taze iken yenir. Ispanak gibi soğanla kavrularak yemeği yapılır.	Yaprak	Gıda	0.737	-
Berberidaceae	<i>Bongardia chrysogonum</i> (L.) Spach	Tırşok, tırşı, turşoka keva, hammeyda, hummeyda, kançi, tatata ferce, çatlakotu	<i>M. Balos</i> 4154	yumru	Yaprakları ekşi tadında olup çiğ olarak yenilmektedir.	Yaprak	Gıda	0.213	-
	<i>Leontice ewersmanni</i> Bunge	Çekçekok, aslan kulağı	<i>M. Balos</i> 4516	yumru	Şeker hastalığı ve kadın hastalıklarında kullanılır. Sıcak suda bekletilerek içilir.	Topraküstü kısımları	Tıbbi	0.098	-
Cucurbitaceae	<i>Bryonia multiflora</i> Boiss. & Heldr.	Gırzık rovi, ğerzık ruvi, sitemboye mara, yılan domatesi, rivrezk, gerzrovik, elemisk, rındıkerep, ülüngür	<i>M. Balos</i> 4740	rizom	Yaprakları taze iken soğan ve yumurta ile kavrularak ıspanak gibi yemeği yapılır. Zehirli olduğundan yaprakları ayıranda pişirilerek acılığı giderilerek yumurta ile kavrulmaktadır. Yaprakları sarma yapımında kullanılır. Beyaz yumrusu toz haline getirilerek şeker hastalığında kullanılır. Şeker hastalığında bir başka kullanımı ise yumrusu küçük dilimler haline getirilerek bir parçası dil altına konur. Bazen de yumrusu kaynatılarak elde edilen suyu şeker hastalığında kullanılıyor.	Yaprak, Yumru	Gıda, tıbbi	0.537	Yeşil ve İnal, 2019; Kılıç, 2019; Ayaz, 2020
	<i>B. alba</i> L.	Gırzık rovi, ğerzık ruvi, sitemboye mara, yılan domatesi, rivrezk, gerzrovik, elemisk, rındıkerep, ülüngür	<i>M. Balos</i> 5169	rizom	Yaprakları taze iken soğan ve yumurta ile kavrularak ıspanak gibi yemeği yapılır. Zehirli olduğundan yaprakları ayıranda pişirilerek acılığı giderilerek yumurta ile kavrulmaktadır. Yaprakları sarma yapımında kullanılır. Beyaz yumrusu toz haline getirilerek şeker hastalığında kullanılır. Şeker hastalığında bir başka kullanımı ise yumrusu küçük dilimler haline getirilerek bir parçası dil altına konur. Bazen de yumrusu kaynatılarak elde	Topraküstü kısımları	Gıda, tıbbi	0.426	-

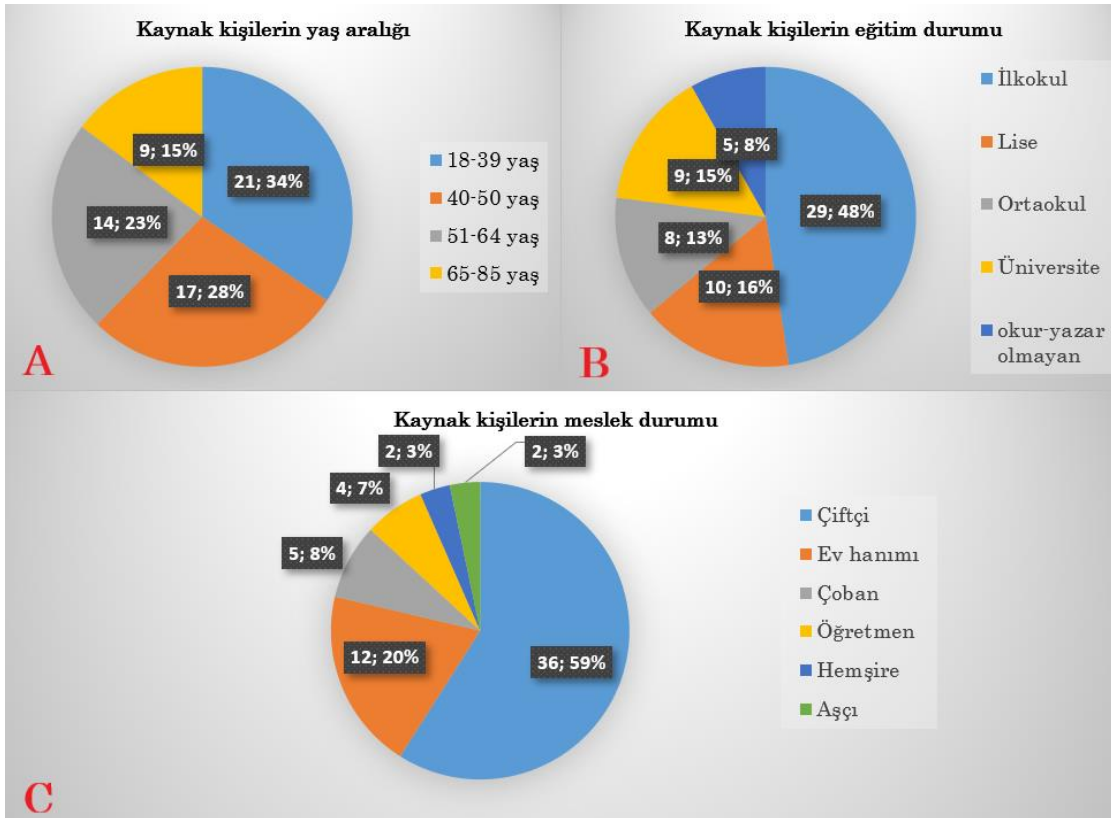
					edilen suyu şeker hastalığında kullanılıyor.					
Colchicaceae	<i>Colchicum kotschyi</i> Boiss.	Araboşk, Pivoka payizi, Basatılhecel, çiçega payizi, gula payizi, acıçğdem	<i>M. Balos</i> 4878, 4902	korm	Yöre halkı tarafından zehirli bir bitki olarak bilinmektedir.	Topraküstü kısımları	Zehirli	0.393	-	
	<i>C. crocifolium</i> Boiss.	Araboşk, şakkel arap, basatıl hecel, ereboş, urfa mahrutu	<i>M. Balos</i> 4403	korm	Kormu zehirli bir bitki olduğu bilinmektedir. Kormu toksik olmasına rağmen çiğ olarak tüketilmektedir. Şeker hastalığına iyi geldiği iddia edilmektedir.	Korm	Zehirli, Tıbbi	0.245	-	
Dioscoraceae	<i>Dioscorea communis</i> L.	Darhellelek	<i>M. Balos</i> 5213	rizom	Yaprağı sarma yapımında kullanılır. Yaprakları lapa haline getirilerek romatizma ağrılarında kullanılır.	Yaprak	Gıda, tıbbi	0.180	Yeşil ve İnal, 2019	
Equisetaceae	<i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.	Kırkilitotu	<i>M. Balos</i> 5211	rizom	Bitkinin topraküstü kısımları çay gibi demlenerek içilir. Zayıflamada kullanılır.	Topraküstü kısımları	Tıbbi	0.049	-	
Gentianaceae	<i>Gentiana olivieri</i> Griseb.	Kulilka esker, korku otu	<i>M. Balos</i> 5193	rizom	Yöre halkı tarafından toplanmakta ve bitki çayı olarak içilmektedir. Altını ıslatan çocuklara bitki çayı olarak tedavi amaçlı içirilmektedir.	Topraküstü kısımları	Gıda, Tıbbi	0.032	-	
Geraniaceae	<i>Geranium tuberosum</i> L.	Seve erde (yer elması), emoreşk, penirok, güze bın erdan, güze eraba, hummeyda, yer cevizi, çakmuz	<i>M. Balos</i> 4297	yumru	Taze yumrusu çiğ olarak yenilmektedir.	Yumru	Gıda	0.196	Ayaz, 2020	
	<i>G. libanoticum</i> Schenk.	Seve erde (yer elması), emoreşk, penirok, güze bın erdan, güze eraba, hummeyda, yer cevizi, çakmuz	<i>M. Balos</i> 5101	yumru	Taze yumrusu çiğ olarak yenilmektedir.	Yumru	Gıda	0.196	-	
Iridaceae	<i>Crocus musagecitii</i> Erol & Yıldırım	Pivoke keva, pivıtk, pivoka mere, hulhuleyyetilrivan, çoban çiğdemi, kulilka keva, musageçit çiğdemi	<i>M. Balos</i> 4500	korm	Taze kormu yöre halkı tarafından yenir. Çiçekleri bitki çayı olarak içilmektedir.	Korm, çiçek	Gıda	0.147	-	
	<i>C. leichtlinii</i> (Dewar) Bowles	Bivok, hulhuleyye, hulhuleyyetil rai (raven), çoban çiğdemi, pivoka keva, pivoka mara,	<i>M. Balos</i> 4431	korm	Taze kormu yöre halkı tarafından yenir. Çiçekleri bitki çayı olarak içilmektedir.	Korm, çiçek	Gıda	0.229	Kılıç, 2019	

		mardinçiğdemi								
	<i>C. cancellatus</i> subsp. <i>damascenus</i> (Herb.) B.Mathew	Pivoka xarına, zerzeng, herusk, hulhuleyyetil ekl, hpindok, hivazok, hivaza herami, pivitk, pivoka pelnehş, dekneşşeyh, hulhuleyye, Pivok	<i>M. Balos</i> 4924, 4917	korm	Taze kormu yöre halkı tarafından yenir. Çiçekleri bitki çayı olarak içilmektedir.	Korm, çiçek	Gıda	0.573	Yeşil ve ark., 2019; Yeşil ve İnal, 2019; Kılıç, 2019; Ayaz, 2020	
	<i>C. pallasii</i> subsp. <i>turcicus</i> B.Mathew	hulhuleyye, pivoka hespa, pivoka mara, çitvan	<i>M. Balos</i> 4924	korm	Taze kormu yöre halkı tarafından yenir. Çiçekleri bitki çayı olarak içilmektedir.	Korm, çiçek	Gıda	0.229	Yeşil ve İnal, 2019	
	<i>Gladiolus atrovioleaceus</i> Boiss.	Zengilok, kulilka esker, mijil, Kıraçsüseni	<i>M. Balos</i> 4293	korm	Evlerde süs bitkisi olarak kullanılır.	Topraküstü kısımlar	Süs	0.262	-	
	<i>G. kotschyanus</i> Boiss.	Zengilok, kulilka esker, mijil, çayırkılıçotu	<i>M. Balos</i> 4651	korm	Evlerde süs bitkisi olarak kullanılır.	Topraküstü kısımlar	Süs	0.196	-	
	<i>Iris gatesii</i> Foster	Süsen, sosın, susın, bırğızleyye, zibak, sasonkurtkulağı	<i>M. Balos</i> 4610	rizom	Güzel kokusu ve gösterişli çiçeklerinden dolayı mezarlıklara süs bitkisi olarak dikilir.	Tümü	Süs	0.278	-	
	<i>I. persica</i> L.	Bılbıza mıha, bılbızeka meşini, kandil, miha spiya, bılbızeka mıha, bırğızleyye, binezezk, buzala	<i>M. Balos</i> 4156	soğan	Çiçeği çiğ olarak yenir.	Çiçek	Gıda	0.622	Yeşil ve ark., 2019; Yeşil ve İnal, 2019	
	<i>I. reticulata</i> var. <i>bakeriana</i> (Foster) B.Mathew & Wendelbo	Bızbızek, bılbıza bızına, bılbızeka bızına, pırpızek, kandil, bılbızeka bızına, bırğızleyye, binezezk, buzala	<i>M. Balos</i> 5473, 4476, 4437	soğan	Çiçeği çiğ olarak yenir.	Çiçek	Gıda	0.524	Yeşil ve ark., 2019; Akgül ve ark., 2018; Ayaz, 2020	
	<i>I. reticulata</i> var. <i>reticulata</i> M.Bieb.	Bızbızek, pırpızek, bılbızeka hemri, bırğızleyye, karakörpeze	<i>M. Balos</i> 4105	soğan	Çiçeği çiğ olarak yenir.	Çiçek	Gıda	0.213	-	

	<i>I. reticulata</i> var. <i>sophenensis</i> Foster	Bizbizek, birğizleyye, pirpizek, pılbızeka hemri, pirpizek	<i>M. Balos</i> 4492	soğan	Çiçeği çiğ olarak yenir.	Çiçek	Gıda	0.196	-
	* <i>Iris × germanica</i> L.	Süsen, sosım, susım, birğizleyye, zibak, göksüsen	<i>M. Balos</i> 5573	rizom	Güzel kokusu ve gösterişli çiçeklerinden dolayı mezarlıklara süs bitkisi olarak dikilir.	Tümü	Süs	0.278	-
Liliaceae	<i>Gagea juliae</i> Pascher	Pivaza baaci, sarıyıldız	<i>M. Balos</i> 4535	soğan	Soğan gibi kavrularak yemeği yapılır.	Topraküstü kısımları	Gıda	0.081	-
	<i>G. villosa</i> (M.Bieb.) Sweet	Şınerek, sarıyıldız	<i>M. Balos</i> 4496	soğan	Kormu çiğ olarak yenir.	Korm	Gıda	0.081	Yeşil ve ark., 2019
	<i>Fritillaria persica</i> L.	Terslale	<i>M. Balos</i> 5052	soğan	Süs bitkisi olarak kullanılır.	Tümü	Süs	0.163	-
Ixioliriaceae	<i>Ixiolirion tataricum</i> var. <i>tataricum</i> (Pall.) Schult. & Schult.f.	Hıyarok, hıyarelcebel, köpekotu	<i>M. Balos</i> 4302	soğan	Çiçekleri çiğ olarak yenir.	Çiçek	Gıda	0.295	Akgül ve ark., 2018
Poaceae	<i>Hordeum bulbosum</i> L.	Sivanok, boncukarpa	<i>M. Balos</i> 5140	soğan	Soğanı çiğ olarak yenir.	Soğan	Gıda	0.295	Kılıç, 2019; Ayaz, 2020
Polygonaceae	<i>Rumex tuberosus</i> subsp. <i>contractus</i> Rech.	Tırşoka ga, tırşok	<i>M. Balos</i> 5158	yumru	Yaprakları çiğ olarak yenir.	Yaprak	Gıda	0.295	Kılıç, 2019; Ayaz, 2020
Ranunculaceae	<i>Anemone coronaria</i> L.	Gangılok, gülmirişk, gangılka bahari, manisalâlesi	<i>M. Balos</i> 4504·b	rizom	Süs bitkisi olarak kullanılır.	Tümü	Süs	0.344	-
	<i>Ranunculus asiaticus</i> L.	Gangılok, gelincik, kulilka hachaco, şakayıklâlesi	<i>M. Balos</i> 4199	rizom	Süs bitkisi olarak kullanılır.	Tümü	Süs	0.180	-



Şekil 5. Araştırma alanında en fazla taksona sahip, A: Familyaların ve B: Cinslerin diyagramları
Figure 5. Diagrams of A: Families and B: Genus with the most taxa in the research area



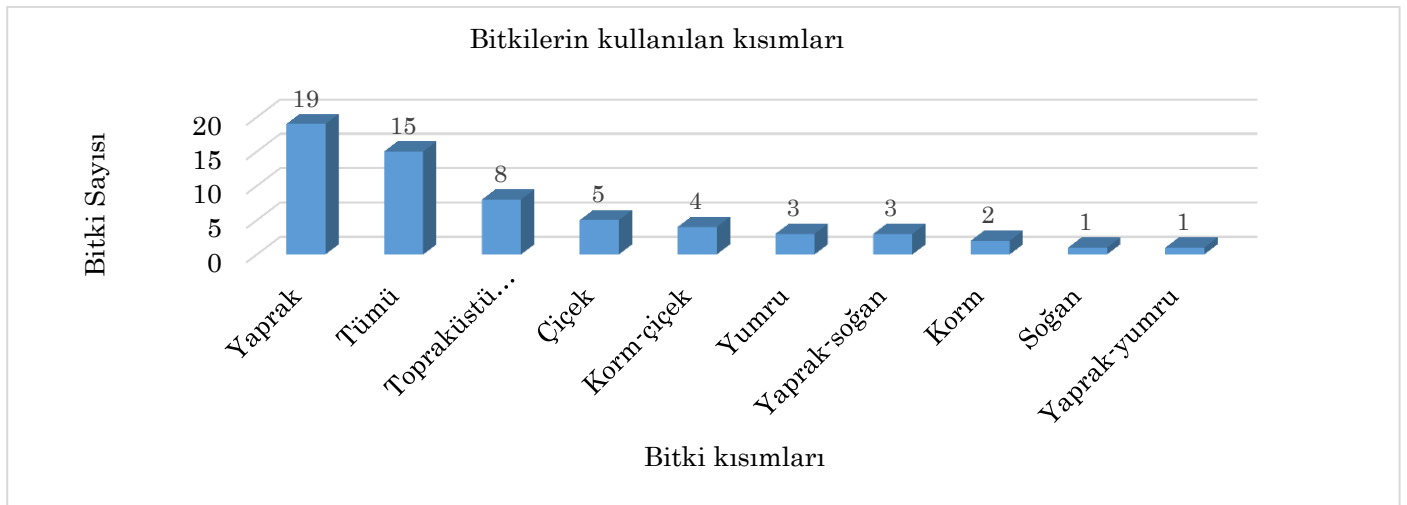
Şekil 6. Araştırma alanındaki kaynak kişilerin, A: Yaş dağılımları, B: Eğitim durumları, C: Meslek durumları
Figure 6. Informants in the research area, A: Age distribution, B: Educational status, C: Occupational status

Kaynak kişilerin eğitim durumları okur-yazar olmayan, ilkokul, ortaokul, lise ve üniversite olarak ayrılmıştır. Kaynak kişilerin eğitim durumları incelendiğinde; %48'ini (29 kişi) ilkokul mezunu, %16'sını (10 kişi) lise mezunu ve %13'ünü de (8 kişi) Ortaokul mezunu oluşturmaktadır (Şekil 6B).

Araştırma alanındaki kaynak kişilerin meslek durumları incelendiğinde; çiftçiler %59 (36 kişi), ev hanımları %20 (12 kişi), Çoban %8 (5 kişi), öğretmen

%7 (4 kişi), hemşire %3 (2 kişi) ve aşçı %3 (2 kişi) oranında tespit edilmiştir (Şekil 6C).

Bitkilerin en çok kullanılan kısımları %31 (19 adet) oranı ile yaprak olarak belirlenmiştir. Daha sonra kullanım sıklığı olarak bitkinin tümü %25 (15 adet), topraküstü kısımları %13 (8 adet), çiçek %8 (5 adet), korm-çiçek %6 (4 adet), yumru %5 (3 adet), yaprak-soğan %5 (3 adet), korm %3 (2), soğan %2 (1), yaprak-yumru %2 (1) şeklindedir (Şekil 7).



Şekil 7. Etnobotanikte değerlendirilen bitkilerin kullanılan kısımları
Figure 7. Distribution of plants evaluated in ethnobotany according to the parts used

Etnobotanik özellikleri belirlenen 61 taksona ait bitkilerin kullanım amaçları ve kullanım biçimleri; gıda %44 (27 adet), gıda-tıbbi %23 (14 adet), süs %16 (10 adet), gıda-süs %5 (2 adet), koku-süs %3 (2 adet), gıda-tıbbi-boyar madde %1 (1), zehirli %1 (1 adet), zehirli-tıbbi %1 (1 adet) 'dir. Gıda olarak kullanılan bitkileri toplam sayısı 45, tıbbi olarak kullanılan bitkileri toplam sayısı 17 ve süs olarak kullanılan bitkilerin toplam sayısı 15'dir (Şekil 8).

Kullanım değeri (KD) bakımından en fazla kullanım *Arum rupicola* var. *rupicola* (0.737), *A. rupicola* var. *virescens* (0.737), *Scorzonera kotschyi* (0.737) ve *S. phaeopappa* (0.737) olarak belirlenmiştir. Kullanım değeri en düşük olan *Eminium intortum* (0.022) ve *Gentiana olivieri* (0.032) (Tablo 2)'dir.

Çalışmanın diğer araştırmalarla karşılaştırılması Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3'te görüldüğü gibi bu araştırmada geofit kullanım verilerinin daha fazla olması hem bölgenin geofitleri üzerinde spesifik bir çalışma olması hem de bitki kullanım kültürünün daha fazla olduğunun bir göstergesidir. Bölgede geofitlerin etnobotanigi üzerinde bu çalışma ilk kez detaylı olması hasebiyle yakın civarda yapılan diğer genel etnobotanik araştırmalara göre geofitlerin kullanımının daha fazla olması beklenen bir durumdur. Bu araştırmaya en yakın veriler Ayaz (2020) tarafından yapılan çalışmadır. Adı geçen çalışmada 18 geofitin etnobotanik özelliği ortaya konulmuştur. Yeşil ve İnal (2019) ile Kılıç (2019)'ın çalışmalarında ise geofit kullanım sayıları 16 takson olarak belirlenmiştir.

Bu çalışmaya paralellik gösteren ve ortak yaygın kullanımı olan geofit taksonlar ise; *Allium ampeloprasum*, *A. kharputense*, *Allium noeanum*, *Allium wendelboanum*, *Arum rupicola*, *Biarum carduchorum*, *Bryonia alba*, *Bunium paucifolium*,

Crocus cancellatus subsp. *damascenus*, *Crocus leichtlinii*, *Dioscorea communis*, *Eminium spiculatum*, *Gagea villosa*, *Geranium tuberosum*, *Hordeum bulbosum*, *Iris persica*, *I. reticulata*, *Ixiolirion tataricum*, *Ornithogalum montanum*, *Rumex tuberosus* ve *Scorzonera pseudolanata* (Akgül ve ark., 2018; Yeşil ve ark., 2019; Yeşil ve İnal, 2019; Ayaz, 2020)'dir.

Bölgede yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırma yapıldığında bu çalışmada; *Allium armerioides*, *A. atrvviolaceum*, *A. dictyoprasum*, *A. rotundum*, *A. vineale*, *A. pustulosum*, *Sternbergia clusiana*, *S. vernalis*, *S. lutea*, *Biarum bovei*, *B. aleppicum*, *Eminium intortum*, *E. rauwolfii* var. *rauwolfii*, *Hyacinthella siirtensis*, *Ornithogalum orthophyllum*, *Scorzonera phaeopappa*, *Leontice ewersmanni*, *Colchicum kotschyi*, *C. crocifolium*, *Equisetum ramosissimum*, *Geranium libanoticum*, *Crocus musagecitii*, *Iris reticulata* var. *sophenensis*, *Gagea juliae* ve *Ranunculus asiaticus* taksonlarının kullanımı ilk kez ortaya konmuştur (Tablo 2).

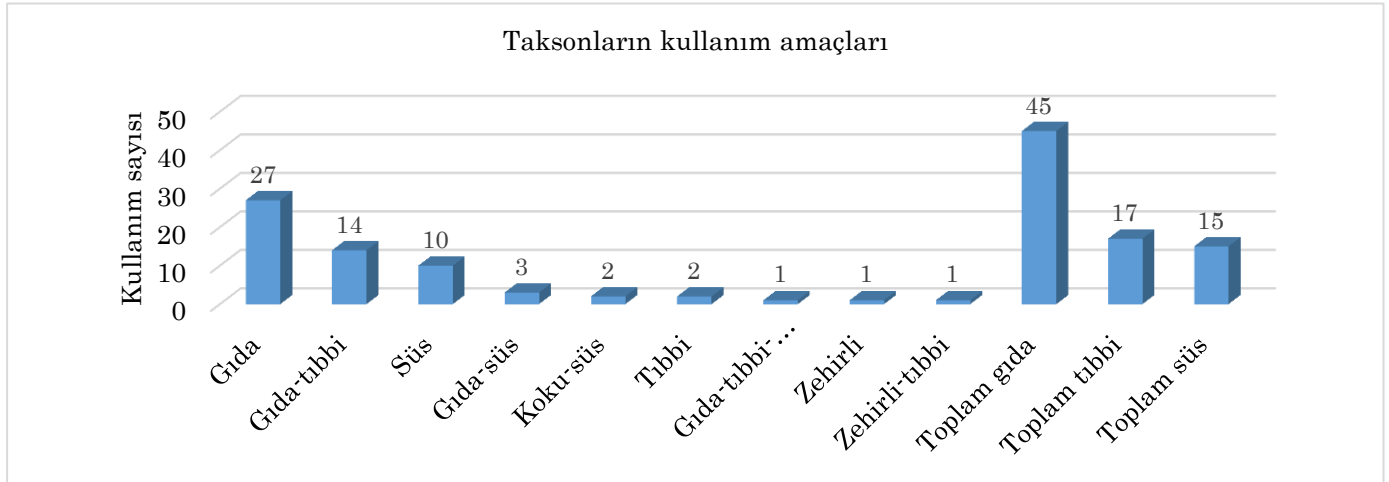
Bölgede yapılan araştırmada bazı taksonların tıbbi kullanımının yaygın olduğu görülmüştür. Örneğin *Allium kharputense* türünün soğanı tansiyon düşürücü, *A. armerioides* ve *A. ampeloprasum* türlerinin taze yapraklarının eklem ağrılarını dindirici ve *Arum rupicola* türünün yapraklarından elde edilen çorbanın bağışıklık sistemini kuvvetlendirici olarak kullanıldığı tespit edilmiştir. *Bryonia* cinsine ait türlerin yumrusunun kaynatılarak şeker hastalığında tedavi amaçlı olarak sıkça kullanıldığı görülmüştür. Buna paralel olarak kullanım sırasında zehirlenme vakalarına sıkça rastlanmaktadır.

Bu çalışmada tespit edilen endemik taksonlar; *Allium armerioides*, *A. wendelboanum*, *Arum rupicola* var.

rupicola, *Bellevalia pseudolongipes*, *Crocus leichtlinii*, *C. musagecitii*, *Hyacinthella siirtensis*, *Iris reticulata* var. *sophenensis* ve *Muscari discolor*'dur.

Sonuç olarak, bu çalışmada geofitlerin yöre halkı

tarafından farklı amaçlar için kullanıldığı, genellikle süs, gıda ve tıbbi olarak değerlendirildiği tespit edilmiştir. Bu araştırmanın etnobotanik bilgi birikimine katkı sağlayacağı öngörülmektedir.



Şekil 8. Taksonların etnobotanik açıdan yöresel kullanım amaçları

Figure 8. Local uses of taxa in terms of ethnobotany

Çizelge 3. Çalışmanın diğer araştırmalarla karşılaştırılması

Table 3. Comparison of study with other studies

	Bu araştırma	Akgül ve ark. (2018)	Yeşil ve ark. (2019)	Yeşil ve İnal (2019)	Kılıç (2019)	Ayaz (2020)
Geofit Familya sayısı	18	3	6	8	11	11
Geofit Cins sayısı	28	4	7	9	13	14
Çalışmadaki takson sayısı	61	92	74	86	255	117
Etnobotanik özelliği olan Geofit takson sayısı	61	4	11	16	16	18

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK-120Z165) ve Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü (HÜBAP-19098) tarafından finanse edilmiştir. Bilgilerini bizimle paylaşan yöre halkına, maddi destek sağlayan TÜBİTAK ve HÜBAP'a teşekkür ederiz. Bu çalışma doktora tez çalışmasının bir kısmından üretilmiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları, aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Akan H, Eker İ, Balos MM 2005. Şanlıurfa'nın Nadide Çiçekleri-Geofitler. The Rare Plants of Şanlıurfa-Geophytes. Demircioğlu Matbaacılık, Ankara, 96s.
Akgül A, Şenol SG, Yıldırım H, Seçmen O, Doğan Y

2018. An Ethnobotanical Study in Midyat (Turkey), a City on the Silk Road Where Cultures Meet. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine 14(1): 12.

Avcu C, Selvi S, Satıl F 2016. Katran Dağı (Bayramiç/Çanakale) ve Çevresinde Yayılış Gösteren Geofit Bitkiler ve Ekolojik Özellikleri. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6(3):9-16.

Babacan EY, Eker İ 2017. Munzur Vadisi Tunceli ve Yakın Çevresinin Geofit Florası. Bağbahçe Bilim Dergisi, 4(1):31-49.

Başköşe İ, Paksoy MY, Selvi S 2013. Geophytic Plants Around The Akkaya Dam Lake Niğde-Turkey. Acta Horticulturae (ISHS), 1002:43-47.

Arasan Ş 2014. Savur (Mardin) Yöresinde Halk Hekimliğinde Kullanılan Bitkiler ve Kullanım Alanları. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 328s.

Ayaz N 2020. Mardin İlinde Yeniden Yabancı Bitkiler. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 203s.

- Aydın M 2019. Kentsel Planlamada Ekonomik Rant Politikaları Üzerine Bir Deneme: Mardin Örneği. Mardin Artuklu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, 139s.
- Balick MJ, Cox PA, Plants P 1996. Culture: the Science of Ethnobotany. Scientific American Library, New York, p228.
- Çeneli İ, Selvi S 2019. Balaban Dağı (Balıkesir/Dursunbey, Türkiye) ve Çevresinde Yayılış Gösteren Geofit Bitkiler ve Ekolojik Özellikleri. Bağbahçe Bilim Dergisi, 6(3):41-55.
- Davis PH (ed.) 1965-1985. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. vol. 1-9. Edinburgh, UK: Edinburgh University Press.
- Davis P, Miller R 1988. Flora of Turkey, Volume 10 (Vol. 1). Edinburgh University Press.
- De Albuquerque UP, Farias Paiva de Lucena R 2005. Can Apparency Affect the Use of Plants by Local People in Tropical Forests?. Interciencia 30(8): 506-510.
- Demir Y 2010. A Critical Look at the Role of the Planning Legislations in Sustaining the Authenticity of Traditional Settlements: Akyaka and Mardin Cases. In International Planning History Society Congress 12-15 July 2010, İstanbul.
- Demir SC, Eker İ 2015. Petaloid Monocotyledonous Flora of Bolu Province, Including Annotations on Critical Petaloid Geophytes of Turkey. Pegem Akademi, Ankara, 80 p.
- Demirci Kayıran S, Özhatay N 2020. The Ethnobotany, Systematics and Morphological Studies of the Genus *Ornithogalum* that Naturally Grows in Kahramanmaraş province of Southern Turkey. EMU Journal of Pharmaceutical Sciences 3(3): 182-193. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/emujpharmsci/issue/60271/823425>
- Demirci Kayıran S, Özkan EE 2017. The Ethnobotanical Uses of Hyacinthaceae Species Growing in Turkey and a Review of Pharmacological Activities. Indian Journal of Traditional Knowledge (IJTK) 16(2): 243-250.
- Eker İ, Babaç MT, Koyuncu M 2014. Revision of the Genus *Tulipa* L. (Liliaceae) in Turkey. Phytotaxa 157(1): 001-112.
- Ekim T, Koyuncu M, Vural M, Duman H, Aytaç Z, Adıgüzel N 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı. Red Data Book of Turkish Plants. Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, Ankara, 246s.
- Ekim T, Koyuncu M, Güner A, Erik S, Yıldız B, Vural M 1991. Türkiye'nin Ekonomik Değer Taşıyan Geofitleri Üzerinde Taksonomik ve Ekolojik Araştırmalar. T.C. Tarım ve Orman Köyişleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü, İşletme ve Pazarlama Dairesi Başkanlığı, 111s.
- Eksik C 2020. Mardin ili Artuklu, Ömerli ve Yeşilli İlçelerinin Bazı Köylerinde Etnobotanik Çalışma. Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 220s.
- Eksi G 2012. Türkiye'de *Allium* L. cinsine ait (Sect. *Allium*) endemik türler üzerinde morfolojik ve etnobotanik bir çalışma. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 171s.
- Eroğlu H, 2020. Türkiye'de yayılış gösteren *Muscari* mill. (Asparagaceae) cinsi taksonlarına ait morfoloji, palinoloji ve tohum yüzeyi araştırmaları. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Doktora tezi, 541s.
- Ertuğ F 2014. Etnobotanik. Resimli Türkiye Florası. 1: 318-344.
- Ertuğ ZF 2005. Ethnobotany: At the junction of the continents and the disciples. Proceeding of the IVth international congress of ethnobotany (ICEB 2005) 21-26 August 2005, İstanbul-Turkey.
- Fırat M, Karavelioğulları FA, Aziret A 2015. Doğu Anadolu'nun (Türkiye) Geofitleri. Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences 5(1): 38-53.
- Fritsch RM, Abbasi M 2013. A taxonomic review of *Allium* subg. *Melanocrommyum* in Iran. Gatersleben: IPK.
- Genç İ 2010. Türkiye'de *Allium* L. cinsi, *Melanocrommyum* seksiyonuna ait taksonlar üzerinde taksonomik araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Doktora tezi. 266s.
- Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC (editors) (2000). Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Suppl. 2), Vol. 11. Edinburgh, UK: Edinburgh University Press.
- Güner A, Aslan S, Ekim T, Vural M, Babaç MT (edlr.) 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmalar Derneği Yayını 1, İstanbul, 1290s.
- Güner A, Kandemir A, Menemen Y, Yıldırım H, Aslan S, Eksi G, Güner I, Çimen AÖ (edlr.) 2018. Resimli Türkiye Florası-2. ANG Vakfı Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları, İstanbul, 1054s.
- Kılıç M 2019. Artuklu (Mardin) Yöresinde Yetişen Bitkiler Üzerine Etnobotanik Bir Araştırma, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı, Doktora tezi, 524s.
- Kılıç M, Yıldız K, Kılıç FM 2020. Traditional uses of medicinal plants in Artuklu, Turkey. Human Ecology 48(5): 619-632.
- Koçyiğit, M 2010. Türkiye'de *Allium* L. cinsi *Codonoprasum* seksiyonuna ait taksonlar üzerine taksonomik araştırmalar. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Doktora tezi, 403 s. İstanbul.
- Mercan Ç, Arpağ S 2020. Coğrafi Bilgi Sistem Analizleri Kullanılarak Toprak ve Arazi Özelliklerinin Değerlendirilmesi: Türkiye, Mardin İli Arazisi. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi

- 7(1): 23-33.
- Özer Z, Elibüyük EA, Önen H, Tekelioğlu O 2004. Yabancı Otların Beslenmede ve Sağlıkta Rolü (Ed. Toygar, K., 2004. Otların Beslenmede ve Sağlıkta Rolü). Türk Halk Kültürünü Araştırma ve Tanıtma Vakfı Yayınları, Ankara.
- Post GE, Dinsmore JE 1933. Flora of Syria. Palestine and Sinai. vol. 2. Beirut: American Press.
- Rechinger KH 1990. Flora Iranica. vol. 165. Graz: Akademische Druck-u-Verlagsanstalt.
- Sadıkoglu N 1998. Cumhuriyet Dönemi Türk Etnobotanik Araştırmalar Arşivi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 75s.
- Sargın SA, Selvi S, Akçiçek E 2013. Alaşehir (Manisa) ve Çevresinde Yetişen Bazı Geofitlerin Etnobotanik Açısından İncelenmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi, 29(2): 170-178.
- Seyidoğlu N. 2009. Bazı Doğal Geofitlerin Peyzaj Düzenlemelerinde Kullanımı ve Üretimi Üzerine Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Peyzaj Mimarlığı Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 364s.
- Tekşen M, Erkul, S.K. 2015. The synopsis of the genus *Gagea* (Liliaceae) in Turkey. Phytotaxa 230(2): 101-129.
- Townsend CC, Guest E. 1985. Flora of Iraq. vol. 8. Baghdad: Ministry of Agriculture and Agrarian Reform.
- Trotter RT, Logan, MH. 2019. Informant Consensus: a New Approach for Identifying Potentially Effective Medicinal Plants. In Plants in Indigenous Medicine & Diet 91-112.
- Uysal T, Demirelma H, Tugay O, Dural H, Ertuğrul K 2014. Türkiye *Ornithogalum* L. (Hyacinthaceae) Cinsinin Revizyonu. TÜBİTAK Projesi 110T948, 360s.
- Yeşil Y, Çelik M, Yılmaz B 2019. Wild Edible Plants in Yeşilli (Mardin-Turkey), a multicultural area. Journal of ethnobiology and ethnomedicine 15(1): 52.
- Yeşil Y, İnal İ. 2019. Traditional Knowledge of Wild Edible Plants in Hasankeyf (Batman Province, Turkey). Acta Soc Bot Pol 88(3): 3633.
- Yeşil Y. İnal, İ 2021. Ethnomedicinal Plants of Hasankeyf (Batman-Turkey). Frontiers in Pharmacology 11: 2511.
- Yıldırım MU, Sarıhan EO, Khawar KM 2021. Ethnobotanical Uses of Roots of Various Plant Species in Turkey [Online First]. IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.97418. Available from: <https://www.intechopen.com/online-first/76479>.

Critical Period for Weed control in Sunflower and Effects of Applications on Weed Species and Diversity

Mine ÖZKİL¹, Hilmi TORUN², Serdar EYMİRLİ³, İlhan ÜREMİŞ⁴, Yücel KARAMAN⁵, Nihat TURSUN⁶
^{1,2,3}Biological Control Research Institute, Adana-Türkiye, ⁴Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay-Türkiye, ^{5,6}Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Malatya Turgut Ozal University, Malatya-Türkiye
¹<https://orcid.org/0000-0002-7663-7361>, ²<https://orcid.org/0000-0001-6730-8809>, ³<https://orcid.org/0000-0003-4364-4095>
⁴<https://orcid.org/0000-0001-5937-9244>, ⁵<https://orcid.org/0000-0002-6551-7030>, ⁶<https://orcid.org/0000-0002-8765-0326>
✉: nihat.tursun@ozal.edu.tr

ABSTRACT

This study was carried out under field conditions in Adana, Turkey in 2018 and 2019 to determine the critical period for weed control in sunflower depending on the daily growth temperature (GDD) and weed species. A log-logistic model with four parameters was used to determine the relationship between relative crop yield and both increased weed intervention time and length of weed-free periods. In addition, dominant weeds and weed densities were determined in the experimental area. Data obtained from different periods of weed intervention were compared with data obtained from seasonal weed-free plots. During the sunflower growing season, 37.4% – 41.04% yield loss was determined in sunflower due to weed competition. For 5% acceptable yield loss in the first year, the critical period in weed control was determined as 243-1181 GDD; this is 24-86 days after the crop emergence (DAE). It was found between 269 and 1409 GDD (16-72 DAE) in the second year. In sunflower, it was determined that the removal of weeds from the plot in the weed-free period started within 2-3 weeks from the emergence and continued for 10-12 weeks. These findings may help sunflower growers to plan and implement cost-effective and appropriate weed control programs.

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 04.10.2021
Accepted : 17.11.2021

Keywords

Critical period for weed control
Crop-weed competition
Sunflower
Weed species and density
Yield loss

Ayçiçeğinde Yabancı Ot Kontrolünde Kritik Periyot ve Uygulamaların Yabancı Ot Türleri ve Çeşitliliğine Etkileri

ÖZET

Bu çalışma, ayçiçeğinde günlük gelişme sıcaklığı (GDD) ve yabancı ot türlerine bağlı olarak ayçiçeğinde yabancı ot kontrolü için kritik periyodu belirlemek amacıyla 2018 ve 2019 yıllarında Türkiye'nin Adana ilinde tarla koşullarında yürütülmüştür. Dört parametrelili bir log-lojistik model, bağıl mahsul verimi ile hem artan yabancı ot müdahale süresini hem de yabancı otsuz dönemlerin uzunluğu arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için kullanıldı. Ayrıca deneme alanında baskın yabancı otlar ve yabancı ot yoğunlukları da belirlenmiştir. Yabancı ot müdahalesinin farklı dönemlerinden elde edilen veriler, mevsimlik yabancı otsuz parsellerden elde edilen verilerle karşılaştırılmıştır. Ayçiçeği yetiştirme mevsimi boyunca yabancı ot rekabetinden dolayı ayçiçeğinde %37,4 – %41,04 verim kaybı belirlenmiştir. ilk yıl %5 kabul edilebilir verim kaybı için yabancı ot mücadelesinde kritik periyot süresi 243-1181 GDD olarak belirlenmiştir ki bu, ayçiçeğinin çıkışından sonraki 24-86. günler arasına (DAE) denk gelmektedir. İkinci yılda ise bu süre 269 ve 1409 GDD (16-72 DAE) arasında bulunmuştur. Ayçiçeğinde, yabancı otsuz dönemde yabancı otların parselden uzaklaştırılması çıkıştan itibaren 2-3 hafta içinde başladığı ve 10-12 hafta boyunca devam ettiği belirlenmiştir. Bu bulgular, ayçiçeği yetiştiricilerinin düşük maliyetli ve uygun yabancı ot kontrol programlarını planlamasına ve uygulamasına yardımcı olabilecektir.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş tarihi : 04.10.2021
Kabul tarihi : 17.11.2021

Anahtar Kelimeler

Yabancı ot kontrolü için kritik periyot
Kültür bitkisi yabancı ot rekabeti
Ayçiçeği
Yabancı ot tür ve yoğunluğu
Ürün kaybı

To Cite : Özki M, Torun H, Eymirli S, Üremiş İ, Karaman Y, Tursun N 2022. Critical Period for Weed control in Sunflower and Effects of Applications on Weed Species and Diversity. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1305-1314. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1004638>

Atf Şekli Özki M, Torun H, Eymirli S, Üremiş İ, Karaman Y, Tursun N 2022. Ayçiçeğinde Yabancı Ot Kontrolünde Kritik Periyot ve Uygulamaların Yabancı Ot Türleri ve Çeşitliliğine Etkileri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1305-1314. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1004638>

INTRODUCTION

Sunflower, which is an important oil plant, comes after palm, soybean and canola in the world vegetable oil production and meets a significant part of the oil need in the world. Sunflower is grown in sowing area of 26.668.100 ha and annual production is approximately 52 million tons in the world (FAO 2018). Sunflower, one of the most important oil plants in the world and in Turkey, is an oil plant with the highest cultivation area and production amount in Turkey such that 46% of the required vegetable oil production is provided from sunflowers (TUIK 2018). Today, the most effective way to solve the nutritional problem that occurs with the agricultural production areas reaching the last limit is to find the ways to get the highest yield per unit area via using agricultural inputs in the most appropriate way.

Weeds are considered one of the main factors that reduce the quantity and quality of agricultural production (Uludag et al., 2018). Sunflower has tall, broad leaves and strong root structure. It is more competitive with weeds than other cultivated plants. However, since they do not develop as fast as weeds, they compete with weeds in the early period (1-1.5 months after sowing) and cannot show a homogeneous development in the field. This period is considered the critical period for sunflower. Weeds that germinate in the same month as sunflower develop rapidly and put the sunflower under pressure (Özer et al., 2003). Yield losses due to weeds in sunflower may vary between 26-52%, although it has been reported that this losses may increase up to 90% (Wanjari et al., 2000; Gholipour et al., 2010; Asghari et al., 2011; Serafin et al., 2014; Mukhtar et al., 2018). Identifying weeds that cause problems in sunflower fields helps in their control. In agricultural systems crop cultivation applications determine the diversity of weed species (Uremis et al., 2009a). Biodiversity in agricultural land is gradually decreasing due to limited crop rotations, use of intensive agricultural inputs and pesticide applications (Chaudhary et al. 2015). Weeds are considered one of the main reasons that reduce the quantity and quality of agricultural production (Uludag et al. 2018). Weeds cause problems in sunflower fields and identifying weed communities that they compose with each other help in their control. As a matter of fact, the presence of any member of the weeds forming a community in the field indicates the presence of others and management programs are organized according to

this community (Zengin 1999).

CPWC (the critical period for weed control) studies are an important part in the development of integrated weed management strategies (Swanton and Weise, 1991) and generally allow determination of weed control strategies (Weaver and Tan, 1987). Weed control methods and application costs are effective in the emergence of the most appropriate time. (Van Acker et al. 1993). In order to implement a successful integrated management program, it is necessary to know the economic thresholds of weeds, plant formation rates, competitive ability, germination and development biology as well as critical period (Uludag et al., 2018; Uremis and Uludag, 2020).

CPWC makes an important contribution to the determining the time to weed to reduce yield or quality losses from weeds in the crops (Uludag et al., 2012). CPWC allows the measurement of the negative effects of weeds on crop growth and yields (Chauhan and Johnson, 2011). There are two different intervals: the beginning and the end of the CPWC in which weed competition is examined by recording early and late period weed density and biomass (Knezevic et al., 2002). While weed competition in the early period is evaluated by removing weeds until harvest and allowing them to emerge and grow with the product at certain periods, in the late period weed competition is the presence of weeds during the growing season of the crops and the retention of weeds at certain periods (Tursun et al., 2007). CPWC is influenced by a variety of factors, including: crop species and variety; weed species; and environmental conditions (Uremis et al., 2009b; Tursun et al., 2015, 2016a, b; Abaci and Uremis, 2016). Changes in weed flora and environmental conditions limit the generalization of CPWC results (Knezevic et al., 2002). Some studies show that CPWC varies depending on the period and region in which the crop is grown (Tursun et al., 2016a and 2016b). These changes vary according to environmental conditions and the species and density of weeds (Uludağ et al., 2012). Therefore, in this study, it was aimed to (i) determine the crop losses in sunflower according to weed removal time (ii) determine the critical period for weed control (CPWC) in sunflower depending on the growing degree days (GDD) (iii) determine the effect of weeds removal times on weed species.

MATERIAL and METHODS

This study was conducted in Ceyhan / Adana (37.10

0°N, 35.41°E) in 2018 and 2019, in order to determine the competition between weeds and sunflower and to reveal the species richness according to the weed removal time and period that is the basis for weed control. The soil structure of the experimental area was loamy clay (Table 1). The oil sunflower cultivar 'LG 5485' seeds were sown on 10 March 2018 and 02 May 2019 with 70 cm spacing between rows and 35 cm plants on a row. Trial plots were irrigated when needed. The studies were carried out in 2018-2019 and were arranged in three replications according to the randomized blocks experimental design. The plot sizes are set to 2.8 m x 3 m (8.4 m²). In the experiment, 0.5 m distance between parcels and 1 m distance between blocks was left. The experiment conducted on a total of 42 plots. Two types of weed removal treatments were implemented from the start of sunflower emergence.

In order to evaluate the onset of the critical period with weed removal, plots were left weedy for 15, 30, 45, 60, 75 and 90 days after crop emergence (DAE). To determine the end of critical period, plots were kept weed-free for 15, 30, 45, 60, 75 and 90 DAE by periodic hand hoeing. The season long weedy and weed-free control treatments were also established in the study. Each experimental plot was consisted of four rows of sunflower plants and two outer rows of each plot were used as buffer rows and two central rows were used for assessments. The weed-free control plots were kept weed-free for the entire growing season by hand hoeing by removing weeds as soon as they appeared.

Table 1. Soil structure of the experimental field (0-30 cm soil depth)

Çizelge 1. Deneme alanının toprak yapısı (0-30 cm toprak derinliği)

Soil characteristics	Values
Saturation (%)	65.78
pH (1 : 2.5)	7.83
P ₂ O ₅ (mg kg ⁻¹)	3.37
Organic matter (%)	2.15
K ₂ O (mg kg ⁻¹)	126.00
Total soluble salt (%)	0.025
Iron-Fe (mg kg ⁻¹)	5.20
Manganese-Mn (mg kg ⁻¹)	0.45
Lime-CaCO ₃ (mg kg ⁻¹)	6960.00
Magnesium (mg kg ⁻¹)	1333.20

Data Collection

Growing degree days (GDD) shows the daily temperature sums for a plant to reach maturity. GDDs were calculated using air temperatures according to Gilmore and Rogers (1958). Sunflower emergence dates were used as starting point for the sum of the GDD.

$$GGD = [(T_{max} + T_{min}) / 2] - T_b \quad (\text{Equation 1})$$

T_{min} and T_{max} were taken as the daily minimum and maximum temperature, respectively. Basic temperature (T_b) for sunflower germination is 6.7 °C (Khalifa et al. 2000). Accordingly, weed removal times were determined based on GDD calculations.

Monthly average temperature and precipitation data during the sunflower growing seasons were obtained from the Meteorology Service, Adana, Turkey (Table 2). Species composition and weed density were evaluated before the completion of each treatment for plots weedy in the beginning and in harvest time for plots left weed after certain times by classifying and counting weeds in 3 fixed points of 1 m². Above-ground dry biomass was specified by cutting weeds at the soil surface inside the quadrants and drying at 105 °C for 24 hours. In both years, measurements were made when sunflowers reached harvest maturity. Harvest dates for 2 years in all plots were determined as 10 July 2018 and 15 August 2019 in all plots. Sunflower plants were harvested by hand from the middle two rows of each plot and necessary measurements were made

Table 2. Total monthly precipitation and average temperature for sunflower growing season

Çizelge 2. Ayçiçeği gelişme mevsimi boyunca toplam aylık yağış ve ortalama sıcaklık değerleri

Months	Rainfall (mm)		Average temperature (°C)	
	2018	2019	2018	2019
March	1.26	0.00	15.35	-
April	1.19	0.00	18.73	-
May	2.85	0.01	22.85	23.56
June	1.59	1.27	25.37	26.23
July	0.48	1.04	28.32	27.45
August	0.00	0.00	-	28.70

Statistical analyses

The sunflower yield after each application was compared with the weed-free control application to obtain relative yields (percent weed free). R software (R version 3.5.3, R Development Core Team, 2018) including the drc (dose-response curves) statistical plug-in package was used for statistical analysis (Knezevic et al., 2007; Knezevic and Datta, 2015).

Statistical analysis was performed separately for each year due to variations in GDD. Analysis of variance (ANOVA) was applied to the data to determine the importance ($P < 0.05$) of treatments, repetitions, and their interactions. Then, further analysis was performed for the factors significant in the F-test ($P \leq 0.05$). A four-parameter log-logistic model was used to analyze data on relative yield. The D term remained constant at 100 (Knezevic et al. 2007).

$$Y = C + \frac{(D - C)}{(1 + \text{Exp}[B(\text{Log}X - \text{Log}E)])} \quad (\text{Equation 2})$$

D: upper limit,

Y: % sunflower yield
 C: lower limit
 X: GDD

E: GDD indicating a 50% response between the upper and lower limit (also known as inflection point, I50)

B: slope of the line at the inflection point (also known as a rate of change)

The use of GDD is the best variable for regression models according to the categorical variable, as it provides a precise and continuous scale on the x-axis. AYL2.5 (2.5% acceptable yield loss), AYL5 (5% acceptable yield loss) and AYL10 (10% acceptable yield loss) were provided from the calculated curves to determine the target range in measuring the effect of increasing time on weed presence and weed-free treatments on crop yield. The 2.5, 5 and 10% yield decreases periods are given as GDD for determining the effects of the duration of weed interference, and the estimated GDD corresponding to the 90, 95 and 97.5% relative yield was calculated from Equation 2 for each year's sunflower yield and WAE. According to the yield losses, in this study, yield losses above 5% yield loss were considered to be unacceptable (Knezevic et al., 2007).

In addition, Shannon-Wiener (H) index were used and Simpson dominance index (Sd) were used in the dominance of weeds in determining the diversity of weed species in each weed removal and season-long weeds in the experimental area. The Shannon-Wiener (H) index was used to determine the diversity of weed species in each weed removal and season-long weedy plots in the experimental area and Simpson dominance index (Sd) was used for dominance of weeds.

Shannon-Wiener diversity index (H)

$$H = - \sum p_i \ln (p_i)$$

Where,

p_i : ratio of i'th type to others

ln: shows the natural logarithm base (Magurran 2004).

Simpson dominance index (Sd)

$$Sd = \sum n_i(n_i-1)/N(N-1)$$

where,

i: Number of species

n_i : Number of weeds belonging to a species

N: It shows the total number of individuals of the species in an application (Magurran 2004).

RESULTS and DISCUSSION

Weed Richness, Abundance, Diversity and Biomass

The experiments were carried out in a field naturally contaminated with weeds in 2 years. Important weeds found in 2018 were *Chenopodium album* L., *Convolvulus arvensis* L., *Cyperus rotundus* L., *Heliotropium europaeum* L., *Chenopodium vulvaria* L., *Chrozophora tinctoria* (L.) Rafin., *Euphorbia prostrata* Aiton, *Prosopis farcta* (Banks and Sol.) J.F.Macbr., *Fumaria officinalis* L., *Polygonum aviculare* L. and *Cynodon dactylon* (L.) Pers.; and In 2019, *C. album*, *C. arvensis*, *C. tinctoria*, *C. rotundus*, *C. vulvaria*, *C. tinctoria*, *P. farcta*, *Cucumis melo* var. *Agrestis* Naud., *Echinochloa colonum* (L.) Link., *E. crus-galli*, *H. europaeum*, *Physalis angulata* L. and *Sorghum halepense* (L.) Pers. (Table 3).

Table 3. Dominant weeds and their average densities in control plots in 2018 and 2019.

Çizelge 3. 2018 ve 2019 yıllarında control parsellerinde görülen baskın yabancıotlar ve ortalama yoğunlukları.

Common name	Scientific name	2018		2019	
		Weeds per m ⁻²	%	Weeds per m ⁻²	%
Common lambsquarters	<i>Chenopodium album</i> L.	3.33	11.50	1.02	7.70
Stinking goosefoot	<i>Chenopodium vulvaria</i> L.	3.30	11.39	--	--
Turnsoler weed	<i>Chrozophora tinctoria</i> (L.) Rafin.	0.51	1.75	0.93	6.99
Field bindweed	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	3.90	13.47	0.18	1.34
Common cucumber	<i>Cucumis melo</i> var. <i>agrestis</i> Naud.	--	--	0.47	3.57
Bermuda grass	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	0.06	0.22	--	--
Purple nutsedge	<i>Cyperus rotundus</i> L.	14.28	49.32	3.66	27.65
Jungle-rice	<i>Echinochloa colonum</i> (L.) Link	--	--	0.27	2.06
Barnyard grass	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P.Beauv.	--	--	0.19	1.43
Prostrate spurge	<i>Euphorbia prostrata</i> Aiton	0.19	0.65	0.40	3.04
Common fumitory	<i>Fumaria officinalis</i> L.	0.28	0.98	--	--
European heliotrope	<i>Heliotropium europaeum</i> L.	1.24	4.27	1.21	9.14
Cutleafgroundcherry	<i>Physalis angulata</i> L.	--	--	0.08	0.61
Prostrate knotweed	<i>Polygonum aviculare</i> L.	0.03	0.11	--	--
Syrian mesquite	<i>Prosopis farcta</i> (Banks and Sol.) J.F.Macbr.	0.95	3.28	4.58	34.56
Broadleaf dock	<i>Rumex obtusifolius</i> L.	0.89	3.06	--	--
Johnsongrass	<i>Sorghum halepense</i> (L.) Pers.	--	--	0.25	1.88
Total		28.96	100.00	13.25	100.00

In 2018 and 2019; *C. album*, *C. arvensis*, *C. rotundus*, *H. europaeum*, *C. vulvaria*, *C. tinctoria*, and *P. farcta* were common weeds. In addition, these determined weeds are similar to the critical period studies conducted on different cultivated plants in Turkey (Uremis et al., 2009a; Tursun et al., 2015; 2016a, b; Isik et al., 2015; Isik and Akca, 2018; Karnas et al., 2019). Weeds found in the study area are generally highly competitive and considered to be a major problem (Holm et al., 1977). There were statistically significant differences in weed density in per squaremeter between 2018 and 2019 (Figure 1), which was 28.96 and 13.25, respectively. The densest

species was *C. rotundus* with 14.28 m² in 2018 and *P. farcta* with 4.58 m² in 2019. In both years, densities of weeds were increased regarding to increasing duration of weediness (Figure 1). The dry weight increased as the weedy duration was increased in both years (Table 4). The total weed dry matter went up as the duration of weed interference period increased. Weed dry weight in 2019 was higher than in 2018. During the growing season, dry weights of weedy applications were determined as 17.80 g in 2018 and 185.00 g in 2019. Among the applications, the highest effect was determined in 90 days of weed-free application both years.

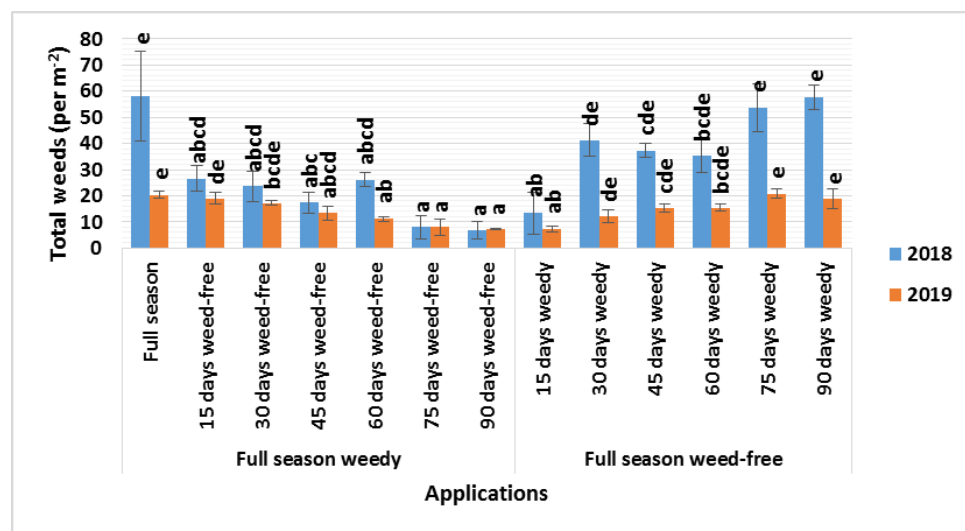


Figure 1. Changes in weed density in 2018 and 2019

Şekil 1. 2018 ve 2019 yıllarında yabancı ot yoğunluğundaki değişimler.

Table 4. Dry weight (g m⁻¹) and impact rates applications (%) of the weed species found in the experimental area (2018 and 2019).

Çizelge 4. Deneme alanında (2018 ve 2019) bulunan yabancı ot türlerinin kuru ağırlığı (g m⁻¹) ve uygulamaların etki oranları (%).

Treatments	2018		2019	
	Dry weight (g/m ²) (±SE)	(%)	Dry weight (g/m ²) (±SE)	(%)
Full season weedy	17.80 bc (+5.60)	0.00	185.00 c (+73.65)	0.00
15 days weed-free	4.65 abc (+3.26)	73.88	57.91 a (+4.91)	68.70
30 days weed-free	7.09 abc (+3.23)	60.17	49.25 a (+5.12)	73.38
45 days weed-free	1.96 ab (+1.48)	88.99	50.80 a (+3.15)	72.54
60 days weed-free	0.71 a (+0.19)	96.01	40.83 a (+0.54)	77.93
75 days weed-free	0.61 a (+0.46)	96.57	31.16 a (+2.12)	83.16
90 days weed-free	0.27 a (+0.25)	98.48	20.65 a (+0.39)	88.84
15 days weedy	1.27 a (+0.59)	92.87	45.83 a (+6.00)	75.23
30 days weedy	5.29 abc (+1.43)	70.28	86.67 ab (+34.92)	53.15
45 days weedy	6.25 abc (+4.06)	64.89	83.33 ab (+8.81)	54.96
60 days weedy	4.42 abc (+1.54)	75.17	95.00 ab (+8.77)	48.65
75 days weedy	20.48 abc (+13.25)	-	165.00 bc (+40.92)	10.81
90 days weedy	15.91 c (+7.13)	10.62	153.33bc (+10.92)	17.12

Differences between the applications were determined in terms of weed density and species richness between 2018 and 2019 (Table 5). The highest H diversity index value was in the weedy treatment for

15 days in 2018, which is 1.73 and weedy for 30 days in 2019, which is 1.74. The reason for this is that at the beginning of the competition, weeds and cultivated plant are together and compete with the sunflower. Diversity has decreased due to the growth

of sunflower and the competition of weeds with each other in subsequent weed removal. Especially after the 60th day of weed removal, the increase in the rate of diversity emerges from weeds emerging in the later stages, i.e. the newly emerged and heat-loving vegetation. In the following periods, weeds, which were taller that can suppress other weeds, have increased their diversity rates to a certain extent with sunflower. The high diversity ratio (H) in weedy control is due to the surviving weeds. Although the high diversity value decreases the dominance value, the close number of weed species in the plot shows that there is no dominance in the environment. The fact that the diversity value was low (1.16) in the weedy plot for 30 days caused the dominance value to be high. The high dominance value was caused by the suppression of the *C. rotundus* species in the weedy plot for 30 days, suppressing other weed species. *C. rotundus* emerged as the most dominant species at all weed removal dates in 2018. *Chenopodium* species followed this weed. In 2019, the increase in the rate of diversity, especially after the 60th day of weed removal, was weeds emerging in the later stages of

the newly emerged and heat-loving vegetation. The high dominance value in 2019 was due to the *C. rotundus* weed species, especially *P. farcta* suppressed other species (Table 5). The high dominance value in 2019 was due to the suppression of *C. rotundus* weed species, especially *P. farcta*, other species. In the studies conducted in 2018 and 2019, the diversity index (H) increased in the first 30 days. The reason for this is that the first development period of sunflower was slow and as a result, more variety of weeds emerge, and competition becomes higher. Similar to our study, Deligios et al. (2019) reported that the dominance of weed species may change depending on the growing season, climate data, and soil characteristics.

In the later weed removal, the diversity rate decreased due to the growth of sunflower and the competition of weeds among themselves. The weeds that emerged later, which were tall and were very competitive in suppressing other weed species, increased their diversity ratios somewhat, together with sunflower.

Table 5. The diversity index (H) of the weeds detected in the experimental area according to the applications and the dominance (Sd) of the important weeds

Çizelge 5. Deneme alanında tespit edilen yabancı otların uygulamalara göre çeşitlilik indeksi (H) ve önemli yabancı otların baskınlığı (Sd).

Years	Treatments	H	Sd	Weeds (Sd)							
				<i>C. album</i>	<i>C. vulvaria</i>	<i>C. tinctoria</i>	<i>C. arvensis</i>	<i>C. rotundus</i>	<i>F. officinalis</i>	<i>H. europeum</i>	<i>R. obtusifolius</i>
2018	15 days weed-free	1.73	0.19	0.069	0.009	--	0.027	0.069	0.001	0.017	0.001
	30 days weed-free	1.16	0.46	0.014	0.005	--	0.005	0.430	--	0.002	0.001
	45 days weed-free	1.33	0.34	0.088	0.002	--	0.002	0.237	--	0.002	0.005
	60 days weed-free	1.21	0.40	0.015	0.010	--	0.015	0.359	--	0.002	--
	75 days weed-free	1.48	0.32	0.011	0.024	--	0.008	0.271	0.001	0.002	0.003
	90 days weed-free	1.55	0.31	0.021	0.011	0.001	0.007	0.265	--	0.003	0.002
	Full season weedy	1.55	0.29	0.011	0.039	0.002	0.008	0.231	--	0.001	--
	Treatments	H	Sd	Weeds (Sd)							
				<i>C. album</i>	<i>C. tinctoria</i>	<i>C. arvensis</i>	<i>C. melo var. agrestis</i>	<i>C. rotundus</i>	<i>H. europaeum</i>	<i>Physalis angulata</i>	<i>Prosopis farcta</i>
2019	15 days weed-free	1.68	0.20	0.022	0.001	--	0.006	0.082	0.006	--	0.082
	30 days weed-free	1.74	0.21	0.008	0.021	--	0.001	0.080	0.002	--	0.096
	45 days weed-free	1.47	0.30	0.005	0.001	0.004	--	0.210	0.001	--	0.079
	60 days weed-free	1.40	0.30	0.011	--	--	--	0.118	0.007	--	0.159
	75 days weed-free	1.45	0.31	0.006	0.001	--	0.001	0.072	0.005	0.001	0.221
	90 days weed-free	1.51	0.26	0.021	0.004	--	--	0.111	0.002	--	0.123
	Full season weedy	1.64	0.23	0.005	0.009	--	0.003	0.090	0.011	--	0.111

The variation ratio (H) in the control is due to the surviving weeds. Although the high diversity value decreases the dominance value, the close number of weed species in the parcel showed that there was no dominance in the environment. In 2018, *C. rotundus* emerged as the most dominant species at all weed removal times. *Chenopodium* species (*C. album* and *C. vulvaria*) followed this weed. The reason for the high diversity index value of the H diversity index value in weedy control on the 30th day is that, as in 2018, especially at the beginning of the competition, it is due to the competition between cultivated plants and weeds in sunflower in 2019. In 2019, as in 2018,

the increase in the rate of diversity, especially after the 60th day of weed removal was due to weeds emerging in the later stages of the newly emerged and heat-loving vegetation (Table 5).

Based on the study, agricultural management and practices will be able to provide an advantage to the diversity of rapidly growing weed species. Marshall et al. (2003) stated that weed diversity can play a role in ensuring the sustainability of production systems. However, the high species and number of weeds in weed control reduces the crop yield and increases the CPWC at the same time (Table 3 and Table 6).

Table 6. The critical period of weed control (CPWC) for sunflower in 2018 and 2019 expressed in growing degree days (GDD) and days after crop emergence (DAE).

Çizelge 6. 2018 ve 2019'da ayçiçeği için yabancı otlarla mücadelede kritik periyot (CPWC) dönemi, toplam günlük gelişme derecesi (GDD) ve kültür bitkisi çıkışından sonraki günler (DAE).

Years	Yield reduction (%)	CPWC	
		GDD	DAE
The beginning of the CPWC			
2018	2.5	172	17
	5	243	24
	10	348	32
2019	2.5	201	13
	5	269	16
	10	364	21
The end of the CPWC			
2018	2.5	1416	98
	5	1181	86
	10	978	74
2019	2.5	1734	87
	5	1409	72
	10	1136	59

Critical period for weed control

There was an interaction between years and the treatments; therefore, data were assessed separately each year (Figure 2, Table 7). Sunflower yield varied with the duration of weed remove times or weed-free periods (Figure 2). The relative yield of sunflower was altered by the duration of weed interference or weed free periods. As the weed periods got longer, significant reductions in sunflower yield were determined in both years. In 2018 and 2019 during the growing season, the sunflower yield was determined as the highest (3220.4 kg ha⁻¹, 4206.1 kg ha⁻¹, resp.) in season-long weed-free plots, and the lowest (1898.7 kg ha⁻¹, 2618.9 kg ha⁻¹, resp.) in season-long weedy plots. Due to weeds, 41.04 % yield loss in 2018 and 37.74 % in 2019 were occurred. The longer the weedy duration, the lower the yield and the increased dry weight. In both years, it has been determined that as the GDD increases, the yield increases in the weed-free and the yield decreases rapidly in the weedy plots. In other studies, on

sunflower, yield loss results reported as 25.7% (Wanjari et al. 2000), 27.5-43% (Hosseini et al. 2010), 39% (Serafin et al. 2014) and 51.87% (Mukhtar et al. 2018), highly similar to our work. The reason for the high yield in 2019 may be the change in planting time due to changes in climate factors and changes in weed density.

In 2018 and 2019, the CPWC in sunflower was calculated and the acceptable yield losses (AYL) for 10%, 5%, and 2.5% were determined (Figure 2, Table 6). The CPWC varied in both years (Figure 2). In 2018 CPWC 172-1414 GDD (Growing degree days) for 2.5 % AYL, 243-1181 GDD for 5 % AYL, and 348-978 GDD for 10 % AYL (Table 6). For 5% AYL, these GDD corresponds 24th to 86th days after sunflower emergence. In 2019, the CPWC in sunflower was calculated as 269 GDD at the beginning of the critical period for weeds in sunflower at 5% AYL, which corresponds the 16th day after sunflower emergence (Table 6). The end time of the CPWC for sunflower at 5% AYL was calculated as 1409 GDD corresponding

the 72nd day after the sunflower emergence (Table 6). The differences in CPWC in years might be attributed to the difference dates for planting and harvest. In addition, the changes between the critical periods in

both years was due to the differences between the weed species and their density, as indicated in Table 3, as a result of the different precipitation amounts (Tursun et al., 2007).

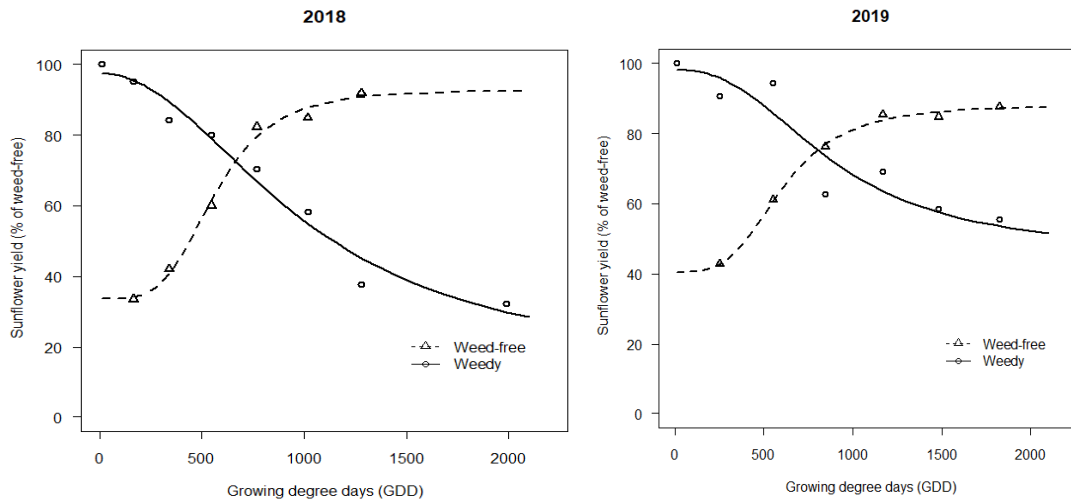


Figure 2. Effect of weed interference on sunflower yield (% of weed-free) as represented by growing degree days (GDD) in 2018 and 2019. The regression lines are plotted using Equation 2, and the parameter values are presented in Table 7.

Şekil 2. Yabancı ot alım zamanlarının 2018 ve 2019'da günlük gelişme derecesi toplamı (GDD) ile temsil edilen ayçiçeği verimi (% yabancı otsuz) üzerindeki etkisi. Regresyon çizgileri Denklem 2 kullanılarak çizilmiştir ve parametre değerleri Tablo 7'de sunulmuştur.

Table 7. Parameters (\pm SE) determined for the four-parameter log-logistic model applied for the weedy and weed-free period in the proportional yield of 2018-2019 sunflower.

Çizelge 7. 2018-2019 yıllarında ayçiçeği oransal veriminde yabancıotlu ve yabancıotsuz dönem için uygulanan dört parametrelili log-lojistik model için belirlenen parametre (\pm SE) değerleri.

Treatments	Regression parameters (\pm SE)			
	B	C	D	I ₅₀
2018 Weedy	2.08 (0.6)	13.7 (14.7)	97.4 (3.2)	1002.5 (179.6)
2018 Weed-free	-3.96 (1.3)	33.7 (3.8)	92.9 (4.7)	561.9 (38.4)
2019 Weedy	2.47 (2.6)	46.1 (24.4)	98.1 (5.5)	886.4 (398.3)
2019 Weed-free	-3.46 (0.9)	40.6 (3.2)	88.2 (2.2)	602.3 (37.7)

B: the slope of the line at the inflection point; C: the lower limit; D: the upper limit; I₅₀: the growing degree days giving a 50% response between the upper and the lower limit.

B: doğrunun eğim noktası; C: alt sınır; D: üst sınır; I₅₀: üst ve alt sınır arasında %50 yanıt veren günlük büyüme dereceleri.

A period of 1-1.5 months was reported as the critical period in the study conducted in Tokat/Turkey (Iyigun et al. 1997) and although pre-emergence herbicide was recommended, it was calculated that this may not be necessary in the current study. It is estimated that weeds can be kept under control only with the application of herbicides post-emergence, together with the mechanical controls to be performed on sunflower, which is an anchor plant. The difference between the studies is thought to be due to the fact that the studies were conducted in very different ecologies such as Erzurum, Tokat and Adana in Turkey (Zengin, 1999; Iyigun et al., 1997). Gholipour et al., (2010), Asghari et al., (2011), Silva et

al., (2012), Knezevic et al., (2013) and Yalcin et al., (2020) determined that the critical period is between 7- 68, 10-79, 15-39, 14-26 days and 2-10 weeks, respectively. Among other investigators, Wanjari et al., (2000) 25-43, Serafin et al., (2014) 1-49 and Mukhtar et al., (2018) 14-56 determined that there is critical period between days. The main reason why these results differ from our study is the ecological differences in the places where the studies were carried out, as well as the weed species and populations. Furthermore, several studies have shown that the outcome of CPWC was variable and highly dependent on weed population density, competitiveness, and period of emergence. In

addition, some studies have shown that CPWC was change depending on population density, competitiveness and emergence times of weeds (Evans et al., 2003; Bukun, 2004).

Amador-Ramirez (2002) stated that knowing the behavior of weeds in crop plants was important for a better understanding and development of an Integrated Weed Management System (IWM). The use of pre-emergence herbicides can control early emerging weeds and delay the beginning of the critical period. In this study, it can be a practical option for designing an effective IWM strategy for weed control in sunflower. With a better understanding of CPWC in sunflower production, it may be possible to avoid unnecessary and costly weed control measures, to rely less on the use of permanent soil residue herbicides, and to use post-emergence herbicides more consciously (Knezevic et al., 2002).

CONCLUSIONS

Weed flora is considered to be one of the main reasons interfering with the quantity and quality of agricultural production. As a result of the study, the most important weeds were *Cyperus rotundus* and *Prosopis farcta*, respectively in 2018 and 2019. CPWC was determined to be between 2nd-3rd and 10th-12th weeks to achieve an acceptable 5% yield loss. In order to develop an effective weed management in sunflower, control of weeds in the critical period is an important factor and our study results may contribute significantly to weed control for Turkish sunflower growers.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Ministry of Agriculture and Forestry General Directorate of Agricultural Research and Policies for supporting this study (TAGEM/BSAD/16/1/04-02).

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

REFERENCES

- Abaci O, Uremis I 2016. Determination of the Critical Period to be Based on Weed Control in Peanut (*Arachyshypogaea* L.) Breeding. Mustafa Kemal University Journal of the Faculty of Agriculture, 21 (1):40-47.
- Amador-Ramirez MD 2002. Critical period of weed control in transplanted chili pepper. *Weed Res.* 42(3):203–209.
- AsghariJ, Vahedi A, Khoshghaul HR 2011. Critical Period for Weed Control in Sunflower (*Helianthus annus*, L.) in West of Guilan Province. *Journal of Plant Protection (Agricultural Science and Technology)*, 25(2):116- 126.
- Bukun B 2004. Critical periods for weed control in cotton in Turkey. *Weed Research* 44(5):404-412.
- Chaudhary A, Verones F, de Baan L, Hellweg S July 2015. Quantifying Land Use Impacts on Biodiversity: Combining Species-Area Models and Vulnerability Indicators. *Environmental Science and Technology* 49(16):9987-9995
- Chauhan BS, Johnson DE 2011. Row spacing and weed control timing affect yield of aerobic rice. *Field Crops Res.* 121(2):226–231
- Deligios PA, Carboni G, Farci R, Solinas S, Ledda L 2019. The Influence of Herbicide Under dosage on the Composition and Diversity of Weeds in Oilseed Rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera* D.C.) Mediterranean Fields. *Sustainability*, 11(6):1653; doi:10.3390/su11061653.
- Evans SP, Knezevic SZ, Lindquist JL, Shapiro CA, Blankenship EE 2003. Nitrogen application influences the critical period for weed control in corn. *Weed Science* 51(3):408-417
- FAO 2018. Food and Agriculture Organization of the United States, Rome, Italy.
- Gholipour H, Mirshekari B, Hosseinzadeh Moghbeli AH, Hanafian SH 2010. Critical period of weeds control in Sunflower, *Helianthus annuus* L. *Agroecology Journal (Journal of New Agricultural Science)* 5 (17):75-82.
- Holm LG, Plucknett DL, Pancho JV, Herberger JP 1977. The world's worst weeds, distribution and biology. The University Press of Hawaii, Honolulu, 610 pp.
- Hossein G, Mirshekari B, Hosseinzade MAH, Hanafian SH 2010. Critical Period of Weeds Control in Sunflower, *Helianthus annuus* L. *Agroecology Journal (Journal of New Agricultural Science)*. 5(17):75-82
- Isik D, Akca A, Kaya Altop E, Tursun N, Mennan H 2015. The Critical Period for Weed Control (CPWC) in Potato (*Solanum tuberosum* L.). *Not. Bot. Horti. Agrobo.* 43(2):355-360.
- Isik D, Akca A 1997. Assessment of Weed Competition Critical Period in Sugar Beet. *Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences* 24(1):82-90.
- Iyigun O, Ozer Z, Kutluk ND 1997. Research on the Effects of Weed Competition on Sunflower Yield in Kazova (Tokat). Turkey II. Herbology Congress, (1-4 September 1997, İzmir & Ayvalık), 173-179 pp.
- Karnas Z, Isik D, Tursun N, Jabran K 2019. Critical period for weed control in sesame production. *Weed Biology and Management*, 19(4): 121–128.
- Kaya Y, Başaran B, Kadioglu I, Kilic D, Ozer E, Altintas A. Gokalp S, Mutlu N 2020. Determination of the Critical Period for Weed Control in Oil Sunflower (*Helianthus annuus* L.)

- Cultivation in Tokat Province. Turkish Journal of Weed Science 23(2):81-87
- Khalifa FM, Schneiter AA, Eltayeb EI 2000. Temperature - Germination Responses of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Genotypes. HELIA 23(33):97-104
- Knezevic SZ, Evans SP, Blankenship EE, Van Acker RC, Lindquist JL 2002. Critical period for weed control: the concept and data analysis. Weed Sci., 50(6): 773–786.
- Knezevic SZ, Streibig JC, Ritz C 2007. Utilizing R software package for dose response studies: the concept and data analysis. Weed Technol., 21(3): 840–848.
- Knezevic SZ, Elezovic I, Datta A, Vrbnicanin S, Glamoclija D, Simic M, Malidza G, 2013. Delay in the critical time for weed removal in imidazolinone-resistant sunflower (*Helianthus annuus*) caused by application of pre-emergence herbicide. International Journal of Pest Management, 59(3): 229–235.
- Knezevic SZ, Datta A 2015. The critical period for weed control: revisiting data analysis. Weed Sci., 63(SP1): 188–202.
- Magurran AE 2004. Measuring Biological Diversity. Blackwell Science Ltd., 256 pp.
- Marshall, E, Brown V, Boatman N, Lutman P, Squire G, Ward L 2003. The role of weeds in supporting biological diversity within crop fields. Weed Res. 43(2): 77–89.
- Mukhtar AM, Eliniaama G, Salah EE, Babiker MM 2018. Critical period for weed control in sunflower (*Helianthus annuus* L.) in Dongola Locality, Northern State, Sudan. SUST Journal of Agricultural and Veterinary Science, 19(1):34-40.
- Özer Z, Önen H, Tursun N, Uygur FN 2003. Herboloji (Yabancı Ot Bilimi) Cilt.1. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No:20 Ser. No: 10, Tokat.
- Serafin L, McCaffery D, Thompson S, 2014. Sunflower. Summer crop production guide 2014. NSW DPI Management Guide. NSW Department of Primary Industries, 80–92 pp.
- Silva JIC, Martins D, Pereira MRR, Rodrigues-Costa ACP, Costa NV 2012. Determination of Weed Interference Periods in Sunflower Culture. Planta Daninha, Viçosa-MG, 30 (1): 27-36.
- Swanton CJ, Weise SE 1991. Integrated Weed Management: The Rationale and Approach. Weed Technol. 5(3): 657-663.
- TUIK 2018. <https://www.tuik.gov.tr/>. Turkish Statistical Institute. Turkey.
- Tursun N, Bukun B, Karacan SC, Ngouajio M, Mennan H 2007. Critical period for weed control in leek (*Allium porrum*L.). Hort Science 42(1):106-109
- Tursun N, Datta A, Tuncel E, Kantarci Z, Knezevic SZ 2015. Nitrogen application influenced the critical period for weed control in cotton. Crop Protection, 74(1): 85–91.
- Tursun N, Datta A, Budak S, Kantarci Z, Knezevic SZ 2016a. Row spacing impacts the critical period for weed control in cotton (*Gossypium hirsutum*). Phytoparasitica, 44(1): 139–149.
- Tursun N, Datta A, Sakınmaz MS, Kantarcı Z, Knezevic SZ, Chauhan BS 2016b. The critical period for weed control in three corn (*Zea mays* L.) types. Crop Prot., 90(1): 59–65.
- Uludag A, Uremis İ, Arslan M 2018. Biological weed control. In: Non-chemical weed control. Jabran, K, Chauhan B.S., (Eds.). Academic Press, UK, 115-132 p.
- Uludag A, Uremis I, Tursun N, Bukun B 2012. A review on critical period for weed control in Turkey. The 6th International Weed Science Congress (17-22 June 2012, Hangzhou, China), 37 p.
- Uremis I, Caliskan ME, Uludag A, Caliskan S 2009a. Weed management in early-season potato production in the Mediterranean conditions of Turkey. Bulgarian J. Agric. Sci., 15(5): 423-434.
- Uremis I, Uludag A, Ulger AC, Cakir B 2009b. Determination of critical period for weed control in the second crop corn under Mediterranean conditions. African Journal of Biotechnology, 8 (18): 4475-4480.
- Uremis I, Uludag A 2020. Potato Weeds and Their Control. (Patates, Ed. Çalışkan, M.E.). Agriculture Turkish Journal Publications, Izmir, 98-111 pp.
- Van Acker RC, Swanton CJ, Wiese SF 1993. The critical period of weed control in soybean [*Glycine max*] (L.) Merr.]. Weed Sci. 41(2):194-200.
- Wanjari RH, Yaduraju NT, Ahuja KN 2000. Critical period of weed competition in spring sunflower (*Helianthus annuus* L.). Indian Journal of Weed Science, 32 (1/2) 17-20.
- Weaver SE, Tan CS 1987. Critical period of weed interference in field seeded tomatoes and its relation to water stress and shading. Canadian Journal of Plant Science, 67(2): 575-583.
- Zengin H 1999. Studies on the species, density, frequency and sociability of sunflower weeds in Erzurum. Turkish. J. of Agriculture and Forestry 23(1): 39-44.

Investigating *In Vitro* Genotoxic Effects of Sweetener Xylitol

Ece AVULOGLU-YILMAZ¹, Deniz YUZBASIOGLU², Fatma UNAL³

¹Vocational School of Technical Sciences, Amasya University, Amasya, Türkiye, ^{2,3}Genetic Toxicology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Science, Gazi University, Ankara, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-5164-3431>, ²<https://orcid.org/0000-0003-2756-7712>, ³<https://orcid.org/0000-0002-7468-6186>

✉: deniz@gazi.edu.tr

ABSTRACT

Xylitol (XYL) is a sweetener used as a food additive in the food industry. In the present study, four different genotoxicity assays (chromosomal aberration=CA, sister chromatid exchange=SCE, cytokinesis-block micronucleus cytome=CBMN-Cyt, and comet assays) were conducted to assess the potential genotoxicity of XYL in human lymphocytes. Four concentrations (125, 250, 500, and 1000 µg mL⁻¹) of XYL were applied to lymphocytes obtained from three healthy young donors. The frequency of CA was not significantly affected by 24-h administration of XYL (except 1000 µg mL⁻¹ for the number of CAs). 48 h treatment of XYL increased the frequency of CAs and abnormal cells. However, this increase was significant at only two highest concentrations. XYL significantly increased SCE/cell rate at the two highest concentrations at both treatment times (24 and 48h). Similarly, the frequency of MN, Nuclear buds (NBUDs), and Nucleoplasmic bridges (NPBs) significantly increased by XYL only at the high concentrations. It raised the comet parameters at the two highest concentrations. These observations showed that XYL, only at high concentrations, may have a genotoxic effect on human lymphocytes *in vitro*. For this reason, it can be concluded that its use at low concentrations may not cause DNA or chromosomal damage.

Genetic

Research Article

Article History

Received : 10.09.2021

Accepted : 26.11.2021

Keywords

Genotoxicity
Human lymphocytes
Sweetener
Xylitol

Tatlandırıcı Olan Xylitol'ün *In Vitro* Genotoksik Etkilerinin İncelenmesi

ÖZET

Xylitol (XYL), gıda endüstrisinde gıda katkı maddesi olarak kullanılan bir tatlandırıcıdır. Bu çalışmada, insan lenfositlerinde XYL'nin potansiyel genotoksitesini değerlendirmek için dört farklı genotoksite testi (kromozomal anormallik=KA, kardeş kromatid değişimi=KKD, sitokinez-blok mikronükleus sitom=CBMN-Cyt ve comet testleri) gerçekleştirilmiştir. Genç ve sağlıklı donörlerden elde edilen lenfositlere dört farklı konsantrasyonda (125, 250, 500 ve 1000 µg mL⁻¹) XYL uygulanmıştır. KA frekansı, 24 saatlik XYL uygulamasından önemli ölçüde etkilenmemiştir (anormal hücre sayısı için 1000 µg mL⁻¹ hariç). 48 saatlik XYL muamelesi, kromozomal anormalliklerin ve anormal hücrelerin sıklığını arttırmıştır. Ancak bu artış en yüksek iki konsantrasyonda anlamlıdır. XYL, tüm uygulama sürelerinde (24 ve 48 saat) en yüksek iki konsantrasyonda KKD/hücre oranını önemli ölçüde yükseltmiştir. Benzer şekilde, MN, Nükleer tomurcuklar (NBUD'ler) ve Nükleoplazmik köprülerin (NPB'ler) sıklığı, XYL'ün yüksek konsantrasyonlarında anlamlı artış göstermiştir. XYL comet parametrelerini en yüksek iki konsantrasyonda yükseltmiştir. Bu gözlemler, XYL'nin *in vitro* insan lenfositlerinde yalnızca yüksek konsantrasyonlarda genotoksik bir etkiye sahip olabileceğini göstermiştir. Bu nedenle düşük konsantrasyonlarda kullanımının DNA veya kromozomal hasara neden olmayabileceği düşünülmektedir.

Genetik

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 10.09.2021

Kabul Tarihi : 26.11.2021

Anahtar Kelimeler

Genotoksite
İnsan lenfositleri
Tatlandırıcı
Xylitol

Atıf Şekli: Avuloglu-Yilmaz E, Yuzbasioglu D, Unal F 2022. Tatlandırıcı Olan Xylitol'ün *In Vitro* Genotoksik Etkilerinin İncelenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1315-1325. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.993825>

To Cite : Avuloglu-Yilmaz E, Yuzbasioglu D, Unal F 2022. Investigating *In Vitro* Genotoxic Effects of Sweetener Xylitol. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1315-1325. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.993825>

INTRODUCTION

Food additives are substances that are supplemented in the production process to improve the characteristics of foods such as color, taste, smell, nutritional value, and shelf life. Retrospective studies on the currently used food additives have shown that some of them may have adverse effects on human health (Gultekin et al., 2017; Ali et al., 2020; Cadirci et al., 2020).

The use of several additives (artificial sweeteners, food colorings, flavor enhancers, etc.) causes an intense debate on their adverse effects. It is thought to have a higher risk than the benefit arising from the use of food additives. It was found in a study that consumers do not want to buy processed foods containing food additives due to potential hazards such as cancer, asthma, digestive problems, neurological problems, heart disease, obesity, and allergies (Shim et al., 2011; Yin et al., 2020). Naturalness is seen as a major feature for consumers. While natural foods are thought to be healthy and safe, unnatural foods are considered to carry the risk of disease (Kadim, 2017). In studies, supporting this situation, it has been determined that some food additives have genotoxic and carcinogenic effects. Others have also been shown to play a role in the formation of hyperactivity, neurodegenerative diseases, allergies, diabetes, obesity, reproduction, and disorders related to the gastrointestinal tract. For these reasons, studies examining the effects of these substances on health have increased and restrictions have been placed on the use of these substances (Yuzbasioglu et al., 2014; Comert and Gudek, 2017; Hassan and Jasem, 2020).

The International Food Codex Commission (CAC), formed by the World Health Organization (WHO) and the Food Agriculture Organization (FAO), defines sweetener as a "non-sugar substance that gives a sweet taste to food". Substances with sweetening properties show different physical, chemical, and physicochemical characteristics due to their different chemical structures. The oldest substance known for its sweetening effect is sucrose in the sugar group, and glucose, fructose, hydrolysed starch syrups, and high fructose corn syrups are natural ingredients of agricultural origin that provide sweetness in foods. However, as can be understood from the definition of CAC given above, these substances with sugar properties are not considered food additives. Sweeteners are food additives substituted for sugar, with a sweet taste similar to sugar, but with significantly less energy. Sweeteners can be divided

into three groups as sugar alcohols (polyols), artificial sweeteners, and natural sweeteners (Kızılaslan, 2017; Yin et al., 2020). Polyols (sugar alcohols) are the most commonly used sweetener group and are natural sugar replacers. Polyols do not require insulin to enter the cells, therefore, they are suitable for use by diabetics. However, when the intake is above 50-60 g/daily, the excess amount turns into glucose in the liver. Xylitol (XYL) an approved additive (E 967), and hydrogenated form of monosaccharides, is tolerated like other polyols, but its excessive consumption can cause a laxative effect. The EU Food Scientific Committee indicated that the daily consumption of polyols, other than sensitive individuals, should be less than 20 g, otherwise it is likely to cause a laxative effect. XYL is used in chewing gum, peppermint, acacia gum, lozenges, and other confectionery. It is also used as an excipient in toothpaste, other special dental products, and pharmaceutical products (Mäkinen, 2016; Wölnerhanssen et al., 2020). While sweeteners have been positively welcomed by some consumers, some others have been cautious approaches to these molecules. Sweeteners have varied over the past years and their usage has increased during the last 40 years. Therefore, a large mass of people is consuming foods containing sweeteners (Lemos et al., 2018).

Since it is understood that agents with genotoxic effects can cause health problems, short-term genotoxicity assays have been developed and used to detect these agents. Nowadays, genotoxicity assays are widely used as a biomarker to assess the genotoxic potential of food additives. The most commonly used biomarkers are chromosomal aberration (CA), sister chromatid exchange (SCE), cytokinesis block micronucleus cytome (CBMN-Cyt), and comet assays (Lal et al., 2019; Trompowsky et al., 2019; Gooderham et al., 2020).

CA test is used to detect structural and numerical aberrations. Therefore, it is effective in detecting both the clastogenic and aneugenic effects of the test substance. Chemicals that directly induce DNA strand breaks can induce chromatid-type aberrations in the G2 stage of the cell cycle and they produce chromosome-type aberrations in G0 and G1 stages. Most chemical mutagens produce S-phase-associated lesions leading to chromosomal damage, resulting in chromatid-type aberrations more frequently. Since the formation of SCE is directly related to DNA replication in human cells exposed to mutagens in the G2 phase of the cell cycle, the frequency of SCE may

only increase after the subsequent replication cycle. Homologous recombination between sister chromatids is considered to be the main mechanism for SCE formation. This mechanism is considered to be protected because in general, no DNA information is exchanged by homologous recombination (Mourelatos, 1996; Zhang, 2013; Mourelatos, 2016; Yadav et al., 2019; Kadlcikova et al., 2020).

The mitotic index shows the ratio of cells undergoing mitosis, while the replication index evaluates how many mitotic cells have completed one, two, three, or more consecutive cell cycles. The decrease in the mitotic index indicates a cytotoxic effect, while the decrease in the replication index reveals a delay in the cellular proliferation kinetics induced by various chemicals (Hemachandra and Pathiratne, 2016). The inhibition of mitochondrial function is thought to be the cause of the decrease in the mitotic index (Azab et al., 2017). This parameter is a useful biomarker for the evaluation of cytotoxic and cytostatic activities of chemicals in tumor and normal experimental models. Chemicals affecting mitochondrial metabolism can alter energy production and create oxidative stress and eventually inhibit cytochrome 1A1 (CYP1A1) activity. These effects threaten cellular homeostasis and alter cellular proliferation capacity (Álvarez-Barrera et al., 2017; Erikel et al., 2019; Cavalcanti et al., 2020).

Micronuclei (MNi) consist of a chromosome loss or breakage. While nucleoplasmic bridges (NPBs) originated from DNA strand break or telomere end fusions, nuclear buds (NBUDs) are formed due to the amplified DNA or elimination of DNA repair complexes (Fenech, 2006 and 2007; Gundogan et al., 2018). The cells carrying these three abnormalities are called chromosomally unstable cells. These types of aberrations are common in cancer cells. Chromosomal instability (CI) causes changes in gene dosage, the rapid growth of a cell, and mutation. This causes the cell to escape from the homeostatic control mechanisms due to its genetic plasticity and thus become immortalized and transform into various abnormal genotypes. All these variations make tumor cells survive and escape from the immune system (Negrini et al., 2010; Ruiz-Ruiz et al., 2020).

Depending on the technique used (neutral, alkali, etc.), the comet assay shows single and double-strand breaks. The breaks are associated with chromosomal abnormalities and genomic instability. Genomic instability is directly related to malignancy (Azqueta and Collins, 2013; Vodicka et al., 2019; Souto et al., 2020).

The genotoxicity of XYL was evaluated by JECFA (1978) and it was stated that it is not genotoxic. However, no other genotoxicity study of xylitol with human lymphocytes was available. Therefore, the main goal of the present study is to investigate the

possible genotoxicity of sweetener xylitol using CA, SCE, CBMN-Cyt, and comet assays on human peripheral lymphocytes. Besides, the effect of XYL on the replication index (RI), mitotic index (MI), and nuclear division index (NDI) was also determined.

MATERIAL and METHODS

Cultured lymphocytes were used for CA, SCE, and CBMN-Cyt assays, and isolated lymphocytes were used for the comet assay. Peripheral blood was obtained from three healthy young (aged 23-27, two women, and one male) donors. The study was carried out with the permission of the ethical committee of the Faculty of Medicine, Gazi University (No: 234; 05.08.2017).

The molecular weight of the test material Xylitol (Cas number: 87-99-0) is 152.15 g mol⁻¹, its molecular formula is C₅H₁₂O₅ and obtained from Sigma-Aldrich (purity: ≥ 0.99). JECFA has not specified the ADI (Acceptable Daily Intake) value of XYL (ADI Not Specified) and the amounts used in humans are not clear. Therefore, the LD₅₀ value in rodents was considered as a reference to determine appropriate dose ranges (Anonymous, 2021). Firstly, 31.25, 62.50, 125, 250, 500, 1000, and 2000 µg mL⁻¹ were tested using cell-proliferating activity/mitotic index, in a preliminary study. Depending on these results, 125, 250, 500, and 1000 µg mL⁻¹ were chosen as the test concentrations. Xylitol was dissolved in distilled water.

Chromosomal aberrations and sister chromatid exchange assay

To determine CAs, the method of Evans' (1984) was applied with some modifications (Yuzbasioglu et al., 2006). SCE assay was carried out using the method of Perry and Wolff (1974) with some alterations (Speit and Haupter, 1985). For these tests, 200 µL of heparinized whole blood was added immediately to culture tubes containing Chromosome Medium B. Bromodeoxyuridine (BrdU, 10 µg mL⁻¹) was supplemented into the same tubes and then incubated at 37°C for 72 h. Cells were treated with XYL for the last 24 and 48 hours of the culture. On the other hand, distilled water and 0.20 µg mL⁻¹ mitomycin-C (MMC) was added to the experimental setup as the negative and positive control, respectively. MMC is an agent recommended by the OECD (test number 473 and 487) as a positive control in test guidelines (OECD 2016a and OECD 2016b). At the 70th hour of the culture, colchicine (0.06 µg mL⁻¹) was supplemented to each tube to block mitosis. The culture was terminated at the 72nd hour. Cells were centrifuged and treated with 0.075 M KCl. Lymphocytes were fixed in cold 3: 1 methanol: acetic acid three times and then the cell suspension was dropped onto previously cleaned cold slides. The

slides were stained in 5% Giemsa. A total of 300 metaphases for each concentration (100 metaphases per donor) were analyzed to detect CAs. To determine SCEs, a total of twenty-five cells at second metaphases were evaluated per donor (a total of 75-second metaphases for each concentration). Also, the MI was assessed by scoring a total of 3000 cells (1000 cells/donor). 100 cells per donor were scored to determine the RI (totally 300 cells/concentration). RI was calculated using the following formula: $RI = [M1 + 2 \times M2 + 3 \times M3] / N$, where M1, M2, and M3 represent the number of cells undergoing first, second and third mitosis and N is the total number of metaphases scored (Schneider and Lewis, 1981).

Cytokinesis-block micronucleus cytome assay

The procedure of Fenech (2007) was used with some alterations for the CBMN-Cyt assay. 200 μ L of blood specimen was added straightaway to tubes containing the Chromosome Medium B to cultivate lymphocytes for 72 h at 37°C. Cells were treated with four concentrations of XYL (125, 250, 500, and 1000 μ g mL⁻¹) for the last 48 hours. A negative (distilled water) and positive control (MMC, 0.20 μ g mL⁻¹) were also maintained. To prevent cytokinesis, 5.2 μ g mL⁻¹ of Cytochalasin-B was added to the culture at 44th h. Then the cultures were centrifuged and the supernatant was removed. Following the addition of cold KCl, suspensions were kept in the refrigerator (+4°C) for 5 min. The tubes were centrifuged and the supernatant was removed. Cells were fixed in cold 3:1 methanol: acetic acid for 15 minutes in the refrigerator. Fixation was repeated twice. Formaldehyde was added to the final fixative and centrifuged for the last time. The supernatant was discarded and the remaining cell suspension was homogenized using a pipette. The suspension was spread over the previously cleaned cold slides and left at room temperature for 24 hours to dry.

Comet assay

The technique used by Singh et al. (1988) was applied with some alterations. Lymphocytes were isolated from whole blood samples using biocoll. Cell viability of lymphocytes was determined to be $\geq 97\%$ using trypan blue. Lymphocytes were incubated with four concentrations of XYL (125, 250, 500, and 1000 μ g mL⁻¹) for 1 h at 37°C. A positive (100 μ M H₂O₂) and negative control were also used. Following treatment, the supernatant was removed by centrifugation and resuspended with PBS. Lymphocytes were mixed with low melting heat agar and spread on slides coated with high melting heat agar. After lysis, slides were kept in electrophoresis buffer and electrophoresed at 300 mA, 25 V for 20 minutes. Afterward, slides were kept in 0.4 M Tris buffer (pH = 7.5) and stained with EtBr. Totally 300 cells (100 cells

per donor) for each concentration were examined under a fluorescent microscope using "Comet Assay IV", Perceptive Instruments Ltd., UK analysis system. The degree of damage to the cells was evaluated using comet tail length (μ m), tail intensity (%), and tail moment.

Statistical analysis

To reveal the dose-effect relationship for the mitotic index, replication index, SCE / cell, abnormal cell, CA/cell, MN/cell, NBUDs/cell, NPBs/cell, nuclear division index, tail length, tail intensity, and tail moment regression analysis was applied using SPSS 22.0 program. Mitotic index (MI), replication index (RI), abnormal cell frequency, CA/cell, MN/cell, NBUDs/cell, NPBs/cell, and nuclear division index (NDI) results obtained from the experimental and control groups were analyzed using z-test, sister chromatid exchange and comet assay results were analyzed using t-test.

RESULTS

XYL increased the frequency of CAs and CA/cell in human lymphocytes at both treatment periods (Table 1). However, increases were not significant compared to the negative control at 24 h (except 1000 μ g mL⁻¹ %CAs). At 48 h treatment, increases were significant and concentration-dependent at the two highest concentrations ($r=0.99$ for both CAs and CAs/cell). Following XYL exposure, six types of structural and one type of numerical (polyploidy) aberrations have been detected in human lymphocytes. Structural abnormalities are chromatid (63.37%) and chromosome breaks (12.98%), sister chromatid union (13.74%), dicentric chromosome (7.63%), fragment (0.76%), and chromatid exchange (0.76%). The chromatid break was the most common abnormality observed.

The effect of XYL on SCE/cell ratio and RI at 24 h and 48 h exposures were presented in Table 2. XYL has raised the ratio of SCE/cell at both treatment periods (except 125 μ g mL⁻¹ at 24 h). Increasing was significant at the two highest concentrations and concentration-dependent ($r=0.90$ and $r=0.93$ at 24 h and 48 h, respectively). XYL produced up to 10 SCEs/Cell in lymphocytes. MI significantly decreased at all the applied concentrations of XYL at 48h treatments, however the reduction was significant at the only two highest concentrations at 24h applications (Figure 1). Decreasing in the MI was concentration-dependent at both treatment periods ($r=-0.99$ and $r=-0.93$, at 24h and 48h, respectively). On the contrary, XYL did not significantly affect the RI (Table 2).

In this study, XYL has been evaluated using CBMN-Cyt assay and determined that the frequencies of MN, NBUDs, and NPBs increased in a concentration-

dependent manner ($r= 0.91$, $r=0.98$, $r=0.90$, respectively). However, this increase was significant only at the concentrations of 500 and 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for the frequency of MN and NBDs, and at the highest concentration for the frequency of NPBs over the negative control (Table 3). On the other hand, XYL did not affect NDI.

XYL has also been assessed using comet assay and observed that XYL significantly increased the tail length, tail intensity, and tail moment at the two highest concentrations in a concentration-dependent manner (respectively $r=0.99$, $r=0.82$, and $r=0.86$) in human lymphocytes (Figure 2-4).

Çizelge 1. XYL'ün insan lenfositlerinde kromozom anormallik oranına etkisi

Table 1. Effect of XYL on the frequency of chromosome aberrations in human lymphocytes.

Test subs.	Treatment		Aberrations							Abnormal cell \pm SE (%)	CA/cell \pm SE
	h	Conc. mg mL^{-1}	ctb	csb	scu	dic	ce	f	p		
Control	24	0	9	-	-	-	-	-	-	3.00 \pm 0.985	0.030 \pm 0.009
MMC	24	0.20	25	10	2	6	3	-	-	14.67 \pm 2.042	0.153 \pm 0.021
XYL	24	125	8	5	2	-	-	-	-	5.00 \pm 1.260	0.050 \pm 0.013
		250	7	1	6	2	-	-	-	5.33 \pm 1.300	0.053 \pm 0.013
		500	12	2	1	3	-	-	-	6.00 \pm 1.370	0.060 \pm 0.014
		1000	12	5	2	1	-	-	1	5.67 \pm 1.340	0.067 \pm 0.014*
Control	48	0	3	2	1	-	-	-	-	2.00 \pm 0.081	0.020 \pm 0.008
MMC	48	0.20	31	7	7	2	5	-	-	16.67 \pm 2.152	0.173 \pm 0.022
XYL	48	125	6	1	1	-	-	-	-	2.67 \pm 0.930	0.027 \pm 0.009
		250	10	1	1	1	-	-	-	4.33 \pm 1.175	0.043 \pm 0.012
		500	14	1	2	-	-	-	-	5.67 \pm 1.340*	0.057 \pm 0.013*
		1000	14	1	3	3	1	1	-	6.67 \pm 1.440**	0.077 \pm 0.015**
Fab (%)			63.37	12.98	13.74	7.63	0.76	0.76	0.76		

Test subs: Test substance, h: hour, Conc: Concentrations, ctb: Chromatid break, csb: chromosome break, scu: sister chromatid union, dic: dicentric chromosome, ce: chromatid exchange, f: fragment, p: polyploidy, Fab: Frequency of abnormalities, SE: Standart Error, *Significantly different from the control $p < 0.05$ (z test), **Significantly different from the control $p < 0.01$ (z test).

Çizelge 2. XYL'ün insan lenfositlerinde SCE ve RI üzerindeki etkisi

Table 2. Effect of XYL on SCE frequencies and RI in human lymphocytes

Test subs.	Treatment		Min-max SCE	SCE/cell \pm SE	M ₁	M ₂	M ₃	RI \pm SE
	h	Conc. mg mL^{-1}						
Control	24	0	1-7	2.76 \pm 0.169	96	54	150	2.18 \pm 0.068
MMC	24	0.20	17-38	27.99 \pm 0.611	105	75	120	2.05 \pm 0.061
XYL	24	125	1-6	2.75 \pm 0.172	81	72	147	2.22 \pm 0.071
		250	1-7	2.84 \pm 0.177	74	77	149	2.25 \pm 0.072
		500	2-10	3.75 \pm 0.193*	112	66	122	2.03 \pm 0.060
		1000	1-9	4.61 \pm 0.210*	111	62	127	2.05 \pm 0.061
Control	48	0	1-6	2.01 \pm 0.141	112	80	108	1.99 \pm 0.057
MMC	48	0.20	20-42	27.88 \pm 0.537	118	54	128	2.03 \pm 0.060
XYL	48	125	1-6	2.28 \pm 0.138	111	73	116	2.02 \pm 0.059
		250	1-6	2.28 \pm 0.136	114	86	100	1.95 \pm 0.055
		500	1-7	3.41 \pm 0.143*	110	72	118	2.03 \pm 0.060
		1000	1-7	3.67 \pm 0.184*	90	78	132	2.14 \pm 0.066

Test subs: Test substance, h: hour, Conc: Concentrations, SE: Standart error, * Significantly different from the control $p < 0.05$ (t-test).

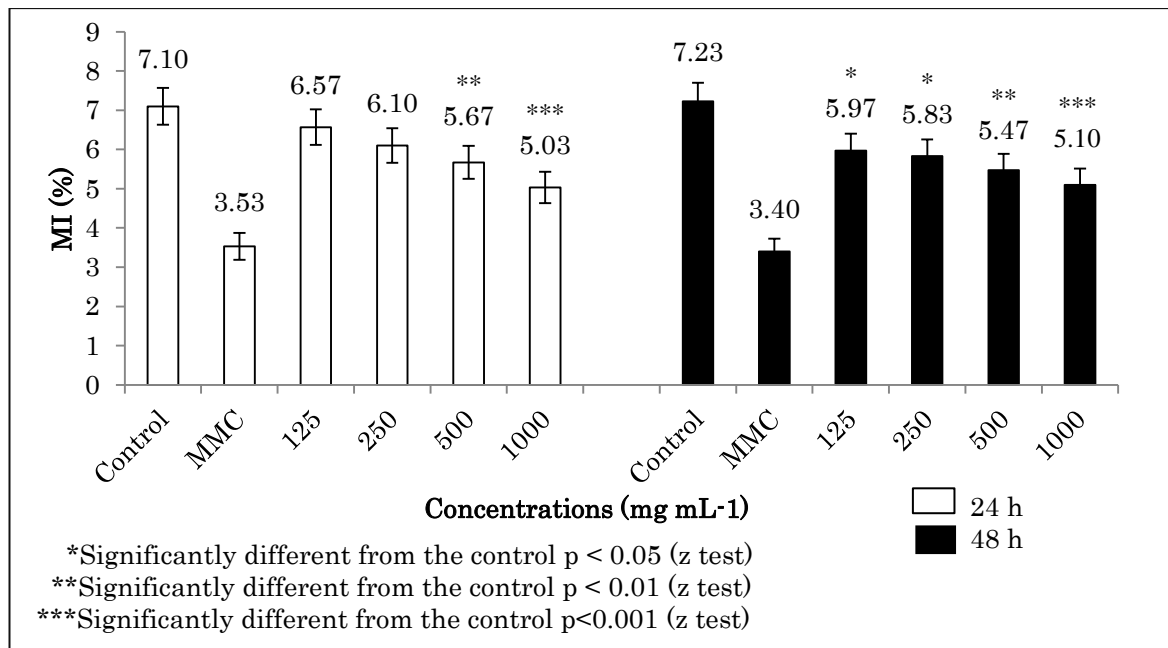


Figure 1. Effect of XYL on MI in human lymphocytes

Şekil 1. XYL'ün insan lenfositlerinde MI'ye etkisi

Çizelge 3. XYL'ün insan lenfositlerinde MN, NBUD, NPB frekans ve NDI üzerindeki etkisi

Table 3. Effect of XYL on the frequency of MN, NBUD, NPB, and NDI in human lymphocytes

Test subs.	Treatment		Number of		Nuclear division index (NDI) ± SE	Nuclear bud (NBUD) ± SE (%)	Nucleoplasmic bridge (NPB) ± SE (%)	
	h	Conc. mg mL ⁻¹	MN/BN cell (1)	MN ± SE (%) (2)				
Control	48	0	15	-	0.00 ± 0.13	1.42 ± 0.31	0.17 ± 0.08	0.03 ± 0.03
MMC	48	0.20	72	4	2.67 ± 0.29	1.31 ± 0.29	0.83 ± 0.17	0.33 ± 0.11
XYL	48	125	12	-	0.40 ± 0.12	1.36 ± 0.30	0.23 ± 0.08	0.03 ± 0.03
		250	19	3	0.83 ± 0.17	1.35 ± 0.30	0.33 ± 0.10	0.07 ± 0.05
		500	28	-	0.93 ± 0.18*	1.35 ± 0.30	0.47 ± 0.12*	0.10 ± 0.06
		1000	30	-	1.00 ± 0.18*	1.37 ± 0.30	0.50 ± 0.13*	0.23 ± 0.09*

Test subs: Test substance, h: hour, Conc: Concentrations, SE: Standart error, *Significantly different from the control p<0.05 (z-test).

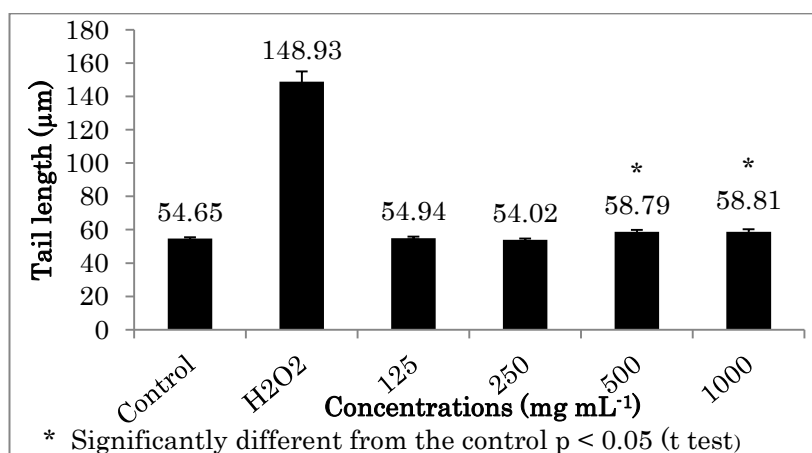


Figure 2. Comet tail length after the treatment of XYL in isolated human lymphocytes

Şekil 2. İzole insan lenfositlerinde XYL muamelesinden sonra comet kuyruğu uzunluğu

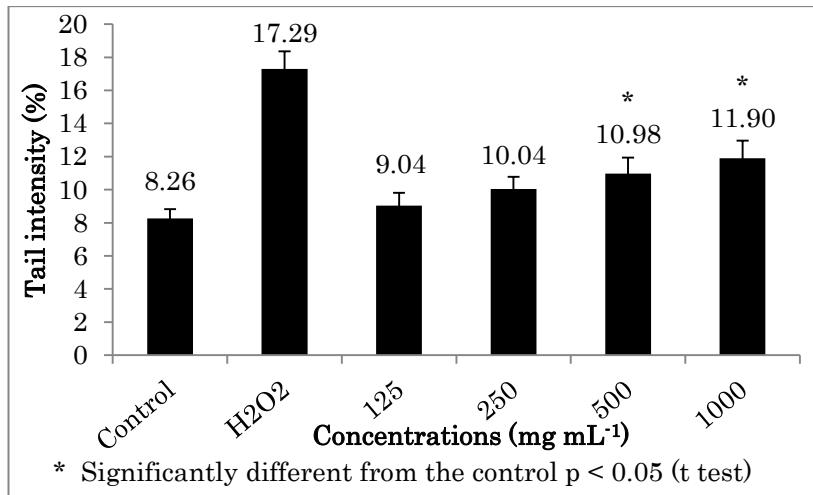


Figure 3. Comet tail intensity after the treatment of XYL in isolated human lymphocytes
Şekil 3. İzole insan lenfositlerinde XYL muamelesinden sonra comet kuyruk yoğunluğu

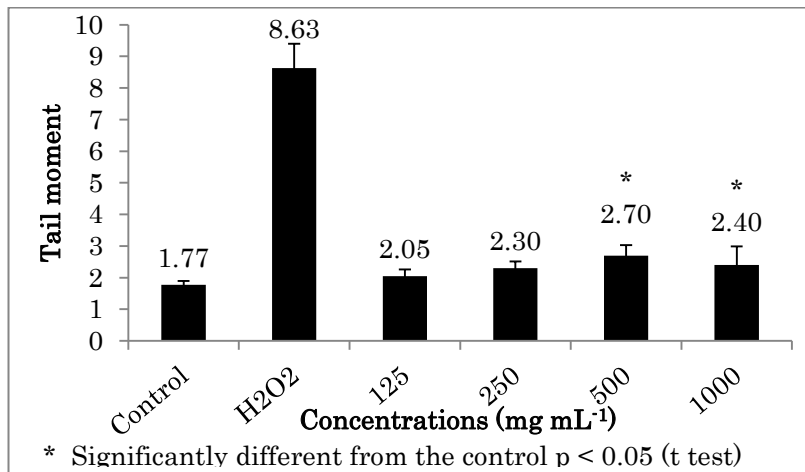


Figure 4. Comet tail moment after the treatment of XYL in isolated human lymphocytes
Şekil 4. İzole insan lenfositlerinde XYL muamelesinden sonra comet kuyruk momenti

DISCUSSION and CONCLUSIONS

To improve the appearance and flavors of the foods offered or to be consumed to the consumer's desire and/or to prevent their spoilage and extend their shelf life, the ingredients added to the foods are called food additives. In the last 30 years, especially in developed countries, there has been an increase in additives used in foods. Their increasing results from the production techniques brought by the developing technology and the diversity of consumer taste. Today, while people maintain to access durable and rich food sources, their concerns about food safety are regularly increasing (Amin et al., 2013; Khan et al., 2020). For this reason, any risk assessment should be considered to protect human health.

Physical and chemical agents interacting with DNA and DNA-related cellular components (mitotic and meiotic spindle threads, replication enzymes, DNA repair system enzymes, proteins controlling the cell cycle, genes associated with apoptosis, and proteins providing defense against oxidative damage), and

cause damage to the genome are called as genotoxic (Bellani et al., 2020). Genotoxic agents that people are exposed to may cause tissue damage, infertility, birth defects, cancer, and some genetic and multifactorial diseases both at the individual level and in the future generations. It has been determined that there is a strong relationship between genotoxicity and cancer, and many compounds that are carcinogenic to humans are also genotoxic. Genotoxic agents have been found to have some adverse health effects. Therefore, short-term genotoxicity assays have been developed to determine genotoxic agents. These tests that can be used routinely *in vivo* or *in vitro* and accepted as valid by international agencies are widely applied in determining the genotoxic potency of food additives (Bastaki et al., 2017; Otabe et al., 2019; Avuloglu-Yilmaz et al., 2020; Bellani et al., 2020; Khan et al., 2020).

This research revealed that XYL induced the incidence of CAs, SCEs, MN, NBUD, NPB, and DNA damage only at the higher concentrations. The

highest rate of chromatid breaks (63.37%) and the increased frequency of CA at high concentrations in both 24 and 48 hours of treatment suggest that XYL may have affected the G2 stage. The increased frequency of SCE at the highest concentrations indicates that the chemical may also influence the DNA replication and G2 phase. Again, for the same concentrations, increased MN, NBUD and NPBs may be indicative of a clastogenic and/or aneugenic effect, and chromosomal instability. The results of all genotoxicity tests used in this study support each other.

According to the report published by JECFA (1978), the following test procedures were performed on XYL. Ames test with TA 1535, TA 1537, and TA 1538 strains of *Salmonella typhimurium* with and without metabolic activation, host-mediated assay in the mouse with *Salmonella typhimurium* TA1530, TA 1532, and TA 1964 strains, micronucleus assay with Fullinsdorf albino mice, and chromosomal aberration test in cultured human lymphocytes. It was reported that XYL did not cause observable mutagenic effects in any of these test systems (JECFA, 1978). However, the report did not contain important information such as concentration and treatment time used in the tests. As far as we know, there was no comprehensive available study on the possible genotoxicity of XYL in human lymphocytes. On the other hand, numerous studies are investigating the genotoxic effects of some sweeteners in different cell groups. For example, maltitol, sugar alcohol such as xylitol, did not stimulate SCEs in human peripheral lymphocytes at applied concentrations (1.25, 2.5, and 5 mg mL⁻¹) and durations (24 and 48 hours) used. Chromosomal abnormalities increased but this increase was not statistically significant. On the other hand, maltitol increased the frequency of MN at 24 and 48 hours, but not in a concentration-dependent manner. Maltitol did not affect the RI and MI at all the applications. As a result, it has been interpreted that maltitol has genotoxic potential but this potential effect is weak and it is not cytotoxic (Canımoglu and Rencuzogullari, 2006). The same researchers evaluated the genotoxic effect of maltitol in the bone marrow cells of rats. They reported that maltitol (2.5, 5, and 10 g kg⁻¹, 6, 12, and 24 hours) did not affect the frequency of chromosome aberrations and mitotic index. Maltitol was also administered intraperitoneally to pregnant rats during the first 7 days of pregnancy (1st trimester) to determine teratogenic and embryotoxic effects. While maltitol did not reveal a teratogenic effect, it reduced the weight of fetuses and caused growth retardation at the highest dose (4 g kg⁻¹) (Canımoglu and Rencuzogullari, 2013). In contrast to the previous two studies, the present study indicated that xylitol may be genotoxic, but only at high concentrations. This

discrepancy might result from the differences in concentrations used. Though these two chemicals are in the same group, they may have different genotoxic effects that might be the reason for the difference.

The potential genotoxicity of erythritol was investigated by short-term assays. Ames test was applied to the strains of *Salmonella typhimurium* TA98, TA1537 (detects mutagens that cause frameshift), TA100, TA1535, and *Escherichia coli* WP2 uvrA (detects base pair changes), but no positive result was detected. *In vitro* CA test with CHL cells and *in vitro* micronucleus assay with L5178Y tk +/- cells, no mutagenicity was observed at the concentrations used (1250, 2500, and 5000 g mL⁻¹). Again, in the comet assay, using the same concentrations of erythritol in L5178Y tk +/- cells, a significant rise in DNA damage was detected at higher concentrations. Besides, the *in vivo* micronucleus test carried out on bone marrow cells of male ICR mice indicated that oral erythritol administration (1250, 2500, and 5000 mg kg⁻¹) did not increase MN formation. When all these results are taken into consideration, it has been stated that erythritol has no mutagenic and chromosome damaging effects (Chung and Lee, 2013).

In a study investigating the effect of maternal sorbitol intake on offspring, sorbitol was given to Wistar rat offspring for 14 days via breast milk. Administered doses were 0.15, 1.5 and 150 mg kg⁻¹. Significant changes in some biochemical parameters such as ALT, AST, and LDLc were observed in offspring. Sorbitol exposure triggered hepatocyte genotoxicity, including micronucleus induction. Comet analysis of blood cells revealed dose-dependent genotoxic effects in offspring exposed to sorbitol. The authors concluded that significant metabolic changes and genotoxic responses could be induced in offspring exposed to sorbitol (Cardoso et al., 2016).

Aspartame is a methyl ester composed of aspartic acid and phenylalanine. It has been added to more than 6000 different products (Kirkland and Gatehouse, 2015). Therefore, aspartame was largely investigated in terms of genotoxicity and carcinogenicity. The effects of aspartame (400-1600 mg kg⁻¹ day) on bone marrow and spermatogonium cells of Holtzman rats were investigated by the chromosome aberration assay. No increase in CAs was observed in doses used (Bowles, 1970). Aspartame was given to C57BL/6 mice at doses of 15 and 150 mg kg⁻¹ for five days but an increase in CA frequency was detected at any dose (Durnev et al., 1995). There was no rise in DNA migration in comet assay in the eight tissues of mice exposed to aspartame (2000 mg kg⁻¹ for 3 and 24 h) (Sasaki et al., 2002). On the contrary, many studies are reporting positive results regarding aspartame. Rencuzogullari et al. (2004) investigated the possible genotoxic effects

of aspartame (500-2000 µg mL⁻¹ for 24 and 48 h) in human lymphocytes using CA and MN assays. They observed a significant increment in the frequency of CAs and MN (Rencuzogullari et al., 2004). The genotoxic effect of aspartame was also investigated by MN and CA assays in the bone marrow and blood cells of Swiss albino mice (250-1000 mg kg⁻¹ for 24, 48, and 72 hours). The frequency of CA and MN significantly raised especially at high concentrations and long treatment periods (Kamath et al., 2010). Increased DNA damage was detected in the comet assay using bone marrow cells of Swiss albino mice as well (7-35 mg kg⁻¹ aspartame for 18 h) (Bandyopadhyay et al., 2008). Although aspartame has been extensively investigated for its genotoxicity, there are conflicting results.

The use of artificial sweeteners is a contentious subject due to the view that they may be linked to direct or indirect induction of genotoxic and carcinogenic risks. Little is known about the mechanism by which sweeteners and their metabolites induce DNA breaks. It has been described that the mechanisms of genotoxicity caused by artificial sweeteners, including sorbitol and aspartame, may be DNA single and double-strand breaks, DNA inserts, DNA-DNA, and DNA-protein crosslinks. It has been emphasized that the reason for DNA damage triggered by these sweeteners is the irreversible damage caused by free radicals (reactive oxygen species=ROS) in proteins involved in DNA replication, repair, recombination, and transcription (Lin et al., 2007; Findikli and Turkoglu, 2014).

XYL was included in the "ADI Not Specified" group by JECFA and "REG - Food additives for which a petition has been filed and a regulation issued" group by the FDA. The result of the present investigation determined that XYL has a genotoxic potential only at high concentrations *in vitro* conditions. However, it did not show a genotoxic effect at low concentrations, and this supports the mentioned international organizations.

In conclusion, the results of the present study revealed that XYL has no genotoxic effect at low concentrations in all the four different assays applied. Considering that only high concentrations can cause damage, high doses and excessive use should be avoided, similarly for almost all chemicals.

ACKNOWLEDGMENT

This study is a section of the Ph.D. thesis of EAY.

Contribution of the Authors as Summary

The study design and experimental process were carried out by EAY and DY, and the data were evaluated. FU contributed to comet testing and analysis. All authors contributed to the preparation of

the article.

Statement of Conflict of Interest

The authors have declared no conflict of interest.

REFERENCES

- Ali I, Ayad ZM, AL-Rekabi FMK 2020. Toxopathological and Cytogenetic Effects of Commercial Sweetener Aspartame After Chronic Oral Administration in Rat Pups. *Indian J Med Forensic Med Toxicol* 14 (3): 1147-1153.
- Álvarez-Barrera L, Rodríguez-Mercado JJ, López-Chaparro M, Altamirano-Lozano MA 2017. Genotoxicity of Casiopeina III-Ea in Mouse Bone Marrow Cells. *Drug Chem Toxicol* 40 (3): 333-338.
- Amin L, Azad MAK, Samian, AL 2013. Factor Influencing Risk Perception of Food Additives. *J Food Agric Environ* 11 (2): 66-72.
- Anonymous, 2021. Xylitol Safety Data Sheet, Sigma-Aldrich
<https://www.sigmaaldrich.com/TR/en/sds/sigma/x3375> (02.11.2021).
- Avuloglu-Yilmaz E, Yuzbasioglu D, Unal F 2020. *In Vitro* Genotoxicity Assessment of Monopotassium Glutamate and Magnesium Diglutamate. *Toxicol in Vitro* 65: 104780.
- Azab M, Khabour OF, Alzoubi KH, Hawamdeh H, Quttina M, Nassar L 2017. Assessment of Genotoxicity of Pyrethrin in Cultured Human Lymphocytes. *Drug Chem Toxicol* 40 (3): 251-255.
- Azqueta A, Collins AR 2013. The Essential Comet Assay: A Comprehensive Guide to Measuring DNA Damage and Repair. *Archv Toxicol* 87 (6):949-968.
- Bandyopadhyay A, Ghoshal S, Mukherjee A 2008. Genotoxicity Testing of Low-Calorie Sweeteners: Aspartame, Acesulfame-K, and Saccharin. *Drug Chem Toxicol* 31 (4):447-457.
- Bastaki M, Farrell T, Bhusari S, Pant K, Kulkarni R 2017. Lack of Genotoxicity *in Vivo* for Food Color Additive Tartrazine. *Food Chem Toxicol* 105:278-284.
- Bellani L, Muccifora S, Barbieri F, Tassi E, Castiglione MR, Giorgetti L 2020. Genotoxicity of the Food Additive E171, Titanium Dioxide, in the Plants *Lens culinaris* L. and *Allium cepa* L. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 849:503142.
- Bowles CA 1970. Mutagenic study in rats SC-18862. Final Report. Hazelton Laboratories, Inc., Falls Church, VA. Report: 700.
- Cadirci K, Tozlu OO, Turkez H, Mardinoglu A 2020. The *in vitro* Cytotoxic, Genotoxic, and Oxidative Damage Potentials of the Oral Artificial Sweetener Aspartame on Cultured Human Blood Cells. *Turk J Med Sci* 50 (2):448-454.
- Canimoglu S, Rencuzogullari E 2006. The Cytogenetic Effects of Food Sweetener Maltitol in Human Peripheral Lymphocytes. *Drug Chem Toxicol* 29 (3):269-278.

- Canimoglu S, Rencuzogullari E 2013. The Genotoxic and Teratogenic Effects of Maltitol in Rats. *Toxicol Ind Health* 29 (10):935-943.
- Cardoso FS, Araujo-Lima CF, Aiub CA, Felzenszwalb I 2016. Exposure to Sorbitol During Lactation Causes Metabolic Alterations and Genotoxic Effects in Rat Offspring. *Toxicol Lett* 260:36-45.
- Cavalcanti BC, Sá LGDAV, de Andrade Neto JB, de Sousa Silva AA, Rios MEF, Barreto FS, de Oliveira Ferreira JR, Silva CR, Barroso FD, Magalhães HIF, Nobre Jr HV, Moraes MO 2020. Etomidate is Devoid of Genotoxicity and Mutagenicity in Human Lymphocytes and in the *Salmonella typhimurium*/Microsomal Activation Test. *Toxicol in Vitro* 104946.
- Chung YS, Lee M 2013. Genotoxicity Assessment of Erythritol by Using Short-Term Assay. *Toxicol Res* 29 (4):249-255.
- Comert M, Gudek M 2017. Fifth Taste: Umami. *Jotags* 5 (3):397-408.
- Durnev AD, Oreshchenko AV, Kulakova AV, Beresten NF, Seredenin SB 1995. Study into the Clastogenic Activity of Dietary Sugar Substitutes. *Vopr Med Khim* 41: 31-33.
- Erikel E, Yuzbasioglu D, Unal F 2019. *In vitro* Genotoxic and Antigenotoxic Effects of Cynarin. *J Ethnopharmacol* 237: 171-181.
- Evans HJ 1984. Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. In: Kilbey BJ, Legator M, Nichols W, Ramel C (eds) *Handbook of mutagenicity test procedures*, 2nd ed. Amsterdam, Elsevier Sciences, pp 405-424.
- Fenech M 2007. Cytokinesis-block Micronucleus Cytome Assay. *Nat Protoc* 2 (5):1084-1104.
- Fenech M 2006. Cytokinesis-block Micronucleus Assay Evolves into a "Cytome" Assay of Chromosomal Instability, Mitotic Dysfunction and Cell Death. *Mutat Res Fund Mol M* 600 (1): 58-66.
- Findikli Z, Turkoglu S 2014. Determination of the Effects of Some Artificial Sweeteners on Human Peripheral Lymphocytes Using the Comet Assay. *J Toxicol Environ Health Sci* 6 (8):147-153.
- Gooderham NJ, Cohen SM, Eisenbrand G, Fukushima S, Guengerich FP, Hecht SS, Rietjens IMCM, Rosol TJ, Bastaki M, Linman MJ, Taylor SV 2020. The Safety Evaluation of Food Flavoring Substances: The Role of Genotoxicity Studies. *Crit Rev Toxicol* 50 (1): 1-27.
- Gultekin F, Oner ME, Savas HB, Dogan B 2017. Sweeteners, Glucose Intolerance and Microbiota. *J Biotechnol and Strategic Health Res* 1:34-38.
- Gundogan K, Donmez-Altuntas H, Hamurcu Z, Akbudak IH, Sungur M, Bitgen N, Baskol G, Bayram F 2018. Evaluation of Chromosomal DNA Damage, Cytotoxicity, Cytostasis, Oxidative DNA Damage and Their Relationship With Endocrine Hormones in Patients with Acute Organophosphate Poisoning. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 825: 1-7.
- Hassan AF, Jasem NH 2020. Evaluation the Incidence of Genotoxic Effects of Artificial Food Favoring Additives in Bone Marrow Cells and Spleen Cells in Mice. *Iraqi J Pharm Sci* 29 (1): 55-61.
- Hemachandra CK, Pathiratne A 2016. Combination of Physico-Chemical Analysis, *Allium Cepa* Test System and *Oreochromis niloticus* Erythrocyte Based Comet Assay/Nuclear Abnormalities Tests For Cyto-Genotoxicity Assessments of Treated Effluents Discharged From Textile Industries. *Ecotoxicol Environ Saf* 131:54-65.
- JECFA 1978. (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) Summary of toxicological data of certain food additives and contaminants. WHO food additives series; no. 13.
- Kadim F 2017. News Framing and Content Analysis of "Food Additive" Issue in Turkish Media. *Jaer* 3 (2): 29-38.
- Kadlcikova D, Musilová P, Hradská H, Petrovova M, Selingerova I, Vozdova M, Svoboda M, Rubes J 2020. Different Chromosome Damage in Lymphocytes of Newly Diagnosed Gastrointestinal and Breast Cancer Patients. *Neoplasma* 67:(3) 668-676.
- Kamath S, Vijaynarayana K, Shetty DP, Shetty P 2010. Evaluation of Genotoxic Potential of Aspartame. *Pharmacologyonline* 1: 753-769.
- Khan IS, Ali MN, Hamid R, Ganie SA 2020. Genotoxic Effect of Two Commonly Used Food Dyes Metanil Yellow and Carmoisine Using *Allium cepa* L. as Indicator. *Toxicol Rep* 7:370-375.
- Kirkland D, Gatehouse D 2015. Aspartame: A review of Genotoxicity Data. *Food and Chem Toxicol* 84:161-168.
- Kızılaslan N 2017. The Relationship Between Sweeteners and Metabolic Diseases. *Turjaf* 5 (2):191-198.
- Lal AS, Begum SK, Bharadwaj SS, Lalitha V, Vijayalakshmi J, Solomon F.D.P, Ravi M 2019. Bleomycin-induced Genotoxicity *in Vitro* in Human Peripheral Blood Lymphocytes Evidenced As Complex Chromosome-And Chromatid-Type Aberrations. *Toxicol in Vitro* 54: 367-374.
- Lemos BS, Maria-Luz Fernandez ML, Santos MESM 2018. Effects of Consuming Sweeteners on Metabolic Disorders. *J Nut Food Res Technol* 1:34-38.
- Lin AJ, Zhang XH, Chen MM, Qing CAO 2007. Oxidative Stress and DNA Damages Induced by Cadmium Accumulation. *J Environ Sci* 19 (5): 596-602.
- Mäkinen KK 2016. Gastrointestinal Disturbances Associated with the Consumption of Sugar Alcohols with Special Consideration of Xylitol:

- Scientific Review and Instructions for Dentists and Other Health-Care Professionals. *Int J Dent* 1-16.
- Mourelatos D 1996. Chromosome Study as Predictor of Chemoresponse of Tumors. *Cancer J* 9:136-141.
- Mourelatos D 2016. Sister Chromatid Exchange Assay As A Predictor of Tumor Chemoresponse. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 803:1-12.
- Negrini S, Gorgoulis VG, Halazonetis TD 2010. Genomic Instability-An Evolving Hallmark of Cancer. *Nat Rev Mol* 11 (3):220-228.
- OECD 2016a. Test No. 473: *In Vitro* Mammalian Chromosomal Aberration Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris.
- OECD 2016b. Test No. 487: *In Vitro* Mammalian Cell Micronucleus Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris.
- Otabe A, Ohta F, Takumi A, Lynch B 2019. Mutagenicity and Genotoxicity Studies of Aspartame. *Regul Toxicol Pharmacol* 103: 345-351.
- Perry P, Wolff S 1974. New Giemsa Method for The Differential Staining of Sister Chromatids. *Nature* 51:156-158.
- Rencuzogullari E, Tuylu BA, Topaktas M, Ila HB, Kayraldiz A, Arslan M, Budak Diler S 2004. Genotoxicity of Aspartame. *Drug Chem Toxicol* 27 (3): 257-268.
- Ruiz-Ruiz B, Arellano-García ME, Radilla-Chávez P, Salas-Vargas DS, Toledano-Magaña Y, Casillas-Figueroa F, Vazquez-Gomez RL, Pestryakov A, García-Ramos JC, Bogdanchikova N 2020. Cytokinesis-block Micronucleus Assay Using Human Lymphocytes as A Sensitive Tool for Cytotoxicity/Genotoxicity Evaluation of AgNPs. *ACS Omega* 5: 12005-12015.
- Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K, Tsuda S 2002. The Comet Assay with 8 Mouse Organs: Results with 39 Currently Used Food Additives. *Mutat Res* 519: 103-119.
- Schneider EL, Lewis, J 1981. Aging and Sister Chromatid Exchange. VIII. Effect of the Aging Environment on Sister Chromatid Exchange Induction and Cell Cycle Kinetics in Ehrlich Ascites Tumor Cells. A brief note. *Mech Ageing Dev*, 17(4):327-330.
- Shim SM, Seo SH, Lee Y, Moon GI, Kim MS, Park JH 2011. Consumers' Knowledge and Safety Perceptions of Food Additives. Evaluation on the Effectiveness of Transmitting Information on Preservatives. *Food Control* 22(7):1054-1060.
- Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL 1988. A Simple Technique for Quantitation of Low Levels of DNA Damage in Individual Cells. *Exp Cell Res* 175 (1): 184-191.
- Souto EB, Campos JR, Da Ana R, Martins-Gomes C, Silva AM, Souto SB, Lucarini M, Durazzo A, Santini A 2020. Ocular Cell Lines and Genotoxicity Assessment. *Int J Environ Res Public Health* 17 (6): 2046.
- Speit G, Haupter S 1985. On the Mechanism of Differential Giemsa Staining of Bromodeoxyuridine-Substituted Chromosomes. *Hum Genet* 70 (2): 126-129.
- Trompowsky V, Manoel AC, Conde TR, Lemos RC, Quaresma BMCS, Pitombeira MCSR, de Carvalho, AS, Boecha N, Salomão K, de Castro SL, da Silva Zamith HP 2019. *In Vitro* Genotoxicity of Nitroimidazoles As A Tool in The Search of New Trypanocidal Agents. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 114: 1-10.
- Vodicka P, Vodenkova S, Opattova A, Vodickova L 2019. DNA Damage and Repair Measured by Comet Assay in Cancer Patients. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 843: 95-110.
- Wölnerhanssen BK, Meyer-Gerspach AC, Beglinger C, Islam MS 2020. Metabolic Effects of the Natural Sweeteners Xylitol and Erythritol: A Comprehensive Review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 60 (12): 1986-1998.
- Yadav B, Vishwakarma V, Kumar S, Aggarwal NK, Gupta R, Yadav A 2019. Antigenotoxic Effects of Morin Against Lead Induced Genomic Damage in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes. *J Food Biochem* 43: 1-7.
- Yin KJ, Xie DY, Zhao L, Fan G, Ren J, Zhang L, Pan S 2020. Effects of Different Sweeteners on Behavior and Neurotransmitters Release in Mice. *J Food Sci Technol* 57 (1): 113-121.
- Yuzbasioglu D, Celik M, Yilmaz S, Unal F, Aksoy H 2006. Clastogenicity of the Fungicide Afugan in Cultured Human Lymphocytes. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 604 (1): 53-59.
- Yuzbasioglu D, Zengin N, Unal F 2014. Food Preservatives and Genotoxicity Tests. *J Food* 39 (3): 179-186.
- Zhang Q, Yang H, Li Y, Liu H, Jia X 2017. Toxicological Evaluation of Ethanolic Extract from *Stevia rebaudiana* Bertoni Leaves: Genotoxicity and Subchronic Oral Toxicity. *Regul Toxicol Pharmacol* 86: 253-259.

Amik Ovası Havuç Ekim Alanlarında Sorun Olan Fungal ve Bakteriyel Hastalık Etmenlerin Belirlenmesi

Soner SOYLU¹, Merve KARA², Aysun UYSAL³, Şener KURT⁴, Emine Mine SOYLU⁵, İlhan ÜREMİŞ⁶

Erdal SERTKAYA⁷, İmam Adem BOZKURT⁸, Murat ÖZTÜRK⁹

^{1,2,4,5,6,7,8}Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 31034 Antakya-HATAY, ³Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi, 31034 Antakya-HATAY, ⁹Yozgat Bozok Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 66900 YOZGAT,

¹<https://orcid.org/0000-0003-1002-8958>, ²<https://orcid.org/0000-0001-7320-3376>, ³<https://orcid.org/0000-0002-9067-285X>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-4545-5968>, ⁵<https://orcid.org/0000-0001-5961-0848>, ⁶<https://orcid.org/0000-0001-5937-9244>

⁷<https://orcid.org/0000-0001-9956-943X>, ⁸<https://orcid.org/0000-0002-4826-0317>, ⁹<https://orcid.org/0000-0002-9677-3651>

✉: soylu@mku.edu.tr

ÖZET

Havuç [*Daucus carota* L.], içermiş olduğu vitamin, amino asitler ve yüksek besin içeriği nedeni ile Dünya genelinde en fazla tüketilen sağlıklı sebzelerden biridir. Bu çalışmada 2018-2019 yetiştirme sezonunda Hatay ilinde havuç yetiştiriciliğinin yapıldığı Amik Ovası'nda yer alan tarlalarda karşılaşılan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Hastalık surveyleri bitkinin 3 farklı fenolojik döneminde gerçekleştirilmiştir. Hastalık belirtisi gösteren şüpheli bitkilerin yaprak, gövde ve meyvelerinden yapılan izolasyonlarda farklı türlere ait fungal ve bakteriyel izolatlar elde edilmiştir. Havuç meyvelerinde enine kahverengi kuru çöküntü şeklindeki hastalık belirtilerinin yanısıra yaprak ve gövdelerde görülen kahverengi-siyah lekelerden *Alternaria dauci*, *A. alternata*, *Rhizoctonia solani*, *R. carotae*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Geotrichum candidum*, *Pythium* spp., *Fusarium brachygibbosum*, *F. equiseti*, *F. proliferatum* ve *F. solani* türlerine ait fungal izolatları elde edilmiş olup yapılan morfolojik özelliklerinin yanısıra, moleküler ve MALDI-TOF protein profil analizleri sonucu tanımlanmışlardır. Bölgede *Erysiphe heraclei* tarafından neden olunan külleme hastalığı da belirlenmiştir. Yumuşak çürüklük belirtileri gösteren havuç meyvelerinden yapılan izolasyonlardan elde edilen saf izolatların MALDI-TOF analiz sonuçlarına göre ise yumuşak çürüklük hastalığı etmenleri *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Pseudomonas corrugata*'nın yanısıra sekonder fırsatçı (opportunistic) yumuşak çürüklük hastalığı etmenleri olan *P. marginalis*, *P. fluorescens*, *P. mediterranea*, *P. veronii*, *Erwinia rhapontici*, *E. persicina*, *Enterobacter cloacae*, *Lelliottia amnigena*, *Rahnella aquatilis* ve *Pantoea agglomerans* gibi bakteriyel hastalık etmenleri belirlenmiştir. Bilindiği kadarı ile tespit edilen fungal etmenlerden *F. brachygibbosum* ile tanımlanan bakteriyel hastalık etmenlerin tamamı ülkemizde havuçta hastalığa neden olduğu ilk kez bu çalışma ile tespit edilmiştir.

Fitopatoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 28.10.2021

Kabul Tarihi : 13.12.2021

Anahtar Kelimeler

Havuç
Fungal Hastalıklar
Bakteriyel Hastalıklar
Hatay

Determination of Fungal and Bacterial Diseases Agents Encountered in Carrot Growing Fields in Amik Plain of Turkey

ABSTRACT

Carrot [*Daucus carota* L.] is one of the most consumed healthy vegetables worldwide due to its vitamins, amino acids and high nutritional content. Fungal and bacterial disease agents, encountered in the fields where carrots are grown in the Amik Plain of Hatay province, were determined during 2018-2019 growing season. Disease surveys were carried out at three different phenological stages of the plant. Different fungal and bacterial

Phytopathology

Research Article

Article History

Received : 28.10.2021

Accepted : 13.12.2021

disease agents were isolated and subsequently identified from diseased leaves, stems and fruits. *In addition to the disease symptoms in the form of transverse brown dry depressions on carrot fruits, from the brown-black spots on the leaves and stems, Alternaria dauci, A. alternata, Rhizoctonia solani, R. carotae, Botrytis cinerea, Sclerotinia sclerotiorum, Geotrichum candidum, Pythium spp., Fusarium bra. equiseti, F. proliferatum and F. solani species were obtained and identified as a result of molecular and MALDI-TOF protein profile analyzes as well as their morphological features.* Powdery mildew caused by *Erysiphe heraclei* was also determined in the surveyed area. By the bacterial isolates obtained from carrot showing soft rot symptoms, major soft rot disease agents, such as *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *Pseudomonas corrugata* and opportunistic soft rot disease agents, such as *P. marginalis, P. fluorescens, P. mediterranea, P. veronii, Erwinia rhapontici, E. persicina, Enterobacter cloacae, Lelliottia amnigena, Rahnella aquatilis, Pantoea agglomerans*, were identified by using MALDI-TOF analyses. To the best of our knowledge, this is the first report in which fungal disease agent *Fusarium brachygibbosum* and all soft rotting bacterial disease agents were determined at species level on carrot roots growing in Turkey.

Keywords

Carrot
Fungal Diseases
Bacterial Diseases
Hatay

Atıf Şekli: Soylu S, Kara M, Uysal A, Kurt Ş, Soylu EM, Üremiş İ, Sertkaya E, Bozkurt İA, Öztürk M 2022. Amik Ovası Havuç Ekim Alanlarında Sorun Olan Fungal ve Bakteriyel Hastalık Etmenlerin Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1326-1340. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogava.vi.1015936>

To Cite : Soylu S, Kara M, Uysal A, Kurt Ş, Soylu EM, Üremiş İ, Sertkaya E, Bozkurt İA, Öztürk M 2022. Determination of Fungal and Bacterial Diseases Agents Encountered in Carrot Growing Fields in Amik Plain of Turkey. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1326-1340. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogava.vi.1015936>

GİRİŞ

Umbelliferae (Apiaceae) familyasında yer alan, kökleri tüketilen, iki yıllık bir serin iklim bitkisi olan havuç (*Daucus carota* L.) bitkisinin ana vatanı Afganistan, İran, Pakistan ve Türkiye olarak bilinir (Rubatzky, 2002; Safadi, 2008). Havuç içerdiği A, B1, B2 vitaminlerinin yanı sıra sahip olduğu yüksek besin içeriğinden dolayı insan sağlığına önemli yararları bulunmaktadır (Yanmaz, 1994; Munro ve Small, 1997). Dünyanın birçok yerinde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan havuçlar genel olarak turuncu renkli olup, mor, siyah, kırmızı, beyaz ve sarı renkte tüketilen yabani çeşitleri de mevcuttur (Rubatzky ve ark., 1999).

Dünya genelinde 2019 yılında toplam 1.128.695 ha alanda yapılan havuç ekim alanlarından toplam 44.762.859 ton havuç üretimi gerçekleştirilmiştir. Dünya genelinde en fazla havuç üreten ülkeler arasında Çin 21.379.073 ton ile ilk sırada yer alırken bunu 2.769.613 ton ile Özbekistan ve 2.259.000 ton ile A.B.D izlemiş olup Türkiye ise 666.270 ton üretim miktarı ile 10. sırada yer almıştır (Anonymous, 2019). Türkiye’de 2020 yılı itibarı ile 11.311 ha alanda toplam 666.270 ton havuç üretilmiştir. Türkiye genelinde en fazla havuç üretimi 50.373 da alanda 337.820 ton üretim ile Konya ilinde gerçekleşmiş olup, bu ili 28.041 da alanda 154.944 ton üretim ile Ankara ve 22.158 da alanda 68.933 ton üretim ile Hatay illeri takip etmiştir (Anonim, 2020). Hatay ilinin önemli üretim alanlarından olan Amik Ovası

özellikle havuç bitkisinin isteği olan iklim şartlarına sahip olmasının yanı sıra, ürünün ihracat, piyasa özelliği ve üreticilerin kış aylarında en önemli geçim kaynağı olması sebebi ile bölgede havuç üretimi gün geçtikçe artmaktadır (Bıyıktay, 2018). Hatay ilinde en yoğun havuç üretimi 19.000 dekar alanda 57.000 ton ile Amik Ovası’nda yer alan Kırıkhan ilçesinde yapılmış olup bu ilçeyi 430 dekar alanda 1.290 ton üretimle Antakya, 82 da alan ve 205 ton üretim miktarları ile Kumlu ilçeleri takip etmiştir (Anonim, 2020).

Dünya genelinde sebze pazarında ve yaş sebze-meyve ihracatında önemli bir yere sahip olan havuç bitkisinin verim ve kalitesi birçok hastalık, zararlı ve yabancı otlar tarafından etkilenmektedir. Havuç bitkisi yetiştirme periyodunda olduğu kadar depolanma koşullarında da birçok bakteriyel, fungal ve viral hastalık etmenleri tarafından tehdit altındadır (Koike ve ark., 2007). Havuç bitkisinin yetiştiriciliğini, verim ve ürün kalitesini etkileyen biyotik faktörlerin başında yaprak ve toprak kökenli fungal ve bakteriyel hastalıklar gelmektedir. Toprak kökenli birçok hastalık etmeni havuç bitkisinin gerek fide döneminde gerekse ileri aşamada yumrularında (kök) ortaya çıkarak ürünün verimi ve kalitesi üzerine önemli etkide bulunur (Bruehl, 1987). Havuç yumrularında siyah çürüklük hastalığı *Alternaria radicina*; kavite lekesi hastalığı *Rhizoctonia solani* ve *Pythium violae*; beyaz çürüklük hastalığı *Sclerotinia sclerotiorum* ve *S. minor*; çökerten, taç çürüklüğü,

kök boğazı çürüklüğü, *Fusarium* kuru çürüklüğü hastalıkları *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Fusarium avenaceum*; Phytophthora kök çürüklüğü hastalığı *Phytophthora megasperma*; Pythium kök çürüklüğü hastalığı *Pythium* spp; mor kök çürüklüğü hastalığı *Helicobasidium brebissonii*; Krater çürüklüğü hastalığı *Rhizoctonia carotae* gibi fungal hastalık etmenleri tarafından neden olduğu bildirilmiştir (Marziano ve ark., 1992; Snowdown, 1991; El-Tarabily ve ark., 1996; Raid, 2006; Koike ve ark., 2007). Havuç bitkisinin yaprak ve yaprak saplarında kahverengi lezyonlar şeklinde hastalık belirtilerine genelde *Alternaria* ve *Cercospora* etmenleri tarafından neden olunurken, genç yapraklarda *Cercospora carotae*, yaşlı yapraklarda ise *Alternaria dauci*'nin hastalık belirtileri oluşturdukları bildirilmiştir (Farrar ve ark., 2004).

Fungal hastalıkların yanı sıra bakteriyel hastalık etmenleri de havuç bitkisinde önemli sorunlara neden olmaktadır. Havuç üretimini ve verimini olumsuz yönde etkileyen önemli bakteriyel hastalık etmenlerin başında yumuşak çürüklük hastalığına neden olan *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* (= *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*), *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (= *E. carotovora* subsp. *carotovora*), *Dickeya dadantii* (= *Dickeya chrysanthemi*) nin yanı sıra, yaprak yanıklığı etmeni *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*, kök ur hastalığı *Agrobacterium tumefaciens*, saçak kök hastalığı etmeni *A. rhizogenes* ve uyuz hastalığı etmeni *Streptomyces scabiei* gelmektedir (Koike ve ark., 2007). Yapılan literatür araştırmasına göre havuçta bakteriyel hastalık etmenlerinin Türkiye genelinde varlığı konusunda yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Türkiye genelinde olduğu gibi, Hatay ilinde de havuç ekim alanı ve üretim miktarında son 10 yıl içerisinde 2 katı artış gözlenmiştir. Dünya çapında yetiştiriciliği yapılan havuç ekim alanlarında hastalık etmenlerinin belirlenmesi üzerine pek çok araştırma mevcut iken, Türkiye'nin önemli havuç üretimi yapılan alanlarında sorun olan fungal ve bakteriyel hastalıklar konusunda oldukça kısıtlı çalışma bulunmaktadır (Kurt ve ark., 2004a,b; Soylu ve ark., 2005; Tülek, 2010; Uysal, 2012; Çabuk, 2014). Hatay ilinde üretimi yapılan havuç alanlarından son günlerde gerek yetiştiriciler gerekse Tarım Bakanlığı yetkilileri tarafından pek çok şikayet gündeme getirilmiştir. Bölgede yaprak ve toprak kökenli hastalık etmenlerinden *Alternaria dauci* ve *Rhizoctonia carotae* hastalık etmeni ilk kayıt bildirimini dışında, kapsamlı bir fungal ve bakteriyel kökenli hastalıklar üzerine yapılmış survey çalışması bulunmamaktadır. Havuç alanlarında önemli verim kayıplarına neden olabilen hastalık etmenlerinin Türkiye havuç alanlarındaki durumlarının yeterli olarak bilinmemesi, Hatay ili havuç ekim

alanlarındaki sorun olan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinin ortaya konulması için kapsamlı bir araştırma yapma gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Bu çalışma ile Hatay ilinin önemli havuç ekim alanlarında sorun olan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinin morfolojik ve moleküler teşhisleri ile survey alanlarındaki yaygınlıkları belirlenmiştir.

MATERYAL ve METOD

Hastalık etmenlerinin belirlenmesine yönelik survey çalışması, örnekleme yöntemleri ve örneklerin alınması

Hastalık survey çalışmaları, 2017 yılı Tarım İl Müdürlüğü verileri göz önüne alınarak Hatay ilinde 20.389 da alanda yetiştiriciliği yapılan havuç alanlarının yaklaşık % 10'unu kapsayacak şekilde en yoğun havuç ekim alanlarının yer aldığı Antakya, Kırıkhan, Kumlu ve Reyhanlı ilçelerinde 15 Ağustos 2018 ve 15 Ekim 2019 ayları arasında seksen farklı tarlada yapılmıştır. Bu amaca yönelik hazırlanan survey programı Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Hatay İl Müdürlüğü'nden alınan veriler doğrultusunda hazırlanmış olup, her ilçe için yapılması gereken örnekleme sayısı toplam ekiliş alanı üzerinden "tartılı ortalama yöntemi" (Bora ve Karaca, 1970) kullanılarak belirlenmiştir. Hastalıklı bitkiler survey yapılan tarlalardaki yaygınlığı tarlayı temsil edecek şekilde zikzak çizmek suretiyle rastgele seçilen bitkiler üzerinde olduğu gibi, hastalık etmenin izolasyonu açısından güdümlü olarak zarar görmüş bitkiler üzerinde yapılmıştır. Hastalık belirtileri gösteren şüpheli bitki toprak üstü aksamaları ve havuç kökleri kâğıt keselere konulup etiketlenmiş, daha sonra hastalık etmeninin belirlenmesi için laboratuvara getirilerek hemen izolasyonları yapılmıştır.

Fungal ve Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Yaygınlıklarının Tespiti

Bu kapsamda bitkilerin tarlalara dikimlerini müteakiben fide döneminde (Ağustos-Eylül), meyve olumu öncesi (Ekim) ve sonrası (Kasım-Nisan) farklı ilçelere surveyler yapılmıştır. Gözlem yapılan tarlalarda tüm tarlayı temsil edecek şekilde zikzaklar ile bitkiler kontrol edilmiştir. Şüpheli örnekler kodlanarak izolasyon ve kesin teşhisi yapılmak üzere laboratuvara getirilmiştir. Sonuçta hastalık yaygınlığı toplam gezilen tarlalar içinde hastalığın görüldüğü tarla sayısına göre, rastlama sıklığı ise her tarla için hastalıklı örnek sayısının o tarlada yapılan 100 bitkiye oranlanarak tespit edilmiştir.

Fungal Türlerin İzolasyonları

Fungal etmenler, tipik hastalık belirtilerinin gözlemlendiği bitkilerden yüzey sterilizasyonu yapılmak suretiyle Patates Dekstroz Agar (PDA; Merck,

Darmstadt, Germany), Czapex Dox Agar (CPA; Merck, Darmstadt, Germany), Karanfil Yaprak Parçacığı Agarı (CLA) gibi genel ve seçici besi ortamları üzerinde izole edilmek suretiyle teşhisleri yapılmıştır (Domsch ve ark., 1980). Hastalıklı bitkilerin yumruları, gövde ve yaprak dokularından hastalık etmenlerini izole etmek için bitki dokuları, çeşme suyu altında yıkanmış, enfeksiyon nedeni ile oluşmuş klorotik veya nekrotik dokuları içeren bitki dokuları (1-5 mm büyüklüğünde) steril bir bistüri ile kesildikten sonra, önce %75'lik etanol' de 1 dakika sonrada %3 lük sodyum hipoklorid içerisinde 5 dak. süreyle yüzey dezenfeksiyonları yapılmıştır. Dezenfekte edilen bu doku parçaları, steril distile suda çalkalanıp steril kurutma kağıtlarında 1-2 saat kurumaya bırakılmış, kuruyan doku parçaları, 50 mg L⁻¹ streptomycin sülfat içeren genel ve seçici besi yerleri içeren petrilere aktarılmıştır. Hastalıklı bitki dokularından alınan ve yüzey sterilizasyonu yapılmış parçalardan alınmış dokular 9 cm'lik petriye 4'er parça aktarıldıktan sonra, 27°C'de 5-7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra her bir izolatanın aktif olarak gelişen kolonilerinden hifsel diskler alınarak, taze PDA içeren petrilere aktarılmış ve 27°C'de 5 gün inkübe edilmiştir. Daha sonra spor oluşturan fungal izolatların tek spor kültürleri elde edilmiştir (Kurt ve ark., 2020). Elde edilen fungal izolatların patojenisiteleri belirti oluşturdıkları bitki kısımlarına göre üç haftalık havuç fidelerinin yapraklarında veya sağlıklı havuç yumruları üzerinde yapılmıştır (Kara ve Soylu, 2020; Soylu ve ark., 2021).

Fungal Hastalık Etmenlerin Morfolojik Karakterizasyonu

İzolasyonlar sonucu elde edilen fungal izolatların genel ve seçici besi yerleri üzerindeki koloni morfolojileri, pigment oluşumları, eşeyli ve eşeysiz formlarının varlığı, konidilerin büyüklük, şekil ve bölme yapıları, konidiofor ve dallanma şekilleri gibi karakteristik özellikler, Sentetik Nutrient Agar (SNA), V8 Juice Agar ve Karanfil Yaprak Agar (CLA) ortamları üzerinde ölçümleri, trinoküler araştırma mikroskobu (NİKON Eclipse Nİ-U Model Floresan DIC Ataçmanlı DS-Ri2) kullanılarak belirlenmiştir. Türlerin belirlenmesi için, türlere spesifik morfo-kültürel özellikleri esas alan teşhis anahtarları kullanılmıştır (Ellis, 1971; Ellis ve Holliday, 1972; Domsch ve ark., 1980; Leslie ve Summerell, 2006).

Fungal Hastalık Etmenlerin Moleküler Karakterizasyonu

Enfekteli farklı havuç organlarından izole edilen ve morfolojik ve kültürel çalışmalarla ön teşhisleri yapılmış etmenlerin morfolojik tanısını doğrulamak için ilave olarak moleküler teşhis çalışmaları yapılmıştır.

Fungal Genomik DNA Ekstraksiyonu. PDA besi

yerinde 5-7 gün boyunca geliştirilen tek spordan üretilmiş fungal kültürlerden, DNA izolasyonu yapılmıştır. Bu amaçla, PDA'da geliştirilen kültürden steril olarak alınan fungus miselleri, 2 ml ependorf tüplerine alındıktan sonra homojenizatör yardımıyla parçalanmış ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda genomik DNA izolasyon kiti (DNeasy Plant Mini Kit, Qiagen Inc., Valencia, CA) protokolü uygulanmak suretiyle DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ekstrakte edilen genomik DNA'ların miktar ve kalitesi, Qubit 3.0 fluorometer cihazı ile belirlenmiştir (Kurt ve ark., 2020).

PCR amplifikasyonu ve sekanslama. Teşhis edilen izolatların ribozomal DNA'nın ITS bölgesi için, evrensel fungal primerler ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCG-3'), ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') kullanılarak amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir (White ve ark., 1990). PCR işlemi, toplam 25 µl' lik hacimde içinde bir termal cyclus (Applied Biosystems, Singapur)'da gerçekleştirilmiş ve her bir karışım, 1 x PCR tamponu, 0,2 µM dNTP, 0,5 µM primer, 1 U taq polimeraz (Invitrogen) ve 2 µl genomik DNA içermiştir. Farklı gen bölgelerine spesifik primerlerle PCR amplifikasyon koşulları, 94°C'de 3 dakika başlangıç denatürasyonunu gerçekleştirmek üzere programlanmış, bunu takiben her çevrim 94°C'de 45 saniye denatürasyon, 55°C'de 30 saniye annealing, 72°C'de 60 saniye için extensiyon ve 10 dakika boyunca 72°C'de son extensiyon olacak şekilde 35 döngüden oluşan program kullanılmıştır.

PCR ürünlerinin kalitesini belirlemek için DNA Kapiler elektroforez (QIAxcel Advanced, Qiagen, Almanya) cihazı kullanılmıştır. Bantların kalitesine göre PCR ürünleri dizilenmiştir. ITS primeri ile yapılan PCR sonuçları, sekans işlemine tabi tutulmuştur. Farklı türlere ait sekanslar BLAST programı kullanarak Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) verileri ile karşılaştırılmak suretiyle moleküler tanılamaları yapılmıştır.

Bakteriyel Hastalık Etmenlerin Karakterizasyonu

Bakteriyel hastalık etmenlerine ait izolatların izolasyonları doğrudan King B Agar (Merck, Darmstadt, Germany) seçici besi ortamları üzerine yapıldıktan sonra 25°C'de 24-48 saat inkübatörlerde bekletilmiştir. Petrilere gelişen farklı morfolojik yapılar sahip bakteri izolatları tek koloniden saflaştırılmaya gidilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987). Elde edilen tek koloniden gelişen izolatlar önce tütünde aşırı duyarlık testine tabi tutulmuş, daha sonra izolatların tümü gerek konukçusu olan havuç dilimi, gerekse patates dilimleri üzerinde yumruda çürüklük testlerine tabi tutulmuştur. Buradan tipik yumuşak çürüklük ve/veya benzer simptomlara neden olan izolatların ön seçimleri için biyokimyasal (koloni rengi, koloni formu, hücre morfolojisi, gram reaksiyonu, oksidaz ve katalaz üretimi, levan

oluşumu) testler yapılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987). Biyokimyasal testlerde benzerlik gösteren izolatlardan gerekli ön seçimler yapıldıktan sonra kalan tüm izolatların kesin tür teşhisleri için MALDI-TOF cihazının (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) kullanıldığı yöntem ile belirlenmiştir (Aktan ve Soylu, 2020).

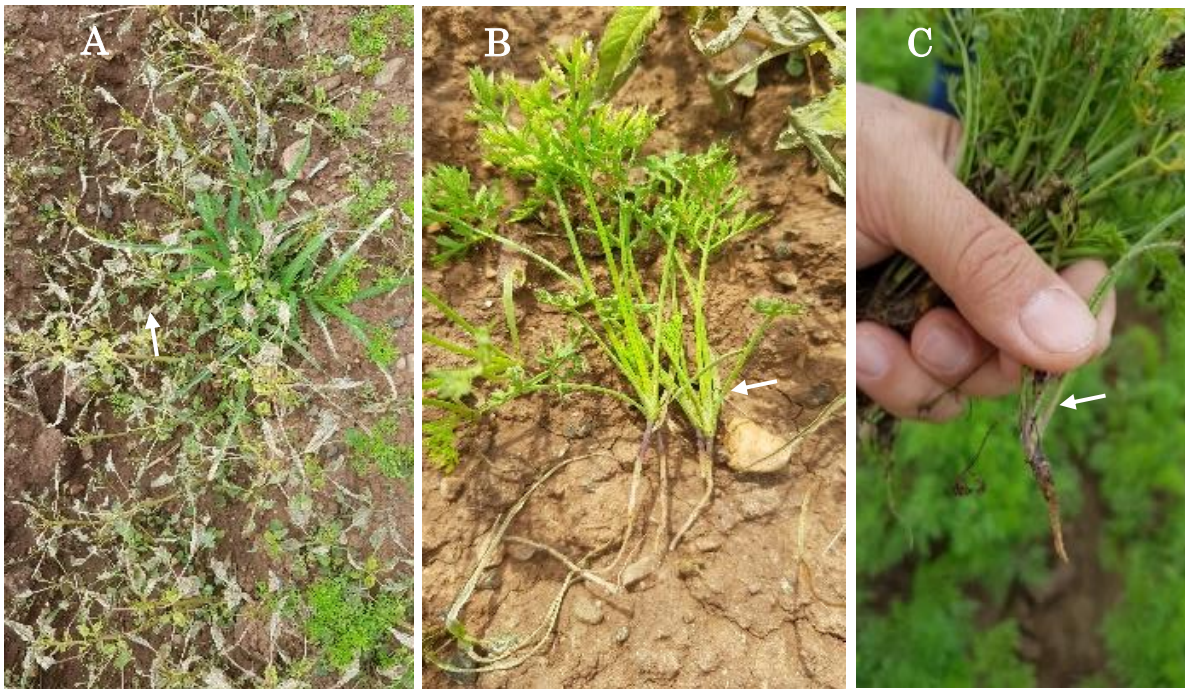
MALDI-TOF ile tanılaması yapılmış ve Türkiyede varlığı henüz bildirilmemiş izolatların moleküler tanılamaları bakterilerin 16S rDNA gen bölgesine spesifik 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') ve 27F (5'-AGAGTTTGATCTGGCTCAG-3') universal primer çiftinin kullanılmasıyla belirlenmiştir (Lane, 1991). Taze bakteri kültürlerinden alınan bakteri hücrelerinden genomik DNA ticari izolasyon kiti (QIAGEN DNeasy) ve üretici firması tarafından tavsiye edilen protokol kullanılarak elde edilmiştir. Yaklaşık 50 ng kalıp DNA 1 x PCR tamponu, 0,2 µM dNTP, 0,4 µM primer, 2,5 U taq polimeraz (Invitrogen) 50 µl tüplerde reaksiyona sokulmuştur. PCR amplifikasyon koşulları, 94°C'de 2 dakika başlangıç denatürasyonunu gerçekleştirmek üzere programlanmış, bunu takiben her çevrim 94°C'de 1 dakika denatürasyon, 55°C'de 90 saniye annealing, 72°C'de 60 saniye için extensiyon ve 3 dakika boyunca 72°C'de son extensiyon olacak şekilde 35 döngüden oluşan program kullanılmıştır. Farklı türlere ait sekanslar BLAST programı kullanarak Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) verileri ile karşılaştırılmak suretiyle moleküler tanılamaları yapılmıştır.

Her bir bitki veya yumru grubundan izole edilen bakteri kolonisi ayrı izolat olarak kabul edilmiş çalışmalarda kullanılmak üzere %40'lık gliserol solüsyonu içerisinde -80°C'de saklanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Havuç Ekim Alanlarında Fungal ve Bakteriyel Hastalık Etmenleri ve Yaygınlıkları

Hatay ilinin en önemli havuç ekim alanlarından olan Antakya, Kırıkhan, Kumlu ve Reyhanlı ilçelerinde yer alan havuç alanlarına 1. sürvey tohumdan ilk çıkışların olduğu 13.09.2018 tarihinde, 2. sürvey fidelerin büyüdüğü havuç yumrularının bağladığı 08.11.2018 tarihinde, 3. sürvey ise hasat öncesi dönem olan 20.11.2018 tarihinde yapılmıştır. 2019 yılında aynı bölgelerde geç ekim yapılan alanlarda 4. sürvey 12.02.2019, 5. sürvey 06.03.2019, 6. sürvey ise 03.04.2019 tarihlerinde yapılmıştır. Hastalık etmenlerin belirlenmesine yönelik amacıyla 2018 yılında yapılan 3 sürvey çalışmasında Antakya ilçesinde 4, Kırıkhan ilçesinde 18, Kumlu ilçesinde 8, Reyhanlı ilçesinde 9 olmak üzere toplam 39 tarlada; 2019 yılında aynı bölgelerde yapılan 3 farklı sürveyde, Antakya ilçesinde 8, Kırıkhan ilçesinde 24, Kumlu ilçesinde 15, Reyhanlı ilçesinde 12 olmak üzere toplam 59 tarlada gözlemler yapılmıştır. Bölgede 2018-2019 yılında yapılan toplam 6 sürvey sonucunda toplam 98 tarla "tartılı ortalama yöntemine" göre hastalık etmenlerin tarlalardaki yaygınlığı belirlenmiştir.



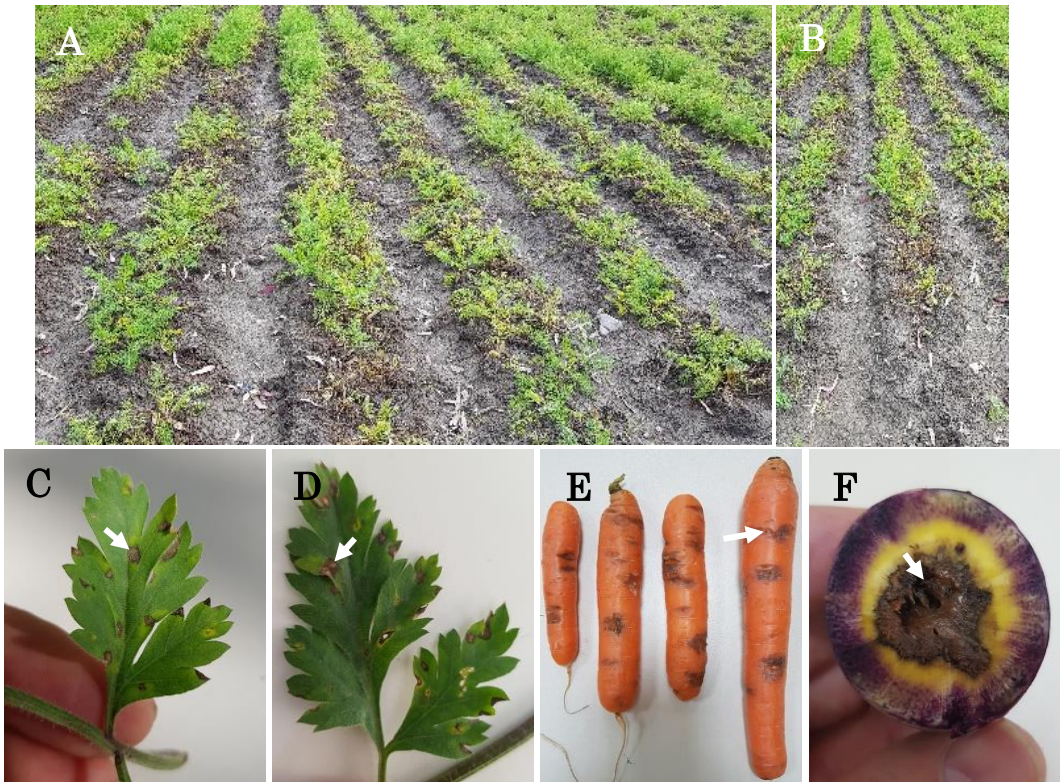
Şekil 1. Hatay ili havuç ekim alanlarında erken dönemde düşük sıklıkta karşılaşılan külleme (A) ve kök çürüklük (B ve C) hastalık belirtileri (ok).

Figure 1. Disease symptoms (arrows) caused by powdery mildew (A) and root rot (B and C) with low disease incidence at early stage of carrot plants growing in fields in Hatay province

Yapılan 1. sürveyde (13.09.2018) tarlalarda yeni çıkışların olduğu, tohumlardan çıkış yapan küçük havuç bitkilerinde genelde hastalık etmenlerinin görülmediği belirlenmiştir. Yapılan 2. sürveyde (08.11.2018) tarlalarda çıkış yapan havuç bitkilerinin 5-10 cm boyunda havuç meyvesini oluşturduğu, bazı tarlalarda *Erysiphe heraclei* etmeni tarafından neden olunan külleme hastalığı belirtilerine rastlanılmış olup (Şekil 1A), hastalığın sürvey yapılan alanlar içindeki yaygınlığının %7, rastlama sıklığının ise %10-45 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu bitkilerden bazılarının köklerinde yapılan incelemelerde *Rhizoctonia* kök çürüklük hastalık belirtisine rastlanılmıştır (Şekil 1B,C).

Dikim zamanı geç yapılan havuçların yetiştirildiği alanlara yapılan 3. ve 4. sürveyler 20.11.2018-12.02.2019 tarihlerinde yapılmıştır (Şekil 2A,B). Gözlem sırasında havuç bitkilerinin hasat

olgunluğunda (15-20 cm boyunda) yumrular oluşturduğu, bazı tarlalarda 2. sürvey çalışmalarında olduğu gibi *Alternaria* spp. tarafından neden olunan yapraklarda ıslaklık belirtisinin yanısıra sarı hale ile çevrili nekrotik lekelerin olduğu (Şekil 2C,D) hastalığın sürvey yapılan havuç tarlalarında yaygınlığının %26, rastlama sıklığının ise %19-55 arasında değiştiği belirlenmiştir. Sürvey yapılan birçok tarlada taban suyu kaynaklı hasat edilmiş meyvelerde kısmi çürümeler, yine sağlam olarak çıkan meyvelerde ise enine kahverengi çöküntü, yumuşamalar (Şekil 2E,F), bazı meyve üzerinde beyaz, gri fungal sporulasyonlar şeklinde belirtiyeye sahip meyve örnekleri gözlenmiştir. Hasat yapılan bölgedeki uzun süreli yoğun yağışlardan dolayı hasadı yapılmış olan meyvelerde yoğun miktarda (%55-65 yaygınlık, %35-80 rastlama sıklığı) enine kahverengi lekelenmelerin olduğu gözlenmiştir.



Şekil 2. Yoğun yağış ve taban suyu yüksek hasata gelmiş havuç ekim alanlarında yumru oluşturma dönemlerinde yapılan sürveylerde (A ve B), *Alternaria* yaprak yanıklık hastalık etmenleri tarafınca (C ve D) yapraklarda ıslaklık belirtisinin yanısıra sarı hale ile çevrili nekrotik lekeler (ok), (E ve F) havuç köklerinde kısmi çürümeler, enine kahverengi çöküntü (ok), ve iç dokuda yumuşak çürüklük (ok) belirtileri.

Figure 2. In the surveys (A and B) carried out during tuber formation periods in carrot cultivation areas with heavy rainfall and high groundwater, *Alternaria* leaf blight disease agents (C and D) show wetness on the leaves as well as necrotic spots (arrow) surrounded by a yellow halo, (E and F) partial rots on carrot roots, transverse brown depression (arrow), and signs of soft rot (arrow) on internal tissue.

Bölgede yapılan 5. (06.03.2019) ve 6. sürveylerde (03.04.2019) söküm işlemlerin hava koşullarının uygun olması nedeniyle bölgede yoğun sökümlerin olduğu, birçok tarlada bölgedeki yoğun yağıştan dolayı oluşan taban suyu kaynaklı meyvelerde

çürümeler, yine sağlam olarak çıkan meyvelerde ise enine kahverengi çöküntü, yumuşamalar, bazı meyve üzerinde beyaz, gri fungal sporulasyonlar şeklinde belirtiyeye sahip örnekler toplanmıştır. Bölgede ayrıca bazı tarlalarda külleme hastalığı belirtileri kayıt edilmiştir. Bölgede önemli düzeyde alım/paketleme

yapılan tesislere yapılan ziyaretlerde, üreticiden gelen toplam ürünün %60-70 gibi oldukça yüksek oranda meyve lekelenmelerinden dolayı pazar değeri olmayan ürünlerin geldiği, bu ürünlerin yıkama

yapıldıktan sonra genelde farklı şehirlere hayvan yemi olarak veya meyve suyu fabrikalarına işlenmek üzere gönderildiği belirlenmiştir (Şekil 3A,B).



Şekil 3. (A) Bölgede yıkama ve paketlenme evlerinde tarladan gelen ürünlerin işlenmesi. (B) Yoğun yağış ve taban suyu yüksek tarlalardan hasat edilen, pazar değeri olmayan lekeli ürünlerin hayvan yemliği olarak ayrılması. (C ve D) Hayvan yemi veya meyve suyu işletmelerine yollanan pazar değeri olmayan lekeli ürünlerin (ok) genel görünümü.

Figure 3. Processing of products from the field in washing and packaging houses in the region. (B) Separation of damaged carrots with no market value, harvested from fields with heavy rainfall and high groundwater, as animal fodder. (C and D) General appearance of damaged carrots (arrow) with no market value sent to animal feed or juice factory.

Bölgede yapılan surveyler sonucunda toplanan şüpheli meyvelerden (Şekil 4) yapılan izolasyonlarda pek çok fungal hastalık etmeni izolatlar elde edilmiştir. Özellikle havuç meyvelerinde enine kahverengi kuru çöküntü şeklindeki hastalık belirtilerinin yanısıra yaprak ve gövdelerde görülen etrafı sarı hale ile çevrili olan veya olmayan kahverengi-siyah lekelerden (Şekil 4) *Fusarium* spp, *Alternaria* spp, *Rhizoctonia* spp., *B. cinerea*, *S. sclerotiorum*, *G. candidum*, *Pythium* spp. ait farklı koloni görünüşlü fungal izolatlar elde edilmiştir (Şekil 5). Elde edilen izolatların tek spor kültürlerinin patojenisite testleri bölgede en fazla ekimi yapılan ve hastalığın gözlemlendiği tarlardan sökülen sağlıklı

Maestro F1 çeşidi havuç meyvesi üzerinde yapılmıştır. Yapılan patojenisite testinde orijinal hastalık belirtilerinin gözlemlendiği meyvelerden tekrar izolasyonlar yapılarak hastalık etmenleri teyit edilmiştir.

Morfolojik özelliklerine göre ayrımı yeterli olmayan *Fusarium* ve *Alternaria* türlerinin morfolojik teşhis sonuçları ITS1-4 primerler kullanılarak moleküler olarak teyit edilmiştir. Moleküler analizler sonucunda morfolojik olarak teşhisleri yapılmış olan *F. brachygibbosum* CF1 (OK614923), *F. solani* CF9 (OK614924), *A. alternata* CA5 (OK614925), *F. proliferatum* CF13 (OK614926), *F. equiseti* CF15 (OK914927), *R. solani* CR2 (OK614928), *F. equiseti*

CF4 (OK614929), *G. candidum* CG5 (OK605021) izolatların sekans bilgileri Gen Bankasına kayıt edilmiş ve erişim numaraları alınmıştır (Çizelge 1). Moleküler tanılama sonuçlarına göre, *F. brachygibbosum* (MK752430 ile %100 benzerlik oranında), *F. equiseti* (MT967223, KU041633 ile %100 benzerlik oranında), *F. proliferatum* (MT966018 ile %100 benzerlik oranında) ve *F. solani*'nin (MN535847 ile %100 benzerlik oranında) havuç kök ve yumrularındaki belirtilerden sorumlu *Fusarium* türleri olarak belirlenmiştir. Yine *Alternaria* spp. olarak bölgede varlığı önceden

bildirilmiş olan *A. daucini*'nin yanısıra *A. alternata* CA5 izolatu da OK082076 ile %100 benzerlik oranı ile yapraklarda leke belirtilerine neden olan bir diğer *Alternaria* cinsi hastalık etmeni olarak teşhis edilmiştir (Çizelge 1). Bölgede varlığı önceden bildirilmiş olan ve *R. solani* CR2 izolatu Gen Bankasında mevcut KF372652 ile %100 benzerlik oranı ile *G. candidum* CG5 izolatu ise Gen Bankasında mevcut MT071788 ile %100 benzerlik oranı ile tespit edilen toprak kökenli fungal hastalık etmeni türü olarak teşhis edilmiştir (Çizelge 1).

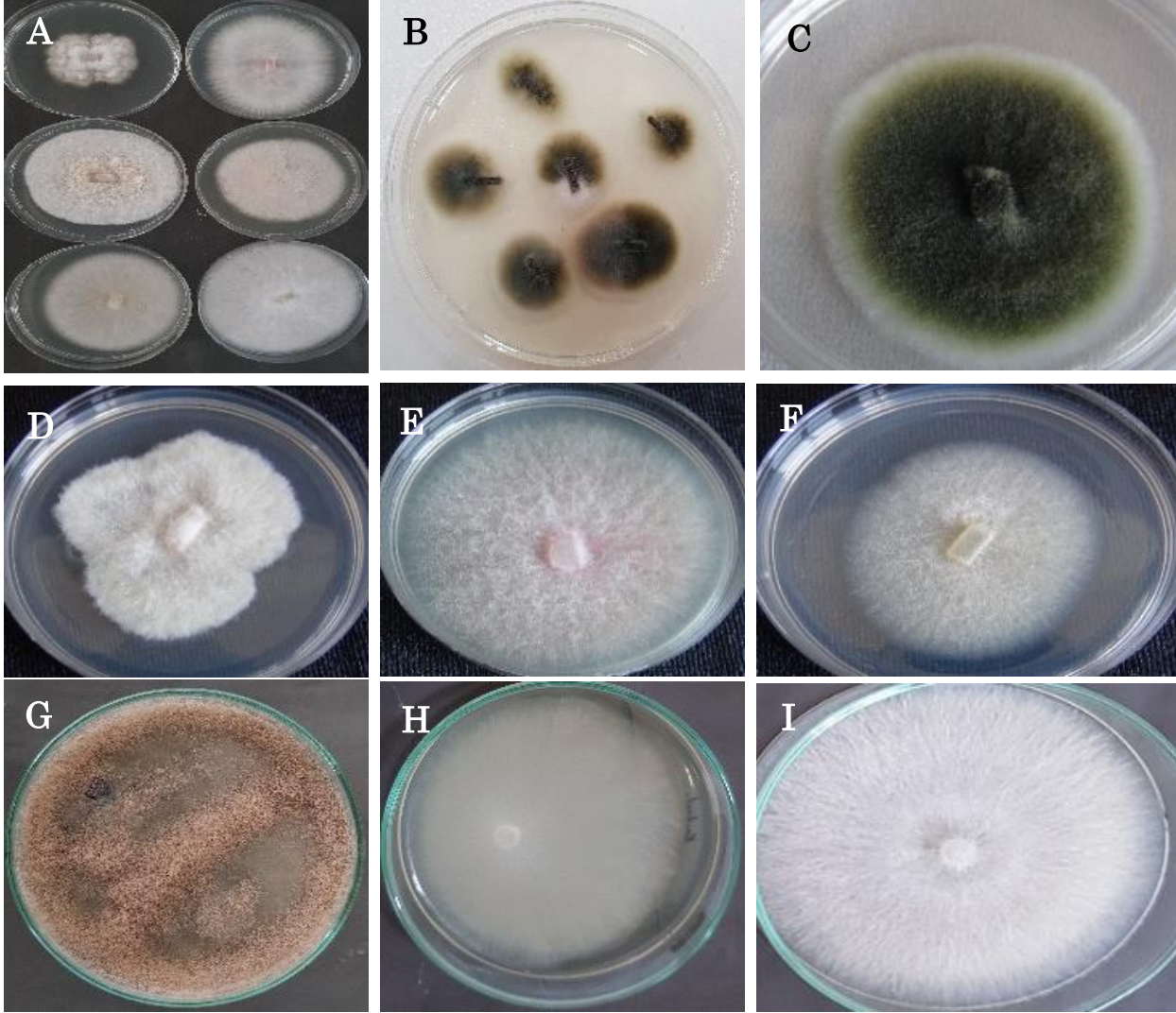


Şekil 4. Bölgede farklı sürveylerde tarlalardan toplanan havuç meyvelerinde tipik fungal hastalık belirtileri. (A) Meyve üst uç kısımlarında kararma ve üzerinde fungal sporulasyon (ok). (B ve C) Genelde yaygın olan enine kahverengi çürüklük, çöküntü ve kısmi sporulasyon (ok). (D) Meyve boyunca çatlama ve çatlak kısmın çöküntü ve çürümesi sonucu sporulasyon (ok). (E) Meyve boyunca görülen ıslak, kuru yüzey çöküntü ve lekelenmeleri (ok). (F) Meyve iç kısmında görülen kuru veya ıslak çürüklük belirtileri.

Figure 4. Typical fungal disease symptoms in carrot fruits collected from the fields in different surveys in the region. (A) Blackening of the upper ends of the fruit and fungal sporulation on it (arrow). (B and C) Generally common transverse brown rot, depression and partial sporulation (arrow). (D) Sporulation (arrow) as a result of cracking along the fruit and collapse and decay of the cracked part. (E) Wet, dry surface depression and spotting throughout the fruit (arrow). (F) Signs of dry or wet rot on the fruit interior.

Sürvey alanlarında bir diğer tespit edilen yaprak kökenli fungal hastalık, *Erysiphe heraclei* tarafından neden olunan külleme hastalığıdır. Hastalık belirtileri daha çok yaşlı yaprakların üst kısmında, kısa konidifor üzerinde zincir şeklinde konidilerin oluşturduğu beyaz kül tabakası şeklindedir. Hastalık

bölgede Ekim 2018 (2. sürvey) ile Mart-Nisan 2019 tarihlerinde (5. ve 6. Sürvey) yapılan sürveylerde özellikle bitkinin orta ve alt kısımlarındaki yaşlı yapraklarında (ortalama %15-18 yaygınlık, %21-35 rastlama sıklığı) gözlenmiştir.



Şekil 5. (A) Bölgede farklı sürveylerde tarlalardan toplanan havuç bitkileri üzerinde tipik fungal hastalık belirtilerinden izole edilmiş farklı türlere ait fungal koloniler. (B ve C) Yaprak ve gövdelerdeki leklerden gelişen *Alternaria* spp. (D) Meyve lezyonlarından elde edilen *Pythium* sp. (E ve F) *Fusarium* spp., (G) *Botrytis cinerea*, (H) *Geotrichum candidum* ve (I) *Rhizoctonia carotae* izolatlarına ait fungus kültürleri.

Figure 5. (A) Fungal colonies of different species isolated from typical fungal disease symptoms on carrot plants collected from fields during different surveys in the region. (B and C) *Alternaria* spp., (D) *Pythium* sp., (E-F) *Fusarium* spp., (G) *Botrytis cinerea*, (H) *Geotrichum candidum* and (I) *Rhizoctonia carotae* isolates obtained from fruit lesions.

Yakın zamanda bölgede yetişen havuç tarlalarında sorun olan yabancı ot türlerinin belirlenmesine yönelik yapılmış çalışma dışında (Üremiş ve ark., 2020), bölgede ve ülkede havuçlarda sorun fungal hastalıkların belirlenmesi üzerine oldukça kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Daha önce bölgede yürütülen ön çalışmada Amik Ovası'nda yetişen havuç

meyvelerinden krater çürüklüğü hastalığı etmeni *R. carotae* ile *Alternaria* yaprak yanıklığına neden olan *A. dauci* izole edilmiş olup Türkiye için havuçlarda hastalık etmeni olarak varlığı ilk kez bildirilmiştir (Kurt ve ark., 2004a; Soylu ve ark., 2005). Ankara ili havuç ekim alanlarında görülen hastalıklar üzerine yapılan çalışmada, yaprak ve toprak kökenli hastalık

etmenlerinden *Alternaria radicina*, *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A. dauci*, *R. solani* AG-4, *Binükleat Rhizoctonia* spp., *Erysiphe heraclei*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *Pythium amasculinum*, *P. periplocum* ve *Gliocladium* spp. etmenleri bildirilmiştir (Tülek, 2010). Türkiye'nin bir diğer önemli havuç üretim alanı olan Konya ilinde yapılan

bir diğer çalışmada, hasat edilmiş havuç depolarında en fazla sıklıkla karşılaşılan hastalık etmenlerinin *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Rhizoctonia* spp., *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*, *Mycocentrospora acerina*, *Rhizopus* spp., *Pythium* spp., *Thielaviopsis basicola*, *Aspergillus* spp., *Ulocladium* sp. ve *Penicillium* spp. olduğu bildirilmiştir (Uysal, 2012).

Çizelge 1. Hastalıklı havuç kök ve yapraklarından izole edilip morfolojik tanıları moleküler olarak teyit edilmiş fungal ve bakteriyel türlerin Gen Bankasına kayıt edilen ve eşleştikleri erişim numaraları.

Table 1. Fungal and bacterial species isolated from diseased carrot roots and leaves and their morphological diagnosis confirmed molecularly, accession numbers registered and matched in the GenBank.

Tür ve İzolat Numarası	Erişim Numarası (EN)	NCBI'da Eşleştiği EN ve Benzerlik oranı (%)
<i>Fusarium brachygibbosum</i> CF1	OK614923	MK752430- % 100
<i>Fusarium solani</i> CF9	OK614924	MN535847- %100
<i>Alternaria alternata</i> CA5	OK614925	OK082076- %100
<i>Fusarium proliferatum</i> CF13	OK614926	MT966018- %100
<i>Fusarium equiseti</i> CF15	OK614927	MT967223- %100
<i>Rhizoctonia solani</i> CR2	OK614928	KF372652- %100
<i>Fusarium equiseti</i> CF4	OK614929	KU041633- % 100
<i>Geotrichum candidum</i> CG5	OK605021	MT071788- %100
<i>Erwinia rhapontici</i> H3	MW832500	LC406414-%99.78
<i>Erwinia persicina</i> H7	OK597191	LC490819-%100
<i>Pseudomonas marginalis</i> H9	OK597192	KT825800-%100
<i>Pseudomonas veronii</i> H10	OK597190	MG972913-%100

Fusarium brachygibbosum'un gerek morfolojik gerekse moleküler analiz sonuçlarına göre Türkiye için havuçlarda hastalık etmeni olarak varlığı ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Hastalık etmenin daha önce İran'da zakkum yaprak lekesi (Mirhosseini ve ark., 2014), Çin'de mısır bitkisinde sap çürüklüğü (Shan ve ark., 2017), Kaliforniya eyaletinde bademde kanser (Stack ve ark., 2017) ve Meksika'da karpuzda solgunluk (Renteria-Martinez ve ark., 2015) ve soğan yumru çürüklüğü (Tirado-Ramirez ve ark., 2019) hastalıklarına neden olduğu bildirilmiştir. Hastalık etmenin ayrıca Çin'de yetiştirilen ayçiçeği bitkilerinin önemli yabancı otlarından tam parazit canavar otu *Orobancha cumana* bitkilerinde de solgunluğa neden olduğu bildirilmiştir (Xia ve ark., 2018).

Yine yoğun yağış almış taban suyu yüksek tarlardaki yoğun çürüme ve yumuşak çürüklük belirtisi gösteren havuç meyveleri üzerinde gelişen yumuşak çürüklük belirtilerinden (Şekil 3 ve Şekil 6) bakteriyel hastalık etmenlerin izolasyonları yapılmış, izolasyon sonucunda King B besi yerinde farklı morfolojik görünüşte floresans görünüşlü, floresan görünüşte olmayan krem, sarı, beyaz renkli kolonilerden izole edildikleri ilçe ve tarlaları temsilen 45 izolat tek koloniden saflaştırılmış ve konukçusu olan havuç ile patates dilimleri üzerinde yumuşak çürüklük (Şekil 7) ve tütün yaprağında HR testleri yapılmıştır. Test edilen izolatlardan *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* tütünde HR reaksiyonuna neden olurken, diğer izolatlar çok zayıf veya HR

reaksiyonuna neden olmamıştır.

Yumuşak çürüklük gösteren yumrulardan yapılan izolasyonlardan elde edilen 45 saf bakteri izolatının MALDI-TOF protein profil analiz sonuçlarına göre ise yumuşak çürüklük hastalığı etmenleri *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Pseudomonas corrugata*'nın yanısıra fırsatçı (opportunistic) yumuşak çürüklük hastalığı etmenleri olan *P. marginalis*, *P. putida*, *P. veronii*, *P. fluorescens*, *P. mediterranea*, *E. rhapontici*, *E. persicina*, *Enterobacter cloacae*, *Lelliottia amnigena*, *Rahnella aquatilis* ve *Pantoea agglomerans* gibi türler elde edilmiştir. Bu türler tekrar sağlıklı havuç meyvelerine verildiğinde sadece *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Pseudomonas corrugata* yumuşak çürüklük hastalığı belirtisine sebep olurken, diğer etmenlerin inokulasyon noktasında tek başlarına tarlada görülen semptomlara benzer semptomları oluşturmadıkları, ancak *P. marginalis*, *P. mediterranea*, *P. veronii* gibi *E. rhapontici* ve *E. persicina* izolatlarının sadece inokulasyon noktasında çok zayıf yumuşamaya neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 7).

Türkiyede havuçlarda sorun olan bakteriyel hastalıkların belirlenmesi üzerine oldukça kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Daha önce bölgede yürütülen ön çalışmada Amik Ovası'nda yetişen havuç meyvelerinden *Erwinia* spp. ve floresan *Pseudomonas* spp. izole edilmiş olup, detaylı olarak tür ayırımına gidilememiştir (Kurt ve ark., 2004b). Bu çalışmada

gerek biyokimyasal gerekse MALDI-TOF analiz sonuçlarına göre bakteri izolatlarının tür düzeylerinde teşhisleri yapılmıştır. Bakteriyel hastalık etmenlerin tamamının Türkiye için havuçlarda hastalık etmeni olarak varlığı ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Protein kütle parmak izini kullanan MALDI-TOF/MS tabanlı tanımlamalar, bakteri türlerinin hızlı ve güvenilir düzeyde tanımlamasında hızlı ve hassas bir yöntemdir. Birçok durumda MALDI-TOF/MS tabanlı tanımlamalar, jel bazlı protein veya DNA parmak izi tekniklerinden daha iyi çözünürlük ve tekrarlanabilirlik gösterdiği bildirilmiştir (Saleeb ve ark. 2011; Singhal ve ark. 2015). Yapılan birçok tanımlama çalışmalarında, MALDI-TOF/MS yönteminde olduğu gibi proteomik yaklaşım kullanılarak bakteri türlerinin tanımlanması, kromatografik ve hatta DNA'ya bağlı moleküler yöntemlere alternatif olarak popüler hale gelen güvenilir bir bakteri tanımlama sistemi olduğu

kanıtlanmıştır (Panda ve ark., 2013). Çeşitli çalışmalarda MALDI-TOF/MS'in bakteri türlerinin tanımlanmasında geleneksel tanı yöntemlerinden daha doğru olduğu bulunmuştur (Pavlovic ve ark., 2012; Singhal ve ark. 2015; Aktan ve Soylu 2020; Soylu ve ark. 2020). MALDI-TOF bakteri tanımlama yönteminin doğruluğunun kanıtlandığı birçok çalışma göz önüne alındığında, havuç bitkilerinden izole edilen bakteri izolatlarının doğru şekilde tanımlandığı varsayılmıştır. MALDI-TOF tanımlama sonuçları yapılmış ve havuç patojenite testinde kısmi yumuşamalara neden olan *Pseudomonas marginalis* H9, *Pseudomonas veronii* H10, *Erwinia rhapontici* H3, *Erwinia persicina* H7 izolatların (Şekil 7) moleküler tanımlamaları 16S rDNA gen bölgesine spesifik universal primerlerle çoğaltılmış ve yapılan BLAST analizi sonucunda MALDI-TOF tanımlama sonuçlarını tamamen destekleyen türler ile eşleşmiştir (Çizelge 1).



Şekil 6. (A-C) Yoğun yağış ve taban suyu yüksek tarlardaki yoğun çürüme ve yumuşak çürüklük belirtisi gösteren havuç meyveleri. (D-F) Kısmi çürüme gösteren meyvelerin yüzeysel ve içsel dokularındaki yumuşak çürüklükler (ok). (G) Paketleme evlerinde pazar değeri olmayan yumuşak çürüklük belirtisi gösteren havuç meyvelerin (ok) genel görüntüsü.

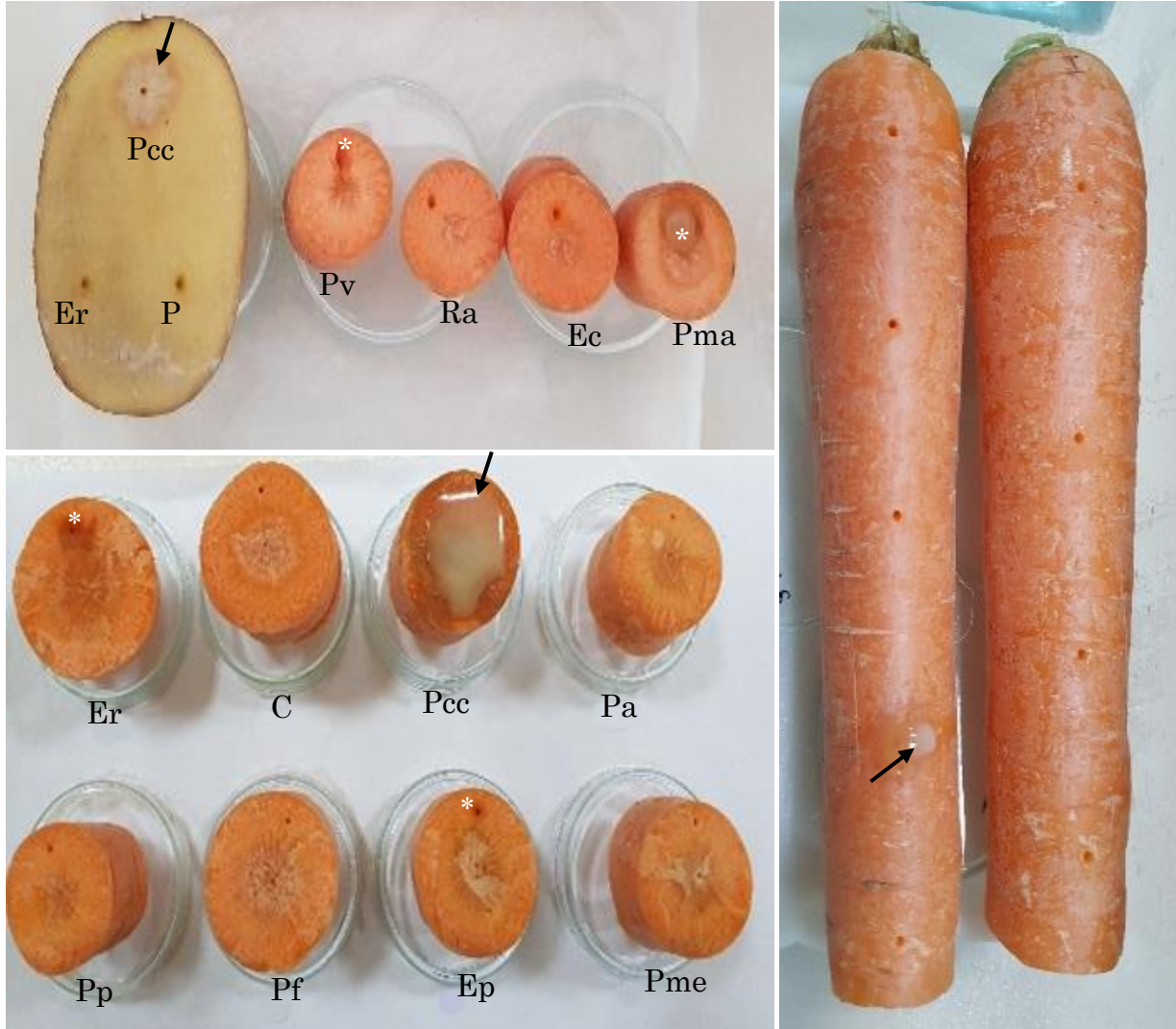
Figure 6. (A-C) Carrot fruits showing signs of intense rot and soft rot in areas with heavy rainfall and high groundwater. (D-F) Soft rots on the superficial and internal tissues of partially rotted fruits (arrow). (G) General view of carrot fruits (arrow) showing signs of soft rot with no market value in packing houses.

P. marginalis, *P. veronii*, *P. fluorescens*, *P. mediterranea*, *E. rhapontici*, *E. persicina*, *E. cloacae*, *L. amnigena*, *R. aquatilis* ve *P. agglomerans* gibi

fırsatçı hastalık etmenlerin daha önceden yapılan çalışmalarda havuç dahil birçok yaprağı yenen, yumrulu bitki ve sebzelerde yumuşak çürüklüğüne

neden olduğu bildirilmiştir (Godfrey ve Marshall, 2002; Huang ve ark., 2003; Koike ve ark., 2007; Mikiciński ve ark., 2010; Hausdorf ve ark., 2011; Achbani ve ark., 2014; Lambert ve ark., 2017; García-González ve ark., 2018). Türkiye'nin farklı bölgelerinde yetiştirilen yumrulu ve yaprağı yenen

sebzelerde *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* ve *Pseudomonas corrugata* hastalık etmenlerinin yumuşak çürüklüğüne neden olduğu yakın zamanda yapılan bir çok çalışmada bildirilmiştir (Demir, 1990; İmriz ve Çınar, 2015; Öztürk ve Soylu, 2022a,b)



Şekil 7. Sürveysler sırasında hastalıklı havuç meyvelerden izole edilen farklı bakteriyel etmenlerin sağlıklı havuç meyveleri üzerinde patojenite testleri. Test edilen izolatlardan *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc) gerek havuç gerekse patates dilimi üzerinde ıslak çürüklük belirtisi oluşturmuş olup (ok), bazı fırsatçı patojenler havuç meyvesi üzerinde kısmi ıslaklık belirtisine neden olmuştur (*).

Figure 7. Pathogenicity tests of different bacterial agents isolated from diseased carrot fruit during surveys on healthy carrot fruit. Of the tested isolates, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc) produced signs of soft rot (arrow) on carrot and potato slice, some opportunistic pathogens caused signs of partial wetness (*) on carrot fruits.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışma ile Türkiye'nin önemli havuç ekim alanlarında sorun olan fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerinin karakterizasyonu ve tanılamaları yapılmıştır. Yapılan literatür araştırmasına göre izolasyonu yapıp, morfolojik, moleküler ve patojenite testleri ile hastalık etmeni olarak tespit edilen fungal etmenlerden *Fusarium*

brachygibbosum ve bakteriyel hastalık etmenleri *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, *P. corrugata*, *P. marginalis*, *P. putida*, *P. veronii*, *P. fluorescens*, *P. mediterranea*, *E. rhapontici*, *E. persicina*, *Enterobacter cloacae*, *Lelliottia amnigena*, *Rahnella aquatilis* ve *Pantoea agglomerans*'ın Türkiyede yetiştirilen havuç meyvelerinde hastalık etmenleri olduğu ilk kez bu çalışma ile tespit edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca (BAP-18.M.069) desteklenmiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Achbani EH, Sadik S, El Kahkahi R, Benbouazza A, Mazouz H 2014. First report on *Pseudomonas marginalis* bacterium causing soft rot of onion in Morocco. Atlas Journal of Biology 3: 218-223.
- Aktan ZC, Soylu S, 2020. Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarından endofit ve epifit bakteri türlerinin izolasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının karakterizasyonu. KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi 23: 641-654.
- Anonim 2020. TÜİK, Bitkisel Üretim İstatistikleri-Türkiye İstatistik Kurumu. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. (Erişim Tarihi 15.08.2021)
- Anonymous 2019. FAOSTAT-Agriculture Database, Crops and livestock products. https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize_ (Access Date: 15.08.2021)
- Bıyıktay İ 2018. Kırıkhan ilçesinde siyah havuçta farklı ekim zamanlarının verim ve kaliteye etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 51 s.
- Bora T, Karaca İ 1970. Kültür Bitkilerinde Hastalık ve Zararlıların Ölçülmesi. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı Yayın No: 167, İzmir, 43s.
- Bruehl GW 1987. Soilborne Plant Pathogens. Macmillan, New York.
- Çabuk TŞ 2014. Ankara İli Havuç (*Daucus carota* L. subsp. *sativus*) Üretim Alanlarında Verimi Ve Kaliteyi Olumsuz Yönde Etkileyen Sistemik Hastalıkların Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. Bitki Koruma ABD, 51 sayfa.
- Demir G 1990. The occurrence of *Pseudomonas corrugata* on tomatoes in Turkey. Journal of Turkish Phytopathology 19: 63-70.
- Domsch KH, Gams W, Anderson TH 1980. Compendium of soil fungi. Academic Press, London: 859 p.
- Ellis MB 1971. Dematiou Hypomycetes. Commonwealth Mycol. England, 608.
- Ellis MB, Holliday P 1972. *Alternaria radicina*. [Descriptions of Fungi and Bacteria]. Descriptions of Fungi and Bacteria, (No. 35): Sheet 346.
- El-Tarabily KA, Hardy GESTJ, Sivasithamparam K 1996. Association of *Pythium coloratum* and *Pythium sulcatum* with cavity spot disease of carrots in Western Australia. Plant Pathology 45: 727-735.
- Farrar JJ, Pryor BM, Davis RM 2004. *Alternaria* diseases of carrot. Plant Disease 88: 776-784.
- García-González T, Sáenz-Hidalgo HK, Silva-Rojas HV, Morales-Nieto C, Vancheva T, Koebnik R, Ávila-Quezada GD 2018. *Enterobacter cloacae*, an emerging plant-pathogenic bacterium affecting chili pepper seedlings. Plant Pathology Journal 34(1): 1-10.
- Godfrey S, Marshall J 2002. Identification of cold-tolerant *Pseudomonas viridiflava* and *P. marginalis* causing severe carrot postharvest bacterial soft rot during refrigerated export from New Zealand. Plant Pathology 51: 155-162.
- Hausdorf L, Fröhling A, Schlüter O, Klocke M 2011. Analysis of the bacterial community within carrot wash water. Canadian Journal of Microbiology 57: 447-452.
- Huang HC, Hsieh TF, Erickson RS 2003. Biology and epidemiology of *Erwinia rhapontici*, causal agent of pink seed and crown rot of plants. Plant Pathology Bulletin 12: 69-76.
- İmriz G, Çınar 2015. ELISA-based and traditional diagnosis methods for identification of *Pseudomonas cichorii* and *Pseudomonas corrugata* causing pith necrosis on tomato plants. Journal of Bahri Dagdas Crop Research 3 (1):7-13.
- Kara M., Soylu EM 2020. Assessment of glucosinolate-derived isothiocyanates as potential natural antifungal compounds against citrus sour rot disease agent *Geotrichum citri-aurantii*. Journal of Phytopathology 168: 279-289
- Koike ST, Gladders P, Paulus AO 2007. Vegetable Diseases: A Colour Handbook. Manson Publishing, London, pp 95-115.
- Kurt S, Soylu EM, Soylu S, Tok FM 2004a. First report of crater rot caused by *Rhizoctonia carotae* on carrots in Turkey. Plant Pathology 54: 251-252.
- Kurt S, Soylu EM, Soylu S, Tok FM 2004b. Determination of causal disease agent on carrot plant growing in Amik Plain. Turkey 1st Plant Protection Congress Proceedings 8-10 September, Samsun, pp 193.
- Kurt Ş, Soylu S, Uysal A, Soylu EM, Kara M 2020. Ceviz gövde kanseri hastalığı etmeni *Botryosphaeria dothidea*'nın tanımlanması ve bazı fungusitlerin hastalık etmenine karşı *in vitro* antifungal etkinliklerinin belirlenmesi. Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 25: 46-56.

- Lampert Y, Dror B, Sela N, Teper-Bamnlker P, Daus A, Sela S, Eshel D 2017. Emergence of *Leuconostoc mesenteroides* as a causative agent of oozing in carrots stored under non-ventilated conditions. *Microbial Biotechnology* 10: 1677-1689.
- Lane DJ 1991. 16S/23S rRNA sequencing. (Nucleic acid techniques in bacterial systematics. New York: John Wiley and Sons. Eds. Stackebrandt E, Goodfellow M) pp 115-175.
- Lelliot RA, Stead DE 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. (Methods in plant pathology, Vol 2, Oxford: Blackwell Scientific Publications: ed. Preece TF). pp 176-177.
- Leslie JF, Summerell BA 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Oxford: Blackwell publishing, p 388.
- Marziano F, Nanni F, Scalcione M, Noviello C 1992. *Fusarium solani* and *F. avenaceum* as causal agents of a post - harvest rot of carrots. *Informatore Fitopatogico* 42(7-8): 57-63.
- Mikiciński A, Sobiczewski P, Sulikowska M, Puławska J, Treder J 2010. Pectolytic bacteria associated with soft rot of Calla Lily (*Zantedeschia* spp.) tubers. *Journal of Phytopathology* 158: 201-209
- Mirhosseini HA, Babaeizad V, Hashemi L 2014. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing leaf spot on oleander in Iran. *Journal of Plant Pathology* 96 (2): 431.
- Munro DB., Small E 1997. Vegetables of Canada. National Research Council, Ottawa, Ontario.
- Öztürk M, Soylu S 2022a. Yozgat ili beyaz baş lahana üretim alanlarında bakteriyel yumuşak çürüklük hastalığına neden olan *Pectobacterium* izolatlarının tanılanması. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi* 25 (3): 495-503.
- Öztürk M, Soylu S 2022b. Yozgat ve Kırşehir illerinde tüketime sunulmuş patates yumrularında bakteriyel yumuşak çürüklük etmeni *Pectobacterium* izolatlarının izolasyonu ve tanılanması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19 (2): 332-342.
- Panda A, Kurapati S, Samantaray JC, Myneedu VP, Verma A, Srinivasan A, Ahmad H, Behera D, Singh UB 2013. Rapid identification of clinical mycobacterial isolates by protein profiling using matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Indian Journal of Medical Microbiology* 31: 117-122.
- Pavlovic M, Konrad R, Iwobi AN, Sing A, Busch U, Huber I 2012. A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. *FEMS Microbiology Letters* 328: 46-53.
- Raid RN 2006. Florida Plant Disease Management Guide: Carrot (*Daucus carota*) <http://edis.ifas.ufl.edu/pg043> -FOOTNOTE_2#FOOTNOTE_2. (Alınma Tarihi: 02.06.2018).
- Renteria-Martinez ME, Meza-Moller A, Guerra-Camacho MA, Romo-Tamayo F, Ochoa-Meza A, Moreno-Salazar SF, 2015. First report of watermelon wilting caused by *Fusarium brachygibbosum* in Sonora, Mexico. *Plant Disease* 99 (5): 729.
- Rubatzky VE 2002. Origin and domestication of carrot. (Compendium of Umbelliferous Crop Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul: Eds. Davis MNRM, Raid RN) Pages 1-3
- Rubatzky VE, Quiros CF, Simon PW 1999. Carrots and related Vegetable Umblifera. CAB Publishing Company, p 294.
- Safadi B 2008. Characterization and distribution of *Daucus* species in Syria. *Biologia* 63 (2): 177-182.
- Saleeb PG, Drake SK, Murray PR, Zelazny AM 2011. Identification of mycobacteria in solid-culture media by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *Journal of Clinic Microbiology* 49: 1790-1794.
- Shan LY, Cui WY, Zhang DD, Zhang J, Ma N N, Bao YM, Dai XF, Guo W 2017. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing maize stalk rot in China. *Plant Disease* 101 (5): 837-838.
- Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Viridi JS 2015. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology* 6: 791.
- Snowdown AL 1991. A. Colour Atlas of Postharvest Diseases and Disorders of Fruit and Vegetables General Introduction and Fruits. Wolfe Scientific Ltd, pp 11-53.
- Soylu EM, Soylu S, Kara M, Kurt Ş 2020. Sebzelelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi* 23: 7-18.
- Soylu S, Kara M, Toketti O, Soylu EM, Uysal A, Kurt Ş 2021. Konya ilinde yetiştirilen patates yumrularında lastik çürüklük hastalık etmeni *Geotrichum candidum*'un izolasyonu, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi* 24: 353-361.
- Soylu S, Kurt Ş, Soylu EM, Tok FM 2005. First report of Alternaria leaf blight caused by *Alternaria dauci* on carrot in Turkey. *Plant Pathology* 54:252
- Stack AJ, Yaghmour MA, Kirkpatrick SC, Gordon TR, Bostock RM 2017. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing cankers in cold-stored, bare-root propagated almond trees in California. *Plant Disease* 101 (2): 390
- Tirado-Ramírez MA, López-Orona CA, Díaz-Valdés T, Velarde-Félix S, Martínez-Campos AR, Romero-Gómez SJ, Retes-Manjarrez JE 2019. First report of basal rot of onion caused by *Fusarium brachygibbosum* in Sinaloa, Mexico. *Plant Disease* 103 (3): 582.
- Tülek S 2010. Ankara ili havuç alanlarında görülen

- fungus hastalıklarının belirlenmesi ve yaygınlık oranlarının saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. Bitki Koruma ABD, 79 sayfa.
- Üremiş İ, Soylu S, Kurt Ş, Soylu EM, Sertkaya E 2020. Hatay ili havuç ekim alanlarında bulunan yabancı ot türleri, yaygınlıkları, yoğunlukları ve durumlarının değerlendirilmesi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi 17: 211-228.
- Uysal N 2012. Konya İli Kadınhanı Kasabesindeki Havuç Depolarında Görülen Fitopatolojik Sorunlar. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. Bitki Koruma ABD, 99 sayfa.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. (PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. New York: Academic Press Inc; Eds. Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ) pp. 315-322.
- Xia B, Hu JY, Zhu XF, Liang Y, Ren X, Wu YH, Chen DX 2018. First report of sunflower broomrape wilt caused by *Fusarium brachygibbosum* in China. Plant Disease 102 (11): 2372.
- Yanmaz R 1994. Havuç yetiştiriciliği. Standard Dergisi 34: 21-22.

Bazı *Meloidogyne* Türlerinin Bulunduğu Toprakların Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Betül GÜRKAN¹, Ramazan ÇETİNTAŞ²

¹Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bitki Koruma Bölümü, Kahramanmaraş, ²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kahramanmaraş

¹<https://orcid.org/0000-0003-0195-4562>, ²<https://orcid.org/0000-0002-5738-6915>

✉: betulgurkan86@gmail.com

ÖZET

Toprak, bitki paraziti kök-ur nematodlarının çoğalmaları ve varlıklarını sürdürmeleri için iyi bir gelişme ortamıdır. Bu çalışmada, Gaziantep ve Osmaniye il ve ilçeleri sebze alanlarındaki *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. luci* türleri ile bulaşık olan toprakların tekstürü (Suyla Doygunluk (%), pH'ı ve elektriksel iletkenliği (EC)) incelenmiştir. Çalışma sonunda dört kök-ur nematodu türünün bulunduğu sebze alanlarındaki toprak tekstürünün tınlı, killi ve killi-tınlı olduğu, pH değerinin nötr ve hafif alkali olduğu tespit edilmiştir. Bu nematodlar ile bulaşık tüm toprakların elektriksel iletkenliği tuzsuz bulunmuştur.

Bitki Koruma

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 23.09.2021

Kabul Tarihi : 17.11.2021

Anahtar Kelimeler

Elektriksel iletkenlik,
Meloidogyne spp.,
pH,
Toprak tekstürü

Texture, pH and Electrical Conductivity of Soils with Some *Meloidogyne* Species

ABSTRACT

Soil is a vital environment place for reproduction and survival of plant parasitic root-knot nematodes. In this study, the soil samples infested by *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* and *M. luci* species were collected from vegetable fields of Gaziantep and Osmaniye provinces and investigated for their textures ((Water Saturation (%), pH and electrical conductivity (EC)). At the end of the study, it was determined that the soil texture in the vegetable areas with four root-knot nematode species was loamy, clayey and clayey-loamy while the pH value was neutral and slightly alkaline. Additionally, electrical conductivity of all soils were found with no salt content.

Plant Protection

Article History

Received : 23.09.2021

Accepted : 17.11.2021

Keywords

Electrical conductivity,
Meloidogyne spp.,
pH,
Soil texture

Atıf Şekli: Gürkan B, Çetintaş R 2022. Bazı *Meloidogyne* türlerinin bulunduğu toprakların fiziksel ve kimyasal özellikleri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1341-1349. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.999602>.

To Cite : Gürkan B, Çetintaş R 2022. Texture, pH and Electrical Conductivity of Soils with Some *Meloidogyne* Species. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1341-1349. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.999602>.

GİRİŞ

Toprak ekosistemi, oldukça değişken bir düzenin fiziksel ve kimyasal ana yapısıyla, tüm yaşam biçimlerinden oluşan canlı topluluklar arasındaki karmaşık etkileşimlerin bir sonucu olduğu bilinmektedir (Tate, 2000). Özellikle bitki paraziti nematodların, gelişimlerinde ve bitkiye zarar durumlarında toprak dokusu, nem ve havalandırma dahil olmak üzere toprak koşullarından etkilenebilen toprak kaynaklı zararlılar olduğu bildirilmiştir (Van Gundy, 1985). Bitki paraziti nematodların hayatta kalmasını, yoğunluğunu, topraktaki dağılımını ve çoğalmasını toprak ortamının fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlemektedir (Davide, 1985; Norton, 1989; Castro ve ark., 1990). Bunlar; toprak yapısı, havalandırma, nem, toprak sıcaklığı, organik madde içeriği, bitki duyarlılığı, çok hücreli canlılar, mikroorganizmalar, iyon konsantrasyonu, toprak pH'ı ve O₂ içeren fizikokimyasal stres faktörleri olup

nematod popülasyonu üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Van Gundy, 1985; Norton, 1989; Lee, 2002; Wendot, 2014; Asif ve ark., 2015).

Meloidogyne (Tylenchida: Meloidogynidae) türleri yüksek üreme oranlarına ulaşabileceği iri taneli, kumlu ve hafif toprakları tercih ederken, yüksek silt ve killi ağır topraklarda popülasyonlarında azalma eğilimi olduğu rapor edilmiştir (Goodell ve Ferris, 1980; Robinson ve ark., 1987; Starr ve ark., 1993; Robinson, 2005; Olabiyi ve ark., 2009). Bununla birlikte, genellikle havalandırması iyi olan kumlu topraklarda nematodlar ile rekabet eden daha az organizma olduğundan dolayı, nematodlar kök bölgesine kolaylıkla hareket edebildiği belirtilmektedir (Dropkin, 1980). Kumlu topraklarda gelişmeyi engelleyici maddelerin az birikimi, sağlıklı bitki büyümesini olumlu yönde arttırmakta ve böylece kök-ur nematodunun büyüme ve beslenme aktiviteleri de artmaktadır (Kim ve ark., 2017).

Toprak yapısının nematodların yatay ve dikey yayılımlarını da etkilediği bildirilmiştir (Wallace, 1963). Nematodların ortaya çıkışı, hayatta kalması ve bitkilere zararı, su tutma kapasitesi ve havalandırma ile doğrudan ilişkili toprak dokusundan etkilendiği bilinmektedir. Bu aynı zamanda topraktaki nematod hareketini de etkilemektedir. Kumlu topraklarda nematod larvalarının en fazla 9 günde 75 cm'ye kadar yatay ve dikey olarak hareket edebildikleri görülmüştür (Prot, 1977). Genel olarak, nematodlar kendi hareketleri ile çok kısa mesafelere kadar gidebilmekte ve yılda ortalama 1 m kadar yol alabilmektedir (Karataş, 2007).

Nematodlar sucul organizmalar olduğundan dolayı hareketlerinin neme bağlı olduğu (Decraemer ve Hunt, 2006) ve çoğunun toprakta %40-60 nem seviyelerini tercih ettiği bildirilmiştir (Dropkin, 1980; Kim, 2015; Van Gundy, 1985). Toprak nemi, nematodların faaliyetini arttırmaktadır. Toprak üstünden 5 cm derinliğe kadar olan kısımda toprak nemi çok değiştiğinden dolayı, burada nematodlara çok az rastlandığı veya hiç nematod bulunmadığı belirtilmektedir (Karataş, 2007). Konukçu bitkilerin köklerine bağlı olarak nematodlar, 3-6 m'ye kadar toprakta bulunsalar da, en yoğun olarak 10-30 cm arasındaki toprak derinliğinde buldukları rapor edilmiş, ayrıca nematodların kuru alandan nemli alana doğru hareket ettiği bildirilmiştir (Karataş, 2007). Yağışların yıl boyunca eşit olarak dağıldığı bölgelerde, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White), *M. javanica* (Treub) ve *M. arenaria* (Neal) (Tylenchida: Meloidogynidae) gibi türlerin aynı arazide bir arada bulunabildikleri gözlenmiştir (Eisenback ve ark., 1981).

Toprak çözeltisinin kimyasal bileşimi, bitkileri (Bernstein, 1964) ve nematodları (Bird, 1977) doğrudan etkilemektedir. Toprak pH'ı ve elektriksel iletkenliğin (EC), kök-ur nematodlarının dağılımını belirleyen temel faktörlerden bazıları olduğu bildirilmiştir (Wendot, 2014). Kaba dokulu ve düşük EC değerine sahip toprakların kök-ur nematodu popülasyonlarının yoğunluğunu arttırdığı görülmektedir (Wendot, 2014). Yüksek azot konsantrasyonları, özellikle N-NH₄ ve yüksek EC değerlerine sahip kompostların kullanılmasının nematodları baskılamada katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Oka ve Yermiyahu, 2002). İki EC seviyesindeki farklı tuzların (NH₄Cl, KNO₃ ve NaCl) *M. javanica*'nın domates bitkisi köklerinde ur oluşumuna ve *M. javanica*'nın üremesi üzerindeki etkisinde Amonyum klorürün (NH₄Cl), etkili ve çevresel olarak kabul edilebilir bir mücadele yöntemi olduğu görülmüştür (Karajeh ve Al-Nasir, 2008). Toprak tuzluluk oranının artmasıyla hassas çeşitler üzerinde *M. incognita*'nın üremesinin azaldığı bildirilmiştir (Edongali ve Ferris, 1982). K⁺, NH₄⁺, Cs⁺, NO₃⁻ ve Cl⁻ iyonlarının basit inorganik tuzları, *M.*

incognita'nın ikinci dönem larvalarını engellemektedir (Castro ve ark., 1990). Dropkin ve ark. (1958), yüksek tuz konsantrasyonlarının, *Meloidogyne* türlerinin hareketini ve yumurtadan çıkmayı engelleyecek şekilde ozmotik basıncı da yeterince değiştirdiğini bildirmişlerdir. Bu makalede, bazı kök-ur nematodları ile bulaşık sebze alanlarının toprak tekstürü, pH ve elektriksel iletkenliği araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOD

Araziden bitki kök ve toprak örneklerinin alınması

Eylül ve Ekim aylarında Gaziantep ve Osmaniye il ve ilçelerindeki sebze yetiştirilen alanların yoğun olarak bulunduğu yerlerden bitki kök ve toprak örnekleri alınmıştır. Her bir bahçe ya da tarlada domates, biber, patlıcan, hıyar, bamya ve fasulye bitkilerine bakılmış olup, araziye temsil edecek şekilde 3-5 adet bulaşık bitki kök örneği toplanmıştır. Bitkiye zarar gelmeyecek şekilde sökülen her bir kök ve alınan toprak örnekleri, polietilen torbalara konularak üzeri etiketlenmiştir. Etiketlin üzerine bitki örneğinin alındığı il, ilçe, örnek numarası, sebze türü, bulunduğu koordinat ve yükseklik yazılmıştır. Toprak örnekleri, 0-30 cm derinlikten alınmıştır.

Kök-ur nematodlarının teşhisi

Gaziantep ve Osmaniye sebze üretim alanlarında kök-ur nematodlarıyla bulaşık arazilerden alınan kök örneklerinden yumurta kümeleri elde edilerek saf kültür oluşturulmuştur. Saf kültürden elde edilen ve olgun dişi kullanılarak yapılan tür teşhisleri Poliagrilamid jel elektroforez yöntemi için Dickson ve ark., 1970; 1971; Esbenshade ve Triantaphyllou, 1985; Machado ve ark., 2016; Stare ve ark., 2017; Santos ve ark., 2019, morfolojik (perineal kesit) karakterler yöntemi için Whitehead, 1968; Orton Williams, 1972; 1973; 1974; 1975, Mulk, 1976; Jepson, 1985; Page, 1985; Rammah ve Hirschmann, 1988; izniyle Janet Machon; Karssen, 1996; Carneiro ve ark., 1996; Carneiro ve ark., 2014'nın tür teşhis anahtarları ile karşılaştırılarak yapılmıştır. Morfometrik karakterler yöntemine göre tür teşhisinde ise 2. dönem (J2) larvaların ölçümleri Rammah ve Hirschmann, 1990; Özarslandan, 2009; Thuy, 2010; Carneiro ve ark., 2014; Yiğit, 2018'in çalışmaları ile karşılaştırılarak yapılmıştır.

Toprak tekstürü, pH ve elektriksel iletkenliğin belirlenmesi

Kök-ur nematodlarıyla bulaşık alanlardan alınan toprak örnekleri, polietilen torbalar içinde laboratuvara getirilmiş ve plastik kaplara boşaltılarak kuruması için 1 hafta bekletilmiştir. Kuruyan toprak örneklerinden taş ve diğer istenmeyen maddeler alınmıştır. Tahta çekiç ile

toprak örneklerindeki toprakların ezilmesi sağlanmıştır. Bu işlemler yapıldıktan sonra her bir örnekten 100 g tartılmış ve satürasyonları yapılarak suyla doygunluğuna bakılmıştır (Richards, 1954). Toprak örnekleri bir gün bekletildikten sonra, cam elektrotlu pH metre ile satürasyon çamurlarının pH

ölçümü yapılmıştır (Richards, 1954). Ayrıca tuzluluk metre ölçüm cihazı ile toprakların tuz değerleri ölçülmüş (Richards, 1954) ve tüm parametreler Çizelge 1'de gösterilen sınır değerleriyle karşılaştırılmıştır.

Çizelge 1. Toprakların bazı fiziksel özelliklerine ilişkin sınır değerleri (Richards, 1954; Ülgen ve Yurtsever, 1995)
Table 1. Limit values for some physical properties of soils (Richards, 1954; Ülgen ve Yurtsever, 1995)

Toprak özellikleri <i>Soil characteristics</i>	Sınır değeri <i>Limit value</i>	Değerlendirme <i>Evaluation</i>
Suyla Doygunluk (%) (Ülgen ve Yurtsever, 1995)	<30	Kumlu
Water saturation (%) (Ülgen and Yurtsever, 1995)	31-50	Tınlı
	51-70	Killi-tınlı
	71-110	Killi
	>110	Ağır Killi
pH (Ülgen ve Yurtsever, 1995)	<4.5	Kuvvetli asit
<i>pH (Ülgen and Yurtsever, 1995)</i>	4.5-5.5	Orta asit
	5.5-6.5	Hafif asit
	6.5-7.5	Nötr
	7.5-8.5	Hafif alkali
	>8.5	Kuvvetli alkali
Elektriksel İletkenlik (EC) (dS m ⁻¹) (Richards, 1954)	0-4	Tuzsuz
<i>Electrical conductivity (EC)</i> (dS m ⁻¹) (Richards, 1954)	4-8	Hafif tuzlu
	8-15	Orta derecede tuzlu
	>15	Çok fazla tuzlu

BULGULAR ve TARTIŞMA

Gaziantep ve Osmaniye illeri ve ilçelerindeki kök-ur nematodu ile bulaşık arazilerden alınan 69 örneğin toprak tekstürü, pH ve EC'lerine bakılmıştır. Gaziantep ilçelerinin EC (dS m⁻¹) değeri en düşük 0.67, en yüksek 3.15 oranıyla tüm toprakları tuzsuz bulunmuştur. *Meloidogyne incognita* türü ile bulaşık alanlara bakıldığında, bu zararlının bulunduğu arazilerin toprak tekstürünün killi-tınlı ve killi olduğu, pH'larının ise en düşük 6.91 en yüksek 8.04 değerleriyle nötr ve hafif alkali olduğu görülmüştür. Gaziantep ili Şehitkamil ilçesindeki *M. javanica* ile bulaşık alanların toprak tekstürünün killi-tınlı, killi ve, pH değerinin ise 7.58 ve 7.93 oranlarıyla hafif alkali olduğu tespit edilmiştir. Gaziantep ili Yavuzeli ilçesindeki *M. arenaria*'nın bulunduğu arazilerin toprak tekstürü killi-tınlı ve killi, pH değerinin ise hafif alkali ve nötr olduğu bulunmuştur (en düşük 7.45, en yüksek 7.93) (Çizelge 2).

Osmaniye ilçelerindeki toprakların EC (dS m⁻¹)'leri en düşük 0.50, en yüksek 2.60 oranıyla tuzsuz bulunmuştur. Osmaniye iline ait ilçelerde *M. incognita* ile bulaşık alanların toprak tekstürünün tınlı, killi-tınlı ve killi olduğu görülmüştür. Bu topraklar pH değeri sonuçlarına göre nötr ve hafif alkali bulunmuştur (7.02-8.45). Bahçe, Kadirli ve Hasanbeyli ilçelerinde *M. javanica* ile bulaşık alanların toprak tekstürünün killi-tınlı ve killi, pH değerinin ise en düşük 7.17 en yüksek 7.95 oranıyla nötr ve hafif alkali olduğu tespit edilmiştir. Bahçe ve

Hasanbeyli ilçesindeki *M. arenaria* ile bulaşık araziler ise killi-tınlı ve killi, toprakların pH değeri en düşük 7.30 en yüksek 7.77 oranıyla nötr ve hafif alkali olarak bulunmuştur. *M. luci* türünün bulunduğu Bahçe ve Hasanbeyli ilçesindeki toprak tekstürü incelendiğinde killi-tınlı ve killi, toprakların pH'nın ise nötr ve hafif alkali olduğu tespit edilmiştir (en düşük 7.13 en yüksek 7.73 oranıyla) (Çizelge 3)

Topraktaki kök-ur nematodu popülasyon yoğunluğunun artışı, üründe hasarın artması ve hasar potansiyelinin toprak dokusal farklılıklarına göre değiştiği bildirilmiştir (Monfort ve ark., 2007). Toprağın kil içeriği arttıkça nematod göçünün azaldığı, %30'dan fazla kil içeren topraklarda ise göçün olmadığı tespit edilmiştir (Prot ve Van Gundy, 1981a). Topraklar %40'dan fazla kil ve %50'den fazla silt içerdiği durumlarda kök-ur nematodlarının yoğunluklarının düştüğü bildirilmiştir (Van Gundy, 1985). Kil parçacıklarının topraktaki büyük mesafelerdeki nematodları çekme işlevinin olduğu ve toprakların %5'ten daha az kil içermesi durumunda ise nematodların toprakta bulunmadığı tespit edilmiştir (Prot ve Van Gundy, 1981b). Genellikle killi topraklar *M. artiellia* hariç kök-ur nematodlarının popülasyon yoğunluğunu bastırıp azalttığı görülürken, kumlu veya kumlu tınlı toprakların nematodların yoğunluğunu arttırdığı bildirilmiştir (Greco ve Vito, 2009). Dropkin (1980) yaptığı çalışmada birçok nematod türünün belirli bir toprak ve iklim gereksinimlerine sahip olduğunu, bazı nematod türlerinin kumlu topraklarda yaşamayı

Çizelge 2. Gaziantep’den alınan toprakların tekstürü, pH değeri ve EC
Table 2. The texture, pH value and EC of the soils collected from Gaziantep

Örnek kodu Sample code	Alındığı bölge Collected areas	Kök-ur nematodu türü Root knot nematode species	Suyla doyunluluk(%) satürasyon değeri Water saturation values (%)	Toprak tekstürü sonucu Soil texture result	pH pH	pH değeri sonucu pH value result	EC (dS m ⁻¹) EC (dS m ⁻¹)	Elektriksel iletkenlik sonucu Electrical conductivity result
44 P	Gaziantep/İslahiye	<i>Meloidogyne incognita</i>	95	Killi	6.95	Nötr	1.80	Tuzsuz
45 B	Gaziantep/İslahiye	<i>Meloidogyne incognita</i>	85	Killi	6.91	Nötr	1.30	Tuzsuz
46 P	Gaziantep/İslahiye	<i>Meloidogyne incognita</i>	64	Killi-tınlı	7.47	Nötr	0.90	Tuzsuz
47 B	Gaziantep/İslahiye	<i>Meloidogyne incognita</i>	80	Killi	7.08	Nötr	0.90	Tuzsuz
52 D	Gaziantep/İslahiye	<i>Meloidogyne incognita</i>	96	Killi	7.00	Nötr	2.00	Tuzsuz
81 F	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne incognita</i>	59	Killi-tınlı	7.70	Hafif alkali	1.15	Tuzsuz
82 P	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne incognita</i>	63	Killi-tınlı	7.89	Hafif alkali	1.23	Tuzsuz
83 B	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne incognita</i>	65	Killi-tınlı	7.90	Hafif alkali	1.32	Tuzsuz
84 D	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne incognita</i>	85	Killi	7.21	Nötr	2.20	Tuzsuz
85 P	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne incognita</i>	68	Killi-tınlı	7.97	Hafif alkali	1.00	Tuzsuz
86 B	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne incognita</i>	70	Killi-tınlı	7.57	Hafif alkali	1.00	Tuzsuz
92 F	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne incognita</i>	95	Killi	7.35	Nötr	1.40	Tuzsuz
96 D	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne javanica</i>	84	Killi	7.93	Hafif alkali	1.24	Tuzsuz
97 F	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne incognita</i>	80	Killi	7.00	Hafif alkali	1.33	Tuzsuz
98 F	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne incognita</i>	58	Killi-tınlı	7.60	Hafif alkali	1.15	Tuzsuz
99 D	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne javanica</i>	62	Killi-tınlı	7.58	Hafif alkali	1.22	Tuzsuz
100 P	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne incognita</i>	66	Killi-tınlı	7.81	Hafif alkali	1.18	Tuzsuz
101 B	Gaziantep/Şehitkamil	<i>Meloidogyne incognita</i>	64	Killi-tınlı	7.70	Hafif alkali	1.12	Tuzsuz
105 D	Gaziantep/Şahinbey	<i>Meloidogyne incognita</i>	72	Killi	7.56	Hafif alkali	1.85	Tuzsuz
106 F	Gaziantep/Şahinbey	<i>Meloidogyne incognita</i>	62	Killi-tınlı	7.60	Hafif alkali	1.21	Tuzsuz
108 P	Gaziantep/Şahinbey	<i>Meloidogyne incognita</i>	61	Killi-tınlı	7.56	Hafif alkali	1.24	Tuzsuz
110 Ba	Gaziantep/Şahinbey	<i>Meloidogyne incognita</i>	65	Killi-tınlı	7.71	Hafif alkali	1.20	Tuzsuz
112 D	Gaziantep/Şahinbey	<i>Meloidogyne incognita</i>	64	Killi-tınlı	7.40	Hafif alkali	3.15	Tuzsuz
118 P	Gaziantep/ Yavuzeli	<i>Meloidogyne arenaria</i>	58	Killi-tınlı	7.93	Hafif alkali	1.95	Tuzsuz
120 D	Gaziantep/ Yavuzeli	<i>Meloidogyne incognita</i>	62	Killi-tınlı	7.86	Hafif alkali	1.90	Tuzsuz
121 Ba	Gaziantep/ Yavuzeli	<i>Meloidogyne arenaria</i>	75	Killi	7.76	Hafif alkali	1.42	Tuzsuz
122 D	Gaziantep/ Yavuzeli	<i>Meloidogyne arenaria</i>	82	Killi	7.45	Nötr	2.10	Tuzsuz
190 P	Gaziantep/Oğuzeli	<i>Meloidogyne incognita</i>	56	Killi-tınlı	7.77	Hafif alkali	0.70	Tuzsuz
197 B	Gaziantep/Nizip	<i>Meloidogyne incognita</i>	58	Killi-tınlı	8.00	Hafif alkali	0.67	Tuzsuz
198 P	Gaziantep/Nizip	<i>Meloidogyne incognita</i>	55	Killi-tınlı	8.04	Hafif alkali	0.73	Tuzsuz

Ba: Bamyacı, B: Biber, D: Domates, F: Fasulye, P: Patlıcan

Çizelge 3. Osmaniye’den alınan toprakların tekstürü, pH değeri ve EC
 Table 3. The texture, pH value and EC of the soils collected from Osmaniye

Örnek kodu Sample code	Alındığı Bölge Collected areas	Kök-ur nematodu türü Root knot nematode species	Suyla doygunluk (%) satürasyon değeri Water saturation values (%)	Toprak tekstürü Soil texture	pH pH	pH değeri sonucu pH value result	EC (dS m ⁻¹) EC (dS m ⁻¹)	Elektriksel iletkenlik sonucu Electrical conductivity result
5 D	Osmaniye/Bahçe	<i>Meloidogyne luci</i>	72	Killi	7.35	Nötr	1.15	Tuzsuz
8 P	Osmaniye/Bahçe	<i>Meloidogyne incognita</i>	50	Tınlı	7.63	Hafif alkali	0.91	Tuzsuz
13 D	Osmaniye/Bahçe	<i>Meloidogyne luci</i>	89	Killi	7.13	Nötr	2.20	Tuzsuz
15 B	Osmaniye/Bahçe	<i>Meloidogyne incognita</i>	85	Killi	7.43	Nötr	1.40	Tuzsuz
16 P	Osmaniye/Bahçe	<i>Meloidogyne arenaria</i>	85	Killi	7.30	Nötr	1.60	Tuzsuz
20 P	Osmaniye/Bahçe	<i>Meloidogyne javanica</i>	51	Killi-tınlı	7.95	Hafif alkali	0.50	Tuzsuz
21 P	Osmaniye/Bahçe	<i>Meloidogyne arenaria</i>	70	Killi-tınlı	7.77	Hafif alkali	0.89	Tuzsuz
26 P	Osmaniye/Düzüçi	<i>Meloidogyne incognita</i>	66	Killi-tınlı	7.99	Hafif alkali	1.11	Tuzsuz
29 D	Osmaniye/Düzüçi	<i>Meloidogyne incognita</i>	90	Killi	7.02	Nötr	1.60	Tuzsuz
33 B	Osmaniye/Kadirli	<i>Meloidogyne incognita</i>	80	Killi	7.58	Hafif alkali	1.00	Tuzsuz
34 B	Osmaniye/Kadirli	<i>Meloidogyne incognita</i>	80	Killi	7.35	Nötr	1.10	Tuzsuz
35 B	Osmaniye/Kadirli	<i>Meloidogyne incognita</i>	80	Killi	7.34	Nötr	1.90	Tuzsuz
36 P	Osmaniye/Kadirli	<i>Meloidogyne incognita</i>	88	Killi	7.07	Nötr	2.60	Tuzsuz
37 B	Osmaniye/Kadirli	<i>Meloidogyne incognita</i>	80	Killi	7.17	Nötr	1.80	Tuzsuz
38 P	Osmaniye/ Kadirli	<i>Meloidogyne javanica</i>	80	Killi	7.17	Nötr	1.8	Tuzsuz
40 B	Osmaniye/Sumbas	<i>Meloidogyne incognita</i>	78	Killi	7.50	Nötr	1.00	Tuzsuz
41 D	Osmaniye/Sumbas	<i>Meloidogyne incognita</i>	55	Killi-tınlı	7.81	Hafif alkali	0.85	Tuzsuz
42 B	Osmaniye/Sumbas	<i>Meloidogyne incognita</i>	60	Killi-tınlı	7.78	Hafif alkali	0.90	Tuzsuz
58 B	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne incognita</i>	68	Killi-tınlı	7.62	Hafif alkali	1.00	Tuzsuz
59 D	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne incognita</i>	80	Killi	7.25	Nötr	1.50	Tuzsuz
60 P	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne luci</i>	70	Killi-tınlı	7.73	Hafif alkali	0.90	Tuzsuz
61 B	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne incognita</i>	80	Killi	7.48	Nötr	2.30	Tuzsuz
62 D	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne javanica</i>	80	Killi	7.41	Nötr	2.58	Tuzsuz
63 P	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne incognita</i>	86	Killi	8.05	Hafif alkali	0.91	Tuzsuz
64 F	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne incognita</i>	80	Killi	7.48	Nötr	1.90	Tuzsuz
65 H	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne incognita</i>	83	Killi	7.39	Nötr	1.80	Tuzsuz
66 P	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne arenaria</i>	88	Killi	7.40	Nötr	1.00	Tuzsuz
68 D	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne javanica</i>	85	Killi	7.80	Hafif alkali	0.90	Tuzsuz
69 F	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne luci</i>	80	Killi	7.34	Nötr	1.90	Tuzsuz
71 P	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne luci</i>	80	Killi	7.45	Nötr	1.10	Tuzsuz
72 F	Osmaniye/Hasanbeyli	<i>Meloidogyne incognita</i>	90	Killi	7.27	Nötr	1.50	Tuzsuz
201 P	Osmaniye/Toprakkale	<i>Meloidogyne incognita</i>	80	Killi	7.82	Hafif alkali	1.12	Tuzsuz
203 P	Osmaniye/Toprakkale	<i>Meloidogyne incognita</i>	89	Killi	7.61	Hafif alkali	1.40	Tuzsuz
205 B	Osmaniye/Toprakkale	<i>Meloidogyne incognita</i>	64	Killi-tınlı	8.12	Hafif alkali	1.00	Tuzsuz
206 B	Osmaniye/Toprakkale	<i>Meloidogyne incognita</i>	58	Killi-tınlı	8.00	Hafif alkali	0.80	Tuzsuz
207 P	Osmaniye/Toprakkale	<i>Meloidogyne incognita</i>	53	Killi-tınlı	8.09	Hafif alkali	0.64	Tuzsuz
208 B	Osmaniye/Toprakkale	<i>Meloidogyne incognita</i>	69	Killi-tınlı	8.45	Hafif alkali	0.81	Tuzsuz
210 P	Osmaniye/Toprakkale	<i>Meloidogyne incognita</i>	67	Killi-tınlı	8.30	Hafif alkali	0.72	Tuzsuz
211 B	Osmaniye/Toprakkale	<i>Meloidogyne incognita</i>	65	Killi-tınlı	8.38	Hafif alkali	0.62	Tuzsuz

Ba: Bamya, B: Biber, D: Domates, F: Fasulye, P: Patlıcan

tercih ederken, diğerlerinin ise killi veya tınlı toprağı tercih ettiğini bildirmiştir. Bu çalışmada, *M. incognita*'nın tınlı, killi-tınlı ve killi, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. luci* türlerinin ise killi-tınlı ve killi toprak tekstüründe yaşayabildiği tespit edilmiştir.

Tanda ve ark. 1988, *M. incognita* türünün bitki köklerine girebilmesi için toprak pH değerinin 7 olması gerektiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, *M. incognita*'nın bulaşık olduğu arazi topraklarının pH değeri 6.91-8.04 aralığında bulunmuştur. Önceki çalışmalarda *Meloidogyne* türlerinin 4.0-8.0 arasında değişen pH seviyelerinde hayatta kaldığı ve çoğaldığı (Wallace, 1971; Ferris ve Van Gundy, 1979; Jones, 2006) belirtilmiştir. Perry (2002), 8'den büyük toprak pH'ında ise kök-ur nematodlarının yumurtadan çıkmasının hızla inaktif edildiği bildirilmiştir. Bu çalışmada tüm toprakların sadece %10'unun pH değeri 8'den yüksek çıkmıştır. Nematodların kutikülaları üzerinden organik asitler atarak, yakın çevresindeki toprağın pH'ını derinden etkilediği (Sims ve ark., 1994; 1996) ve toprağın pH'ını düşürdüğü tespit edilmiştir. Bu nedenle, kök-ur nematodlarının yoğunluğunun yüksek olduğu yerlerde, pH'ın nispeten daha düşük olduğu bildirilmiştir. Wendot (2014), pH değeri 6.0'dan yüksek olan bölgelere kıyasla, 4.0-5.5 aralığındaki pH değerine sahip alanlarda, kök-ur nematodu popülasyon yoğunluğunun daha yüksek olduğunu gözlemlemiştir. Bu çalışmada ise Gaziantep ve Osmaniye ilçelerindeki arazilerin toprak pH'larının 6'dan yüksek olması, burada bulunan kök-ur nematodu popülasyon yoğunluklarının düşük olduğunu gösterebilir.

Perry ve Moens (2006), EC ve pH gibi diğer faktörlerin popülasyon yoğunluklarını etkileyebileceğini, ancak bu faktörlerin bitki büyümesinde olumsuzluğa neden olmazsa nematod popülasyonlarını önemli ölçüde baskılayamayacağını bildirmiştir. Cadet ve ark., (2004), *M. incognita* ve *M. javanica*'nın bazı mineral tuzlarına (NaCl, NaNO₃, KCl, KNO₃, CaCl₂, Ca, NO₃H, MgCl₂, MgSO₄, FeCl₃ ve FeSO₄) karşı iticilik gösterdiğini belirtmiştir. Bu çalışmada, Gaziantep ve Osmaniye illerinde kök-ur nematodlarının bulunduğu toprakların Elektriksel İletkenlik (EC) değerleri 0.50-2.60 dS m⁻¹ arasında bulunmuş ve bu değer 4'ün altında çıktığı için tüm topraklar tuzsuz olarak değerlendirilmiştir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Kök-ur nematodları sebze veriminin baskılanmasına neden olmaktadır, ancak sebzeler de dahil bitkilere verdiği hasar çevresel koşullara göre değişmektedir. Toprak yapısı, pH ve EC kök-ur nematodlarının bitki ile etkileşimini doğrudan etkilemektedir. Bu çalışma sonucunda Gaziantep ve Osmaniye'deki *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* ve *M. luci* türleri ile bulaşık sebze alanlarının toprak yapısı, toprak

pH'i ve EC incelenmiştir. Gaziantep ve Osmaniye illerindeki kök-ur nematodlarıyla bulaşık toprak yapısının tınlı, killi-tınlı ve killi olması, kumlu topraklara kıyasla kök-ur nematodlarının dağılımını etkileyebileceğinden dolayı buradaki nematod yoğunluklarının az olduğu düşünülmektedir. Çünkü kumlu topraklar, killi topraklara göre kök-ur nematodlarının toprakta dağılmasında ve bu nematodların yoğunluklarının artmasında daha etkili olabilmektedir. Gaziantep ve Osmaniye illerindeki kök-ur nematoduyla bulaşık sebze alanlarının topraklarının pH değeri 6'dan yüksek bulunmuştur. Bu topraklardaki pH değerinin yüksek çıkması bu alanlarda yaşayan nematod popülasyon yoğunluklarının daha düşük olmasına sebep olduğu düşünülebilir. Çalışma sonunda kök-ur nematodlarının bulunduğu topraklar tuzsuz bulunmuştur. Tuzlu toprak yapılarının kök-ur nematodlarının gelişimini etkileyebileceğinden dolayı, toprakların tuzsuz çıkması, kök-ur nematodlarının gelişiminde olumsuz bir etkiye neden olmayacağını göstermiştir. Bu alanlarda bitki beslenmesine faydalı olan ve uygun şekilde uygulanan tuzların kullanılması, bitki köklerini nematod istilasından bir derece koruyabileceği düşünülmektedir. Bulaşık alanlarda kök-ur nematodlarına karşı mücadelenin planlanmasında, toprak tekstürü, pH ve elektriksel iletkenlik arasındaki ilişkinin anlaşılır bir seviyede göz önünde bulundurulmasının önemli olacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, KSÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2016/5-57 D).

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Asif M, Rehman B, Parihar K, Ganai MA, Siddiqui MA 2015. Effect of various physico-chemical factors on the incidence of root-knot nematode *Meloidogyne* spp. Infesting tomato in district Aligarh (Uttar Pradesh) India. *Journal of Plant Sciences*, 10 (6): 234-243.
- Bernstein L 1964. Salt tolerance of crop plants. U. S. Department of Agriculture Inf. Bull. 283, 23.
- Bird AF 1977. The effect of various concentrations of sodium chloride on the host-parasitic relationship of the root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*)

- and (*Glycine max* var. *Lee*). *Marcellia*, 40: 167-175.
- Cadet P, Berry S, Spaull V 2004. Mapping of interactions between soil factors and nematodes. *European Journal of Soil Biology*, 40: 77-86.
- Carneiro RMDG, Carneiro RG, Abrantes IMO, Santos MSNA, Almeida MRA 1996. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. *Journal of Nematology*, 28 (2): 177-189.
- Carneiro RMDG, Correa VR, Almeida MRA, Gomes ACMM, Deimi AM, Castagnone-Sereno P, Karssen G 2014. *Meloidogyne luci* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing different crops in Brazil, Chile and Iran. *Nematology*, 16: 289-301.
- Castro CE, Belser NO, Mckinney HE, Thomason IJ 1990. Strong repellency of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* by specific inorganic ions. *Journal of Chemical Ecology*, 16: 1199-1205.
- Davide RG 1985. Summary report on current status, progress and needs for *Meloidogyne* research in Region VI. In J. N. Sasser and C. C. Carter (Eds.), *An advanced treatise on Meloidogyne*. Raleigh, North Carolina: North Carolina State University Graphics. Biology and control, Vol. 1, 369-372.
- Decraemer W, Hunt DJ 2006. Taxonomy and principal genera. In: *Plant Nematology*. Perry, R.N., and Moens, M. (Eds.). 3-32.
- Dickson DW, Sasser JN, Huising D 1970. Comparative disc-electrophoretic protein analyses of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera*, and *Aphelenchus* spp., *Journal of Nematology*, 2 (4): 286-293.
- Dickson D, Huising D, Sasser J 1971. Dehydrogenases, acid and alkaline phosphatases and esterases for chemotaxonomy of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera* and *Aphelenchus* spp. *Journal of Nematology*, Volume 3, No 1: 1-16.
- Dropkin VH, Martin GC, Johnson RW 1958. Effect of osmotic concentration on hatching of some plant parasitic nematodes. *Nematologica*, 3: 115-126.
- Dropkin VH 1980. *Introduction to plant Nematology*. John Wiley and Sons, New York, 38-44.
- Edongali EA, Ferris H 1982. Varietal response of tomato to the interaction of salinity and *Meloidogyne incognita* infection. *Journal of Nematology*, 14: 57-62.
- Eisenback J, Hirschmann H, Sasser J, Triantaphyllou A 1981. A guide to the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.), with a pictorial key. North Carolina State University. Departments of Plant Pathology and Genetics, 112-113.
- Esbenshade PR, Triantaphyllou AC 1985. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida), *Journal of Nematology*, 17 (1): 6-20.
- Ferris H, Van Gundy SD 1979. *Meloidogyne* ecology and host interrelationships in Lambert, F., and Taylor, C.E. (Eds) *Root-knot nematodes (Meloidogyne species)*. Systematics, biology and control. Academic Press, London, 205-230.
- Goodell PB, Ferris H 1980. Plant-parasitic nematode distributions in an alfalfa field. *Journal of Nematology*, 12: 136-141.
- Greco N, Vito MD 2009. Population dynamics and damage levels. in *Root-knot nematodes* (Eds Perry, R.N., Moens, M., and Starr, J.L.) CAB international. 246-269.
- Jepson SB 1985. *Meloidogyne chitwoodi*. In: *CIH Descriptions of Plant-Parasitic Nematodes*. CAB International, Wallingford, UK. 106.
- Jones R 2006. Understanding root knot nematode and principles affecting its control. *Nematological Myths*, Volume 120, 2-4.
- Karajeh MR, Al-Nasir FM 2008. Salt suppression of *Meloidogyne javanica* on tomato. *Nematologia Mediterranea*. 185-190.
- Karataş Eken S 2007. Çankırı ve Çorum İlleri Çeltik (*Oryza sativa* L.) Ekim Alanlarındaki Bitki Paraziti Nematod Türlerinin Taksonomik Özellikleri, Yoğunlukları ve Yaygınlıkları Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü. 144.
- Karssen G 1996. Description of *Meloidogyne fallax* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae), a root-knot nematode from The Netherlands. *Fundamental and Applied Nematology* 19: 593-599.
- Kim YH 2015. Predatory nematodes as biocontrol agents of phytonematodes. In: *Biocontrol agents of phytonematodes*, Eds. by Askary, T.H., and Martinelli, P.R.P. CABI, Oxfordshire, UK. 393-420.
- Kim E, Seo Y, Kim YS, Park Y, Kim YH 2017. Effects of soil textures on infectivity of root-knot nematodes on carrot. *The Plant Pathology Journal*, 33 (1): 66-74.
- Lee DL 2002. *The biology of nematodes*. Taylor and Francis, London. 76-84.
- Machado ACZ, Dorigo OF, Carneiro RMDG, De Araújo Filho JV 2016. *Meloidogyne luci*, a new infecting nematode species on common bean fields at Paraná State, Brazil. *Helminthologia*, 53: 207-210.
- Monfort WS, Kirkpatrick TL, Rothrock CS, Mauromoustakos A 2007. Potential for site-specific management of *Meloidogyne incognita* in cotton using soil textural zones. *Journal of Nematology*, 39: 1-8.
- Mulk MM 1976. *Meloidogyne graminicola*. *CIH Descriptions of Plant-parasitic Nematodes*, Set 6, No. 87: 4.
- Norton DC 1989. Abiotic soil factors and plant-

- parasitic nematode communities. *Journal of Nematology*, 21: 299-307.
- Olabiya TI, Olayiwola AO, Ovediran GO 2009. Influence of Soil Textures on Distribution of Phytonematodes in the South Western Nigeria. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5 (5): 557-560.
- Oka Y, Yermiyahu U 2002. Suppressive effects of composts against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on tomato. *Nematology*, 4 (8), 891-898.
- Orton Williams KJ 1972. *Meloidogyne javanica*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes. Set 1, No. 3. Commonwealth Institute of Helminthology, St. Albans, UK, 4.
- Orton Williams KJ 1973. *Meloidogyne incognita*. St Albans, UK: Commonwealth Agricultural Bureau: C.I.H. Descriptions of Plant Parasitic Nematodes. Set 2, No 18.
- Orton Williams KJ 1974. *Meloidogyne hapla*. In: CIH Descriptions of Plant-parasitic Nematodes. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK. Set 3, No 31.
- Orton Williams KJ 1975. *Meloidogyne arenaria*. In: CIH descriptions of plant parasitic nematodes. CAB, St. Albans, UK. Set 5, No 62.
- Özarslandan A 2009. Türkiye'nin Farklı Bölgelerinden Alınan Kök-ur Nematodu Türlerinin (*Meloidogyne* spp.) Tanısı ve Bazı Kök-ur Nematodu Popülasyonlarının Virülenliğinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı. 84.
- Page SLJ 1985. *Meloidogyne acrona*. In: CIH Descriptions of Plant-parasitic Nematodes, Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, UK, Set 8, No. 114.
- Perry RN 2002. Hatching in: Lee, D. L. (ed.). *The biology of nematodes*. Taylor and Francis, London, 147-169.
- Perry RN, Moens M 2006. *Plant Nematology*. CABI., UK. 60.
- Prot JC 1977. Magnitude and kinetics of migration of nematode *Meloidogyne javanica* under the influence of a tomato plant. *Notebook Biology Series*, 11: 157-166.
- Prot JC, Van Gundy SD 1981a. Influence of photoperiod and temperature on migration of *Meloidogyne* juveniles. *Journal of Nematology*, 13: 217-220.
- Prot,JC, Van Gundy SD 1981b. Effect of soil texture and the clay component on migration of *Meloidogyne incognita* second stage juveniles. *Journal of Nematology*, 13 (2): 213-217.
- Rammah A, Hirschmann H 1988. *Meloidogyne mayaguensis* n. sp. (*Meloidogynidae*), a Root-knot Nematode from Puerto Rico. *Journal of Nematology*, 20 (1): 58-69.
- Rammah A, Hirschmann H 1990. Morphological Comparison of Three Host Races of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology*, 22: 56-68.
- Richards LA 1954. *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils*. United States Department of Agriculture Handbook, 60.
- Robinson A, Heald C, Flanagan S, Thames W, Amador J 1987. Geographic distributions of *Rotylenchulus reniformis*, *Meloidogyne incognita*, and *Tylenchulus semipenetrans* in the lower Rio Grande Valley as related to soil texture and land use. *Journal of Nematology*, 1: 20-25.
- Robinson E 2005. Soil type guides VR nematodes applications. Farm press ([http:// www.deltafarmpress.com/mag/farming_soil_type_guides/index.html](http://www.deltafarmpress.com/mag/farming_soil_type_guides/index.html)), 1-2.
- Santos D, Correia A, Abrantes I, Maleita C. 2019. New Hosts and Records in Portugal for the Root-Knot Nematode *Meloidogyne luci*; *Journal of Nematology*, 51: 1-4.
- Sims SM, Ho NFH, Magas LT, Geary TG, Barsuhn CL, Thompson DP 1994. Biophysical model of the transcuticular excretion of organic acids, cuticle pH and buffer capacity in gastrointestinal nematodes. *Journal of Drug Targeting*, 2: 1-8.
- Sims SM, Ho NFH, Geary TG, Thomas EM, Day JS, Barsuhn CL, Thompson DP 1996. Influence of organic acid excretion on cuticle pH and drug absorption by *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology*, 26: 25-35.
- Stare BG, Strajna, P, Susic N, Urek G, Širca S 2017. Reported populations of *Meloidogyne ethiopica* in Europe identified as *Meloidogyne luci*. *Plant Disease*, Volume 101, No 9: 1627-1632.
- Starr J, Heald C, Robinson A, Smith R, Krausz J. 1993. *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* and associated soil textures from some cotton production areas of Texas. *Journal of Nematology*, 25: 895-899.
- Tate RL 2000. *Soil Microbiology*. 2nd ed. John Wiley and Sons, New York. 1.
- Tanda AS, Atwal AS, Bajaj YPS 1988. Antagonism of sesame to the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on Okra in tissue culture. *Nematologica*, 4 (1): 78-87.
- Thuy TTT 2010. Incidence and Effect and Effect of *Meloidogyne incognita* (Nematoda: Meloidogynidae) on Black pepper plants in Vietnam. PhD Thesis. Hanoi University of Agriculture, Vietnam. 156.
- Ülgen N, Yurtsever N 1995. Türkiye Gübre ve Gübreleme Rehberi. Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Yayınları, Genel Yayın No: 209, Teknik Yayınlar No: T.66, Ankara. 172.
- Wallace HR 1963. *The Biology of Plant Parasitic Nematodes*. The Biology of Plant Parasitic Nematodes, 288.
- Wallace WL 1971. *The logic of science in sociology*.

- American Journal of Sociology. Search Journal. 139.
- Wendot KP 2014. Prediction of Root-Knot Nematode Infestation Using Soil Characteristics in Tomato Fields in Mwea, Kirinyaga County, Kenya. Degree of Master of Science in plant pathology in the school of pure and applied sciences of Kenyatta University. 81.
- Whitehead AG 1968. Taxonomy of Meloidogyne (Nematoda: Heteroderidae) with descriptions of four new species. Transactions of the Zoological Society of London, 31: 263-401.
- Van Gundy SD 1985. Ecology of Meloidogyne spp
- “Emphasis on environmental factors affecting survival and pathogenity”. Sasser J.N., Carter, C.C. (Eds). Anadvented treatise on Meloidogyne: Volume 1, Biology and Control, North Carolina State University Grafics, 177-182.
- Yiğit U 2018. Karadeniz Bölgesinde Yetiştirilen Mısır (*Zea mays* L.) Bitkilerinde Zararlı olarak Tespit Edilen Endoparazit Nematodların Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonlarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. 109.

Relationship between Some Plants Species Belonging to Brassicaceae, Chenopodiaceae and Urticaceae Families, and Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobacteria

Hasret GÜNEŞ¹, Semra DEMİR^{2*}, Ahmet AKKÖPRÜ³

^{1,2,3}Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Van Yuzuncu Yil University, Van, Türkiye

¹<http://orcid.org/0000-0003-3155-2695>, ²<http://orcid.org/0000-0002-0177-7677>, ³<http://orcid.org/0000-0002-1526-6093>

*semrademir@yyu.edu.tr

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effects of some plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) formation on [*Brassica oleracea* (cauliflower), *Spinacia oleracea* (spinach), and *Urtica urens* (stinging nettle)] belonging to Brassicaceae, Chenopodiaceae and Urticaceae families, which are known to have a negative influence on the symbiotic life formation with AMF. Two PGPR isolates that contributed to the plant's growth and served as a "mycorrhizal helper" in various hosts were predetermined at the initial stage; then they were applied to three plant species with AMF species [*Gigaspora margarita* and commercial AMF (ERS)]. The obtained results revealed that combined AMF x PGPR treatments improved the growth and morphological development parameters of cauliflower, spinach, and nettle plants. PGPR bacteria had different effects on AMF root colonization depending on the plant species. The highest root colonization rate was achieved in spinach plants with the commercial AMF treatments. Commercial AMF isolate, alone or in combination with PGPR strains, was also found to increase AMF spore density and mycorrhizal dependency in cauliflower and spinach plants. There was no significant difference in total phosphorus content in cauliflower and nettle compared to the control group, and only one application group (*G. margarita* x PGPR) in spinach plants had an increase in phosphorus content.

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 04.04.2021

Accepted : 16.08.2021

Keywords

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF),
Brassica oleracea,
Rhizobacteria,
Spinacia oleracea,
Urtica dioica

Brassicaceae, Chenopodiaceae ve Urticaceae Familyalarına Ait Bazı Bitki Türlerinin Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) ve Rhizobacteria Arasındaki İlişki

ÖZET

Bu çalışma, AMF ile simbiyotik yaşam oluşumunu olumsuz etkileyen Brassicaceae, Chenopodiaceae ve Urticaceae familyalarından bazı bitkilerin gelişimini teşvik eden rizobakterilerin (PGPR) arbusküler mikorhizal fungus (AMF) oluşumuna etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Bitki gelişimine katkıda bulunan ve çeşitli konukçularda 'mikorhizal helper' olarak adlandırılan iki PGPR izolatu ilk aşamada belirlenmiş; daha sonra AMF türleriyle [*Gigaspora margarita* ve ticari AMF (ERS)] birlikte üç bitki türüne uygulanmıştır. Çalışma sonucunda; AMF x PGPR interaksiyonun ıspanak, karnabahar ve ısırgan otunda bitki gelişim parametreleri açısından teşvik edici olduğu ortaya konmuştur. Bitki türlerine göre PGPR'in kök kolonizasyonuna etkisi değişkenlik göstermiştir. En yüksek kök kolonizasyon oranı, ticari AMF + ıspanak kombinasyonundan elde edilmiştir. Ticari AMF'nin tek başına veya PGPR ile interaksiyonu karnabahar ve ıspanağın toprak spor yoğunluğunu ve mikorhizal bağımlılığını arttırdığı görülmüştür. Bitkilerde toplam fosfor içeriği açısından karnabahar ve ısırgan otu bitkilerinde kontrol grubuna göre önemli bir farklılık olmadığı, ıspanak bitkilerinde ise sadece bir uygulama grubunun (*G. margarita* x PGPR) fosfor içeriğinde artış olduğu ortaya konmuştur.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 04.04.2021

Kabul Tarihi : 16.08.2021

Anahtar Kelimeler

Arbusküler mikorhizal funguslar (AMF),
Karnabahar,
Rhizobacteria,
Ispanak,
Işırgan otu

- To Cite :** Güneş H, Demir S, Akköprü A 2022. Relationship between Some Plants Species Belonging to Brassicaceae, Chenopodiaceae and Urticaceae Families, and Mycorrhizal Fungi and Rhizobacteria. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1350-1360. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1096156>.
- Atf İçin:** Güneş H, Demir S, Akköprü A 2022. Brassicaceae, Chenopodiaceae ve Urticaceae Familyalarına Ait Bazı Bitki Türlerinin Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) ve Rhizobacteria Arasındaki İlişki. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1350-1360. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1096156>.

INTRODUCTION

Many practices such as the protection of water and soil resources, integrated pest and disease management, organic fertilizers and beneficial microorganisms are being performed in order to achieve a sustainable agriculture (Turhan, 2005). Among these, Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) have important effects on maintaining the balance of the soil ecosystem and eliminating the negative effects of climate change (Bellgard and Williams, 2011; Erzurumlu and Kara, 2014). Mycorrhiza, which means "root fungus", has a symbiotic relationship with plant roots in the soil (Fiorilli et al. 2015). This association is generally considered a mutualistic symbiosis because of the highly interdependent relationship established between both partners (Peterson and Farquhar, 1994). The function of all mycorrhizal systems depends on the ability of the fungal symbiont in the absorption of nutrients available in inorganic and/or organic forms in soil. In most mycorrhizal types, organic C, which is derived from photosynthesis, is also transferred from the plant to fungus (Demir, 1998; Erzurumlu and Kara, 2014; Cakmakci et al. 2017). Such a relationship has not, however, been predicted regarding Brassicaceae, Chenopodiaceae and Urticaceae families (Smith and Read, 2008; Brundrett, 2009; Tushar and Satish, 2013). Lack of colonization of these families is associated with four different factors: 1- These plants are not able to secrete some basic substances to initiate root colonization. 2- The plants cannot recognize the fungus in the early stage of symbiotic life. 3- The plant creates physical obstacles for the formation of fungi colonies and 4-the plant inhibits the development of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) by secreting some antifungal compounds (Sosa-Rodriguez et al., 2013). AMF also interacts with the other useful microorganisms found in the rhizosphere. This interaction is in the form of competition or a synergistic effect (Akköprü and Demir, 2005). Some specific bacteria stimulate the germination of arbuscular mycorrhiza spores, as well as provide faster and more intensive colonization as well. They can compete with AMF and (PGPR), or interact together. Saprophytic microorganisms colonized on the plant roots within the rooting area of the plants (rhizosphere) and establish a positive relationship between them (producing plant hormones, helping plants to take nutrients from the soil); these are called root bacteria (rhizobacteria)

(Kloepper, 2003; Soylu, 2011). It has been reported that the pathogen population in the rhizosphere region is decreased with the metabolites produced by PGPRs; since these such metabolites promote plants' resistance to pests and diseases (Ciftci and Altınok, 2019). PGPRs also affect plants' sensitivity to stress conditions even though such effects has been reported to vary with the plant types, growing regions, and ecological conditions (Telek et al., 2019; Vargas et al., 2019). It has been stated that bacterial species have antagonistic effects, promoting plants' growth and development, like PGPRs. Thus, these species are used as biological fertilizers or biological control agents (Bayrak and Okmen, 2014).

In this study, the effects of PGPRs on the formation of AMF in cauliflower, spinach and nettle species were investigated. The research was carried out in two stages. To identify the two most successful bacteria that could promote plants' growth, five different bacterial isolates were inoculated to three different plant species. Initially, the selection was done according to the growth parameters; then to promote plants' growth and development and to determine the effects of PGPRs on mycorrhizal colonization, two different types of AMF were inoculated with PGPRs. Thus, the interactions of these two biological control agents with each other and the effects of these interactions were investigated.

MATERIALS and METHODS

Plant materials and growth medium

In the study, *Brassica oleracea* (cauliflower), *Spinacia oleracea* (spinach) and *Urtica dioica* (nettle) were used as the plant materials. In the first stage of the study, cauliflower, spinach, and nettle seedlings were grown in 45 plastic vials with one eye of 4.7 x 6.0 cm. In the second one, 16 x 18 cm plastic pots that could hold 3.5 kg of the mixture were used. In both stages, the material consisting of a 1:1 rate of the sterile peat-perlite mixture was used. The plants were cultivated in a climate room with a light intensity of 4000-6000 lux, 12-hour exposure time, a temperature of 22°C, and a proportionate humidity of 60-70 percent.

AMF isolates and applications

Gigaspora margarita widely used AMF species obtained from YYU Plant Protection Department, consisting of spores, extraradical mycelium, and mycorrhizal roots; and a commercial AMF composed

of different *Glomus* spp. [Endo Roots Soluble(ERS)]. These AMF inoculums were placed 5 cm below the seed depth as 10 g (25-150 spores g⁻¹) in each pot. Sterile sand was left on the seed bed in the pots without AMF application.

PGPR bacterial isolates and applications

Ochrobactrum sp. (CB36/1), *Bacillus thuringiensis* (CA41/1), *Pseudomonas fluorescens* (14/1Y), *Pseudomonas fluorescens* (30/1m) and *Pseudomonas putida* TR21/1K, which is a “mycorrhizal helper bacterium” administered with AMF were used as PGPR isolates. These isolates were obtained from Bacteriology Laboratory Stocks, Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Agriculture (Akköprü et al., 2005). King B medium was used for the growth of PGPRs. Diluted nutrient solutions were also used to supply plant nutrient requirements (Hoagland and Arnon, 1950).

The bacteria were applied to the plants three times, as previously described by Akköprü et al. (2021).

The first application (seed coating): the selected PGPR isolates were incubated in the King-B medium for 24–48 hours. Developed cultures were supplemented with 1.5% carboxymethyl cellulose (CMC). Surface-disinfected cauliflower, spinach, and stinging nettle seeds were then coated with the prepared bacterial suspension by keeping the seed within the solution for 1 hour. The coated seeds were preserved in a fridge at +4 °C overnight between drying papers and made ready for planting.

The second application (soil drenching): The bacterial suspensions were prepared as 24-hour PGPR cultures developed at the King-B medium. The concentrations of the bacterial suspensions were adjusted at 10⁸ CFU ml⁻¹ by a spectrophotometer. The bacterial suspension was applied using the drenching method with 30 mL⁻¹ seedling of the suspension when the plant reached the first leaves stage.

Third application (soil drenching): This was performed similarly one week after the second application.

AMF x PGPR application

At the end of the first stage of the study, two PGPRs were selected based on the plant development parameters, such as fresh and dry weight, and plant height for the next stage. The selected PGPRs and AMF were used together on the target plants to detect their effect on AMF colonization and plants' development. Seeds treated with AMF and PGPR as described above were planted in the growing medium. Drenching method was also used in the second and third PGPR applications.

Plants growth parameters and phosphorus analysis

The plants were kept in the climatic room at 22 ± 2 °C, 60%–70% relative humidity, and 12 h of fluorescent illumination for 8 weeks; they were harvested and the roots of the plants were cleaned by washing under tap water. Plants' weights, heights and root lengths were measured; then the dry weight of each plant was determined. The total amount of phosphorus was also determined based on the vanadomolybophosphoric yellow method (Barton, 1948). For this purpose, 5 g of each plant was dried at 70 °C for 48 h.

then 0.5 g of the extracts was weighed and 1 mL of ethyl alcohol (Merck 818,760, Germany) was added and burned. Then, 4 mL of hydrochloric acid (Merck 1.05590.2500, Germany) was added to the samples and kept at 90 °C for 15 min. The extracts were filtered and measured by a spectrophotometer (Jenway 6505 UV/vis, UK) at 430 nm (Jenway 6505 UV/VIS, UK).

Determination of AMF root colonization

Approximately, 0.5 g of the cleaned roots were weighed and cut into 1-2 cm pieces; it was made ready for fixation and staining. Roots were kept in the AFA (Ethyl Alcohol: Formaldehyde: Acetic Acid) solution until staining. Staining was performed to determine the percentage of AMF colonization (Phillips and Hayman, modified from 1970). To determine the colonization percentage of AMF in the roots stained with lactophenol blue, investigated under the light microscope (Olympus, Japan); Grid-Line Intersect Method was used for this purpose (Giovannetti and Mosse, 1980). During microscopic observations, each root fragment containing any fungal reproductive structure (hyphae, chlamyospore, vesicle and arbuscular) was considered colonized by the fungus. % AMF colonization (AC) was calculated by equation 1 (Giovannetti and Mosse, 1980);

$$AC \% = \frac{AC_R}{R} \times 100 \quad [1]$$

AC_R = number of roots colonized with AMF;

R = total number of roots

Determination of AMF spore density in soil

AMF spore density in the soil of the rhizosphere region of the plants in which AMF was inoculated was determined with the help of a fresh sieving method. Fresh rhizosphere soils were sieved through a 2 mm sieve to remove stones and plant residues, as compared to the samples passed through 80 µm and 45 µm sieves. After the liquid in the tube was centrifuged at 2000 rpm for 3 minutes, the remaining liquid was removed. Later, it was poured into a petri dish and healthy-looking spores were determined under a stereoscopic microscope; then the density of the spores in the soil was determined (g). Dependency

of application (MD) was determined with the aid of equation 2 (Declerck et al., 1995):

$$MD\% = \frac{A-B}{A} \times 100 \quad [2]$$

A = total dry weight of the application plant

B = total plant weight of the non-application plant

Statistical analyses

This study was carried out as a completely randomized experimental design with five replications. Descriptive statistics for the studied variables are presented as Mean (\bar{x}) and standard deviation (SD). One-way Factorial ANOVA was applied to the data. Treatments at different (Mycorrhiza and Rhizobacteria) concentrations were considered as the factors. Duncan's Multiple Range Test comparisons were also used to determine different treatment levels. The statistical significance level was set at 5%, and all statistical analyses were conducted using the SAS (2018) statistical program.

RESULTS

Selection of PGPR isolates

In the study, firstly, it was revealed that the effects of PGPR isolates on the morphological growth

parameters of plants differ depending on the isolates. As compared to negative control treatments, an increase was observed in some parameters with the PGPR isolates. The differences in the development parameters of the treatment groups of cauliflower plants were not, however, significant ($p > 0.05$) (Table 1). Despite this, differences in the development parameters of the treatment groups of spinach plants were significant. Among the treatment groups, CA41/1 bacteria exhibited better development on spinach plants than on the other bacterial isolates. However, the difference with CB36/1 was not statistically significant (Table 1). Despite this, the differences in the development parameters of the treatment groups of the nettle plants were significant. 14/1Y bacteria exhibited less development on the nettle plants, as compared to the other bacterial isolates among the treatment groups. The difference between other treatments was not statistically significant ($p > 0.05$) (Table 1). According to the assessments conducted on the PGPR isolates, CB36/1 and TR21/1 bacteria isolates were decided to be used in the AMF x PGPR treatments of the second stage of the study (Table 1).

Table 1. The effect of five PGPR isolates applied to the cauliflower, spinach and stinging nettle plants on the shoot length, shoot fresh weight, root fresh weight, root length, total fresh weight and total dry weight
Çizelge 1. Karnabahar, ıspanak ve ısırgan otu bitkilerine uygulanan beş PGPR izolatının sürgün uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı, kök yaş ağırlığı, kök uzunluğu, toplam yaş ağırlık ve toplam kuru ağırlık üzerine etkisi

Plants	Treatment Groups	Shoot Length	Shoot Fresh	Root Fresh	Root Length	Total Fresh	Total Dry
		(cm)	Weight (g)	Weight (g)	(cm)	Weight (g)	Weight (g)
		$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
Cauliflower	CB36/1**	10.83±2.62 ^{a*}	0.78±0.13 ^a	0.03±0.02 ^a	5.00±2.17 ^a	0.82±0.13 ^a	0.05±0.01 ^a
	CA41/1	11.88±1.26 ^a	0.76±0.21 ^a	0.04±0.03 ^a	5.00±2.46 ^a	0.79±0.24 ^a	0.04±0.01 ^a
	14/1Y	12.15±1.91 ^a	0.78±0.24 ^a	0.04±0.01 ^a	3.55±1.30 ^a	0.82±0.25 ^a	0.04±0.01 ^a
	TR21/1K	11.55±1.13 ^a	0.79±0.16 ^a	0.05±0.01 ^a	3.27±1.27 ^a	0.84±0.16 ^a	0.05±0.01 ^a
	30/1m	11.38±1.31 ^a	0.78±0.22 ^a	0.03±0.01 ^a	3.72±1.37 ^a	0.82±0.22 ^a	0.04±0.01 ^a
	NC	12.16±1.80 ^a	0.73±0.13 ^a	0.04±0.01 ^a	3.55±1.15 ^a	0.78±0.13 ^a	0.04±0.01 ^a
Spinach	CB36/1	10.00±1.05 ^{ab*}	2.06±0.55 ^a	0.12±0.07 ^a	11.10±4.22 ^{ab}	2.18±0.58 ^a	0.10±0.03 ^a
	CA41/1	10.80±1.22 ^a	2.20±0.51 ^a	0.27±0.32 ^a	12.10±2.96 ^a	2.36±0.51 ^a	0.10±0.03 ^a
	14/1Y	9.66±1.11 ^{ab}	1.94±0.29 ^{ab}	0.12±0.05 ^a	10.33±3.67 ^{ab}	2.05±0.33 ^{ab}	0.08±0.01 ^{ab}
	TR21/1K	9.12±1.35 ^b	1.50±0.41 ^{ab}	0.07±0.02 ^a	8.50±2.56 ^{ab}	1.58±0.41 ^b	0.06±0.01 ^b
	30/1m	8.90±1.79 ^b	1.78±0.62 ^{ab}	0.19±0.29 ^a	10.80±3.93 ^{ab}	1.87±0.66 ^{ab}	0.08±0.03 ^{ab}
	NC	9.90±1.44 ^{ab}	1.83±0.45 ^{ab}	0.09±0.05 ^a	8.00±3.33 ^b	1.92±0.46 ^{ab}	0.08±0.02 ^{ab}
Stinging nettle	CB36/1	20.61±5.42 ^{a*}	3.30±1.59 ^a	0.80±0.52 ^a	16.90±7.83 ^{ab}	4.09±2.06 ^a	0.22±0.10 ^{ab}
	CA41/1	21.80±2.74 ^a	2.20±0.97 ^{ab}	0.40±0.22 ^b	12.40±5.46 ^{ab}	3.23±1.11 ^{ab}	0.20±0.07 ^{ab}
	14/1Y	15.50±5.98 ^b	1.83±1.47 ^b	0.42±0.51 ^{ab}	10.70±10.69 ^b	2.25±1.95 ^b	0.14±0.12 ^b
	TR21/1K	20.20±3.04 ^a	2.80±1.19 ^{ab}	0.55±0.27 ^{ab}	17.50±6.36 ^{ab}	3.34±1.38 ^{ab}	0.19±0.05 ^{ab}
	30/1m	22.60±2.67 ^a	3.70±1.26 ^a	0.86±0.39 ^{ab}	18.90±6.67 ^a	4.52±1.63 ^a	0.23±0.08 ^{ab}
	NC	21.55±5.0 ^a	3.65±1.37 ^a	0.69±0.55 ^{ab}	19.66±9.47 ^a	4.43±1.86 ^a	0.24±0.08 ^a

* Plants were evaluated among themselves, and the means represented with the same letter in the same column are not significantly different according to Duncan's multiple comparison tests at $p < 0.05$ ** TR21/1K: *P. putida*, CB36/1: *Ochrobactrum* sp, CA41/1: *B. thuringiensis*, 14/1Y: *P. fluorescens*, 30/1m: *P. fluorescens*, NC: Negative Control.

Effects of PGPR x AMF combinations on cauliflower, spinach and stinging nettle plants

In the study, the effects of CB36/1 and TR21/1 bacterial isolates, selected according to the morphological growth parameters, on AMF colonization, mycorrhizal dependency, total phosphorus content, and plant growth were determined (Table 1). The differences in the total phosphorus contents and root dry weights of the cauliflower plants were not significant ($p>0.05$). However, the differences in the other developmental parameters were significant ($p<0.05$). The commercial mycorrhiza x CB36 / 1 and mycorrhiza AMF x TR21/1 treatment groups had greater total fresh-dry weights, in comparison to the others. Combined application of the bacterial species with the commercial AMF increased all parameters, except the shoot length. The greatest shoot diameter (4.12 cm) was observed in the commercial AMF x CB36 / 1 treatment group. Effects of the *G. margarita* AMF isolate on the morphological development parameters varied with the bacterial species (Table 2).

The differences in the shoot length, shoot diameter and root length parameters of the spinach plants were not, however, significant ($p>0.05$). Despite this, the differences in the other developmental parameters were significant ($p<0.05$). Further, the difference in the total phosphorus contents of *G. margarita* x TR21/1 and the other treatment groups was also significant ($p<0.05$). Total phosphorus content was increased with *G. margarita* x TR21/1 bacterial isolate treatments. Bacterial isolate treatments (CB36/1 and TR21/1) had greater values, as compared to single *G. margarita* and commercial AMF isolate ones. Bacterial isolates increased the investigated parameters, both alone and in combination (Table 3). The commercial AMF x TR21/1 treatment group had greater morphological development parameters related to the nettle plants, as compared to the other treatment groups. Bacterial isolates (TR21/1 and CB36/1), when applied together with the commercial AMF, promoted the plant's growth and development ($p<0.05$). The differences in the totally fresh and dry weights of the commercial AMF x CB36 / 1 and commercial AMF x TR21 / 1 treatment groups were found to be significant ($p<0.05$). The greatest total phosphorus content was observed in the control group, but the difference between the treatment groups was not significant (Table 4).

AMF root colonization, spore density, and dependency on applications

In cauliflower plants, the greatest AMF root colonization (13.68%) was observed in single commercial AMF treatments, while the lowest value

(0.48%) was recorded in single *G. margarita* treatments. It was noticed that CB36/1 and TR21/1 bacterial species increased the soil spore density. The greatest dependency (+46.34) was observed in the commercial mycorrhiza x CB36/1 treatment group. Another striking detail, as shown in Table 5, was that bacteria species (CB36/1 and TR21/1) increased dependency when applied to the commercial AMF species. Dependency was not, however, observed in the single *G. margarita* treatments (Table 5).

In spinach plants, dependency (+15.53) was observed only in the commercial mycorrhiza x CB36/1 treatment group. The differences in the AMF root colonization of AMF and *G. margarita* treatment groups were significant ($p<0.05$). There was an increase in AMF root colonization with the commercial AMF treatments (Figure 1). The highest soil spore density (38.0 spores / g soil) was seen in the *G. margarita* treatment group, while the lowest value (20.4 spores / g soil) was observed in *G. margarita* x TR21/1 treatments (Table 5). In stinging nettle plants, the greatest dependency (+43.26) was seen in the commercial AMF x TR21/1 treatment group. The differences in the AMF root colonization of the treatment groups were not, however, significant ($p>0.05$). The greatest AMF root colonization were determined in the commercial AMF treatment group. The differences in the soil spore density of the treatment groups were found to be significant ($p<0.05$) (Table 5).

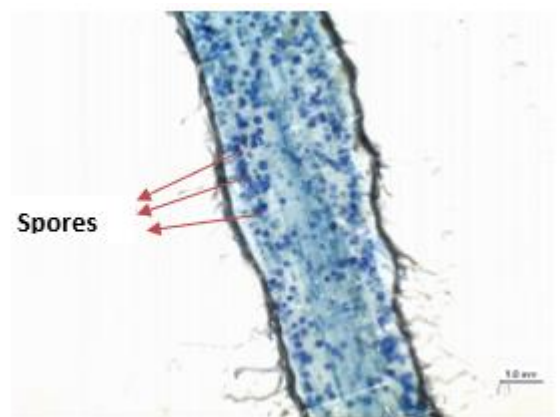


Figure 1- AMF spores of commercial AMF in root of spinach plant

Şekil 1- Ispanak bitkisinin kökündeki ticari AMF'nin AMF sporları

DISCUSSION

This study attempted to determine the effects of PGPR on the development of cauliflower, spinach, and stinging nettle plants, as well as revealing its effects on the formation and development of AMF. Thus, the interactions of these two biological agents with each other and the effects of these interactions

Table 2. The effect of AMF species and PGPR isolates applied to cauliflower plant on the shoot diameter, shoot length, root length, shoot fresh weight, root fresh weight, total fresh weight, shoot dry weight, root dry weight, total dry weight and total phosphorus content

Çizelge 2. Karnabahar bitkisine uygulanan AMF türleri ve PGPR izolatlarının sürgün çapı, sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı, kök yaş ağırlığı, toplam yaş ağırlık, sürgün kuru ağırlığı, kök kuru ağırlığı, toplam kuru ağırlık ve toplam fosfor içeriğine etkisi

Treatment Groups	Shoot Diameter (cm)	Shoot Length (cm)	Root Length (cm)	Shoot Fresh Weight (g)	Root Fresh Weight (g)	Total Fresh Weight (g)	Shoot Dry Weight (g)	Root Dry Weight (g)	Total Dry Weight (g)	Total Phosphorus Content(ppm)
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
Control	3.50±0.16 ^{bc}	24.15±1.56 ^c	24.50±1.92 ^{bc}	9.82±1.24 ^b	0.98±0.37 ^c	10.80±1.47 ^b	0.76±0.07 ^{cd}	0.11±0.26 ^a	0.88±0.09 ^{cd}	3494.5±366.6 ^a
Commercial AMF	3.76±0.58 ^{ab}	29.51±1.62 ^a	25.46±3.28 ^b	13.37±2.77 ^a	1.10±0.36 ^{bc}	14.47±3.09 ^a	1.22±0.36 ^{ba}	0.11±0.05 ^a	1.33±0.41 ^{ab}	3371.7±137.4 ^a
<i>G. margarita</i> CB36/1	3.32±0.27 ^c	26.75±2.43 ^b	23.35±2.85 ^{bc}	9.22±0.81 ^{bc}	0.97±0.51 ^c	10.17±1.06 ^{bc}	0.69±0.05 ^{cd}	0.10±0.03 ^a	0.80±0.08 ^{cd}	3834.9±416.4 ^a
TR21/1K	3.30±0.35 ^c	22.53±0.89 ^{cd}	24.90±2.24 ^{bc}	8.32±0.70 ^{bc}	0.67±0.32 ^c	9.00±0.97 ^{bc}	0.61±0.14 ^d	0.09±0.04 ^a	0.71±0.18 ^d	3173.7±345.5 ^a
Commercial AMF×CB36/1	3.57±0.13 ^{bc}	20.40±1.44 ^d	22.75±3.49 ^{bc}	7.21±0.83 ^c	0.93±0.21 ^c	8.14±0.94 ^c	0.72±0.09 ^{cd}	0.13±0.01 ^a	0.85±0.10 ^{cd}	3129.4±444.0 ^a
Commercial AMF×TR21/1K	4.12±0.18 ^a	28.40±1.75 ^{ab}	29.30±0.81 ^a	13.51±1.36 ^a	1.76±0.61 ^a	15.28±1.71 ^a	1.49±0.36 ^a	0.14±0.06 ^a	1.64±0.41 ^a	3238.7±308.4 ^a
<i>G. margarita</i> xCB36/1	3.91±0.14 ^{ab}	28.20±1.65 ^{ab}	29.15±0.97 ^a	13.34±1.95 ^a	1.59±0.32 ^{ab}	15.17±1.94 ^a	1.27±0.22 ^a	0.14±0.02 ^a	1.41±0.23 ^{ab}	3361.4±371.9 ^a
<i>G. margarita</i> xTR21/1K	4.03±0.30 ^a	20.35±2.16 ^d	22.30±2.74 ^{cb}	9.19±1.09 ^{bc}	1.07±0.35 ^{bc}	10.26±1.36 ^{bc}	0.97±0.14 ^{bc}	0.13±0.02 ^a	1.12±0.16 ^{bc}	3132.7±412.8 ^a
<i>G. margarita</i> xTR21/1K	4.08±0.25 ^a	22.70±1.79 ^{cd}	21.80±2.05 ^c	9.72±1.00 ^b	0.74±0.33 ^c	10.46±1.08 ^{bc}	0.85±0.12 ^{cd}	0.11±0.02 ^a	0.96±0.14 ^{cd}	3465.0±523.7 ^a

* Means represented with the same letter in the same column are not significantly different according to Duncan's multiple comparison tests at p<0.05.** TR21/1K: *P. putida*, CB36/1: *Ochrobactrum*

Table 3. The effect of AMF species and PGPR isolates applied to the spinach plant on the shoot diameter, shoot length, root length, shoot fresh weight, root fresh weight, total fresh weight, shoot dry weight, root dry weight, total dry weight and total phosphorus content

Çizelge 3. Ispanak bitkisine uygulanan AMF türleri ve PGPR izolatlarının sürgün çapı, sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı, kök yaş ağırlığı, toplam yaş ağırlık, sürgün kuru ağırlığı, kök kuru ağırlığı, toplam kuru ağırlık ve toplam fosfor içeriğine etkisi

Treatment Groups	Shoot Diameter (cm)	Shoot Length (cm)	Root Length (cm)	Shoot Fresh Weight (g)	Root Fresh Weight (g)	Total Fresh Weight (g)	Shoot Dry Weight (g)	Root Dry Weight (g)	Total Dry Weight (g)	Total Phosphorus Content (ppm)
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
Control	3.71±0.37 ^a	17.21±2.36	16.61±2.4	10.06±1.55	0.58±0.13 ^{ab}	10.63±1.64	0.78±0.14 ^a	0.08±0.02 ^a	0.87±0.15 ^a	5054.1±1046.
Commercial AMF	3.80±0.32 ^a b	18.10±0.97 ab	17.85±0.9 6 ^a	9.18±0.83 ^d	0.48±0.05 ^{bc} d	9.66±0.84 ^c	0.60±0.09 ^c d	0.04±0.01 ^c	0.65±0.09 ^b c	5620.5±727.2 ^b
<i>G. margarita</i> CB36/1	3.53±0.25 ^b	17.30±3.33	15.80±1.5	6.86±1.03 ^d	0.44±0.06 ^{cd}	7.30±1.08 ^c	0.47±0.07 ^d	0.04±0.01 ^c	0.52±0.07 ^c	5296.4±791.0 ^b
TR21/1K	4.13±0.62 ^a	21.33±3.18	20.15±6.3	10.12±2.09	0.54±0.16 ^{bc}	10.67±2.20	0.71±0.25 ^b	0.06±0.01 ^a	0.78±0.26 ^a	4996.1±1075.
Commercial AMFxCB36/1	4.05±0.33 ^a	21.05±3.68	16.10±2.9	17.80±4.21	0.64±0.18 ^{ab}	16.41±5.35	0.93±0.30 ^a	0.08±0.03 ^a	1.02±0.31 ^a	5415.8±1582.
Commercial AMFxCB36/1	4.17±0.57 ^a	20.50±3.04 ab	19.75±3.4 3 ^a	13.88±3.27 b	0.71±0.09 ^a	15.23±2.58 a	0.97±0.21 ^a	0.05±0.02 ^b c	1.03±0.23 ^a	4794.7±406.8 ^b
Commercial AMFxTR21/1	4.09±0.23 ^a b	20.43±1.70 ab	19.13±4.9 8 ^a	13.30±1.46 bc	0.59±0.06 ^{ab}	13.87±1.43 ab	0.74±0.13 ^a bc	0.06±0.03 ^a bc	0.81±0.10 ^a b	5238.3±639.8 ^b
<i>G. margarita</i> xCB36/1	3.96±0.62 ^a b	19.90±1.15 ab	16.40±1.0 4 ^a	9.66±3.56 ^d	0.47±0.11 ^{cd}	10.13±3.63 bc	0.66±0.08 ^c d	0.05±0.02 ^b c	0.72±0.09 ^b c	5330.5±864.5 ^b
<i>G. margarita</i> xTR21/1K	4.19±0.19 ^a	18.25±1.91 ab	18.41±4.0 7 ^a	9.72±1.69 ^d	0.42±0.05 ^d	10.13±1.76 bc	0.74±0.11 ^a bc	0.04±0.01 ^b c	0.79±0.12 ^a b	6961.7±810.4 ^a

* Means represented with the same letter in the same column are not significantly different according to Duncan's multiple comparison tests at p<0.05

** TR21/1K: *P. putida*, CB36/1: *Ochrobactrum* sp.

Table 4. The effect of AMF species and PGPR isolates applied to the stinging nettle plant on the shoot diameter, shoot length, root length, shoot fresh weight, root fresh weight, total fresh weight, shoot dry weight, root dry weight, total dry weight and total phosphorus content
 Çizelge 4. Isırgan out bitkisine uygulanan AMF türleri ve PGPR izolatlarının sürgün çapı, sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı, kök yaş ağırlığı, toplam yaş ağırlık, sürgün kuru ağırlığı, kök kuru ağırlığı, toplam kuru ağırlık ve toplam fosfor içeriğine etkisi

Treatment groups	Shoot Diameter (cm)	Shoot Length (cm)	Root Length (cm)	Shoot Fresh Weight (g)	Root Fresh Weight	Total Fresh Weight (g)	Shoot Dry Weight	Root Dry Weight (g)	Total Dry Weight (g)	Total Phosphorus Content
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
Control	6.00±1.28 ^{bc}	56.55±9.63 ^{ab}	29.25±7.12	9.56±0.84 ^{cde}	1.71±0.18	11.31±1.01 ^c	1.11±0.15	0.16±0.04 ^c	1.28±0.19	3016.7±137.2
Commercial AMF	7.07±0.72 ^{ab} _c	52.63±7.12 ^{ab} _c	32.83±5.57 _b	16.42±3.84 ^a _b	2.86±1.16 _b	19.24±4.75 ^a _b	1.60±0.30 _b	0.20±0.03 ^b _c	1.80±0.33 _b	2675.5±269.4 _a
<i>G. margarita</i> CB36/1	6.28±1.85 ^{bc}	55.25±2.03 ^{ab}	28.45±1.02	7.93±0.62 ^{cd}	1.24±0.20	9.16±0.71 ^c	1.11±0.06	0.14±0.02 ^c	1.26±0.07	2399.1±308.2
TR21/1K	5.94±0.13 ^{bc}	51.00±6.58 ^{bc}	27.51±7.13	10.53±1.84 ^c	1.65±0.66	12.18±2.44 ^c	1.11±0.15	0.16±0.05 ^c	1.28±0.19	2358.1±391.0
Commercial AMF×CB36/1	7.28±0.78 ^{ab}	56.81±2.82 ^{ab}	40.88±9.17 _a	14.31±1.51 ^b	3.41±0.25 _b	17.68±1.31 ^b _b	1.65±0.16 _b	0.25±0.10 ^a _b	1.91±0.19 _b	2593.6±325.9 _a
Commercial AMF×TR21/1	7.96±1.02 ^a	60.95±3.73 ^a	41.20±3.75 _a	16.87±1.18 ^a	4.90±1.07 _a	21.01±1.22 ^a _a	1.97±0.14 _a	0.28±0.03 ^a _a	2.26±0.13 _a	2808.6±531.5 _a
<i>G. margarita</i> xCB36/1	5.75±0.30 ^c	46.05±5.93 ^c	29.90±5.08 _b	7.53±1.01 ^e	1.65±0.15 _c	9.16±1.14 ^c	0.82±0.08 _d	0.16±0.02 ^c _d	0.98±0.10 _d	2610.6±368.9 _a
<i>G. margarita</i> xTR21/1K	5.81±0.42 ^c	56.31±5.61 ^{ab}	27.60±3.89 _b	10.10±1.79 ^c _d	1.90±0.52 _c	12.00±2.29 ^c	1.12±0.14 _c	0.18±0.03 ^c _c	1.30±0.17 _c	2392.2±513.5 _a

* Means represented with the same letter in the same column are not significantly different according to Duncan's multiple comparison tests at p<0.05

** TR21/1K: *P. putida*, CB36/1: *Ochrobactrum* sp.

Table 5. Effects of PGPR (TR21 / 1, CB36 / 1) isolates inoculated with the AMF species on the root colonization rate (%), soil spore density (spores g⁻¹ soil) and dependency (%) of the cauliflower, spinach and stinging nettle plants

Çizelge 5. AMF türleri ile inokule edilen PGPR (TR21/1, CB36/1) izolatlarının karnabahar, ıspanak ve ısırğan otu bitkilerinin kök kolonizasyonu oranı (%), toprak spor yoğunluğu (spor/g-1 toprak) ve mikorhizal bağımlılık oranı (%)'na etkisi

Plants	Treatment Groups	AMF	Root	Soil Spore Density	Dependency (%)
		Colonization (%)	(%)	(spore g ⁻¹ soil)	
		$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	
Cauliflower	Commercial AMF	13.68±2.27 ^{a*}	17.80±6.30 ^{ab}	17.80±6.30 ^{ab}	+(33.83)**
	<i>G. margarita</i>	0.48±0.66 ^c	7.80±3.42 ^c	7.80±3.42 ^c	-(10)***
	Commercial AMF x CB36/1****	2.10±2.88 ^c	12.60±1.67 ^{bc}	12.60±1.67 ^{bc}	+(46.34)
	Commercial AMF x TR21/1K	2.45±2.66 ^c	14.40±7.89 ^{abc}	14.40±7.89 ^{abc}	+(37.58)
	<i>G. margarita</i> x CB36/1	8.33±3.19 ^b	20.60±4.21 ^a	20.60±4.21 ^a	+(21.42)
	<i>G. margarita</i> x TR21/1K	1.77±2.74 ^c	17.00±4.35 ^{ab}	17.00±4.35 ^{ab}	+(8.33)
Spinach	Commercial AMF	50.51±8.58 ^{a*}	30.80±11.00 ^{ab}	30.80±11.00 ^{ab}	-(33.84)
	<i>G. margarita</i>	13.25±5.48 ^b	38.00±9.13 ^a	38.00±9.13 ^a	-(67.30)
	Commercial AMF x CB36/1	41.69±30.06 ^{ab}	32.40±9.07 ^{ab}	32.40±9.07 ^{ab}	+(15.53)
	Commercial AMF x TR21/1K	32.06±28.98 ^{ab}	31.20±12.96 ^{ab}	31.20±12.96 ^{ab}	-(7.40)
	<i>G. margarita</i> x CB36/1	29.62±11.80 ^{ab}	34.80±16.84 ^{ab}	34.80±16.84 ^{ab}	-(20.83)
	<i>G. margarita</i> x TR21/1K	31.93±22.33 ^{ab}	20.40±8.11 ^b	20.40±8.11 ^b	-(10.12)
Stinging nettle	Commercial AMF	3.45±3.17 ^{a*}	2.00±1.87 ^d	2.00±1.87 ^d	+(28.88)
	<i>G. margarita</i>	1.38±1.89 ^a	12.20±3.27 ^{cd}	12.20±3.27 ^{cd}	-(1.58)
	Commercial AMF x CB36/1	1.17±1.61 ^a	42.20±15.02 ^a	42.20±15.02 ^a	+(32.98)
	Commercial AMF x TR21/1K	0.77±1.06 ^a	26.00±8.51 ^b	26.00±8.51 ^b	+(43.26)
	<i>G. margarita</i> x CB36/1	2.58±3.53 ^a	19.40±4.39 ^{bc}	19.40±4.39 ^{bc}	-(30.61)
	<i>G. margarita</i> x TR21/1K	1.17±1.61 ^a	10.40±3.13 ^{cd}	10.40±3.13 ^{cd}	+(1.53)

* Plants were evaluated among themselves, and the means represented with the same letter in the same column are not significantly different according to Duncan's multiple comparison tests at p<0.05 ** (-): No dependency *** (+): Dependency exists **** TR21/1K: *P. putida*, CB36/1: *Ochrobactrum* sp.

were examined. In general, in all plant species, when both biological control agents were applied, an increase was achieved in the plants' growth parameters, as compared to the control plants (Tables 2, 3 and 4). Egamberdieva and Adesemoye (2016) also reported that PGPR x AMF combinations not only increased the plant growth and yield but also raised the plants' height and dry weight. It has been suggested that it could be enriched by N, P and K nutrients. In addition, the presence of a synergistic effect between PGPR x AMF combinations confirmed these results (Pérez-de-Luque et al., 2017).

Although AMFs do not have host selectivity, it has been reported that they have negative effects on forming a symbiotic life in plant species belonging to Brassicaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae and Urticaceae families (Tester et al., 1987; Smith and Read, 2008; Brundrett, 2009; Lambers and Teste, 2013; Tushar and Satish, 2013; Zuccarini and Savé, 2016).

The root secretion of these plants shows an allelopathic effect, with an adverse effect on the development of AMF (Sosa-Rodriguez et al., 2013). In addition to the allelopathic effect, non-host plant genes have been noted to be effective in these families, which are described as "non-host plants"

(Fiorilli et al., 2015). In the recent years, it has been suggested that, especially in the plants belonging to the Brassicaceae family, the loss of genes related to possible AMF symbiosis and/or the ability of plants to recognize AMF effectors can lead to the loss of their ability to form AMF symbiotic relationships during evolution (Poveda et al., 2019).

This study revealed that the treatment groups with the commercial AMF isolate improved AMF root colonization and soil spore density of cauliflower and spinach plants (Table 5) It was observed that AMF colonization rates were very low in nettle plants, as compared to the other plants (Table 5). Similar to the present study, Vierheilig et al. (1996) stated that agglutinin, a protein similar to the root structures found in the rhizomes of stinging nettle, prevented the formation of AMF hyphae and colonization, further, a mycorrhizal symbiotic relationship was not observed. In another study conducted by Gunes et al. (2019) it was revealed that the commercial AMF (ERS) isolate inoculated into spinach plant was effective in mycorrhizal dependency. Non-mycorrhizal plants harm mycorrhizal fungus with chemical weapons having an allelopathic effect since they perceive mycorrhizal fungi as pathogens that cannot establish a symbiotic relationship (Lambers and

Teste, 2013). Similarly, in the present study, the effect of the development parameters (root colonization, dependency and soil spore density) of AMFs on cauliflower, spinach and nettle, in common applications with both single and PGPR, varied, depending on the plant species. However, when PGPR and AMF are applied simultaneously, the former can provide a significant increase in the root of the plant, thus supporting the presence of AMF in the roots of these plants (Poveda et al., 2019).

Conclusions

According to the results of the present study, plants not hosting AMF may be under stress because they perceive mycorrhizal fungi as pathogens when inoculated with AMF. It was noticed that the effect of bacterial species in the rhizosphere on different plants was greater than that of AMF colonization. Therefore, it is very difficult to determine clearly how the relationship between the two microorganisms in the rhizosphere region can affect each other and how this can have an impact on the plant. However, proper AMF x PGPR x host combinations seem to contribute positively to soil health and fertility, thus helping to ensure sustainable agriculture. In addition, these findings could have a significant agronomic impact, as the combined use of both types of microorganisms can significantly improve the productivity of these important plant groups.

Contribution Rate Statement Summary of Researchers

The authors declare that they have contributed equally to the article.

Conflict of Interest Statement

The authors of the article declare that there is no conflict of interest between them.

REFERENCES

- Akköprü A, Demir S 2005. Biological control of *fusarium* wilt in tomato caused by *fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some rhizobacteria. *Journal of Phytopathology* 9: 544-550.
- Akköprü A, Demir S, Ozaktan H 2005. Effect of Different *Fluorescent Pseudomonas* (FP) isolates and an Arbuscular Mycorrhizal Fungus (AMF) *Glomus intraradices* on Some of the Morphological Parameters of Tomato and *Fusarium* Wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc) Syd. Et Hans.) in Tomato. *Journal of Agricultural Sciences* 2: 131-138.
- Akköprü A, Akat Ş, Özaktan H, Gül A, Akbaba M 2021. The long-term colonization dynamics of endophytic bacteria in cucumber plants, and their effects on yield, fruit quality and Angular Leaf Spot Disease. *Scientia Horticulturae* 282: 110005
- Barton CJ 1948. Photometric analysis of phosphate rock. *Analytical Chemistry* 11: 1068-1073.
- Bayrak D, Okmen G 2014. Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Journal of Anatolian Natural Sciences* 1: 1-13.
- Bellgard SE., Williams SE 2011. Response of mycorrhizal diversity to current climatic changes. *Diversity* 3: 8-90.
- Brundrett MC 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil* 2: 37-77.
- Cakmakci O, Cakmakci T, Durak Demirer E, Demir S, Sensoy S 2017. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi in melon (*Cucumis melo* L.) seedling under deficit irrigation. *Fresenius Environmental Bulletin* 12: 7513-7520.
- Ciftci G, Altınok HH 2019. Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Treatments of Eggplant Seeds Against Grey Mold atments of Eggplant Seeds Against Grey Mold (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) Disease. *Journal of Agriculture and Nature* 22: 421-429.
- Declerck S, Plenchette C, Strullu D. G 1995. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant Soil* 176: 183-187.
- Demir S 1998. *Studies on the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae (Vam) in some culture plants and it is role on plant growth and resistance*. Ege University, PhD Thesis.
- Egamberdieva D, Adesemoye AO 2016. Improvement of crop protection and yield in hostile agroecological conditions with PGPR-based biofertilizer formulations. In *Bioformulations: for Sustainable Agriculture*, 199-211.
- Erzurumlu GS, Kara EE 2014. Studies on Mycorrhiza in Turkey. *Turkish Journal of Scientific Reviews* 2: 55-65.
- Fiorilli V, Vallino M, Biselli C, Faccio A, Bagnaresi P, Bonfante P 2015. Host and non-host roots in rice: cellular and molecular approaches reveal differential responses to arbuscular mycorrhizal fungi. *Frontiers in Plant Science*, 6: 636.
- Giovannetti M, Mosse B 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500.
- Gunes H, Demir S, Demirer Durak, E 2019. Relationship Between Brassicaceae, Chenopodiaceae and Urticaceae Families with Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF). *Journal of Agriculture and Nature* 22: 109-115.
- Hoagland DR, Arnon DI 1950. *The water-culture*

- method for growing plants without soil.* Circular California Agricultural Experiment Station, University of California, Berkeley Calif, United States of America
- Klopper JW 2003. A review of mechanisms for plant growth promotion by PGPR. In 6th International PGPR Workshop 5-10 October 2003, India
- Lambers HP, Teste F 2013. Interactions between arbuscular mycorrhizal and non-mycorrhizal plants: do non-mycorrhizal species at both extremes of nutrient availability play the same game? *Plant Cell and Environment* 36: 1911-1915.
- Pérez-de-Luque A, Tille S, Johnson I, Pascual-Pardo D, Ton J, Cameron DD 2017. The interactive effects of arbuscular mycorrhiza and plant growth-promoting rhizobacteria synergistically enhance host plant defences against pathogens. *Scientific reports* 1: 16409.
- Peterson RL., Farquhar ML 1994. Mycorrhizas-integrated development between root and fungi. *Mycologia* 3: 311-326.
- Phillips JM, Hayman DS 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British mycological Society* 1: 158-IN18.
- Poveda J, Hermosa R, Monte E, Nicolás C 2019. *Trichoderma harzianum* favours the access of arbuscular mycorrhizal fungi to non-host Brassicaceae roots and increases plant productivity. *Scientific Reports* 9: 1150.
- SAS 2018. SAS/SASTAT. Statistical analysis system for Windows. Release 9.4. SAS Institute Inc.
- Smith SE., Read DJ 2008. Mycorrhizal symbiosis. 3 th Ed., Academic Press, London, pp. 800
- Sosa-Rodriguez T, Declerck S, Granet F, Gaurel S, Van Damme E J, Boulois HD 2013. Hevea brasiliensis and *Urtica dioica*, impact the in vitro mycorrhization of neighbouring *Medicago truncatula* seedlings. *Symbiosis Journal* 60: 123-132.
- Soylu S 2011. Possible Use of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Against White Mould Disease (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) in Lettuce Plant (*Lactuca sativa* L.). *Alatarım* 2: 85-93.
- Telek U, Akıncı İE, Kusek M 2019. The Effects of Rhizobacteria Strains on Yield and Plant Characteristics of Red Hot Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agriculture and Nature* 1: 62-70.
- Tester M, Smith SE, Smith FA 1987. The phenomenon of "non-mycorrhizal" plants. *Canadian journal of botany* 3: 419-431.
- Turhan Ş 2005. Sustainability in Agriculture and Organic Farming. *Turkish Journal of Agricultural Economics*, 1: 13-24.
- Tushar K, Satish B 2013. Incidences of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in urban farming of mumbai and suburbs. *International Research Journal of Environment Sciences*, 1: 12-18.
- Vargas R, Kenney AM, Bilinski T 2019. Variable Influences of Water Availability and Rhizobacteria on the Growth of *Schizachyrium scoparium* (Little Bluestem) at Different Ages. *Frontiers in microbiology*, 10: 860.
- Vierheilig H, Iseli B, Alt M, Raikhel N, Wiemken A, Boller T 1996. Resistance of *Urtica dioica* to mycorrhizal colonization: a possible involvement of *Urtica dioica* agglutinin. *Plant and Soil*, 183: 131-136.
- Zuccarini P, Savé R 2016. Three species of arbuscular mycorrhizal fungi confer different levels of resistance to water stress in *Spinacia oleracea* L. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 5: 851-854.

Efficacy of the *Laurus nobilis* oils (Lauraceae) on Controlling of *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae)

Veli ÇELİKTAŞ¹, Hande OTU BORLU², Sema DÜZENLİ³, Asime Filiz ALIŞKAN KEÇE⁴

¹Amasya University Suluova Vocational High School Department of Plant and Animal Production, Amasya, Türkiye, ^{2,3}Çukurova University Faculty of Science and Letters, Biology Department, Adana, Türkiye, ⁴Çukurova University, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Adana, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-7753-1422>, ²<https://orcid.org/0000-0002-0381-7345>, ³<https://orcid.org/0000-0002-2506-6415>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-9330-1958>

✉: hotu@cu.edu.tr

ABSTRACT

In this study efficacy of essential and fixed oil of *Laurus nobilis* L., on controlling *Aphis fabae* Scopoli that grows on *Vicia faba* L. (Fabaceae) has been studied by experiments set up in the laboratories of Çukurova University Biology and Plant Protection Departments in 2016-2017. Fixed oils had previously been found to be effective on aphids according to death rate and Abbott test values, but they had also phytotoxic effects on plants. Therefore, the essential oils were preferred in the present study. In essential oil solution applications (prepared with hexane and glycerol monostearate), 100 µL mL⁻¹ and overdoses caused significant phytotoxicity and according to the results hexane significantly caused the death of aphids, therefore, the study was continued without the use of hexane. The effects of hexane-free solutions prepared with glycerol monostearate were found statistically differences (p<0,05) between doses (5, 10, 25, 50 µL mL⁻¹). Especially the death rate and Abbott test results were higher at 25 and 50 µL mL⁻¹ doses; however, no statistically significant difference was found 25 and 50 µL mL⁻¹ doses. In addition, it was noticed that glycerol monostearate caused the death of aphids in the control group. Therefore, Tween 80 was used instead of glycerol monostearate in the last applications. In applications that prepared by Tween80, 25 and 50 µL mL⁻¹ doses were found statistically significant (p<0,05) when compared to other doses (5 and 10 µL mL⁻¹)but 50 µL mL⁻¹ dose had phytotoxic effects. According to the results of this study, it is concluded that 25 µL mL⁻¹ essential oil dose prepared by Tween 80 is the most suitable dose on aphid control.

Plant protection

Research Article

Article History

Geliş Tarihi : 22.01.2021

Kabul Tarihi : 11.11.2021

Keywords

Aphis fabae,
Essential oil,
Fixed oil,
Laurus nobilis,
Pesticide

Aphis fabae (Hemiptera: Aphididae) Mücadelesinde *Laurus nobilis* (Lauraceae) Yağlarının Etkinliğinin Belirlenmesi

ÖZET

Bu çalışmada bakla (*Vicia faba* L.) bitkisi üzerinde bulunan *Aphis fabae* Scopoli ile mücadelede *Laurus nobilis* L. bitkisinden elde edilen uçucu ve sabit yağların kullanılabilirliği Çukurova Üniversitesi Biyoloji ve Bitki Koruma Bölümleri laboratuvarlarında 2016-2017 yıllarında kurulan denemelerle araştırılmıştır. Sabit yağlar afidler üzerinde oldukça etkili olmasına karşın fitotoksik etkilere sahiptir. Bu sebeple çalışmalarda uçucu yağlar tercih edilmiştir. Hekzan ve Gliserol monostreat ile hazırlanan uçucu yağ dozlarından, özellikle 100 µL mL⁻¹ ve üzerindeki dozlar fitotoksikiteye neden olmuştur. Sonuçlara göre hekzanın afit ölümlerine neden olduğu anlaşılmış ve çalışmaya hekzan kullanılmadan devam edilmiştir. Gliserol monostreat ile hazırlanan hekzansız uygulamaların etkileri önemli ve anlamlı bulunmuştur. Özellikle 25 ve 50 µL mL⁻¹ dozlarında ölüm oranları ve Abbott testi değerleri yüksek bulunmuştur. Ayrıca gliserin monostreatın kontrol grubunda

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Received : 22.01.2021

Accepted : 11.11.2021

Anahtar kelimeler

Aphis fabae,
Uçucu yağ,
Sabit yağ,
Laurus nobilis,
Pestisit

afit ölümüne yol açtığı farkedildiğinden çalışmaya Tween80 kullanılarak devam edilmiş ve istatistiksel olarak 25 ve 50 µL mL⁻¹ dozlarının sonuçları önemli bulunmasına karşın 50 µL mL⁻¹ dozunda bitkilerde fitotoksite gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara göre Tween80 ile hazırlanan 25 µL mL⁻¹ uçucu yağ dozunun afitlerle mücadelede en uygun doz olduğu sonucuna varılmıştır.

Atf Şekli: Çelikaş V, Otu Borlu H, Düzenli S, Çalışkan Keçe AF 2022. *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae) mücadelesinde *Laurus nobilis* (Lauraceae) yağlarının etkinliğinin belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1361-1368. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.866824>

To Cite : Çelikaş V, Otu Borlu H, Düzenli S, Çalışkan Keçe AF 2022. Efficacy of *the Laurus nobilis* oils (Lauraceae) on Controlling of *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae). KSU J. Agric Nat 25 (6): 1361-1368. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.866824>

INTRODUCTION

Laurus nobilis L. is the member of family Lauraceae. It is grown commercially in Türkiye, Algeria, Morocco, Portugal, Spain, Italy, France, and Mexico (Barla et al., 2007). Although it is known that whole plant organs include chemical compounds. Methyl eugenol and 1,8-cineole levels of leaves differ from other parts of plant (Fiorini et al., 1997; Marzouki et al., 2009). However, fruits are rich in terms of fixed oil. These oils have too many secondary metabolites and are used against different organisms such as insects and bacteria (Güncan and Durmuşoğlu, 2004; Merghni et al., 2015).

Aphids are known as one of the most important pests (Völkl and Stechmann, 1998) and cause many economically problems in agricultural areas (Yeo, 2000). Although insecticides have a major role in the control management of this pest, in particular high doses of pesticides cause dangerous problems for public health and environment.

Chemical pesticides cause many negative effects on agricultural products and soil because they can remain on plants and soil without being dissolved. For these reasons, alternative and environmentally-friendly control methods should be used instead of chemical pesticides. Nowadays, herbal extracts are used against pests. These extracts usually consist of organic compounds that do dissolve quicker than chemical pesticides and do not cause residue problems on soil and agricultural products. Essential oils are secondary metabolites that can be used as an environmental-friendly control method against aphids. This current study aims to investigate the effects and availability of the oils obtained from the fruits and leaves of *L. nobilis* plant in control of *A. fabae*.

MATERIAL and METHODS

Preparing the Reproduction Culture for Aphids

Vicia faba (broad bean) seedlings were used for reproducing aphids. For this purpose, *V. faba* seeds, obtained from Department of Field Crops, Çukurova University, were imbibed for 3 h in distilled water after being disinfected in 2% sodium hypochlorite for

5 min in controlled climate room. Four seeds sown in the plastic pots (bottom diameter 12 cm, top diameter 17 cm and height 15 cm) had a ratio of 1: 1: 1 soil: sand: perlite, respectively. The conditions of climate room were 22/26°C night and day temperature, 120 µmolm⁻².s⁻¹ light density, 8/16 hour's of photoperiod and 70-80% humidity. When seedlings stage became four-leafed, plants were taken to climate room in Plant Protection Department, Çukurova University. Also, aphids were collected from broad bean field from Adana/Karaisalı region. Furthermore, the taxonomic description of aphids was made by Asime Filiz ÇALIŞKAN KEÇE.

Preparing the Samples for Oil Applications

For providing fixed and essential oils, leaves and fruits of *L. nobilis* were picked up from Adana city centre and dried in darkness. The herbarium specimens of the plant were stored in the Eastern Mediterranean Region Herbarium of Çukurova University (sample number: 315).

The Extraction and Preparation of the Concentrations of Fixed Oils

For obtaining fixed oil, dried laurel fruits were grinded and placed in soxhlet extractor with cellulose cartridge and closed by blue band filter paper. The system, which was set up with heater coat, flask and as organic solvent n-hexane in it, was operated at 40-50°C for 3 h. The acquired oil was kept at +4°C temperature and in darkness until its application. Solutions (0-0.5-1-5-10-20 mg mL⁻¹ doses) were prepared with n-hexane as solvent and glycerol monostearate as an emulsifier.

The Extraction and Preparation of the Concentrations of Essential Oils

Essential oils were obtained from dried and ground laurel leaves with the hydro-distillation method by using a Clevenger apparatus. For distillation, 1 L of distilled water was added to 100 g of dry leaf sample on a Clevenger system and boiled for 3 h and essential oils were obtained. Oil was kept at +4°C temperature and in darkness until its application.

Essential oil solutions (0-5-10-25-50-75-100-125-150-200-300-400 and 500 $\mu\text{L mL}^{-1}$ doses) were prepared with hexane-non hexane; glycerol monostearate or Tween 80.

Application of Oils against Aphids

Oil solutions were applied on aphids which were grown on broad bean leaves with three replicates. For this purpose, Petri dishes (diameter 60 mm and height 15 mm) including 1.5% prepared agar and a

broad bean leaf were placed as infection atmosphere in it. In addition, ten aphids, which were in the wingless adult stage, individuals were infected with watercolor brush. Oil solutions were sprayed on Petri dishes three times with equal flow caps. The edges of Petri dishes were covered with parafilm after application and placed into climate cabinets. Dead individuals were checked at 24, 48 and 72 h after oil application. Figure 1 shows a general view of Petri dishes after application.



Figure 1. General views of petri dishes after application of oil solution to the aphids living on broad bean leaves.
Şekil 1. Bakla yaprakları üzerinde yaşayan afitlere yağ çözeltileri uygulandıktan sonra petri kaplarının genel görünümü

Statistical analyses

The data was analyzed by Duncan tests, and interactions within applications and application times were determined by Univariate Analysis of Variance. These tests were performed by using SPSS Statistics 20.0 (IBM Corporation, New York, NY, USA).

RESULTS and DISCUSSION

Results of Fixed Oil Applications

Average numbers of dead aphids after fixed oil applications were shown in Table 1 and Figure 2.

In fixed oil applications, deaths were found significant ($p < 0,05$) when compared to other doses (especially 10 and 20 mg mL^{-1}) (ANOVA, Duncan). Also, interaction of exposure durations and oil applications was found meaningful (Univariate ANOVA, $p < 0,05$). Fixed oils are solid at room temperature and remain a long time on the application surface. Therefore, it was thought that the deaths were caused by impermeable surface on the insects that occurred after fixed oils application.

Table 1. Average insect deaths after fixed oil (0.5-20 mg mL^{-1}) applications (dissolving in hexane).

Çizelge 1. Sabit yağ uygulamaları (0.5-20 mg mL^{-1}) sonrasında ortalama böcek ölümleri (heksanda çözdürülerek).

Applications (mg mL^{-1}) (Uygulamalar (mg mL^{-1}))	Average Death (Ortalama Ölüm)		
	24 hours (24 saat)	48 hours (48 saat)	72 hours (72 saat)
Control	1.67±0.89 ^b	8.00±0.57 ^{ab}	9.67±0.33 ^{ab}
0.5	2.00±0.58 ^b	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a
1	1.67±1.20 ^b	7.67±1.45 ^b	7.67±1.45 ^b
5	3.67±1.45 ^b	9.67±0.33 ^{ab}	9.67±0.33 ^{ab}
10	7.33±0.33 ^a	10.0±0.00 ^a	10.0±0.00 ^a
20	10.00±0.00 ^a	10.0±0.00 ^a	10.0±0.00 ^a

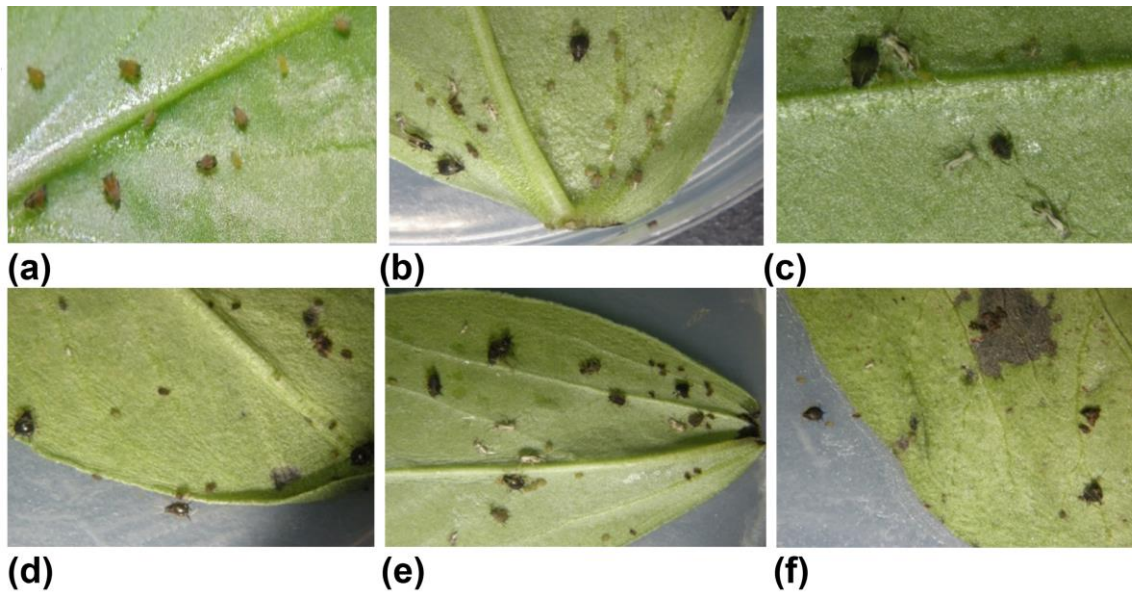


Figure 2. Efficacy of fixed oils on broad bean leaves and aphids (dissolving in hexane, using glycerol monostearate as emulsifier). (a) Control; (b) 0.5 mg mL⁻¹; (c) 1 mg mL⁻¹; (d) 5 mg mL⁻¹; (e) 10 mg mL⁻¹ and (f) 20 mg mL⁻¹.

Şekil. Sabit yağların bakla yaprakları ve afidler üzerindeki etkileri (heksanda çözülürülerek, emülgatör olarak gliserol monostearat kullanılarak) (a) Kontrol; (b) 0.5 mg mL⁻¹; (c) 1 mg mL⁻¹; (d) 5 mg mL⁻¹; (e) 10 mg mL⁻¹ and (f) 20 mg mL⁻¹.

Results of Essential Oil Applications

The efficacy of essential oils, solved in hexane (with glycerol monostearate as emulsifier) on insect death are shown in Table 2. The general view of these experiments was given in Figure 3.

Individual effects and interactions of dose and exposure duration are found significant on insect death by comparing them with control during essential oil applications (solved in hexane with emulsifier glycerol monostearate). While there is no significant difference in interdoses, an increase of exposure duration was found significant ($p < 0.05$). When days are evaluated in themselves, there was no

statistically significant difference between them. 100 $\mu\text{L mL}^{-1}$ and higher doses were phytotoxic on broad bean leaves as shown in Figure 3. Hexane was thought as toxic. Therefore GMC, and Tween 80 were used as a solvent in essential oil experiments.

Effects of essential oils prepared with glycerol monostearate (without hexane) are shown in Table 3. The pictures of these applications are given in Figure 4.

In glycerol monostearate applications, interaction of exposure durations and oil applications were not found significant ($p < 0,05$).

Table 2. Average insect deaths after essential oil (0-200 $\mu\text{L mL}^{-1}$) applications (dissolving in hexane, using glycerol monostearate as emulsifier).

Çizelge 2. Uçucu yağ uygulamaları (0-200 $\mu\text{L mL}^{-1}$) sonrasında ortalama böcek ölümleri (heksanda çözülürülerek, emülgatör olarak gliserol monostearat kullanılarak).

Applications ($\mu\text{L mL}^{-1}$) (Uygulamalar ($\mu\text{L mL}^{-1}$))	Average Death (Ortalama Ölüm)		
	24 hours (24 saat)	48 hours (48 saat)	72 hours (72 saat)
Control	1,67±0.89 ^c	8.0±0.57 ^b	9.67±0.33 ^a
25	5.00±1.52 ^b	10.0±0.00 ^a	10.0±0.00 ^a
50	10.00±0.00 ^a	10.0±0.00 ^a	10.0±0.00 ^a
75	9,67±0.33 ^a	10.0±0.00 ^a	10.0±0.00 ^a
100	9.67±0.33 ^a	10.0±0.00 ^a	10.0±0.00 ^a
125	9.00±0.57 ^a	10.0±0.00 ^a	10.0±0.00 ^a
150	8.67±1.33 ^a	10.0±0.00 ^a	10.0±0.00 ^a
200	9.67±0.33 ^a	10.0±0.00 ^a	10.0±0.00 ^a

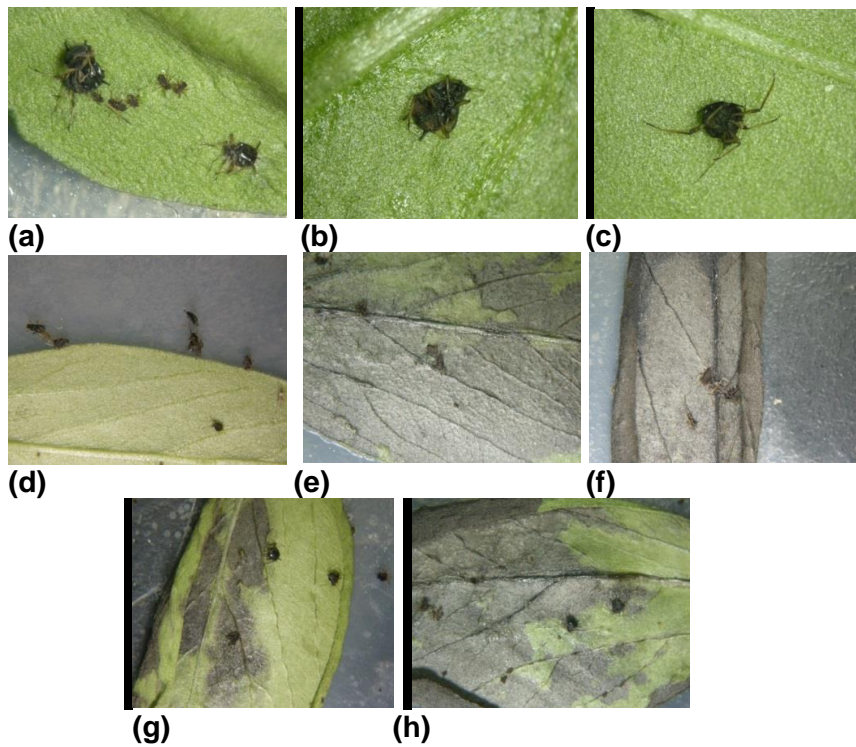


Figure 3. Effects of essential oils on broad bean leaves and aphids (dissolving in hexane, using glycerol monostearate as emulsifier). (a) Control; (b) 25 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (c) 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (d) 75 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (e) 100 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (f) 125 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (g) 150 $\mu\text{L mL}^{-1}$ and (h) 200 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

Şekil 3. Uçucu yağların bakla yaprakları ve afidler üzerindeki etkileri (heksanda çözülürülerek, emülgatör olarak gliserol monostearat kullanılarak) (b) 25 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (c) 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (d) 75 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (e) 100 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (f) 125 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (g) 150 $\mu\text{L mL}^{-1}$ and (h) 200 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

Table 3. Average insect deaths after essential oil (0-50 $\mu\text{L mL}^{-1}$) applications (Without hexane, using glycerol monostearate as emulsifier).

Çizelge 3. Uçucu yağ uygulamaları (0-50 $\mu\text{L mL}^{-1}$) sonrasında ortalama böcek ölümleri (heksansız, emülgatör olarak gliserol monostearat kullanılarak).

Applications ($\mu\text{L mL}^{-1}$) (Uygulamalar ($\mu\text{L mL}^{-1}$))	Average Death (Ortalama Ölüm)		
	24 hours (24 saat)	48 hours (48 saat)	72 hours (72 saat)
Control	0.33±0.33 ^a	1.33±0.89 ^a	4.66±1.45 ^a
5	0.33±0.33 ^a	0.67±0.33 ^a	2.33±1.85 ^a
10	0.67±0.33 ^a	1.33±0.33 ^a	1.33±0.33 ^a
25	1.67±0.89 ^a	2.33±0.89 ^a	5.33±1.67 ^a
50	0.67±0.33 ^a	1.67±0.33 ^a	4.33±0.67 ^a

The averages of death insects after essential oil repetition (0-50 $\mu\text{L mL}^{-1}$) without hexane (Tween 80 as emulsifier) are shown in Table 4. The images of these applications are given in Figure 5.

Although dose and exposure duration interaction were seen statistically not important (Univariate ANOVA, $p < 0,05$), the dose became meaningful when the exposure time increased. Between dose groups, especially 25 and 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$ essential oil concentrations were found significant (ANOVA, $p < 0,05$). But it was shown that, 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$ essential oil dose caused phytotoxicity on broad bean leaves.

DISCUSSION

Jemâa et al. (2012) stated that *L. nobilis* essential oils had toxic and repelling effects on pests such as *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Similarly, Saim and Meloan (1986) expressed that laurel essential oils; benzaldehyde, hesperidin and geraniol contents have affected *T. castaneum* negatively. Laurel oil had an antifungal activity with 8-cineole, linalool, terpineol acetate, methyl eugenol content (De Corato et al., 2010; Santamarina et al., 2016). In this present study, it is

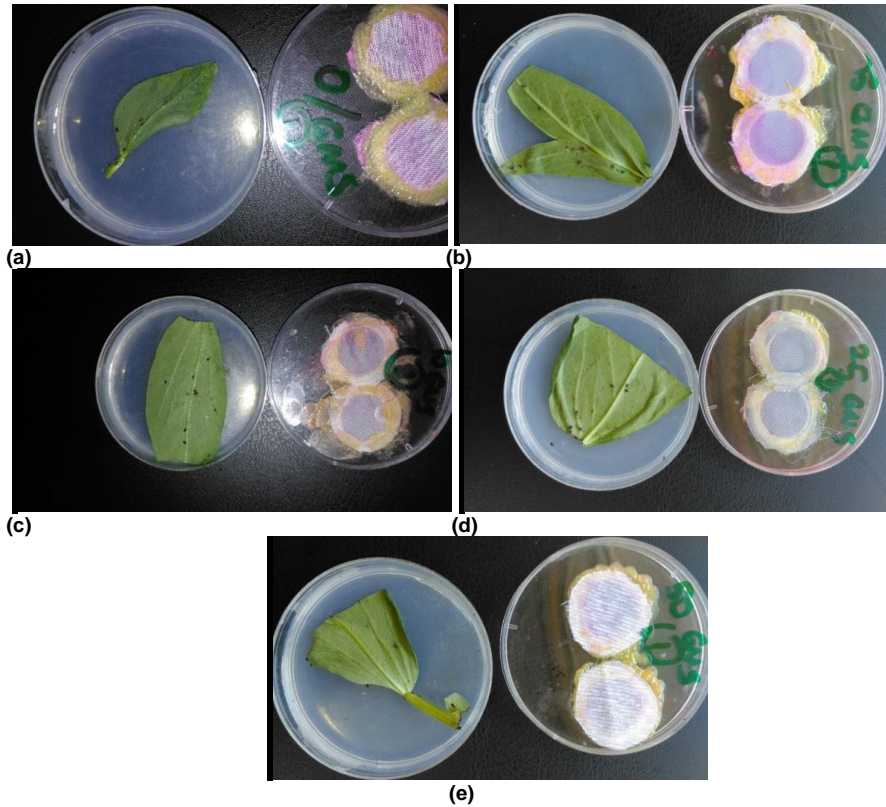


Figure 4. Effects of essential oils on broad bean leaves and aphids (without hexane, using glycerol monostearate as emulsifier) (a) Control; (b) 5 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (c) 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (d) 25 $\mu\text{L mL}^{-1}$ and (e) 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

Şekil 4. Uçucu yağların bakla yaprakları ve afidler üzerindeki etkileri (emülgatör olarak gliserol monostearat kullanılarak) (a) Kontrol; (b) 5 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (c) 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$; (d) 25 $\mu\text{L mL}^{-1}$ and (e) 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

Table 4. Average insect deaths after essential oil (0-50 $\mu\text{L mL}^{-1}$) applications (Without hexane, using Tween 80 as emulsifier)

Çizelge 4. Uçucu yağ uygulamaları (0-50 $\mu\text{L mL}^{-1}$) sonrasında ortalama böcek ölümleri (heksansız, emülgatör olarak Tween 80 kullanılarak)

Applications ($\mu\text{L mL}^{-1}$) (Uygulamalar ($\mu\text{L mL}^{-1}$))	Average Death (Ortalama Ölüm)		
	24 hours (24 saat)	48 hours (48 saat)	72 hours (72 saat)
Control	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	3.00±1.52 ^{ab}
5	0.33±0.33 ^{ab}	1.00±0.00 ^{ab}	1.67±0.67 ^b
10	0.33±0.33 ^{ab}	1.33±0.89 ^{ab}	4.33±0.67 ^{ab}
25	1.33±0.33 ^a	2.00±0.58 ^a	4.00±1.15 ^{ab}
50	0.33±0.33 ^{ab}	2.67±0.67 ^a	6.33±1.85 ^a

determined that both essential and fixed oils of *L. nobilis* were effective against aphids. Considering the application of the component obtained using the fixed oils of *L. nobilis* fruit, all aphids died within the first two days. Especially, whole aphids of the first two repetitions have died at 20 mg mL^{-1} dose in 24 h. This effect may be correlated with fixed oil's high density and making contact effect by solidifying at room temperature. Although fixed oils were effective on aphids, 5 mg mL^{-1} and higher doses caused phytotoxic effects such as blights on leaves. It was found more appropriate to use essential oils since it is estimated that fixed oil may cause phytotoxicity because it

creates a layer on the plant that causes adverse effects on the benefit from sunlight effectively and stomatal conductivity.

Considering the singular effect of hexane and glycerol monostearate used to prepare the oil-water emulsion, it was considered to be appropriate to repeat the experiments without using hexane because of its high lethal effects on aphids. Regarding the individual effect of glycerol monostearate, there were not any important changes, but because of high mortality in the control group, it was decided to use Tween 80 as an emulsifier.

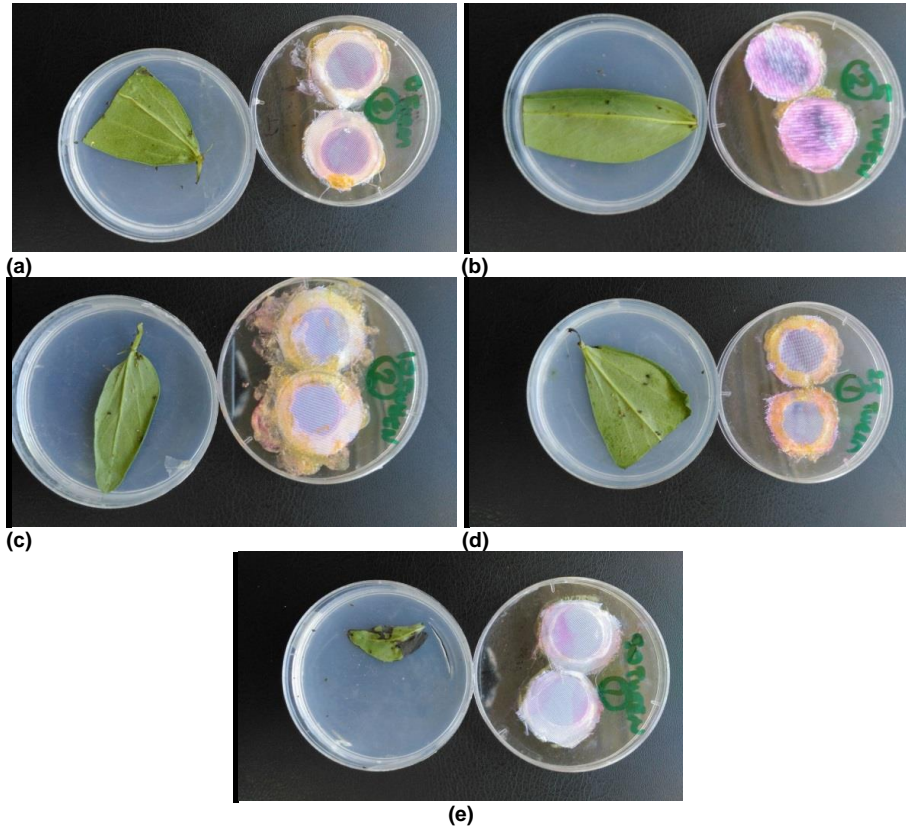


Figure 5. Efficacy of essential oils on broad bean leaves and aphids (using Tween 80 as emulsifier). (a) Control;(b) 5 µL mL⁻¹; (c) 10 µL mL⁻¹; (d) 25 µL mL⁻¹and (e) 50 µL mL⁻¹.

Şekil 5. Uçucu yağların bakla yaprakları ve afitler üzerindeki etkileri (emülgatör olarak Tween 80 kullanılarak) (a) Kontrol;(b) 5 µL mL⁻¹; (c) 10 µL mL⁻¹; (d) 25 µL mL⁻¹and (e) 50 µL mL⁻¹

According to this study, considering the Tween 80 applications, especially 25 and 50 µL mL⁻¹ doses were found appropriate because of phytotoxic effect of 50 µL mL⁻¹dose, and it was decided 25 µL mL⁻¹dose was more applicable.

CONCLUSION

It could be advised to use 25 µL mL⁻¹ essential oil dose (prepared with Tween80) against aphids on the broad bean.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the Scientific Research Projects Unit of Cukurova University who financed this work (FBA-2016-6182), Prof. Dr. M. Rifat ULUSOY who helped us in the writing phase and in obtaining the laboratory and also Prof. Dr. Saliha KIRICI for suggestions on herbal extraction methods.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

Statement of Conflict of Interest

The authors have declared no conflict of interest

REFERENCES

Barla A, Topçu G, Öksüz S, Tümen G, Kingston DG 2007. Identification of cytotoxic sesquiterpenes

from *Laurus nobilis* L. Food chemistry 104(4): 1478-1484.

De Corato U, Maccioni O, Trupo M, Di Sanzo G 2010. Use of essential oil of *Laurus nobilis* obtained by means of a supercritical carbon dioxide technique against post harvest spoilage fungi. Crop Protection 29(2): 142-147.

Fiorini C, Fouraste I, David B, Bessiere JM 1997. Composition of the Flower, Leaf and Stem Essential Oils from *Laurus nobilis*. Flavour and fragrance journal 12(2): 91-93.

Günçan A, Durmuşoğlu E 2004. Bitkisel Kökenli Doğal İnsektisitler Üzerine Bir Değerlendirme. Hasad 233: 26-32.

Jemâa J. MB, Tersim N, Toudert KT, Khouja ML 2012. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. Journal of Stored Products Research 48: 97-104.

IBM Corp (2011) Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY

Marzouki H, Khaldi, A, ChamLi R, Bouzid S, Piras A, Falconieri D, Marongiu, B 2009. Biological activity evaluation of the oils from *Laurus nobilis* of Tunisia and Algeria extracted by supercritical

- carbon dioxide. Natural product research 23(3): 230-237.
- Merghni A, Marzouki H, Hentati H, Aouni M, Mastouri M 2016. Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. Current Research in Translational Medicine 64(1): 29-34.
- Saim N, Meloan CE 1986. Compounds from leaves of bay (*Laurus nobilis* L.) as repellents for *Tribolium castaneum* (Herbst) when added to wheat flour. Journal of Stored Products Research 22(3): 141-144.
- Santamarina MP, Roselló J, Giménez S, Blázquez MA 2016. Commercial *Laurus nobilis* L. and *Syzygium aromaticum* L. Merr. & Perry essential oils against post-harvest phytopathogenic fungi on rice. LWT-Food Science and Technology 65: 325-332.
- Völkl W, Stechmann DH 1998. Parasitism of the black bean aphid (*Aphis fabae*) by *Lysiphlebus fabarum* (Hym., Aphidiidae): the influence of host plant and habitat. Journal of Applied Entomology 122(1-5): 201-206.
- Yeo H 2000. Mycoinsecticides for aphid management: a biorational approach. University of Nottingham, Doctoral dissertation, 319 p.

Zonguldak İlinde Plum pox virus'un Tespiti, Karakterizasyonu ve Takibi

Ali Ferhan MORCA¹, Sevgi COŞKAN², Birol AKBAS³

^{1,2,3} Ankara Zırai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Ankara

¹<https://orcid.org/0000-0002-7480-922X>, ²<https://orcid.org/0000-0002-3589-6041>, ³<https://orcid.org/0000-0001-9797-7536>

✉: ferhan.morca@gmail.com

ÖZET

Plum pox virus (PPV) Türkiye'de ilk olarak 1968 yılında Edirne ilinde tespitinden sonra birçok meyve bahçesinde saptanmıştır. Ülkesel keşif ve takip sürveyleri kapsamında PPV'nin varlığının araştırılması için Zonguldak ilinde 2019-2021 yılları arasında toplam 2539 örnek toplanmıştır. Toplanan örnekler içinde aynı ev bahçesine ait 6 adet erik ağacının yapılan DAS-ELISA ve RT-PCR sonucunda PPV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Enfekteli olduğu belirlenen 6 adet izolatın P3, 6K1, CI ve CP gen bölgelerini içeren toplam 1533 nükleotitik diziler GenBank'a kaydedilmiştir. Zonguldak PPV-izolatlarına ait diziler ile yapılan BlastN analizi sonucunda yüksek benzerlik oranı ile PPV-M ırkına ait olduğu belirlenmiştir. Enfekteli izolatlar için Maximum Likelihood (ML), Maximum Parsimony (MP) ve Bayesian Inference (BI) yöntemleri ile gerçekleştirilen filogenetik ağaçta da PPV-M ırkı ile kümelendiği gözlemlenmiştir. Enfekteli ağaçların imhasından sonra da aynı lokasyon ve bütün ilde yapılan sistematik sürveyler ve laboratuvar analizlerine iki yıl süre ile devam edilmiştir. Yapılan yoğun takip sürveyleri çerçevesinde ve laboratuvar analizleri sonucunda, Zonguldak ilindeki bahçelerin PPV'den arındırılması sağlanmış ve 1 km çapındaki alanda tampon bölge oluşturulmuştur. Tampon bölge içerisinde 3 yıl süreyle *Prunus* türlerinin yetiştiriciliği yasaklanmış, takip ve gözlem çalışmaları sonucunda bölgenin virüsten ari olması sağlanmıştır.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 28.10.2021

Kabul Tarihi : 20.12.2021

Anahtar Kelimeler

Şarka

Erik

Filogenetik

PPV-M

Virüsten ari alan

Detection, Characterization, and Monitoring of Plum pox virus in Zonguldak Province

ABSTRACT

Plum pox virus (PPV) was first found in Turkey in 1968 in Edirne province, and then detected in different regions of the country. A total of 2539 samples were collected in Zonguldak province between 2019-2021 to investigate the presence of PPV within the scope of national surveys. It was determined that six plum trees belonging to the same home garden were infected with PPV by DAS-ELISA and RT-PCR. Partial sequences of 1533 bp including P3, 6K1, CI, and CP regions belonging to six PPV-isolates were deposited to GenBank. BlastN analysis showed that sequences of Zonguldak PPV-isolates had the highest sequence similarity at the nucleotide level with PPV-M isolates. It was observed that the infected isolates were clustered with the PPV-M strain in the phylogenetic tree generated by Maximum Likelihood (ML), Maximum Parsimony (MP), and Bayesian Inference (BI) methods. After eradication of the infected trees, systematic surveys and laboratory analyses (serological and molecular) carried out in the same location and in the whole province continued for two years. Within the framework of strict and intensive monitoring surveys and as a result of laboratory analyses, stone fruit orchards and residential sites in Zonguldak province were eliminated from PPV, and a buffer zone was established in an area of 1 km. The cultivation and planting of *Prunus* species in the buffer zone were prohibited for 3 years, and as a result of follow up and monitoring studies, the region was ensured to be virus-free.

Research Article

Plant Protection

Article History

Received : 28.10.2021

Accepted : 20.12.2021

Keywords

Sharka

Plum

Phylogenetic

PPV-M

Virus-free zone

Atıf Şekli:	Morca AF, Coşkan S, Akbaş B 2022. Zonguldak İlinde Plum pox virus'un Tespiti, Karakterizasyonu ve Takibi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1369-1377. https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.1015786
To Cite :	Morca AF, Coşkan S, Akbaş B 2022. Detection, Characterization, and Monitoring of Plum pox virus in Zonguldak Province. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1369-1377. https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.1015786

GİRİŞ

Plum pox virus (PPV) sert çekirdekli meyve ağaçlarının özellikle de kayısı, erik, şeftali, nektarin ve bademin en önemli viral hastalık etmenidir. Hastalık etmeni önemli ölçüde verim ve kalite kayıplarına yol açarak ürünün pazar değerini tamamıyla düşürmektedir (Scholthof ve ark., 2011; Garcia ve ark., 2014; Rimbaud ve ark., 2015).

PPV, Potyviridae familyası içerisinde yer alan *Potyvirus* cinsinin bir üyesidir. Virüs, yaklaşık olarak 9.8-10 kb'dan oluşan pozitif sens tek sarmal bir RNA genomu içerir ve 5'-ucuna bağlı olan bir protein (VPg) ile 3'-ucunda uzun poli (A) kuyruğuna sahiptir. Bu poliprotein yapı yine genomu tarafından kodlanan üç enzim tarafından 11 protein ürününe dönüştürülmüştür (Salvador ve ark., 2006; Sochor ve ark., 2012).

“Şarka” olarak da bilinen hastalığın belirtileri virüs ırkı, çevre sıcaklığı, konukçu türü ve çeşidine bağlı olarak değişmektedir. Etmen çiçek, yaprak ve meyvelerde genel olarak özellikle ilkbaharda yapraklarda klorotik halkalı leke ve çizgi şeklinde tipik belirtiler, kayısı çekirdeğinde ise meyvelerin kabuğunda oluşturduğu belirtilerin izdüşümünde de aynı belirtileri oluştururlar. PPV ile enfekte olan ağaçlar, gözle görülür lekeler, düşük tat kalitesi ve erken meyve dökümü nedeniyle pazarlanamayan meyveler üretir. Hastalığın uzun mesafelere taşınmasında en önemli etken enfekteli üretim materyalleridir. Virüs, başta *Myzus persicae* olmak üzere birçok yaprak biti türü tarafından bahçe içi gibi daha kısa mesafelerde taşınır (Atanasoff, 1933; Damsteegt ve ark., 2007; Levy ve ark., 2000; James ve Thompson, 2006; Cambra ve ark., 2006).

PPV'nin şu ana kadar An (Ancestor), C (Cherry), CR (Cherry Russian), CV (Cherry Volga), D (Dideron), EA (El Amar), M (Marcus), Rec (Recombinant), T (Turkey), W (Winona) olmak üzere toplam 10 ırkı tanımlanmıştır (Gürçan ve ark., 2020). Söz konusu bu ırklardan PPV-D ve PPV-M en yaygın olanıdır. Diğer ırklar coğrafik olarak daha sınırlı alan ve konukçuya özgü olarak yer almaktadır. PPV-M'nin oluşumu çoğunlukla Doğu, Güneydoğu ve Orta Avrupa'dan bildirilmiştir. PPV-D ise esas olarak Batı Avrupa, Akdeniz ve Orta Avrupa ülkelerinde sıkça görülür (Gadiou ve ark., 2008).

Türkiye'de PPV'nin ırk düzeyinde tespiti üzerine yapılan çalışmalarda PPV-D (Elibüyük, 2004; Gürçan ve ark., 2013; Gürçan ve Ceylan, 2016), PPV-M (Sertkaya ve ark., 2003; Elibüyük, 2004; Gürçan ve ark., 2019), PPV-T (Serçe ve ark., 2009; Teber ve ark., 2019; Çelik ve Ertunç 2021) ve PPV-Rec (Candresse

ve ark., 2007; Gürçan ve Ceylan, 2016) olmak üzere toplam dört ırkı tespit edilmiştir. Son yıllarda yapılan farklı bir çalışma sonucunda İstanbul ilinde tespit edilen 88 PPV-M izolatının 67 tanesinin evrimsel olarak farklı PPV-M izolatı olduğu, monofiletik olarak ayrı diziler oluşturduğu belirlenmiştir. Bu farklı izolatlar ise PPV-MIs olarak adlandırılmıştır (Gürçan ve ark., 2019).

PPV'nin günümüze kadar çok sayıda kısmi ve tam genom dizi analizi yapılmış Türk izolatları bulunmaktadır. Bu analizlerde PPV'nin özellikle D ve T ırklarının genetik çeşitliliğinin tarihçesi hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir (Teber ve ark., 2019; Gürçan ve ark., 2020). Özellikle Trakya bölgesindeki PPV-D ve T izolatlarının genetik çeşitliliğinin en yüksek seviyede olduğu belirtilmiştir (Gürçan ve ark., 2019).

PPV Avrupa ve Akdeniz Bitki Koruma Örgütü'nün (EPPO) karantina listesi A2'de yer almaktadır. Türkiye'de ise “Sınırlı Olarak Bulunan Zararlı Organizmalar listesi EK 2B'de” yer almaktadır. Türkiye'de ilk olarak Edirne ilinde tespit edilerek 1968 yılından itibaren günümüze kadar PPV sürekli yayılma eğiliminde olmuştur. Türkiye'de PPV yedi coğrafi bölgenin tamamında tespit edilmiştir. Özellikle Karadeniz, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde PPV'nin sınırlı düzeyde olduğu, Ege, Akdeniz, İç Anadolu ve Marmara Bölgelerinde ise oldukça yaygın olduğu görülmektedir (Akbaş ve ark., 2011; Çelik ve Kütük, 2013; İlbağı ve Çıtır, 2014; Deligöz ve ark., 2015; Çağlayan ve Yurdakul, 2016; Gürçan ve Ceylan, 2016; İnce ve ark., 2016; Gürçan, 2017; Morca ve ark., 2020; Morca ve ark., 2021; Birişik ve ark., 2021; Çıtır ve ark., 2021). Virüs epidemisi ülke ekonomisi için çok önemli olan *Prunus* bahçe ve fidanlıkları için sürekli tehdit oluşturmaktadır. Türkiye'de ilk olarak PPV'nin yaygınlığına dair 2007-2011 yılları arasında Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından ülkesel bir proje yürütülmüştür. Sonrasında ise 2013 yılında ülke çapında ari alanlar oluşturmak ve virüsü kontrol altına almak için ulusal keşif ve takip surveyleri başlatılmıştır (Birişik ve ark., 2021). PPV dünyada (Scholthof ve ark., 2011) olduğu gibi Türkiye'de de (Akbaş ve ark., 2011) bitki virüsleri içinde en fazla çalışılan virüsler arasında yer almıştır.

Türkiye'de karantina anlamında 2013 yılından beri keşif ve takip surveyi yapılan PPV'nin yeni alanlarda tespiti, eradikasyon ve mücadelesinde alınması gereken önlemler bakımından oldukça önemli gelişmeler sağlanmıştır. Bu doğrultuda yapılan

çalışma ile Zonguldak ilinde PPV'nin keşif, takip, kontrol ve eradikasyon çalışmalarının bildirilmesi; ayrıca elde edilen PPV izolatlarının P3, 6K1, CI ve CP gen bölgelerinin diğer PPV izolatları ile moleküler benzerlik ve farklılıklarının ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Sürvey

Sürvey çalışmaları 2019-2021 yılları arasında Zonguldak iline bağlı Alaplı, Çaycuma, Devrek, Ereğli, Gökçebeş, Kilimli, Kozlu ve Merkez ilçelerinde

Çizelge 1. Zonguldak ili ilçelerine göre konukçu bazında alınan örnek sayısı

Table 1. Number of samples collected by host type in districts of Zonguldak province

İlçe	Kayısı	Erik	Şeftali/Nektarin	Kiraz	Vişne
Alaplı	66	765	69	144	9
Çaycuma	17	180	94	353	28
Devrek	1	12	5	11	-
Ereğli	-	18	12	14	3
Gökçebeş	-	7	-	4	-
Kilimli	-	4	7	7	2
Kozlu	47	330	-	-	-
Merkez	-	66	9	255	-
Toplam	131	1382	196	788	42
			2539		

DAS-ELISA

Örnekler makroskopik değerlendirmeden sonra serolojik olarak PPV ırklarına spesifik poliklonal antiserum (Agdia Inc. Elkhart, IN, USA) kullanılarak ilgili firmanın önerileri doğrultusunda DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Test sonucunda mikroplyetler 405 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda (Tecan Sunrise Microplate Reader 16039400) absorpsiyon (OD) değerleri ölçülmüştür. Değerlendirmede negatif kontrole ait OD değerinin en az iki katı ve üzeri değere sahip örnekler PPV ile enfekteli (pozitif) kabul edilmiştir.

Toplam RNA İzolasyonu, Dejenere Primer Tasarımı ve RT-PCR

DAS-ELISA sonucuna göre PPV-pozitif olarak

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan primerlere ait bilgiler

Table 2. Information of primers used in the study

Primer adı	Sekans Dizisi (5'→3')	Baz boyutu	Kaynak
PPV-2F	YMM ACY GCR RWC TTT TGG AR	767 bp	Morca ve ark., 2021
PPV-2R	TGT GCA TGT TGC GAT TMA CR		
PP3	TTA TCT CCA GGA RTT GGA GC	836 bp	Glasa ve ark., 2002
PCI	TTG AGT CAA ATG GRA CAG TTG G		

RT-PCR'da ilk olarak PPV-2F/PPV-2R primerleri daha sonra PP3-PCI primerleri ile tek aşamalı RT-PCR gerçekleştirilmiştir. Her iki primer için toplam 25 µl hacimdeki PCR karışımı: 8 µl 5X GoTaq Flexi Buffer, 1.2 µl MgCl₂ (25 mM), 0.7 µl dNTP (10 mM),

Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından hazırlanmış ve yayınlanmış olan "Sürvey Talimatları Kılavuz El Kitabı" kapsamında belirtilen tesadüfi örnekleme usullerine göre yapılmıştır (Anonim, 2017). Örnekleme yapılırken sadece ticari bahçelerden değil aynı zamanda ev tipi bahçelerden de yaprak örnekleri alınmıştır. Örnekler PPV belirtileri açısından ilk olarak arazide makroskopik olarak kontrol edilmiştir. Kontroller sonucu sürvey bölgesinden virüs benzeri belirti gösteren ve göstermeyen toplam 2539 örnek (Çizelge 1) alınarak analiz edilmiştir.

belirlenen örnekler ve negatif sonuçlarını doğrulamak amacıyla rasgele seçilen 30 adet PPV-negatif örnek silika yöntemi (Foissac ve ark., 2001) kullanılarak toplam RNA'ları izole edilmiştir. Elde edilen toplam RNA'ların konsantrasyonları nanospektrofotometre (NanoDrop 2000, Thermo) ile ölçülmüş ve 50 ng/µl olacak şekilde eşit hacme getirilmiştir.

Elde edilen toplam RNA'lar virüsün farklı genom bölgelerinin çoğaltılması amacıyla iki farklı primer çifti kullanılarak tek aşamalı RT-PCR işlemleri gerçekleştirilmiştir. İlk primer çifti PPV'nin 767 nükleotitlik kısmı CP bölgesini çoğaltan PPV-2F/PPV-2R dejenere primer çiftidir. İkinci primer çifti ise PPV'nin 836 nükleotitlik P3 (kısmi), 6K1 (tamamı) ve CI (kısmi) bölgelerini çoğaltan PP3-PCI dejenere primer çiftidir (Çizelge 2).

0.25 µl GoTaq polimeraz enzim (5 U µl), 1 µl ileri (Forward) primer (10 µM), 1 µl geri (Reverse) primer (10 µM), 0.2 µl Reverse-transcriptase enzimi (200 U/µl), 0.2 µl RNase inhibitörü (5000 U/ml), 2 µl RNA içerecek şekilde hazırlanmış ve nükleaz içermeyen

steril su ile toplam hacme tamamlanmıştır. RT-PCR için reaksiyon koşulları PPV-2F/PPV-2R primer çifti için; 45 dk 50 °C süre ile gerçekleştirilen cDNA aşamasının ardından, 95 °C'de 5 dk, 94 °C'de 45 sn, 46 °C'de 45 sn, 72 °C'de 90 sn ve 72 °C'de 10 dk şeklinde gerçekleştirilmiştir. İkinci primer çifti olan PP3/PCI için; 60 dk 42 °C süre ile gerçekleştirilen cDNA aşamasının ardından, 95 °C'de 5 dk, 94 °C'de 45 s, 59 °C'de 45 s, 72 °C'de 1 dk ve 72 °C'de 10 dk şeklinde gerçekleştirilmiştir. RT-PCR sonucunda her iki primer çifti için elde edilen ampliconlar Pronosafe (Conda, Madrid, Spain) DNA boyası ile hazırlanan %1'lik agaroz jelde 80 V'da 60 dk yürütülmüş ve UV transilluminatör altında görüntülenmiştir.

Dizileme ve Filogenetik Analiz

RT-PCR sonucu pozitif olarak belirlenen ampliconlar

hizmet alımı yöntemi ile dizilenmek üzere ticari firmaya (Macrogen The-BM Laboratory Systems, Türkiye) gönderilmiştir. Elde edilen ham nükleotit dizileri temizlenerek işlenmiş ve Clustal W tekniği kullanılarak MEGA 7 programında konsensus dizileri oluşturulmuştur (Thompson ve ark., 1994). PPV'nin P3, 6K1, CI ve CP bölgelerine ait kısmi ve tam nükleotit dizilerini içeren 6 adet izolat, GenBank'ta yer alan referans izolatlar ile nükleotit düzeyinde BlastN (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) analizine tabi tutulmuştur. BlastN analizinden sonra izolatlarla ait nükleotit dizileri GenBank'a kayıt edilmiştir.

İzolatların kayıt işleminden sonra filogenetik ağaç oluşturulması için GenBank'tan PPV'nin tam genomunu içeren 34 adet referans izolat ve 1 adet dış izolat (Potato virus Y) indirilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Filogenetik analizde kullanılan izolatlarla ait bilgiler

Table 3. The list of isolates subjected to phylogenetic analyses

No	GenBank Erişim Numarası		Ülke-Şehir	İrk
	P3-CI	PPV-1F/1R		
1	OK083635	MZ835418	Türkiye-Zonguldak*	PPV-M
2	OK083636	MZ835419	Türkiye-Zonguldak*	PPV-M
3	OK083637	MZ835420	Türkiye-Zonguldak*	PPV-M
4	OK083638	MZ835421	Türkiye-Zonguldak*	PPV-M
5	OK083639	MZ835422	Türkiye-Zonguldak*	PPV-M
6	OK083640	MZ835423	Türkiye-Zonguldak*	PPV-M
7	LC494717		Japonya	PPV-M
8	LC494684		Japonya	PPV-M
9	HF585103		Slovakya	PPV-M
10	AJ243957		Sırbistan	PPV-M
11	FM955843		Yunanistan	PPV-M
12	MF371001		Türkiye-İstanbul	PPV-M
13	MF370993		Türkiye-İstanbul	PPV-M
14	MK372952		Türkiye-Edirne	PPV-D
15	MK208990		Çin	PPV-D
16	KR006730		Ukrayna	PPV-D
17	EU734794		Türkiye-Ankara	PPV-T
18	MF346252		Türkiye-Ankara	PPV-T
19	MF346281		Türkiye-Kırklareli	PPV-T
20	KF472134		Ukrayna	PPV-Rec
21	GU474956		Sırbistan	PPV-Rec
22	MN603425		Türkiye-İstanbul	PPV-Rec
23	DQ431465		Mısır	PPV-EA
24	AM157175		-	PPV-EA
25	HQ670748		Letonya	PPV-W
26	JN596110		Ukrayna	PPV-W
27	HQ670746		Letonya	PPV-W
28	MH311858		Rusya	PPV-C
29	MH311855		Rusya	PPV-C
30	MG736814		Rusya	PPV-CR
31	MG736816		Rusya	PPV-CR
32	HF674399		Arnavutluk	PPV-An
33	MF447179		Rusya	PPV-CV
34	MF447180		Rusya	PPV-CV
35	AB714134		Japonya**	PVY

* Çalışmada elde edilen izolatlar ** Dış grup olarak seçilen izolat

Filogenetik analizlerde her iki primer çifti (PP3-PCI ve PPV-2F/PPV-2R) ile elde edilen nükleotit dizileri için ilk olarak ayrı ayrı veri setleri oluşturulmuştur. Daha sonra her iki primer çifti için elde edilen nükleotit dizileri birleştirilmiş toplam 1533 nükleotitlik veri setleri oluşturulmuştur. Hizalamalar ve birleştirmeler MEGA 7.0 programında manuel olarak gerçekleştirilmiştir.

Birleştirilmiş veri dizileri ile Maximum Likelihood (ML), Maximum Parsimony (MP) ve Bayesian Inference (BI) olmak üzere 3 farklı filogenetik ağaç yöntemi kullanılmıştır. Kullanılan bu 3 yöntem ML ağaç şablonu üzerinde tek bir ağaç olarak gösterilmiştir.

ML ağacı için PHYML v. 2.4.4 (Guindon ve Gascuel, 2003) yöntemi kullanılmıştır. Ağaç için en iyi model (Kumar ve ark., 2016) Tamura-Nei (TN93+G+I) olarak belirlenmiştir.

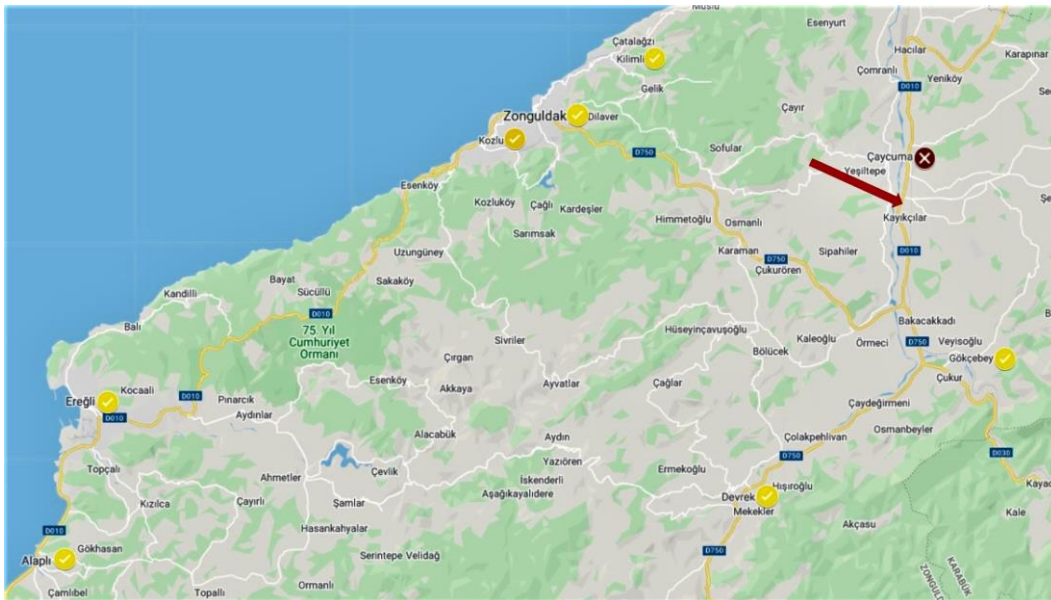
MP ağacı için PAUP v. 4.0b10 (Swofford, 2002) yöntemi kullanılmıştır. Ağaç içeriğinde "Tree-Bisection-Regrafting (TBR)" algoritması kullanılmış, arama seviyesi "1", dizilerin rastgele eklenme seviyesi 10 tekrar ve bootstrap değeri 1000 tekrar olarak seçilmiştir. Uyumluluk indeksi (consistency index) 0,563614, tutulma indeksi (retention index) 0,807588, birleşik indeks (composite index) 0,527614 (0,455168) olarak hesaplanmıştır.

BI ağacı Geneious programında Mr. Bayes v.3.2.6

yöntemi ("GTR substitution model, chain length" = 1,100,000, "heat chains" = 4, "burn-in length" = 100,000, "sub-sampling frequency" = 200, "random seed" = 26,500) ile gerçekleştirilmiştir. Ağaçta bootstrap değeri 1000 tekrar ve çoğunlukla sonsal olasılıklar kullanılmıştır (Huelsenbeck ve Ronquist, 2001).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Türkiyede sert çekirdekli meyve ağaçlarını enfekte eden çeşitli bitki virüsleri bulunmaktadır (Çelik ve Ertunç 2019; 2020). PPV Türkiye üzerinde en çok çalışılan virüslerden olup, hastalıkla mücadelede karantina ve eradikasyon uygulamaları devam etmektedir. Bu bağlamda, 2019-2021 yılları arasında Zonguldak ili Alaplı, Çaycuma, Devrek, Ereğli, Gökçebey, Kilimli, Kozlu ve Merkez ilçelerinden sert çekirdekli meyve ağaçlarından toplanan 2539 adet yaprak örneği ilk olarak makroskobik olarak incelenmiş ve örneklerin tamamı DAS-ELISA yöntemi ile analiz edilmiştir. Yapılan makroskobik gözlemler neticesinde bazı erik örneklerinin yapraklarında PPV'ye özgü belirtiler (yapraklarda halkalı lekeler ve damar bantlaşması) gözlenmiştir. Makroskobik incelemeler ve DAS-ELISA testleri neticesinde, Çaycuma ilçesine ait 6 adet erik örneğinin PPV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Zonguldak ilinde survey yapılan ilçeler (sarı ile işaretlenmiş) ve enfekteli bulunan lokasyonu (kırmızı ok ile işaretlenmiş) gösteren harita

Figure 1. Map showing the survey districts (marked as yellow) and the infected location (marked as a red arrow) of Zonguldak province

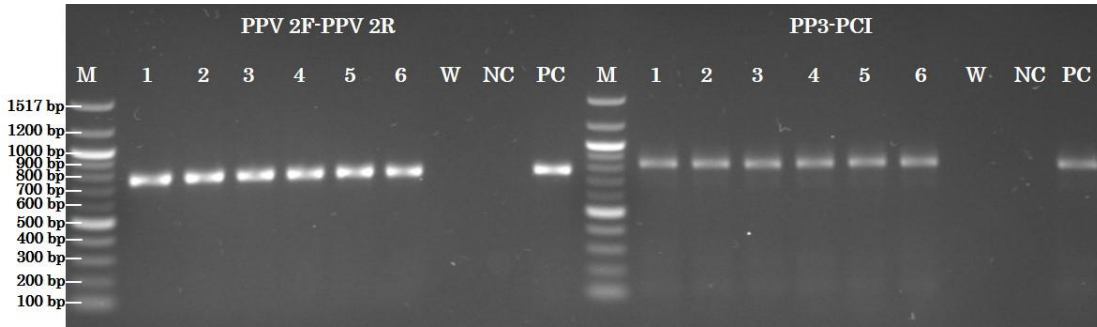
Geriye kalan farklı bitki türlerine ait 2503 adet örnek serolojik olarak PPV yönüyle temiz bulunmuştur. PPV ile enfekteli bulunan erik örnekleri aynı ev

bahçesi içerisinde tespit edilmiştir.

Enfekteli bulunan 6 adet erik örneği daha sonra PP3-PCI ve PPV-2F/PPV-2R primerleri ile gerçekleştirilen

RT-PCR analizleri sonucunda beklenen boyutlarda ampliconlar elde edilerek PPV'nin varlığı doğrulanmıştır (Şekil 2.) Ayrıca DAS-ELISA

sonuçlarının doğrulanması amacıyla seçilmiş olan 30 adet negatif bitki örneği, RT-PCR sonucunda da yine negatif olarak tespit edilmiştir.



Şekil 2. PPV-2F/PPV-2R (767 bp) ve PP3-PCI (836 bp) primer çiftleri kullanılarak gerçekleştirilen RT-PCR'a ait agaroz jel elektroferez görüntüsü. "M": DNA Markör; 1-2-3-4-5-6: Zonguldak PPV izolatları; W: su kontrol, NC: negatif kontrol, PC: pozitif kontrol temsil eder

Figure 2. Agarose gel electrophoresis of the RT-PCR using PPV-2F/PPV-2R (767 bp) and PP3-PCI (836 bp) primer pairs. The "M" represents DNA Ladder; lane 1-2-3-4-5-6, Zonguldak PPV isolates; W: water control, NC: negative control, PC: positive control

Elde edilen ampliconlara ait düzenlenmiş toplam 1533 nükleotitik diziler, ilk olarak BlastN analizine tabi tutulmuş ve konsensus dizileri oluşturulan 6 adet PPV izolatı GenBank'a kaydedilmiştir (Çizelge 2). BlastN analizi sonucunda Zonguldak PPV izolatları, P3-6K1-CI bölgeleri için GenBank'da yer alan ilk 100 izolat ile % 96.75-99 oranında PPV-M ırkı ile benzer olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde CP bölgesi için GenBank'da yer alan ilk 100 izolat ile % 98.37-99.18 oranında PPV-M ırkı ile benzer olduğu belirlenmiştir.

Zonguldak iline ait izolatların filogenetik ilişkilerinin incelenmesi amacıyla Çizelge 2'de verilen 34 izolat ile gerçekleştirilen ML, MP ve BI filogenetik ağaçları arasında birleşik veri setleri (P3-6K1-CI ve CP) arasındaki karşılaştırmalar sonucu topolojide farklılıklar gösterdiği ancak ırkların sınırlandırılmasında uyum gösterdiği belirlenmiştir. Filogenetik ağaçta PPV'nin tespit edilmiş olan 10 ırkının uygun kümelerle, yüksek bootstrap değerleri ile homojen olarak ayrıldığı görülmüştür (Şekil 3).

Çalışmada kullanılan 6 adet Zonguldak PPV izolatlarının BlastN analizi sonucu GenBank'da yer alan PPV-M izolatları ile olan benzerlik durumunun filogenetik ağaçta da görülmüş ve beklenildiği gibi PPV-M grubu izolatları ile uyumlu bir şekilde kümelenmiştir. Ağaçta oluşan dallanmalar ile ML, MP ve BI analizleri önemli ölçüde desteklenmiştir. Zonguldak PPV izolatlarının kümelenildiği M grubunda yüksek bootstrap değerine sahip (ML/MP/PP=>%95) olduğu görülmüştür.

PPV-MIs olarak gösterilen ve PPV'nin bilinen bir ırkı olmayan daha önce Gürçan ve Ceylan, (2016) tarafından bildirilen İstanbul (Türkiye) izolatlarından oluşan grubun, bu çalışmada yapılan filogenetik ağaçta da bilinen PPV-M izolatlarından

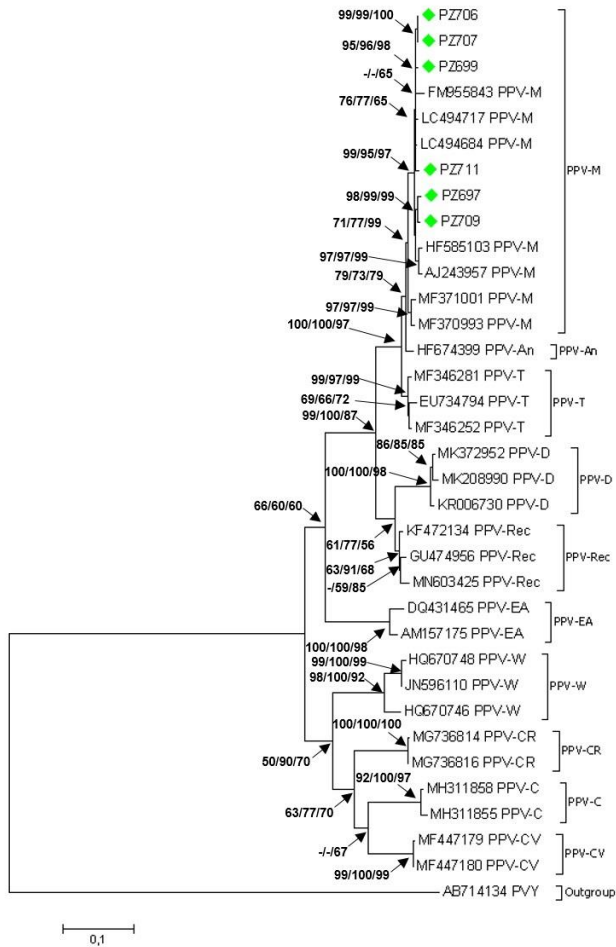
ayrı bir küme oluşturduğu görülmüştür. Palmisano ve ark., (2012) tarafından tespit edilen PPV-An ırkının yapılan çalışmada %93.5 PPV-T ile benzer olduğu bildirilmiştir. Bu veriler doğrultusunda oluşturulan filogenetik ağaçta PPV-M, PPM-MIs, PPV-An ve PPV-T izolatlarının aynı ana dal üzerinde birbirine yakın topolojilerde olduğu görülmektedir.

Yapılan tüm filogenetik analizler sonucunda Zonguldak iline ait 6 adet erik izolatının kesin olarak M ırkı olduğu belirlenmiştir. Türkiye de yapılan birçok çalışmada özellikle son dönemde yapılan güncel çalışmalarda PPV-M ırkının oldukça yaygın olduğu görülmüştür (Koç ve Baloğlu, 2006; Çelik ve Kütük, 2013; Gürçan ve Ceylan, 2016; Gürçan ve ark., 2019; Morca ve ark., 2020;2021). PPV-M birçok Avrupa ülkesinin en yaygın ırkı olarak tanımlanmıştır . PPV-M ırkı, yaprak bitleri ile etkin bir şekilde bahçe içinde yayılır ve virüsün en hızlı yayılan ırkı olarak kabul edilir (Myrta and Boscia 2001; Wang et al. 2006).

PPV mücadelesinde yer alan virüsten arı bitki dikimi, dayanıklı çeşit kullanımı, sürvey ve eradikasyon yöntemlerinin başarısı dünya çapında elde edilen sonuçlara göre değerlendirildiğinde, eradikasyonun başarılı mücadele yöntemlerinden biri olduğu belirlenmiştir (Rimbaud ve ark., 2015; Birişik ve ark., 2021). Özellikle PPV açısından iyi planlanmış sürvey programları, analiz sayılarının artırılması ve eşgüdümlü olarak iyi bir eradikasyon programının uygulanması ile PPV enfeksiyon oranının sürekli gerilediği görülmüştür (Birişik ve ark., 2021). Özellikle agroekolojinin temel 12 unsurundan biri olan bitki sağlığı, tüm dünyada olduğu gibi Türkiye içinde oldukça önemlidir. Özellikle vektör böcekler ile taşınan bitki virüs hastalıklarının yeni bir bölgelerde tespiti sonrasında alınacak olan eradikasyon tedbirleri hastalığın yayılma hızını önemli ölçüde

durdurmaktadır. Bu sayede vektörler için kullanılan bilinçsiz pestisit kullanımı azaltılarak agroekolojik

yapıya önemli katkılar sağlanmış olacaktır.



Şekil 3. Zonguldak iline özgü PPV izolatlarının P3/6K1/CI ve CP gen bölgeleriyle birleştirilerek oluşturulan 1533 nükleotitlik dizilerin ML, MP ve BI filogenetik ağacı. Ağaçta gösterilen rakamlar, sırası ile ML, MP ve BI için elde edilen bootstrap değerleri gösterir. Yalnızca >50 bootstrap değerleri gösterilmiştir. Bu çalışmaya özgü Zonguldak izolatları (◆) olarak işaretlenmiştir.

Figure 3. ML, MP and BI Phylogenetic tree of 1533 nucleotide sequences generated by combining P3/6K1/CI and CP regions of PPV isolates specific to Zonguldak province. Only bootstrap support values >50 are shown. Novel Zonguldak isolates are marked as (◆).

Türkiye’de Karadeniz Bölgesi ekonomik anlamda sert çekirdekli üretiminin sınırlı olmasından dolayı PPV açısından en az çalışılan bölge olmuştur. Özellikle Karadeniz Bölgesinde Bolu ve Zonguldak ili dışında projeli ve detaylı PPV sürveyi yapılan il bulunmamaktadır. Bölgede günümüze kadar Samsun (Deligöz ve ark., 2015) ve Bolu (Morca ve ark., 2021) ili haricinde PPV’nin varlığı belirlenmiş değildir. Zonguldak ili bölgede PPV varlığının bildirildiği üçüncü il olmuştur. Zonguldak ilinde agroekolojik unsurlar göz önünde bulundurularak alınan hızlı önlemler sayesinde PPV açısından arılık sağlanmıştır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan bu çalışma sonucunda Zonguldak ilinde PPV varlığı ilk kez bildirilmiştir. Elde edilen 6 adet erik

izolatının PPV-M ırkı olduğu belirlenmiştir. Zonguldak ilinde PPV enfeksiyonlarına odaklanılarak gerçekleştirilen keşif ve takip sürveyleri sonucunda sert çekirdekli meyve bahçelerinde serolojik ve moleküler testler sonucu enfekteli bulunan ağaçlar başarılı bir şekilde eradike edilmiş ve 1 km çapındaki alanda tampon bölge oluşturulmuştur. Ayrıca 2019 yılında enfekteli olduğu belirlen ağaçların eradikasyonundan sonra hastalığın tekrar nüksetmesini önlemek için tampon bölge içerisinde 3 yıl süresince PPV’nin doğal konucusu durumunda olan *Prunus* türlerinin yetiştiriciliği yasaklanmış ve takip çalışmaları ile laboratuvar testlerine 2 yıl boyunca devam edilerek bölgenin virüsten ari olması sağlanmıştır. Bununla birlikte PPV’nin sürvey takibine halen devam edilmektedir.

TEŞEKKÜR

Sürvey çalışmalarında emeği geçen Tarım ve Orman Bakanlığı Zonguldak İl Tarım ve Orman Müdürlüğü görevli personelleri ile Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- Akbaş B, Değirmenci K, Ciftci O, Kaya A, Yurtmen M, Uzunoğulları N, Çelik N, Türkölmez Ş 2011. Update on Plum pox virus distribution in Turkey. *Phytopathologia Mediterranea* 50(1): 75-83.
- Anonim 2017. Şarka virüsü, plum pox potyvirus-PPV sürvey talimatı. (Erişim tarihi: 11/10/2021).
- Atanasoff D 1933. Plum pox. A new virus disease. *Annu. Univ. Sofia Fac. Agron. Sylvic.* 11: 49-70.
- Birişik N, Morca AF, Erilmez S, Çiftçi O, Yurtmen M, Uzunoğulları N, Deligöz İ, Şahin M, Öntepeli ML 2021. Türkiye'de Plum pox virus' un altı yıllık ülkesel sürvey ve eradikasyon programının değerlendirilmesi. *Bitki Koruma Bülteni* 61(2): 19-32.
- Cambra M, Boscia D, Myrta A, Palkovics L, Navrátil M, Barba M, Gorris MT, Capote N 2006. Detection and characterization of Plum pox virus: serological methods. *Bull. OEPP* 36(2): 254-261. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2338.2006.00983.x>.
- Candresse T, Svanella-Dumas L, Gentit P, Caglayan K, Çevik B 2007. First report of the presence of Plum pox virus Rec strain in Turkey. *Plant Disease* 91(3): 331-331.
- Çağlayan K, Yurdakul S 2016. Sharka disease (Plum pox virus) in Turkey: the past, present and future. In III International Symposium on Plum Pox Virus 1163 (pp. 69-74).
- Çelik A, Ertunç F 2019. First report of prunus necrotic ringspot virus infecting apple in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 101(4), 1227-1227.
- Çelik A, Ertunç F 2020. Bursa ve Bilecik İlleri Şeftali Yetiştiriciliği Yapılan Alanlarda Prune dwarf virus (PDV) Yaygınlığı ve Genetik Çeşitliliği. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 6(1), 66-74.
- Çelik A, Ertunç F 2021. Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) of plum pox potyvirus Turkey (PPV-T) strain. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128(3), 663-671.
- Çelik N, Kütük T 2013. Antalya ilinde şarka virüs hastalığının belirlenmesi. *Derim* 30(2): 1-10.
- Çıtır A, Akbilek Y, İlbağı, H 2021. First report of Plum pox virus on *Tilia* spp. in Turkey. *New Disease Reports*, 44(1).
- Damsteegt VD, Scorza R, Stone AL 2007. Prunus host range of plum pox virus (PPV) in the United States by aphid and graft inoculation. *Plant Disease* 91: 18-23.
- Deligöz İ, Değirmenci K, Sökmen M 2015. Samsun ilinde sert çekirdekli meyve türlerinde Şarka hastalığı etmeninin (Plum pox virus) belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi* 30(3): 227-235.
- Elibüyük İÖ 2004. Current situation of sharka disease in Ankara, Turkey. *Phytoparasitica* 32(4): 417-420.
- Foissac X, Svanella-Dumas L, Dulucq MJ, Candresse T, Gentit P 2001. Polyvalent detection of fruit tree tricho, capillo and foveaviruses by nested RT-PCR using degenerated and inosinecontaining primers (PDO RT-PCR). *Acta Horticulte* 550: 37-43.
- Gadiou S, Šafářová D, Navrátil M 2008. Genetic variability of Plum pox virus isolates in the Czech Republic. *European journal of plant pathology* 121(4): 513-517.
- Garcia JA, Glasa M, Cambra M, Candresse T 2014. Plum pox virus and sharka: A model potyvirus and a major disease. *Molecular Plant Pathology* 15(3): 226-241.
- Glasa M, Marie-Jeanne V, Moury B, Kúdela O, Quiot JB 2002. Molecular variability 17 of the P3-6K1 genomic region among geographically and biologically distinct 18 isolates of Plum pox virus. *Archives of Virology* 147:563-575.
- Guindon S, Gascuel O, 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* 52: 696-704.
- Gürçan K, Ceylan A 2016. Strain identification and sequence variability of plum pox virus in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 40(5):746-760.
- Gürçan K 2017. Bursa'da plum pox virus (Şarka)'ün yaygınlığının ve genetik çeşitliliğinin belirlenmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi* 32(1): 1-15.
- Gürçan K, Ceylan A, Akbulut M, Comart S, Akbaş B, Ghaderi M 2013. Plum pox virus D in Turkey. In 2nd International Symposium on Plum Pox Virus pp. 3-6.
- Gürçan K, Teber S, Çağlayan K 2019. Further investigation of a genetically divergent group of Plum pox virus-M strain in Turkey. *Journal of Plant Pathology* 101(2): 385-391.
- Gürçan K, Teber S, Candresse T 2020. Genetic analysis suggests a long and largely isolated evolutionary history of plum pox virus strain D in Turkey. *Plant Pathology* 69(2): 370-378.

- Huelsenbeck JP, Ronquist F 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17(8):754-755.
- İlbağı H, Çıtır A 2014. Detection and partial molecular characterization of Plum pox virus on almond trees in Turkey. *Phytoparasitica*, 42(4): 485-491.
- İnce E, Gök Güler P, Yegül M, Yurtmen M, Keleş Öztürk P, Yavuz Ş, Fidan, H 2016. Domestic quarantine studies of sharka disease in the Eastern Mediterranean region of Turkey. In III International Symposium on Plum Pox Virus 1163 (pp. 53-56).
- James D and Thompson D 2006. Hosts and symptoms of Plum pox virus: ornamental and wild *Prunus* species. *Bull. OEPP* 36(2): 222-224. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2338.2006.00976.x>.
- Levy L, Damsteegt V, Welliver R 2000. First report of Plum pox virus (sharka disease) in *Prunus persica* in the United States. *Plant Disease* 84(2):202. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.2.202B>.
- Koç G, Baloglu S 2006. Disease note first report of sharka in the Çukurova region of Turkey. *Journal of Plant Pathology* 88(3): 65-70.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33: 1870-1874.
- Morca AF, Coşkan S, Öncü F 2020. Determination and partial molecular characterization of Plum pox virus in Bolu province. *Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin* 60 (4) : 59-68.
- Morca AF, Coşkan S, Çelik A 2021. Burdur İlinde Plum pox virus'un Tespiti ve Kısmi Kılıf Protein Geninin Moleküler Karakterizasyonu. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi* 24 (4): 805-814.
- Myrta A and Boscia D 2001. Plum pox virus: a risk for the Mediterranean fruit tree industry. *CIHEAM*; p. 37-42.
- Palmisano F, Boscia D, Minafra A, Myrta A, Candresse T 2012. An atypical Albanian isolate of Plum pox virus could be the progenitor of the Marcus strain. In 22. International Conference on virus and other graft transmissible diseases of fruit crops (p-33).
- Rimbaud L, Dallot S, Gottwald T, Decroocq V, Jacquot E, Soubeyrand S, Thébaud G 2015. Sharka epidemiology and worldwide management strategies: learning lessons to optimize disease control in perennial plants. *Annual review of phytopathology* 53: 357-378.
- Salvador B, García JA, Simón-Mateo, C 2006. Causal agent of sharka disease: Plum pox virus genome and function of gene products. *OEPP/EPPO Bulletin* 36: 229-238.
- Serçe ÇU, Candresse T, Svanella-Dumas L, Krizbai L, Gazel M, Çağlayan K 2009. Further characterization of a new recombinant group of Plum pox virus isolates, PPV-T, found in orchards in the Ankara province of Turkey. *Virus Research* 142(1-2): 121-126.
- Sertkaya G, Ulubaş Ç, Çağlayan K 2003. Detection and Characterization of Plum Pox Potyvirus (PPV) by DAS-ELISA and RT-PCR/RFLP Analysis in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 27: 213-220.
- Scholthof KBG, Adkins S, Czosnek H, Palukaitis P, Jacquot E, Hohn T, Hohn B, Saunders K, Candresse T, Ahlquist P, Hemenway C, Foster GD 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology* 12(9): 938-954.
- Sochor J, Babula P, Adam V, Krska B, Kizek R 2012. Sharka: the past, the present and the future. *Viruses* 4(11): 2853-2901.
- Swofford DL 2002. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4, Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Teber S, Ceylan A, Gürcan K, Candresse T, Ulubaş Serçe Ç, Akbulut M, Kaymak S, Akbaş B 2019. Genetic diversity and molecular epidemiology of the T strain of Plum pox virus. *Plant Pathology* 68(4): 755-763.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ 1994. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-80.
- Wang A, Sanfacon H, Stobbs LW, James D, Thompson D, Svircev AM and Brown DCW 2006. Plum pox virus in Canada: progress in research and future prospects for disease control. *Canadian Journal of Plant Pathology* 28: 1825-196.

Characterization of *Diaporthe ampelina* isolates and their Sensitivity to Hot-Water Treatments and Fungicides in *in vitro*

Davut Soner AKGÜL^{1*}, Qamar NAWAZ AWAN²

^{1,2}Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana-Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-9990-4194>, <https://orcid.org/0000-0002-6607-2985>

✉: sakgul@cu.edu.tr

ABSTRACT

Diaporthe ampelina (= *Phomopsis viticola*) is one of the most important pathogens causing both cane/leaf spot and wood canker diseases in grape growing countries in the world. In this research, morphological, molecular and pathogenic characterization of 23 *D. ampelina* isolates were studied and their sensitivity was tested against hot-water treatments and some of the fungicides used in vineyards. Morphologically, the isolates were grouped according to “W type” and “G type” colony appearance and microscopic features. In molecular characterization, beta-tubulin, calmodulin and translation elongation factor (tef1- α) gene regions were amplified with PCR. The nucleotide sequences were analyzed using NCBI-BLAST search and recorded in GenBank, through which species identity was also confirmed. Mycelial viability was tested against hot-water treatments (46 – 50°C for 30 and 45 min) in centrifuge tubes and thermal inactivation point was determined. It was also tested against some of the fungicides (azoxystrobin, boscalid, cyprodinil, tebuconazole, azoxystrobin + cyproconazole + tebuconazole, cyprodinil + fludioxonil, azoxystrobin + tebuconazole and fludioxonil) *in vitro* and EC₅₀ values were calculated. The morphological and molecular study results showed that all the isolates were *D. ampelina* and they were pathogenic on wood tissues of vines. Thermal inactivation of “W type” isolates was ensured at 48°C-30 min hot-water treatments. Although this treatment also reduced colony growth of “G type” isolates, it did not inhibit it completely and 48°C-45 min treatment was needed to reach full eradication. Considering fungicide sensitivity, fludioxonil or tebuconazole containing fungicides were the most effective in suppressing the mycelial growth of the fungus. However, azoxystrobin, boscalid, cyprodinil could not perform a strong inhibition when compared to fludioxonil and tebuconazole.

Plant Protection

Research Article

Article History

Received : 07.11.2021

Accepted : 19.12.2021

Keywords

Grapevine

Diaporthe ampelina

Fludioxonil

Hot-water

Tebuconazole

Diaporthe ampelina İzolatlarının Karakterizasyonu ve *in vitro*'da Bazı Fungisitlere ve Sıcak Su Uygulamalarına Duyarlılıkları

ÖZET

Diaporthe ampelina (= *Phomopsis viticola*) dünyadaki üzüm yetiştirilen ülkelerde hem sürgün/yaprak lekesi hem de odun kangrenine neden olan en önemli patojenlerden biridir. Bu çalışmada, 23 *D. ampelina* izolatının morfolojik, moleküler ve patojenik karakterizasyonu çalışılmış ve bunların bağcılıkta kullanılan bazı fungusitlere ve sıcak su uygulamalarına karşı duyarlılığı test edilmiştir. Morfolojik olarak izolatlar, “W” tipi ya da “G” tipi koloni görünüşleri ve mikroskopik özelliklerine göre gruplandırılmıştır. Moleküler karakterizasyonda beta-tubulin, calmodulin ve translation elongation factor (tef1- α) gen bölgeleri PCR ile çoğaltılmıştır. Nükleotid dizileri NCBI-BLAST yazılımı kullanılarak analiz edilmiş, gen bankasına kaydedilmiş ve tür tanısı doğrulanmıştır. Miselyal canlılık sıcak su uygulamalarına karşı

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 07.11.2021

Kabul Tarihi : 19.12.2021

Anahtar Kelimeler

Asma

Diaporthe ampelina

Fludioxonil

Sıcak su

Tebuconazole

(46–50°C'de 30-45 dk.) santrifüj tüplerinde test edilmiş ve termal inaktivasyon noktası saptanmıştır. Bu aynı zamanda *in vitro*'da bazı fungusitlere karşı (azoxystrobin, boscalid, cyprodinil, tebuconazole, azoxystrobin + cyproconazole + tebuconazole, cyprodinil + fludioxonil, azoxystrobin + tebuconazole and fludioxonil) test edilmiş ve EC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Morfolojik ve moleküler çalışma sonuçları tüm izolatların *D. ampelina* olduğunu ve bunların asma odunsu dokularında patojen olduklarını göstermiştir. “W” tipi izolatların termal inaktivasyonu 48°C-30 dakikalık sıcak su uygulamasıyla sağlanmıştır. Bu uygulama “G” tipi izolatların koloni büyümesini azaltmasına rağmen tamamen inhibe etmemiş, tam eradikasyona ulaşmak için 48°C-45 dakikalık uygulamaya gerek duyulmuştur. Fungisit duyarlılığı ele alındığında, fludioxonil ve tebuconazole içeren fungusitler fungusun miseliyal büyümesini baskılamada en etkili olmuşlardır. Ancak azoxystrobin, boscalid ve cyprodinil, fludioxonil ve tebuconazole ile kıyaslandığında güçlü bir inhibisyon sergileyememiştir.

- Atıf Şekli:** Akgül D.S, Nawaz-Awan Q 2022. *Diaporthe ampelina* İzolatlarının Karakterizasyonu ve *in vitro*'da Bazı Fungisitlere ve Sıcak Su Uygulamalarına Duyarlılıkları. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1378-1389. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1020144>
- To Cite :** Akgül D.S, Nawaz-Awan Q 2022. Characterization of *Diaporthe ampelina* Isolates and Their Sensitivity to Hot-Water Treatments and Fungicides in *in vitro*. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1378-1389. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1020144>

INTRODUCTION

Diaporthe ampelina (Berk. & M.A. Curtis) R.R. Gomes, C. Glienke & Crous, *comb. nov.* is an important fungal pathogen causing cane and leaf spot of *Vitis* species (*Vitaceae*) in the world (Mostert et al. 2001). It can infect all green parts, canes and pruning wounds of vines and causes yield losses up to-30%, when favorable conditions are available for pathogen progress (Erincik et al. 2001). The pathogen also causes wedge-shaped cankers, discolorations and sectoral necrosis in perennial wood resembling those caused by *Eutypa* and *Botryosphaeria* Dieback Disease fungi. Until the 2000s, it was a controversial issue that *D. ampelina* was involved in these perennial wood symptoms in vines and most of the researchers were estimating they were associated with diseases caused by *Eutypa lata* and *Botryosphaeriaceae* species. But Urbez-Torres et al. (2013) proved the pathogenicity of *Diaporthe* (= *Phomopsis*) species on wood tissues of grapevines in field conditions and stated this species was overlooked for many years. Baumgartner et al. (2013) also demonstrated that *Phomopsis viticola*, *P. fukushii* and *Diaporthe eres* (isolated from wood cankers) were pathogenic on pruning wound tissues of *Vitis labruscana* (cv. Concord) and *V. vinifera* (cv. Chardonnay) grapes. Some of the studies performed with *D. ampelina* have revealed that there may be significant differences in virulence between the pathogen's isolates. Schilder et al. (2005) characterized seventy-five *Phomopsis* isolates obtained from typical *Phomopsis* cane and leaf spot symptoms in vineyards of the Great Lakes Region in the US. They tested 13 representative isolates for

pathogenicity on leaves, internodes and fruit clusters of a *Vitis* interspecific hybrid 'Seyval and observed a significant difference in terms of virulence between isolates. Kanematsu et al. (1999) discriminated *Phomopsis* isolates according to colony color and sporulation types as white (W) or gray (G) and they suggested that “G” type isolates were more virulent than “W” type ones. They emphasized that pathogenicity tests and biological characterization were fundamental and important stages in a study focusing on the management of any plant pathogen.

Although *Diaporthe ampelina* mainly spreads with airborne spores, it is also able to spread within grapevine propagation materials latently. This case may lead to the production of unhealthy vine plants in nurseries. Rego et al. (2009) detected mother-plants of rootstocks and scions to be infected with *Diaporthe ampelina* and *Botryosphaeriaceae* fungi before grafting in some nurseries of Portugal. We detected *D. ampelina* from the necrotic rootstock tissues of the young vines showing decline symptoms in the Mediterranean Region of Turkey (Akgül and Ahioğlu 2019). In another study, we found that *D. ampelina* was the most encountered species (with high isolation frequency ranging 3.8 - 22.6%) from the wood cankers of Sultana Seedless vines in the Aegean Region. The isolates showed considerable virulence on wood tissues of vines in pathogenicity tests performed at greenhouse conditions (Akgül et al. 2015).

Hot-water treatment (HWT) is a reasonable method for eradication of latent pathogens in vine propagation materials. Pathogen eradication or inoculum reduction could be achieved if this treatment is properly applied. Commonly followed

hot-water treatment (at 50°C for 30 min) is stated to reduce or eradicate some pests and pathogens in some studies (Caudwell et al. 1997; Crous et al. 2001) but there are also opposite results indicating it is not sufficient for most of the pathogens associated with grapevine trunk diseases in the other studies (Rooney and Gubler 2001; Waite et al. 2018). The growth responses and thermal inactivation points of fungal pathogens exposed to hot-water treatments are different from each other. While some of the pathogens could be eliminated with a certain regime of hot-water treatment, the others may not be affected by this treatment. Gramaje et al. (2008) determined that *Phaeoconiella chlamydospora* had tolerated 53°C temperature but *Phaeoacremonium aleophilum* and *Pm. parasiticum* had tolerated 54°C even in *in vitro* conditions. They suggested that further studies should focus on above 51°C to reduce fungal infections in vegetative propagation materials in grapevine nurseries. Elena et al. (2015) indicated that the mycelial viability of *Neofusicoccum parvum* was about 15% from HWT at 50°C for 30 min in test vials and higher temperatures were needed to reduce viability in *in vitro*. Combining of HWTs with fungicides may increase the chance of fungal eradication in vine propagation materials during the soaking stage. Görür and Akgül (2019) found that HWTs (at 40°C for 2h and 50°C for 30 min) combined with tebuconazole were more effective (34% reduction) than standard HWT alone (50°C for 30 min) in dormant grapevine canes infected with *Neofusicoccum parvum*. The eradication effects of the other fungicides (thiophanate-methyl and cyprodinil +

fludioxonil) at the same HWT combinations were inferior (11.4% and 2.9%) when compared to tebuconazole. Their study revealed the importance of fungicide selection and HWT regime for curing endogenous fungal infections in dormant propagation materials.

So far, there is little information about the effects of fungicides and HWTs (different temperatures and durations) on the mycelial viability of *Diaporthe ampelina in vitro*. Therefore, it is necessary to determine which treatment and fungicide could eliminate *D. ampelina* firstly in *in vitro* conditions. The objectives of the study were to evaluate the sensitivity of *D. ampelina* isolates to HWTs and different fungicides in *in vitro* and to test their pathogenicity in field conditions. This study may be useful to develop an effective HWT strategy to reduce *Diaporthe* infections in grapevine propagation materials.

MATERIAL AND METHODS

Materials

In the present study, 23 *Diaporthe ampelina*-like isolates were obtained (in 2014) from the symptomatic wood cankers of grapevines (*Vitis vinifera* cv. Sultana Seedless) located in different districts of the Aegean Region, Turkey and they were included in identification, pathogenicity, fungicide and hot-water sensitivity tests. Eight fungicides (Table 1) with different modes of action were selected for *in vitro* studies and all of them are commercially registered for grape and other fruit crops in Turkey.

Table 1. Fungicides used in this study

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan fungisitler

Active Ingredients	Fungicide Group	Trade Name and Formulation	Manufacturer
Azoxystrobin (250 g·L ⁻¹)	Strobilurin	Nazatem® 250 SC	Koruma
Azoxystrobin (100 g·L ⁻¹) + Cyproconazole (30 g·L ⁻¹) + Tebuconazole (125 g·L ⁻¹)	Strobilurin Triazole	+ Amistar Trio® 255 EC	Syngenta
Azoxystrobin (120 g·L ⁻¹) + Tebuconazole (200 g·L ⁻¹)	Strobilurin Triazole	+ Azimut® 320 SC	Adama
Boscalid (50 %)	Succinate dehydrogenase inhibitor	Cantus® WG	BASF
Cyprodinil (300 g·L ⁻¹)	Anilinopyrimidine	Qualy® 300 EC	Adama
Cyprodinil (37.5 %) + Fludioxonil (25 %)	Anilinopyrimidine + Phenylpyrrole	Switch® 62.5 WG	Syngenta
Fludioxonil (50 %)	Phenylpyrrole	Scholar® 50 SC	Syngenta
Tebuconazole (250 g·L ⁻¹)	Triazole	Orius® 25 EW	Adama

Methods

Morphological and Molecular Characterization

For morphological characterization, colony growth pattern, colony color and conidia shapes (consisting of just alpha conidia or both alpha and beta conidia,

n=30) were examined on PDA (Potato Dextrose Agar, Difco®) at 25°C in dark for 25-28 days of incubation (Kanematsu et al. 1999; Mostert et al. 2001). Thirty conidia were measured, minimum and maximum spore dimensions were recorded using a light microscope (Olympus® BX51 attached with Touptek

Xcam1080 Camera®) and the average dimensions were calculated. After that, fungal DNA was extracted using CTAB protocol suggested by O'Donnell et al. (1998) and stored at -20°C until use. PCR amplification of the TEF1- α (translation elongation factor), calmodulin and β -tubulin genes were performed using EF728F/EF986R, CAL228F/CAL737R (Carbone and Kohn 1995) and Bt2a/Bt2b (Glass and Donaldson 1995) primer pairs. The PCR mixture of each sample (totally 50 μ l) contained 5 μ l of 10X Green Buffer, 2 μ l of dNTP mix., 0.25 μ l of Taq polymerase (Thermo Scientific® EP0702), 1 μ l of primers (10 pmol) and 38.75 μ l of PCR grade water. The thermocycler (Applied Biosystems; Simplicamp A24811®) conditions were adjusted as follows; 95°C for 3 minutes (initial denaturation), followed by 35 cycles each of denaturation at 95°C for 1 min, annealing at 52°C for 1 min TEF1- α , 55°C for 1 min (calmodulin) and 62°C for 1 min (β -tubulin) and extension at 72°C for 1 min, and a final extension at 72°C for 10 minutes. After amplification, PCR products (stained with SYBR Green I® dye, Lonza) were visualized by agarose gel electrophoresis (1.5%), purified and sequenced by MedSanTek Co. (Istanbul, Turkey). Nucleotide sequences of the isolates were contiged using Chromas Lite free software (Technelysium®) and the consensus sequences were compared with the other ones in the NCBI Gen Bank database using the BLASTn program. Molecular identification of the isolates was decided according to maximum score results (with 99% and 100% similarity), the sequences were submitted to NCBI GenBank and accession numbers were obtained.

Pathogenicity Test

The ability of *Diaporthe ampelina* isolates to cause disease and to which extent these isolates can cause necrosis (virulence) were evaluated in this test. The pathogenicity of 23 isolates was evaluated on green shoots of ten-years-old vines (*V. vinifera* cv. Tarsus Beyazı, located in the implementation area of Cukurova University, Agriculture Faculty) in field conditions. The isolates were grown on PDA at 25°C in dark for 20 days, after conidiomata formation, 4-mm mycelial agar plugs were used as inoculum. The green shoots (not so young, approximately 8 to 10 mm in diameter) were cleaned with 70% ethanol saturated cotton and slightly incised with a sterile scalpel. After that, conidial agar plugs were inoculated into the wounds and these points (between two nodes) were sealed with parafilm to induce fungal penetration (Rawnsley et al. 2004). Sterile agar plugs were inoculated into the wounds as control, five shoots were used for an isolate and each inoculation point was considered as a replication (arranged in a completely randomized design). The vines used in

these tests were not sprayed with any pesticide. 35-40 days after inoculation, green shoot lesion lengths were recorded and variance analysis was performed on data using one-way ANOVA test to reveal the statistical differences between means. The statistically similar groups were determined by Fischer's LSD test ($P \leq 0.05$) (Gomez and Gomez 1984). Pathogenicity of the isolates was confirmed by re-isolating of fungi from the inoculation points and emerging colonies were morphologically compared with previously inoculated ones.

Effect of Hot-Water Treatments on Mycelium Viability of *D. ampelina*

Six isolates of *D. ampelina* were selected for hot-water treatment and fungicide sensitivity tests. Half of them were "G" type (CUZF70, CUZF78, CUZF97) the others were "W" type (CUZF62, CUZF101, CUZF144) colonies. Hot-water treatments at 46, 47 and 48°C for 30 and 45 min were applied to 25-days old mycelia using a dry block thermostat (Bio TDB-100, Biosan®, Riga, Latvia). One milliliter of sterile distilled water (SDW) was added to sterile plastic centrifuge tubes (1.5 ml) and 5-mm mycelial agar plugs were plunged into the water. After that, the tubes were hold in a hot-block thermostat according to specified temperature and time combinations and then they were floated to cool on tap water at ambient temperature (19°C) for 30 min. The mycelial agar discs were briefly dried on sterile filter papers, then transferred onto PDA and Petri plates were incubated at 25°C for 10 days. Control agar discs were not treated in a dry block thermostat but placed in tubes containing SDW (19°C). The experiment used a completely randomized design, each of the plates was considered as a replicate and four plates were used for each isolate and untreated control. Colony growth was assessed on each Petri plate after 10 days by measuring the perpendicular diameters with a caliper. Percent inhibition was calculated using the Abbott formula, which is ((mean diameter of control – mean diameter of treatment)/control) (Gomez and Gomez 1984). After incubation, the temperature and time combination at which no fungal growth was determined as the thermal death point.

In vitro Fungicide Screening on Mycelial Growth of *Diaporthe ampelina* Isolates

In this part of the study, the mycelial growth of *Diaporthe ampelina* isolates (formerly used in *in vitro* hot water treatment tests) was tested on PDA against eight different fungicides. The glass tubes containing 15 ml of PDA were autoclaved and then cooled to 50°C in a water-bath (Memmert WB 10, Germany). The stock solutions/suspensions of fungicides were prepared in sterile distilled water, they were added into tubes with micropipettes to give desired the final

concentrations (1, 5, 10, 25 and 50 µg ml⁻¹). After pouring fungicide-PDA mixtures into plates, fresh mycelial agar plugs were placed onto the media and plates were incubated at 25°C for 11 days in the dark. Control PDA plates had just sterile distilled water instead of fungicide. The experiment was arranged in a completely randomized design, there were four replicates of each fungicide concentration. Colony growth of each isolate was measured after 11 days of inoculation, mean colony diameters were recorded and EC₅₀ values were calculated using LeOra POLO Plus® software. Variance analysis was performed on data using one-way ANOVA test to reveal statistical differences between means. The statistically similar groups were determined by Fischer's LSD test (P≤0.05) (Gomez and Gomez 1984).

RESULTS and DISCUSSION

Morphological and Molecular Identification

According to colony growing type on PDA, all the isolates (23) used in this study exhibited a typical *Diaporthe* colony morphology at 25°C for 28-days incubation in dark. Average colony diameters reached 76 mm at that time, aerial hyphal rings, white and gray pigmentation was observed. Of the 23 isolates, while CUZF70, CUZF78, CUZF97 and CUZF140

showed gray and the others showed white pigmentation on PDA, so they were characterized as "G" type and "W" type isolates respectively. All the isolates produced creamy conidiomata on scattered black pycnidia. The alpha conidia were hyaline, biguttulate, fusoid to ellipsoid and aseptate, their dimensions were 9.4 - 10.1 x 2.3 - 2.5 µm (av.= 9.9 x 2.4 µm, n=30). The beta conidia were straight, curved, aseptate and hyaline, their dimensions were 21 - 25 x 0.5 - 1.0 µm (av.= 22 x 1 µm, n=30). While "G" type isolates were observed to produce only alpha conidia, the other ones to produce both alpha and beta conidia. After these observations and examining descriptive publications (Gomes et al. 2013; Baumgartner et al 2013) the isolates were identified as *Diaporthe ampelina*.

Using triple locus gene sequencing and the nucleotide BLAST search, molecular identification was completed. The BLAST search results also confirmed morphological identification results, so that their nucleotide sequences matched with the sequences of *Diaporthe ampelina* isolates previously deposited in GenBank at least 99.0%. The accession numbers provided by NCBI GenBank and isolate location info were shown in Table 2.

Table 2. *Diaporthe ampelina* isolates, used in this study, recovered from grapevine (cv. Sultana Seedless) wood cankers and their accession numbers provided by NCBI GenBank

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan asma (çeş. Tarsus Beyazı) odun kanserlerinden izole edilmiş *Diaporthe ampelina* izolatları ve NCBI GenBank tarafından verilen kayıt numaraları

<i>Diaporthe ampelina</i> isolates	Location	GenBank accession numbers		
		BT	CAL	EF-1α
CUZF01	İzmir, TR	KY887663	MZ634304	KY950392
CUZF16	İzmir, TR	MZ634295	KY887662	KY950394
CUZF61	Turgutlu, TR	KY923779	MZ634305	KY950393
CUZF63	Menemen, TR	KY923780	MZ634306	KY950395
CUZF68	Salihli, TR	MZ634296	KY930662	KY950396
CUZF70	Manisa, TR	KY923781	MZ634307	KY950397
CUZF78	Menemen, TR	MZ634297	KY930663	KY950398
CUZF81	Manisa, TR	KY923782	KY930664	KY950399
CUZF86	Alaşehir, TR	KY923783	KY930665	KY950400
CUZF92	Sarıgöl, TR	KY923784	KY930666	KY950401
CUZF97	Alaşehir, TR	KY923785	KY930667	KY950402
CUZF101	Alaşehir, TR	KY923786	KY930668	KY950403
CUZF109	Menemen, TR	MZ634298	MZ634308	KY950404
CUZF111	Sarıgöl, TR	KY923787	KY930669	KY950405
CUZF114	Ahmetli, TR	MZ634299	KY930670	KY950406
CUZF119	Turgutlu, TR	KY923788	MZ634309	KY950407
CUZF120	Turgutlu, TR	MZ634300	MZ634310	KY950408
CUZF123	Salihli, TR	MZ634301	KY930671	KY950409
CUZF136	Alaşehir, TR	KY923789	KY930672	KY950410
CUZF140	Salihli, TR	MZ634302	MZ634311	KY950411
CUZF142	Ahmetli, TR	MZ634303	MZ634312	KY950412
CUZF144	Manisa, TR	KY923790	KY930673	KY950413
CUZF146	Manisa, TR	KY923791	KY930674	KY950414

Pathogenicity Tests

Pathogenicity of the *D. ampelina* isolates was tested on slightly woody shoots in vineyard conditions. All the isolates were found to be pathogenic on these shoots so that the lesion lengths were longer than that of control (sterile agar inoculated ones). While restricted discoloration (1.5 mm) occurred around the inoculation point of the control, obviously larger and blackish-brown discoloration was observed on *D. ampelina* inoculated shoots. The average lesion lengths produced by the isolates ranged from 6.5±0.9 to 20.3±1.4 for 35-40 days of incubation in vineyard

conditions. While the largest lesion lengths were obtained from the isolates; CUZF97 (20.3 mm), CUZF70 (16.0 mm) and CUZF63 (14.8 mm) and smallest ones obtained from the isolates; CUZF136 (6.5 mm), CUZF140 (7.3 mm) and CUZF101 (8.0 mm) respectively (Figure 1). When the lesion lengths produced by “W” and “G” type isolates were compared with each other, no significant correlation was observed between the type and virulence of the isolate. After measurement, the isolates were successfully recovered from the inoculation points of shoots except for control.

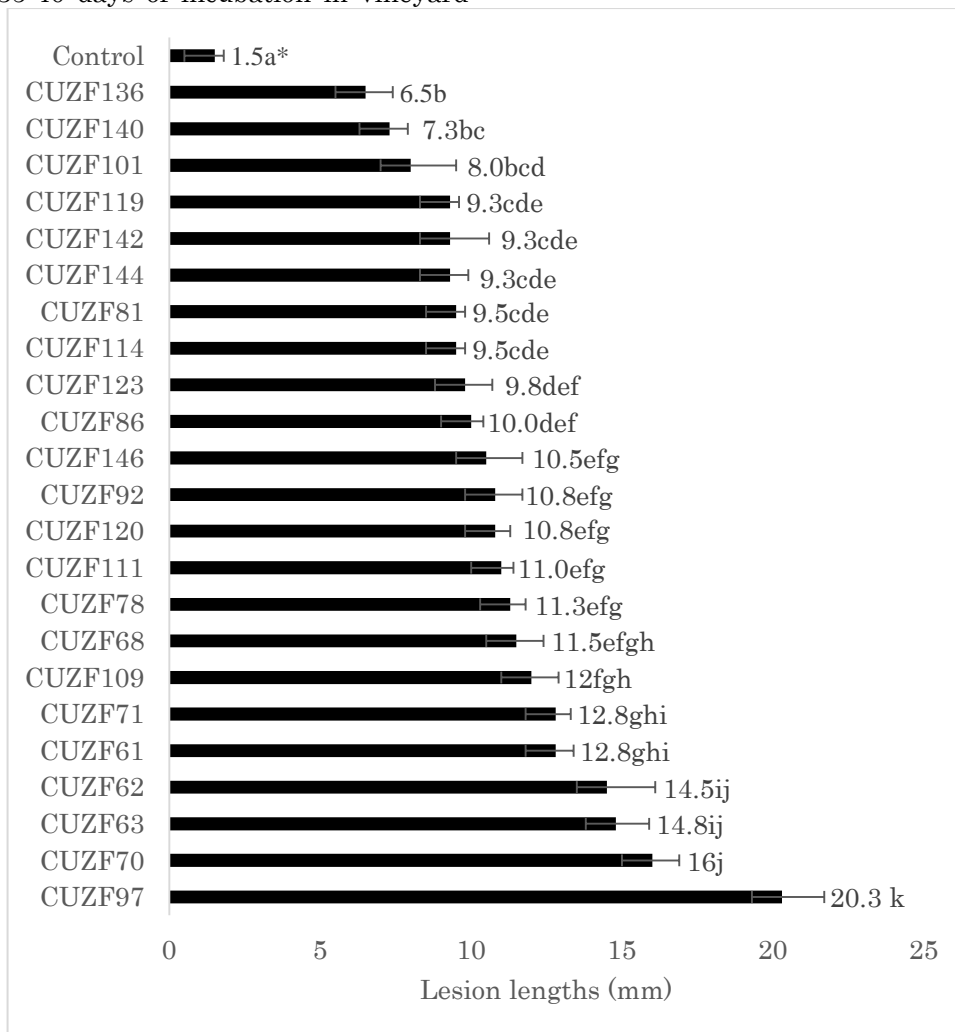


Figure 1. Mean lesion lengths (mm) caused by *D. ampelina* isolates after 35-40 days of inoculation on *Vitis vinifera* (cv. Tarsus Beyazı)

*Mean values within a bar are significantly different at the 0.05 level based on LSD test. LSD value:2.44

Şekil 1. *D. ampelina* izolatlarının inokulasyondan 35-40 gün sonra *Vitis vinifera* (Tarsus Beyazı)'da oluşan ortalama lezyon uzunlukları (mm)

*Bir bardaki ortalama değerler LSD testine göre (0.05 seviyesinde) önemli derecede farklıdır. LSD değeri:2.44

In vitro Hot-Water Treatments

Mycelial growth of *D. ampelina* isolates was affected with hot-water treatments in *in vitro* tests and was inhibited as the water temperature and duration increased. Depending on the isolates, mycelial growth

was reduced (at 46°C – 30 min) ranging from 11.3% to 27.1%. When the temperature was increased by 47°C, mycelial growth was inhibited by 23.6 – 47.1% rates in all isolates at 30-min duration. From all HWT combinations, the thermal death point was found to

be 48°C-30 min for “W” type isolates (CUZF62, CUZF101, CUZF144), at which these isolates were completely inhibited (Figure 2). However, “G” type isolates (CUZF70, CUZF78, CUZF97) were

significantly inhibited (max. 87%) at 48°C – 30 min but their thermal death point was 48°C – 45 min. So “G” type isolates were found to be more resistant to HWTs than “W” types.

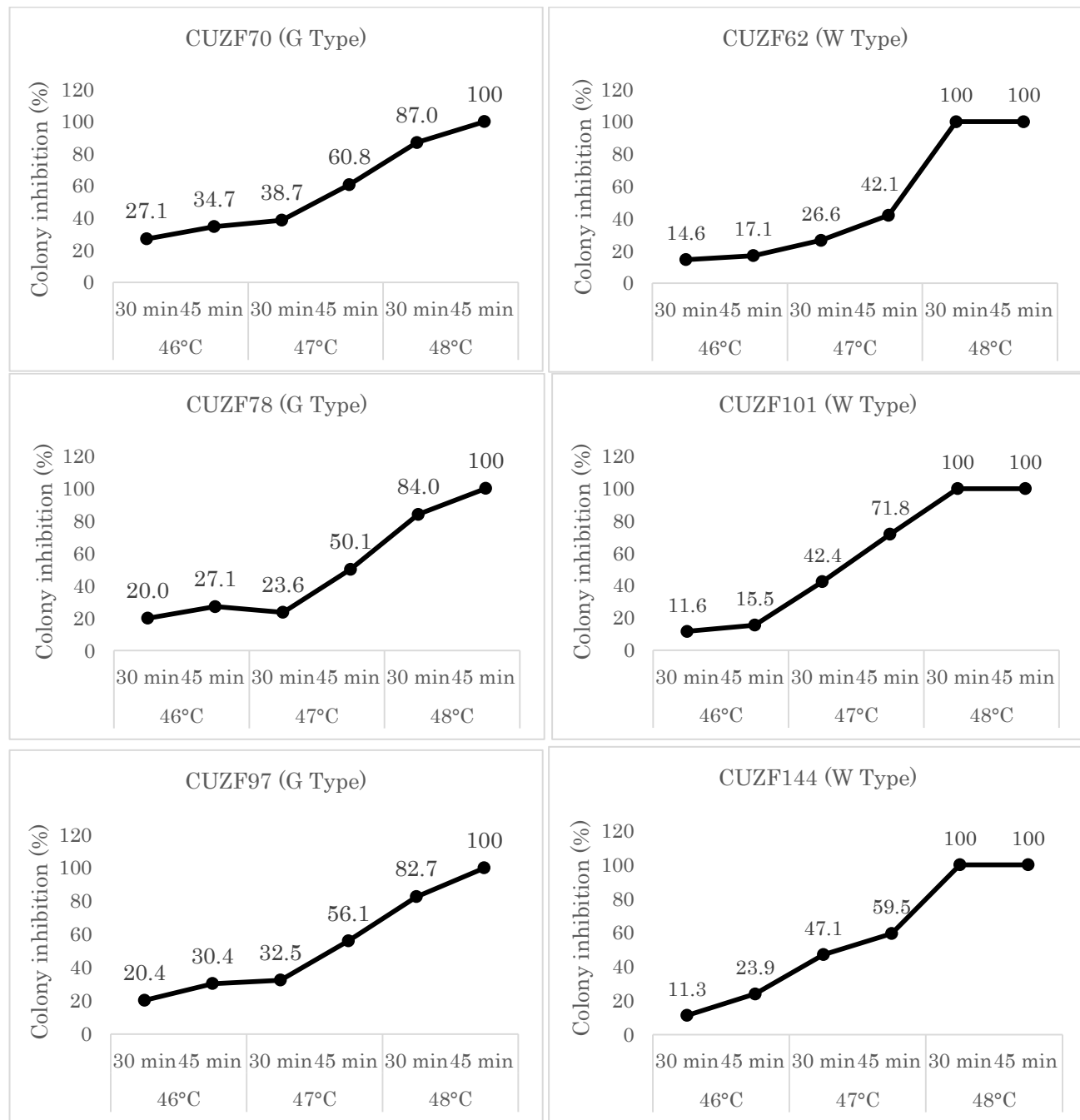


Figure 2. Percentage colony growth inhibition of “G” and “W” types of *D. ampelina* isolates treated with HWTs in *in vitro* at different temperatures and durations.

Şekil 2. *In vitro*'da farklı sıcaklık ve uygulama sürelerinde “G” ve “W” tipi *D. ampelina* izolatlarının koloni büyüme inhibisyon yüzdesi

In vitro Fungicide Screening

Effect of different fungicides on mycelial the growth of *D. ampelina* isolates was investigated in *in vitro* conditions. Among the fungicides, fludioxonil and cyprodinil + fludioxonil inhibited colony growth at 1.0

$\mu\text{g ml}^{-1}$ concentration with 76.3 and 89.5% rates, so they were found to be the most effective fungicides. While the average colony diameters of the six isolates were recorded as 70.5 – 72.8 mm in control (no fungicide), they were 10.1 – 17.0 mm on the colonies subjected to fludioxonil alone and 7.5 – 15.9 mm in

cyprodinil + fludioxonil at $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. On the other hand, tebuconazole and azoxystrobin + tebuconazole caused significant inhibition at lower concentration when compared to azoxystrobin, boscalid and cyprodinil alone (Table 3). Propiconazole + azoxystrobin + cyproconazole mixture caused more than 50% inhibition at $5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ concentration and colony growth was completely inhibited at $25 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ and $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ concentrations. When effective concentration (EC_{50}) values were examined, the inhibitory effect of tested fungicides on mycelial growth was clearly demonstrated. EC_{50} values ranged from <0.001 to >100 . Cyprodinil + fludioxonil, tebuconazole, fludioxonil had consistently lower EC_{50} when tested with the other fungal isolates. However, azoxystrobin, boscalid and cyprodinil had consistently higher EC_{50} values. Depending on isolates, the highly effective fungicides were fludioxonil and tebuconazole containing ones (Table 4).

In this study, 23 *Diaporthe* isolates were identified and screened for pathogenicity, susceptibility against some fungicides and hot-water treatments. Morphological and molecular studies showed all isolates were *Diaporthe ampelina*. The isolates were obtained from wood cankers of vines along with vines exhibiting cane and leaf spot symptoms. *Diaporthe ampelina* is a predominant pathogen in the Aegean Region (climatically different from the Mediterranean Region) of Turkey. We found this species the most frequently isolated fungus from wood cankers (just five isolates were morphologically and molecularly identified) when compared to the other fungal trunk pathogens in this region, so that its isolation frequency was ranged between 3.8% and 22.6% (Akgül et al. 2015). Mostert et al. (2001) discriminated 61 *Diaporthe* isolates from 58 different vineyards in South Africa by morphological, molecular and pathogenic features. *Diaporthe amygdali*, *D. perijuncta* and some *Phomopsis* isolates are not virulent on shoots of vines and they were described as lesser pathogenic or endophytic species. However, *Diaporthe ampelina* was found to be a highly virulent, most common and widely distributed species in vineyards of Western Cape province. Guarnaccia et al. (2018) conducted a broad survey in Croatia, Czech-Republic, France, Hungary, Israel, Italy, Spain and England to determine species diversity of *Diaporthe* species and their pathogenicity. *Diaporthe eres* and *D. ampelina* were the most commonly isolated ones and further *D. bohemiae*, *D. celeris*, *D. hispaniae* and *D. hungariae* were described for the first time in Europe. Our identification results corroborate these studies, because of *D. ampelina* was a predominant pathogen in the Aegean Region of Turkey, up to now, no other species was found on grapevines. Morphologically, the isolates that we used in pathogenicity tests were included in two groups

according to description of Kanematsu et al. (1999).

Most of the isolates had “W type” colonies producing both alpha and beta conidia and four isolates had “G type” colonies producing just alpha conidia on PDA. All “G type” colonies did not produce severe and longest lesions on green shoots as expected, the lesion lengths of some isolates were moderate or shorter for 35-40 days of incubation in field conditions. These findings were not entirely parallel with the suggestions of Kanematsu et al (1999) who described “W type” colonies were less virulent on hosts. Virulence of a pathogen may vary depending on the genetic characteristics of the isolate, environmental conditions and host susceptibility and significant differences may occur between the isolates used in a study. Urbez-Torres et al. (2013) tested virulence of *D. ampelina*, *D. ambigua* and *D. neotheicola* species on six different *V. vinifera* cultivars. Among the inoculated fungi, *D. ampelina* always produced the longer vascular discolorations on vine cordons and its re-isolation rates were higher than 60%. The lesion lengths varied according to isolate and vine cultivars used in the study. Our pathogenicity results confirm this virulence measured in this study. In a vineyard survey conducted in China, *Diaporthe eres*, *D. hongkongensis*, *D. phaseolorum* and *D. sojae* were isolated from symptomatic wood tissues of vines but *D. ampelina* not. The pathogenicity tests revealed *D. eres* and *D. hongkongensis* were the most virulent species as compared to *D. phaseolorum* and *D. sojae* (Dissanayake et al. 2015). In a similar study, Baumgartner et al. (2013) compared the virulence of *P. viticola* isolates (isolated from wood cankers and leaf spots) with those of virulence of *P. fukushii* and *D. eres* on the stems of Concord and Chardonnay grapes. At the end of one-year incubation, longer lesions were observed with inoculation of *P. viticola* when compared to *P. fukushii*, *D. eres* and non-inoculated control. Thermal death point of pathogens to hot-water treatment may differ to species and their isolates. Gramaje et al. (2008) screened sensitivity some of the Petri disease pathogens to hot-water treatments in *in vitro* and found that *Phaeoconiella chlamydospora* were more sensitive than *Phaeoacremonium* species. While *Pa. chlamydospora* tolerated 53°C -HWT, *Pm. parasiticum* and *Pm. aleophilum* could tolerate even 54°C -HWT. Elena et al. (2015) tested mycelial viability of *Diplodia seriata*, *Neofusicoccum luteum*, *N. parvum*, *N. vitifusiforme*, *Lasiodiplodia theobromae* and *Spenceriartinisia viticola* in tubes subjected to 50 - 54°C HWT regime. They found that *L. theobromae* and *N. vitifusiforme* were very tolerant but the others were susceptible to HWTs. In our study, 48°C -30 min HWT completely inhibited mycelial vitality of “W type” isolates of *D. ampelina* but not the others, so 48°C -45 min-treatment was needed to reach complete eradication

Table 3. Mean colony diameters of six *D. ampelina* isolates at different concentrations of fungicides on PDA
 Çizelge 3. PDA'daki farklı fungusit konsantrasyonlarında altı *D. ampelina* izolatının ortalama koloni çapları

Fungicide Doses ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	<i>Diaporthe ampelina</i> isolates					
	CUZF62	CUZF70	CUZF78	CUZF97	CUZF101	CUZF144
	Colony diameter (mm)					
	Azoxystrobin					
0	71.1 \pm 0.5 f*	71.4 \pm 0.5 f	70.5 \pm 0.5 f	72.8 \pm 0.6 e	72.4 \pm 0.3 e	71.0 \pm 0.4 d
1	48.9 \pm 0.4 e	52.1 \pm 0.8 e	59.9 \pm 0.6 e	58.9 \pm 0.6 d	59.4 \pm 0.5 d	57.5 \pm 0.5 c
5	38.5 \pm 0.5 d	48.9 \pm 0.6 d	55.3 \pm 0.5 d	51.1 \pm 0.7 c	59.3 \pm 0.5 d	56.4 \pm 0.4 c
10	29.5 \pm 0.5 c	42.5 \pm 0.7 c	50.6 \pm 0.4 c	50.1 \pm 0.4 c	55.8 \pm 0.5 c	54.0 \pm 0.4 b
25	25.8 \pm 0.5 b	35.9 \pm 0.6 b	45.9 \pm 0.7 b	47.9 \pm 0.6 b	50.3 \pm 0.3 b	50.0 \pm 0.6 a
50	23.5 \pm 0.7 a	30.8 \pm 0.4 a	38.6 \pm 0.3 a	34.0 \pm 0.5 a	42.3 \pm 0.4 a	38.8 \pm 0.8 a
	Boscalid					
0	71.3 \pm 0.3 f	71.9 \pm 0.3 f	71.0 \pm 0.5 f	71.4 \pm 0.4 f	71.1 \pm 0.6 d	72.1 \pm 0.2 f
1	62.9 \pm 0.6 e	63.6 \pm 0.5 e	58.4 \pm 0.4 e	64.5 \pm 0.5 e	58.4 \pm 0.6 c	54.6 \pm 0.3 e
5	55.3 \pm 0.3 d	55.8 \pm 0.3 d	52.8 \pm 0.3 d	55.5 \pm 0.4 d	55.4 \pm 0.2 b	51.1 \pm 0.5 d
10	52.5 \pm 0.5 c	47.4 \pm 0.7 c	42.1 \pm 0.5 c	52.0 \pm 0.5 c	54.6 \pm 0.4 b	47.3 \pm 0.5 c
25	45.4 \pm 0.7 b	43.1 \pm 0.4 b	36.0 \pm 0.5 b	46.3 \pm 0.4 b	54.3 \pm 0.6 ab	45.6 \pm 0.4 b
50	40.8 \pm 0.6 a	35.4 \pm 0.5 a	27.0 \pm 0.2 a	41.6 \pm 0.4 a	49.3 \pm 0.5 a	42.5 \pm 0.2 a
	Cyprodinil					
0	71.4 \pm 0.2 f	70.4 \pm 0.2 f	70.9 \pm 0.2 f	71.1 \pm 0.2 f	71.8 \pm 0.3 f	71.6 \pm 0.2 f
1	59.9 \pm 0.4 e	59.8 \pm 0.7 e	55.8 \pm 0.6 e	59.3 \pm 0.8 e	61.9 \pm 0.2 e	61.9 \pm 0.2 e
5	46.0 \pm 0.5 d	49.1 \pm 0.8 d	52.8 \pm 0.3 d	54.4 \pm 0.4 d	56.4 \pm 0.5 d	50.1 \pm 0.6 d
10	37.8 \pm 0.5 c	45.3 \pm 0.4 c	51.3 \pm 0.8 c	50.9 \pm 0.4 c	51.3 \pm 0.9 c	30.0 \pm 0.8 c
25	34.3 \pm 0.6 b	21.3 \pm 0.4 b	41.5 \pm 0.5 b	39.9 \pm 0.5 b	30.4 \pm 0.2 b	19.6 \pm 0.4 b
50	23.5 \pm 0.5 a	10.3 \pm 0.3 a	12.9 \pm 0.1 a	12.3 \pm 0.5 a	9.0 \pm 0.5 a	7.9 \pm 0.2 a
	Fludioxonil					
0	72.4 \pm 0.1 e	70.5 \pm 0.4 a	72.6 \pm 0.3 f	72.0 \pm 0.4 e	71.6 \pm 0.1 e	72.1 \pm 0.2 e
1	10.1 \pm 0.6 d	12.3 \pm 0.5 d	11.1 \pm 0.5 e	15.8 \pm 0.5 d	17.0 \pm 0.5 d	11.3 \pm 0.6 d
5	7.0 \pm 0.2 c	4.8 \pm 0.1 c	6.5 \pm 0.2 d	8.0 \pm 0.2 c	9.8 \pm 0.3 c	6.0 \pm 0.4 c
10	5.0 \pm 0.2 b	4.3 \pm 0.1 c	3.5 \pm 0.3 c	6.1 \pm 0.1 b	9.3 \pm 0.3 bc	6.4 \pm 0.1 b
25	0.0 \pm 0.0 a	3.0 \pm 0.0 b	2.3 \pm 0.3 b	5.3 \pm 0.3 b	8.4 \pm 0.4 b	4.8 \pm 0.1 b
50	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	1.6 \pm 0.4 a	4.8 \pm 0.5 a	3.2 \pm 0.1 a
	Cyprodinil + Fludioxonil					
0	71.6 \pm 0.4 e	71.5 \pm 0.5 c	71.5 \pm 0.2 c	72.8 \pm 0.3 f	71.1 \pm 0.4 d	71.9 \pm 0.4 d
1	7.5 \pm 0.2 d	8.6 \pm 0.2 b	15.9 \pm 0.4 b	9.1 \pm 0.2 e	14.1 \pm 0.6 c	9.3 \pm 0.3 c
5	3.4 \pm 0.4 c	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	5.5 \pm 0.2 d	3.4 \pm 0.4 b	1.8 \pm 0.3 b
10	2.0 \pm 0.2 b	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	3.8 \pm 0.1 c	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a
25	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.6 \pm 0.1 b	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a
50	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a
	Tebuconazole					
0	71.4 \pm 0.4 d	72.8 \pm 0. d	73.3 \pm 0.1 c	71.3 \pm 0.3 d	72.4 \pm 0.3 c	73.3 \pm 0.3 c
1	33.8 \pm 0.6 c	55.3 \pm 0.6 c	51.6 \pm 0.5 bc	48.0 \pm 0.4 c	26.1 \pm 0.3 b	37.0 \pm 0.5 b
5	8.4 \pm 0.6 b	32.4 \pm 0.6 b	0.0 \pm 0.0 a	3.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a
10	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a
25	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a
50	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a
	Azoxystrobin + Tebuconazole					
0	71.8 \pm 0.5 e	71.1 \pm 0.2 d	71.9 \pm 0.3 c	71.6 \pm 0.5 d	72.4 \pm 0.6 d	71.6 \pm 0.6 d
1	34.3 \pm 0.7 d	46.4 \pm 0.4 c	40.6 \pm 0.6 b	50.5 \pm 0.7 c	57.5 \pm 0.6 c	48.0 \pm 0.6 c
5	9.6 \pm 0.4 c	32.0 \pm 0.5 b	0.0 \pm 0.0 a	5.8 \pm 0.5 b	9.4 \pm 0.2 b	6.1 \pm 0.3 b
10	3.4 \pm 0.7 b	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a
25	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a
50	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a
	azoxystrobin + cyproconazole + propiconazole					
0	70.5 \pm 0.5 e*	71.5 \pm 0.5 e	71.4 \pm 0.6 e	72.0 \pm 0.4 e	71.4 \pm 0.4 e	71.3 \pm 0.5 e
1	45.8 \pm 2.2 d	47.5 \pm 0.6 d	57.1 \pm 0.7 d	54.0 \pm 0.8 d	57.3 \pm 0.3 d	47.3 \pm 0.4 d
5	31.8 \pm 0.5 c	31.3 \pm 0.5 c	37.1 \pm 0.4 c	33.4 \pm 0.6 c	33.9 \pm 0.6 c	31.6 \pm 0.7 c
10	27.8 \pm 0.7 b	10.8 \pm 0.5 b	12.3 \pm 0.4 b	15.0 \pm 0.4 b	16.3 \pm 0.6 b	18.5 \pm 0.5 b
25	6.9 \pm 0.2a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a
50	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a	0.0 \pm 0.0 a

*Means within a column followed by the same letter is not significantly different ($P \leq 0.05$) based on LSD test.
 * Sütun içerisinde aynı harfle takip eden ortalamalar LSD ($P \leq 0.05$) testine göre farklı değildir.

Table 4. Means of effective concentrations (EC₅₀) for 50% reduction of mycelial growth of *Diaporthe ampelina* isolates during the *in vitro* fungicide screening experiment

Çizelge 4. *In vitro* fungusit tarama denemeleri sırasında *Diaporthe ampelina* izolatlarının miseliyal gelişimini %50 azaltan etkili konsantrasyon (EC₅₀) ortalamaları

Fungicides	EC ₅₀ values (µg ml ⁻¹)					
	CUZF62	CUZF70	CUZF78	CUZF97	CUZF101	CUZF144
Azoxystrobin	93.4 d*	87.7 f	>100 e	>100 e	>100 e	>100 e
Azoxystrobin + Cyproconazole + Tebuconazole	3.69 b	2.8 c	3.9 c	3.6 b	4.0 b	2.9 b
Azoxystrobin + Tebuconazole	1.2 a	2.2 c	<0.001 a	1.7 b	2.0 b	1.7 b
Boscalid	>100 e	66.6 e	33.9 d	99.5 d	86.5 d	79.7 d
Cyprodinil	21.7 c	13.9 d	28.5 d	24.7 c	17.5 c	10.7 c
Cyprodinil + Fludioxonil	0.11 a	<0.001 a	<0.001 a	0.05 a	<0.001 a	<0.003 a
Fludioxonil	0.17 a	0.08 b	0.01 b	0.01 a	<0.001 a	<0.001 a
Tebuconazole	1.18 a	<0.001 a	<0.001 a	1.7 b	<0.001 a	<0.001 a
LSD (0.05)	1.15	1.06	1.92	2.01	1.48	1.08

*Means within a column followed by the same letter is not significantly different (P ≤ 0.05) based on LSD test.

* Sütun içerisinde aynı harfle takip eden ortalamalar LSD (P ≤ 0.05) testine göre farklı değildir.

for all types of isolates. It is suggested that the differentiation between two types of isolates may have related to melanization in gray type colonies. Many researchers state that melanin contributes not only to pathogenicity, but also to the adaptation of fungi to environmental factors (Kim et al. 2003; Gessler et al. 2014). Rehnstrom and Free (1996) compared conidial viability in melanized (wild-type) and non-melanized (mutant) *Monilinia fructicola* isolates to hot-water treatment (40°C – 30 min) *in vitro*. While this treatment killed all conidia of mutant isolate, 50% of conidia have been detected to survive in wild-type isolate. So melanin has been suggested to play an important role in resistance of conidia to a variety of environmental stresses. In another study, virulence of *Magnaporthe grisea* (rice blast disease fungus) was found to be affected by melanin synthesis ability of fungus. While virulent isolate being successful to reveal typical disease symptoms, the other plants inoculated with albino mutant isolate stayed asymptomatic (Howard and Valent 1996). In the current study, the fungicides containing fludioxonil and tebuconazole showed highly inhibitory effect even at 1.0 µg·ml⁻¹ concentration. However, azoxystrobin, cyprodinil and boscalid performed inferior effect on mycelial growth of *D. ampelina* isolates, when compared to fludioxonil and tebuconazole. Mostert et al. (2000) determined efficacy of different fungicides (azoxystrobin, flusilazole, folpet, fosetyl-al + mancozeb, kresoxym-methyl, penconazole, propineb, mancozeb, spiroxamine and trifloxystrobin) on mycelial growth and spore germination of *Phomopsis viticola* in *in vitro*. Azoxystrobin, kresoxym-methyl and trifloxystrobin have been found to be the most effective fungicides with 0.35, 1.67 and 0.05 µg·ml⁻¹ EC₅₀ values in this study. However, azoxystrobin could not perform a strong inhibition in our study (minimum EC₅₀ value was 87.7 µg·ml⁻¹), so our results were not parallel with the findings of Mostert et al.

(2000). This difference may have been due to the ratio of the active ingredients in fungicide (azoxystrobin) used. Gramaje et al. (2009) tested 14 fungicides on mycelial growth and conidial germination of *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium aleophilum* in *in vitro*. Azoxystrobin, carbendazim and tebuconazole were found to be the most effective ones against *P. chlamydospora* and *Pa. aleophilum*. Especially carbendazim exhibited a satisfactory performance in hydration tanks by eliminating conidia of these fungi. In a similar study of Rego et al. (2009), cyprodinil + fludioxonil and pyraclostrobin + metiram were detected to decrease the percentage of infected plants in grapevine nurseries when they used in hydration tanks before grafting stage. Sosnowski et al. (2013) examined the efficacy of 24 fungicides and naturally obtained active substances for protection of pruning wounds against ascospore infections of *Eutypa lata* both in laboratory and vineyard conditions. They found tebuconazole and carbendazim to be the most effective fungicides on ascospore germination and mycelial growth of the fungus in both conditions. Pyrimethanil, fluazinam, cyprodinil + fludioxonil were also found to be effective but their performance was inferior when compared to tebuconazole and carbendazim. The results of our fungicide experiment somewhat overlap with the findings of the studies mentioned above. However, there are few studies examining suppressive effects of modern fungicides on growth of *D. ampelina*.

CONCLUSION

In the current study, *D. ampelina* has been revealed to be an important pathogen associated with grapevine trunk disease in Turkey vineyards. We have also detected that tebuconazole and fludioxonil containing fungicides were very effective and 48°C-45 min. hot-water treatment completely inhibited mycelial growth of this fungus in laboratory conditions. These results would contribute to further

studies aiming at reduction of latent infections of the pathogen during soaking and pre-grafting stages of dormant cuttings in grapevine nurseries.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the Cukurova University Scientific Research Projects Department, in Project FYL-2017-8158, and was a MSc Thesis Project. The authors thank The Rectorate of Cukurova University.

Contribution statement of researchers

The authors declare that they have contributed to the article equally.

Conflict of interest

The authors state that there are no conflict of interests.

REFERENCES

- Akgül DS, Savaş NG, Teker T, Keykubat B, Mayorquin JS, Eskalen A 2015. Fungal Trunk Pathogens of Sultana Seedless Vineyards in Aegean Region of Turkey. *Phytopathol Mediterr* 54 (2):380-393.
- Akgül DS, Ahioğlu M 2019. Fungal pathogens associated with young grapevine decline in the Southern Turkey vineyards. 42. World Congress of Vine & Wine, 15-19 July 2019, Geneva, Switzerland, 15 (01027):1-6.
- Baumgartner K, Fujiyoshi PT, Travadon R, Castlebury LA, Wilcox WF, Rolshausen PE 2013. Characterization of Species of *Diaporthe* from Wood Cankers of Grape in Eastern North American vineyards. *Plant Dis* 97: 912-920.
- Carbone L, Kohn LM 1995. A method for Designing Primer Sets for Speciation Studies in Filamentous Ascomycetes. *Mycologia* 91: 553-556.
- Caudwell A, Larrue J, Boudon-Padieu E, McLean GD 1997. Flavescence Dorée Elimination from Dormant Wood of Grapevines by Hot-Water Treatment. *Aust J Grape Wine R* 3: 21-25.
- Crous PW, Swart L, Coertze S 2001. The Effect of Hot-Water Treatment on Fungi Occurring in Apparently Healthy Grapevine Cuttings. *Phytopathol Mediterr* 40: 464-466.
- Dissanayake AJ, Liu M, Zhang W 2015. Morphological and Molecular Characterization of *Diaporthe* Species Associated with Grapevine Trunk Disease in China. *Fungal Biol* 119: 283-294.
- Elena G, Di Bella V, Armengol J, Luque J 2015. Viability of Botryosphaeriaceae Species Pathogenic to Grapevine After Hot Water Treatment. *Phytopathol Mediterr* 54: 325-334.
- Erincik O, Madden LV, Ferree DC, Ellis MA 2001. Effect of Growth Stage on Susceptibility of Grape Berry and Rachis Tissues to Infection by *Phomopsis viticola*. *Plant Dis* 85:517-520.
- Gessler NN, Egorova AS, Belozerskaia TA 2014. Melanin Pigments of Fungi Under Extreme Environmental Conditions (review). *Prikl Biokhim Mikrobiol* 50: 125-134.
- Glass NL, Donaldson GC 1995. Development of Primer Sets Designed for Use with the PCR to Amplify Conserved Genes from the Filamentous Ascomycetes. *Appl Environ Microbiol* 61: 1323-1330.
- Gomes RR, Glienke C, Videira SIR, Lombard R, Groenewald JZ, Crous PW 2013. *Diaporthe*: A Genus of Endophytic, Saprobic and Plant Pathogenic Fungi. *Persoonia* 31: 1-41.
- Gomez KA, Gomez AA 1984. Statistical Procedures for Agricultural Research. 2nd ed. Wiley, New York, USA.
- Görür V, Akgül DS 2019. Fungicide Suspensions Combined with Hot-Water Treatments Affect Endogenous *Neofusicoccum parvum* Infections and Endophytic Fungi in Dormant Grapevine Canes. *Phytopathol Mediterr* 58(3): 559-571.
- Gramaje D, Garcia-Jimenez J, Armengol J 2008. Sensitivity of Petri disease Pathogens to Hot-Water Treatments *in vitro*. *Ann Appl Biol* 153: 95-103.
- Gramaje D, Aroca A, Raposo R, Garcia-Jimenez J, Armengol J 2009. Evaluation of fungicides to control Petri disease pathogens in the grapevine propagation process. *Crop Prot* 28: 1091-1097.
- Guarnaccia V, Groenewald JZ, Woodhall J, Armengol J, Cinelli T 2018. *Diaporthe* Diversity and Pathogenicity Revealed from A Broad Survey of Grapevine Diseases in Europe. *Persoonia* 40: 135-153.
- Howard RJ, Valent B 1996. Breaking and Entering: Host Penetration by the Fungal Rice Blast Pathogen *Magnaporthe Grisea*. *Annu Rev. Microbiol* 50: 491-512.
- Kanematsu S, Kobayashi T, Kudo A, Ohtsu Y 1999. Conidial Morphology, Pathogenicity and Culture Characteristics of *Phomopsis* Isolates from Peach, Japanese Pear and Apple in Japan. *Ann Phytopathol Soc Jpn* 65: 264-273.
- Kim DS, Park SH, Kwon SB, Joo YH, Youn SW, Sohn UD, Park KC 2003. Temperature Regulates Melanin Synthesis in Melanocytes. *Arch Pharm Res* 26:840-845.
- Mostert L., Denman S, Crous PW (2000) *In vitro* Screening of Fungicides Against *Phomopsis viticola* and *Diaporthe perijuncta*. *S. Afr. J. Enol Vitic.* 21 (2): 62-65.
- Mostert L, Crous PW, Kang JC, Phillips AJL 2001. Species of *Phomopsis* and a *Libertella* sp. Occurring on Grapevines with Specific Reference to South Africa: Morphological, Cultural,

- Molecular and Pathological Characterization. *Mycologia* 93: 146-167.
- O'Donnell K, Cigelnik E, Nirenberg HI 1998. Molecular Systematics and Phylogeography of the *Gibberella Fujikuroi* Species Complex. *Mycologia* 90(3): 465-493.
- Rawnsley B, Wicks TJ, Scott ES, Stummer BE 2004. *Diaporthe perijuncta* Does Not Cause Phomopsis Cane and Leaf Spot Disease of Grapevine in Australia. *Plant Dis* 88: 1005–1010.
- Rehnstrom AL, Free SJ 1996. The Isolation and Characterization of Melanin Deficient Mutants of *Monilinia fructicola*. *Physiol Mol Plant P* 49: 321–330.
- Rego C, Nascimento T, Cabral A, Silva MJ, Oliviera H 2009. Control of Grapevine Wood Fungi in Commercial Nurseries. *Phytopathol. Mediterr* 48: 128-135.
- Rooney SN, Gubler WD 2001. Effect of Hot Water Treatments on Eradication of *Phaeoconiella chlamydospora* and *Phaeoacremonium inflatipes* from Dormant Grapevine Wood. *Phytopathol Mediterr* 40: 467–472.
- Schilder AMC, Erincik O, Castlebury L, Rossman A, Ellis MA 2005. Characterization of *Phomopsis* spp. Infecting Grapevines in the Great Lakes Region of North America. *Plant Dis* 89: 755–762.
- Sosnowski MR, Loschiavo AP, Wicks TJ, Scott ES 2013. Evaluating Treatments and Spray Application for the Protection of Grapevine Pruning Wounds from Infection by *Eutypa lata*. *Plant Dis.* 97: 1599-1604.
- Úrbez-Torres JR, Peduto F, Smith RJ, Gubler WD 2013. *Phomopsis* dieback: A Grapevine Trunk Disease Caused by *Phomopsis viticola* in California. *Plant Dis.* 97: 1571-1579.
- Waite H, Armengol J, Billones-Baaijens R, Gramaje D, Halleen F 2018. A Protocol for the Management of Grapevine Rootstock Mother Vines to Reduce Latent Infections by Grapevine Trunk Pathogens in Cuttings. *Phytopathol Mediterr* 57: 384–398.

Bazı Nanogümüş Partiküllü (AgNPs) Bitki Su Ekstraktlarının Kök-Ur Nematodu, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Nematoda: Meloidogynidae)'ya Karşı *In vitro* Koşullarda Etkinliğinin Belirlenmesi

Onur DURA¹, İlker KEPENEKCI^{2*}

¹Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, YALOVA, ²Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakùltesi, TOKAT

¹<https://orcid.org/0000-0002-4562-8462>, ²<https://orcid.org/0000-0002-8734-3422>

✉: kepenekci@gmail.com

ÖZET

Bu çalışma, Kök-ur nematodları [*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Nematoda: Meloidogynidae)] (KUN)'na karşı bazı nanogümüş partiküllü (AgNPs) bitki su ekstraktlarının nematisidal etkilerini araştırmak amacıyla yürütülmüştür. Bu amaçla, *Brassica carinata* L. (Brassicaceae), *Moringa oleifera* L. (Moringaceae), *Euphorbia helioscopia* L. (Euphorbiaceae), *Lantana camara* L. (Verbenaceae) ve *Datura stramonium* L. (Solanaceae) bitkilerinden elde edilen (su ve nanogümüş katkılı) bitkisel ekstraktların KUN'a karşı etkileri *in vitro* koşullarında araştırılmıştır. Denemelerde *M. incognita* saf kùltüründen elde edilen 2. dönem larva (L2)'lara karşı ekstraktlar 5 farklı konsantrasyonda (%5, %10, %15, %20 ve %25; 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm ve 200 ppm) uygulanmıştır. *M. oleifera* ve *L. camara*'nın bitki su ekstraktlarının %25 konsantrasyonu (sırasıyla %65.80, %70.70) ve nanogümüş partiküllü ekstraktlarının 200 ppm konsantrasyonu (sırasıyla %95.10, %94.10) etkili bulunmuştur.

Bitki Koruma

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 13.09.2021

Kabul Tarihi : 15.12.2021

Anahtar Kelimeler

Kök-ur nematod
Meloidogyne spp.
Gümüş nanopartikül
Bitki ekstraktı
In vitro

Determination of The Effectiveness of Some Plant Water Extracts whit Nanosilver Particulated (AgNPs) Against Root Knot Nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Nematoda: Meloidogynidae) *In Vitro* Conditions

ABSTRACT

This study was conducted to determine the nematicidal effects of some nano-silver particle (AgNPs) plant aqueous extracts against root-knot nematodes [*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Nematoda: Meloidogynidae)] (RKN). For this purpose, the effects of the extracts (water and nano-silver added) of *Brassica carinata* L. (Brassicaceae), *Moringa oleifera* L. (Moringaceae), *Euphorbia helioscopia* L. (Euphorbiaceae), *Lantana camara* L. (Verbenaceae) and *Datura stramonium* L. (Solanaceae) against RKN were investigated in *in vitro* conditions. Extracts were applied in 5 different concentrations (5%, 10%, 15%, 20% and 25%; 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm and 200 ppm) against second stage larvae (J2) obtained from *M. incognita* pure culture in the experiments. The 25% concentration of the plant water extracts (65.80%, 70.70%, respectively) and the 200 ppm concentration of the extracts with nanosilver particles (95.10%, 94.10%, respectively) of *M. oleifera* and *L. camara* were found to be effective.

Entomology

Research Article

Article History

Received : 13.09.2021

Accepted : 15.12.2021

Keywords

Root-knot nematode
Meloidogyne spp.
Silver nanoparticles
Plant extract
In vitro

Atıf Şekli: Dura D, Kepenekci İ 2022. Bazı Nanogümüş Partiküllü (AgNPs) Bitki Su Ekstraktlarının Kök-Ur Nematodları (*Meloidogyne* spp.)'na Karşı *In vitro* Koşullarda Etkinliğinin Belirlenmesi KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1390-1400. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.994761.

To Cite : Dura D, Kepenekci İ 2022. Determination of The Effectiveness of Some Plant Water Extracts whit Nanosilver Particulated (AgNPs) Against Root Knot Nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Nematoda: Meloidogynidae) *In Vitro* Conditions KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1390-1400. DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.994761.

GİRİŞ

Tarımsal üretimde birçok hastalık, zararlı ve yabancı ot yetiştirme periyodu boyunca ekonomik olarak ürün

kayıplarına neden olabilmektedir. Kültür bitkilerinde önemli oranda ürün kayıplarına neden olan birçok zararlı organizmadan biri de bitki paraziti nematodlardır (BPN). Çok sayıda zararlı bitki paraziti nematod türü farklı konukçu bitkilerin değişik fenolojik dönemlerinde bitkilerde doğrudan veya dolaylı olarak ekonomik ürün kayıplarına neden olmaktadır. Özellikle obligat bitki paraziti olan Kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.) (Tylenchida: Meloidogynidae) (KUN) dünya genelindeki tarım alanlarında yaygın olarak görülen ve geniş bir ürün yelpazesinde önemli verim kayıplarına neden olan en önemli toprak altı zararlılarının başında yer almaktadır (Luc ve ark., 2005). Bu grup içerisinde en zararlı tür olan olan *M. incognita*'nın dünya genelinde sebze yetiştiriciliği yapılan alanların %52'sinde bulaşık olduğu bildirilmektedir (Khan ve ark., 2000). Türkiye'de *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* ve *M. hapla*'nın Kök-ur nematodu türleri içerisinde en yaygın türler olduğu ve bunlar içerisinde de en fazla dağılım gösteren türün *M. incognita* olduğu bildirilmiştir (Kepenekci, 2012).

BPN'ler ile mücadelede, biyolojik mücadele etmenlerinin kullanımı, biyofumigasyon uygulamaları, bitki ekstraktları ve bitki eksudatları (Allomonlar) kullanılarak gerçekleştirilen biyoteknik mücadele yöntemleri kimyasal mücadeleye alternatif yöntemler arasında son derece önem taşımaktadır (Kepenekci, 2012; Çetintaş ve Kara, 2016; Çetintaş ve Yarba, 2010; Dura ve ark., 2016). Kök-ur nematodları (*Meloidogyne* spp.) ile alternatif mücadele yöntemleri içerisinde de bitki ekstraktlarının ve biyolojik mücadele ajanlarının kullanımı önemli yer tutmaktadır. Çevreye ve faydalı organizmalara minimum düzeyde yan etkisi olan bu yöntemler ile ilgili yeni ve detaylı çalışmaların yürütülmesi önem arz etmektedir.

Bitkiler alemi, pestisit olarak kullanılacak birçok sekonder yapıda metabolit bileşikleri kapsayan zengin bir depo vazifesi görmektedir. Doğada yer alan birçok bitki, içerdikleri zengin biyoaktif fitokimyasal bileşikler ve çevre dostu olmaları nedeniyle sentetik olarak üretilen kimyasal nematodlara karşı alternatif olarak düşünülmektedir. Yaklaşık olarak 2000'den fazla bitkinin biyopestisit olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu değişik araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Ahmed ve Grainge, 1988; Prakash ve Rao, 1996; Öncüer, 2000). Ekolojik olarak toksikolojik zarara neden olma olasılığı daha düşük düzeyde olan bitki ekstraktları kullanılarak sentezlenen yeşil nanopartikül uygulamalarının, sentetik kimyasal pestisitlerin potansiyel alternatifleri olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir (Sankar ve Abideen, 2015). Bu bağlamda son yıllarda Dünya'da pek çok üretici tarafından BPN'lara ve toprak kökenli patojenlere karşı mücadelede bitki su ekstraktları ve ekstudatları kimyasal nematodlara

alternatif olarak tercih edilmektedir. Bunun nedeni hazırlanmalarının ve uygulanmalarının son derece kolay, pratik, etkili ve ucuz olmasıdır (Mousa ve ark., 2011).

Günümüzde nanoteknolojik gelişmeler oldukça popüler olup, bilimsel araştırmalar için yeni bir alan oluşturmaktadır. Bitki ekstraktları dışında teknolojiye yaşanan gelişmeler sonucu nanoteknoloji endüstri, tekstil, gıda ve sağlık alanlarında olduğu gibi tarımsal zararlılar ile mücadelede de yerini almaya başlamıştır. Dünya genelinde olduğu gibi Türkiye'de de sentetik kimyasallara dayalı konvansiyonel tarımdan yeşil tarıma geçiş olmaktadır. Bu alanda bitki ekstraktları kullanılarak sentezlenen ve yeşil sentez olarak adlandırılan nano biyopestisitlerin ve biyolojik nano malzemelerin zararlılara ve toprak kökenli bitki patojenlerine karşı mücadelede kullanım potansiyelleri gün geçtikçe yaygınlaşma eğilimindedir (Vivek ve ark., 2012).

Ekolojik olarak toksikolojik zarara neden olma olasılığı daha düşük düzeyde olan bitki ekstraktları kullanılarak sentezlenen yeşil nanopartikül uygulamalarının, sentetik kimyasal pestisitlerin potansiyel alternatifleri olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir (Sankar ve Abideen, 2015).

Bu bağlamda birçok yararlı organizma (bakteriler, mayalar ve entomopatojen funguslar gibi) kullanılmakla birlikte günümüzde insektisit, fungisit, akarisit ve nematodisit özellik gösteren birçok bitkiye ait bitki ekstraktı yeşil nanogümüş partikül katkı olarak ucuz ve kolayca sentezlenebilmektedir (Kumar ve ark., 2013). Son yıllarda uygulanan bitki ekstraktlarının etkinliğini artırmak için yeni bir yaklaşım olarak bazı nanoelement partikül katkı bitki özütlerinin BPN'ler ile mücadelede kullanımı önem kazanmıştır. Gerçekleştirilen *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarında bitkisel ekstraktların tek başına nematodisit etkinliklerinin düşük oldukları ve bazı nanoelement partikül katkı olan ekstraktların daha etkili olduğu bildirilmektedir (Mousa ve ark., 2011).

Bu çalışmada, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (Yalova) (ABKMAE) bünyesindeki peyzaj alanlarında ve arazisinde yer alan, daha önce toprak altı patojenlerine karşı mücadelede kullanılmamış Türkiye'de yaygın olarak bulunan ve doğal olarak yetişen bazı bitkilerin (*Brassica carinata* L., *Moringa oleifera* L., *Euphorbia helioscopia* L., *Lantana camara* L. ve *Datura stramonium* L.) ekstraktlarının [normal sulu ekstraktlar ve nanogümüş partikül (AgNPs) katkı] hazırlanarak *in vitro* koşullarda Kök-ur nematodlarına karşı etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında kullanılan bitki ekstraktlarının daha önceki çalışmalarda insektisit ve akarisit özellikleri ortaya konulmuş fakat gümüş nanopartikül katkı nematodisit özellikleri bilinmemektedir. Bu çalışma ile ilk defa bu bitki

ekstraktlarının kök-ur nematodları (*M. incognita*)'na karşı nematisidal etkinliğinin ortaya konulması hedeflenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmanın ana materyalini, Kök-ur nematodu [*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Nematoda: Meloidogynidae)] ile bulaşık saf "Rio Grande" domates kültüründen ekstrakte edilmiş *M. incognita*'nın ikinci dönem larvaları (L2), domates (Şencan-9) fideleri, Nanogümüş katkılı bitki ekstraktı sentezlenmesinde kullanılan %99.99 saflıkta Macron Fine Chemicals® Firmasına ait kimyasal (AgNO₃) ve *Moringa oleifera* L. (Brassicales: Moringaceae), *Brassica carinata* L. (Rhodales: Brassicaceae), *Lantana camara* L. (Lamiales: Verbenaceae), *Euphorbia helioscopia* L. (Malpighiales: Euphorbiaceae), *Datura stramonium* L. (Solanales: Solanaceae) yaprakları kullanılarak hazırlanan bitki su ekstraktları, çeşitli laboratuvar malzemeleri, UV-Visible Spektrofotometre oluşturmuştur.

Metot

Kök ur nematodu (*Meloidogyne incognita*) saf kültürünün oluşturması

Kök-ur nematodu (*M. incognita*) saf kültürlerinin oluşturulması, yenilenmesi ve üretimi aşamasında Kök-ur nematodlarına hassas olduğu bilinen "Rio Grande" çeşidi domates (*Solanum lycopersicum* L.) tohumları, 25±1°C sıcaklığa sahip sera koşullarında steril toprak ve kum içeren saksılarda fide haline getirilmiştir.

Domates tohumları viyollere ekilmeden önce yüzeysel dezenfeksiyon amacıyla %3'lük çamaşır suyunda 1 dakika tutulup steril suyla yıkanmış ve kurutma kağıdı üzerinde kurutulmuştur. Bunu takiben tohumlar içine Klansman marka tohum toprağı konulmuş 45 gözlü (9×5) viyollere (en:5 cm, derinlik:6 cm) her göze bir tohum olacak şekilde ekilmiştir. Viyoller 23°C (±2)'de 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olarak ayarlanan iklim odalarına yerleştirilmiş ve fideler şaşırtılınca kadar düzenli olarak sulanmıştır. Gerçek 2-4 yapraklı döneme gelen fideler 11 cm çapında ve 1 kg toprak alan saksılara şaşırtılarak seraya aktarılmıştır. Şaşırtma işleminde %85 kum %15 toprak karışımı kullanılmıştır. Toprak karışımları saksılara konulmadan önce alt kısımlarına köklerin dışarı çıkmasını ve karışımların dökülmesini önlemek amacıyla kâğıt tela yerleştirilmiştir. Saksılarda kullanılan kum ve toprak karışımı iki kere 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiş ve iki işlem arasında 24 saat beklenilmiştir ve her iki ayda bir saf kültürün devamının sağlanabilmesi için yeni domates fideleri ile düzenli olarak değiştirilmiştir (Smith ve Onions,

1994).

Fide haline getirilen domates bitkilerine Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (Yalova) (ABKMAEM) Bitki Sağlığı Bölümü Nematoloji Laboratuvarında bulunan *M. incognita* saf kültür inoküle edilmiştir. Bu amaçla domates bitkisinin urlu köklerinden nematod yumurtalarının elde edilmesi için, kökler iyice yıkanarak 1 cm boyunda kesilmiş ve içerisinde %0.5'lik 1 L NaOCl (sodyum hipoklorit) çamaşır suyu solüsyonu bulunan cam erlenmayer içinde 5 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra bu çözelti 60, 200, 375 ve 500 mesh'lik eleklerden geçirilerek 500 mesh'lik elek üzerinde kalan nematod yumurtaları, püset yardımıyla 100 cc olacak şekilde cam beherler içerisine toplanmıştır (Hussey ve Barker, 1973).

Bu solüsyondan mikropipetle 1 cc, 10'ar defa çekilerek, yumurtalar sayılmıştır. Sayımları yapılan yumurtalar, serada yetiştirilen hassas domates "Rio Grande" fidelerinin kökleri etrafına açılan 3-4 deliğe bombeli pipet yardımıyla 3.000 yumurta bitki⁻¹ olacak şekilde bulaştırılmıştır. Daha sonra elde edilen urlu köklerden steriomikroskop altında yumurta kümeleri tek tek çıkartılarak saf kültürün oluşturulmasında kullanılmıştır (Melakeberhan, 1997).

Laboratuvar çalışmaları

Bitkisel ekstraktların hazırlanması

Çizelge 1'de liste halinde verilen bitkiler ABKMAEM'de yer alan üretim seralarından ve peyzaj alanlarından çiçeklenme döneminde tüm toprak üstü aksamıyla birlikte toplanıp kurutulmuş ve bitki su ekstraktlarının hazırlanması için kullanılmıştır. Ekstraktlarının elde edilmesi için ilk aşama olarak bitki su ekstraktları hazırlanmıştır. Bunun için ilk olarak alanlardan toplanan (*B. carinata*, *M. oleifera*, *E. helioscopia*, *L. camara* ve *D. stramonium*) bitkilerinin toprak üstü aksamı oda koşullarında kurutulmuştur. Kurutulan bitkiler 25 g olacak şekilde hassas terazi yardımı ile tartıldıktan sonra 100 ml'ye distile su ile tamamlanmış sonra blender yardımıyla öğütülerek 48 saat boyunca çalkalayıcı (shaker) da tutularak stok bitki su ekstraktı S0 (%25) hazırlanmıştır. Daha sonra elde edilen bitkilerin sulu ekstraktları filtre kâğıdından (Whatman No.1) süzülerek stok olarak kullanılmak üzere koyu renkli cam şişe içerisinde buzdolabında +4°C'de saklanmıştır (Nartop, 2017). Denemelerde kullanılan bitkisel ekstraktların pH değerleri Çizelge 2'de verilmiştir.

In vitro (petri) çalışmaları

Bazı bitkisel (*Moringa oleifera*, *Brassica carinata*, *Lantana camara*, *Euphorbia helioscopia* ve *Datura stramonium*) su ekstraktlarının *in vitro* ortamında nematisidal etkileri (ekstrakt-doz denemeleri)

Bu çalışma kapsamında ilk olarak bitkisel ekstraktların doz belirleme denemesi 2 tekrarlı olacak şekilde kurulmuştur (ekstrakt-doz denemeleri). Bu çalışma için bütün ekstraktların S0 (%25), S1 (%20), S2 (%15), S3 (%10) ve S4 (%5), oranlarındaki konsantrasyonları kullanılmıştır. Nematod kültüründen, *M. incognita*'nın ikinci dönem larva (L2)'ları her bir petri (60 mm) içerisine 1 ml içinde ortalama 50 ± 4.19 nematod olacak şekilde aktarılmıştır. Nematodların üzerine 3 ml saf su eklendikten sonra 1 ml bitki su ekstraktı verilerek denemeler kurulmuştur. Denemede negatif kontrol olarak ekstrakt miktarı kadar saf su eklenmiştir. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 5

tekerrürlü ve 2 tekrarlı olarak laboratuvar koşullarında (*in vitro*) gerçekleştirilmiştir. Tüm petri kapları laboratuvar koşullarında $28 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 72 saat boyunca muhafaza edilmiştir. Çalışma boyunca 24, 48 ve 72 saatler sonunda düzenli olarak nematod ölüm oranları kaydedilmiştir. Nematodların ölüp ölmediği nematod iğnesiyle dokunulduğu zaman hareket edip etmediğine bakılarak anlaşılmıştır (Abbasi ve ark., 2008; Kepenekci ve Sağlam, 2015). Denemeler sonucunda en etkili bulunan ekstakt dozu ve bitki su ekstraktları nanogümüş partiküllü (AgNPs) sulu ekstraktların sentezlenmesinde ve denemelerinin kurulmasında kullanılmıştır.

Çizelge 1. Ekstraktları çalışılan bitkiler ile ilgili bilgiler

Table 1. Information about the plants whose extracts were studied

Türkçe Adlar (<i>Turkish name</i>)	Bilimsel Adlar (<i>Scientific name</i>)	Toplandığı Yer (<i>Collecting place</i>)
Etiyopya Hardalı	<i>Brassica carinata</i> L.	ABKMAEM Serası
Moringa	<i>Moringa oleifera</i> L.	ABKMAEM Serası
Güneş Sütlegeni	<i>Euphorbia helioscopia</i> L.	ABKMAEM Arazisi
Mine Çalısı	<i>Lantana camara</i> L.	ABKMAEM Arazisi
Şeytan Elması	<i>Datura stramonium</i> L.	ABKMAEM Arazisi

ABKMAEM: Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (Yalova)

Çizelge 2. Kullanılan bitki ekstraktlarının okunan pH değerleri

Table 2. pH values of the plant extracts used

Bitkiler (<i>Plants</i>)	Bitki ekstraktı pH değerleri (<i>pH values of plant extracts</i>)	Nano gümüş katkılı bitki ekstraktı pH değerleri* (<i>pH values of plant extract whit nano</i>)
<i>Lantana camara</i>	7.06	5.95
<i>Moringa oleifera</i>	5.32	4.92

*Gümüş Nitrat pH=3.01

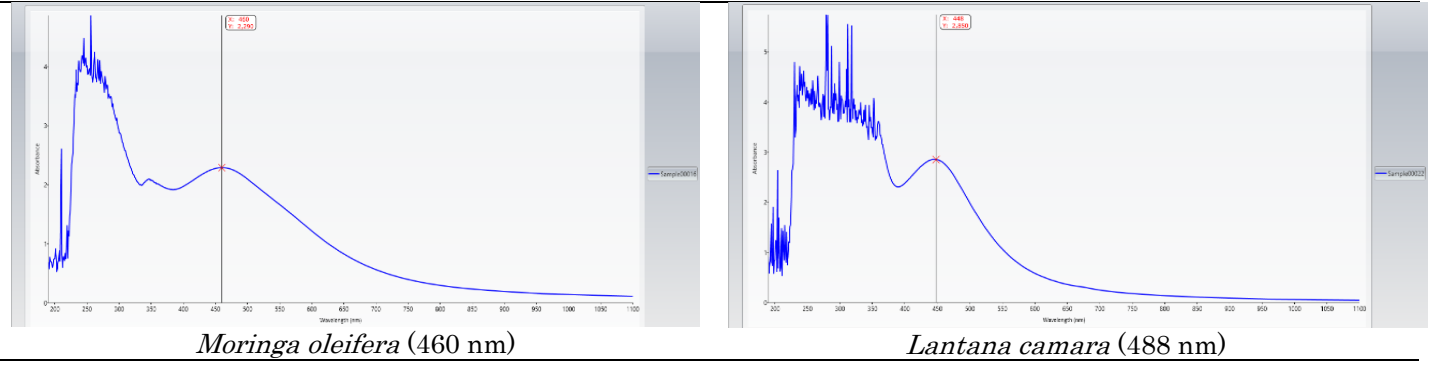
Bazı bitkisel (*Moringa oleifera* ve *Lantana camara*) nanogümüş partiküllü (AgNPs) sulu ekstraktlarının *in vitro* ortamında nematisidal etkileri

Denemede AgNPs'li bitkisel ekstraktlar hazırlanırken bitki su ekstraktları çalışmalarında elde edilen ölüm oranları dikkate alınarak en yüksek etkiye sahip (%63.20-72.40) bitki su ekstraktları (*M. oleifera* ve *L. camara*) dozları nanogümüş katkılı olarak sentezlenmiştir. Bunun için 900 ml saf su içinde 200 mg (AgNO_3) çözülerek 200 ppm (2 mM)'lık stok çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra etkili çıkan bitki su ekstraktı dozu ilavesi ile 1000 ml stok 200 ppm nanogümüş katkılı çözelti elde edilmiştir (Nartop, 2017). Nanogümüş dozları 200 ppm, 150 ppm, 100 ppm, 50 ppm ve 25 ppm olmak üzere ayarlanmıştır. Denemeler bitki su ekstrakt denemelerinde olduğu gibi tesadüf parselleri deneme desenine göre 5 tekerrürlü ve 2 tekrarlı olarak laboratuvar koşullarında (*in vitro*) gerçekleştirilmiştir. Nanogümüş sentezinin doğru gerçekleştiğini

belirlemek için *Moringa* ve *Lantana* sentezleri 20-30 dakika boyunca sıcak su banyosunda renk değişimi gözleninceye kadar bekletilmiştir. Sentezin doğru gerçekleştiğini belirlemek için 24 saat sonunda koloidal gümüş nanopartikül çözeltisinden alınan 5 ml'lik örnekler 320-500 nm aralığındaki dalga boylarında UV-Visible spektrofotometre'de incelenmiş (Şekil 1) ve dijital pH metre ile ilk karışım anında ve 24 saat sonra pH ölçümleri yapılmıştır (Nartop, 2017) (Çizelge 2).

Nanogümüş katkılı bitkisel ekstraktların hazırlanması aşamaları

Nanogümüş katkılı bitki ekstraktlarının elde edilmesinde ise, gümüş nanopartikülleri'nin sentezlenmesi için 900 ml distile su içinde yaklaşık 200 mg (AgNO_3) çözülerek üzerine daha önce hazırlanmış olan stok 100 ml bitki su ekstraktları ilave edilerek bitki ekstraktı ve 200 ppm AgNO_3 içeren ekstrakt elde edilmiştir.



Şekil 1. *Moringa oleifera* ve *Lantana camara* sentezlerinin UV-Visible spektrometre okuma değerleri
Figure 1. *Moringa oleifera* and *Lantana camara* synthesis of UV-Visible spectrometer readings

Uygulamaların Değerlendirilmesi

Elde edilen verilerin, kontrole göre % ölüm oranları Abbott formülü ile değerlendirilmiştir. (Abbott, 1925). Elde edilen yüzde ölüm oranlarına ise Arcsin \sqrt{x} açısı transformasyonu uygulanmıştır. Sonuçlara JMP 8.0 İstatistiksel paket programı yardımıyla varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Kök-ur nematodlarından, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Nematoda: Meloidogynidae)'nın ikinci dönem larva (L2)'larına karşı laboratuvar-petri (*in vitro*) çalışmaları sonucunda farklı dozlarda ve 24, 48 ve 72 saat zaman dilimlerinde uygulanan bitki [*Moringa oleifera* L. (Brassicales: Moringaceae), *Brassica carinata* L. (Rhodales: Brassicaceae), *Lantana camara* L. (Lamiales: Verbenaceae), *Euphorbia helioscopia* L. (Malpighiales: Euphorbiaceae), *Datura stramonium* L. (Solanales: Solanaceae)] su ekstraktlarının ve nanogümüş partikül katkı bitki su ekstraktlarının farklı düzeylerde nematisidal etkinlik gösterdiği, bitki su ekstraktlarının nanogümüş katkı olarak yeşil sentezlenmesinin nematisidal etkinliklerini artırdığı belirlenmiştir.

Bitki su ekstraktlarının uygulanması çalışmalarının 1. tekrar sonuçları incelendiğinde 72 saat sonunda elde edilen % ölüm oranları sırasıyla, *Moringa oleifera*, *Lantana camara* ve *Datura stramonium*'un %25'lik konsantrasyon uygulamalarında %63.20±0.86 [F(2.62) 367.55 P<0.05], %69.20±1.15 [F(2.62) 489.31 P<0.05] ve %52.60±1.28 [F(2.62) 269.56 P<0.05] olmuştur (Çizelge 3). 2. tekrar sonuçlarında ise en etkili uygulamalar aynı bitkilere (*M. oleifera*, *L. camara* ve *D. stramonium*) ait su ekstraktlarında 72 saat sonunda ve %25'lik konsantrasyonlarda sırasıyla, %68.40±0.76 [F(2.62) 672.37 P<0.05], %72.20±1.19 [F(2.62) 427.56 P<0.05] ve %54.20±1.34 [F(2.62) 273.56 P<0.05] olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Bitki su ekstraktlarının uygulanması çalışmalarının sonucunda en etkili sonuçlar %63.20-72.20 ile *M. oleifera* ve *L. camara* uygulamalarında ortaya

konulmuştur. Bu sonuçlara göre *M. oleifera* ve *L. camara* uygulamaları nanogümüş partikül katkı olarak sentezlenerek kök-ur nematodu (*M. incognita*) L2'lerine karşı ikinci aşamada toksisite çalışmalarına alınmıştır (Çizelge 5 ve 6).

Nanogümüş partikül katkı bitki su ekstraktı uygulamalarının 1. tekrar sonuçları incelendiğinde 72 saat sonucunda elde edilen % ölüm oranlarına göre en etkili uygulamalar sırasıyla, *M. oleifera*, *L. camara* ve AgNO₃'ün 200 ppm uygulamalarında %94.00±1.76 [F(2.62) 367.55 P<0.05], %92.80±1.86 [F(2.62) 489.31 P<0.05] ve %56.20±1.49 [F(2.62) 269.56 P<0.05] ile elde edilmiştir (Çizelge 5). 2. tekrar sonuçlarında ise en yüksek etkiler 72 saat sonucunda ve 200 ppm uygulamalarında elde edilmiştir. *M. oleifera*, *L. camara* ve AgNO₃'e ait sonuçlar sırasıyla, %96.20±1.84 [F(2.62) 1465.34 P<0.05], %95.40±1.94 [F(2.62) 1578.13 P<0.05] ve %58.60±1.38 [F(2.62) 416.37 P<0.05] olarak kaydedilmiştir (Çizelge 6). Çalışmaların sonucunda en etkili sonuç %94.00-96.20 ölüm ile *M. oleifera* uygulamalarında ortaya konmuştur.

Çalışma sonucunda bitkisel ekstraktların nanogümüş partikül katkı olarak sentezlenmesi ve uygulanması bitkisel ekstraktların nematisidal etkinliklerini artırmada sinerjistik etki sağlamış ve kök-ur nematodu (*M. incognita*)'na karşı daha etkili % ölüm oranlarının elde edilmesine neden olmuştur. Kullanılan gümüş nitratin da bir miktar nematisidal aktivitesi olmakla birlikte tek başına önemli oranda nematod ölümüne neden olmadığı görülmüştür.

Bu elde edilen sonuçlara paralel olarak bazı nanoelement partikül katkı bitkisel ekstraktların kök-ur nematodlarına karşı etkinlik çalışmaları incelendiğinde; Ardakani (2013), gerçekleştirmiş olduğu *in vitro* laboratuvar çalışmalarında bazı nanoelement partikül katkı AgNPs ve TiO₂ uygulamalarının kök-ur nematodu, *M. incognita* ikinci dönem larvalarına (L2) karşı etkilerini incelemiştir. Çalışma sonucunda tüm nanoelement katkı uygulamaların pozitif kontrole göre nematodu %100 öldürdüğünü bildirmiştir. Benzer başka bir çalışmada ise Cromwell ve ark. (2014), Amerika

Birleşik Devletleri Teksas'ta yer alan golf alanlarında yaygın olarak kullanılan Bermuda çim çeşitlerinde zararlı olan *M. graminis*'in mücadelesinde nanogümüş (AgNPs) uygulamalarının etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda en etkili doz olarak 90.04 mg m⁻² uygulamasında toprakta yer alan *M. graminis* popülasyon yoğunluğunda pozitif kontrol uygulamasına göre %82-92 oranında azalmaların olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda *M. incognita*'nın L2'lerine karşı en etkili sonuç %94.00-96.20 ölüm ile *M. oleifera* uygulamalarında ortaya konmuştur.

Nassar (2016), gerçekleştirmiş olduğu çalışmada ısırgan otunun *Urtica urens*'in değişik kimyasal

çözücülerde [petrol eteri (PE), etil asetat (EA) ve etanol (E)] kullanarak hazırladığı bitki ekstraktlarının ve karşılaştırma ilacı olarak kullanılan Rugby® nematisit ilacını nanogümüş nitrat (AgNPs) katkılı olarak sentezlemiştir. Laboratuvar koşullarında petri çalışması şeklinde *M. incognita* L2 ve yumurta açılımına karşı LC₅₀ değerlerinin etkinliğini çalışmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre nanogümüş katkılı olarak sentezlenen Ag-Rugby®, Ag-pertol eteri (PE) ve Rugby® uygulamalarının diğer uygulamalar kadar etkili olduklarını ve tek başına nematisit uygulamasına göre daha çevreci bir yaklaşım olduğunu bildirmiştir.

Çizelge 3. *In vitro* çalışmaları sonucunda *Moringa oleifera*, *Lantana camara*, *Datura stramonium*, *Euphorbia helioscopia* ve *Brassica carinata* bitkilerine ait su ekstraktlarının *Meloidogyne incognita*'nın 2. dönem larvaları (L2)'na karşı etkinliği ve kontrol uygulamasına göre yüzde ölüm oranları [(X±SH)] (1. tekrar) (P<0.05)

Table 3. As a result of *in vitro* studies, the effectiveness of water extracts of *Moringa oleifera*, *Lantana camara*, *Datura stramonium*, *Euphorbia helioscopia* and *Brassica carinata* against the 2nd stage juvenile (J2) of *Meloidogyne incognita* and percent mortality (%) of according to control application [(X±SH)] (1st repetition) (P<0.05)

Su Ekstraktı (Water extract)	Konsantrasyonlar (%) (Concentrations (%))	24 Saat (24 hour)	48 Saat (48 hour)	72 Saat (72 hour)
<i>Moringa oleifera</i>	25	43.20±1.35a*	51.20±1.24a	63.20±0.86a
	20	38.40±1.16a	45.60±1.36ab	59.20±1.02a
	15	30.20±1.56b	40.80±0.73b	49.40±1.08b
	10	21.80±1.28c	32.80±1.71c	42.00±1.70c
	5	13.40±1.88d	26.20±1.82d	33.80±1.65d
CV (%)		5.60 F(2.62) 144.59	3.99 F(2.62) 197.94	3.01 F(2.62) 367.55
<i>Lantana camara</i>	25	50.40±1.24a	60.20±1.43a	69.20±1.15a
	20	41.20±1.33b	51.60±1.29b	62.80±1.09b
	15	38.20±1.28b	45.60±1.34bc	55.80±1.67c
	10	30.20±1.57c	40.00±1.47c	48.00±1.23d
	5	22.00±1.13d	30.80±1.52d	38.60±1.17d
CV (%)		3.65 F(2.62) 242.50	3.75 F(2.62) 218.08	2.45 F(2.62) 489.31
<i>Datura stramonium</i>	25	38.40±0.94a	44.80±1.18a	52.60±1.28a
	20	32.80±1.84b	42.40±1.25b	51.60±1.36b
	15	27.60±1.58c	36.80±1.48c	45.00±1.47c
	10	21.00±1.41d	29.40±1.38d	36.80±1.32d
	5	14.80±1.77e	22.20±1.21e	29.00±1.28e
CV (%)		4.00 F(2.62) 215.69	4.00 F(2.62) 210.76	3.00 F(2.62) 269.56
<i>Euphorbia helioscopia</i>	25	31.00±1.08a	38.00±1.05a	44.40±1.16a
	20	26.60±1.28a	35.00±1.25a	40.80±1.22a
	15	20.00±1.19b	29.20±1.48b	35.00±1.38b
	10	15.80±1.32c	22.60±1.36c	27.00±1.18c
	5	10.20±1.15d	14.60±1.13d	19.80±1.42d
CV (%)		4.86 F(2.62) 125.84	4.12 F(2.62) 181.41	3.86 F(2.62) 241.06
<i>Brassica carinata</i>	25	32.20±0.88a	40.20±1.72a	46.60±1.12a
	20	29.80±1.28a	36.80±1.25ab	43.80±1.29a
	15	25.00±1.52b	32.40±1.33b	38.20±1.32b
	10	19.80±1.33c	26.40±1.47c	31.40±1.63c
	5	14.20±1.27d	19.80±1.57d	24.00±1.74d
CV (%)		3.86 F(2.62) 181.13	3.41 F(2.62) 220.64	3.18 F(2.62) 279.72
Kontrol		0.00±0.00f	0.00±0.00f	0.00±0.00f

*Aynı sütünde aynı harfi içeren değerler birbirinden farklı değildir, p<0.05 (TUKEY Testi),

* Values containing the same letter in the same column are not different from each other, p<0.05 (TUKEY Test),

Çizelge 4. *In vitro* çalışmaları sonucunda *Moringa oleifera*, *Lantana camara*, *Datura stramonium*, *Euphorbia helioscopia* ve *Brassica carinata* bitkilerine ait su ekstraktlarının *Meloidogyne incognita*'nın 2. dönem larvaları (L2)'na karşı etkinliği ve kontrol uygulamasına göre yüzde ölüm oranları [(X±SH)] (2. tekrar) (P<0.05)

Table 4. As a result of *in vitro* studies, the effectiveness of water extracts of *Moringa oleifera*, *Lantana camara*, *Datura stramonium*, *Euphorbia helioscopia* and *Brassica carinata* against the 2nd stage juvenile (J2) of *Meloidogyne incognita* and percent mortality (%) of according to control application [(X±SH)] (2nd repetition) (P<0.05)

Su Ekstraktı (Water extract)	Konsantrasyonlar (%) (Concentrations (%))	24 Saat (24 hour)	48 Saat (48 hour)	72 Saat (72 hour)
<i>Moringa oleifera</i>	25	46.40±1.25a	56.40±1.36a	68.40±0.76a
	20	40.20±1.23a	48.20±1.26ab	63.20±1.12a
	15	36.20±1.46b	43.40±0.63b	52.40±1.17b
	10	28.60±1.38c	36.60±1.51c	47.20±1.58b
	5	21.80±1.78d	30.20±1.62d	40.60±1.45c
CV (%)		4.38 F(2.62) 585.15	3.27 F(2.62) 782.15	3.38 F(2.62) 672.37
<i>Lantana camara</i>	25	54.60±1.28a	64.20±1.49a	72.20±1.19a
	20	45.40±1.37b	56.40±1.22b	60.60±1.11b
	15	40.20±1.31b	50.60±1.35bc	56.20±1.52c
	10	35.40±1.48c	44.20±1.38c	52.40±1.13c
	5	27.20±1.17d	34.60±1.22d	42.40±1.24d
CV (%)		4.17 F(2.62) 285.12	3.47 F(2.62) 217.07	2.87 F(2.62) 427.56
<i>Datura stramonium</i>	25	40.40±0.77a	46.60±1.23a	54.20±1.34a
	20	34.60±1.64b	40.40±1.32b	50.80±1.41b
	15	30.60±1.48c	35.20±1.38c	44.20±1.53c
	10	25.20±1.37d	30.40±1.58d	38.80±1.29d
	5	18.80±1.57e	24.40±1.27e	31.20±1.33e
CV (%)		4.24 F(2.62) 219.56	4.08 F(2.62) 246.12	3.11 F(2.62) 273.56
<i>Euphorbia helioscopia</i>	25	33.20±1.13a	36.40±1.09a	42.40±1.21a
	20	28.80±1.32a	34.20±1.28a	40.60±1.39a
	15	23.40±1.23b	32.20±1.38b	38.20±1.42b
	10	19.60±1.37c	24.40±1.46c	30.20±1.27c
	5	14.20±1.12d	19.60±1.17d	23.60±1.59d
CV (%)		4.58 F(2.62) 143.48	4.62 F(2.62) 138.78	4.37 F(2.62) 165.78
<i>Brassica carinata</i>	25	34.20±0.76a	42.40±1.52a	45.80±1.19a
	20	31.80±1.31a	35.20±1.35ab	42.60±1.38a
	15	27.00±1.42b	31.40±1.47b	36.40±1.59b
	10	21.60±1.38c	28.40±1.53c	33.20±1.71c
	5	16.40±1.34d	21.60±1.62d	25.20±1.86d
CV (%)		4.36 F(2.62) 193.45	3.75 F(2.62) 228.37	3.92 F(2.62) 258.79
Kontrol		0.00±0.00f	0.00±0.00f	0.00±0.00f

*Aynı harfi içeren ortalamalar Tukey testine göre istatistiksel olarak farklı değildir, p<0.05 (TUKEY Testi)

*Values containing the same letter in the same column are not different from each other, p<0.05 (TUKEY Test),

Bu konu ile ilgili olarak Taha (2016), gerçekleştirmiş olduğu petri çalışmalarında, tek başına sadece nanogümüş partiküllerinin *M. incognita* L2'lerine karşı toksik etkilerini araştırmıştır. Bu amaçla önce petri denemelerinde nanogümüş partiküllerinin (AgNPs) 20, 40, 200, 500 ve 1500 ppm ml⁻¹ dozlarının etkinliğini çalışmıştır. 72 saat sonundaki sayımlar sırasıyla 200, 500 ve 1500 ppm ml⁻¹ dozlarında %89, %93 ve %96.5 ölüm oranlarını saptamıştır. Sakı çalışmalarında ise en etkili uygulama dozlarının 200 ppm ve 500 ppm olduklarını ve test bitkisi olarak kullanılan domates bitkisinde her hangi bir fitotoksite belirtisinin gözlenmediğini belirtmiştir.

Diğer başka bir çalışmada ise Kalaiselvi ve ark. (2017), Hindistan'da gerçekleştirilen bir petri çalışmasında bazı bitkilerin (*Azadirachta indica* L. ve *Curcuma longa* L.) nanogümüş partikül katkılı su ekstraktlarının nematisidal etkinliklerini laboratuvar koşullarında *M. incognita*'ya karşı araştırmışlardır. Çalışmada, *A. indica*'nın (1ppm, 3ppm, 5ppm, 7ppm ve 10ppm) AgNO₃ içeren %5'lik yaprak su ekstraktlarının ve *C. longa*'nın (0,01ppm, 0,03ppm, 0,05ppm, 0,07ppm ve 0,1ppm) AgNO₃ içeren %2.5'lük bitki su ekstraktlarını *in vitro* (200 L2 petri⁻¹) koşullarda etkinliklerini denemişlerdir. Çalışma sonucunda yapılan 24, 48 ve 72 saat canlı-ölüm

sayımları sonuçlarında en etkili uygulamanın 72 saat sonunda *A. indica*'nın 10 ppm nanogümüşnitrat (AgNO_3) içeren %5'lik uygulama dozunda elde

ettikleri ve sırasıyla nanogümüş katkılı bitki ekstraktlarının LC_{50} değerlerinin 6.22mg L^{-1} ve 0.54mg L^{-1} olduğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 5. *In vitro* çalışmaları sonucunda *Moringa oleifera* ve *Lantana camara* bitkilerine ait nanogümüş partikül katkılı su ekstraktlarının *Meloidogyne incognita*'nın 2. dönem larvaları (L2)'na karşı etkinliği ve kontrol uygulamasına göre yüzde ölüm oranları [(X±SH)] (1. tekrar) (P<0.05)

Table 5. As a result of *in vitro* studies, the efficiency of water extracts with nanosilver particles of *Moringa oleifera* and *Lantana camara* plants against the 2nd stage juvenile (J2) of *Meloidogyne incognita* and percent mortality (%) of according to control application [(X±SH)] (1st repetition) (P<0.05)

Nano Ekstrak (Nano extract)	Konsantrasyonlar (ppm) (Concentrations ppm)	24 Saat (24 hour)	48 Saat (48 hour)	72 Saat (72 hour)
<i>Moringa oleifera</i>	200	61.80±1.33a*	79.80±1.21a	94.00±1.76 a
	150	52.60±1.40b	70.20±1.33b	81.80±1.25 b
	100	46.80±1.47c	65.00±1.48c	79.50±1.37 b
	50	41.20±1.38d	56.20±1.27d	68.60±1.38 c
	25	36.0±1.52e	53.40±1.19d	66.30±0.76 d
CV (%)		3.00 F(2.62) 268.71	2.00 F(2.62) 555.27	1.00 F(2.62) 1860.14
<i>Lantana camara</i>	200	70.00±1.17a	78.80±1.63a	92.80±1.86a
	150	58.40±1.23b	73.40±1.52b	86.80±1.69b
	100	52.30±1.28c	73.40±1.48b	83.20±1.76c
	50	44.80±1.34d	62.80±1.59c	75.30±1.55d
	25	39.20±1.41e	53.60±1.72d	61.00±1.38e
CV (%)		2.00 F(2.62) 530.77	3.00 F(2.62) 321.84	1.00 F(2.62) 1537.18
AgNO_3	200	24.40±1.33a	32.60±1.37a	56.20±1.49a
	150	19.60±1.21a	27.40±1.28b	35.40±1.54b
	100	15.20±1.38b	24.20±1.44b	33.65±1.71b
	50	12.25±1.42c	22.40±1.33c	25.80±1.83c
	25	10.20±1.24d	15.60±0.73d	21.80±0.70c
CV (%)		3.84 F(2.62) 423.56	4.68 F(2.62) 243.87	3.27 F(2.62) 328.84
Kontrol		0.00±0.00f	0.00±0.00f	0.00±0.00f

*Aynı harfi içeren ortalamalar Tukey testine göre istatistiksel olarak farklı değildir, p<0.05 (TUKEY Testi)

*Values containing the same letter in the same column are not different from each other, p<0.05 (TUKEY Test),

Sharma ve ark. (2017), gerçekleştirmiş oldukları çalışmalarda, bamyada (*Abelmoschus esculentus* L.) bitkisinde *M. incognita*'nın zararını engellemek için gerçekleştirilen *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda, 2 mM FeSO_4 nano Fe parçacıklarının seçilmiş bakteri izolatu (*Stenotrophomonas maltophilia* KBS 2.4) süpernatant çözeltisi ile sentezlenen farklı demir nanoparçacık konsantrasyonları (20 ile 120mg ml^{-1})'nin etkilerini araştırmışlardır. *In vitro* deneylerde 10 saat sonunda değişik konsantrasyonlardaki (20 ile 120mg ml^{-1}) nanodemir partiküllerinin nematodu %99 oranında öldürdüğünü tespit etmişlerdir. *In vivo* çalışmalarda ise bamyada fideleri 100 adet *M. incognita* L2'si ile bulaştırılmış ve en yüksek doz olan 120mg ml^{-1} dozunda uygulamadan 30 ve 40 gün sonra topraktaki nematod popülasyonu kontrol uygulamasına göre %88 oranında azalmış olduğunu tespit etmişlerdir. Düşük doz uygulamasında 20mg ml^{-1} da az sayıda popülasyon varken en etkili uygulama olarak 120mg L^{-1} uygulaması kaydedilmiştir. Uygulama yapılan bamyada bitkilerinde herhangi bir fitotoksite de gözlenmemiştir. Gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise Thakur ve ark. (2018), laboratuvar ve saksı

çalışmalarında altın nanopartiküllerinin *M. incognita*'ya karşı etkinliklerini araştırmışlardır. Petri (*in vitro*) denemelerinde 3 saat sonunda nematodu %100 oranında altın nanopartikülleri (GNPs)'nden etkilendiklerini ve öldüklerini tespit etmişlerdir. İkinci aşama olarak gerçekleştirdikleri saksı çalışmalarında ise uygulanan altın nanopartiküllerinin (GNPs) domates bitkisindeki kök-ur nematodu zararını ve köklerdeki urlanma miktarını azaltarak domates bitkilerindeki gelişme parametrelerine olumlu yönde etki ettiklerini kaydetmişlerdir. Bu çalışmada kök-ur nematodlarından, *M. incognita*'ya karşı laboratuvar-petri (*in vitro*) çalışmaları sonucunda farklı dozlarda ve 24, 48 ve 72 saat zaman dilimlerinde uygulanan bitki su ekstraktlarının ve nanogümüş partikül katkılı bitki (*M. oleifera*, *B. carinata*, *L. camara*, *E. helioscopia* ve *D. stramonium*) su ekstraktlarının farklı düzeylerde nematisidal etkinlik gösterdiği, bitki su ekstraktlarının nanogümüş katkılı olarak yeşil sentezlenmesinin nematisidal etkinliklerini artırdığı belirlenmiştir.

Çizelge 6. *In vitro* çalışmaları sonucunda *Moringa oleifera* ve *Lantana camara* bitkilerine ait nanogümüş partikül katkılı su ekstraktlarının *Meloidogyne incognita*'nın 2. dönem larvaları (L2)'na karşı etkinliği ve kontrol uygulamasına göre yüzde ölüm oranları [(X±SH)] (2. tekrar) (P<0.05)

Table 6 As a result of *in vitro* studies, the efficiency of water extracts with nanosilver particles of *Moringa oleifera* and *Lantana camara* plants against the 2nd stage juvenile (J2) of *Meloidogyne incognita* and percent mortality (%) of according to control application [(X±SH)] (2nd repetition) (P<0.05)

Nano Ekstrak (Nano extract)	Konsantrasyonlar (ppm) (Concentrations ppm)	24 Saat (24 hour)	48 Saat (48 hour)	72 Saat (72 hour)
<i>Moringa oleifera</i>	200	60.20±1.32a*	82.40±1.27a	96.20±1.84a
	150	54.40±1.47b	74.20±1.38b	85.80±1.31b
	100	45.60±1.41c	68.40±1.53c	83.50±1.18b
	50	40.20±1.39d	58.40±1.66d	71.80±1.25c
	25	38.40±1.12e	55.60±1.22d	69.30±0.88d
CV (%)		3.12 F(2.62) 583.67	2.76 F(2.62) 687.12	1.83 F(2.62) 1465.34
<i>Lantana camara</i>	200	72.20±1.19a	80.60±1.51a	95.40±1.94a
	150	60.60±1.27b	75.40±1.58b	84.20±1.57b
	100	50.40±1.36c	72.20±1.41b	80.20±1.72c
	50	46.80±1.38d	64.50±1.63c	73.40±1.48d
	25	40.30±1.47e	55.80±1.77d	64.20±1.29e
CV (%)		2.73 F(2.62) 479.24	3.84 F(2.62) 782.28	2.28 F(2.62) 1578.13
AgNO ₃	200	22.60±1.53a	31.80±1.57a	58.60±1.38a
	150	17.80±1.28a	25.80±1.21b	37.80±1.47b
	100	13.00±1.34b	21.00±1.36b	35.60±1.68b
	50	10.00±1.52c	19.60±1.27c	23.60±1.77c
	25	7.20±1.18d	13.40±0.87d	18.75±0.97c
CV (%)		3.15 F(2.62) 482.15	4.28 F(2.62) 378.38	2.74 F(2.62) 416.37
Kontrol		0.00±0.00f	0.00±0.00f	0.00±0.00f

* Aynı harfi içeren ortalamalar Tukey testine göre istatistiksel olarak farklı değildir, p<0.05 (TUKEY Testi)

* Values containing the same letter in the same column are not different from each other, p<0.05 (TUKEY Test),

Kalaiselvi ve ark. (2019), gümüş nanopartiküllerin bir çeşit sütleğen otu olan *Euphorbia tirucalli* L. (Et-AgNP'ler) kullanılarak gerçekleştirilen yeşil sentezinin *M. incognita*'ya karşı nematisidal etkinlikleri *in vitro* ve *in vivo* koşullarda belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen bulgulara göre, Et-AgNP'lerin nematodun L2'sine öldürücü olduğunu ve yumurta açılımını engellediğini ortaya koymuşlardır. Saksı denemelerinde ise, Et-AgNP'ler uygulandığında domates kökleri üzerinde ur oluşumunun önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Et-AgNP'lerle muamele edilen domates bitkilerinin eşzamanlı olarak daha sağlıklı büyüme parametrelerine sahip oldukları ve köklerdeki ırlanma ve topraktaki L2 popülasyonu sayılarının pozitif kontrol uygulamasına göre azaldığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada, Et-AgNP'lerin *M. incognita*'nın mücadelesinde yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca sentetik kimyasal nematisidler için etkili bir alternatif olacağını vurgulamışlardır. Bu çalışma sonucunda bitkisel ekstraktların nanogümüş partikül katkılı olarak sentezlenmesi ve uygulanması bitkisel ekstraktların nematisidal etkinliklerini artırmada sinerjistik etki sağlamış ve kök-ur nematodu (*M. incognita*)'na karşı daha etkili % ölüm oranlarının

elde edilmesine neden olmuştur. Kullanılan gümüş nitratin da bir miktar nematisidal aktivitesi olmakla birlikte tek başına önemli oranda nematod ölümüne neden olmadığı görülmüştür.

Bu konu ile ilgili olarak Türkiye'de farklı BPN'lere karşı nanoelement partikül katkılı olan ekstrakt çalışmaları incelendiğinde; Dura ve ark. (2018), yapmış oldukları çalışmada, *in vitro* koşullarda %1'lik *Lantana camara* L. (Lamiales: Verbenaceae) su ekstraktı katkılı nanogümüş (AgNPs) uygulamasının farklı dozlarının [0 ppm (su-kontrol), 42 ppm (0.25 mM), 84 ppm (0.5 mM) ve 168 ppm (1 mM)] BPN'lerden çeltik bitkisinde zararlı önemli bir tür olan çeltik beyaz uç nematodu (*Aphelenchoides besseyi*) larvalarının ölüm oranları üzerine etkilerini belirlemek amacıyla laboratuvar ortamında petri (*in vitro*) çalışması şeklinde yürütülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek larva ölüm oranları 72 saat sonunda 168 ppm uygulamasında (%97.5) kaydedilmiştir. Buna benzer şekilde Dura ve ark. (2019), tarafından gerçekleştirilmiş petri (*in vitro*) çalışmasında, BPN'lerden hububat alanlarında önemli bir zararlı tür olan buğday gal nematodu (*Anguina tritici*)'nun L2'lerine karşı nanogümüş katkılı (AgNPs) *Lantana camara* L.'nin su ekstraktını

nematisidal etkinlik bakımından değerlendirmişlerdir. *L. camara* su ekstraktının 42 ppm (0.25 mM), 84 ppm (0.50 mM) ve 168 ppm (1 mM) nanogümüş katkılı konsantrasyonlarda *in vitro* koşullarda denemişlerdir. Denemeden elde edilen sonuçlara göre bütün konsantrasyonlarda farklı oranlarda da olsa nematisidal aktivite gözlenmiştir. Nanogümüş katkılı *L. camara* su ekstraktının 168 ppm (1mM) konsantrasyonu 72 saat sonunda %97.00 ölümüne sebep olduğu belirlenmiştir. Nanogümüş katkılı *L. camara* su ekstraktının tarımsal alanlardaki zararlı organizmalara karşı daha fazla sayıda deneme yapılarak elde edilen olumlu sonuçlar ışığı altında saksı ve sera koşullarındaki etkinliklerinin araştırılması gerektiğini belirtmişlerdir. Sağlam Altinköy ve ark. (2020), tarafından gerçekleştirilmiş başka bir çalışmada ise, *in vitro* koşullarda %1'lik *Moringa oleifera* L. su ekstraktı katkılı nanogümüş (AgNPs) partikül uygulamasının farklı dozlarının [0 ppm (su-kontrol), 21 ppm (0.125 mM), 42 ppm (0.25 mM), 84 ppm (0.5 mM) ve 168 ppm (1 mM)] kök lezyon nematodu *Pratylenchus thornei* larvalarının ölüm oranları üzerine etkilerini belirlemek için yürütmüşlerdir. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek larva ölüm oranları 96 saat sonunda 168 ppm uygulamasında (%90.55) olarak tespit etmişlerdir.

Yürütülen bütün bu çalışmalar ışığında metal nano parçacıklarının yeşil sentezinin güvenli, etkili ve uygun fiyatlı bir nematisit alternatifi olabileceği söylenebilir. Bu bağlamda BPN'lara karşı daha fazla çalışma yapılarak elde edilen olumlu sonuçların ışığı altında sera-saksı ve doğa koşullarındaki (*in vivo*) etkinliklerinin denenmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi (TOKAT)'nde yürütülen doktora tez çalışmasının bir bölümü olup Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (ANKARA) tarafından TAGEM/BSAD/A/21/A2/P4/2533 nolu proje olarak desteklenmiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Abbasi MW, Ahmed N, Zaki MJ, Shaikat SS 2008. Effect of *Barleria acanthoides* Vahl. on root-knot nematode infection and growth of infected okra and brinjal plants. Pakistan Journal of Botany 40:

2193–2198.

- Abbott WS 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. Journal of Economic Entomology 18: 265–267.
- Ahmed S, Grainge M 1988. Handbook of Plants with Pest Control Properties. John Wiley ve Sons Limited, New York, pages 470.
- Ardakani AS 2013. Toxicity of silver, titanium and silicon nanoparticles on the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* and growth parameters of tomato. Nematology 15: 671–677.
- Cromwell WA, Yang J, Starr JL, Ki Jo Y 2014. Nematicidal effects of silver nanoparticles on root knot nematode in bermuda grass. Journal of Nematology 46: 261–266.
- Çetintaş R , Kara H, 2016. Arthrobacter (ROA) ve Kadife Çiçeği (*Tagetes patula*) Ekstraktlarının *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Populasyonuna Karşı Etkinliği. KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi 19: 221–226.
- Çetintas R, Yarba MM 2010. Nematicidal effects of five plant essential oils on the Southern root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Journal of Animal and Veterinary Advances 9: 222–225.
- Dura O, Sönmez İ, Yıldırım KC 2016. Biberde (*Capsicum annum* L.) Salisilik Asit Uygulamalarının Kök-ur Nematodu (*Meloidogyne incognita*)'na ve Bazı Büyüme Parametreleri Üzerine Etkileri. Bahçe 45: 31–39.
- Dura O, Tülek A, Sönmez İ, Kepenekci İ 2018. Effects of Silver Nanoparticles (AgNPs) Using Aqueous Extract of *Lantana camara* L. (Lamiales: Verbenaceae) Applications against Rice White-Tip Nematode [*Aphelenchoides besseyi* Christie (Nematoda: Aphelenchida)] under Laboratory Conditions. 5th International Symposium on Multidisciplinary Studies. Current Academic Studies in Agricultural Sciences, 187–193.
- Dura O, Tülek A, Sönmez İ, Erdoğan FD, Yeşilayer A, Kepenekci İ 2019. Effects Of Silver Nanoparticle (AgNPs) Applications Prepared Using *Lantana camara* L. (Lamiales: Verbenaceae)'s Aqueous Extract On Wheat Gal Nematode [*Anguina tritici* Thorne, 1949 (Nematoda: Anguinidae)]. Plant Protection Bulletin 59: 49–53.
- Hussey RS, Barker KRA 1973. comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025–1028.
- Kalaiselvi D, Sundararaj P, Premasudha P, Hafez SL 2017. Nematicidal activity of green synthesized silver nanoparticles using plant extracts against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. International Journal of Nematology 27: 81–94.
- Kalaiselvi D, Mohankumar A, Shanmugam Nivitha S, Sundararaj P 2019. Green synthesis of silver nanoparticles using latex extract of *Euphorbia tirucalli*: A novel approach for the management of

- root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Crop Protection 117: 108–114.
- Kepenekci I 2012. Nematoloji (Bitki Paraziti ve Entomopatojen Nematodlar) [Genel Nematoloji (Cilt-I), Taksonomik Nematoloji (Cilt-II)]. Eğitim, Yayın ve Yayınlar Dairesi Başkanlığı, Tarım Bilim Serisi Yayın No:3 (2012/3), LIV+1155 sayfa.
- Kepenekci I, Sağlam, HD 2015. Extracts of some indigenous plants affecting hatching and mortality in the root-knot nematode [*Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood]. Egyptian Journal of Biological Pest Control 25: 39–44.
- Khan H, Ahmad R, Akhtar AS, Mahmood A, Basit T, Niaz T 2000. Effect of inoculum density of *Meloidogyne incognita* and plant age on the severity of root-knot disease in tomato. International Journal of Agriculture & Biology, 2000: 360–363.
- Kumar A, Chisti Y, Banerjee U. 2013. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts: Biotechnology Advances 31: 346–356.
- Luc M, Sikora RA, Bridge J 2005. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Wallingford, UK, CABI Publishing, 871 pp.
- Melakeberhan H 1997. Effect of temperature and nitrogen source on tomato genotypes response to *Meloidogyne incognita* infection. Fundamental and Applied Nematology 20: 1–8.
- Mousa EM, Mahdy ME, Younis Dalia M 2011. Evaluation of some plant extracts to control root knot nematodes, *Meloidogyne* spp. on tomato plants. Egyptian Journal of Agronomatology 10: 1–14.
- Nartop P 2017. Biyosentetik gümüş nanopartiküllerinin *Pyracantha coccinea* bitkisinin gövde eksplantlarının yüzey sterilizasyonunda kullanımı. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi 23: 759–761.
- Nassar AM 2016. Effectiveness of silver nanoparticles of extracts of *Urtica urens* (Urticaceae) against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Asian Journal of Nematology 5: 14–19.
- Öncüer C 2000. Tarımsal zararlılarla savaş yöntem ve ilaçları (4.Baskı). Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları. No:13, 333 sayfa, Aydın.
- Prakash A, Rao J 1996. Botanical Pesticides in Agriculture. CRC Pres, Lewis Publishers, 461 pp.
- Sağlam Altıncöy HD, Dura O, Kepenekci İ 2020. Determination of The Effectiveness of Nano Silver Additive Aqueous Extract of *Moringa oleifera* L. (Brassicales: Moringaceae) Against Root Lesion Nematode [*Pratylenchus thornei* Sher & Allen] Chitwood (Nematoda: Pratylenchidae) Under Laboratory Conditions. Journal of Global Innovations in Agricultural and Social Sciences 8: 19–22.
- Sankar MV, Abideen S 2015. Pesticidal effect of green synthesized silver and lead nanoparticles using *Avivennia marina* against grain storage pest *Sitophilus oryzae*. International Journal of Nanomaterials and Biostructures 5: 32–39.
- Sharma H, Dhirta B, Shirkot P 2017. Evaluation of biogenic iron nano formulations to control *Meloidogyne incognita* in okra. International Journal of Chemical Studies 5: 1278–1284.
- Smith D, Onions AHS 1994. The Preservation and Maintenance of Living Fungi. CAB International Bakeham Lane Egham-England.122 p.
- Taha EH 2016. Nematicidal effects of silver nanoparticles on root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*) in laboratory and greenhouse. Mansoura Journal of Plant Protection and Pathology 7: 333–337.
- Thakur RJ, Dhirta B, Shirkot P. 2018. Studies on Nano Toxicity Effect of Gold Nanoparticles on *M. incognita* and Tomato Plants Growth and Development. Annals of Nanoscience and Nanotechnology 2: 1–7.
- Vivek R, Thangam R, Muthuchelian K, Gunasekaran P, Kaveri K, Kannan S 2012. Green biosynthesis of silver nanoparticles from *Annona squamosa* leaf extract and its in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells. Process Biochemistry 47: 2405–2410.

Pentanema divaricatum Cass. (Inuleae, Asteraceae), A New Record for the Flora of Turkey

Yakup YAPAR¹, Lütfi BEHÇET²

^{1,2}Molecular Biology and Genetics, Faculty of Arts and Sciences, Bingöl University, Bingöl, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-5298-0085>, ²<https://orcid.org/0000-0001-8334-7816>

✉: yyapar25@gmail.com

ABSTRACT

Pentanema divaricatum species was collected from Arıcak (Elazığ) district in Turkey and it was given a new record for the Flora of Turkey. The description, details photographs and distribution maps of this new record are also given.

Botany

Research Article

Article History

Received : 07.09.2021

Accepted : 18.11.2021

Keywords

Pentanema divaricatum

New record

Distribution

Elazığ

Turkey

Pentanema divaricatum Cass. (Inuleae, Asteraceae), Türkiye Florası İçin Yeni Bir Kayıt

ÖZET

Pentanema divaricatum türü Türkiye'nin Arıcak (Elazığ) ilçesinden toplanmış ve Türkiye Florası için yeni bir kayıt olarak sunulmuştur. Makalede türün betimi, doğal ortamında çekilmiş detaylı fotoğrafları ve dağılım haritası verilmiştir.

Botanik

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 07.09.2021

Kabul Tarihi : 18.11.2021

Anahtar Kelimeler

Pentanema divaricatum

Yeni kayıt

Yayıllık

Elazığ

Türkiye

Atıf Şekli: Yapar Y, Behçet L 2022. *Pentanema divaricatum* Cass. (Inuleae, Asteraceae), Türkiye Florası İçin Yeni Bir Kayıt. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1401-1405. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.992122>

To Cite : Yapar Y, Behçet L 2022. *Pentanema divaricatum* Cass. (Inuleae, Asteraceae), A New Record for the Flora of Turkey. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1401-1405. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.992122>

INTRODUCTION

Turkey's biological richness; increases with new studies. Until 1999, the genus *Pentanema* Cass. was not included in the Flora of Turkey and the distribution of any of its members was not given. A *Pentanema* species (*P. alanyense* H. Duman & Anderb) was first described from Turkey (Antalya-Mediterranean Region) in 1999 (Duman and Anderberg 1999; Güner 2000).

The genus *Pentanema* was previously represented by about 20 species in the world and was distributed in the Central Asia, Iran, Afghanistan, Iraq, Pamir-Alai and Tien-Shan (Gorskova 1959, Ling 1979, Rechinger 1980, Duman and Anderberg 1999, Maroofi and Ghaderi 2016; Gutiérrez-Larruscain et al. 2018).

There was only one species (*Pentanema alanyense*) of this genus in Turkey (Duman and Anderberg 1999).

Some species belonging to the genus *Inula* L. were transferred to the genus *Pentanema*, taking into account the data obtained in some molecular and morphological (capitula features, cypselae shape and size, number of pappus hairs, etc.) studies carried out in recent years (Gutiérrez-Larruscain et al. 2018). As a result of these studies, the number of taxa of the genus *Pentanema* in the world has reached approximately 40. In the light of these recent studies, the number of *Pentanema* members in Turkey has increased to 10 (Duman and Anderberg 1999; Gutiérrez-Larruscain et al. 2018). Members of the genus are widespread in SW, S, Central Asia, Africa

and Europe (Gutiérrez-Larruscain et al. 2018).

We collected interesting *Pentanema* samples during the flora studies carried out in Arıcak district (Elazığ province) in 2021. We decided that these specimens collected through detailed literature check are belong to *Pentanema divaricatum* (Rechinger 1980; Gorschkova 1959; Güner 2000), which is a new record for the flora of Turkey. Thus, with the recent studies, the number of *Pentanema* species, which has 10 species in the flora of Turkey, has increased to 11 (Duman and Anderberg 1999; Gutiérrez-Larruscain et al. 2018). This paper describes and illustrates the new record of the *Pentanema* species.

MATERIAL and METHODS

Specimens of *Pentanema divaricatum* (Figure1,2) were collected in the Arıcak (Elazığ) district in Eastern Anatolia, Turkey. *Pentanema* specimens were identified with the “Flora Iranica” (Rechinger

1980) and the “Flora SSSR” (Gorschkova 1959). In addition, photographs of specimens found in P and E herbariums related to this species were examined (MNHN and Chagnoux 2021). Specimens of *P. divaricatum* were deposited in the herbarium of Bingöl University and ANK.

RESULTS and DISCUSSION

Pentanema divaricatum Cass., Bull. Sci. Soc. Philom. Paris 1818: 75 (Cassini 1818). (Figure1, 2).

Syn: *Vicoa pentanema* Aitch. & Hemsl. in Trans. Linn. Soc. London, Bot. 3(1): 75 (1888); *Inula divaricata* (Cass.) Boiss. Fl. Or. 3: 200 (1875); *Inula pentanema* (Aitch. & Hemsl.) Kitam., Fl. Afghan. (Results Kyoto Univ. Sci. Exped. Karak. & Hinduk. 1955, ii.) 426 (1960).

Typus: Verisimiliter, inter Baghdad et Aleppo, Olivier & Bruguier *s.n.*, P.



Figure 1. A view from the original habitat of *Pentanema divaricatum*.

Şekil 1. *Pentanema divaricatum*'un orjinal habitatından bir görüntü.

Description: Annual, stems 5–22 cm high, densely covered with 2–3 mm long, thin, white multicellular hairs and rarely thin short-stalked glands (except corolla of tubular florets); root slender, filiform. Stem brownish or violet, slender, usually divaricate branched, branches filiform. Leaves bluish-green, thin, distant, sessile; basal leaves usually rosulate 1.5–2.5 × 0.8 cm obovate or oblong spatulate, obtuse; middle leaves 2.0–4.0 × 0.7–1.5 cm, oblong or obovate-

oblong, at base usually tapering; upper leaves 1.0 × 0.5 cm, ovate or oblong, cordately auriculate, round, almost amplexicaule; floral leaves up to 0.5 × 0.2 cm, small, linear or oblong. Capitulum many flowered, on long filiform peduncles. Involucre many-rowed, imbricate, ca. 0.6 cm wide; involucre bracts 1-veined, outer bracts spatulate-filiform, densely glandular-hairy, obtuse, 3 × 0.3 mm, revolute, middle bracts 4.5–5.0 × 0.3 mm, erect, linear, subulate, sparsely

glandular-hairy in upper part as also outer ones pilose and ciliate; inner bracts 4.0×0.2 mm, erect, linear, almost smooth. Ligulate florets 6 mm long, yellow, 5 mm long corolla, tube filiform, 3 mm long, linear, as long as pappus, almost recurved, 2.0×1.0 – 1.5 mm ligules, 3-or 4-veined, 3-toothed hairs

outside, teeth glandular hairy; tubular florets 4 mm long, yellow, obconical filiform, 3 mm long corolla, as long as or shorter than pappus, teeth pubescent outside. Achenes 1 mm long, oblong, appressed hairy; pappus with 5 bristles, 2.5–3.0 mm long.

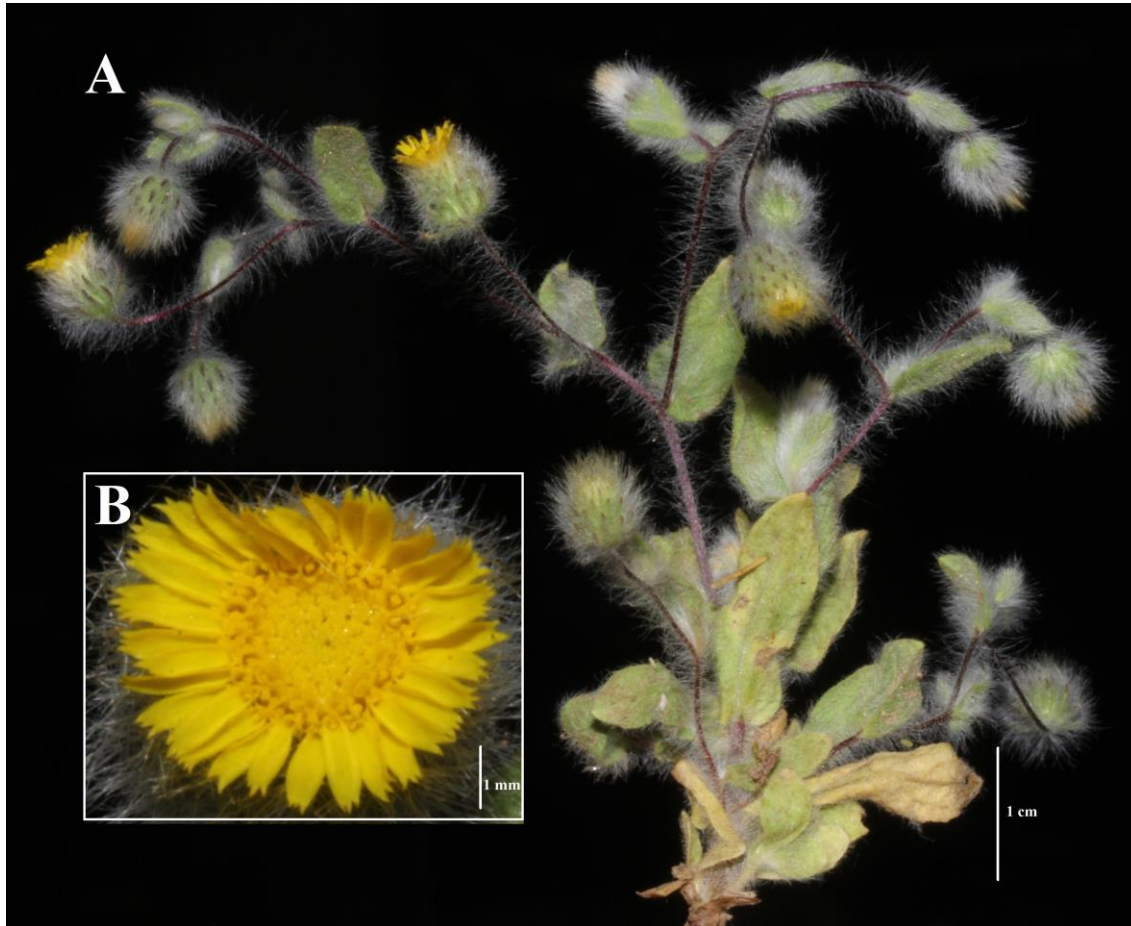


Figure 2. *Pentanema divaricatum*: A- habit, B- capitulum.

Şekil 2. *Pentanema divaricatum*: A- genel görünüş, B- kapitulum.

Flowering: May-June

Fruiting: June-July

Distribution: Afghanistan, Gulf States, Iran, Iraq, Lebanon-Syria, Myanmar, Oman, Pakistan, Saudi Arabia, Tadjikistan, Turkmenistan, Uzbekistan, Turkey (Rechinger 1980; POWO 2021) (Figure 3).

Specimens examined: B8 Turkey: Elaziğ, Arıcak district, Arıcak-Bingöl border, between Karakaş and Çobançesmesi villages, road side, dry stream beds, 860 m, 20.05.2021, *Y.Yapar & L.Behçet* 5585; *ibid.* 05.06.2021, *Y.Yapar* 5995; Photo of *P. divaricatum* in P (P03304036!; P03304026!; P03304032!; P02706637!; P02706637!; P02706645!) and E (E00591582!; E00591577!; E00591580!)

Ecology: *Pentanema divaricatum* is distributed on dunes in dry stream beds with *Aegilops columnaris* Zhuk., *Arenaria serpyllifolia* L., *Brachypodium distachyon* (L.) P.Beauv., *Chrysopogon gryllus* (L.) Trin., *Legousia falcata* (Ten.) Fritsch ex Janch.,

Lolium rigidum Gaudin, *Phleum boissieri* Bornm., *Rostraria cristata* (L.) Tzvelev, *Stipa bromoides* (L.) Dörf., *Vitex agnus-castus* L.

CONCLUSION

Gutiérrez-Larruscain et al. (2018) transferred some species within the genus *Inula* to the genus *Pentanema* in their molecular and partially morphological-based study in 2018. Based on this study, 9 *Inula* species distributed in Turkey were included in the genus *Pentanema*.

Annual *P. divaricatum* is most similar to the *P. alanyense*, mainly because of its divaricate branching and number of pappus bristles, but the latter species differs, e.g. in life form, leaf-shape, in having an almost distinctly conical receptacle and a indumentum features on the involucre.

A total of 11 *Pentanema* species (*Pentanema alanyense* and with 9 species transferred from the

genus *Inula* (*Pentanema aschersonianum* (Janka) D.Gut.Larr. \equiv *Inula aschersoniana* Janka, *P. britannicum* (L.) D.Gut.Larr. \equiv *Inula britannica* L., *P. conyzae* (Griess.) D.Gut.Larr. \equiv *I. conyzae* (Griess.) Meikle, *P. ensifolium* (L.) D.Gut.Larr. \equiv *Inula ensifolia* L., *P. germanicum* (L.) D.Gut.Larr. \equiv *Inula germanica* L., *P. mariae* (Bordz.) D.Gut.Larr. \equiv

Bordz., *P. oculus-christi* (L.) D.Gut.Larr. \equiv *Inula oculus-christi* L., *P. orientale* (Lam.) D.Gut.Larr. \equiv *Inula orientalis* Lam., *P. salicinum* (L.) D.Gut.Larr. \equiv *Inula salicina* L.) (Gutiérrez-Larruscain et al. 2018) are distributed in Turkey, together with *P. divaricatum*, which was given as a new record for the flora of Turkey from Arıcak (Elazığ).

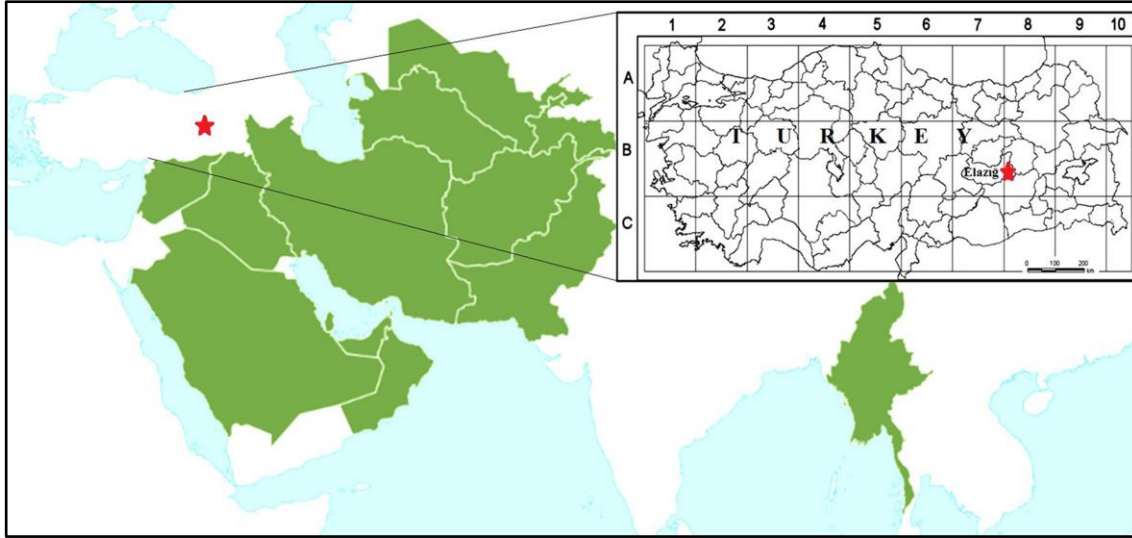


Figure 3. Distribution of *Pentanema divaricatum* in World and Turkey (from POWO 2021).
Şekil 3. *Pentanema divaricatum*'un dünya ve Türkiye'deki yayılışı (POWO 2021'dan).

Pentanema divaricatum, which is widely distributed in the southern neighbors (Iran, Iraq and Syria) of Türkiye, is likely to be distributed in similar habitats in the eastern and southeastern Anatolia regions of Turkey.

Arıcak district is a very rich and little-known place in terms of floristics. Two new plants have been identified in the district with the studies carried out in recent years (Behçet et al. 2019; Yapar and Behçet 2020). The southern parts of Arıcak, which is located in the south of the Eastern Anatolia Region, are mostly under the influence of the southern Anatolian climate. The distribution of *P. divaricatum* in the dry stream beds in the south of the district is an interesting but expected situation.

P. divaricatum is easily distinguished from other *Pentanema* species by its life form (annual), hairy structure (densely covered with 2–3 mm long, thin, white multicellular hairs) and achene characteristics (the achene of *Pentanema divaricatum* and *P. alanyense* have 5 bristles, other *Pentanema* species have 8–35 (45) (Rechinger 1980; Duman and Anderberg 1999).

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

The contribution of the authors is equal.

REFERENCES

- Behçet L, Yapar Y, Olgun Ş 2019. *Prangos arıcakensis* (Apiaceae), a new species from eastern Turkey. *Phytotaxa* 401(1): 55–63. DOI: 10.11646/phytotaxa.401.1.5.
- Cassini H 1818. Aperçu des Genres nouveaux formés par M. Henri Cassini dans la famille des Synanthérées. *Bulletin des Sciences, parla Societe Philomatique*, pp. 73–77.
- Duman H, Anderberg AA 1999. An undescribed species of *Pentanema* Cass. (Asteraceae-Inuleae) from Turkey, with notes on the phylogenetic status of the genus. *Botanical Journal of the Linnean Society* 129: 333–338. DOI: 10.1006/boj.1998.0228.
- Gorschikova SG 1959. *Pentanema* Cass. In: Schischkin BK (ed.) *Flora SSSR*, vol: 25, Academy of Sciences of the USSR, Moscow & Leningrad, pp. 477–486.
- Gutiérrez-Larruscain D, Santos-Vicente M, Anderberg AA, Rico E, Martínez-Ortega MM 2018. Phylogeny of the *Inula* group (Asteraceae: Inuleae): Evidence from nuclear and plastid genomes and a recircumscription of *Pentanema*. *Taxon* 67(1): 149–164. DOI: 10.12705/671.10
- Güner A 2000. *Pentanema* Cass. In: Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC (eds) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, vol: 11 (suppl. 2), Edinburgh University Press, Edinburgh, pp. 154–155.

- Ling Y. 1979. *Pentanema* Cass. In: Ling, Y (ed.) Flora reipublicae popularis sinicae, vol: 75, Academia Sinica, Beijing, pp. 281–286.
- Maroofi H, Ghaderi H 2016. *Pentanema kurdistanicum* (Inuleae, Asteraceae), a new species from subalpine cliffs of Kurdistan, Iran. *Phytotaxa* 253(3): 223–226. DOI: 10.11646/phytotaxa.253.3.7
- MNHN, Chagnoux S 2021. The vascular plants collection (P) at the Herbarium of the Muséum national d'Histoire Naturelle (MNHN - Paris). Version 69.236. MNHN - Museum national d'Histoire naturelle. Occurrence dataset <https://doi.org/10.15468/nc6rxy> accessed via GBIF.org on 2021-11-18. https://www.gbif.org/occurrence/gallery?taxon_key=3146524
- POWO 2021. Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet: <http://www.plantsoftheworldonline.org/> (Access: 02.09.2021).
- Rechinger KH 1980. *Pentanema* Cass. In: Rechinger KH (ed.) Flora Iranica, 145, Akademische Druck- und Verlagsanstalt, Graz, pp. 96–105.
- Yapar Y, Behçet L 2020. A new subspecies of *Ornithogalum malatyanum* (Asparagaceae: Scilloideae) from eastern Anatolia, Turkey. *Nordic Journal of Botany* 38(11): 1-5. DOI: 10.1111/njb.02837.

Kinetic Modelling of Polyphenol Oxidase Activity and Phenolic Compound Changes in Thermosonicated Strawberry Nectar During Storage

Burcu DÜNDAR KIRIT^{1*}, Asiye AKYILDIZ²

Cukurova University, Faculty of Engineering, Food Engineering Department, Adana

¹<https://orcid.org/0000-0002-9919-5711>, ²<https://orcid.org/0000-0001-5584-0849>

*bdundar@cu.edu.tr

ABSTRACT

In this study, some quality changes in the optimally thermosonicated (59°C-455 J g⁻¹) cloudy strawberry nectar during storage were evaluated and modelled. The changes of pH (3.40-3.78), residual polyphenol oxidase-(PPO) activity (24%-11%), total phenolic-(TP) content (688.7-543.2 mg L⁻¹), total monomeric anthocyanin-(TMA) content (142.5-84.4 mg L⁻¹), anthocyanin, and colorless phenolic compounds were analyzed during three months of storage at 4°C. The significant decrease (54%) which was observed in residual PPO activity can be related with the decrease in phenolic content of nectar. A high correlation was determined between the changes in pH and TP of nectar ($R^2=0.983$). While TMA content and anthocyanin compounds (pelargonidin-3-*O*-glucoside, pelargonidin-3-*O*-rutinoside, cyanidin-3-glucoside) were decreasing, chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, ellagic acid, kaempferol, quercetin, (±)-catechin and (-)-epicatechin were increasing between the days 30 and 60. Pelargonidin-3-*O*-glucoside was decreased 36% at the end of storage ($k=6.09 \times 10^{-5}$ L (mg day)⁻¹). It was determined that the increase in PPO activity ($R^2=0.986$), degradations of TP ($R^2=0.902$), TMA ($R^2=0.968$), pelargonidin-3-glucoside ($R^2=0.858$), pelargonidin-3-rutinoside ($R^2=0.965$), and (-)-epicatechin gallate ($R^2=0.871$) were best fitted to second-order kinetic model. The half-time of TP content was 303 days, while the half of TMA content was degrading in 99 days.

Termosonikasyon Uygulanan Çilek Nektarının Depolama Boyunca Polifenol Oksidaz Aktivitesi ve Fenolik Madde İçeriğindeki Değişimlerin Kinetik Modellenmesi

ÖZET

Bu çalışmada, optimum koşullarda (59°C-455 J g⁻¹) termosonikasyon uygulanan bulanık çilek nektarında depolama süresince meydana gelen bazı kalite değişimleri değerlendirilmiş ve modellenmiştir. pH (3.40-3.78), kalıntı polifenol oksidaz-(PFO) aktivitesi (24%-11%), toplam fenolik-(TF) (688.7-543.2 mg L⁻¹), toplam monomerik antosiyanin-(TMA) içeriği (142.5-84.4 mg L⁻¹), antosiyanin ve renksiz fenolik bileşik içeriklerindeki değişimler, 4°C'de üç ay depolama süresince belirlenmiştir. Depolama ile kalıntı PFO aktivitesinde gözlenen önemli düzeydeki azalma (%54), nektarın fenolik içeriğindeki azalma ile ilişkilendirilebilir. Nektarın pH ve TP değerlerindeki değişimler arasında yüksek korelasyon olduğu tespit edilmiştir ($R^2=0.983$). TMA içeriği ve antosiyanin bileşik içerikleri (pelargonidin-3-*O*-glukozit, pelargonidin-3-*O*-rutinosit, siyanidin-3-glukozit) azalırken, klorojenik asit, *p*-kumarik asit, elajik asit, kaempferol, kuersetin, (±)-kateşin, (-)-epikateşin içerikleri 30 ve 60. günler arasında artış göstermiştir. Pelargonidin-3-*O*-glucoside depolama sonunda %36 azalmıştır ($k=6.09 \times 10^{-5}$ L (mg gün)⁻¹). PFO aktivitesi ($R^2=0.986$), TP ($R^2=0.902$), TMA ($R^2=0.968$), pelargonidin-3-glukozit ($R^2=0.858$), pelargonidin-3-rutinozit ($R^2=0.965$) ve (-)-epikateşin gallat ($R^2=0.871$) parçalanmalarının ikinci dereceden

Food Science

Research Article

Article History

Geliş Tarihi : 12.10.2021

Kabul Tarihi : 20.12.2021

Keywords

Cloudy strawberry nectar
Colorless phenolic compound
Polyphenol oxidase activity
Kinetic modelling
Storage

Gıda Bilimi

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Received : 12.10.2021

Accepted : 20.12.2021

Anahtar Kelimeler

Bulanık çilek nektarı
Renksiz fenolik bileşik
Polifenol oksidaz aktivitesi
Kinetik modelleme
Depolama

kinetik model ile en yüksek uyum gösterdiği belirlenmiştir. TMA içeriğinin yarısı 99 günde parçalanıyorken, TF içeriğinin yarılanma süresi 303 gündür.

Atıf Şekli: Dündar Kırıt B, Akyıldız A 2022. Termosonikasyon Uygulanan Çilek Nektarının Depolama Boyunca Polifenol Oksidaz Aktivitesi ve Fenolik Madde İçeriğindeki Değişimlerin Kinetik Modellenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1406-1413. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1008466>

To Cite : Dündar Kırıt B, Akyıldız A 2022. Kinetic Modelling of Polyphenol Oxidase Activity and Phenolic Compound Changes in Thermosonicated Strawberry Nectar During Storage. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1406-1413. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1008466>

INTRODUCTION

Strawberries (*Fragaria x ananassa*) contain significant amount of micronutrients related to human health like phenolic compounds. There is an increase in evidence of the positive effects of phenolic phytochemicals against cardiovascular diseases, some cancer types and neurodegenerative diseases (Giampieri, 2012). Not only colorful phenolic compounds of fruits, but also colorless ones, particularly phenolic acids and flavonoids are responsible for these health benefits. The antioxidant activity of strawberry is mainly derived from phenolic compounds, while ascorbic acid is responsible only about 10% of that activity in strawberry (Sun et al., 2002). Besides bioactive components, another reason for choosing the strawberry juice or nectar is their attractive and bright red color. Phenolic content and color of the cloudy strawberry nectar may be affected at the stages of processing and storage.

During processing stage, it was indicated that conventional thermal processing has adverse effect on bioactive properties of juices including strawberry juice (Patras et al., 2010). Ultrasound is one of the non-thermal techniques which are preferred to eliminate or reduce the negative effects of thermal treatment. It consists of sound waves with high frequency (>16 kHz). Thermosonication, the combination of thermal treatment and ultrasound, is reported as a good alternative to thermal pasteurization of strawberry juice, and can improve the polyphenol retention of juice compared to the thermal pasteurization (Lafarga et al., 2019). Thermosonication is applicable treatment in order to obtain polyphenol oxidase (PPO) inactivation in cloudy strawberry juice, while important quality parameters of nectar can be remaining similar to the non-processed one. It was shown that optimized conditions of thermosonication by response surface methodology could improve the retention of some bioactive compounds of juice (Dündar et al., 2019; Lafarga et al., 2019). Regarding the PPO inactivation and changes in color and some bioactive components (ascorbic acid, total phenolic, monomeric anthocyanin), Dündar et al. (2019) were determined the optimum thermosonication parameters as 59°C and 455 J g⁻¹, earlier. Thereby, the negative effect of processing period was minimized with the aid of the

optimization study. However, there is not a wide knowledge about the degradation of colorless phenolic compounds. The need to reveal the degradation kinetics of bioactive components is important.

In this research, the cloudy nectar produced from strawberry puree (to obtain higher bioactive content) and optimally thermosonicated (to minimize the negative effect of processing) was stored at 4°C which is a better condition to ensure higher stability of polyphenols during three months. The changes in pH, PPO activity, total phenolic content, total monomeric anthocyanin content, anthocyanin and colorless phenolic compounds were revealed during storage. Also, the degradation kinetic outputs of TP, TMA, pelargonidin-3-glucoside-(plg-3-glc), pelargonidin-3-O-rutinoside (plg-3-O-rut), (-)-epicatechin gallate in strawberry nectar were determined.

MATERIAL and METHOD

Strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. Rubygem which are farmed by Cukurova University Agricultural Faculty (Adana, Turkey) were harvested at the same stage of maturity to produce nectar. Strawberry nectar (50% fruit puree, 0.5 g L⁻¹ titrable acidity and 10°Brix at 25°C) processed with the same method which was used earlier in optimization study to eliminate the differences based on material. The thermosonication parameters combination of 59°C and 455 J g⁻¹ was used. The thermosonication treatment was carried out with laboratory-scale ultrasonic device (S14-sonotrode-UP200S-Hielscher/Germany), a temperature controller, a digital power-meter and digital timer at a constant temperature&time to apply optimum processing. The nectar was placed in double-walled glass beaker with a cooling/heating system during thermosonication. The average ultrasound power was measured as 150 W during processing. Temperature was controlled by a water-circulator, and the treated nectar was cooled to room temperature immediately. In total, 5 L nectar was mixed to eliminate the difference from the material, before filling the glass bottles.

Ultrasound energy density parameter (UED, J g⁻¹) and its relationship with ultrasonic power (P, W), treatment time (t, s) and sample amount (m, g) were explained with following equation (Eq. 1);

$$UED = \frac{P.t}{m} \quad (1)$$

Analyses

All the chemical analyses were performed at the 0, 10, 20, 30, 60 and 90th day of storage (4°C) and repeated at least three times.

pH

The pH measurements of strawberries were carried out using Mettler Toledo pH-meter at 25°C.

PPO activity

The strawberry nectar (10 g) mixed with 20 mL sodium phosphate buffer (pH 7.0), 4%PVPP, 1%triton X-100 and 50 µL 1 M NaCl to determine residual PPO activity. The mixture was centrifuged (30 min-6000 rpm-4°C) and supernatant (100 µL) was added to catechol solution (with 0.07 M phosphate buffer (pH 5.8)) while blank was catechol solution with 100 µL diluted water. The absorbance values recorded per minute during 15 min at 420 nm (Sulaiman et al., 2015). The plot of time-absorbance graph which was calculated from linear portion of curve was used for determining the activity. Following Eq. 2 was used to determine the percent residual activity of PPO:

$$\text{Residual PPO activity (\%)} = \frac{A_t}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

where A_t and A_0 symbolize the slope values of the thermosonicated and non-thermosonicated nectars, respectively.

Total Phenolic Content

The phenolic contents were determined by using the Folin-Ciocalteu with some modifications (Abdullakassim et al., 2009). Strawberry nectar (5 mL) and 80% methanol were mixed and centrifuged in a tube at 6000 rpm for 10 min at 4°C (Heraeus Bofuge Primo R, Germany). The 100 µL Folin-Ciocalteu reagent and 3000 µL deionized water were added to appropriately diluted 100 µL sample/standard solution. Then, 20% Na_2CO_3 solution (100 µL) was added to mixture and incubated at room temperature for 2 h in the dark. Finally, absorbance measurements were conducted using Perkin Elmer Lambda 25-UV/VIS (Massachusetts/USA) spectrophotometer at 765 nm. Gallic acid was used as standard and TP contents were expressed in milligrams per L as gallic acid equivalents (mg GAE L^{-1}).

Total Monomeric Anthocyanin

TMA of strawberry nectar was determined by the pH differential method (Giusti and Wrolstad, 2001). 0.025 M potassium chloride (KCl, pH=1 (adjusted with HCl)) and 0.4 M sodium acetate

($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, pH=4.5 (adjusted with HCl)) buffers were used in this analysis. Potassium chloride (4.5 mL) and sodium acetate buffer were added to two different tube separately. The supernatant (0.5 mL) which was collected for total phenolic content analysis was used. Measurements were performed with spectrophotometer at 520 nm and 700 nm.

TMA was expressed as cyanidin-3-glucoside in terms of mg L^{-1} by using following equations (Eqs.3-4).

$$A = ((A_{520} - A_{700})_{\text{pH}=1} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}=4.5}) \quad (3)$$

$$\text{Monomeric anthocyanin content (mg/kg)} = \frac{(A \cdot \text{MW} \cdot \text{DF}) \cdot 1000}{(\epsilon \cdot L)} \quad (4)$$

where A; difference between absorbances, MW; anthocyanin molecule weight (449.2), DF; Dilution factor, ϵ ; Molar absorption coefficient (26900) and L; Light path of spectrophotometer cuvette (1 cm-length).

Phenolic Compounds

To determine phenolic compounds, strawberry nectar was mixed with 5 mL of 80% methanol in teflon tube and then the tubes were centrifuged at 6000 rpm for 10 min at 4 °C. The supernatant was filtered (PTFE, 0.25 µm filter) and then injected to the HPLC (Shimadzu LC-20AT, Japan) C18 XTerra column (Waters, 4.6×250 mm). Injection (20 µL) to column was conducted at 25°C and absorbance detected with Photo Diode Array detector at 280, 320 and 520 nm while mobile phase flow rate was 1 mL min^{-1} (gradient flow) (Ağçam et al., 2014).

Kinetic Modelling

The changing kinetics of PPO activity, total phenolic, total monomeric anthocyanin, pelargonidin-3-glucoside, pelargonidin-3-rutinoside contents of nectar were investigated. The obtained data during the 90 days of storage were used to determine the best fitted mathematical model (zero, first, half or second-order models) to the degradation kinetics by using Curve Fitting Toolbox, Matlab ver. 7.10 (MathWorks Inc./USA/2010). The integrated forms of zero, first, half and second-order models were given in Eqs. (5)-(8), respectively.

$$X_t = X_0 + k_x t \quad (5)$$

$$2\sqrt{X_t} - \sqrt{X_0} = k_x t \quad (6)$$

$$\ln \frac{X_t}{X_0} = -k_x t \quad (7)$$

$$\frac{1}{x_t} - \frac{1}{x_0} = k_x t \quad (8)$$

where k_x is the reaction rate constant, X_0 and X_t are the initial and after time of storage concentrations of phenolic compounds (mg L^{-1}), respectively, and t is the reaction time (days).

The goodness of model fitting to the experimental data was determined with the aid of correlation

coefficient- (R^2), adjusted coefficients of determination- (R^2_{adj}), confidence-intervals-(ConfI) and root-mean-square-error-($RMSE$) values (Remini et al., 2015).

Statistical Analysis

The variance and Duncan's multiple tests of obtained values during storage were conducted with SPSS (PASW Statistic 18 for Windows, USA) packet program to determine significant differences ($P < 0.05$) between mean values.

RESULTS and DISCUSSION

Change of pH

The pH value of nectar was between 3.40 and 3.78 during storage (Fig. 1.a.). It was determined that there was a significant decrease in pH values of nectar beginning from the 20th day ($P < 0.05$). The decrease in pH can be related with the biochemical reactions, lactic and acetic acid bacteria activities. Moreover, condensation between amino acids and carbonyl groups of glucose may be the cause of the pH decrease (Carabasa-Giribet et al., 2000; Wang et al., 2006). The stability of pH during the first 20 days of storage can be the result of ultrasound inactivation effect on microorganisms (Muzaffar et al., 2016) or the lag-phase of microbial growth. pH value can affect the colorless phenolic compounds of strawberries (Oliveira et al., 2015), and lower pH (~2.5) may induce the higher ellagic acid content in the strawberry. So, the decreasing of pH can be considered as a desirable change to preserve polyphenols.

Change of Residual PPO Activity

The residual PPO activities of nectars stored at 4°C for 90 days were given in Fig. (1). The obtained results showed that the maximum PPO activity (24%) was observed at the beginning of the storage, while the minimum PPO activity (11%) was at the end of storage (decreased by 54%). Therefore, it can be seen that the optimum thermosonication ensured the PPO inactivation irreversibly. The residual PPO level can be affected by decreasing pH and polyphenol content (Fig. 1). Although the pH decrease was not too much in this study, the pH level of the medium may have a great impact on the PPO activity (Jiang, 1999).

The PPO activity in fruit juices results in the enzymatic browning, anthocyanin degradation and formation of unstable o-quinones. Further interactions between o-quinones and amino acids, protein or other compounds result in black-brownish color pigments, called as melanin (Ağçam et al., 2017). PPO is the most resistant one to heat among the enzymes which are found in strawberry puree mixed with sugar (Chakraborty et al., 2015). The

decrease in the anthocyanin content is not only because of oxidative reactions, but also condensation reactions of monomeric anthocyanin with other phenolic compounds (Pacheco-palencia et al., 2007).

Change of TP Content

The obtained TP levels were changed between 688.7 mg L⁻¹ and 543.2 mg L⁻¹. There was no significant difference in the first month of storage, but TP content of nectar decreased by 22% at the end ($P < 0.05$) (Fig. 1.c.). Phenolic components can be found in a soluble form in the vacuole of cell or a bounded form with pectin, cellulose, hemicellulose, lignin traces (Bhat et al., 2011). It was known that ultrasound processing can help to destroy plant cell wall and membrane leading to enhance mass transfer of intracellular materials to the medium. Some earlier researches showed that ultrasonication can cause an increasing in TP content of juices (Bhat & Goh, 2017; Dündar et al., 2019). Besides, PPO which had higher activity at the beginning of storage might have destructive effect on polyphenols. These reverse effects on TP content may be tolerated each other, and it can be the reason of that the changes were not significant during first month. Ultrasonication may induce the hydroxyl radical formation in juice. The non-significant phenolic content increase in the earlier part of storage also can be related to the interaction between hydroxyl radical, and aromatic rings (Bhat et al., 2011). It is possible that after the 30th day, the releasing stopped, and PPO kept continue to degrade the phenolic compounds. Also, the occurring change in pH of nectar after the 30th day of storage may have affected the TP content indirectly, in relation with the level of PPO activity. Because, the changings of these two properties of nectar, pH and TP, with time were similar and the R^2 is 0.9833.

Change of TMA Content

The monomeric anthocyanin contents of nectars which were thermosonicated in optimum conditions, and stored at 4°C during three months were shown in Fig. 1.d.. TMA content of nectar was the highest (142.53 mg L⁻¹) at the beginning of storage, while it was the lowest (74.70 mg L⁻¹) at the end. There is no conflict between the TMA content of nectars and the total concentration of individual anthocyanin compounds. The storage time has a significant effect on the TMA content of cloudy strawberry nectar. Approximately half of the TMA degradation has occurred in the first 20 days, and the rest was lost at the end of the storage. The rate of decrease in TMA content was higher at the beginning of the storage period, and highly decreased after the 60th day of this period.

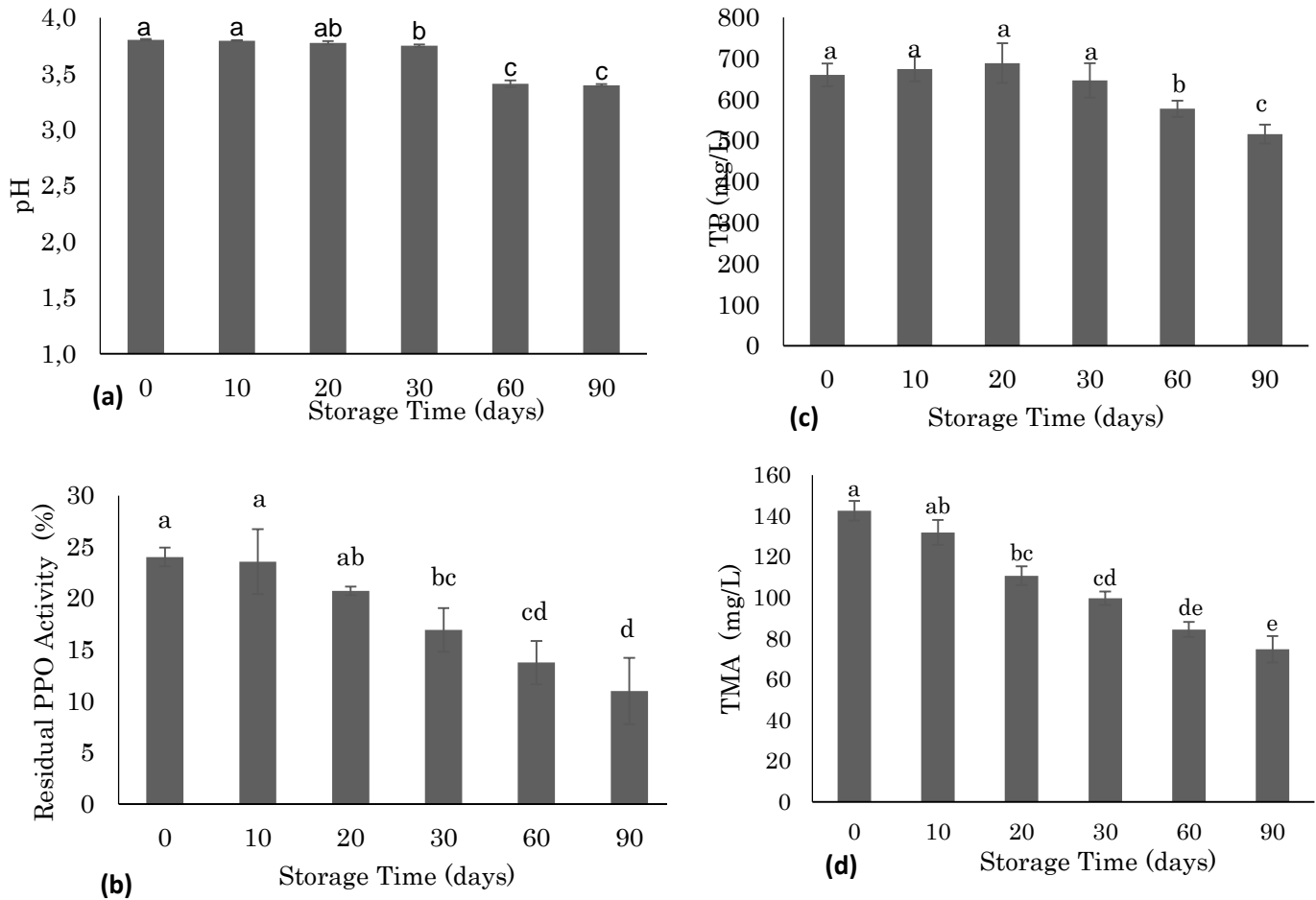


Figure 1. The pH (a), residual polyphenol oxidase (PPO) activity (b), total phenolic (TP) (c), and total monomeric anthocyanin (TMA) (d) contents of strawberry nectar during storage.

Şekil 1. Depolama boyunca çilek nektarlarının pH değeri (a), kalıntı polifenol oksidaz (PPO) aktivitesi (b), toplam fenolik (TP) (c) ve toplam monomerik antosiyanin (TMA) (d) içerikleri

^{a-e} The difference between the groups with the different letter in the same line is significantly important ($P < 0.05$).

Similar TMA results obtained at the pasteurized strawberry juice stored during 32 weeks at different temperatures (Buvé et al., 2018). The possible reasons of significant decrease in TMA can be enzymatic oxidation, non-enzymatic reactions or condensation reaction.

Change of Anthocyanin Compounds

The change in anthocyanin compounds of nectar was given in Table 1. Pelargonidin-3-O-glucoside, pelargonidin-3-O-rutinoside, cyanidin-3,5-diglucoside and cyanidin-3-glucoside were determined in strawberry nectars. The most predominant anthocyanin was pelargonidin-3-O-glucoside with the concentration of $92.37 \pm 4.88 \text{ mg L}^{-1}$ at the 0th day, while it decreased during storage till $59.14 \pm 1.48 \text{ mg L}^{-1}$ at the end. The levels of other detected anthocyanin also decreased with the storage time. Four relatively major anthocyanin in the obtained chromatogram could not be identified due to lack of

commercial standards, and their concentrations were calculated in terms of pelargonidin-3-glucoside as unknown. The unidentified phenolic compounds (U1-4) may be cyanidin-3-malonil, pelargonidin-3-malonilglucoside or pelargonidin-3-acetylglucoside. The results showed that the sum of anthocyanin compounds ($\sim 125 \text{ mg L}^{-1}$, day 0) and total monomeric anthocyanin content ($\sim 142 \text{ mg L}^{-1}$, day 0) are coherent. The difference between them could be resulted from the other non-identified minor anthocyanins. The stability of anthocyanins is affected by other components in the medium. However, there is not much details about the degradation steps of anthocyanins. Some different compounds can be formed during anthocyanin degradation like protocatechoic acid and its aldehyde form derived from the pelargonidin-3-glucoside (Abid et al., 2014). Enzymatic and non-enzymatic reactions can be the reasons of color changes with the pigment polymerization and browning (Wrolstad et al., 1990).

Change of Colorless Phenolic Compounds

Besides anthocyanins, some colorless phenolic compounds of strawberry nectar were determined (Supplementary files 2-3), in this study. Caffeic acid, chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, kaempferol, (\pm)-catechin, protocatechuic acid ethyl ester (PAEE), ellagic acid, ferrulic acid, quercetin, (-)-epicatechin and (-)-epicatechin gallate contents of nectar were given in Table 1. The most predominant colorless phenolic, (-)-epicatechin gallate, concentration decreased approximately 60% during storage at 4°C from 136.93 mg L⁻¹ to 81.89 mg L⁻¹. (\pm)-catechin and (-)-epicatechin contents followed that, respectively. Some colorless phenolics such as epicatechin gallate and caffeic acid decreased consistently, while the others did not show the same tendency during the three months of storage. Chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, kaempferol, (\pm)-catechin, PAEE, ellagic acid, quercetin and (-)-epicatechin concentrations of nectar showed fluctuation during storage. There are no significant differences between the levels of ellagic acid and quercetin at the first day and last day of storage ($P > 0.05$). The reason of the irregular changes in the levels of U1, U2 anthocyanins and some colorless phenolic can be the interactions between different phenolic compounds during storage. It was determined that changes in these anthocyanins and colorless phenolics were opposite. Thereby, it can be assumed that an interaction between them like pigmentation might be occurred. Generally, the addition of copigment to juice increases the color stability. On the other hand, it was reported that ferrulic and caffeic acids decreased color stability of the acylated anthocyanins during 200 days of storage (Eiro & Heinonen, 2002). These phenolic acids which are also found in strawberry might interfere with the acylated anthocyanins.

Kinetic Parameters

The changing kinetics of PPO activity, TP, TMA, plg-3-glc, plg-3-O-rut and (-)-epicatechin gallate contents were evaluated to determine the best fitted mathematical model (zero, first, half or second-order models). The kinetic parameters, rate constant (k) and half-time ($t_{1/2}$) as well as the R^2 , adjusted- R^2 and $RMSE$ of the models through a least square fitting procedure were given in Table 2. The content of each compound that was investigated, and the kinetic model with highest correlation coefficient is accepted to explain the order of changing. The half-lives of TP, TMA, plg-3-glc, plg-3-rut and (-)-epicatechin gallate were 303, 99, 164, 183 and 132 days, respectively. The half-lives showed that the most abundant anthocyanins can be more stable than the other anthocyanins found in strawberry ($t_{1/2}$ of TMA less than $t_{1/2}$ of Plg-3-glc and Plg-3-rt). When the half-lives

of TP (303 days) and TMA (99 days) are considered, TF content was more stable than TMA. This can be caused from the stability of some colorless phenolic compounds. The degradation kinetics of phenolic compounds individually or in total were followed the second ordered-kinetic model with R^2 values between 0.8577 and 0.9677. Among the investigated kinetic properties of strawberry nectar, PPO activity changing with storage time showed the highest R^2 (0.9857, second-order) and reaction rate constant (5.693×10^{-4} L (mg day)⁻¹) with the half-life of 73 days. Although some researchers agreed that degradation kinetic of anthocyanin fit the first order kinetic model in different juices or fruits (Del Pozo-Insfran et al., 2004; Patras et al., 2010; Zheng et al., 2007), others stated that the degradation were best described with pseudo-first order (Oliveira et al., 2014) or second order kinetics (Özkan, 2002). The degradation during roasting Cocoa was best fitted to first-order kinetic model by Fernandez-Romero et al. (2020) and Loncaric et al. (2018) stated that catechin and epicatechin degradations were best fitted to the first order kinetic model in some different mediums during thermal treatments. Also, Wang and Xu (2007) stated that the degradation kinetic of anthocyanin content in blackberry juice followed first order reaction kinetic and the half-life was calculated as 330 days at 5°C. This differences between the results of this study and other studies in literature can be related with the differences between food matrices like pH, chemical structure, anthocyanin, enzyme, protein and metal ion concentration (Rein, 2005).

CONCLUSION

Thermosonication is reported as an alternative way to conventional thermal treatment. In this study, the effect of storage (three months-4°C) on pH, residual PPO activity, TP, TMA, anthocyanin / colorless phenolic compounds and the degradation kinetics of some compounds of optimally thermosonicated strawberry nectar were determined. PPO activity and TP content (after first month) decreased during storage ($P < 0.05$). The TMA content and anthocyanin compounds were decreasing, while colorless phenolic compounds did not show regular changing tendencies. The degradation kinetics of TP, TMA, pelargonidin-3-glucoside and pelargonidin-3-O-rutinoside followed a second order model, while ascorbic acid degradation fit the first order model. The TP content was the most stable among the investigated quality parameters with the longest half-life of 303 days. At the beginning of storage, the changing of anthocyanin can be less effective on the TP content than the changing of colorless phenolic content. Besides, concentration of some colorless phenolic compounds were shown fluctuation during storage.

Table 1. Changes in phenolic compound content (mg L⁻¹) of strawberry nectar during storage (4°C)
Çizelge 1. Çilek nektarının depolama (4°C) boyunca fenolik bileşen içeriğindeki (mg L⁻¹) değişimler

		Days					
		0	10	20	30	60	90
Anthocyanins	Pelargonidin-3- <i>O</i> -glucoside	92.37±4.88 ^a	85.87±1.72 ^b	70.97±2.21 ^c	69.53±1.13 ^c	66.90±1.71 ^c	59.14±1.48 ^d
	Pelargonidin-3- <i>O</i> -rutinoside	20.53±0.48 ^a	19.68±0.38 ^b	17.22±0.13 ^c	17.13±0.08 ^c	15.33±0.54 ^d	13.75±0.50 ^e
	Cyanidin-3,5-diglucoside	1.39±0.07 ^a	1.15±0.02 ^b	0.89±0.04 ^c	0.95±0.01 ^c	1.18±0.03 ^b	1.13±0.07 ^b
	Cyanidin-3-glucoside	0.68±0.07 ^a	0.60±0.03 ^b	0.51±0.04 ^c	0.52±0.01 ^c	0.49±0.02 ^c	0.41±0.05 ^d
	U1	8.38±0.23 ^c	8.00±0.42 ^c	13.35±0.54 ^a	12.01±0.24 ^b	7.02±0.24 ^d	5.70±0.05 ^e
	U2	1.21±0.05 ^b	1.19±0.08 ^b	1.91±0.14 ^a	1.79±0.02 ^a	1.05±0.02 ^c	0.81±0.02 ^d
	U3	0.41±0.03 ^a	0.38±0.05 ^a	0.23±0.02 ^b	0.24±0.01 ^b	0.22±0.01 ^b	0.17±0.02 ^c
	U4	0.38±0.02 ^a	0.38±0.02 ^a	0.27±0.03 ^b	0.20±0.03 ^c	0.18±0.03 ^c	0.17±0.02 ^c
Phenolic acids	Caffeic acid	16.72±0.79 ^a	16.30±0.79 ^a	12.97±0.23 ^b	12.67±0.39 ^b	12.52±0.37 ^b	12.07±0.34 ^b
	Chlorogenic acid	15.67±0.4 ^b	15.89±1.26 ^b	13.23±0.34 ^c	13.76±0.35 ^c	17.55±0.70 ^a	17.58±0.63 ^a
	<i>p</i> -Coumaric acid	4.77±0.4 ^a	4.52±0.12 ^b	0.65±0.15 ^e	0.59±0.02 ^e	2.45±0.06 ^c	2.26±1.13 ^d
	Ellagic acid	6.46±0.08 ^a	4.04±0.54 ^c	1.05±0.07 ^d	1.45±0.36 ^d	5.12±0.51 ^b	6.43±0.17 ^a
	Ferrulic acid	0.87±0.16 ^a	0.77±0.02 ^{ab}	0.64±0.05 ^c	0.69±0.02 ^b	0.74±0.12 ^{ab}	0.52±0.04 ^c
	PAEE*	5.80±1.97 ^b	2.94±0.72 ^c	2.04±0.24 ^c	2.07±0.17 ^c	2.63±0.16 ^c	10.34±0.9 ^a
Flavonols	Kaempferol	4.80±0.77 ^b	4.50±0.39 ^b	1.15±0.28 ^c	1.36±0.13 ^c	8.80±0.20 ^a	8.56±0.94 ^a
	Quercetin	9.78±3.03 ^a	5.65±0.22 ^b	1.10±0.48 ^c	1.28±0.2 ^c	11.33±1.56 ^a	9.80±1.02 ^a
Flavanols	(±)-Catechin**	79.04±3.62 ^a	69.74±3.62 ^b	27.54±1.85 ^d	31.33±1.81 ^d	46.84±1.12 ^c	42.51±3.08 ^c
	(-)-Epicatechin	28.53±6.47 ^{ab}	10.34±0.67 ^c	5.68±0.44 ^c	6.26±0.41 ^c	24.49±3.42 ^b	31.65±4.10 ^a
	(-)-Epicatechin gallate	136.93±3.96 ^a	139.60±3.91 ^a	109.64±1.60 ^b	96.42±4.77 ^c	92.37±1.67 ^c	81.89±2.73 ^d

^{a-c} The difference between the groups with the different letter in the same line is significantly important (P<0.05).

*PAEE: protocatechuic acid ethyl ester. **The sum of (-) and (+)-catechin was presented as (±)-Catechin level in the table. ±standard deviation

U1, U2, U3 and U4 are unknown 1, 2, 3 and 4, respectively.

Table 2. The correlation coefficients of different degradation orders and kinetic performance outputs
Çizelge 2. Farklı parçalanma derecelerinin korelasyon katsayıları ve kinetik performans çıktıları

Compounds	R^2				R^2_{adj}				$RMSE$				Reaction Rate constant* (L (mg day) ⁻¹)	ConfInt	$t_{1/2}$ (days)
	Zero	Half	First	Second	Zero	Half	First	Second	Zero	Half	First	Second			
PPO	0.9388	0.9576	0.9722	0.9857	0.9235	0.947	0.9652	0.9821	1.473	0.1476	0.05838	2.598x10⁻³	5.693 x10 ⁻⁴	1.90 x10 ⁻⁴	73
TP	0.8935	0.8967	0.8991	0.9018	0.8669	0.8708	0.8739	0.8773	24.37	0.4903	0.03965	6.584x10⁻⁵	0.54x10 ⁻⁵	4.82 x10 ⁻⁶	303
TMA	0.8868	0.9123	0.9351	0.9677	0.8585	0.8903	0.9188	0.9596	9.958	0.4248	0.07148	4.956x10⁻⁴	3.98x10 ⁻⁵	4.65 x10 ⁻⁵	99
Plg-3-glc	0.7783	0.7993	0.8198	0.8577	0.7229	0.7492	0.7747	0.8221	6.569	0.359	0.0785	9.412x10⁻⁴	6.09x10 ⁻⁵	6.89 x10 ⁻⁵	164
Plg-3-O-rut	0.9184	0.9326	0.9452	0.9652	0.8981	0.9158	0.9315	0.9566	0.815	0.08969	0.03928	1.868x10⁻³	2.60x10 ⁻⁴	1.37 x10 ⁻⁴	183
(-)-Epicatechin gallate	0.7795	0.8036	0.8273	0.8714	0.7243	0.7545	0.7841	0.8392	12.61	0.5643	0.101	8.079x10⁻⁴	5.55 x10 ⁻⁵	5.92 x10 ⁻⁵	132

PPO: polyphenoloxidase residual activity, TP: Total phenolic content, TMA: Total monomeric anthocyanin, plg-3-glc: Pelargonidin-3-glucoside, plg-3-O-rut: Pelargonidin-3-*O*-rutinoside, R^2 : correlation coefficient, R^2_{adj} adjusted coefficients of determination, $RMSE$: root-mean-square-error

$t_{1/2}$: half-life; ConfInt: confidence interval was calculated with 95% of probability.

*The reaction rate constants and half-lives were determined according to best fitted kinetic model for each compound/quality parameter.

Therefore, changing behaviors of colorless phenolic compounds during storage in different foods can be investigated by analyzing quality parameters in shorter time intervals with further studies. The knowledge gained from this study could be useful for further shelf-life studies of strawberry nectar after thermosonication, evaluating the effect of storage on quality parameters, and revealing the relations between them.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank to Cukurova University (Project no: FYL-20178267) for financial supports, to Dr. Erdal AĞÇAM for his valuable help, and to Dr. Mehmet Ali SARIDAŞ for providing strawberries.

Author contributions

The authors declare that they have contributed equally.

Conflict of interest statement

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- Abdullakassim P, Songchitsomboon S, Techagumpuch M, Balee N, Swatsitang P, Sungpuag P 2009. Antioxidant capacity, total phenolics and sugar content of selected Thai health beverages. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 58(1): 77–85.
- Abid M, Jabbar S, Wu T, Hashim MM, Hu B, Lei S, Zeng X 2014. Sonication enhances polyphenolic compounds, sugars, carotenoids and mineral elements of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry* 21(1): 93–97.
- Adekunte AO, Tiwari BK, Cullen PJ, Scannell AGM, O'Donnell CP 2010. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry* 122(3): 500–507.
- Ağcam E, Akyıldız A, Akdemir Evrendilek G 2014. Comparison of phenolic compounds of orange juice processed by pulsed electric fields (PEF) and conventional thermal pasteurisation. *Food Chemistry* 143:354–361.
- Ağçam E, Akyıldız A, Dündar B 2017. Thermal Pasteurization and Microbial Inactivation of Fruit Juices. In: Rajauria G and Tiwari BK (eds) *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis* Academic Press, 309-339 pp.
- Bhat R, Goh KM 2017. Sonication treatment convalesce the overall quality of hand-pressed strawberry juice. *Food Chemistry* 215: 470–476.
- Bhat R, Kamaruddin NSBC, Min-Tze L, Karim AA 2011. Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry* 18(6): 1295–1300.
- Buvé C, Kebede, BT, De Batselier C, Carrillo C, Pham HTT, Hendrickx, M, Grauwet T, Loey AV 2018. Kinetics of colour changes in pasteurised strawberry juice during storage. *Journal of Food Engineering* 216: 42–51.
- Carabasa-Giribet M, Ibarz-Ribas A 2000. Kinetics of colour development in aqueous glucose systems at high temperatures. *Journal of Food Engineering* 44(3): 181-189.
- Chakraborty S, Baier D, Knorr D, Mishra HN 2015. High pressure inactivation of polygalacturonase, pectinmethylesterase and polyphenoloxidase in strawberry puree mixed with sugar. *Food and Bioprocess Technology* 95: 281–291.
- Del Pozo-Insfran D, Brenes CH, Talcott ST 2004. Phytochemical composition and pigment stability of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(6): 1539-1545.
- Dündar B, Ağçam E, Akyıldız A 2019. Optimization of thermosonication conditions for cloudy strawberry nectar with using of critical quality parameters. *Food Chemistry* 276: 494-502.
- Eiro MJ, Heinonen M 2002. Anthocyanin color behavior and stability during storage: Effect of intermolecular copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(25): 7461-7466.
- Fernandez-Romero E, Chavez-Quintana SG, Siche R, Castro-Alayo EM, Cardenas-Toro FP 2020. The kinetics of total phenolic content and monomeric Flavan-3-ols during the roasting process of Criollo Cocoa. *Antioxidants* 9(2): 146.
- Giampieri F, Tulipani S, Alvarez-Suarez JM, Quiles JL, Mezzetti B, Battino M 2012. The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition* 28(1): 9-19.
- Giusti MM, Wrolstad RE 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry* (1): F1-2.
- Gökmen V, Acar J 1996. Rapid reversed-phase liquid chromatographic determination of patulin in apple juice. *Journal of Chromatography A* 730(1–2): 53–58.
- Jiang YM 1999. Purification and some properties of polyphenol oxidase of longan fruit. *Food Chemistry* 66(1): 75–79.
- Labuza TP 1984. Application of chemical kinetics to deterioration of foods. *Journal of Chemical Education* 61(4): 348.
- Lafarga T, Ruiz-Aguirre I, Abadias M, Viñas I, Bobo G and Aguiló-Aguayo I (2019) Effect of Thermosonication on the Bioaccessibility of Antioxidant Compounds and the Microbiological, Physicochemical, and Nutritional Quality of an Anthocyanin-Enriched Tomato Juice. *Food and Bioprocess Technology* 12(1): 147–157.
- Lee HS, Coates GA 1999. Vitamin C in frozen, fresh squeezed, unpasteurized, polyethylene-bottled

- orange juice: a storage study. *Food Chemistry* 65(2): 165-168.
- Lončarić A, Pablo Lamas J, Guerra E, Kopjar M, Lores M 2018. Thermal stability of catechin and epicatechin upon disaccharides addition. *International Journal of Food Science & Technology* 53(5): 1195-1202.
- Lukaski, HC 2004. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition*, 20(7-8): 632-644.
- Meydav S, Saguy I, Kopelman IJ 1977. Browning determination in citrus products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 25(3): 602-604.
- Muzaffar S, Ahmad M, Wani SM, Gani A, Baba WN, Shah U, Khan A, Masoodi FA, Gani A, Wani TA 2016. Ultrasound treatment: effect on physicochemical, microbial and antioxidant properties of cherry (*Prunus avium*). *Journal of food science and technology* 53(6): 2752-2759.
- Oliveira A, Almeida DP, Pintado M 2014. Changes in phenolic compounds during storage of pasteurized strawberry. *Food and bioprocess technology* 7(6): 1840-1846.
- Oliveira A, Gomes MH, Alexandre EM, Poças F, Almeida DP, Pintado M 2015. Phytochemicals preservation in strawberry as affected by pH modulation. *Food chemistry* 170: 74-83.
- Özkan M 2002. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. *Food Chemistry* 78(4): 499-504.
- Pacheco-Palencia LA, Hawken P, Talcott ST 2007. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. *Food Research International* 40(5): 620-628.
- Patras A, Brunton NP, O'Donnell C, Tiwari BK 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology* 21(1): 3-11.
- Rein M 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Retrieved on January 04, 2021 from: <https://pdfs.semanticscholar.org/39b5/0e7a118ade7e5553f50e243443b18f6aa728.pdf>
- Remini H, Mertz C, Belbahi A, Achir N, Dornier M and Madani K 2015. Degradation kinetic modelling of ascorbic acid and colour intensity in pasteurised blood orange juice during storage. *Food chemistry* 173: 665-673.
- Sulaiman A, Soo M J, Farid M and Silva FV 2015. Thermosonication for polyphenoloxidase inactivation in fruits: Modelling the ultrasound and thermal kinetics in pear, apple and strawberry purees at different temperatures. *Journal of Food Engineering* 165: 133-140.
- Sun J, Chu YF, Wu X and Liu RH 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of agricultural and food chemistry* 50(25): 7449-7454.
- Wang HY, Hu XS, Chen F, Wu JH, Zhang ZH, Liao XJ, Wang ZF 2006. Kinetic analysis of non-enzymatic browning in carrot juice concentrate during storage. *European Food Research and Technology* 223(2): 282-289. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0202-z>
- Wang WD, Xu SY 2007. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of food engineering* 82(3): 271-275.
- Wrolstad RE, Skrede G, Lea PER, Enersen G 1990. Influence of sugar on anthocyanin pigment stability in frozen strawberries *Journal of food science* 55(4): 1064-1065.
- Zheng Y, Wang SY, Wang CY, Zheng W 2007. Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. *LWT-Food Science and Technology* 40(1): 49-57.

İşleme ve Isıl İşlem Sürecinde Karadut (*Morus nigra*) Suyunun Antimikrobiyal Aktivitesi, Fizikokimyasal Özellikleri ve Organik Asit Dağılımında Meydana Gelen Değişimler

Buket AŞKIN¹, Şeref TAĞI², Erdoğan KÜÇÜKÖNER³

¹Kırklareli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, KIRKLARELİ, ²Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ANKARA, ³Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, ISPARTA

¹ <https://orcid.org/0000-0001-7896-457X>, ² <https://orcid.org/0000-0003-0556-9952>, ³ <https://orcid.org/0000-0001-9259-4800>

✉: buketaskin@klu.edu.tr

ÖZET

Çalışmanın amacı, tedavi edici özelliklere sahip olduğu bilinen karadutun meyve suyuna işlenmesi sırasında ve uygulanan ısıl işlemler ile bileşiminde ve antimikrobiyal özelliklerinde meydana gelen değişimin belirlenmesidir. Çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiş olup, kuyu difüzyon yöntemi ile örneklerin antifungal ve antibakteriyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Karadut sularında antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla; filamentsiz mikrofunguslardan *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida lipolytica* (Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu, AÜGMKK), *Candida parapsilosis* (Refik Saydam Kültür Koleksiyonu, RSSK 03025, Lozan 994), *Candida krusei* (RSSK 610) ve *Saccharomyces cerevisiae* (AÜGMKK) test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Funguslara ilave olarak Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ve Gram negatif bakterilerden ise *Escherichia coli* (AÜGMKK) karadut suyu örneklerinin antibakteriyal aktivitesinin test edilmesi amacıyla kullanılmıştır. Çalışmanın ikinci bölümünde ise, karadut suyunun 70 °C'de 9 saat, 80 °C'de 7.5 saat ve 90 °C'de 5 saat süre ile ısıtılması esnasında antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Hem ısıtılmış hem de berraklaştırılmış karadut suyu örneklerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. İşlem görmemiş karadut suyunun *S. aureus*'a karşı zon çapı 12.68±0.69 mm olarak tespit edilirken, berraklaştırılmış karadut suyu için ise 13.92±1.11 mm olarak belirlenmiştir. Pastörizasyon işlemi *Staphylococcus aureus*'a karşı işlem görmemiş meyve suyunda antibakteriyal etkiyi arttırmış (13.67±0.41 mm), berraklaştırılmış meyve suyunda ise kısmen daha düşük tespit edilmiştir (12.78±1.00 mm). Yalnızca berraklaştırılmamış karadut suyu örnekleri *Escherichia coli*'ye karşı etki göstermiştir (12.32±0.67 mm). Ayrıca, karadut suyunun berraklaştırma ve ısıtma sırasında hiçbir mikroorganizma türüne karşı antifungal aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada yapılan varyans analizi sonuçları titrasyon asitliği üzerine durultma ve pastörizasyon işlemlerinin, pH üzerine ise pastörizasyon işleminin etkili olduğunu göstermiştir (P<0.01).

Gıda Bilimi

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 14.08.2021

Kabul Tarihi : 14.10.2021

Anahtar Kelimeler

Antimikrobiyal
Antosiyenin
Berraklaştırma
Morus nigra
Organik Asitler

Antimicrobial Activity, Physicochemical Properties and Organic Acid Composition of Black Mulberry (*Morus nigra*) Juice During Processing and Heating

ABSTRACT

The aim of the study is to determine the changes in the composition and antimicrobial properties of black mulberry, which is known to have therapeutic properties, during the processing of fruit juice and with heat treatments. The study was carried out in two parts, and it was aimed to determine the antifungal and antibacterial activity of the samples by agar well diffusion method. In order to determine the antimicrobial activity in black mulberry juices; *Candida albicans*

Food Science

Research Article

Article History

Received : 14.08.2021

Accepted : 14.10.2021

(ATCC 10231), *Candida lipolytica* (Ankara University, Food Engineering Department Culture Collection, AUGMCK), *Candida parapsilosis* (Refik Saydam Culture Collection, RSSK 03025, Lausanne 994), *Candida krusei* (RSSK 610), and *Saccharomyces cerevisia* (AUGMCK) were used as test microorganisms from filamentless microfungi. In addition to fungi, *Staphylococcus aureus* from Gram-positive bacteria and *Escherichia coli* (AUGMCK) from Gram-negative bacteria were used to test the antibacterial activity of black mulberry juice samples. In the second part of study, it was aimed to determine antifungal and antibacterial activity of black mulberry juice during heating at 70 °C for 9 h, 80 °C for 7.5 h and 90 °C for 5 h. While the zone diameter of untreated black mulberry juice against *S. aureus* was determined as 12.68±0.69 mm, it was determined as 13.92±1.11 mm for clarified black mulberry juice. The antibacterial effect was increased by Pasteurization in untreated fruit juice against *Staphylococcus aureus* (13.67±0.41 mm), while it was found to be slightly lower in clarified fruit juice (12.78±1.00 mm). Only untreated black mulberry juice samples had antibacterial activity against *Escherichia coli* (12.32±0.67 mm). Besides, it was not determined antifungal activity against all microfungi during clarifying and heating. According to the variance analysis data, clarification and pasteurization processes were effective on titration acidity and only pasteurization process had effect on pH (P<0.01).

Keywords

Antimicrobial
Anthocyanin
Clarifying
Morus nigra
Organic Acids

Atıf Şekli: Aşkın B, Tağı Ş, Küçüköner E 2022. İşleme ve Isıl İşlem Sırasında Karadut (*Morus nigra*) Suyunun Antibakteriyel ve Antifungal Aktivitesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1414-1422. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.982718>

To Cite : Askin B, Taği Ş, Kucukoner E 2022. Antibacterial and Antifungal Activity of Black Mulberry (*Morus nigra*) Juice During Processing and Heating. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1414-1422. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.982718>

GİRİŞ

Son zamanlarda, fenolik bileşiklerce zengin olduğu bilinen karadut meyvesine olan ilginin arttığı gözlenmektedir. Karadut, yoğun miktarda antosiyanin ve diğer fenolik maddeleri içermesi, buna bağlı olarak antioksidan ve antimikrobiyal aktivite göstermesi nedeniyle değeri giderek artan bir meyve olmuştur (Chen ve ark., 2006; Bae ve Suh, 2007). Karaduttan hazırlanan şurupların özellikle bademcik iltihaplarının giderilmesinde, ağız ve diş yaralarının iyileştirilmesinde ve özellikle de çocuklarda pamukçuk olarak bilinen ve *Candida* türü mayaların neden olduğu enfeksiyonların iyileştirilmesinde kullanıldığı birçok çalışmada bildirilmiştir (Baytop, 1999; Güneş ve Özhatay, 2000).

Karadutların fenolik bileşikler, antosiyanin, antioksidan ve potasyum kaynağınca zengin olmasının yanında, diğer önemli bir özelliği de antifungal ve antibakteriyel aktivite göstermesidir.

Bu çalışmada, özellikle ağız lezyonlarında etkili olan karadutun antimikrobiyal aktivitesine durultma, pastörizasyon ve farklı sürelerde uygulanan farklı sıcaklık derecelerinin etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, karadut sularının farklı sıcaklık derecelerinde ısıtılması süresince bazı fiziko-kimyasal özellikleri, organik asit dağılımları ve toplam organik asit miktarları belirlenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Araştırmada materyal olarak kullanılan karadutlar (*Morus nigra*), İzmir (Tire) Cambazlı Köy Kooperatifinden temin edilmiştir.

Karadutun Meyve Suyuna İşlenmesi, Depektinizasyonu, Durultulması ve Pastörize Edilmesi

Karadutlar, temin edildiği yerde bir gün önce şoklanarak dondurulmuş, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi "Meyve Suyu Pilot İşletmesine" getirilmiştir. Paketli pres yardımı ile, karadutlar preslenmiş (Bucher-Guyer, Niederweningen, Switzerland) ve karadut ham suyu (işlem görmemiş karadut suyu) %58 randıman ile elde edilmiştir. Durultma işlemi için ön denemeler ile belirlenen dozajlarda enzim ve durultma yardımcı maddeleri karadut suyuna eklenmiş ve tüm aşamalarda örnek alınmıştır. Bu örneklerde; türbidimetre ile bulanıklık değerleri (NTU) ölçülerek maksimum berraklığı sağlayan durultma yardımcı maddeleri dozajı belirlenmiştir. Depektinizasyon için ticari pektolitik enzim preparatından "Amilaz AG" ve "Novaferm 61" (Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark) kullanılmıştır. Ardından depektinize edilen karadut suyu; belirlenen uygun dozajlarda, bentonit, jelatin ve kizelsol kullanılarak berraklaştırılmıştır. İşlem

görmemiş karadut suyu ve durultulmuş karadut suyu örneklerinden belirli bir miktar alınarak 95 °C'de 5 dak. süre ile su banyosunda (WB 14, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Germany) pastörize edilmiştir.

Karadut Sularının Farklı Sıcaklıklarda Isıtılması

Durultulmuş karadut suları 70 °C, 80 °C ve 90 °C'lerde, farklı sürelerle (sırasıyla 9 saat, 7 saat ve 5 saat) ısıtılmıştır. Bu amaçla, ısıya dayanıklı ve ağız kapalı cam tüpler kullanılmıştır. Tüpler belirlenen sıcaklıklara ayarlanmış su banyosu (Memmert, Schwabach, Almanya) içerisine yerleştirilmiştir. Tüp içerisindeki örneğin sıcaklığı termometre ile izlenerek istenilen sıcaklığa eriştiği süre "gecikme periyodu (lag periodu)" olarak tanımlanmış ve bu lag periodundan sonraki süre "sıfır süresi" olarak kabul edilmiştir. Belirlenen her sürede örnek alınmış ve buz içerisinde soğutulmuş, oda sıcaklığına getirildikten sonra belirlenen analizler gerçekleştirilmiştir.

Kimyasallar

Mikroorganizmaların aktifleştirilmesi ve antimikrobiyal aktivite ölçümlerinde; *E. coli* ve *S. aureus* için Tryptic Soy Broth (TSB) ve Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck Co., Darmstadt, Almanya) besiyerleri, *C. albicans*, *C. lipolytica*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei* için ise Sabouraud %2 Dextrose Broth (SDB) ve Sabouraud %2 Dextrose Agar (SDA) (Merck Co., Darmstadt, Almanya) besiyerleri kullanılmıştır. Organik asitlerin ekstraksiyonunda ve saflaştırılmasında kullanılan tüm solventler HPLC saflığında (HPLC grade) olup, Merck firmasından temin edilmiştir.

Metot

Fizikokimyasal analizler

pH değeri, potansiyometrik olarak pH metre (HANNA HI 221, Woonsocket, A.B.D.) ile saptanmıştır (Cemeroğlu ve ark., 2010). Çalışmada, örneklerin suda çözünür kuru madde (briks, °Bx) değerleri dijital bir refraktometre (Atago Rx-7000α, Tokyo, Japonya) kullanılarak saptanmıştır. Durultulmuş karadut suyu örneklerinin bulanıklık düzeyi, türbidimetre (HACH 2100N, Loveland, A.B.D.) yardımıyla belirlenmiştir. Bulanıklık düzeyi "NTU (Nephelometric Turbidity Unit)" değeri ile ifade edilmiştir. Titrasyon asitliği, pH ile izlenerek yürütülen titrasyonla saptanmış ve bu amaçla IFU tarafından (Anonymous, 1968) önerilen işlemler uygulanmıştır.

Organik asit dağılımlarının belirlenmesi

Bu amaçla Chinnici ve ark. (2005) tarafından önerilen yöntem kullanılmıştır. Organik asitlerin tanımlanması ve miktarlarının hesaplanmasında "Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi" cihazından

(HPLC, Agilent 1200 serisi, Waldbronn, Almanya) yararlanılmıştır. Organik asitleri içeren elüat Sep-Pak C18 kartuştan geçirilerek fenolik bileşikler uzaklaştırılmıştır. Bu amaçla, önce C-18 Sep-Pak kolonundaki dolgu maddesinin şartlandırma işlemi yapılmıştır. Şartlandırma işlemini takiben, organik asitleri içeren elüatlar Sep-Pak C18 (Waters Co., Milford, MA, USA) kartuşlarına yüklenerek, fenolik maddelerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Daha sonra elüatlar, 0.22 µm PVDF filtreden (Sartorius AG, Goettingen, Germany) filtre edilerek HPLC cihazına yüklenmiştir.

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Karadut sularında antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla; filamentsiz mikrofunguslardan *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida lipolytica* (Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu, AÜGMKK), *Candida parapsilosis* (Refik Saydam Kültür Koleksiyonu, RSSK 03025, Lozan 994), *Candida krusei* (RSSK 610) ve *Saccharomyces cerevisiae* (AÜGMKK) test mikroorganizmaları olarak kullanılmıştır. Funguslara ilave olarak Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ve Gram negatif bakterilerden ise *Escherichia coli* (AÜGMKK) den hazırlanan kültürler karadut suyu örneklerinin antibakteriyal aktivitesinin test edilmesi amacıyla kullanılmıştır. Örneklerle ait antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için öncelikle test mikroorganizmaları ve bunlardan standardize edilen inokulumları hazırlanmıştır. Karadut sularının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla *Candida* türleri ve *S. cerevisiae* SDB, ve *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri TSB besiyerlerinde 35 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Geliştirilen kültürlerden mayalar için yaklaşık 1×10^6 adet mL^{-1} maya hücresi ve bakteriler için 1×10^8 kob mL^{-1} bakteri içeren standart inokulum hazırlanmıştır. Analiz öncesinde yapılan ön denemelerde standart inokulumda elde edilen maya süspansiyonundaki hücre sayısı Thoma lamı kullanılarak iki paralelli olarak saptanmıştır. Toplam bakteri sayısını doğrulamak amacıyla %0.1 (w/v) peptonlu su kullanılarak ardışık seyreltmeler yapılmış, uygun seyreltilerden TSA besiyerine yayma yöntemiyle ekim yapılarak 35 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiş ve oluşan koloniler sayılarak toplam bakteri sayısı hesaplanmıştır.

İkinci aşama olarak ise, karadut suyu örneklerinde antifungal ve antibakteriyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla Lenette (1985) tarafından önerilen "kuyu difüzyon veya agar cup yöntemi" kullanılmıştır (Alanis ve ark., 2005). Bu amaçla 100 mL hacimli vidalı kapaklı cam şişelerde 25 mL hacimde hazırlanan mayalar için SDA besiyeri ve bakteriler için TSA besiyeri otoklavlanmıştır (121 °C, 15 dak.). Otoklavlanan besiyerleri su banyosunda 42-45 °C

sıcaklıkta iken, her birine hazırlanan standart maya-bakteri inokulumundan 0.25 mL ilave edilmiştir ve 11 cm çaplı petrilere aktarılmıştır. Besiyerinin katılaşmasını takiben besiyerinde kuyucuklar açılmış ve her bir kuyucuğa karadut suyu örneklerinden 100 µL aktarılmıştır. Çalışmada örnek kontrolü olarak dut suyuyla aynı briks ve pH değerine sahip glukoz ve sitrik asit çözeltileri kullanılmıştır. Daha sonra ekim yapılan besiyerleri 35 °C'de 20-24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda, bakterilerin inhibe edildiği inhibisyon zonlarının çapı bir kumpas (Scienceware Bel-Art product, USA) yardımıyla ölçülmüş ve sonuçlar "mm" olarak verilmiştir.

İstatistik Analizler

Karadut suyu örnekleri için tüm veriler üç paralelli faktöriyel düzende varyans analiz tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Antimikrobiyal aktivite ölçümlerinde zon çapları ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Elde edilen tüm veriler istatistiksel olarak IBM SPSS versiyon 17.0 istatistik programı ile kıyaslanmıştır.

Çizelge 1. Karadut suyunun farklı üretim aşamalarındaki briks, NTU, pH ve titrasyon asitliği değerleri
Table 1. Values of brix, NTU, pH and titratable acidity for different steps of black mulberry juice processing

Örnek Sample	Briks Brix	NTU NTU	pH pH	Titrasyon Asitliği* Titratable Acidity
Pastörize edilmemiş (Unpasteurized)				
İşlem görmemiş karadut suyu	17.43±0.015	–	3.42±0.005	1.17±0.0125
Depektinize edilmiş	17.55±0.275	38.38±0.025	3.42±0.005	1.16±0.0154
Depektinize edilmiş, bentonit uygulanmış	17.42±0.020	19.35±0.05	3.41±0.005	1.13±0.0064
Durultulmuş (bentonit, jelatin ve kizelsol)	19.22±0.005	04.90±0.01	3.42±0.000	1.12±0.008
Pastörize edilmiş (Pasteurized)				
İşlem görmemiş karadut suyu	16.80±0.045	–	3.45±0.005	1.14±0.0016
Durultulmuş (bentonit, jelatin ve kizelsol)	17.08±0.005	17.05±0.05	3.45±0.005	1.10±0.0016

*: Susuz sitrik asit cinsinden (g 100 mL⁻¹)

*: As anhydrous citric acid (g 100 mL⁻¹)

Çizelge 2. Karadut sularının titrasyon asitliği değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi
Table 2. Variance analysis table for titration acidity values of black mulberry juices

Varyasyon kaynağı Source of Variation	Serbestlik derecesi Degree of Freedom	Kareler toplamı Sum of Squares	Kareler ortalaması Mean of Squares	F	P
Durultma	1	0.007	0.007	121.15	0.000*
Pastörizasyon	1	0.002	0.002	32.32	0.000*
Durultma x pastörizasyon	1	1.474E-5	1.474E-5	0.26	0.624
Hata	8	0.000	5.686E-5		
Genel toplam	12	0.009			

*: P<0.01

BULGULAR ve TARTIŞMA

Karadut Sularının Briks, Bulanıklık, pH ve Titrasyon Asitliğindeki Değişimler Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi

Durultma ve pastörizasyon uygulanmış ve uygulanmamış karadut sularında pH, briks ve titrasyon asitliği gibi bazı nitelikler belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 1.'de verilmiştir. Depektinizasyon işleminin, karadut sularının briks, pH ve titrasyon asitliği değerleri üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (P>0.01).

Durultma ve pastörizasyon aşamaları sonrasında, karadut sularının titrasyon asitliği değerleri için yapılan varyans analizi sonuçları (Çizelge 2), "durultma x pastörizasyon" ikili interaksyonunun istatistiksel olarak önemli olmadığını, ancak durultma ve pastörizasyon işlemlerinin titrasyon asitliği üzerine etkili olduğunu göstermiştir (P<0.01).

Karadut sularının pH değerleri için yapılan varyans analizi (Çizelge 3) ise, "durultma x pastörizasyon" ikili interaksiyonunun istatistik olarak önemli olmadığını, yalnızca pastörizasyon işleminin pH üzerine etkili olduğunu göstermiştir (P<0.01).

Karadut Sularının Organik Asit Dağılımı Üzerine Durultma ve Pastörizasyon İşlemlerinin Etkisi

Karadut sularında; durultma aşamalarında ve

pastörizasyon işleminden önce ve sonra organik asit dağılımları (TOA) ile toplam organik asit miktarları belirlenmiştir (Çizelge 4). Çalışmada başat organik asitlerin sitrik asit (SA) ve malik asit (MA) olduğu tespit edilmiştir. Görüldüğü üzere, karadut sularına ait organik asit miktarı proses esnasında azalma göstermiştir. Pastörizasyon sonrasında ise, durultulmuş karadut suyunun organik asit miktarında ise sınırlı seviyede artış gözlenmiştir.

Çizelge 3. Karadut sularının pH değerlerine ilişkin varyans analiz çizelgesi

Table 3. Variance analysis table for the pH values of black mulberry juices

Varyasyon kaynağı Source of Variation	Serbestlik derecesi Degree of Freedom	Kareler toplamı Sum of Squares	Kareler ortalaması Mean of Squares	F	P
Durultma	1	0.00009	0.00009	2.000	0.000*
Pastörizasyon	1	0.0003	0.0003	162.000	0.195
Durultma x pastörizasyon	1	0.000	0.000	0.000	1.000
Hata	8	0.000	0.000036		
Genel toplam	12	0.00039			

*: P<0.01

Çizelge 4. Karadut suyunun farklı üretim aşamalarındaki organik asit değerleri

Table 4. Organic acid values of black mulberry juice at different production steps

Karadut suyu (Blackmulberry Juice)	1	2	3	4	5	TO*
İşlem görmemiş karadut suyu	6688	1912	836	977	688	10897
Depektinize edilmiş	6426	1892	847	913	726	10606
Bentonit uygulanmış	5729	1648	781	987	689	9709
Durultulmuş	5642	1641	800	912	686	9558
Durultulmuş ve pastörize edilmiş	6430	1889	862	692	1007	10684

*: Toplam organik asit, susuz sitrik asit cinsinden (g 100 mL⁻¹)

1: Sitrik asit 2: Malik asit 3, 4 ve 5: Tanımlanamayan pikler

Karadut Sularının Farklı Sıcaklıklarda Isıtılması Süresince Briks, Bulanıklık, pH ve Titrasyon Asitliğindeki Değişimler

Karadut sularının farklı sıcaklıklarda ısıtılması süresince; briks, pH, bulanıklık ve titrasyon asitliğindeki değişimler Çizelge 5.'de sunulmuştur. Briks değerlerinde, 70 ve 80 °C'de ısıtma sonunda farklılıklar saptanmamış; buna karşın, 90 °C'de ısıtılan karadut sularının briks değerlerinde belirgin

artışlar saptanmıştır. Bulanıklık değerleri ise, ısıtma sıcaklık ve süresine bağlı olarak artmıştır. Farklı sıcaklıklarda ısıtma sonunda, karadut sularının pH değerlerinde önemli bir değişim saptanmamıştır. Titrasyon asitliği değerlerinde ise, 70 ve 80 °C'de ısıtma sonunda farklılıklar saptanmamış; buna karşın, 90 °C'de ısıtılan karadut sularının titrasyon asitliği değerlerinde belirgin azalışlar saptanmıştır.

Çizelge 5. Farklı sıcaklıklarda ısıtılan karadut sularının genel bileşim özellikleri

Table 5. General composition properties of Blackmulberry juices heated at different temperatures

Sıcaklık (°C) Temperature (°C)	Süre (Saat) Period (h)	Briks Brix	NTU NTU	pH pH	Titrasyon asitliği* Titratable acidity*
70	0	17.34	17.5	3.42	2.26
	9	17.65	23.7	3.48	2.31
80	0	18.95	27.8	3.42	2.27
	7	16.95	–	3.45	2.19
90	0	14.90	27.90	3.45	2.43
	5	17.20	–	3.45	2.13

*: Susuz sitrik asit cinsinden (g 100 mL⁻¹)

*: As anhydrous citric acid (g 100 mL⁻¹)

Karadut Sularının Farklı Sıcaklıklarda Isıtılması Süresince Organik Asit Dağılımındaki Değişimler

Karadut sularının farklı sıcaklıklarda ısıtılması süresince; briks, pH, bulanıklık ve titrasyon asitliğindeki değişimler Çizelge 5.'de sunulmuştur.

Karadut sularında; farklı sıcaklık derecelerinde

ısıtılması süresince organik asit dağılımları ile toplam organik asit miktarları belirlenmiştir (Çizelge 6). Elde edilen sonuçlar 70 ve 80 °C'lerde organik asit miktarında önemli bir değişim olmadığını gösterirken, 90 °C'de ise sınırlı seviyede bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 6. Karadut sularının farklı sıcaklıklarda ısıtılması süresince organik asit dağılımındaki değişimler
Table 6. Changes in organic acid composition during Blackmulberry juices heating at different temperatures

Depolama sıcaklık ve süresi Storage temperature and period	1	2	3	4	5	TO*
70 °C (0 dak.)	6105±202	1760±23	826±26	882±86	688±62	10102±101
70 °C (8 saat)	5986±189	1732±14	812±84	985±24	726±84	10091±147
80 °C (0 dak.)	7294±211	2125±64	899±32	969±42	689±44	11711±143
80 °C (7 saat)	6716±145	1830±46	837±46	895±36	674±64	10773±122
90 °C (0 dak.)	7629±162	2118±29	941±69	700±63	1106±63	12231±134
90 °C (5 saat)	6500±177	2030±33	826±53	1015±95	1219±96	11351±117

*: Toplam organik asit, susuz sitrik asit cinsinden (g 100 mL⁻¹)

1: Sitrik asit 2: Malik asit 3, 4 ve 5: Tanımlanamayan pikler

*: Total organic acid, As anhydrous citric acid (g 100 mL⁻¹)

1: Citric acid 2: Malic acid 3, 4 ve 5: Unidentified peaks

Karadut Suyu Örneklerinin Mikroorganizmalara Karşı Antimikrobiyal Aktivitesi

İşlem görmemiş karadut suyu, durultulmuş karadut suyu ve pastörizasyon işlemi uygulanmış karadut suyu örneklerinin antimikrobiyal aktivite değerleri Çizelge 7'de verilmiştir. Karadut suyu örneklerinin *S. cerevisiae* ve *Candida* türlerine karşı herhangi bir antimikrobiyal etkisi belirlenmemiştir. Test edilen bakterilerden *S. aureus*'a karşı tüm örnekler antimikrobiyal etki gösterirken, *E. coli*'ye karşı sadece işlem görmemiş karadut suyunun antimikrobiyal etkisi olduğu saptanmıştır. *S. aureus* için inhibisyon zonları karşılaştırıldığında, karadut sularının antimikrobiyal etkisinin genel olarak birbirine yakın değerlerde olduğu, durultulmuş karadut suyunun antimikrobiyal etkisinin işlem görmemiş karadut suyundan biraz daha fazla olduğu görülmektedir. Pastörizasyon sonrasında ise; işlem görmemiş karadut suyunun antimikrobiyal etkisi biraz artarken, durultulmuş karadut suyunun azaldığı saptanmıştır. Ayrıca antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde kontrol olarak kullanılan, steril glukoz ve sitrik asit çözeltilerinin test mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir antimikrobiyal etkisi saptanmamıştır. Çizelge 8.'de ise, ısıl stabilite deneyleri başlangıç ve sonrasında karadut suyu örneklerinin antimikrobiyal aktivite değerleri verilmiştir. Elde edilen veriler ile, karadut suyu örneklerinin yine *S. cerevisiae* ve *Candida* türü mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite

göstermediği saptanmıştır. Örneklerin, ısıtma sürecinin sıfır anında ve sonrasında, *S. aureus* bakterisine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. *E. coli*'ye karşı gösterilen antimikrobiyal aktivite incelendiğinde ise; sıfır anında örneklerin herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermediği, ancak ısıtma sonunda antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Karşılaşılan bu sonucun farklı sebepleri olabileceği düşünülmektedir.

Literatürde yer alan çalışmalarda genellikle karadut meyvesinden elde edilen farklı ekstraktların, çeşitli *Candida* türleri üzerine antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır ve birçok çalışmada elde edilen ekstraktların antifungal ve güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır (Barron ve İbrahim, 1996; Du ve ark., 2003; Park ve ark., 2003; Sohn ve ark., 2004; Fang ve ark., 2005; Fukai ve ark., 2005). Birçok çalışmada karadutun *Candida* türü mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesi belirlenmesine karşın, yapılan çalışmada ise seçilmiş olan *Candida* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite belirlenmemiştir. Bu durumun karadut meyvesinin fenolik dağılımındaki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Chen ve ark., 2006; Ercisli ve Orhan, 2008; Pawlowska ve ark., 2008). Aly ve ark. (2019) ise bu çalışma ile benzer sonuçları vurgulamıştır. Gram pozitif bakterilerden *S. aureus*'a yüksek ve Gram negatif bakterilerden ise *E. coli* orta düzeyde antimikrobiyal aktiviteye sahip

olduğu belirlenmiştir (Aly ve ark., 2019). Diğer bazı çalışmalarda ise karadutun ve karadut suyunun hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı

antibakteriyal aktiviteye sahip olduğu yer almıştır (Yiğit ve Yiğit, 2008; Khalid ve ark., 2011; Jiang ve ark., 2014).

Çizelge 7. Karadut sularının durultma ve pastörizasyon işlemleri sonrasında antimikrobiyal aktivite değerleri
Table 7. The antimicrobial activities of BMJ samples after finning and pasteurization

Mikroorganizma türü Type of Microorganism	İnhibisyon zon çapı (mm)* Inhibition zone diameter (mm)*			
	1	4	5p	6p
Filamentsiz mikrofungus Filamentless microfungi				
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-
<i>Candida lypolitica</i>	-	-	-	-
<i>Candida krusei</i>	-	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	-
Bakteri Bacteria				
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.68±0.69	13.92±1.11	13.67±0.41	12.78±1.00
<i>Escherichia coli</i>	14.32±0.67	-	-	-

* Zon çapı kuyucuk çapıyla birlikte verilmiştir. Ortalama değerler altı kuyucukta ölçülen zon çapının ortalamasıdır.

1: İşlem görmemiş karadut suyu, 4: Jelatin ve kizelsolle durultulmuş karadut suyu, 5p: Pastörize edilmiş işlem görmemiş karadut suyu, 6p: Durultulup, pastörize edilen karadut suyu

* The zone diameter is given together with the well diameter. The mean values are the mean of the zone diameter measured in six wells.

1: Unclarified blackmulberry juice, 4: Black mulberry juice clarified with gelatin and kizelsol, 5p: Unclarified and Pasteurized black mulberry juice, 6p: Clarified and pasteurized black mulberry juice.

Çizelge 8. Farklı sıcaklıklarda ısıtılan karadut sularının antimikrobiyal aktivite değerleri
Table 8. The antimicrobial activities of Blackmulberry juice samples heating at different temperatures

Mikroorganizma türü Type of microorganism	İnhibisyon zon çapı (mm)*					
	70 °C		80 °C		90 °C	
	Başlangıç Initial	Son Final	Başlangıç Initial	Son Final	Başlangıç Initial	Son Final
Filamentsiz mikrofungus Filamentless microfungi						
<i>C.albicans</i>	-	-	-	-	-	-
<i>C.lypolitica</i>	-	-	-	-	-	-
<i>C.krusei</i>	-	-	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>S.cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-
Bakteri Bacteria						
<i>S. aureus</i>	14.45±1.0	13.47±0.9	14.73±0.5	13.90±0.0	12.95±1.2	14.05±0.4
<i>E. coli</i>	-	13.80±0.5	-	12.68±0.4	-	14.43±0.2

* Zon çapı kuyucuk çapıyla birlikte verilmiştir. Ortalama değerler altı kuyucukta ölçülen zon çapının ortalamasıdır.

* The zone diameter is given together with the well diameter. The mean values are the mean of the zone diameter measured in six wells.

Farklı sıcaklıklarda farklı süreler ısıtılan örneklerin ise, yine *S. cerevisiae* ve *Candida* türü mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği saptanmıştır. Buna karşın, karadut sularının hem ısıtma başlangıcında hem de ısıtma sonunda, *S. aureus* bakterisine karşı antimikrobiyal

aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *E. coli*'ye karşı ise, ısıtma öncesi bir aktivite saptanamazken, ısıtma sonunda ise, aktivite saptanmıştır. Bu durumun ısıtma sırasında değişen organik asit kompozisyonundan kaynaklandığı sanılmaktadır. Literatürde ısıtma işlemi veya elektrik alan ile

pastörizasyon sonrasında, meyve suyunun organik asit kompozisyonunun değişebileceği, meyve suyunun yüksek organik asit içeriği ve düşük pH değerinin özellikle *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal etki gösterebileceği yer almaktadır (Raybaudi-Massilia ve ark., 2006; Mosqueda-Melgar ve ark., 2008). Eswaranandam ve ark. (2004), sitrik asitten daha küçük molekül ağırlığına sahip olan malik asidin uygulama sonrasında hücre dışına penetre olduğu ve düşük pH değeri ile mikrobiyal hücrelerin genetik materyalini inhibe ettiği belirtilmiştir. Çalışmada, ısıl stabilite deneyleri sonrasında karadut suyunun organik asit kompozisyonunda kısmen değişim meydana geldiği saptanmıştır. Bu durumun antimikrobiyal aktivite üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Literatürde, meyve suyu üretimi sırasında antosiyaninlerde kayıp meydana geldiği, meydana gelen bu kaybın polimerik renk değerlerinde ve Maillard reaksiyon ürünlerinde artışa neden olduğunu gösteren benzer çalışmalara rastlanmıştır (Ocha ve ark., 1999; Jiang ve ark., 2014).

Karadut meyvesi antioksidan, antikarsinojenik, antimutajenik ve laksatif etkiye sahip olan bir meyvedir. Gıda endüstrisinde karaduttan elde edilen karadut suyuna durultma işlemi ve raf ömrünün arttırılması için ısıl işlem uygulanır. Uygulanan bu işlemler karadut suyunun antioksidan aktivitesini etkilemezken, uçucu bileşen kompozisyonunda değişimlere neden olabilmektedir. Isıl işlemler ve üretim prosesi sonucunda oluşan Maillard reaksiyon ürünlerinin (özellikle meyve suyu üretiminde oluşan 5-HMF) antimikrobiyal ve antioksidatif etkiye sahip olduğu literatürde yer almaktadır (Burdurlu ve Karadeniz, 2003; Uzkuç ve ark., 2016).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak; karadut suyunun depektinize edilip; bentonit, jelatin ve kizelsol kullanılarak yeterli düzeyde durultulabileceği belirlenmiştir. Durultmada kullanılan bentonitin, karadut suyundaki organik asitler üzerine etkili olduğu ortaya konulmuştur. Bentonit uygulaması ile, organik asitlerdeki -OH grubunun, bentonitte yer alan ve yüzeyindeki -H bağlarına bağlı olan -SiO veya -AlO grupları ile birleşmesi organik asit konsantrasyonunun ve dolayısıyla titrasyon asitliğinin düşmesine neden olmaktadır.

Antimikrobiyal analizler sonucunda ise, tüm örneklerin çalışmada kullanılan filamentsiz funguslardan *Candida* türleri ve *Saccharomyces cerevisiae*'e karşı herhangi bir antifungal aktivite göstermediği belirlenmiştir. Antibakteriyel aktivite ölçümleri sonucunda ise, yalnızca karadut ham suyunun *Escherichia coli*'e karşı antibakteriyel etkisi saptanırken, *Staphylococcus aureus* için ise hemen tüm örneklerin antibakteriyel aktivite göstermiş

olduğu ancak proses aşamalarında önemli bir fark görülmediği belirlenmiştir.

Karadut suyu örneklerinin kullanılan 2 farklı bakteri türüne karşı belirli ölçüde antimikrobiyal etki gösterdiği göz önüne alınarak bundan sonra yapılacak çalışmalarda daha farklı ve daha fazla sayıda bakteri türlerine karşı antimikrobiyal etkisi test edilmelidir.

TEŞEKKÜR

TUBİTAK tarafından desteklen (Proje NO: 111R004) bu çalışma, Buket Aşkın'ın "Karadut Antosiyaninlerinin Isıl ve Depolama Stabilitesi" başlıklı doktora tezinden üretilmiştir. Yazarlar, Karadut temininde ki yardımlarından dolayı İzmir-Tire Köy Kooperatifine teşekkürü bir borç bilir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Çalışmaya ait veriler Dr. Buket Aşkın tarafından toplanmıştır. Çalışmaya ait laboratuvar analizleri ve istatistik analizler Dr. Buket Aşkın tarafından yapılmıştır. Laboratuvar analizlerinden antimikrobiyal aktivite yöntemi Dr. Şeref Tağı tarafından planlanmış ve desteklenmiştir. Makale metni, Dr. Buket Aşkın ve Prof.Dr. Erdoğan Küçüköner tarafından yazılmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Alanis AD, Glazada F, Cervantes JA, Tarres J, Ceballas GM 2005. Antibacterial Properties of Some Plants Used in Mexican Traditional Medicine for the Treatment of Gastrointestinal Disorders. *J Ethnopharmacol* 100(1-2): 153-157.
- Aly AA, Ali HGM, Eliwa NER 2019. Phytochemical screening, anthocyanins and antimicrobial activities in some berries fruits. *J Food Meas Charact* 13: 911-920.
- Anonymous 1968. IFU 1968. Analysen, Nr: 3. Internationale Fruchtsaft Union (IFU) Juris Verlag. Zurich, Schweiz.
- Bae SH, Suh HJ 2007. Antioxidant Activities of Five Different Mulberry Cultivars in Korea. *Food Sci Technol* 40(6): 955-962.
- Barron D, İbrahim RK 1996. Isoprenylated Flavonoids-A survey. *Phytochem* 43(5): 921-982.
- Baytop T 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi: Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Yayınları, 2. Baskı, İstanbul, 480sy.
- Burdurlu HS, Karadeniz F 2003. Effect of Storage on Nonenzymatic Browning of Apple Juice Concentrates. *Food Chem* 80: 91-97.
- Cemeroğlu C, Yemenicioğlu A, Özkan M 2010. Meyve

- ve Sebze İşleme Teknolojisi, Cilt 1, Bizim Büro Basımevi, Ankara, 174sy.
- Chen PN, Chu SC, Chipu HL, Kuo WH, Chiang CL, Hsieh YS 2006. Mulberry Anthocynins, Cynidin-3-rutinoside, Cynidin-3-glucoside, Exhibited an Inhibitory Effect on the Migration and Invasion of a Human Lung Cancer Cell Line. *Cancer Lett* 235(2): 248-259.
- Chinnici F, Spinabelli U, Riponi C, Amati A 2005. Optimization of the Determination of Organic Acids and Sugars in Fruit Juices by Ion-exclusion Liquid Chromatography. *J Food Composit Anal.* 18 (2-3): 121-130.
- Du J, He ZD, Jiang RW, Ye WC, Xu HX, But PPH 2003. Antiviral Flavonoids From Root Bark Of *Morus alba* L. *Phytochem* 62(8): 1235-1238.
- Ercisli S, Orhan E 2008. Some-Physicochemical Characteristics of Black Mulberry (*Morus nigra* L.) Genotypes from Northeast Anatolia Region of Turkey. *Sci Hort* 116(1): 41-46.
- Eswaranandam S, Hettiarachchy NS, Johnson MG 2004. Antimicrobial Activity Of Citric, Lactic, Malic, or Tartaric Acids and Nisinincorporated Soy Protein Film Against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella gaminara*. *J Food Sci* 69(3): 79-84.
- Fang SH, Hou YC, Chao PD 2005. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Interactions of Morin and Cyclosporin. *Toxicol Appl Pharm* 205(1): 65-70.
- Fukai K, Yokosuka O, Imazeki F, Tada M, Mikata R 2005. Methylation Status Of P14arf, P15ink4b And P16ink4a Genes in Human Hepatocellular Carcinoma. *Liver Int* 25(6): 1209-1216.
- Güneş F, Özhatay N 2000. Flora of Turkey and the East Aegean Island. In Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C. (ed) *Lathyrus*, Edinburgh at the university press, pp. 92-94.
- Jiang B, Mantri NN, Hu Y, Lu J, Jiang W, Lu H 2014. Evaluation of bioactive compounds of black mulberry juice after thermal, microwave, ultrasonic processing, and storage at different temperatures. *Food Science and Technology International* 21(5): 392-399.
- Khalid N, Fawad SA, Ahmed I 2014. Antimicrobial Activity, Phytochemical Profile and Trace Minerals of Black Mulberry (*Morus Nigra* L.) Fresh Juice. *Pak. J. Bot.* 43: 91-96.
- Mosqueda-Melgar J, Raybaudi-Massilia RM, Martín-Belloso O 2008. Combination Of High-Intensity Pulsed Electric Fields with Natural Antimicrobials to Inactivate Pathogenic Microorganisms and Extend the Shelf-Life of Melon and Watermelon Juices. *Food Microbiol* 25(3): 479-491.
- Park KM, You JS, Lee HY, Baek NI, Hwang JK 2003. Kuwanon G: An Antibacterial Agent from the Root Bark of *Morus alba* Againts Oral Pathogens. *J Ethnopharmacol* 84(2-3): 181-185.
- Pawlowska AM, Oleszek W, Braca A 2008. Qualitative Analyses of Flavonoids of *Morus nigra* L. and *Morus alba* L. (*Moraceae*) Fruits. *J Agric Food Chem* 56(9): 3377-3380.
- Raybaudi-Massilia RM, Mosqueda-Melgar J, Martín-Belloso O 2006. Inactivation of *E. coli* O157:H7, *S. enteritidis* and *L. monocytogenes* by Combining of High-intensity Pulsed Electric Fields and Malic Acid in Apple Juice. Workshop on Applications of Novel Technologies in Food and Biotechnology, 11-13, September, Ireland, p: 32.
- Sohn HY, Son KH, Kwon CS, Kwon GS, Kong SS 2004. Antimicrobial and Cytotoxic Activity of 18 Prenylated Flavonoids Isolated from Medicinal Plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* (L) Vent. *Saphora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* nakai. *Phytomed* 11 (7-8): 666-672.
- SPSS 2010. IBM SPSS Statistics 17.0 for Windows. Armonk, NY.
- Uzkuç H, Marangoz Fİ, Karagül Yüceer Y, Toklucu AK 2016. Karadut Suyu Uçucu Bileşenleri Üzerine Isıl İşlemin Etkisi. *Türkiye 12. Gıda Kongresi 05-07 Ekim, Edirne.*
- Yiğit D, Yiğit N 2014. Antibacterial Activity of Black Mulberry (*Morus Nigra*) Fruits and Leaves. *EÜFBED* 1-1: 40-47.

Meat Consumption and Sustainability in Turkey

Hulya YILMAZ-ONAL^{1*}, Aysun YUKSEL², Ayhan PARMAKSIZ³, Idil ALPAT⁴

¹Istanbul Medeniyet University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, 34862 Istanbul, Türkiye, ²University of Health Sciences, Hamidiye Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, 34668 Istanbul, Türkiye, ³Istanbul Health and Technology University, Faculty of Medicine, Department of Biostatistics, 34025 Istanbul, Türkiye, ⁴Istanbul Medipol University, Faculty of Health Sciences, Department of Nutrition and Dietetics, 34815 Istanbul, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-8424-2661>, ²<https://orcid.org/0000-0002-6580-0207>, ³<https://orcid.org/0000-0002-0335-2330>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-0388-1267>

✉: hulya.onal@medeniyet.edu.tr

ABSTRACT

This study was carried out to determine the amount of meat consumption by adult individuals and its affecting factors in Turkey and to evaluate them within the framework of sustainable nutrition and climate change. The study was completed with 613 adult individuals between 1-31 March 2021. It was determined that the average red meat consumption was per capita 49.34±53.73 g/day. Those with an income of more than 15000 Turkish lira consumed 45.95 g more red meat than those with an income of less than 3000 Turkish lira. "Taste" was the most commonly cited reason for consuming red meat. While 60.8% of the participants reported that they would reduce their red meat consumption for environmental health, 76.7% of them stated that they would not consume artificially produced red meat. In this study, it was determined that women consumed less meat group foods than men and participants with lower incomes consumed less than those with higher incomes. The amount of red meat consumption was found to be about half of the global average. More studies are required to evaluate the effect of nutrition style on climate change in Turkey.

Food Science

Research Article

Article History

Received : 07.09.2021

Accepted : 22.10.2021

Keywords

Sustainable nutrition
Meat consumption
Environmental health
Climate change
Animal welfare

Türkiye’de Et Tüketimi ve Sürdürülebilirlik

ÖZET

Bu çalışma, Türkiye’de yetişkin bireylerin et tüketim miktarını ve etkileyen faktörleri belirlemek ve sonuçları sürdürülebilir beslenme ve iklim değişikliği çerçevesinde değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Çalışma verileri 1-31 Mart 2021 tarihlerinde 613 yetişkin bireyden toplanmıştır. Çalışmada kırmızı et tüketiminin ortalama kişi başı 49,34±53,73 g/gün olduğu belirlenmiştir. Geliri 15000 TL üstü olanların, geliri 3000 TL altı olanlara göre 45.95 g daha fazla kırmızı et tükettiği belirlenmiştir. Kırmızı et tüketme nedeni olarak "lezzet" en çok belirtilendir. Katılımcıların %60,8'i çevre sağlığı için kırmızı et tüketimini azaltabileceğini bildirirken, %76,7'si yapay olarak üretilmiş kırmızı eti tüketmeyeceğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada kadınların erkeklerden, düşük gelirli olanların da yüksek gelirli olanlardan daha az miktarda et grubu besinleri tükettiği belirlenmiştir. Kırmızı et tüketim miktarı küresel ortalamanın yaklaşık yarısı kadar bulunmuştur. Türkiye’de beslenme tarzının iklim değişikliğine etkisini değerlendirecek daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Gıda Bilimi

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 07.09.2021

Kabul Tarihi : 22.10.2021

Anahtar Kelimeler

Sürdürülebilir beslenme
Et tüketimi
Çevre sağlığı
İklim değişikliği
Hayvan refahı

To Cite : Yılmaz-Onal H, Yuksel A, Parmaksiz A, Alpat I 2022. Meat Consumption and Sustainability in Turkey. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1423-1433. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.992371>

Atıf Şekli: Yılmaz-Onal H, Yuksel A, Parmaksiz A, Alpat I 2022. Türkiye’de Et Tüketimi ve Sürdürülebilirlik. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1423-1433. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.992371>

INTRODUCTION

It is possible for a society to lead a healthy life and

improve its economic and social welfare with sufficient and balanced nutrition (Karacan, 2017). Meat and meat products are vital to sufficient and

balanced nutrition (Dogan, 2019). Red meat is a good source of protein with high biological value and high levels of essential amino acids. It is also the main source of intake of iron, zinc minerals, and vitamin B12 (Mann and Truswell, 2017). In terms of human health, however, the high levels of saturated and trans fatty acids in red meat and their excessive consumption lead to cardiovascular diseases and cancer (Struijk et al., 2018). Meat consumption has helped in the development of humanity, but it has also drastically changed nutritional habits in the last century. In previous studies, it was reported that the meat demand increased by 204% between 1960 and 2010 (Basu, 2015) and by 500% between 1992 and 2016 (Katare et al., 2020). In the last 20 years, a 58% increase has been observed in global meat demand (Whitnall and Pitts, 2019) and it is expected that the market will expand by another 15% by 2027 (OECD/FAO, 2018). The most important reasons for this growing demand were found to be population growth, economic growth, and changes in nutrition (FAO, 2018).

The average global meat consumption is 100 g per person per day, while this value is half of the global average in underdeveloped countries and twice the global average in developed countries (Clonan et al., 2016). Europeans consume an average of 36% more meat than the amount recommended in their nutritional guidelines and 49% more meat than the amount recommended by the EAT-Lancet Commission's planetary health diet (Springmann et al., 2020). The high levels of meat and animal protein consumed in Europe are considered not only unsustainable but also extremely unhealthy (Willett et al., 2019). While there are relatively few publications on the amount of meat consumption in Turkey, it is known that meat consumption varies according to socioeconomic status, especially in studies conducted in the fields of nutrition and dietetics. However, the needs of people do not change according to their economic situation.

According to the Turkish Dietary Guidelines, the meat group nutrient requirement is 2.5-3 servings per day for adults and teenagers. One serving equals 80 g of cooked red meat and chicken, 150 g of cooked fish, 130 g of cooked legumes, 30 g of hazelnuts and walnuts, or 2 eggs (Pekcan et al., 2016). According to data from the 2019 Turkish Nutrition and Health Survey (TNHS), average total meat group consumption per person is 86.25 g (39.09 g red meat, 28.24 g poultry, 13.17 g fish, 3.31 g meat products, and 2.48 g other) (Turkey Nutrition and Health Survey, 2020). According to the 2020 data from the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), the total amount of red meat consumed per capita in the world is 22 kg/year; this rate is 39 kg/year in developed countries while it is

2.85 kg in underdeveloped countries. The total consumption of red meat in Turkey is 12.5 kg/year. This amount of meat is below both the world's average and the average of developed countries (OECD-FAO, 2021). Furthermore, according to 2019 data TNHS, the total average protein intake in Turkey is 83.4 g and 58.6 g in adult men and women, respectively. Women consume 60.8% vegetable protein, while men consume 57.6% (Turkey Nutrition and Health Survey, 2020). Vegetable protein intake is higher in Turkey than meat protein intake. In the world, 57% of protein intake is provided by vegetables, 18% by meat, 10% by milk and dairy products, 6% by fish and shellfish, and 9% by other animal foods (Lonnie et al., 2018). However, the main source of protein in Western societies is animal foods, accounting for two-thirds of daily protein intake (Sanchez-Sabate and Sabaté, 2019). At the same time, the negative effects of excessive intake of animal protein on health are known and the related environmental damage is one of the most discussed issues today. The increase in red meat production due to the increase in consumption of animal proteins is known to cause a decrease in diversity and deforestation with more land use, increase greenhouse gas emissions, and cause water and soil pollution. (Godfray et al., 2018). Sustainability of the environment is essential for nutrition and the continuation of all life. It is now clear that the meat demand of the estimated 9.8 billion population for 2050 will not be able to be met. Moreover, the effects of this supply and demand intensity on natural resources and the environment pose irreversible danger for the future (Masson-Delmotte et al., 2018). In a previous study, the requirements for obtaining 1 kg of protein from beef and from kidney beans were compared. It was found that beef requires 18 times more land, 10 times more water, and 9 times more fuel (Sabate and Soret, 2014). There is an urgent need to change the current lifestyle and consumption habits for both planetary and human health (González et al., 2020). It was found that, by 2050, if meat consumption can be reduced in accordance with a sustainable nutrition model, food related greenhouse gas emissions will be reduced by 29-70% (Springmann et al., 2016). In a study conducted by Vatanparast et al., they calculated that if 25-50% of animal foods were replaced with plant foods, it would result in a 25-40% reduction in greenhouse gas emissions, a 40% reduction in nitrogen emissions, and 23% less use of plantation land per person for food production (Vatanparast et al., 2020).

The EAT-Lancet Commission's successive publications on healthy eating and sustainable food systems and the Intergovernmental Panel on Climate Change's Special Report on Climate Change and Land highlighted the need to reduce meat

consumption at the forefront of the debate on sustainability and food (Sahakian et al., 2020). Considering the global importance of this situation, it is crucial to determine the amount of meat consumption in Turkey. This study therefore aims to determine the amount of meat consumption and its affecting factors in Turkey and to discuss meat consumption within the framework of sustainable nutrition.

MATERIAL and METHODS

Study Design and Participants

This study is a cross-sectional study conducted March 1-31, 2021, via an online survey. The target audience comprised individuals between the ages of 18 and 65 living in Turkey. The exclusion criteria were pregnancy, lactation, having cancer, living abroad, ages under 18 and over 65, and surveys with unanswered questions or with typing mistakes as obtained for height and weight values. Digital informed consent was obtained from participants confirming their willingness to voluntarily participate before they completed the online survey. The study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the University of Health Sciences Research Ethics Committee on February 19, 2021, with registration number 21/190.

There were 631 participants who met the study inclusion criteria. However, due to representing deviant samples, 9 vegans, 5 primary school graduates, and 4 secondary education graduates were excluded from the study. The study was completed with 613 people.

Data Collection

Survey questions were created to include images of food portion sizes. The survey consisted of 3 sections and 41 questions. The first section had 11 questions related to sociodemographic variables such as gender, age, education level, income level, employment status, place of residence, marital status, and professional status. Furthermore, body weight (kg) and height (cm) measurements were requested to calculate body mass index (BMI). In the second section, there were a total of 24 questions. The frequency and amount of consumption of meat group foods (red meat (bovine and ovine meat, offal, processed meat), poultry such as chicken and turkey, fish, shellfish, legumes, and oilseeds) included in the Turkish Dietary Guidelines were asked (Pekcan et al., 2016). Considering consumption in the last 30 days, participants were asked to mark the consumption frequency for each food separately. Consumption frequencies were grouped as "every day," "5-6 times a week," "3-4 times a week," "1-2 times a week," "once in 15 days," "once a month," and "never." At the same time, the

participants were asked how much (amount) they ate of the food at one time for each food for which they had indicated frequency of consumption. Images showing portion sizes for portions, basis weights, or quantities were added. Participants marked their answers according to their consumption amounts. In the third section of the survey, 6 questions were included to examine the impact of red meat consumption on the environment and animal welfare, artificial meat consumption, vegan or vegetarian status and reasons for being so, reasons for consuming meat, and whether there was any fear of catching diseases that can be transmitted from animal foods.

Statistical Analysis

Categorical variables were summarized as numbers and percentages and numerical variables as averages and standard deviations. One-way analysis of variance was employed to analyze whether there was a statistically significant difference between the means of the groups. Multiple linear regression was conducted to clarify the factors associated with meat consumption. While categorical variables were included in the model, dummy variable coding was done. With the backward elimination method, the variables that contributed the least to the model were removed from the model, respectively, and the final model was obtained. In the backward elimination method, beginning from the first model, the variable with the highest value that has the cut-off value above $P > 0.10$ was removed and step by step the same method was applied in each new formed model. The model was stopped when the p-value of all variables in the model was below 0.10. All of the variables that were thought to have a relation with red meat, chicken, and fish consumption (sex, age, education status, marital status, occupation status, income status, chronic disease status, BMI categories, household size (number of people), legume consumption g/d; oilseed consumption g/d) were included in the multiple linear regression model. With the backward elimination method, the variables that contributed the least to the model were removed from the model, respectively, and the final model was obtained. The left variables from the first model to the final model were for red meat consumption as follows: income status, age and BMI categories, legume consumption g/d; oilseed consumption g/d; for chicken consumption as follows: gender, marital status, age, education status, legume consumption g/d; oilseed consumption g/d; and for fish consumption as follows: gender, chronic disease status, income status, oilseed consumption g/d. The distributions of the residuals (normal/symmetrical distribution and predictive versus residual plots) were examined for the model validity. The R square

adjusted R-square and SE values obtained at each step showed very small changes, and the simplest model was preferred according to the parsimony principle. The significance level was accepted as 5%. Data were analyzed with IBM SPSS Statistics for Windows version 26 (IBM SPSS, 2019).

RESULTS and DISCUSSION

The study was completed with 613 people with an average age of 34.49±13.04 years. Participants were at least high school graduates, and more than half

(54.6%) were university graduates. According to their employment status, 54.3% of the participants had a job that generated income. In terms of the income distribution, 30.3% of the participants had an income of 3000-6000 Turkish lira (TL), while 31.3% of them had an income of 6001-10000 TL (Table 1).

There is increasing evidence of the negative effects of meat consumption on the environment and health. Calls to reduce meat consumption for global environmental health, human health, and animal welfare continue to increase worldwide.

Table 1. General characteristics of the participants
Çizelge 1. Katılımcıların genel özellikleri

Characteristics	Categories (Kategoriler)	(n=613)	
		n (%)	Mean ± SD**
Sex (Cinsiyet)	Male	168 (27.4)	
	Female	445 (72.6)	
Age (years) Yaş (yıl)	18-30	317 (51.7)	34.49 ± 13.04
	31-50	201 (32.8)	
	51-65	95 (15.5)	
Marital Status (Medeni Durum)	Married	280 (45.7)	
	Single	333 (54.3)	
Educational Status (Eğitim Durumu)	High school graduate	188 (30.7)	
	Undergraduate	335 (54.6)	
	Postgraduate	90 (14.7)	
Employment Status (Çalışma Durumu)	Student	144 (23.5)	
	Unemployed	72 (11.7)	
	Employed	333 (54.3)	
	Retired	64 (10.4)	
Household Population (Hanedeki Nüfus Sayısı)	1 or 2 people	183 (29.9)	3.24 ± 1.32
	3 people	172 (28.1)	
	4 people and more	258 (42.1)	
Household Income (TL)* (Hane Geliri (TL))	< 3.000	55 (9.0)	
	3.000-6.000	186 (30.3)	
	6.001-10.000	192 (31.3)	
	10.001-15.000	113 (18.4)	
	> 15.000	67 (10.9)	
Presence of Chronical Diseases (Kronik Hastalık Durumu)	Yes	125 (20.4)	
	No	488 (79.6)	
Body Mass Index (kg / m ²) (Beden Kütle İndeksi (kg / m ²))	Underweight	47 (7.7)	24.34 ± 4.85
	Normal weight	334 (54.5)	
	Overweight	163 (26.6)	
	Obese	69 (11.3)	

*: According to the average exchange rate of dollar in March 2021. 1 \$ = 7.62 TL; **: Standard Deviation

For many, consuming meat is a traditional social practice reinforced by economic, ecological, technological, and institutional factors, including media and marketing. In this study, the majority of the participants stated that they would reduce their meat consumption if asked to do so for environmental health and animal welfare, and about half of them stated that they were afraid of catching diseases transmitted by animal food consumption (Table 2). However, it is known that even though most people

state that they intend to reduce their meat consumption for global environmental health and animal welfare, they do not turn that intention into behavior (Stubbs et al., 2018). The main reasons for this may be habits and cultural factors. It is thought that determining the individual characteristics associated with the satisfaction obtained from meat-free foods may facilitate their marketing (Pohlmann, 2021). In this study, when participants were asked their reasons for consuming animal products, most of

them reported consuming meat because they found it delicious (51.1%) (Table 2).

Table 2. Distribution of the participants according to their opinions about reducing meat consumption and artificial meat consumption due to environmental damage and animal welfare, fear of diseases that can be transmitted by animal foods and reasons for red meat consumption (n=613)

Çizelge 2. Katılımcıların çevre ve hayvan refahına zararı nedeniyle et tüketimini azaltma ve yapay et tüketimi ile ilgili düşünceleri, hayvansal besinler ile bulaşabilecek hastalıklardan korkma durumları ve kırmızı et tüketme nedenlerine göre dağılımları (n=613)

	n	%
Would you reduce your red meat consumption due to its environmental effects? (Çevresel etkisi nedeniyle kırmızı et tüketiminizi azaltır mısınız?)		
Yes (Evet)	373	60.8
No (Hayır)	114	18.6
Not sure (Kararsızım)	126	20.6
Would you reduce your red meat consumption for animal welfare? (Hayvan refah için kırmızı et tüketiminizi azaltır mısınız?)		
Yes (Evet)	322	52.5
No (Hayır)	139	22.7
Not sure (Kararsızım)	152	24.8
Would you consume artificially produced red meat? (Yapay olarak üretilmiş kırmızı et tüketir misiniz?)		
Yes (Evet)	61	9.9
No (Hayır)	470	76.7
Not sure (Kararsızım)	82	13.4
Are you afraid of diseases that can be transmitted from animal foods? (Hayvansal besinlerden bulaşacak hastalıklardan korkuyor musunuz?)		
Yes (Evet)	241	39.3
No (Hayır)	271	44.2
I do not know about the diseases (Hastalıkları bilmiyorum)	101	16.5
What are the reasons for your red meat consumption? * (Kırmızı eti yeme nedenleriniz nedir? *)		
Delicious (Lezzetli)	313	51.1
Source of protein (Protein kaynağı)	189	30.8
Healthy (Sağlıklı)	103	16.8
Habit (Alışkanlık)	71	11.6
Necessary for life (Yaşam için gerekli)	59	9.6
Vitamin content (Vitamin almak için)	45	7.3
Fulfilling (Doyurucu)	20	3.3
Iron content (Demir minerali almak için)	17	2.8
Easy to cook (Pişirmesi kolay)	8	1.3
Helps to get skinny (Zayıflatıcı)	3	0.5

*Evaluated over more than one answer.

Artificial meat produced from animal cells in a laboratory environment has recently started to be used commercially. However, it is unclear to what extent artificially produced meat will be accepted by consumers, especially in Turkey. In line with this, in this cross-sectional study, almost 4 out of 5 participants stated that they would not consume artificially produced meat (Table 2). In a study conducted by Siegrist and Sütterlin, it was concluded that even though it is known that artificially produced meat is more environmentally friendly and less harmful to animals, a decrease in perceived naturalness during consumption will reduce the acceptability of the product (Siegrist and Sütterlin,

2017). The acceptability of artificial meat is also thought to depend, in part, on how the product is presented. In another study, the terms “clean meat,” “cultured meat,” “animal-free meat,” and “meat produced in the laboratory” were used for artificial meat and the attitudes and behavioral intentions of consumers toward the product were examined. According to the results, the expressions “clean meat” and “animal-free meat” caused significantly more positive responses compared to the expression “meat produced in the laboratory” (Bryant and Barnett, 2019). The question in this study used the word “artificial,” and we do not know whether the use of that particular word changed the responses. Further

studies can be conducted on this subject.

It is known that both high inflations of food prices and inequalities in income distribution have a significant impact on nutritional status in Turkey. In particular, it was determined that meat consumption was strongly associated with economic factors (Turkey Nutrition and Health Survey, 2020) and that

the average meat consumption was below the global average (OECD-FAO, 2021). In this study, the daily average amount of total amount of bovine and ovine meat consumption of all participants was found to be 49.34±53.73 g (Table 3). This value is the same as the average for an undeveloped country (Clonan et al., 2016).

Table 3. Evaluation of the daily consumption of the meat group foods of participants (n=613)

Çizelge 3. Katılımcıların et grubunda yer alan besinleri günlük tüketim miktarlarının değerlendirilmesi

Meat Group Foods (<i>Et grubunda yer alan besinler</i>)	Mean (Ortalama)	SD*	Min. - Max.
Bovine meat (<i>Büyükbaş hayvan eti</i>)	34.96	39.32	0 - 302.5
Ovine meat (<i>Küçükbaş hayvan eti</i>)	14.38	25.98	0 - 175
Total red meat (<i>Toplam kırmızı et</i>)	49.34	53.73	0 - 412.8
Chicken (<i>Tavuk eti</i>)	36.04	42.70	0 - 300
Fish (<i>Balık eti</i>)	38.16	48.80	0 - 375
Egg (<i>Yumurta</i>)	40.06	35.53	0 - 150
Offal (<i>Sakatat</i>)	3.80	13.32	0 - 235.8
Salami, sausage (<i>Salam, sosis</i>)	28.21	30.24	0 - 200
Traditional dried sausage (<i>Sucuk</i>)	46.05	43.81	0 - 300
Legumes (<i>Baklagiller</i>)	30.11	31.12	0 - 235.8
Oilseeds (<i>Yağlı tohumlar</i>)	18.88	20.77	0 - 90

*: Standard Deviation

In table 4, the daily average consumption of eggs, offal, legumes, and oilseeds is compared according to age, BMI, education level, employment status, marital status, number of people living in the household, income level, and presence of chronic diseases. While there was no significant difference in egg, offal, and oilseed consumption according to age, BMI, or education level, there were significant differences for legume consumption (p=0.003, p=0.001, p=0.002 respectively). There was a significant difference in the consumption of eggs and legumes among employment status (p=0.005, p=0.001 respectively). Students compared to other occupational groups, the daily average consumption of eggs and legumes was higher. Single people consumed more legumes than married respondents and the difference was significant (p=0.002). There was a significant difference for oilseed consumption only among income levels (p=0.001). The oilseed consumption of those with an income above 15000 TL was higher compared to the other groups (Table 4). Oilseeds have high protein content apart from fatty acid contents. Oilseeds are important in terms of both having a positive effect on nutritional status and causing limited environmental damage. But oilseed production in Turkey is faced with political problems, issues of product variety, and the climate and soil conditions of the regions in which those plants are grown. It was reported that oilseed products are expensive and individuals with lower incomes consume them less (Killı and Beycioğlu, 2019). In this study, oilseed consumption was found to be significantly higher among those with the highest

incomes (Table 4). In the 2019 EAT-Lancet planetary health diet, 25 g of oil seeds and 25 g of nuts are recommended daily (Willett et al., 2019). In this study, a significant difference was found in the levels of consumption of legumes, which are good vegetable protein sources, for age, education, employment status, marital status, and BMI (Table 4). However, it was seen that no group consumed legumes as much as recommended (Pekcan et al., 2016).

The results of multiple regression analysis applied with the backward Euler method and the variables that were found to have significant relationships with red meat, chicken, and fish consumption are shown in Table 5. For each 1 g increase in legume consumption, red meat consumption increased by an average of 0.151 g, and for an increase of 1 g in oilseed consumption, red meat consumption increased by an average of 0.388 g. For each 1 g increase in legume consumption, chicken meat consumption increased by an average of 0.201 g, and for an increase of 1 g in oilseed consumption,

chicken meat consumption increased by an average of 0.339 g. For each 1 g increase in oilseed consumption, fish meat consumption increased by an average of 0.386 g (Table 5). Those with the highest incomes consumed approximately 46 g more red meat per day than those with the lowest incomes (Table 5). There are very limited studies examining the effects of high inflation of food prices on nutrition in Turkey. In one of those few studies, it was determined that the income level of 149 health workers significantly affected their consumption of red meat (Alparslan and

Table 4. Comparison of participants' average daily consumption of eggs, offal, legumes and oilseeds according to general characteristics

Çizelge 4. Katılımcıların günlük ortalama yumurta, sakatat, baklagiller ve yağlı tohum tüketimlerinin genel özelliklerine göre karşılaştırılması

General Characteristics (Genel Özellikleri)	Eggs Day/Amount (Yumurta Gün/ Miktar)			Offal Day/Amount (Sakatat Gün/ Miktar)			Legumes Day/Amount (Baklagiller Gün/ Miktar)			Oilseeds Day/Amount (Yağlı Tohumlar Gün/ Miktar)		
	n	\bar{x}	F-P	n	\bar{x}	F-P	n	\bar{x}	F-P	n	\bar{x}	F-P
Age Group (Yaş grupları)												
18-30	317	41.212		317	2.718		317	34.189		317	20.472	
31-50	201	40.314	F=0.899 P=0.407	201	5.424	F=2.557 P=0.078	201	26.549	F=5.927 P=0.003*	201	16.747	F=2.069 P=0.127
51-65	95	35.661		95	3.954		95	24.062		95	18.075	
BMI Group (BKİ grup)												
Underweight (Zayıf)	47	50.249		47	1.691		47	47.077		47	23.06	
Normal weight (Normal Kilolu)	334	37.677	F=2.222 P=0.084	334	3.051	F=2.000 P=0.113	334	31.206	F=7.134 P=0.001*	334	19.87	F=2.602 P=0.051
Overweight (Fazla Kilolu)	163	42.875		163	4.786		163	25.944		163	17.951	
Obese (Şişman)	69	37.979		69	6.506		69	23.131		69	13.426	
Educational Status (Eğitim Durumu)												
High school (Lise)	188	42.201		188	3.05		188	36.264		188	17.336	
Undergraduate (Üniversite)	335	40.132	F=1.151 P=0.317	335	3.696	F=1.257 P=0.285	335	28.496	F=6.397 P=0.002*	335	19.453	F=0.769 P=0.464
Postgraduate (Lisansüstü)	90	35.299		90	5.733		90	23.294		90	19.964	
Employment Status (İş Durumu)												
Student (Öğrenci)	144	47.826		144	2.355		144	39.518		144	20.415	
Employed (Çalışan)	72	45.116	F=4.327 P=0.005*	72	1.456	F=2.103 P=0.099	72	26.917	F=5.901 P=0.001*	72	21.536	F=1.082 P=0.356
Unemployed (Çalışmıyor)	333	36.16		333	4.919		333	27.49		333	18.085	
Retired (Emekli)	64	37.165		64	3.838		64	26.209		64	16.565	
Marital Status (Medeni Durum)												
Married (Evlili)	280	39.187	F=0.309 P=0.579	280	3.675	F=0.043 P=0.835	280	25.932	F=9.438 P=0.002*	280	17.243	F=3.21 P=0.074
Single (Bekar)	333	40.789		333	3.90		333	33.631		333	20.255	
Household Population												
1 or 2 people (1 veya 2 kişi)	183	35.217		183	3.419		183	24.685		183	17.906	
3 people (3 kişi)	172	36.162	F=6.564 P=0.002*	172	3.622	F=0.196 P=0.822	172	27.451	F=7.802 P=0.001*	172	17.779	F=1.048 P=0.351
4 people and more (4 ve üzeri)	258	46.087		258	4.182		258	35.741		258	20.303	
Income Status (TL) (Gelir Durumu (TL))												
< 3.000	55	40.147		55	1.611		55	24.725		55	9.509	
3.000-6.000	186	35.604		186	4.441		186	32.932		186	15.644	
6.001-10.000	192	41.662	F=1.439 P=0.22	192	4.045	F=0.983 P=0.416	192	28.21	F=1.706 P=0.147	192	19.662	F=8.028 P=0.001*
10.001-15.000	113	40.631		113	2.487		113	27.897		113	22.294	
>15.000	67	46.779		67	5.303		67	35.913		67	27.547	
Presence of Chronical Diseases (Kronik Hastalık Durumu)												
Yes (Evet)	125	43.462	F=1.443 P=0.23	125	4.144	F=0.106 P=0.745	125	31.011	F=0.13 P=0.718	125	19.995	F=0.453 P=0.501
No (Hayır)	488	39.185		488	3.708		488	29.885		488	18.593	

*: P<0.05, significance level.

Table 5. Multiple Linear Regression Analysis of the determinants of intake red meat, fish meat and chicken meat
Çizelge. Kırmızı et, balık eti ve tavuk eti tüketiminde etkili faktörler için elde edilen modellerin sonuçları

Regression model for red meat consumption
(Kırmızı et tüketimi için regresyon modeli)

Associated Factors <i>(İlişkili Faktörler)</i>	B	Std. Err.	Beta	t	P	95,0% CI for B	
						Lower Bound	Upper Bound
(Constant)	44.537	11.023		4.040	0.000	22.890	66.185
Gender <i>(Cinsiyet)</i>	-23.045	4.679	-0.191	-4.925	0.000	-32.235	-13.855
Age=51-65 <i>(Yaş=51-65)</i>	-11.365	5.816	-0.077	-1.954	0.051	-22.787	0.057
*BMI=Overweight <i>(*BKİ=Fazla Kilolu)</i>	14.470	4.999	0.119	2.894	0.004	4.651	24.288
BMI=Obese <i>(BKİ=Şişman)</i>	24.878	6.617	0.146	3.760	0.000	11.883	37.873
Income=3000-6000 <i>(Gelir=3000-6000)</i>	19.320	7.591	0.165	2.545	0.011	4.411	34.229
Income=6001-10000 <i>(Gelir=6001-10000)</i>	32.781	7.591	0.283	4.318	0.000	17.872	47.690
Income=10001-15000 <i>(Gelir=10001-15000)</i>	36.094	8.196	0.261	4.404	0.000	19.998	52.190
Income=Over 15000 <i>(Gelir=15000 üstü)</i>	45.952	9.167	0.267	5.013	0.000	27.948	63.955
Legume consumption (g / day) <i>(Kurubakalgil tüketim miktarı g / gün)</i>	0.151	0.068	0.088	2.221	0.027	0.018	0.285
Oily seed consumption (g/day) <i>(Yağlı tohum tüketim miktarı g / gün)</i>	0.388	0.103	0.150	3.755	0.000	0.185	0.592

R Sqr=0.182; Adj. R Sqr=0.168; Std. Error of the Estimate=49.001; F=13.375; P<0.01; * Body Mass Index, Beden Kütle İndeksi

Regression model for chicken meat consumption
Tavuk eti tüketimi için regresyon modeli

Associated Factors <i>(İlişkili Faktörler)</i>	B	Std. Err.	Beta	t	P	95,0% CI for B	
						Lower Bound	Upper Bound
(Constant)	39.497	9.838		4.015	0.000	20.176	58.817
Gender <i>(Cinsiyet)</i>	-18.367	3.780	-0.192	-4.860	0.000	-25.790	-10.945
Marital status <i>(Medeni durum)</i>	9.580	3.655	0.112	2.621	0.009	2.401	16.758
Age=51-65 <i>(Yaş=51-65)</i>	-8.738	4.916	-0.074	-1.778	0.076	-18.393	0.916
Education=Postgraduate <i>(Eğitim=Lisansüstü)</i>	-13.949	4.749	-0.116	-2.937	0.003	-23.276	-4.623
Employment=Employed <i>(İş durumu=Çalışan)</i>	8.141	3.803	0.095	2.140	0.033	0.671	15.610
Legume consumption (g/day) <i>(Kurubaklagil tüketim miktarı g / gün)</i>	0.201	0.055	0.146	3.624	0.000	0.092	0.309
Oily seed consumption (g/day) <i>(Yağlı tohum tüketim miktarı g / gün)</i>	0.339	0.082	0.165	4.150	0.000	0.179	0.500

R Sqr=0.14; Adj. R Sqr=0.13; Std. Error of the Estimate=39.822; F=14.086; P<0.01

Regression model for fish meat consumption
Balık eti tüketimi için regresyon modeli

Associated Factors (İlişkili Faktörler)	B	Std. Err.	Beta	t	P	95,0% CI for B	
						Lower Bound	Upper Bound
(Constant)	52.377	8.752		5.984	0.000	35.189	69.565
Gender (Cinsiyet)	-8.582	4.341	-0.079	-1.977	0.049	-17.108	-0.056
Presence of chronic diseases (Kronik hastalık varlığı)	-10.413	4.787	-0.086	-2.175	0.030	-19.814	-1.012
Income=Over 15000	14.624	6.277	0.094	2.330	0.020	2.296	26.952
Oily seed consumption (g/day) (Yağlı tohum tüketim miktarı g/gün)	0.386	0.094	0.164	4.105	0.000	0.201	0.570

R Sqr=0.053; Adj. R Sqr=0.047; Std. Error of the Estimate=47.634; F=8.581; P<0.01

Demirbaş, 2020). Moreover, a study conducted in one of the Turkish provinces in which animal husbandry is performed concluded that monthly income has a statistically significant effect on the frequency of consuming red meat (Özyürek et al., 2019). The low amount of meat consumption in Turkey can be considered more beneficial in terms of avoiding environmental damage and especially the damage caused by beef farming. However, inequality in income distribution in developing countries must be taken into account. In the context of sustainable nutrition and the environment, calls for individuals with higher income levels to reduce their consumption may be necessary. At the same time, according to the EAT-Lancet Commission's report, these levels of consumption are above the recommendations for red meat (14 g), chicken (29 g), eggs (13 g), and fish (28 g) as animal foods for a sustainable environment (Willett et al., 2019). Although prices affect food intake in Turkey, it was still observed that the participants consumed animal foods in amounts above those recommended by the EAT-Lancet Commission report. On the contrary, the consumption of legumes and oilseeds, which are sources of vegetable protein, is less than half of what is recommended (Pekcan et al., 2016). It is known that this situation adversely affects human health as well as the environment.

Women report being vegetarian or vegan more often than men. Moreover, it is noted that men tend to try to justify meat consumption more strongly than women (Mertens et al., 2020). In a study conducted by Baba et al. in Romania, it was found that the amount of beef consumption was higher among men than women and also, it was determined that the age groups in which individuals take care of their health most among both men and women were the age groups over 50 years old and 21-30 years old (Baba et al., 2016). In a study conducted by Mota et al. in France, it was determined that participants of both

sexes consumed more meat than recommended, and the average daily meat consumption was higher in men (Mota et al., 2021). In this study, it was determined that women consumed less red meat, chicken meat, and fish meat compared to men, and individuals over the age of 51 consumed less meat compared to the age group of 18-30 (Table 5). In a study conducted in China, it was stated that increased red meat consumption was associated with larger waist circumference and abdominal obesity, especially in men (Wang et al., 2014). Another study conducted in Iran reported that red meat consumption was positively and significantly related not to general obesity but to abdominal obesity (Dabbagh-Moghadam et al., 2017).

It is an undeniable fact that the worldwide increasing trend of meat consumption poses a great risk when environmental health, human health, and animal welfare are considered. It is obvious that nutritional habits regarding meat consumption in general and especially red meat should be changed as quickly and significantly as possible. This has caused initiatives, companies, and brands that produce artificial meat or advocate plant-based nutrition to emerge, such as "Green Monday" initiatives (Hong Kong) or the Beyond Meat and Impossible Foods companies (USA), in order to combat climate change and global food insecurity (Cheah et al., 2020). Despite all these attempts, many difficulties are encountered in reducing meat consumption. Barriers to reducing meat consumption may include the nutritional value of meat, food neophobia, habitual behaviors, implementation difficulties, debates about vegetarianism and veganism, attachment to a social group, and the desire to be loved (Cheah et al., 2020; Hielkema and Lund, 2021).

Concern about the future of the world is increasing day by day. In particular, the pressure created by climate change shows that urgent measures must be taken. It is highly crucial that all countries of the

world share the responsibility in this regard and do their part.

There are some limitations to the study. One of the limitations of this study was that consumption data were based on personal remember. Therefore, the participants might have thought that they eat more or less about their consumption. On the other hand, this study was performed online by participants that had access to the internet and equipment such as computers and tablets. This equipment is closely related both to education and economic status. As a result of this situation, the undergraduate and postgraduate participants constituted the majority of the participants in the study.

CONCLUSIONS

In this study, it was determined that BMI, income level, and age were effective in the amount of red meat consumed. Those who stated that they would limit their meat consumption for environmental health and animal welfare constituted the majority of the participants. This sensitivity of the participants to the environment is quite encouraging because it is well recognized that the natural equilibrium of the world's ecosystems is degrading on a daily basis. Global biocapacity must be conserved in order for the resources we utilize to meet today's demands to use by future generations. As far as we are aware, this study is the first study of its kind to be conducted in Turkey. It is essential to create government policies that give due importance to climate change and sustainability for the environment, nutrition, and life. Therefore, in order for the notion of sustainable nutrition to have an impact on society, both individual and social measures, as well as administrative policies, are required.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the participants who answered the questionnaires.

Author Contributions

The contribution of the authors is equal.

Conflicts of Interest

The authors declare no potential conflicts of interest.

REFERENCES

- Alparslan ÖS, Demirbaş N 2020. Red Meat and Processed Red Meat Consumption Behaviour of Healthcare Professionals: Do They Participate in The World Health Organization's View of Red Meat Carcasses and Red Meat Carcinogens? *Public Health Nutrition* 23(2): 214-220.
- Baba F, Petroman I, Petroman C, Marin D 2016. Study Regarding the Monthly Evolution of Beef Meat Consumption by Gender and Age Group of the Respondents. *Journal of Biotechnology* (231): 51-52.
- Basu S 2015. The Transitional Dynamics of Caloric Ecosystems: Changes in The Food Supply Around the World. *Critical Public Health* 25(3): 248-264.
- Bryant CJ, Barnett JC 2019. What's in A Name? Consumer Perceptions of in Vitro Meat Under Different Names. *Appetite* 137: 104-113.
- Cheah I, Shimul AS, Liang J, Phau I 2020. Drivers and Barriers Toward Reducing Meat Consumption. *Appetite* 149: 104636.
- Clonan A, Roberts KE, Holdsworth M 2016. Socioeconomic and Demographic Drivers of Red and Processed Meat Consumption: Implications for Health and Environmental Sustainability. *Proceedings of The Nutrition Society* 75(3): 367-373.
- Dabbagh-Moghadam A, Mozaffari-Khosravi H, Nasiri M, Miri A, Rahdar M, Sadeghi O 2017. Association of White and Red Meat Consumption with General and Abdominal Obesity: A Cross-Sectional Study Among a Population of Iranian Military Families in 2016. *Eating and Weight Disorders-Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity* 22(4): 717-724.
- Dogan N 2019. A Research on the Current Situation of the Red Meat, Chicken Meat and Fish Consumption Patterns in TRA1 Region (Erzurum, Erzincan, Bayburt Provinces). *Turkish Journal of Agriculture and Natural Sciences* 6(2): 285-295.
- FAO 2018. The Future of Food and Agriculture – Alternative Pathways to 2050. Summary Version, Rome. 1-60.
- Godfray HCJ, Aveyard P, Garnett T, Hall JW, Key TJ, Lorimer J, Pierrehumbert RT, Scarborough P, Springmann M, Jebb SA 2018. Meat Consumption, Health, and The Environment. *Science* 20: 361(6399).
- González N, Marquès M, Nadal M, Domingo JL 2020. Meat Consumption: Which Are the Current Global Risks? A Review of Recent (2010-2020) Evidence. *Food Research International* 137: 109341.
- Hielkema MH, Lund TB 2021. Reducing Meat Consumption in Meat-Loving Denmark: Exploring Willingness, Behavior, Barriers and Drivers. *Food Quality and Preference*, 93: 104257.
- Karacan R 2017. The Evaluation of Demand for Red Meat in Turkey in Terms of Income Distribution and Consumption of White Meat. *Finance Political and Economic Comments* 54(630): 67-73.
- Katare B, Wang HH, Lawing J, Hao N, Park T, Wetzstein M 2020. Toward Optimal Meat Consumption. *American Journal of Agricultural Economics* 102(2): 662-680.
- Kılı F, Beycioğlu T 2019. Oil Seeds and Crude Oil Production in the World and Turkey, Problems of Oilseeds Production in Turkey. *International Journal of Anatolia Agricultural Engineering* 1(5):

- 17-33.
- Lonnie M, Hooker E, Brunstrom JM, Corfe BM, Green MA, Watson AW, Williams EA, Stevenson EJ, Penson S, Johnstone AM 2018. Protein for Life: Review of Optimal Protein Intake, Sustainable Dietary Sources, and the Effect on Appetite in Ageing Adults. *Nutrients* 10(3): 360.
- Mann J, Truswell AS 2017. *Essentials of Human Nutrition*: Oxford University Press.
- Masson-Delmotte V, Zhai P, Pörtner HO, Roberts D, Skea J, Shukla PR, A. Pirani W, Moufouma-Okia, C, Péan R, Pidcock R 2018. Global Warming of 1.5 C. An IPCC Special Report on the Impacts of Global Warming of, 1: 1-9.
- Mertens A, von Krause M, Meyerhöfer S, Aziz C, Baumann F, Denk A, Heitz T, Maute J 2020. Valuing Humans Over Animals—Gender Differences in Meat-Eating Behavior and The Role of the Dark Triad. *Appetite* 146: 104516.
- Mota JDO, Guillou S, Pierre F, Membré JM 2021. Public Health Risk-Benefit Assessment of Red Meat in France: Current Consumption and Alternative Scenarios. *Food and Chemical Toxicology* 149: 111994.
- OECD-FAO Agricultural Outlook 2017-2026. 2021. <https://stats.oecd.org/index.aspx?queryid=76854#>. (Accessed date: 28.03.2021).
- ECD/FAO 2018. OECD-FAO Agricultural Outlook 2018-2027. <https://www.fao.org/3/I9166EN/I9166EN.pdf>. (Accessed date: 15.03.2021).
- Özyürek S, Kadir Ç, Turkyılmaz D, Esenbuğa N, Dağdelen Ü, Yaprak M 2019. A Study on Determination of Red Meat Consumption Behaviors and Preference of Imported Red Meat in Erzincan. *Erzincan University Journal of Science and Technology* 12(1): 263-273.
- Pekcan G, Şanlıer N, Baş M, Başoğlu S, Acar TN 2016. *Turkey Nutrition Guide 2015*. Ankara: Ministry of Health.
- Pohlmann A 2021. Lowering Barriers to Plant-based Diets: The Effect of Human and Non-Human Animal Self-Similarity on Meat Avoidance Intent and Sensory Food Satisfaction. *Food Quality and Preference* 93: 104272.
- Sabate J, Soret S 2014. Sustainability of Plant-Based Diets: Back to The Future. *The American Journal of Clinical Nutrition* 100(1): 476-482.
- Sahakian M, Godin L, Courtin I 2020. Promoting 'Pro', 'Low', And 'No' meat Consumption in Switzerland: The Role of Emotions in Practices. *Appetite* 150: 104637.
- Sanchez-Sabate R, Sabaté J 2019. Consumer Attitudes Towards Environmental Concerns of Meat Consumption: A Systematic Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16(7): 1220.
- Siegrist M, Sütterlin B 2017. Importance of Perceived Naturalness for Acceptance of Food Additives and Cultured Meat. *Appetite* 113: 320-326.
- Springmann M, Godfray HCJ, Rayner M, Scarborough P 2016. Analysis and Valuation of the Health and Climate Change Cobenefits of Dietary Change. *Proceedings of The National Academy of Sciences* 113(15): 4146-4151.
- Springmann M, Spajic L, Clark MA, Poore J, Herforth A, Webb P, Rayner M, Scarborough P 2020. The Healthiness and Sustainability of National and Global Food Based Dietary Guidelines: Modelling Study. *British Medical Journal* 370:m2322.
- SPSS 2019. *IBM SPSS Statistics 26.0 for Windows*. Armonk, NY.
- Struijk EA, Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F, Lopez-Garcia E 2018. Consumption of Meat in Relation to Physical Functioning in The Seniors-ENRICA Cohort. *BMC Medicine* 16(1): 1-10.
- Stubbs R, Scott S, Duarte C 2018. Responding to Food, Environment and Health Challenges by Changing Meat Consumption Behaviours in Consumers: Wiley Online Library.
- Turkey Nutrition and Health Survey (TNHS, 2019) 2020. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/saglikli-beslenme-hareketli-hayat-db/Yayinlar/kitaplar/TBSA_RAPOR_KITAP_20.08.pdf. (Accessed date: 18.03.2021).
- Vatanparast H, Islam N, Shafiee M, Ramdath DD 2020. Increasing Plant-Based Meat Alternatives and Decreasing Red and Processed Meat in The Diet Differentially Affect the Diet Quality and Nutrient Intakes of Canadians. *Nutrients* 12(7): 2034.
- Wang Z, Zhang B, Zhai F, Wang H, Zhang J, Du W, Su C, Zhang J, Jiang H, Popkin BM 2014. Fatty and Lean Red Meat Consumption in China: Differential Association with Chinese Abdominal Obesity. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 24(8): 869-876.
- Whitnall T, Pitts N 2019. Global Trends in Meat Consumption. *Agricultural Commodities* 9(1): 96.
- Willett W, Rockström J, Loken B, Springmann M, Lang T, Vermeulen S, Garnett T, Tilman D, Murray CJL 2019. Food in the Anthropocene: the EAT–Lancet Commission on Healthy Diets from Sustainable Food Systems. *The Lancet* 393(10170): 447-492.

Determination of Some Yield and Quality Properties of *Origanum dubium* Boiss Grown in Different Ecological Conditions

Hasan MARAL^{1*}, Saliha KIRICI²

¹Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Ermenek Meslek Yüksekokulu, Karaman, Türkiye, ²Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Adana, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-9074-1109>, ²<https://orcid.org/0000-0002-5798-857X>,

✉: hasmaral@kmu.edu.tr

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the agronomic and chemical components of the *Origanum dubium*, which grows naturally in the Ermenek region. The plants used in the experiment were collected at 5 different altitudes (467, 1096, 1331, 1332 and 1478 m) in the Ermenek district of Karaman. The experiment was carried out in the garden of Ermenek Vocational School for 3 years in 2014, 2015 and 2016, and in the field of Field Crops Department of Çukurova Univ. for 2 years in 2015 and 2016. For *O. dubium* cultivated in Ermenek for 3 years, the plant height average was 40.36 cm, the average of plant number was 18.94 units/plant, of green herb weight was 99.85 g/plant, of dry herb weight was 43.53 g/plant and of dry leaf weight was 25.12 g/plant. The average essential oil ratio, on the other hand, was determined as 5.09%, whose main components were carvacrol, linalool and p-cymene. For the plants cultivated in Adana 2 years, the average of plant height was 44.41 cm, of plant number was 17.6 units/plant, of green herb weight was 101.15 g/plant, of dry herb weight was 48.0 g/plant and of dry leaf weight 24.48 was g/plant. Their average essential oil ratio was calculated as 4.90% and it was observed to contain mainly carvacrol with the highest 88.40%.

Medical and Aromatic Plants

Research Article

Article History

Received : 07.09.2021

Accepted : 22.10.2021

Keywords

GC/MS

Origanum dubium

Essential oil

Yield potential

Altitude difference

Farklı Ekolojik Koşullarda Yetiştirilen *Origanum dubium* Boiss'in Bazı Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi

ÖZET

Çalışmada Ermenek yöresinde doğal olarak yetişen *Origanum dubium*'un agronomik ve kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Denemede kullanılan bitkiler Karaman'ın Ermenek ilçesinde 5 farklı yükseltide (467, 1096, 1331, 1332 and 1478) toplanmıştır. Deneme 2014, 2015 ve 2016 yıllarında 3 yıl Ermenek Meslek Yüksekokulu bahçesinde, 2015 ve 2016 yıllarında 2 yıl süreyle Çukurova Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme alanında yürütülmüştür. Ermenek'te yetiştirilen *O. dubium*'un 3 yıllık bitki boyu ortalama 40.36 cm, bitkideki dal sayısı 18.94 adet/bitki, taze herba ağırlığı 99.85 g/bitki, kuru herba ağırlığı 43.53 g/bitki kuru yaprak ağırlığı 25.12 g/bitki, uçucu yağ oranı % 5.09 olarak belirlenmiştir. Uçucu yağın ana bileşenleri karvakrol, linalool ve p-cimen olduğu tespit edilmiştir. Adana'da yetiştirilen bitkilerin bitki boyu ortalama 44.41 cm, bitkideki dal sayısı sayısı 17.6 adet/bitki, yeşil herba ağırlığı 101.15 g/bitki, kuru herba ağırlığı, 48.0 g/bitki, kuru yaprak ağırlığı 24.48 g/bitki, uçucu yağ oranı % 4.90 olarak belirlenmiştir. Uçucu yağın ana bileşeni, en yüksek% 88.40 ile karvakrol olduğu tespit edilmiştir.

Tıbbi ve Aromatik Bitkiler

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 07.09.2021

Kabul Tarihi : 22.10.2021

Anahtar Kelimeler

GC-MS

Origanum dubium

Uçucu yağ

Verim potansiyeli

Yükselti farkı

Atıf Şekli: Maral H, Kırıcı S 2022. Farklı Ekolojik Koşullarda Yetiştirilen *Origanum dubium* Boiss'in Bazı Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1434-1447. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.910746>

To Cite : Maral H, Kırıcı S 2022. Determination of Some Yield and Quality Properties of *Origanum dubium* Boiss Grown in Different Ecological Conditions. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1434-1447. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.910746>

INTRODUCTION

Türkiye is one of the richest countries in terms of natural plant species. Among these plant species, medicinal and aromatic plants have an important place. Especially the Mediterranean region has a special importance for essential oils. However, besides the fact that these plants have not yet been put into production, the desired goal has not been achieved in terms of their preservation in nature. (Ayanoglu et al., 1999; Maral et al., 2018).

The *Lamiaceae* family is widely distributed in the world with 236 genera and 7133 species (Harley et al., 2004). The plants of the *Lamiaceae* family are distributed in tropical and temperate regions with high elevation levels in the Mediterranean Region (Cantino et al., 1992; Yılar et al., 2017). Turkey is one of the important gene centers with 45 genera, 558 species and 742 taxa. The rate of endemism was 44.2% (Koyuncu et al., 2010; Belen, 2012). Many of the plants included in this family are very important in many areas such as medicine because they are rich in essential oils and secondary compounds (Kahraman et al., 2009; Yılar et al., 2017).

Due to similar smells in Turkey, there are a large number of species and species known as 'thyme'. These are *Thymus* (57 taxa), *Origanum* (23), *Satureja* (14 taxa), *Thymbra* (4 taxa) and *Coridothymus* (1 species) (Başer et al., 1994). Common characteristics of these genera are that the main components of essential oils are carvacrol or thymol or both. (Federov, 1974; Ietswaart, 1980; Duman et al., 1996).

Oregano is classified as an essential oil plant in terms of the active substance it contains and as a spice plant according to consumption and use (Ceylan, 1995). According to the organs used, herbs (*Herba Origanum*) and leaves (*Folia Origanum*) belong to the group of plants used. It is also widely used as oregano oil (*Oleum Origanum*) (Baytop, 1999). Oregano largest exporter in Turkey, according to data from 2017, 121 472 hectares were planted, 14,477 tons were produced (TÜİK, 2017). As of the year 2016, the export amount of oregano was 17050 tons and the export value was 60 million 380 thousand USD (Bayraktar et al., 2017).

Origanum dubium Boiss, (syn: *O. majorana* L.) flowers and leaves are used as tea or condiment. This strain is known in western countries as "sweet marjoram (sweet thyme)" and contains small amounts of carvacrol. In the Antalya region, it draws attention with its richness in terms of carvacrol and its highly productive essential oil. In this region known as white oregano, it has been determined that carvacrol has a rate of 32-84% in the volatile oil obtained from 5-8% of the above-ground parts (Başer, 2001).

It is emphasized that the cultivation of medicinal plants is necessary for the sustainable use of plants in the long term and that plants will exhibit qualitative

and quantitative changes in morphological and biochemical properties under ex-situ conditions. It has been stated that the changes in the phenological characteristics of plants such as morphological, flowering and maturation are caused by changes in environmental conditions (temperature, humidity, precipitation, light) and temperature is the main factor in these plants (Butola and Malik, 2012).

Karaman Ermenek District is the gateway between Central Anatolia and Mediterranean Regions in terms of both geography and climate; According to Davis's (1965 - 1988) grid system for Turkey, it enters the C4 square. As a result of the studies conducted in this area, it is reported that many different species are known as "thyme" are distributed in this region (Davis, 1965-1988; TUBİVES, 2011; Maral and Kırıcı, 2018).

In this study, it was aimed to determine the yield potential, essential oil content and essential oil components of *O. dubium* samples collected at different altitudes in the conditions of Ermenek district of Karaman and Adana.

MATERIALS and METHODS

Plant material and experimental location

Plant materials from *O. dubium* were collected from five different altitudes (467, 1096, 1331, 1332 and 1478 m, plant IDs 23, 11, 29, 30 and 26 respectively) during its flowering stage in July 2012 from Ermenek (Southern part of Turkey). Plants were described by Prof. Dr. Necattin Türkmen, Prof. Dr. Rüstü Hatipoğlu and Prof. Dr. Saliha Kırıcı. In March and April 2014, samples were taken from the previously identified plants. The ones rooted in the violins were planted on the trial site in Ermenek on 14.04.2014 and on the test site in Adana on 23.06.2014.

Climatic Properties of Ermenek Trial Area

Climate data for 2014, 2015 and 2016 years of the trial are given in Table 2. In general, the Ermenek climate belongs to the subtype of Mediterranean-influenced climates (Mediterranean transitional climate). The average annual temperature is between 0.5-24.6 °C. The coldest month is January. The average annual rainfall is 564 mm.

Climate Characteristics of the Trial Area in Adana

In the Adana province where the trial was conducted, the winters are warm and rainy, and the hot and arid Mediterranean climate prevails in summer. The Climate data of the experiment are given in Table 1.

Soil Properties of the Experimental Area in Ermenek

Some physical and chemical properties of soils in the area where the experiment is carried out are given in Table 2. The soil pH (7.56) in the area where the

experiment was established generally shows neutral characteristics. The salt content is 0.17%, available P_2O_5 is 5.9 ppm.

Table 1 Some Important Climate Data for 2014, 2015, 2016 and Long Years
Çizelge 1. 2014, 2015, 2016 ve Uzun Yıllara Ait Bazı Önemli İklim Verileri

Ermenek		Months												
Climate Factor	Year	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Av.
Av. Temp °C	2014	4.8	5.4	7.5	11.6	14.6	19.0	23.8	24.6	18.6	13.1	7.2	6.0	13.0
	2015	1.8	2.0	6.0	8.7	15.7	17.9	23.0	23.4	22.3	15.1	9.7	4.1	12.5
	2016	0.5	6.5	7.2	14.0	14.5	21.2	24.5	24.6	19.9	13.4	9.0	4.0	13.3
	Av. (2012-2016)	2.3	4.7	6.9	11.4	15.4	19.7	23.5	24.0	19.6	14.0	8.9	4.2	12.9
	Total													
Precip. mm	2014	71.8	9.7	15.9	15.6	82.8	35.5	14.6	5.0	9.6	48.7	55.2	66.7	431
	2015	25.6	108	77.6	2.9	17.4	38.5	2.2	29.6	4.2	48.1	11.8	9.6	376
	2016	78.3	22.9	53.5	20.6	63.3	5.5	0.0	2.1	7.4	7.2	37.5	172	470
	Av. (2012-2016)	60.0	44.4	41.9	22.7	47.9	19.9	4.35	9.2	5.6	36.6	27.0	74.1	394
	Total													
Adana														Av.
Av. Temp °C	2015	9.4	11.1	14.5	16.9	22.5	25.0	28.5	30.0	28.4	23.4	17.5	11.8	19.9
	2016	8.7	13.9	15.7	20.5	21.6	27.1	29.6	29.9	26.3	23.1	15.6	9.0	20.0
	Long Year	9.6	10.5	13.5	17.5	21.7	25.6	28.1	28.4	25.9	21.3	15.4	11.2	19.0
Precip. mm	2015	108	122	135.1	21.5	65.7	4.8	0.40	10.9	130	32.1	10.5	0.6	641.
	2016	138	83.1	67.1	36.6	87.9	45.6	0.20	4.4	39.8	0.0	11.9	216.3	731
	Long Year	110	84.2	66.8	55.2	47.3	20.0	7.1	5.2	15.8	40.7	73.7	128.7	654
Total														

Source: Regional Directorate of State Meteorology

Table 2. Some Physical and Chemical Properties of Ermenek Site
Çizelge 2. Ermenek Deneme Alanının Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Depth (cm)	texture			pH	Salt	Lime	P_2O_5	K_2O	Fe	Zn	Mn	Cu
	Sand (%)	Plate (%)	Clay (%)									
0-30	46.0	25.5	28.5	7.56	0,17	63.1	5.9		3.3	0.6	2.2	0.8

Soil Properties of the Trial Area in Adana

The area of the trial area is the enticolites formed by very young alluvial deposits brought by the Seyhan River Side Rivers. Her breathing is moderate to

profound. There are only A and C horizons. The territory where the experiment is established is usually loamy. Some physical and chemical properties of soils in the area where the experiment is carried out are given in Table 3.

Table 3. Some Physical and Chemical Properties of Experimental Ground Soils
Çizelge 3. Adana Deneme Alanının Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

depth (cm)	pH	Salt (%)	P_2O_5	KDK	K_2 -)	N 3-)	Lime (%)
0-20	7.29	0.055	14.17	30.40	900	0.112	33.02
20-40	7.28	0.060	3.42	29.30	800	0.056	35.28
40-60	7.29	0.052	2.43	34.78	850	0.056	40.52

1-) Extension of $NaHCO_3$

2-) Extension of HNO_3

3-) Total nitrogen determined by Kjeldahl method

Treatments, harvesting and records

The places where *O. dubium* plants can be found in the Ermenek flora were determined according to Flora of

Turkey (Davis, 1982). In March and April 2014, 10 cm long steels were taken from the previously determined altitudes. Plants rooted in viols were spoiled in the

trial field in Adana and Ermenek. Planting and harvest dates of plants are given in Table 4. The experiment was set up in rows at a distance of 40 x 60, with 15 plants from each sample. The trial area was taken regularly with drip irrigation method. During the yield period, 6 kg nitrogen (N) and 4 kg phosphorus (P) were given per decare per year. During the research, weed control was provided by mechanical methods in the experiment. Plants in the Ermenek trial area were harvested during the flowering period in 2014, 2015 and 2016. The plants in the Adana trial area were harvested during the flowering period in

2015 and 2016 due to the lack of flowering due to late planting in 2014. The plants were cuttings from 8-10 cm surface and weighed for yield calculation. After harvesting, the essential oils were extracted using a neo-Clevenger type apparatus after the plants were dried in the shade.

At the harvest, all plants were determined plant height (cm), number of branches (number/plant), fresh and dry herbage weight (g/plant), dry leaf weight (g/plant), essential oil content and component.

Table 4. Planting and Harvesting Dates of Plants in Adana and Ermenek.

Çizelge 4. Adana ve Ermenek'teki Bitkilerin Dikim ve Hasat Tarihleri

Type Id (Altitude)	Date of Planting	Ermenek			Adana		
		2014	2015	2016	2014	2015	2016
11 (1096 m)	14.04.2014	13.06	28.06	14.06	23.06.2014	28.05	16.05
23 (467 m)		17.06	21.07	10.06		17.06	16.05
26 (1478 m)		28.05	15.06	08.06		28.05	12.05
29 (1331 m)		21.06	27.06	18.06		10.06	18.05
30 (1332 m)		15.06	28.06	10.06		02.06	16.05

Isolation of essential oils

To isolate the essential oil, 40 g of dried herb was extracted with 500 ml of distilled water with a neo-Clevenger type apparatus. Hydro-distillation was carried out for 3 hours. The essential oils obtained were dried over anhydrous sodium sulfate and stored at +4 °C in amber colored bottles (Turkmen and Mert 2020).

GC-MS Analyses

Analysis of the essential oils carried out by using Thermo Scientific Focus Gas Chromatograph equipped with MS, auto sampler and TR-5MS (5% Phenyl Polysilphenylene-siloxane, 0.25 mm x 30 m i.d, film thickness 0.25). The carrier gas was helium (99.9%) at a flow rate of 1 mL min⁻¹; ionization energy was 70 eV. Mass range m/z 50-650 amu. Data acquisition was scan mode. MS transfer line temperature was 250 °C, MS Ionization source temperature was 220 °C, the injection port temperature was 220 °C. The samples were injected with 250 split ratio. The injection volume was 1 µl. Oven temperature was programmed in the range of 50 to 220 °C at 3 °C min⁻¹. The structure of each compound was identified by comparison with their mass spectrum (Wiley9). The data were handled using Xcalibur software program (Maral et al. 2017).

Statistical analysis

The mean, minimum, maximum and standard deviation values for individual characteristics were determined using the SPSS package program.

RESULTS and DISCUSSION

Plant Height

The first-year average plant height of the plants grown in Ermenek varied between 22.13 - 42.08 cm, the average was 34.53 cm, and the highest plant height was taken as 42.08 cm in sample number 30. The second-year averages varied between 22.50-52.25 cm, the average was 38.85 cm and the highest plant height reached 52.25 with the sample 23. In the third year, average plant height varied between 24.22-60.27 cm, with an average of 47.71 cm, and the highest plant height was obtained in sample 26 with 60.27 cm (Table 5). For the Ermenek location, samples 23, 26 and 30 showed superior characteristics in terms of plant height compared to the others.

The average plant height of the plants growing in Adana varied between 35.66 -45.22 cm in the first year, with an average of 41.62 cm. The highest plant height was taken from sample 11 with 45.22 cm. In the second year, the highest plant height was taken from sample 30 with 55.4 cm. The lowest plant height was 36.33 cm from sample 23 (Table 5). For the Adana location, samples 11 and 30 showed superior characteristics compared to the others.

In terms of plant height, sample number 23 shows superior characteristics in the Ermenek location, samples numbered 11, 26 and 29 show superior characteristics in the Adana location. The sample number 30 was similar in both locations.

Turgut et al. (2017) reported that the plant height of *O. dubium* varied between 37.18 cm and 72.60 cm, while the average plant height was determined as 51.27 cm. As a result of our research, average plant

height average values obtained in Adana were longer than in the first year in the second year. This situation is in parallel with the above study. The mean plant height values obtained in Ermenek were lower than Turgut et al. (2017). It is thought that this situation is related to the height of the places where plants grow

at sea level. Turgut et al. (2017) conducted their study at an altitude of 33 m above sea level, while this study was conducted at an altitude of 1250 m above sea level. It is thought that above sea level shortening of the plant height because of the increasing sunshine intensity.

Table 5. Plant Height of *O. dubium* Grown in Ermenek and Adana

Çizelge 5. Ermenek ve Adana'da Yetiştirilen *O. dubium* Örneklerinin Bitki Boyu

Plant ID Altitude	Ermenek				Adana			
	2014	2015	2016	Average	2015	2016	Average	
11 (1096 m)	Min.	14	14	18		35	40	
	Max.	45	30	31		58	62	
	Av.	22.13	22.50	24.22	22.95	45.22	48.36	46.79
		n=8	n=8	n=8		n=4	n=4	
	SD	±9.20	±6.0	±5.86		±9.53	±9.03	
23 (467 m)	Min.	25	38	38		25	29	
	Max.	72	72	74		51	46	
	Av.	38.2	52.25	52.60	47.68	35.66	36.33	35.99
		n=8	n=8	n=8		n=13	n=13	
	SD	±6.0	±12.78	±14.51		±13.61	±8.73	
26 (1478 m)	Min.	16	18	44		42	47	
	Max.	49	52	71		47	55	
	Av.	36.56	38.60	60.27	45.14	44.50	51.0	47.75
		n=9	n=10	n=10		n=8	n=8	
	SD	±9.97	±11.29	±7.74		±10.40	±11.88	
29 (1331 m)	Min.	28	26	39		36	40	
	Max.	36	44	56		44	53	
	Av.	32.67	34.60	46.50	37.92	40.67	45.0	42.83
		n=10	n=10	n=8		n=8	n=8	
	SD	±4.16	±5.77	±6.41		±4.16	±7.0	
30 (1332 m)	Min.	33	42	50		33	35	
	Max.	41	53	62		58	68	
	Av.	42.08	46.33	55.00	47.80	42.08	55.4	48.74
		n=13	n=13	n=13		n=13	n=10	
	SD	±6.58	±5.85	±5.03		±6.58	±12.06	
Average	34.53	38.86	47.72	40.37	41.63	47.22	44.42	

n: Number of plants, SD: Standard Deviation

Number of Branches

While the average number of branches of plants grown in Ermenek varies between 9.13 and 17.15 number per plant in the first year, the average is 12.54 numbers per plant. The highest number of branches was obtained from sample 30 with 17.15 numbers per plant. In the second year, the average number of branches varied between 9.75-30.13 numbers per plant and the average was 18.43 numbers per plant. The highest number of branches was taken from sample 23 with 30.13 numbers per plant. In the third year, the average number of branches varied between 18.56-31.80 numbers per plant and the average was 25.85 numbers per plant. The highest number of branches was obtained from sample 23 with 31.80 numbers per plant (Table 6). In terms of the number of branches per plant, samples numbered 30 in the first year and 23 in the second and third years reached higher values.

The average number of branches per plant of the plants growing in Adana varied between 9.66-19.38 numbers per plant in the first year and the average was 14.62 numbers per plant. The highest number of branches was taken from sample 30 with 19.38. In the second year, the number of branches varied between 11.0 and 31.0 numbers per plant, with an average of 20.58 numbers per plant. The highest number of branches was taken from sample 30 with 31.0 numbers per plant (Table 6). In terms of the number of branches per plant, the sample number 30 reached the highest values.

Samples 23 and 29 in Ermenek and Samples 11 and 26 reached the higher number of branches in Adana. Sample 30 had similar values at both locations.

Turgut et al. (2017) reported that the number of branches of *O. dubium* in the plant ranged from 12.9

to 54.67, with an average of 31.73. The results of the 1st and 2th year results obtained by Turgut et al. (2017), the results of the third year showed similarity.

Table 6. Number of Branches of *O. dubium* Grown in Ermenek and Adana

Çizelge 6. Ermenek ve Adana'da Yetiştirilen O. dubium Örneklerinin Bitkideki Dal Sayısı

Plant ID Altitude	Ermenek				Adana			
		2014	2015	2016	Average	2015	2016	Average
11 (1096 m)	Min.	4	4	8		9	11	
	Max.	14	15	30		16	17	
	Av.	9.13	9.75	18.56	12.48	12.25	13.75	13.0
		n=8	n=8	n=8		n=4	n=4	
	SD	±3.13	±3.69	±7.66		±2.98	±2.50	
23 (467 m)	Min.	4	5	12		4	8	
	Max.	28	56	66		18	14	
	Av.	13.8	30.13	31.80	25.24	9.66	11.0	10.33
		n=8	n=8	n=8		n=13	n=13	
	SD	±12.13	±9.34	±8.91		±7.37	±3.0	
26 (1478 m)	Min.	6	6	12		17	21	
	Max.	16	18	38		18	34	
	Av.	10	11.30	26.91	16.07	17.50	27.50	22.5
		n=9	n=10	n=10		n=8	n=8	
	SD	±3.20	±4.24	±8.92		±8.58	±10.47	
29 (1331 m)	Min.	9	15	21		11	18	
	Max.	18	31	43		18	22	
	Av.	12.67	22.30	29.25	21.40	14.33	19.67	17.0
		n=10	n=10	n=8		n=8	n=8	
	SD	±4.72	±5.20	±6.40		±3.51	±2.08	
30 (1332 m)	Min.	6	16	14		6	12	
	Max.	37	23	27		37	46	
	Av.	17.15	18.67	22.75	19.52	19.38	31.0	25.19
		n=13	n=13	n=13		n=13	n=10	
	SD	±9.50	±3.78	±5.96		±8.91	±10.80	
Average	12.55	18.43	25.85	18.94	14.62	20.58	17.60	

n: Number of plants, SD: Standard Deviation

Fresh Herb Weight

The fresh herb weights of plants growing in Ermenek in the first year varied between 18.0-118.9 g and the average was 60.37 g. The highest weight of 118.9 g was obtained from sample 30. Fresh herb weights of other samples were measured as 84.40, 48.56, 32.0 and 18 g, sample 23, 26, 29 and 11 respectively. In the second year, fresh herb weights varied between 19.75-160.5 g and the average was 95.23 g. The highest weight was taken from sample 23 with 160.5 g. The weights of the other samples were determined as Sample 30 (145.7 g), Sample 29 (99.9 g), Sample 26 (50.30 g), and Sample 11 (19.75 g). In the third year, the average fresh herb weights varied between 24.22-185.7 g and the average was 143.96 g. While the highest fresh herb weight was obtained from sample 30 with 185.7 g, sample 23 with 178.1 g, sample 26 with 168.8 g, sample 29 with 163.0 g and sample 11 with 24.22 g followed (Table 7). In terms of fresh herb weight, samples 30 and 23 reached the highest values.

Fresh herb weights of the plants grown in Adana in the first year varied between 35.50 - 118.9 g, and the

average was 72.64 g. While the highest plant weight was obtained from sample 30 with 118.9 g, sample 26 with 109.5 g, sample 29 with 66.67 g, sample 11 with 35.50 g and sample 23 with 32.67 g followed it. In the second year, the average plant weight varied between 36.75-242.1 g and its average was 129.67 g. Sample 30 reached the highest plant weight with 242.1 g, followed by sample 26 with 195.5 g and sample 29 with 131.7 g. The lowest fresh herb weight was obtained from sample 11 with 36.75 g (Table 7). In terms of fresh herb weight, sample 30 reached the highest value.

In terms of fresh herb weight, sample number 23 and 30 reached higher fresh herb weight in Ermenek and sample number 30 in Adana. Sample 29 had similar values.

Turgut et al. (2017), *O. dubium* biomass yield, volatile oil content and carvacrol in their study to determine the ratio of fresh herb per plant yield between 41.93 and 185.44 g reported that the average is 94.05 g. When the results of the study were compared with the previous studies, the average values obtained in Ermenek for the first year were lower, the values for

the second year were similar and the values for the third year were higher. According to the values obtained in Adana, the lower value (32.67 g) obtained

in this study was lower and the upper value (242.10 g) was higher.

Table 7. Fresh Herbage Weight of *O. dubium* Grown in Ermenek and Adana

Çizelge 7. Ermenek ve Adana'da Yetiştirilen O. dubium Örneklerinin Taze Herba Ağırlığı

Plant ID Altitude	Ermenek				Adana			
		2014	2015	2016	Average	2015	2016	Average
11 (1096 m)	Min.	10	10	11		23	30	
	Max.	32	41	44		45	47	
	Av.	18	19.75	24.22	20.65	35.50	36.75	36.12
		n=8	n=8	n=8		n=4	n=4	
	SD	±2.82	±10.95	±10.77		±10.01	±7.41	
23 (467 m)	Min.	36	30	58		21	34	
	Max.	240	368	375		44	52	
	Av.	84.40	160.5	178.1	141.0	32.67	42.33	37.5
		n=8	n=8	n=8		n=13	n=13	
	SD	±8.30	±5.39	±12.79		±11.50	±9.07	
26 (1478 m)	Min.	8	8	58		102	126	
	Max.	102	111	317		117	265	
	Av.	48.56	50.30	168.8	89.22	109.5	195.5	152.5
		n=9	n=10	n=10		n=8	n=8	
	SD	±4.96	±8.32	±9.37		±10.40	±7.70	
29 (1331 m)	Min.	19	61	41		47	97	
	Max.	47	139	296		82	178	
	Av.	32	99.9	163	98.30	66.67	131.7	99.18
		n=10	n=10	n=8		n=8	n=8	
	SD	±14.10	±5.21	±7.0		±7.89	±4.74	
30 (1332 m)	Min.	40	103	111		40	41	
	Max.	216	220	286		234	401	
	Av.	118.9	145.7	185.7	150.1	118.9	242.1	180.5
		n=13	n=13	n=13		n=13	n=10	
	SD	±7.84	±6.60	±7.23		±7.84	±12.64	
Average	60.37	95.23	143.96	99.85	72.65	129.68	101.16	

n: Number of plants, SD: Standard Deviation

Dry Herb Weight

The average dry herb weights of the plants grown in Ermenek in the first year varied between 9.88-52.08 g and the average was 25.5 g. Sample 30 reached the highest dry herb weight with 52.08 g, followed by sample 23 with 30.4 g, sample 26 with 19.56 g, sample 29 with 13.33 g and sample 11 with 9.88 g. Second-year averages varied between 11.50 and 71.33 g, with an average of 35.84 g. While the highest plant weight was taken from sample 30 with 71.33 g, the lowest weight was taken from sample 11 with 11.50 g. In the third year, dry herb weights varied between 15.33-115.5 g and the average was 69.72 g. The highest dry herb weight was obtained from sample 23 with 115.5 g, followed by sample 30 with 78.0 g, sample 29 with 74.13 g, sample 26 with 65.64 g and sample 11 with 15.33 g (Table 8). In terms of dry herb weight, samples 23 and 30 reached the highest value similar to fresh herb weight.

The average dry herb weights of the plants grown in Adana varied between 19.33 - 54.85 g in the first year

and the average was 34.37 g. The highest dry herb weight was obtained from sample 30 (54.85 g), followed by sample 26 (44.0 g), sample 29 (32.67 g), sample 11 (21.0 g) and sample 23 (19.33 g). In the second year, the average dry herb weight varied between 20.0-105.7 g and the average was 61.63 g. The highest dry herb weight was obtained from sample 30 with 105.7 g, followed by sample 26 with 89.50 g, sample 29 with 67.33 g, sample 23 with 25.66 g and sample 11 with 20.0 g (Table 8). In terms of dry herb weight, sample number 30 reached the highest value as in fresh herb weight.

In terms of dry herb weight, sample number 23 was superior in Ermenek and samples number 11, 26, 29 and 30 were superior in Adana.

Butola and Malik (2012), emphasize that the cultivation of medicinal plants is necessary for the sustainable use of plants in the long term and that they will exhibit qualitative and quantitative changes in the morphological and biochemical properties of plants during ex-situ conditions. They stated that the changes

in the phenological characteristics of the plants such as morphological, flowering and maturation were caused by the change of environmental conditions (temperature, humidity, rainfall, light) and that temperature was the main factor in these plants.

Turgut et al. (2017) reported that the yield of dry herb

per plant of *O. dubium* ranged from 21.64 to 95.52 g, with an average of 50.39 g. While the results obtained in Adana were similar to the above study, the dry herb yield values obtained in the 1st and 2nd years of the experiment in Ermenek were lower compared to the above study and 3rd year results were higher.

Table 8. Dry Herbage Weight of *O. dubium* Grown in Ermenek and Adana

Çizelge 8. Ermenek ve Adana'da Yetiştirilen *O. dubium* Örneklerinin Kuru Herba Ağırlığı

Plant ID Altitude	Ermenek				Adana			
		2014	2015	2016	Average	2015	2016	Average
11 (1096 m)	Min.	6	6	4		12	16	
	Max.	16	22	33		31	28	
	Av.	9.88	11.50	15.33	12.23	21.0	20.0	20.5
		n=8	n=8	n=8		n=4	n=4	
	SD	±3.72	±5.50	±10.22		±9.41	±5.47	
23 (467 m)	Min.	11	11	20		16	18	
	Max.	85	83	363		25	33	
	Av.	30.4	34.88	115.5	60.26	19.33	25.66	22.49
		n=8	n=8	n=8		n=13	n=13	
	SD	±31.14	±25.99	±15.67		±4.93	±7.50	
26 (1478 m)	Min.	4	4	27		40	58	
	Max.	40	48	124		48	121	
	Av.	19.56	22.20	65.64	35.80	44.0	89.50	66.75
		n=9	n=10	n=10		n=8	n=8	
	SD	±13.15	±13.14	±33.59		±5.88	±31.13	
29 (1331 m)	Min.	8	24	40		19	54	
	Max.	19	52	102		41	81	
	Av.	13.33	39.30	74.13	42.25	32.67	67.33	50.0
		n=10	n=10	n=8		n=8	n=8	
	SD	±5.50	±8.19	±20.97		±11.93	±13.50	
30 (1332 m)	Min.	18	49	49		19	16	
	Max.	104	108	108		115	176	
	Av.	52.08	71.33	78	67.13	54.85	105.7	80.27
		n=13	n=13	n=13		n=13	n=10	
	SD	±9.47	±32.0	±24.50		±30.55	±54.18	
	Average	25.05	35.84	69.72	43.54	34.37	61.64	48.0

n: Number of plants, SD: Standard Deviation

Dry Leaf Weight

The average dry leaf weight of the plants grown in Ermenek in the first year varied between 6.75-25.85 g, and the average was 14.38 g. The highest dry weight was obtained from sample 30 with 25.85 g, followed by sample 23 with 18.4 g and sample 29 with 10.67 g. The lowest leaf weight was taken from example 11 with 6.75 g. In the second year, the average leaf weight varied between 7.75 - 35.33 g and the average was 20.57 g. The highest dry leaf weight was obtained from sample 30 with 35.33 g. The lowest weight was taken from example 11 with 7.75 g. In the third year, the average dry leaf weight varied between 9.11-62.20 g and the average was 40.44 g. While the highest weight was obtained from sample 23 with 62.20 g, sample 29 with 47.63 g, sample 30 with 42.0 g, and sample 26 with 41.27 g followed it. The lowest dry leaf weight was

obtained from example 11 with 9.11 g (Table 9). In terms of dry leaf weight, samples number 30 and 23 performed better.

The average dry leaf weight of the plants grown in Adana in the first year varied between 12.70 - 40.69 g, and the average was 24.76 g sample 30 reached the highest dry leaf weight with 40.69 g, followed by 32.50 g sample 26, 23.67 g sample 29, 14.25 g sample 11 and 12.70 g sample 23, respectively. In the second year, dry leaves averages ranged from 14.80 to 70.50 g, while the average was 36.89 g. Sample 30 reached the highest leaf weight with 70.50 g, followed by sample 26 with 47.50 g, sample 29 with 36.33 g, sample 23 with 15.33 g and sample 11 with 14.80 g (Table 9). In terms of dry leaf weight, sample number 30 performed better.

Table 9. Dry Leaf Weight of *O. dubium* Grown in Ermenek and Adana

Çizelge 9. Ermenek ve Adana'da Yetiştirilen *O. dubium* Örneklerinin Kuru Yaprak Ağırlığı

Plant ID Altitude	Ermenek				Adana			
		2014	2015	2016	Average	2015	2016	Average
11 (1096 m)	Min.	4	4	2		8	11	
	Max.	11	17	18		21	21	
	Av.	6.75	7.75	9.11	7.87	14.25	14.80	14.52
		n=8	n=8	n=8		n=4	n=4	
	SD	±2.65	±4.30	±6.50		±6.23	±4.57	
23 (467 m)	Min.	7	8	13		10	10	
	Max.	47	45	191		17	21	
	Av.	18.4	21.50	62.20	34.03	12.70	15.33	14.01
		n=8	n=8	n=8		n=13	n=13	
	SD	±16.96	±13.77	±9.72		±3.78	±5.50	
26 (1478 m)	Min.	3	3	18		29	33	
	Max.	21	21	77		36	62	
	Av.	10.22	11.50	41.27	17.16	32.50	47.50	40.0
		n=9	n=10	n=10		n=8	n=8	
	SD	±5.69	±5.29	±19.08		±6.02	±12.39	
29 (1331 m)	Min.	6	17	28		15	31	
	Max.	11	36	62		30	43	
	Av.	10.67	26.80	47.63	28.36	23.67	36.33	30.0
		n=10	n=10	n=8		n=8	n=8	
	SD	±4.50	±5.92	±10.80		±7.67	±6.11	
30 (1332 m)	Min.	9	25	28		14	12	
	Max.	52	62	57		82	117	
	Av.	25.85	35.33	42	34.39	40.69	70.50	55.59
		n=13	n=13	n=13		n=13	n=110	
	SD	±12.87	±14.97	±11.91		±21.86	±13.58	
Average	14.38	20.58	40.44	25.13	24.76	36.89	30.82	

n: Number of plants, SD: Standard Deviation

In terms of dry leaf weight, sample number 23 was superior in Ermenek and samples number 11, 26, 29 and 30 were superior in Adana.

Turgut et al. (2017) reported that dry leaf yield per plant of *Origanum dubium* ranged from 14.80 to 48.77 g, with an average of 26.99 g. When we look at the dry leaf weights obtained in Ermenek, the dry leaf yield values of only sample 11 were lower and the other samples 23, 26, 29 and 30 were higher. When we look at the values obtained in Adana, the dry leaf yield values of only sample 23 were lower and the other samples 11, 26, 29 and 30 had higher values.

Essential Oil Content

The essential oil content of the plants cultivated in Ermenek varied between 2.06-5.58% in the first year and the average was 4.52%. Sample 30 had the highest essential oil content with 5.58%. In the second year, essential oil contents varied between 1.20% and 8.20% and its average was 4.71%. While the highest essential oil content was taken from sample 11 with 8.20%. In the third year, the average of essential oil contents varied between 4.32-8.0% and the average was 6.06%. Sample 30 reached the highest essential oil content

with 8.0% (Table 10). In terms of essential oil content, samples 30 and 11 performed better.

The essential oil contents of the plants cultivated in Adana varied between 2.26-6.54% in the first year and the average was 3.83%. In the Adana location, the highest essential oil content was obtained from sample 30 with 6.54%. In the second-year the averages changed between 4.26% and 7.84% and the average was 5.98%. The highest essential oil content was obtained from sample 11 with 7.84% (Table 11). In terms of essential oil content, samples 30 and 11 performed better.

When Ermenek and Adana locations are compared in terms of average values of essential oil content; Samples 23 and 26 in Ermenek and Samples 11, 29 and 30 in Adana reached higher essential oil content.

However, samples 11 and 30 performed better at both locations.

Turgut et al. (2017) According to the *O. dubium* essential oil content ranged between 6-9%, the average was 7.36%. The results of the essential oil in Ermenek compared to the study of the aforementioned researchers in the second year of sample 11 (8.20%), in

Table 10 Essential Oil Components of *O. dubium* Plants Cultured in Ermenek for 2014, 2015 and 2016 (%)

Çizelge 10. Ermenek'te Kültürlenen O. dubium Bitkilerinin Uçucu Yağ Bileşenleri (%)

RT	Essential Oil Content Components	2014					2015					2016				
		5.00	5.16	4.80	2.06	5.58	8.20	4.60	6.80	2.75	1.20	4.76	7.94	5.28	4.32	8.0
		11	23	26	29	30	11	23	26	29	30	11	11	23	26	29
		1096	467	1478	1331	1332	1096	467	1478	1331	1332	1096	1096	467	1478	1331
		m	m	m	m	m	m	m	m	m	m	m	m	m	m	m
3.41	α-Pinene	0.29	0.54	0.34	1.07	0.77	0.22	0.44	0.39	0.34	0.68	nd	0.47	0.27	0.54	0.47
3.46	α-phellandrene	0.11	1.13	0.81	1.44	1.58	nd	0.94	0.94	0.56	1.52	nd	0.96	0.58	0.96	1.14
4.04	Camphene	0.12	0.12	nd	0.40	0.16	nd	nd	nd	nd	0.16	nd	0.11	nd	0.16	nd
5.98	Myrcene	nd	1.43	0.77	0.99	1.58	nd	1.18	0.90	0.61	1.06	nd	1.15	0.56	1.00	1.05
6.01	β-Pinene	0.34	0.10	nd	0.18	0.16	0.27	0.27	0.13	nd	0.14	nd	nd	nd	nd	0.16
6.36	α-Terpinene	0.28	1.62	0.74	2.18	1.53	0.18	1.22	0.84	0.57	1.20	nd	1.28	0.60	1.11	1.02
6.81	D-Limonene	nd	0.16	nd	0.34	0.19	nd	0.19	nd	nd	0.14	nd	0.15	nd	0.14	0.11
7.04	Eucalyptol	0.22	0.23	nd	0.26	0.30	0.11	0.31	0.11	nd	0.33	0.13	0.13	nd	0.13	0.13
8.18	γ-terpinene	0.39	8.90	3.04	7.55	5.86	0.28	7.64	3.72	4.88	5.02	0.16	7.27	2.92	8.40	4.12
8.96	P-cymene	2.25	6.02	2.61	44.8	7.41	1.21	5.64	3.11	5.28	5.21	0.33	4.72	1.90	6.62	3.66
14.86	Linalooloxide	nd	nd	0.34	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.32	nd	nd	0.14	nd
15.76	Sabinenehydrate	0.15	0.59	0.12	0.13	0.96	0.21	0.48	0.40	nd	0.41	0.30	0.37	nd	nd	0.67
18.83	4-Thujanol	nd	nd	0.12	nd	0.30	nd	0.16	0.11	0.13	0.12	nd	0.13	0.28	0.60	0.14
19.07	Linalool	50.9	0.15	21.5	0.26	0.38	62.0	0.24	27.7	0.14	0.15	66.1	0.16	27.8	1.12	0.14
20.31	Caryophyllene	0.12	0.27	0.20	0.60	0.12	0.17	0.25	0.31	0.79	0.22	0.12	0.22	0.28	0.82	0.13
20.83	4-Terpeneol	0.29	0.44	0.30	1.19	0.64	0.19	0.41	0.30	nd	0.66	nd	0.37	0.13	0.27	0.27
20.98	Thymolmethylether	nd	0.24	nd	0.19	nd	nd	0.27	nd	nd	nd	nd	0.17	nd	0.17	nd
24.38	Isoborneol	0.47	0.38	0.27	0.59	0.41	0.23	nd	nd	0.27	nd	0.21	0.43	nd	0.32	nd
40.80	Thymol	nd	nd	2.25	1.17	1.57	nd	nd	2.25	nd	nd	nd	nd	0.23	nd	0.30
40.79	Carvacrol	43.1	76.7	65.6	34.7	75.1	33.3	79.1	58.4	84.4	81.5	30.7	80.9	63.0	76.6	85.3
	Total (%)	99.0	99.0	99.0	97.9	99.0	98.4	98.7	99.6	97.9	98.5	98.3	99.0	98.6	99.1	98.8
	Number of Compounds	14	17	15	18	18	12	16	15	11	16	9	17	12	17	16

Table 11. Essential Oil Components of *O. dubium* Plants Cultured in Adana for 2015 and 2016
 Çizelge 11. Adana'da Kültürü Yapılan *O. dubium* Bitkilerinin Uçucu Yağ Bileşenleri

		2015						2016			
Essential Oil Content		4.40	3.35	2.26	2.60	6.54	7.84	6.08	4.26	4.92	6.83
		11	23	26	29	30	11	23	26	29	30
RT	Components	1096	467	1478	1331	1332	1096	467	1478	1331	1332
		m	m	m	m	m	m	m	m	m	m
3.41	α-Pinene	0.42	0.55	0.72	0.56	0.70	0.47	0.52	0.41	0.53	0.53
3.47	α-phellandrene	0.80	0.92	1.32	0.55	1.37	0.82	0.91	0.70	0.89	0.93
4.04	Camphene	0.12	0.14	0.12	0.25	0.12	0.13	0.11	nd	0.15	0.13
4.76	β-pinene	nd	0.11	0.15	0.11	0.13	nd	0.11	nd	nd	0.10
6.01	Myrcene	0.86	1.05	1.23	0.60	1.31	0.95	1.02	0.84	0.91	1.07
6.36	α-Terpinene	1.17	1.34	0.90	0.81	1.25	1.13	1.34	0.73	0.91	1.31
6.85	D- Limonene	nd	0.20	0.16	0.16	0.18	0.13	0.16	nd	0.13	0.15
7.04	Eucalyptol	0.15	0.42	0.49	nd	nd	0.12	0.17	0.37	nd	0.16
7.09	Sabinene	nd	nd	nd	0.12	0.25	0.11	0.22	nd	0.11	0.13
8.18	γ-terpinene	2.26	6.91	2.59	3.38	4.83	5.52	6.69	2.37	6.94	6.65
8.96	P-cymene	1.14	4.25	5.20	17.2	6.18	4.83	4.44	3.19	6.42	5.09
15.76	cis-Sabinene hydrate	0.66	0.83	1.04	nd	0.17	0.71	nd	0.62	0.40	0.69
18.82	4-Thujanol	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.80	nd	0.11	nd
19.07	Linolool	10.3	0.23	nd	0.18	0.10	13.9	nd	nd	nd	nd
20.31	Caryophyllene	0.18	nd	nd	0.27	0.11	nd	nd	nd	0.75	nd
20.84	4-Terpineol	0.41	0.34	1.00	0.79	0.43	0.33	0.32	0.31	0.23	0.37
24.41	Isoborneol	0.12	0.71	nd	0.49	0.31	0.42	nd	nd	0.29	0.37
40.83	Thymol	nd	nd	0.41	nd	nd	nd	nd	0.60	nd	nd
41.62	Carvacrol	80.3	80.9	83.6	72.8	80.9	69.3	81.7	88.4	79.8	81.0
Total (%)		99.0	98.9	99.0	98.4	98.4	98.9	98.5	98.6	98.5	98.7
Number of Compounds		14	15	14	15	16	15	14	11	15	15

the third year of sample 23 (7.94%), in the second year of sample 26 (6.80%) and in sample 30 of sample 3. Similar results were obtained in (8.0%) and lower values were obtained in other samples. Results of the study in Adana have lower values. Tinmaz et al. (2002), although it seems that the percentage of essential oil decreased by the cultivation of plants, the amount of essential oil increased in most of the plants transferred from the natural environment to the culture medium, but that the decrease in the essential oil of some populations was due to the differences in the vegetation period of the samples taken from the natural environment.

Essential Oil Components

In the study, the values of the essential oil components (%) of *O. dubium* samples taken from the natural flora collected in the Ermenek district of Karaman are given in Table 10.

When the essential oil components of Sample 11 were examined, linalool was the highest in the first year with 50.9%, followed by carvacrol with 43.1% and p-cymene with 2.25%. In the second year, the highest rate was linalool with 62.0%, carvacrol with 33.3% and p-cymene with 1.21%. In the third year, the highest value was linalool with 66.1%, followed by carvacrol with 30.7% and p-cymene with 0.33%. Compared to its

natural form, an increase in linalool ratio and a decrease in carvacrol ratio were observed.

Sample 23, the highest percentage of essential oil components in the first year was carvacrol, γ-terpinene and p-cymene (76.7%, 8.90% and 6.02% respectively). The second-year carvacrol ratio was 79.1%, the γ-terpinene ratio was 7.64% and the p-cymene ratio was 5.64%. 3. year carvacrol 80.9%, γ-terpinene 7.27% and p-cymene was determined as 4.72% compared with the natural form of carvacrol ratio increased, linalool, γ-terpinene and p-cymene ratio decreased.

In the essential oil of sample 26, the main component was carvacrol with 65.6%, linalool with 21.5%, γ-terpinene with 3.04% and p-cymene with 2.61%. In the second year, carvacrol ratio was 58.4%, linalool ratio was 27.7%, γ-terpinene ratio was 3.72 and p-cymene ratio was 3.11%. In the third year, the main components were carvacrol, linalool, γ-terpinene and p-cymene (63.0%, 27.8%, 2.92% and 1.90% respectively). When compared with its natural form, it is seen that the ratio of carvacrol increases.

Sample 29, the essential oil components in the first year were p-cymene 44.8%, carvacrol 34.7% and, γ-terpinene 7.55%. In the second year, carvacrol ratio was 84.4%, p-cymene ratio was 5.28% and γ-terpinene was 4.88%. The third year carvacrol ratio was 76.6%, the γ-terpinene was 8.40% and the p-cymene ratio was

6.62%. Compared to the natural form, the rate of carvacrol in the first year was lower than in the natural form and higher in the 2nd and 3rd years.

Sample 30, the essential oil components were carvacrol, p-cymene and γ -terpinene (75.1%, 7.41% and 5.86% respectively) in the first year, while carvacrol, p-cymene and γ -terpinene (81.5%, 5.21 and 5.02% respectively) in the second year, and carvacrol, γ -terpinene and p-cymene (85.3%, 4.12% and 3.66% respectively). Compared with the natural form of carvacrol ratio increased linalool, p-cymene and γ -terpinene ratio is seen to decrease (Table 7). As a result; essential oil components of *O. dubium* plants collected from nature and cultivated in Ermenek district of Karaman; Carvacrol, linalool, P-cymene and γ -Terpinene has been (Table 7).

In the study, the values of essential oil components (%) of *O. dubium* samples collected from natural flora collected in Adana are given in Table 11.

When the essential oil components of sample 11 were examined, carvacrol was the highest with 80.34% carvacrol, followed by linalool with 10.37%, γ -terpinene with 2.26% and p-cymene with 1.14%. In the second year, the highest rate was carvacrol with 69.31%, linalool with 13.95%, γ -terpinene with 5.52% and p-cymene with 4.83%. Compared to its natural form carvacrol ratio increased, linalool rate decreased.

Sample number 23, the highest rate of essential oil components in the first year was carvacrol, γ -terpinene and p-cymene (80.96%, 6.91% and 4.25% respectively), while in the second year carvacrol ratio was 81.75% and γ -terpinene ratio was 6.69%. The p-cymene ratio was 4.44%. When compared with its natural form, it is seen that the ratio of carvacrol increases and the ratio of linalool, γ -terpinene and p-cymene decreases.

In the essential oil of sample 26, the main components were carvacrol with 83.64%, p-cymene with 5.20% and γ -terpinene with 2.59%. The second-year carvacrol ratio was 88.47%, the p-cymene ratio was 3.19% and the γ -terpinene ratio was 2.37%. When compared with its natural form, it is seen that the ratio of carvacrol increases and other main components decrease.

Sample 29, the essential oil components for the first year were carvacrol 72.85%, p-cymene 17.28% and γ -terpinene 3.38%. In the second-year, carvacrol ratio was 79.81%, γ -terpinene ratio was 6.94% and p-cymene ratio was 6.42%. The carvacrol ratio was increased and γ -terpinene and p-cymene ratio decreased compared to its natural form.

Sample number 30, the essential oil components were carvacrol, p-cymene and γ -terpinene (80.98%, 6.18% and 4.83 % respectively) in the first year, while the second year was carvacrol, γ -terpinene and p-cymene (81.06, 6.65 and 5.09% respectively). Compared with the natural form of carvacrol ratio increased linalool, p-cymene and γ -terpinene ratio are seen to decrease

(Table 8).

As a result, the major components of *O. dubium* essential oil cultured in Adana were Carvacrol, P-cymene, γ -terpinene and linalool (Table 11). Again, as a result of this study, it was determined that the plants grown in Adana had a higher carvacrol ratio than the plants grown in Ermenek. Butola and Malik (2012), stated that the changes in the phenological characteristics of the plants such as morphological, flowering and maturation were caused by the change of environmental conditions (temperature, humidity, rainfall, light) and that temperature was the main factor in these plants. The chemical components of essential oils are affected by many endogenous and exogenous factors. Production of secondary metabolites and their qualities in medicinal and aromatic plants are directly related to various factors such as genetic characteristics, climatic conditions (light, temperature, rainfall, irrigation, soil, height, location, etc.), environment organisms, applied agro-techniques and post-production processing (Soltanbeigi and Sakartepe, 2020). Güneş (2005), in his study, reported that the rate of carvacrol decreased at low temperatures. It can be said that the high carvacrol ratio in plants grown in Adana is related to temperature.

Baser (1994), *Origanum* in a study on the essential components of essential oils vary according to the species, carvacrol, caryophyllene, p-cymene, γ -terpinene, linalool and terpinen-4-ol said that the main component. Mastro (1996) stated that although carvacrol and tymol are the main constituents of the genus essential oil of *Origanum*, some germplases have linalool, terpinen-4-ol and caryophyllene and with these results, there is a wide variability in terms of essential oil composition. Turgut et al. (2017) In their study on *O. dubium* in Antalya, reported that γ -terpinene, p-cymene, myrcene, and thujene were the highest components of carvacrol, respectively. Maral et al. 2017, in their study to determine the chemical composition and antioxidant properties of *O. dubium*, reported that 63.09% of the main component is carvacrol. In this study, the main components of carvacrol, linalool, p-cymene and γ -terpinene were determined in parallel with the above studies.

CONCLUSIONS

This study was conducted to determine the essential oil content and yield potential of *O. dubium* collected at different altitudes from nature in different locations.

In terms of average plant height, samples 23, 26 and 30 stood out in Ermenek, while samples 11 and 30 reached higher plant height in Adana. In particular, sample number 30 showed similar performance in both locations.

For Ermenek, sample 23 stood out in the average number of branches per plant, while the sample number 30 stood out in Adana. As with plant height, sample number 30 reached good values in both locations.

The highest fresh herb weight was obtained in sample 30 for both Ermenek and Adana. Dry leaf weight the average for Ermenek sample 30 had the highest value. For Adana the highest value was obtained in sample number 30.

While the highest dry herb weight was obtained from the sample number 23 in Ermenek, it was obtained in the sample number 30 in Adana.

The average essential oil content for Ermenek the highest rate was taken from sample number 30. For Adana the highest rate was again obtained in sample number 30.

It was determined that the main components of the essential oils of the plants grown in Ermenek were carvacrol; linalool and p-cymene, while for the ones grown in Adana, it was carvacrol.

As a result of the study, samples 23 and 30 for Ermenek conditions stood out among all other *O. dubium* samples examined in terms of agricultural characteristics, while only sample 30 for Adana conditions stood out. In terms of essential oil content, sample number 30 stood out in both locations. *O. dubium* samples showed very good performance in terms of both yield values and essential oil content.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Çukurova University Scientific Research Projects Number: 2F2011020 for supporting this work.

Researchers' Contribution Rate Statement Summary

The authors contributed equally to the article.

Conflict of Interest Statement

There is no conflict of interest between the article authors.

REFERENCES

- Ayanoğlu F, Mert A, Kaya DA 1999. Farklı IBA Dozlarının Doğal Olarak Yetişen Bazı Uçucu Yağ Bitkilerinin Köklenmeleri Üzerine Etkileri 1st International Symposium on Protection of Natural Environment and Ehrami Karaçam 23-25th September, Kütahya-Türkiye, s. 373-378.
- Başer KHC 1994. Essential Oils of *Lamiaceae* from Turkey: Recent Results. *Lamiales Newsletter*. 3: 6-11.
- Başer KHC 2001. Her Derde Deva Bir Bitki Kekik, *Bilim ve Teknik*, Mayıs, 2001, 74-77s.
- Bayraktar ÖV, Öztürk G, Arslan D 2017. Türkiye'de Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Pazarlamasındaki Gelişmelerin Değerlendirilmesi. *Tarla Bitkileri Me. Araş. Ens Dergisi*, 26(2): 216-229.
- Baytop T 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Nobel Yayınları, İstanbul, s. 253-255, Türkiye.
- Belen V 2012. *Salvia pilifera* Montbret & Aucher ex Bentham Collected from Different Areas Populations Variations and Analysis of the Essential Oil Components. Department of Biyology, Kahramanmaraş Sütçü İmam University (M.Sc.Thesis). (In Turkish with English abstract).
- Butola JS, Malik AR 2012. Phenology and Survival of Some Himalayan Medicinal Plants Domesticated at Different Altitudes. *Int. J. Med. Arom. Plants* 2(4):683-687.
- Cantino PD, Harley RM, Wagstaff SJ 1992. Genera of *Lamiaceae*: Status and Classification In: Harley, R.M. & Reynolds, T. eds, *Advances in Labiate Science*: 511-522. Kew: Royal Botanic Gardens.
- Ceylan A 1995. *Tıbbi Bitkiler I*, E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, (312), Bornova, İzmir, 140s.
- Davis PH, Mill R, Tan K 1982. *Flora of Turkey and The East Aegen Islands*, Vol:7, Edinburgh, Edinburgh University Press, Edinburgh, 1982.
- Duman H, Aytaç Z, Ekici M, Karavelioğulları FA, Dönmez A, Duran A 1996. Three New Species (*Labiatae*) from Turkey. *Flora Mediterranean* (ahead of print).
- Federov K 1974. Chromosome numbers of flowering plants, Otto Koeltz. Sci.Pub. Germany.
- Güneş A 2005. The Production of Thymoquinone From Thymol and Carvacrol By Using Zeolite Catalysts. İzmir Institute of Technology in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master Of Science.
- Harley RM, Atkins S, Budantsev A, Cantino PD, Conn BJ, Grayer R, Harley MM, de Kok R, Krestovskaja T, Morales R, Paton AJ, Ryding O, Upson T 2004. *Labiatae* In: Kubitzki, K. (ed.), *The Families and Genera of Vascular Plants*, vol. 7, pp. 167-275. Springer-Verlag, Berlin.
- Ietswaart JH 1980. The Taxonomic Revision of the Genus *Origanum*, (*Labiatae*) Leiden University Press, Leiden Botanical Series, Vol.4, The Hague-Boston-London, 14-115s.
- Kahraman A, Celep F, Doğan M 2009. Morphology, Anatomy and Palynology of *Salvia indica* L.(*Labiatae*). *World Applied Sciences Journal*, 6 (2):289-296
- Koyuncu O, Yaylacı ÖK, Öztürk D, Erkara İP, Savaroğlu F, Akçoşkun Ö, Ardiç M 2010. Risk Categories and Ethnobotanical Features of the *Lamiaceae* Taxa Growing Naturally in Osmaneli (Bilecik/Turkey) and environs. *Biological Diversity and Conservation*, 3(3): 31-45.

- Mastro GD 1996. Crop Domestication and Variability Within Accessions of *Origanum* Genus. Proceedings of the IPGRI International Workshop on *Oregano*, CIHEAM, Valenzano (Bari), p:34-48.
- Maral H, Türk M, Çalışkan T, Kafkas NE, Kırıcı S 2017. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils of Six Labiates Growing in Southern Turkey. Natural Volatiles and Essential Oils, 4(4), 62-68.
- Maral H, Kırıcı S 2018. Ermenek'te Kekik Olarak Adlandırılan Bitkilerin Uçucu Yağ Oran ve Bileşenlerinin Belirlenmesi. Ermenek Araştırmaları II, Palet Yayınları, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 699, ISBN:978-605-7600-05-9, Türkçe(Bilimsel Kitap).
- Soltanbeigi A, Sakartepe E 2020. Chemical Specification of Wild *Salvia tomentosa* Mill. Collected from Inner Aegean Region of Turkey. Journal of Medicinal and Spice Plants. 24 (1): 31-35.
- Tinmaz AB, Kürkçüoğlu M, Başer KHC, Öztürk M 2002. Marmara Bölgesi'ndeki İstanbul Kekiki (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*) Popülasyonlarının Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi., 14. İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir 465-472s.
- TUBİVES, 2011. <http://www.weski.tubitak.gov.tr/tubives/index.php?com=12210&v=karm>
- Turgut K, Özyiğit Y, Tütüncü B, Uçar Sözmen E 2017. Agronomic and Chemical Performance of Selected *Origanum dubium* Boiss. Clones for Industrial Use. Turk J Agric For 41: 272-277.
- Turkmen M, Mert A 2020. Effect of Different Nitrogen Doses on Coriander (*Coriandrum sativum* L.) Fresh Herba Essential Oil Components. Mustafa Kemal University Journal of Agricultural Sciences. 2020;25(3):309-15.
- TÜİK 2017. Türkiye İstatistik Kurumu Verileri <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=104&locale=tr>
- Yılar M, Kadioğlu İ, Telci İ 2017. Tokat İlinde Doğal Olarak Yetişen *Salvia virgata* Jacq. ve *Salvia candidissima* subsp. *candidissima* Vahl. Bitkilerinin Uçucu Yağ Kompozisyonlarının Belirlenmesi. Turkish Journal of Weed Science 20(1): 70-77.



Harran Ovasında Buğday Tarımının Son 20 Yılıın Sörveylerle İncelenmesi

İrfan ÖZBERK¹, Fethiye ÖZBERK², Fahriye İPEKSEVER³, İbrahim BİŞKEN⁴, Mehmet Fatih OLGUN⁵
Hakan YALÇINKAYA⁶, Muhammed Mustafa KAYAOĞLU⁷, Kübra KÖSE⁸, İsmail ŞAHAP⁹, Rehat TOPRAK¹⁰
^{1,4,6,7,8,9,10} Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa,²Harran Üniversitesi Akçakale Meslek Yüksek Okulu, Organik Tarım programı, Şanlıurfa,³ Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü, Şanlıurfa,⁵ Olgunlar Tur Tarım Enerji Üretim Tic Paz Ltd Şt. Bahçelievler, Eski Kahta Cd. No:126/A, 02100 Merkez/Adıyaman

¹<https://orcid.org/0000-0001-5139-3076>,²<https://orcid.org/0000-0002-9943-9245>,³<https://orcid.org/0000-0002-5219-3831>

⁴<https://orcid.org/0000-0001-6957-3673>,⁵<https://orcid.org/0000-0003-4408-1458>,⁶<https://orcid.org/0000-0002-7328-0061>

⁷<https://orcid.org/0000-0002-3251-3201>,⁸<https://orcid.org/0000-0003-2422-7915>,⁹<https://orcid.org/0000-0003-1812-4362>

¹⁰<https://orcid.org/0000-0002-5765-2048>

✉: ozberki@harran.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada Harran Ovasında suluda buğday tarımının 2002-2021 yılları arasındaki yapısal değişikliklerin yıllık çiftçi sörveyleri yoluyla izlenmesi amaçlanmıştır. 2002-2021 yılları arasında 13 sörvey yılında Şanlıurfa il merkezine 10 km uzaklıktaki köylerde her yıl tesadüfen seçilmiş 50'şer çiftçi üzerinde yürütülen bu çalışmalarda çiftçilere 27 soru sorulmuş ve 23 sorunun cevapları tanımlayıcı istatistikler yardımıyla değerlendirilmiştir. Buna göre Burgos ve Dariel çeşitleri yüksek verimleri ve pazarlama fiyatlarıyla en çok tercih edilen çeşitler olurken ortalama verim $531 \pm 9,41$ kg/da olmuştur. Toprak işleme, ekim zamanı ve ekim normu, gübre normu, sulama, yabancı ot mücadelesi, hasat, harman gibi konularda önerilen normlara yakın uygulamaların yapıldığı tespit edilmiştir. Yağış azlığı ve mevsimlere dağılımında düzensizliklerin olması, buğdayda yatma ve bazı yaprak hastalık sorunlarının giderilememiş olması verimi sınırlayıcı faktörler olarak tespit edilmiştir. Girdi fiyatlarındaki yükselme buğday ekim miktarında yaşanan en önemli sorun olarak görülmektedir. Sonbahar yağışlarının geç gelmesi durumunda ovaya buğday için tav suyu verilmesi ve ilkbaharda erken kuraklık olması durumunda kanallara erken su verilmesinin buğdayın su ihtiyacının giderilmesinde yaşamsal önemde olduğu anlaşılmıştır.

Tarla Bitkileri

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 01.10.2021

Kabul Tarihi : 07.12.2021

Anahtar Kelimeler

Harran Ovası

Buğday

Sulu koşullar

Sörvey

2002-2021

An Assessment of Wheat Cultivation Through Surveys in Harran Plain in Last 20 Years

ABSTRACT

This study aimed to assess the improvements for wheat cultivation under irrigated conditions in Harran Plain by annual farmer surveys carried out from 2002 to 2021. Through the 13 years between 2002 and 2021, the surveys were carried out in some villages approximately 10 km away from city Sanliurfa City Center. Randomly selected 50 farmers were subjected to surveys for each year. A 27 questions were asked to farmers and 23 of them were used for evaluation. As a result, Burgos and Dariel were found to be mostly preferred varieties. Grand mean of grain yield was determined as $531 \pm 9,41$ kg/da. It was seen that applications close to the recommended norms have been made on issues such as tillage, sowing time and sowing norm, fertilizer norm, irrigation, weed control, harvesting and threshing. Inadequate rainfall and seasonal distribution, lodging and some foliar diseases were found to be major yield constraining factors. Increasing input prices was the major cultivation limiting factor. Depending on the late fall rainfall it was also suggested the importance of irrigation water delivery into channels for timely wheat germination. Furthermore due to early drought in spring, relatively early delivery of irrigation water into channels was found to be vital for secure wheat production.

Field Crops

Research Article

Article History

Received : 01.10.2021

Accepted : 07.12.2021

Keywords

Harran Plain

Buğday

Irrigated conditions

Survey

2002-2021

Atıf Şekli: Özberk İ, Özberk F, İpeksever F, Bişken İ, Olgun M.F, Yalçınkaya H, Kayaoğlu M M, Köse K, Şahap İ, t Toprak R 2022. Harran Ovasında Buğday Tarımının Son 20 Yılı'nın Sörveylerle İncelenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1448-1464. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogava.vi.1003442>

To Cite : Özberk İ, Özberk F, İpeksever F, Bişken İ, Olgun M.F, Yalçınkaya H, Kayaoğlu M M, Köse K, Şahap İ, t Toprak R 2022. An Assessment of Wheat Cultivation Through Surveys in Harran Plain in Last 20 Years. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1448-1464. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogava.vi.1003442>

GİRİŞ

2020 yılı itibariyle Türkiye de 6 922 236 hektar (ha) alanda buğday üretimi yapılırken bunun 1 258 056 hektarı makarnalık buğdaydır. 20 500 000 ton toplam buğday üretiminin 4 000 000 tonu makarnalık buğdaydır. Dekara ortalama verim 296 kg/da iken makarnalık buğday verimi 318 kg/da dır. Ekmeklik buğday verimi 291 kg/da dır (TUİK, 2020).

Güneydoğu bölgesi 2020 yılı itibariyle 1 milyon ha'nın biraz üzerinde ekim alanı ile 2 605 000 ton ekmeklik, 1 632 000 ton makarnalık buğday üretmiştir (Hububat Sektör Raporu 2020). Güneydoğu Anadolu bölgesi Türkiye makarnalık buğday üretiminin %41'ni karşılamaktadır. Makarnalık buğday satış fiyatı 1,8 TL/kg ve ekmeklik buğday satış fiyatı 1,65 TL /kg olmuştur. Şanlıurfa ilinin 2016-2019 yılları arası ekmeklik buğday üretimi yaklaşık 419 000 ile 637 000 ton, makarnalık buğday üretimi 258 000 ile 412 000 ton arası değişmiştir (TUİK, 2019). 2016-2019 arası hasat edilen ekmeklik buğday ekim alanı 137 000 ile 190 000 ha, makarnalık buğday ekim alanı 75 000 ile 124 000 ha arasında değişmiştir (TUİK, 2019). Şanlıurfa ili kısa ve sıcak tane dolum dönemi ile camsılığı yüksek makarnalık buğday yetiştiriciliği için idealdir. Bu nedenle Türkiye'nin makarnalık buğday kuşağındadır. Makarnalık buğday verimi Türkiye'nin diğer yerleşimlerin aksine ekmeklik buğdaya göre daha yüksektir. Burgos, Sarıçanak 98, Svevo, Zenit, A.kale 2000, Ege- 88, Fuatbey 2000, Fırat – 93, Tüten 2002, Şahinbey, Güney yıldızı, Zühre, Dyb-81 bölgede ekimi uygun bulunan ve tercih edilen makarnalık çeşitler olurken Dariel, Ceyhan 99, Sagittario, Pehlivan, Kaşifbey, Panda, Nurkent, Meta 2002, Adana 99, Golia, Gönen ekimi uygun bulunan ve tercih edilen ekmeklik çeşitler olmuşlardır (Kılıç ve ark 2005; Özberk ve ark 2006; Coskun ve ark, 2010; Karaman ve ark, 2012; Tanrıku,2018). Çeşitlerin tercihinde yüksek verimli olmanın öncelik aldığı genellikle yüksek verimli çeşitlerin yüksek dekara gelir getirdiği (Özberk ve ark, 2006; Özberk ve ark, 2011) anlaşılmıştır. Çiftçilerin çoğunlukla mülk sahibi çiftçi olduğu (Karlı 91; Paksoy 1998) işletmelerin hayli mekanize olduğu (Karlı 2001; Şimsek 2019) bilinmektedir. Buğday ekim zamanı araştırmalarında Şanlıurfa'nın yer aldığı 1. Alt bölgede en uygun ekim zamanı 1-30 Kasım olarak önerilmiştir (Özberk ve Özberk 2009)

Çiftçilerin Şanlıurfa ve Mardin illerinde %35.5 ve her yıl sertifikalı tohum kullandıkları (İpekçioğlu ve ark., 2014), ekim normu olarak 500 tane/m² (1000 tane öz

ağırlığa bağlı olarak makarnalık buğdayda 30-35 kg/da, ekmeklikte (25-30 kg/da mibzerle) (Özberk ve Özberk 2009), taban gübrelemesi olarak kuruda ve suluda 6 kg/da saf NO₃ ve P₂O₅ in yeterli olduğu baharda üst gübrelemede kuruda saf azotun 6 kg/da eklemeye 12 kg/da'a suluda 9-10 kg/da ekleme ile 14-16 kg/da çıkarılması gerektiği (Aktan ve ark 1980; Özer ve Dağdeviren 1983; Keklikçi ve ark 1987; Alagöz 1991; Kızılgöz ve Kaptan 1987; Özer, 1991) belirlenmiştir. Bölgede yabancı hardal (*Sinapis arvensis*) ve yabancı yulafın (*Avena Steridis* L.) yaygın olduğu bunların artan yoğunluklarının verim, kalite, pazarlama fiyatı ve dekara geliri düşürdüğü (Çelik, 2021) tespit edilmiş ve yabancı ot mücadelesinin önemi bir kez daha kanıtlanmıştır. Ortalama yıllık yağışın 350 mm olduğu (GAPTEAM Met. İstasyonu, Serince), buğdayda ilave sulamanın verimi artırdığı Harran ovasında 300-393 mm sulamanın yeterli olacağı (Kanber ve ark 1997) anlaşılmıştır. Harran ovasında ilave sulamada buğday verimleri 500-800 kg/da arasında değişmektedir. Sonbaharda yeterli yağış olmaması, tane dolum dönemindeki yüksek sıcaklıklar verimi sınırlayıcı iklim faktörleri olurken, başta pas hastalıkları olmak üzere septoria (*S.tiritic*) Külleleme (*E. graminis*) zararlılar olarak tarla faresi (*Microtus spp.*) ve süne (*Eurigaster integriceps*) öncelikli olarak tespit edilen hastalık ve zararlılardır (Özberk ve Özberk 2009). Buğday ürün satış fiyatları yıllar arası ve yıl içinde dalgalanma göstermektedir. Haziran ayı içinde düşük olan değerler daha sonra artmakta, bir sonraki yılın mayıs ayında zirve yapmaktadır. Hububat tarımında iklimden doğan güçlükler ve yüksek girdi fiyatları ilk sıralarda yer alırken çiftçiler yüksek verimli çeşitler aramaktadırlar. Hububat tarımındaki çeşitli faktörlerin yıllar içindeki değişimi araştırmada yıllık çiftçi veya sektör sörveyleri önem taşımaktadır. Günümüzde sık kullanılan bir araştırma yöntemi olan sörvey, belirli kesimden olan deneklere yüz yüze sorular sorulup cevapların yerinde teyit edilerek alınan cevapların istatistiki metotlarla değerlendirilip genellemeye gidilen bir araştırma biçimidir (Düzgüneş, 1963). Sörveyin düzenlenmesi, uygulanması ve değerlendirilmesi olmak üzere üç aşaması bulunmaktadır. Doğru sonuçlara ulaşmak için her bölüm doğru planlanmalıdır. Toplanan verilerin doğruluğu, güvenilirliği doğrudan planlamada gösterilen dikkate bağlıdır (Arıkan, 2018). Sörveyde örneklemin yapılması özel bir dikkat gerektirmektedir. Örnekleme sayısı hedef alanda tamamen tesadüfen

seçilebileceği gibi tabakalı örnekleme ile hedef alan daha homojen tabakalara ayrılıp (Güneş ve Arıkan 1988) her homojen tabakadan alınacak örnek sayısı Neyman (Yamane, 1967) metoduna göre belirlenebilir.

Bu çalışmada Harran ovasında ilave sulama ile buğday tarımı yapılan bazı köylerde yapılan sörveylerle buğday tarımının yapısal değişimlerinin 2002-2021 döneminde incelenmesi amaçlanmıştır

MATERYAL ve METOT

Sörvey çalışması 2002, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2020 ve 2021 yıllarında Şanlıurfa il merkezine yaklaşık 10 km uzaklıkta bulunan ve suluda hububat tarımı yapılan köylerde gayeli örnekleme ile seçilen birbirine komşu Açmalı, Büyükhan, Sultantepe, Külünçe, Gelincik, Kabköy, Köpürlük, Uğurlu ve Hancıağz köylerinde yürütülmüştür. (Bişken,2002; Çoban, 2006; Kocasarı, 2007; Ülke, 2008; Koca, 2009; Uçkan, 2010; Olgun, 2014; Karabulut, 2015; Yalçınkaya, 2016;Kayaoğlu, 2017; Köse,2018; Şahap, 2020; Toprak, 2021). Belirtilen köylerin toplam buğday ekim alanı yaklaşık 50 000 da'dır. Sörveyler genellikle bitirme ödevi olarak ziraat fakültesi tarla bölümü 4. Sınıf öğrencileri ile Kasım, Aralık, Ocak veya Şubat aylarında gerçekleştirilmiştir.

Örnekleme Yöntemi

Belirtilen köylerden her yıl tesadüfen seçilen 50 çiftçi sörveye konu olmuştur. Çiftçilerin seçiminde herhangi bir tabakalandırma ve gruplama yapılmamıştır. Çiftçilere 27 sörvey sorusu sorulmuş ve içinde bulunulan yıl ve bir önceki yıl yaşadığı deneyimler değerlendirilmiştir

İstatistik Analizler

Alınan cevaplar yıllık değerlendirmelerde basit tanımlayıcı istatistikler (ortalama, varyans, standart sapma, ortalamanın standart sapması) veya şekillerle ifade edilmiştir. 13 sörvey yılının genel değerlendirmesinde ortalama hesaplamalarında sörvey sorusuna bağlı olarak genel aritmetik ortalama ve genel ağırlıklı (veya tartılı) ortalama veya düzeltilmiş ağırlıklı ortalama tercih edilmiştir. Aritmetik ortalama sörvey sorusuna alınan cevabın bu cevabın alındığı sörvey yıl sayısına bölünmesiyle elde edilmiştir.

Aritmetik ortalama, $x = (\sum xi) / n$, burada xi : sörvey sayısal verisi, n : verinin alındığı yıl sayısı

Ağırlıklı ortalama, $x = \text{Aritmetik ortalama} \times (n/N) \times 100$, burada, n : verinin alındığı yıl sayısı, N : toplam sörvey yılı sayısı

Yüzde (%) ile ifade edilen bazı değerlendirmelerde çiftçilerin 1 den fazla şıkı işaretlemeleri nedeniyle seçeneklerin toplamının %100 den fazla olması

durumların soru içi şıkların ağırlıklı ortalamalarının yüzde değerleri düzenlenerek düzeltilmiş ve böylece tüm şıkların % toplamının %100 den fazla olması önlenmiştir.

Düzeltilmiş ağırlıklı ortalama (%) = (ağırlıklı ortalama / \sum ağırlıklı ortalama) x100

(Açıklama: 5 şık içinde a) Şık'ı % payı =40 tüm şıkların % payları toplamı (Σ) =400 ise, düzeltilmiş

a) Şık'ı payı = (40/400) x100 = %10)

Ayrıca tane verimi ve pazarlama fiyatları ile sörvey yılları arası ilişkiler regresyon analizi ile incelenmiştir.

Verilere uygulanan işlemler çizelgeler üzerinde de belirtilmiştir. İstatistiksel değerlendirmelerde SPSS 20, JMP-5 ve Excel istatistik programları kullanılmıştır

BULGULAR ve TARTIŞMA

2002, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2020 ve 2021 yıllarında anılan köylerde yürütülen sörveylerde çiftçilere sorulan 27 sorudan çiftçiyi tanımlayıcı sorular çıkarıldıktan sonra 23 sorunun cevabı değerlendirmeye alınmış ve Çizelge-1-23'te verilmiştir.

Ekilen Çeşitler

Sörveye konu olan çiftçilerin tamamı 2002 yılında Dyb-81 makarnalık çeşidini tercih ederken (Çizelge 1.1.), son yıllarda Burgos (makarnalık) ve Dariel ekmeçlik çeşidine yönelmişlerdir. Zenit ve Harran-95, 2006 da, Sarıçanak-98 ve Dariel 2007'de Fuatbey 2000 ve Ceyhan 99 2008 de, Svevo ve Sagittario 2009 da, Burgos 2014 de, Golia 2015 de, Cesare ise 2021 de anılan köylerde ilk defa rastlanan çeşitler olmuşlardır. Ağırlıklı ortalama (%) olarak Dariel (%27,76), Burgos (%19,53), Dyb-81 (%11,53), Svevo (%10,38), Zenit (%8,84) ve Sarıçanak- 98 (%8,38) ile en çok tercih edilen çeşitler olmuşlardır (Çizelge 1.2). Harran ilçesine bağlı köylerde de benzer çeşitlerin tercih edildiği (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021) çeşit tercihinin Bozova ilçesi köylerinde (Şimşek, 2019) ve Harran Çamlıdere bölgesinde de değişmediği (Ogan, 2017) tespit edilmiştir. Tercih edilen çeşitler bölge için önerilen çeşitlerle uyumlu bulunmuştur.

Ekilen Çeşitlerin Tercih Nedeni

6 seçenekli bu soruda, önce aritmetik ortalamalar (%) daha sonra 13 sörvey yılının ağırlıklı ortalamaları (%) hesaplanmış, daha sonra düzeltilmiş ağırlıklı ortalamalar hesaplanmıştır. Çiftçiler bu soruda seçeneklerden sadece birini işaretlemişlerdir. Buna göre çiftçilerin %57,3' ü yüksek verim nedeniyle tercih ederken %15,2' si yüksek pazar fiyatı ve gelir, %14,38' i iyi kalitesi nedeniyle çeşit tercihi yapmıştır

(Çizelge 2). Harran Çamlıdere (Ogan, 2017), Bozova ilçesi köyleri (Şimşek, 2019), Harran ilçesine bağlı köylerde de (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021) çeşitler benzer nedenlerle tercih

edilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda da bu husus (Özberk ve ark 2006; Özberk ve ark 2011) teyit edilmiştir.

Çizelge 1.1. Sörvey Yılları Boyunca Tercih Edilen Çeşitler
Table 1.1. Preferred varieties throughout the survey years

2002	Dyb 81 (%100)
2006	Dyb 81 (%50), Zenit (%25), Harran 95 (%25)
2007	Sarıçanak 98 (%60), Zenit (%18), Dariel (%16), Pehlivan (%2)
2008	Dariel (%68), Fuatbey (%14), Sarıçanak (%8), Ceyhan 99 (%6), Spagetti (%2), Zenit (%2)
2009	Zenit (%32), Svevo (%22), Dariel (%14), Fuatbey (%8), Sarıçanak 98 (%8), Sagittario (%2), İsimless (%2)
2010	Zenit (%20), Svevo (%60), Sarıçanak 98 (%20)
2014	Burgos (%45), Svevo (%30), Zenit (%18), İsimless (%7)
2015	Ceyhan 99 (%10), Sarıçanak 98 (%13), Golia (%48), Dariel (%26)
2016	Burgos (%10), Svevo (%14), Dariel (%66), Sagittario (%10)
2017	Burgos (%56), Svevo (%6), Dariel (%38),
2018	Burgos (%46), Dariel (%54),
2020	Burgos (%46), Dariel (%54),
2021	Burgos (%51), Dariel (%25), Cesare (%10), Ceyhan 99 (%8), Diğer (%6)

Çizelge 1.2. Ekilen Çeşitlere Ait Ortalama Değerler (%) ve İlk Ekildiği Tarih

Table 1.2. Means of varieties (%) preferred by farmers (%) and their first planting date

	Aritmetik Ortalama (%)	Ağırlıklı Ortalama (%)	İlk ekilme Zamanı
Dyb-81	7.5	11.53	
Zenit	19.16	8.84	2006
Harran 95	25	1.92	
Sarıçanak 98	21.8	8.38	2007
Dariel	40.11	27.76	2008
Pehlivan	2	0.15	
Fuat Bey	11	1.69	
Ceyhan 99	7	1.076	2015
Spagetti	2	0.15	
Sagittaario	6	0.92	
Burgos	42.33	19.53	2014
İsimless	5	1.15	
Svevo	22.5	10.38	
Cesare	10	0.76	

Çizelge 2. Ekilen Çeşitlerin Çiftçilerce Tercih Nedenleri (%)

Table 2. Reasons for variety preference by farmers (%)

Yıl	Yatma	Yüksek Verim	Kalite	Pazarlama fiyatı Dekara Gelir	Tarımını Biliyor	Diğer adapte Piyasa
2002	/2	70	-	-	-	18
2006		22	-	-	78	-
2007		68	20	12	-	-
2008		66	10	16	-	-
2009		92	-	-	-	-
2010		64	12	24	-	8
2014		63	23	9	6	-
2015		60	35	-	5	-
2016		64	8	28	-	-
2017		52	12	30	6	-
2018		36	22	12	30	-
2020		41	24	35	-	-
2021		47	21	22	-	-
Arit. Ort (%)	/2	57.30	18.7	22	22.16	13
Ağır. Ort (%)	0.92	57.30	14.38	15.20	10.20	2
Düz. Ağır. Ort. (%)	0.92	57.3	14.38	15.2	10.2	2

Çiftçi Büyüklüğü (%)

3 seçeneğe bu soruda (< 200 da, $200 \leq x \leq 500$ da ve >500 da) çiftçiler sadece bir seçeneği işaretlemişlerdir. 13 sörvey yılının düzeltilmiş ağırlıklı ortalaması olarak çiftçilerin %79,99'ü küçük

çiftçi, %14,66' sını orta, %5,40'ı büyük çiftçidir. Çalışmaya konu olan köyler dışındaki köylerde yapılan sörvey çalışmalarında %90 dolayında küçük çiftçi varlığı söz konusudur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Kullanılan Arazi Büyüklüğüne Göre Çiftçi Grupları (%)

Table 3. Farmer classification depending on acreage (%)

Yıl	<200 da	200<x<500 da	>500 da
2002	82	13	5
2006	80	8.8	11.2
2007	84	14	2
2008	92	8	-
2009	90	4	6
2010	76	16	8
2014	61	27	12
2015	78	20	2
2016	98	2	-
2017	78	18	4
2018	70	21	9
2020	70	4	9
2021	70	16	14
Arit. Ort (%)	79.15	14.52	6.32
Ağır.Ort (%)	79.15	14.52	5.35
Düz.Ağır.Ort. (%)	79.99	14.66	5.40

Arazi İşletmecilik Şekilleri (%)

Bu soruda 3 seçenek bulunmaktadır (Mal sahibi, Kiracı, Ortakçı). Çiftçiler bir seçeneği işaretlemişlerdir. Buna göre ağırlıklı ortalama (%) olarak çiftçilerin %78,8' si mülk sahibi, %16,07' si kiracı ve %6,84' ü ortakçıdır (Çizelge 4). Mülk sahibi

işletmeciliği Harran ilçesine bağlı köylerde %90 üzerinde Çamlıdere bölgesinde %80 (Ogan, 2017), Bozova ilçesi köylerinde ise %90 olarak bulunmuştur. Harran ovasında yapılan diğer çalışmalarda da (Karlı 1991; Paksoy 1998) bu husus teyit edilmiştir.

Çizelge 4. Arazi Sahiplik Çeşitleri (%)

Table 4. Land ownership (%)

Yıl	Mal Sahibi	Kiracı	Ortakçı
2002	67	25	8
2006	86	12	2
2007	60	26	14
2008	78	14	8
2009	82	14	4
2010	70	24	6
2014	78	11	11
2015	75	15	10
2016	86	14	-
2017	82	12	6
2018	81	15	4
2020	81	15	4
2021	76	12	12
Arit. Ort (%)	77.07	16.07	7.41
Ağır.Ort (%)	77.07	16.07	6.84
Düz.Ağır.Ort. (%)	77.08	16.07	6.84

İlk Sürüm ve İkilemede Kullanılan Alet ve Ekipman (%)

Bu soruda ilk sürüm altında 4 seçenek, ikileme altında 3 seçenek bulunmaktadır. Çiftçiler ilk sürüm

altında bir, ikileme altında bir seçeneği işaretlemişlerdir. Buna göre düzeltilmiş ağırlıklı olarak çiftçilerin, %93,48' i ilk sürümde pulluğu, %75,86' sını ikilemede kaz ayağını tercih etmiştir (Çizelge 5). Bu oran Bozova ilçesi köylerinde %95 +

%75 (Şimsek, 2019), Harran ilçesi köylerinde ise %87 pulluk + (%47 Kazayağı (ikileme)+ %53 Diskaro

(ikileme) şeklinde gerçekleşmiştir (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021).

Çizelge 5. İlk Sürüm ve İkileme Alet Ekipmanı (%)
Table 5. Main and secondary tillage equipment (%)

Yıl	İlk Sürüm			Diğer	İkileme		
	Pulluk	Kazayağı	Disk.		Kazayağı	Disk.	Diğer
2002		X					
2006		x					
2007	100				100		
2008	100				64	8	
2009	90	10			78	22	
2010	90	10			64	36	
2014	100				100		
2015	100				100		
2016	100				100		
2017	100				100		
2018	61		31		20	55	25
2020	90	4	6		20	55	25
2021	86	4	10		74	22	4
Arit. Ort (%)	92.48	6	15.6	Σ= 83.68	72	33	18
Ağır.Ort (%)	78.23	18.4	3.61		60.92	15.23	4.15
Düz.Ağır.Ort.(%)	93.48	2.19	4.31		75.86	18.96	5.16

Arazi Büyüklüğü (da)

Veri alınan yılların aritmetik ortalaması ve std sapması küçük çiftçiler için 77.5 ± 5.91 orta çiftçiler için 311.14 ± 17.52 , büyük çiftçi grubu için 896.47 ± 110.47 da olmuştur (Çizelge 6). Harran ilçesinde

köylerinde yapılan sorveylerde küçük çiftçi ortalama arazi genişliği 69,37 da, Orta çiftçi arazi genişliği 277,9 da olarak tespit edilmiştir (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018).

Çizelge 6. Çiftçi Gruplarının Ortalama Arazi Büyüklüğü ve Standart Sapmaları (da)
Table 6. Means and std. deviations of acreages (da) for farmer groups

Yıllar	Küçük (da)	Orta (da)	Büyük (da)
2002	-	-	-
2006	65.09 ± 2.71	256 ± 15.40	950 ± 114.58
2007	97.5 ± 8.60	350 ± 28.39	650 ± 0
2008	-	-	-
2009	59.29 ± 5.68	310 ± 40	1133.3 ± 433
2010	83.53 ± 6.44	285 ± 29.18	1375 ± 473.2
2014	102.05 ± 1.45	277.7 ± 4.16	942 ± 303
2015	83.35 ± 6.44	268 ± 21.64	600 ± 0
2016	61.26 ± 3.59	400 ± 0	-
2017	66.95 ± 5.06	342.44 ± 21.72	625 ± 25.25
2018	-	-	-
2020	-	-	-
2021	-	-	-
Arit. Ort (%)	77.5 ± 5.91	311.14 ± 17.52	896.47 ± 110.47

Ekim Nöbeti (%)

Bu soruda çiftçilere 4 seçenek sunulmuş ve sadece bir seçenek işaretlenmiştir. Buna göre ağırlıklı olarak çiftçilerin %44,67 si buğday + II. Ürün mısır tek yıllık rotasyonu %35,33 oranında ise iki yıllık buğday + pamuk rotasyonu uygulanmaktadır (Çizelge 7). Harran ilçesi köylerinde ortalama buğday + II. Ürün mısır rotasyonu ağırlıklı %36,8 oranında uygulanmaktadır. Buğday + II. Ürün mısır +2 yıl pamuk rotasyonu ise %29,9 oranında benimsenmiştir.

Ekim Zamanı (%)

Bu soruda çiftçilere 3 seçenek sunulmuştur. (15 Ekim-15 Kasım, 15 Kasım-15 Aralık, 15 Aralık sonrası) Buna göre çiftçilerin ağırlıklı olarak %57,02' i 15 Ekim- 15 Kasım, %42-38' i ise 15 Kasım-15 Aralık arası ekim yapmaktadır (Çizelge 8). Bozova ilçesi köylerinde tamamen (%100) erken ekim (15 Ekim- 15 Kasım) tercih edilirken Çamlıdere dolayında tamamen (%100) biraz geç ekim (15 Kasım-15 Aralık) tercih edilmiştir. Harran ilçesi köylerinde ise

çiftçilerin %64,5' ü 15 Ekim- 15 Kasım arasını, %34,5' u ise 15 Kasım-15 Aralık arasını tercih etmiştir. Sonbahar yağışlarındaki gecikmeler ekim zamanını

geciktirmektedir. Uygulama tarihleri bölge için önerilen 1-30 Kasım tarihleriyle (Özberk ve Özberk 2009) örtüşmektedir.

Çizelge 7.Ekim Nöbeti (%)

Table 7. Crop rotation (%)

Yıllar	Diğer	Buğday + II. Ürün mısır	Pamuk+Buğday+ 2.ürün Mısır	Buğday +Pamuk
2002	70	6	6	18
2006	32	68	-	-
2007	-	-	68	32
2008	8	92	-	-
2009	4	64	22	10
2010	-	58	-	42
2014	-	-	-	100
2015	30	-	-	70
2016	-	70	-	30
2017	-	-	-	-
2018	-	58	-	42
2020	-	58	-	42
2021	-	62	-	38
Arit. Ort (%)	28.8	59.55	32	42.4
Ağır.Ort (%)	11.07	41.23	7.38	32.61
Düz.Ağır.Ort. (%)	11.99	44.67	7.99	35.33

Çizelge 8.Ekim Zamanı (%)

Table 8. Sowing time (%)

Yıllar	15 Ekim-15 Kasım	15 Kasım- 15 Aralık	>15 Aralık
2002	100	-	-
2006	100	-	-
2007	100	-	-
2008	48	52	-
2009	4	96	-
2010	78	22	-
2014	88	12	-
2015	75	25	-
2016	16	84	-
2017	10	90	-
2018	45	55	-
2020	45	55	-
2021	30	60	6
Arit. Ort (%)	56.84	55.1	6
Ağır.Ort (%)	56.84	42.38	0.46
Düz.Ağır.Ort. (%)	57.02	42.51	0.46

Ekim Yöntemi (%)

Bu soruda 3 seçenek sunulmuştur (Mibzer, Mineral gübre fırfır, serpme) Çiftçiler sadece bir seçeneği işaretlemişlerdir. Buna göre düzeltilmiş ağırlıklı olarak çiftçilerin %92,74 'sı mibzerle %6,36' sı fırfırla ekim yapmakta, serme ekim %0,89 dolayındadır (Çizelge 9). Bu değer Bozova ilçesi köylerinde %100 mibzer (Şimsek, 2019), Çamlıdere köylerinde %72 si mibzer + %28 si fırfır olarak (Ogan, 2017) olarak tespit edilmiş, Harran ilçesi köylerinde %78,66 mibzer + %21,33 fırfır olarak saptanmıştır.

Tohumluk Temini (%): Bu soruda 4 seçenek (sertifikalı, dökme tohum, kendi yetiştiriyor ve diğer) bulunmaktadır. Çiftçiler bir seçeneği tercih etmiştir. Buna göre düzeltilmiş ortalama (%) değerleri, çiftçilerin %48,08' in sertifikalı tohum kullandıkları %28,58' inin buğday pazarından dökme tohum aldıkları ve %21,79' unun kendi ürününden tohumluk ayırdığı anlaşılmıştır (Çizelge 10). Sertifikalı tohum kullanımının destekleme kapsamında artmakta olduğunu (İpekçioğlu ve ark, 2014) göstermektedir. Bozova ilçesi köylerinde çiftçilerin %60' nın kendi tohumunu kullandığı (Şimsek, 2019) düşünüldüğünde bunun daha detaylı araştırılması

gerektiği anlaşılmıştır. Harran ilçesine bağlı köylerde düzeltilmiş ağırlıklı ortalama olarak çiftçilerin %40' ı kendi yetiştirdiği tohumluğu kullanırken, %30' u

tüccardan dökme tohumluk, %30' u sertifikalı tohum kullanmaktadır.

Çizelge 9.Ekim Yöntemi (%)
Table 9. Sowing methods (%)

Yıllar	Mibzer	Fırfır	Serpme
2002	100	-	-
2006	100	-	-
2007	100	-	4
2008	96	-	-
2009	-	-	6
2010	84	10	-
2014	-	-	-
2015	80	20	-
2016	100	-	-
2017	74	26	-
2018	100	-	-
2020	100	-	-
2021	86	14	-
Arit. Ort (%)	92.72	17.5	5
Ağır.Ort (%)	78.46	5.38	0.76
Düz.Ağır.Ort. (%)	92.74	6.38	0.89

Çizelge 10. Tohumluk Temini (%)
Table 10. Seed Source (%)

Yıllar	Sertifikalı	Dökme Tohum	Kendi Yetiştirme	Diğer
2002		100	-	-
2006	75	25	-	14
2007	84	-	-	-
2008	10	90	-	-
2009	68	10	22	-
2010	60	40	-	-
2014	70	23	7	-
2015	70	23	7	-
2016	32	16	52	-
2017	58	-	36	6
2018	19	-	81	-
2020	16	30	54	-
2021	62	14	24	-
Arit. Ort (%)	52	37.1	35.37	10
Ağır.Ort (%)	48	28.53	21.76	1.53
Düz.Ağır.Ort. (%)	48.08	28.58	21.79	1.53

Kullanılan Tohumluk Miktarı (kg/da)

Bu soruda alınan cevaplar tanımlayıcı istatistik yardımıyla değerlendirilmiş her sorvey yılına ait ortalama değerler standart sapmalarla birlikte verilmiş, genel ortalama ve bunun std. sapması da ayrıca verilmiştir. Buna göre tohumluk kullanımı 22.42 ile 38,3 kg/da arasında değişmiş, genel ortalama 33.13 ±1,42 kg/da olarak belirlenmiştir (Çizelge 11). Bu değer makarnalık buğday için uygun, ekmeklik için biraz yüksek bulunmuştur (Özberk ve Özberk, 2009). Bu oran Bozova ilçesi köylerinde 33,7 kg/da (Şimsek, 2019), Çamlıdere ve çevre köylerde ekmeklik buğdayda 38,44 kg/da, makarnalık

buğdayda 37.61 kg/da bulunmuştur (Ogan ,2017). Harran ilçesi köylerinde ise ortalama 35,39 kg/da bulunmuştur (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021). Genellikle ekim normu önerilenden yüksektir.

Kullanılan Taban ve Üst Gübre Miktarları (kg/da)

Sorvey yıllarında bu soruya gübreler bazında alınan cevapların genel ortalama ve genel ağırlıklı ortalamaları hesaplanmıştır. Aritmetik ortalama dikkate alındığında 20-20-0 ortalama 31.43 ±1.08 kg/da, DAP 28.88±1.91 kg/da kullanılmış, üst gübre olarak AN33, 23.97 ±2.10 kg/da, üre 25.09±1.48 kg/da

kullanılmıştır (Çizelge 13). Bozova ilçesi köylerinde sadece DAP 16 ±0,49 kg/da olarak kullanılmış, Harran ilçesi köylerinde (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021) ortalama 20-20-0, 30,47 kg/da, DAP, 29.10 kg/da, üre ise 28.38 kg/da, AN33 31.89 kg/da, AN26, 27.27 kg/da olarak kullanılmaktadır. DAP ve üre kullanım oranları önerilenden yüksek bulunmuştur (Aktan ve ark 1980; Keklikçi ve ark.; 1987 Alagöz 1991; Özer ve Dağdeviren 1991; Kızılgöz ve Kaptan 1997).

Çizelge 11. Kullanılan Tohumluk Miktarı (Kg/da) Buğday

Table 11. Planting rates (%)

Yıllar	Tohumluk Miktarı (kg/da)
2002	22.42 ± 2.76
2006	22.5 ± 4.83
2007	30 ± 5.23
2008	36.22 ± 3.51
2009	38.2 ± 0.42
2010	38.2 ± 0.42
2014	35.66 ± 0.46
2015	37.44 ± 2.22
2016	33.26 ± 0.39
2017	32.09 ± 0.62
2018	34 ± 1.06
2020	34 ± 1.06
2021	37.04 ± 0.42
Arit. Ort (%)	33.13 ± 1.42

Kullanılan Taban ve Üst Gübre Çeşitleri (%)

Bu sorvey sorusuna alınan cevapların aritmetik, ağırlıklı ve düzeltilmiş ağırlıklı ortalamaları hesaplanmış, buna göre çiftçilerin %67,5' i taban

Çizelge 12. Kullanılan Taban ve Üst Gübre Çeşitleri (%)

Table 12. Preference of Various Based and Spring Fertilizers Brands (%)

Yıllar	DAP	20-20-0	TSP	Kullanmayan	AN33	AN26	Üre	CAN	Kullanmayan	
2002	96	3	1		-			100		
2006	35	52	13		32		68			
2007	-	100	-		32		64		4	
2008	4	96	-		88		100			
2009	-	88	-	12	8	4	88			
2010	50	50	-		20		80			
2014	195	80.5	-		34		66			
2015	-	100	-		40		60			
2016	-	100	-		-		100			
2017	54	46	-		32		68			
2018	100	-	-		-		100			
2020	6	94	-		-	5	95			
2021	32	68	-		-		100			
Arit. Ort (%)	44.05	73.12	7	12	Σ=99.98	95.75	4.5	82.41	100	4
Ağır.Ort (%)	30.05	67.49	1.07	0.92		22.0	0.69	76.07	7.69	0.3
Düz.Ağır.Ort.(%)	30.5	67.50	1.07	0.92		20.60	0.646	71.25	7.20	0.28

gübresi olarak 20 20 0, %30,5' u ise DAP gübresi tercih etmiştir. Bahar gübresi olarak çiftçilerin %71,25' i üreyi tercih ederken %20.6' sı AN 33' ü tercih etmiştir (Çizelge 12). Bozova ilçesi köylerinde çiftçilerin tamamı tabanda DAP ve üst gübrede üre tercih etmiştir. Harran ilçesi köylerinde ise düzeltilmiş ağırlıklı ortalama olarak çiftçilerin %77,5' ü 20-20-0, %22' si DAP, üst gübre olarak %67.5' u üre %24,95' i AN 26 kullanmıştır (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021). Gübre fiyatları tercihleri belirlemiş görünmektedir.

Alet Ekipman Varlığı (%)

Bu sorvey sorusunda 10 seçenek bulunmakta ve çiftçiler birden fazla seçeneği işaretleyebilmektedirler. Buna göre her ekipman için sorvey yıllarının aritmetik ortalaması, tüm sorvey yıllarının dikkate alındığı ağırlıklı ortalama ve ağırlıklı ortalamaya göre seçenek % payları düzeltilmiş ağırlıklı ortalamalar olarak yeniden hesaplanmıştır. Buna göre ağırlıklı ortalamalar üzerinden çiftçilerin %70 üzerindeki kısmının traktör ve pulluğa sahip olduğu, Kazayağı+ diskaro+ taban+ mibzer sahibi çiftçilerin %40 a yaklaştığı anlaşılmıştır (Çizelge 14). Bu durum (Karlı, 2001) daha önce yapılan sorveylerde de teyit edilmiştir Çamlıdere ve çevresinde aynı duruma rastlanıldığı (Ogan ,2017), Bozova ilçesi köylerinde de yüksek makineleşmenin olduğu (Şimsek, 2019), Harran ilçesi köylerinde de çok yüksek makineleşme olduğu tespit edilmiştir (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021).

Çizelge 13. Kullanılan Ortalama Taban ve Üst Gübre Miktarları (Kg/da)

Table 13. Means of based and spring fertilization rates (Kg/da)

Yıllar	DAP	20-20-0	TSP	AN33	AN26	Üre
2002	-	-	-	-	-	-
2006	-	32.5±1.18	--	-	-	-
2007	-	27.5 ±0.93	-	20 ± 1.48	-	25 ± 1.15
2008	21.5±6.51	23.43±0.7	-	21.3 ±0.58	-	20.14 ±0.67
2009	-	32.5±4.82	-	25 ± 2.5	22.5± 2.5	27.5 ± 4.34
2010	28 ±1.0	29.2±0.71	-	26.5 ± 1.42	-	27.17±0.59
2014	30.75±1.0	33.14±0.05	-	32 ± 0.18	-	24.45 ±0.04
2015	-	37.28±1.0	-	14.2 ± 0.25	-	15 ±0.5
2016	-	31.9 ± 0.51	-	-	-	21.12 ±0.84
2017	34.29±0.76	32.82 ±0.63	-	22.5± 0.72	-	26.47±0.65
2018	35 ± 1.62	-	-	-	-	26.0 ± 1.02
2020	23.5 ±1.29	32.79± 0.77	-	-	30± 0.0	32.75± 1.04
2021	29.12±0.86	32.73 ± 0.86	-	-	-	30.44 ±1.36
Arit. Ort (%)	28.88±1.91	31.43 ±1.08	-	23.07 ±2.10	-	25.09 ± 1.48
Ağır.Ort (%)	15.55	26.59	-	12.42	-	21.23

Çizelge 14. Alet Ekipman Varlığı (%)

Table 14. Tillage Equipment Ownership(%)

Yıllar	Traktör	Pulluk	Kazayağı	Diskaro	Mibzer	Tırmık	Tapan	Pülve	Bıçer	Diğer	
2002	40	40	15	40	40	-	10	10			
2006	30	40	14	20	-	-	35	-			
2007	39	39	5	12	31	3	29	21			
2008	43	43	12	19	23	-	21	29			
2009	98	98	44	82	40	24	38	38	10		
2010	100	100	50	24	48	30	40	40		8	
2014	95	93	78	83	61	65	61	93			
2015	95	61	61	78	31	78	31	78		31	
2016	100	80	75	60	76	74	68	72			
2017	96	84	72	68	66	62	60	78			
2018	93	78	38	36	78	84	63	18			
2020	96	72	62	25	50	32	76	-			
2021	98	86	78	48	66	46	82	28			
Arit. Ort (%)	78.69	70.30	46.46	50.38	50.83	49.8	47.23	45.9	10	19.5	Σ=420.69
Ağır.Ort (%)	78.69	70.30	46.46	50.38	46.92	38.3	47.23	38.84	38.84	2.92	
Düz.Ağır.Ort.(%)	18.7	16.7	11.02	11.97	11.15	9.1	11.22	9.2	9.2	0.1	

Yabancı Ot Mücadelesi

Bu sörvey sorusunda geniş ve dar yapraklı yabancı ot mücadelesinde kullanılan ilaçlar ve dozları sorulmuş alınan cevaplar Çizelge15 de özetlenmiştir. Buna göre dar ve geniş yapraklı yabancı ot mücadelesinin benimsendiği, dar yapraklı yabancı otlar için Pinoxaden ve Fenoxaprop P- ethyl etkili maddeli ilaçların yaklaşık 100 cc/da dozda kullanıldığı, geniş yapraklılar için Tribenuron methyl etki maddeli ilaçlardan yaklaşık 1 g/da kullanıldığı, 'amin' etkili maddeli geniş yapraklı yabancı ot ilaçlarının kullanımının 2020 den sonra tamamen yok olduğu ve yaklaşık 150-200 cc/da kullanıldığı anlaşılmıştır. Harran ilçesi köyleri ve Bozova ilçesi köylerinde de (Şimsek, 2019) benzer durum tespit edilmiştir (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021).

Sulama Sayısı

Sörvey yapılan yıllar itibariyle çiftçiler genellikle 3-4 sulama yaptıklarını beyan etmişlerdir. Kardeşlenme, sapa kalkma ve tane dolunda sulama yaptıklarını belirtmektedirler. Bazı yıllar 5-8 sulama yaptıkları anlaşılmıştır (Çizelge 16). Sulama yöntemleri, miktarı ve zamanı konusunda yeterli bilgiye sahip olmadıkları, su parasının yıllık ve dekar başına alınması aşırı su kullanımını tetiklemektedir. Çamlıdere bölgesinde de 3-4 (Ogan, 2017), Harran ilçesi köylerinde de 3 defa (kardeşlenme, gebe, tane dolum) sulama yapıldığı (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021) anlaşılmıştır. 3-4 sulama önerilen norma (Kamber ve ark., 1997) uygundur, ancak sulama zamanları konusunda homojenlik zayıftır.

Çizelge 15. Yabancı Ot Mücadelesinde Çiftçilerin Kimyasal Tercihi (%) ve Dozları(cc/da;g/da)
Table 15. Chemical preference of farmers for weed management (%) and ratios (cc/da; g/da)

Yıllar	Dar Yapraklı				Geniş Yapraklı			
	Pinox. Çiftçi(%)	Pheno Çiftçi(%)	Pinox. Cc/da	Pheno. Cc/da	Tribenuron Methyl Çiftçi(%)	Amin Çiftçi(%)	Tribenuron methyl (g/da)	Amin Cc/da
2002	0	14-		125±14.4	0	21,5		
2006	-	24		140	-	30		142.8 ± 13
2007	-			-	-			140
2008	-			-	0	100		200
2009	-			-	6	94		175
2010	-			-	20	80	1	200
2014	0	33		100	67		1	
2015	45	10	100	60	55		1	
2016	0	60		100	75		1	
2017	80	20	90	80	100		1	
2018	24		120	-	76	24	3.5±0.86	133±16.6
2020	30		130	-	16	0	2	
2021	20	30	90	80	80		3.0±0.75	-

Çizelge 16. Sulama Sayısı
Table 16. Number of irrigation

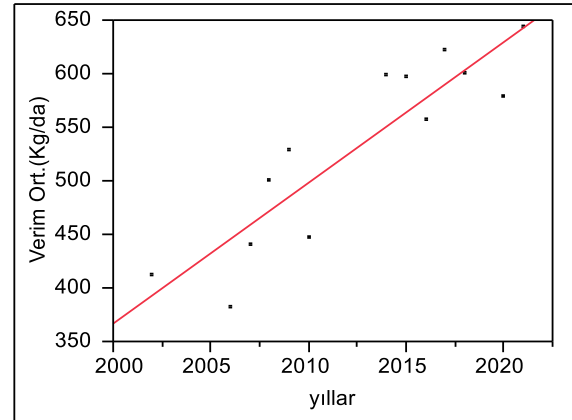
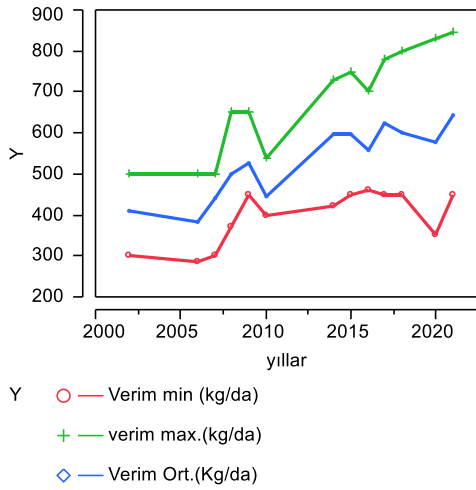
Yıllar	Sulama Sayısı
2002	3-4
2006	3
2007	3
2008	3-4
2009	5-8(Kardeş+sapa kalkma+ dane dolum)
2010	5.8
2014	3-
2015	3-4'
2016	3-4
2017	3-4
2018	3-4
2020	3-4
2021	2-3

Dekara Verim (kg/da)

Sörveye konu olan çiftçilerin tamamı buğdayı haziran içinde biçerdöverle hasat ve harman etmektedir. Sörvey yılları itibariyle minimum ortalama verim 2006 yılında 205 kg/da ile alınmıştır. Maksimum verim ise 845 kg/da ile 2021 yılında elde edilmiştir. Sörvey yılları boyunca ortalama verimler 382 ile 642,6 kg/da arasında değişmiş genel ortalama 531.01 ± 9,41 kg/da olarak belirlenmiştir (Çizelge 17). Yıllar içinde verimde artış olduğu anlaşılmaktadır (Şekil 1). Elde edilen regresyon eşitliği yüksek determinasyon katsayısı ile (%R² = 80,8) yıllara göre verim ilişkileri için inanılır bulunmuştur. Ortalama verim değerleri Çamlıdere bölgesinde 586 ± 9,75 kg/da (Ogan, 2017), Bozova ilçesi köylerinde 555 ± 14,51 kg/da (Şimsek, 2019), Harran ilçesi köylerinde 604.21 ± 30,34 kg/da (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021) olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 17. Buğdayda Dekara Ortalama Verim Değerleri ve Std. Sapmaları (kg/da)
Table 17. Mean yields of wheat and std. deviations (kg/da)

Yıllar	Verim (kg/da)			
	En düşük	En Yüksek	Ortalama	Ort. Std. Sapma
2002	300	500	411.42	8.9
2006	285	500	382.5	11.18
2007	300	500	440.5	9.81
2008	370	650	499.2	8.16
2009	450	650	527.6	5.96
2010	400	540	446.8	11.02
2014	420	730	597.56	11.63
2015	450	750	597.5	8.40
2016	460	700	557.2	7.87
2017	450	780	622.14	10.09
2018	450	800	600.2	8.42
2020	350	830	577.98	6.78
2021	450	845	642.6	14.22
Arit. Ort (%)	395	675	531.01	9.41



$$\text{Verim Ortalaması (Kg/da)} = -25906,96 + 13.136629 * \text{yıllar.}$$

Şekil 1. Yıllar itibarıyla verimler ve ortalama verim ile yıllar arası doğrusal regresyon ilişkisi
Figure 1. Min, max and average yields and regression relation between years vs. average yields

Verim Yüksekliğini Engelleyen İklim Faktörleri (%):

Bu sorvey sorusu için çiftçilere 8 seçenek sunulmuş birden fazla seçeneği işaretleyebilecekleri belirtilmiştir. Sonuçlar aritmetik ortalama, tüm sorvey yıllarının dikkate alındığı ağırlıklı ortalama ve tüm seçenek % lerinin toplamının %100 ü aşmaması için düzeltilmiş ağırlıklı ortalamalar hesaplanmıştır. Buna göre verimi en çok sınırlayan iklim faktörü %24,72 ile sonbahar yağışları azlığı olurken bunu %21,58 ile ilkbahar yağışları azlığı, %19,16 ile tam dolumda yaşanan aşırı sıcaklar takip etmiştir. İklimle kısmen ilgili yatma %11,48 ile dördüncü sırada yer almıştır (Çizelge 18). Bu sonuçlar sonbahar yağışlarının geciktiğini bu durumda sulama kanallarına 15 Ekim ve 15 Kasım arası tav suyu

bırakılması gerektiğini göstermektedir. Ayrıca ilkbaharda yağış azlığı sulu tarımda gündemde olmaması gerekirken su salınmasında pamuk tarımının esas alınması nedeniyle geç bırakılması verim kayıplarına neden olmaktadır. Suluda yatmadan şikayetçi olunması çeşit ilahında sağlam sap üzerinde durulmasını gerektirmektedir. Verimi sınırlayan iklim faktörleri Bozova ilçesi köylerinde (Şimsek, 2019), Çamlıdere bölgesinde (Ogan, 2017) ve Harran ilçesi köylerinde de ilkbaharda, sonbaharda, kışın yetersiz yağışlar ve tane dolumda aşırı sıcaklar verimi düşüren iklim faktörleridir (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021).

Çizelge 18. Verim Yüksekliğini Engelleyen İklim Faktörleri (%)
Table 18. The climatological factors affecting high yielding (%)

Yıllar	İlkbahar yağışı fazla	Yatma	Kışın soğuk olması	İlkbahar sonu	Tane dolumun sıcak olması	Kışın yetersiz yağış	Sonbahar yağış azlığı	İlkbahar yağış azlığı
2002	98	11	9.5	7	6	1	1	-
2006	-	-	-	-	-	-	-	-
2007	-	0	12	-	30	-	50	50
2008	-	15	20	-	36	26	50	13
2009	-	-	-	-	34	-	98	100
2010	-	-	-	-	34	-	98	100
2014	-	15	-	-	57	80	-	-
2015	-	20	-	-	40	40	-	-
2016	-	70	-	-	70	76	96	72
2017	-	60	-	-	72	66	86	78
2018	--	81	-	-	63	81	93	72
2020	-	-	-	-	-	-	-	-
2021	-	17.69	15.16	13.64	11.74	-	13.47	26.05
Arit. Ort (%)	98	38.85	14.16	10.32	41.24	52.85	65.05	63.88
Ağır.Ort (%)	7.53	20.92	4.38	1.58	94.90	28.46	45.03	39.31
Düz.Ağır.Ort.(%)	4.0	11.489.5	2.4	0.08	19.16	15.62	24.72	21.58

Buğday Hastalık ve Zararlıları (%)

Hastalık ve zararlılar ile ilgili sorvey yılları boyunca alınan cevapların aritmetik ortalama, ağırlıklı ortalama ve düzeltilmiş ağırlıklı ortalamaları hesaplanmıştır. Buna göre en sık rastlanan hastalıklar pas (%15,23), külleme (14,92) ve sürme

(%10,61) olmuş, en sık rastlanan zararlılar ise %23,69 ile fare %19,3 ile süne olmuştur (Çizelge 19). Belirlenen hastalık ve zararlıların varlığı ve önemi daha önceki çalışmalarda vurgulanmıştır (Özberk ve Özberk 2009).

Çizelge 19. Buğday Hastalık ve Zararlıları (%)

Table 19. Wheat diseases and pests (%)

Yıllar	Rastık	Sürme	Pas	Külleme	Fare	Fare+Süne	Süne	Zabrus
2002	55	15	15	15	25	25	-	25
2006	-	-	-	-	-	-	-	-
2007	-	-	-	-	-	-	-	-
2008	4	32	4	28	64	32	-	-
2009	-	-	-	8	24	32	16	-
2010	-	-	-	5	11	30	36	-
2014	12	14	15	-	20	-	22	-
2015	-	-	-	-	-	-	-	-
2016	-	-	-	-	-	-	-	-
2017	-	-	-	-	-	-	-	-
2018	9	45	12	72	60	-	60	6
2020	8	16	56	20	50	-	55	8
2021	8	16	96	46	54	-	62	14
Arit. Ort (%)	16	23	33	27.71	38.5	29.75	41.83	13.25
Ağır.Ort (%)	7.38	10.61	15.23	14.92	23.69	9.15	19.30	4.07
Düz.Ağır.Ort.(%)	7.38	10.61	15.23	14.92	23.69	9.15	19.30	1.7

Ürün Satış Fiyatları (TL/kg)

Sorvey yapılan yıllar içinde haziran ayı piyasa satış fiyatları basit tanımlayıcı istatistikler yardımıyla belirlenmiştir. Eski TL, YTL ve TL dönemlerindeki pazarlama fiyatlarında kıyaslama karışıklığı olmaması için fiyatların Amerikan doları değerleri hesaplanmış buna göre ürün fiyatları sorvey yıllarında 0.123 \$/kg ile 0.433 \$/kg arasında değişmiş ve genel ortalama olarak 0.28±0.02\$/kg olarak tespit edilmiştir. 2002-2021 arasında 2002 de 0.123 \$/kg olan buğday fiyatı 2021 de 0.217 \$/kg olmuştur

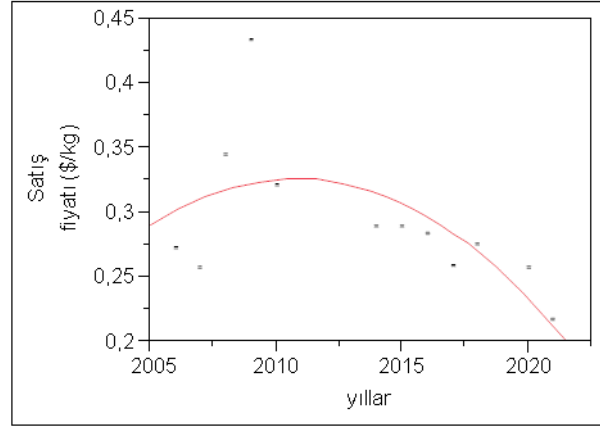
(Çizelge 20). 2002 yılıyla kıyaslandığında artış %76 dır. 2002 yılı fiyatları genel ortalama ile kıyaslandığında %227 artış söz konusudur.

2002 yılında 1 litre motorin için 7,6 kg buğday satan bir çiftçi 2011 yılında 5,52, 2021 yılında 4,09 kg buğday satarak bunu karşılamaktadır. 2002 yılında DAP 20-20-0 ve Üre üst gübre fiyatları ortalama 0.354, 0.254 ve 0.237 TL/kg iken 2021 de Tarım kredi kooperatifleri fiyatları olarak sırasıyla 0,8 TL/kg, 1,7 TL/kg ve 2.6 TL/kg a yükselmiştir.

Çizelge 20. Ortalama Ürün Satış Fiyatı (TL/kg; \$/Kg)

Table 20. Average purchasing price of wheat (TL/Kg; \$/kg)

Yıllar	\$/kg	Min	Max	Ortalama	1 Haziran
2002	0.123	160000	200000	127.140 ± 13.8	1\$ ≈1440.000 TL
2006	0.272	325000	400000	362000±25.63	1\$ ≈1330.000 TL
2007	0.257	300 YTL	500 YTL	370 YTL±?	1\$ ≈1435 YTL
2008	0.344	310YTL	500 YTL	411.5±6.91	1\$ ≈1195 YTL
2009	0.433	500 YTL	840 YTL	744.2±14.93	1\$ ≈1715 YTL
2010	0.321	400	550 YTL	488.6 ± 46.94	1\$ ≈1520 YTL
2014	0.289	560	750 YTL	638.29±139.8	1\$ ≈2206
2015	0.289	600 krş.	750 krş.	664.0 ±?	1\$ ≈2295 YTL
2016	0.284	500 krş.	91.3 krş.	85.26 ±?	1\$ ≈3.000 TL
2017	0.258	80 krş.	110 krş.	92.68 ±1.02	1\$ ≈3.580 TL
2018	0.275	80 krş.	120 krş.	104.0 ±9	1\$ ≈3.770 TL
2021	0.217	145 krş.	220 krş.	180.0±10	1\$ ≈8.279 TL
Arit. Ort (%)	0.280				



$$\text{Satış fiyatı (\$/kg)} = 11,932684 - 0,0057682 * \text{yıllar} - 0,0010982 * (\text{yıllar} - 2013,42)^2, \%R^2=43$$

Şekil 2.Yıllar itibarıyla ürün satış fiyatları regresyon ilişkisi(\$/Kg)
Figure 2. Regression relation between year vs marketing prices (\$/kg)

Sörvey yılları ile ürün fiyatları arasındaki regresyon ilişkisi (Şekil 2) düşük determinasyon katsayısı (%R²=43) değeriyle tam güvenilir bulunmasa da 2010' lu yılın ortalarında da nispeten yüksek iken son yıllarda düşme eğiliminde bulunmuştur.

Ürünün Satıldığı Yer (%)

Sörvey yıllarında alınan cevapların düzeltilmiş ağırlıklı ortalamasına bakıldığında çiftçilerin %97,8' nin ürününü tüccara sattığı tespit edilmiştir (Çizelge 21). TMO'nun piyasayı düzenleyici rolünün son yıllarda ortadan kalktığı anlaşılmıştır. Çamlıdere köylerinde (Ogan, 2017) bu oran %95, Bozova ilçesi köylerinde %80 (Şimsek, 2019) ve Harran köylerinde %97 (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 21. Ürünün Pazarlama Yeri (%)
Table 21. Marketing media (%)

Yıllar	TMO	Tüccar	Diğer
2002	-	85	15
2006	-	100	
2007	-	100	
2008	-	100	
2009	2	98	
2010	2	98	
2014	3	97	
2015	6	94	
2016	-	100	
2017	-	100	
2018	-	100	
2020	-	100	
2021	-	100	
Arit. Ort (%)	3.25	97.8	
Ağır.Ort (%)	0.96	97.8	
Düz.Ağır.Ort.(%)	0.97	99.02	

Hububat Tarımında Karşılaşılan Güçlükler (%)

Bu sörvey sorusunda çiftçiye 11 seçenek sunulmuş birden fazla seçeneği işaretlemelerine olanak verilmiştir. Elde edilen bulguların aritmetik, ağırlıklı ve düzeltilmiş ağırlıklı ortalamaları hesaplanmıştır. Buna göre; ilkim yapısından doğan güçlükler (%17,97), hastalık ve zararlılar (%13,36), sulama güçlükleri (%11,81) ve uygun çeşit (%10,43) ile ilk dört sırada yer almıştır (Çizelge 22). Bozova ilçesi köylerinde gübre ve mazot fiyatlarının yüksekliği ilk sırada yer almıştır (Şimsek, 2019). Harran ilçesi köylerinde, hastalık ve zararlılar girdi fiyatlarının yüksekliği, sulama problemleri ilk sıralarda yer almıştır (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Sarıdal 2018; Kaya 2021).

Çiftçilerin Ekecekleri Çeşitte Aradığı Özellikler (%)

Bu sörvey sorusunda çiftçilere 8 seçenek sunulmuş, çoklu seçim yapabilmelerine olanak verilmiştir. Aritmetik, ağırlıklı ve düzeltilmiş ağırlıklı ortalama hesaplanmış buna göre; yüksek verim (%23,3), yatmaya dayanım (%19,96) ve kalite (%16,63) ilk 3 sırada yer almıştır. Yüksek verim ve kalite talebi önceden tespit edilmiş özellikler olmasına karşın yatma sorununun çözülmemiş olması dikkate değerdir (Çizelge 23). Harran, Bozova ve Çamlıdere civarında da yüksek verim kalite ve iyi pazar fiyatı ile ilk sıralarda yer almıştır (Şeker 2009; Koyuncu 2016; Ogan,2017; Sarıdal 2018; Şimsek,2019; Kaya 2021).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Harran ovasında ilave sulanan koşullarda yapılan buğday tarımının son 20 yılı değerlendirildiğinde Harran Ovasında buğday tarımı yapan çiftçilerin büyük bölümünün küçük çiftçi olduğu (<200 da), yeni çeşitlerin çabuk benimsendiği, çeşit tercihinde genel olarak yüksek verim ve yüksek pazarlama fiyatına

bağlı olarak) daha önce işaret edildiği gibi (Özberk ve ark. 2020) yüksek dekara gelirin öncelik aldığı anlaşılmıştır. Tarımsal teşviklere bağlı olarak sertifikalı tohumluk kullanımının arttığı, biçerdöver dışında çiftçilerin büyük ölçüde tarımda makineleştiği, yetiştirme tekniği ile ilgili yapılan uygulamaların önerilen uygulamalara yakın olduğu, ekim normu, tohumluk, toprak işleme, gübre normu,

sulama gibi konularda önerilen normlara uyulduğu, yabancı ot mücadelesinin benimsendiği, hasat ve harmanın genellikle biçerdöverle yapıldığı anlaşılmıştır. Sörveye konu olan yaklaşık 20 yılın verim ortalaması 531± 9,41 kg/da olarak gerçekleşmiştir. Pas hastalıkları gibi bazı hastalıklar ve süne, tarla fareleri gibi zararlılar ile buğdayda yatma sorunlarının halen devam ettiği anlaşılmıştır.

Çizelge 22. Hububat Tarımında Karşılaşılan Bazı Güçlükler (%)
Table 22. Some of constrains faced in wheat production (%)

Yıllar	Çeşit	Tohumluk	Toprak İşleme	İklim	Alet Ekipman yetersiz	Gübre Temin	Sulama Güçlüğü	Hasat güçlüğü	Hast. Zararlı	Pazar Satış	Diğer (Girdi fiyatları)
2002	38	30	26	19	17	13	11	10	8	6	-
2006	12	-	-	-	-	-	-	-	-	63	25
2007	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2009	30	50	75	100	80	95	65	-	47	25	-
2010	30	60	70	100	80	90	60	-	40	10	-
2014	90	75	85	100	-	-	70	-	95	80	-
2015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2017	80	-	-	90	-	-	75	-	95	-	85
2018	54	45	30	100	63	48	-	45	51	6	-
2020	20	-	-	90	-	40	85	-	95	-	-
2021	48	80	71	93	69	-	89	-	83	95	100
Arit. Ort (%)	44.6	56.6	59.5	86.5	61.8	57.2	65	-	64.5	40.7	70
Ağır.Ort (%)	44.6	37.7	39.6	76.8	34.3	31.77	50.5	-	57.1	31.6	23.3
Düz.Ağır.Ort.(%)	10.43	8.82	9.26	17.9	8.02	7.43	11.81	-	13.36	7.39	5.45

7

Çizelge 23. Çiftçilerin Çeşitte Aradığı Özellikler
Table 23. Varietal characteristics of a variety referred by farmers

Yıllar	Yüksek Verim	Kalite	İyi Pazar Fiyatı	İyi Dekara Gelir	Hastalığa dayanıklı	Yatmaya dayanıklı	Erkenci	Adapte
2002	-	-	-	-	70	100	-	-
2006	90	90	14	14	14	60	60	-
2007	90	-	-	-	90	-	-	80
2008	90	-	85	-	75	70	-	-
2009	100	100	100	-	-	96	-	-
2010	100	100	100	-	-	96	-	-
2014	100	95	80	-	-	85	-	90
2015	100	95	-	-	80	85	-	90
2016	100	95	-	-	80	85	-	90
2017	100	95	-	-	80	80	-	-
2018	95	-	80	90	85	75	-	100
2020	-	-	-	-	-	-	-	-
2021	100	90	95	-	85	80	70	75
Arit. Ort (%)	96.8	95	79.1	52	72.11	82.9	-	87.5
Ağır.Ort (%)	81.9	58.46	42.61	8	49.92	70.15	-	40.38
Düz.Ağır.Ort.(%)	23.30	16.63	12.12	2.2	14.20	19.96	-	11.49

Buğday tarımında verimi sınırlayan iklim faktörlerine verilen cevaplarda ilkbahar ve sonbahar yağışlarının yetersizliği öne çıkmıştır. Bu da sonbahar yağışlarının geç geldiği yıllarda buğdayda

zamanında ekim ve çıkışın sağlanması için kanallara tav suyu verilmesi ve ilkbaharda son yıllarda sık yaşanan erken kuraklıklarda kanallara su vermenin buğdayın ihtiyacı dikkate alınarak belirlenmesinin

buğday tarımında yaşamsal önemde olduğu anlaşılmıştır. Çiftçilerin ürünlerini büyük ölçüde tüccara sattığı son 20 yılın satış ortalamasının 0,28 \$/kg olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca buğday tarımında karşılaşılan güçlükler içinde başta gübre ve akaryakıt fiyatları gibi girdi fiyatlarında aşırı yükseliş öne çıkmış bu da üretim maliyetini çok yükseltmiş, karlılığı azaltmıştır. Çiftçiyi buğday tarımından vazgeçirmeyecek girdi desteği gibi tedbirlerin bir an önce alınması yerinde olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada sörveye konu olan yukarıda adı geçen köylerdeki çiftçilere teşekkür ederiz. Ayrıca anılan köylerde bitirme tezi çalışması yürüten ancak yazar olmak istemeyen veya kendilerine ulaşamayan Cemil Çoban, Ahmet Kocasarı, Şehriban Ülke, Niğmet Koca, Meyrem Karabulut ve Resul Uçkan'a teşekkür ederiz.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Aktan S, Siirt S, Şenel H, Keklikçi Z, Nergiz, N1980. Güneydoğu Anadolu'da Dicle -74(T.durum L) Penjamo-62 ve Bezostaya-I (T.aestivum L) buğday çeşitlerinde yetiştirme tekniği araştırmaları: I. Azot miktarı. Güneydoğu Anadolu Tar. Arş. Ens. Arş. Özetleri (ed: H.Kılıç, GATAE 2003)s:2.

Alagöz R 1991. Güneydoğu Anadolu Bölgesi sulanır koşullarında buğdayın azot gereksinimi. Güneydoğu Anadolu Tar. Arş. Ens. Arş. Özetleri (ed: H.Kılıç, GATAE 2003) s: 18.

Arıkan R 2018. Anket Yöntemi Üzerinde Bir Değerlendirme Haliç Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi 2018(1): 97-159

Bişken İ 2002. Sultantepe Köyü Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa

Coşkun Y, İlkhan A, Köten M, Coşkun A 2010. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Yetiştirilen Farklı Makarnalık Buğday Çeşitlerinin Kalite Yönünden değerlendirilmesinde b ve b* renk değerlerinin Kullanılabilirliğinin İncelenmesi. HR. Ü. Zir. Fak. Dergisi14(3):25-29

Çelik F 2021. Ekmeklik Buğdayda Yabani Hardal ve Yulafın Verim, Kalite ve Karlılığa Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Fen Bil. Enst. . Harran Üniv. Şanlıurfa

Çoban C 2006. Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa

Düzgüneş O 1963. Bilimsel Araştırmalarda İstatistik Prensipler ve Metotları. Ege Üniversitesi Matbaası, 1963 İzmir

Güneş T, Arıkan R 1988. Tarım Ekonomisi İstatistiği. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:1049, Ankara, 293s.

Hububat Sektör Raporu, 2020. <https://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/sectorraporlari/hububat2020.pdf>

İpekçioğlu Ş, Büyükhatipoğlu Ş, Bayraktar M S, Monis T 2014. Şanlıurfa ve Mardin İllerinde Buğday yetiştiriciliği Yapan Çiftçilerin Sertifikalı Tohumluk Kullanımı ve Önerileri. XI. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi 3-5 Eylül 2014, s:737-742

Kanber R, Yazar A., Koç M., Köksal H, Önder S, Ünlü M, Sezen S M 1997. Harran Ovası Koşullarında Buğday Su-Verim İlişkilerinin Belirlenmesi. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, Adana

Karabulut M 2015. Sultantepe, Kabköy, Külünçe Köyleri Buğday Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa

Karaman M, Kendal E, Aktaş A, Tekdal S 2012. Kalite Parametreleri Yönünden Yerli ve Yabancı Bazı Ekmeklik Buğday Çeşitlerinin Değerlendirilmesi. Tarım Bilimleri Araştırmaları Dergisi 5(2):29-32

Karlı B 2001. Harran ovasında Önder Çiftçi Projesi Modelinin Uygulanabilirliği Üzerine Araştırma. Türkiye Ziraat Odaları Birliği Yayını, Ankara

Karlı B1991. GAP Alanında Tarımsal Kredi Kullanımı ve Gelecekteki Kredi İhtiyacının Saptanması Üzerine Araştırma. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana

Kaya H 2021. Cepkenli, Buğdaytepe, Buldum ve Balkat Köyleri Buğday Çiftçi Sörveyi Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa

Kayaoğlu M M 2017. Kılıçlı, Buldum, Balkat, Buğdaytepe, Serince ve Kökenli Köyleri Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa

Keklikçi Z, Alagöz R, Kılınc N 1987. Diyarbakır koşullarında mercimek sonrası buğdayın azotlu gübre gereksinimi. Güneydoğu Anadolu Tar. Arş. Ens. Arş. Özetleri (ed: H.Kılıç, GATAE 2003) ,s:12.

Kılıç H, Erdemci İ. Karahan T, Aktaş H, Karahan H, Kendal E 2005. Güneydoğu Anadolu Bölgesi Şartlarında Bazı makarnalık Buğday Çeşitlerinin Verim Stabiliteleri Üzerine Araştırmalar. GAP IV. Tarım Kongresi 21-23 Eylül Şanlıurfa s:768-773

Kızılgöz İ, Kaptan H 1997. Harran ovası sulu koşullarında yetiştirilen Ege-88 çeşidi makarnalık

- buğdayın (T.durum L.) NPK isteğinin saptanması. Güneydoğu Anadolu bölgesinde sulanabilir koşullarda uygulanabilecek ekim nöbeti sistemlerinin geliştirilmesi. Harran Üniversitesi 10. Yılında Güneydoğu Anadolu projesi (GAP) Alanında Yapılan çalışmalar ve Yayınlar (1992-2002), Ocak,2003, Ş.urfa s:280.
- Koca N 2009. Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- Kocasarı A 2007. Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- Koyuncu A 2016. Buğdaytepe, Buldum, Balkat, Kılıçlı Köyleri Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- Köse K 2018. Kap, Gelincik, Köpürlük, Uğurlu, Hancıağaz, Büyükhan, Sultantepe, Külünçe köyleri çiftçi sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bölümü
- Oğan R 2017. Kaynaklı, Çamlıdere, Balkatan Köyleri Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- Olgun M F 2014. Sultantepe, Külünçe ve Açmalı Köyleri Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- Özberk İ, Kılıç H, Atlı A, Karlı B 2006. Selection of Wheat Based on Economic Return per Unit Area. *Euphytica* 152(18):235-245
- Özberk İ, Özberk F 2009. Serin iklim Tahılları (Buğday ve Arpa) Ders Notları. Yayın No: 2010-1 . Harran Üniv. Zir. Fak. Şanlıurfa
- Özberk İ, Özberk F, İpeksever F, Karaman A 2020. Serin İklim Tahıllarında Maliyet ve Karlılık (2014-19). 7. Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Kongresi, 13 – 14 Mart 2020 Ankara: 191-208
- Özberk İ, Kılıç H, Özberk F, Atlı A, Karlı B, Coşkun Y, 2011. Variety selection based on net return per hectare in durum wheat (T. durum L.), *AJAR* 6(4):1016-1024
- Özer M S, 1991. Harran Ovası Kuru ve Sulanır Koşullarında Buğday İçin Ekonomik Optimum Gübre Miktarının Saptanması. Köy Hizmetleri Araştırma Enstitüsü Yayını, Şanlıurfa
- Özer M S, Dağdeviren İ 1983. Harran ovası Kuru ve Sulu Koşullarında Buğday İçin Buğdayı Azotlu Gübre İsteği. Şanlıurfa Toprak-Su Araştırma Enstitüsü Yayın No: 12, Şanlıurfa.
- Özer S, Dağdeviren İ 1991.Harran ovası kuru ve sulanır koşullarında buğdayın azotlu gübre isteği. KHAE, Ş.Urfa
- Paksoy S 1998. Harran ovasında GAP Kapsamında Sulamaya Açılan Arazilerde Pamuk Yetiştiren İşletmelerin Ekonomik Analizi ve Yörede Pamuğa Dayalı Sanayideki Gelişmeler. Doktora Tezi. Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Ana Bilim Dalı, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Sarıdal Ş 2018. Buğdaytepe, Balkat, Buldum, Kılıçlı, Yardımcı, Bozyazı, Varlıalan, Öztaş, Altılı, Şükürali, Uzunyol, Yolgider, Arın, Çavlu, İmambakır, Kuruyer, Huzurlu Köyleri Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- Sahap İ 2020. Açmalı, Sultantepe, Külünçe Köyleri Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- Şeker F 2009. Buğdaytepe, Buldum, Balkat, Cepkenli ve Bozceylan Köyleri Buğday tarımı Sörveyi. Mezuniyet Tezi. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bölümü, Şanlıurfa
- Şimşek O 2019. Tunalı, Üçdirek, Gerdek, Kabacık ve Dutluk Köyleri Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- Tanrıkulu Ö F, 2018. Diyarbakırda Yaygın Olarak Yetiştirilen Ekmeklik ve Makarnalık Buğday Çeşitlerinde Verim, Kalite ve Karlılık. YL Tezi. HR Ü.Fen Bil. Ens. Şanlıurfa, 139 s
- Toprak R 2021. Açmalı, Büyükhan, Sultantepe, Külünçe Köyleri Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- TUİK 2019. Genel Arazi Dağılımı ve Sulama Durumu <https://www.investsanliurfa.com/sectorler/genel-arazi-dagilimi-ve-sulama-durumu--71>
- TUİK 2020. Ekim Alanı, Üretim ve Verim İstatistikleri, <http://tuik.gov.tr>
- Uçkan R 2010. Sultantepe, Külünçe ve Gelincik Köyleri Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- Ülke Ş 2008. Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- Yalçınkaya H 2016. Sultantepe, Kabköy, Külünçe Köyleri Buğday Çiftçi Sörveyi. Mezuniyet Tezi, Harran üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa
- Yamane T. 1967. Elementary Sampling Sheory, Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 405p

Hatay Yöresinde Tıbbi ve Aromatik Bitkilerde Pazarlama Organizasyonunun Etkinliğinin ve Üretici Memnuniyetinin Belirlenmesi

Ahmet Duran ÇELİK^{1*}, Aykut GÜL²

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, 31100, Antakya-Hatay, ²Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, 01330 Çukurova-Adana

¹<https://orcid.org/0000-0003-3018-822X>, ²<https://orcid.org/0000-0002-8708-8433>

✉: adcelik@mku.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada, Hatay yöresinde yaygın olarak ticareti yapılan ve yörede ekonomik öneme sahip başlıca tıbbi ve aromatik bitkilerin pazarlama yapısı incelenerek, pazarlama organizasyonunun etkinliğinin ortaya konulmasının yanı sıra üretici memnuniyetinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, yörede faaliyet gösteren 78 tanesi üretici/doğadan toplayıcı ve 15 tanesi tıbbi ve aromatik bitkileri işleyen işletme olmak üzere toplam 93 anket çalışması gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, pazarlama hizmetlerinden, toplama, işleme, dağıtım, taşıma ve depolama gibi hizmetlerin yerine getirilirken fazla sorun yaşanmazken, paketleme, dereceleme ve standardizasyon hizmetlerinin yetersiz olduğu belirlenmiştir. Yöredeki tıbbi ve aromatik bitkiler ticareti belli başlı büyük tüccarların kontrolünde gerçekleşirken, pazar saydamlığı ve rekabet kriterlerinin yetersiz, ürünlerin pazarlama marjlarının ise oldukça yüksek olduğu belirlenen diğer bir önemli konudur. Pazarlama marjı, defne yaprağı özelinde %96'ya kadar yükselirken, üreticinin satış fiyatı içerisindeki payı oldukça düşük seviyelerde kalmaktadır. Üretici fiyatlarının sınırlı sayıdaki tüccarlara bağımlı olarak oluşması, üretici gelirlerini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu anlamda, alıcı sayısının çok olduğu bir pazarlama organizasyonu oluşturularak rekabet ortamının sağlanması, bununla birlikte kooperatifleşmenin teşvik edilmesi, üreticilerin korunması ve gelirlerinin artırılması açısından büyük önem taşımaktadır. Üreticilerin sadece %41'i ürün fiyatlarından memnun olduklarını ifade etseler de, %77 gibi büyük bir çoğunluğu bu işle uğraşmaktan memnun olduklarını belirtmişlerdir. Bu sonuçlara ek olarak, tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen gelirin toplam üretici geliri içerisindeki payı ise yaklaşık %25 olarak hesaplanmıştır.

Tarım Ekonomisi

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 15.03.2021

Kabul Tarihi : 26.08.2021

Anahtar Kelimeler

Tıbbi ve aromatik bitkiler
Pazarlama
Organizasyon
Etkinlik
Üretici memnuniyeti

Determining Marketing Organization Efficiency and Producer Satisfaction in Medicinal and Aromatic Plants in the Hatay Province

ABSTRACT

The aim of this study is to present the efficiency of marketing organization in medicinal and aromatic plants (MAPs) by examining the marketing structure of some MAPs that are traded commonly in the Hatay Province. The primary data of the study were collected by face-to-face surveys from MAPs producers/collectors (78) and processing enterprises (15) in the province. According to the research results from the marketing services; “gathering, processing, distributing, transporting, and storing” were found sufficient; however, other marketing services such as “packing, grading, and standardising” were found to be insufficient. Another important outcome of the study was that MAPs' trade is under the control of certain large traders in the province; and accordingly, the price formation is dependent on those traders, which lowers producer price. This situation also simultaneously limits some factors of marketing efficiency such as “market transparency, and competition”, and

Agricultural Economics

Research Article

Article History

Received : 15.03.2021

Accepted : 26.08.2021

Keywords

Medicinal and aromatic plants
Marketing
Efficiency
Organization
Producer satisfaction

increases the “marketing margin” which was found to be 96% in bayleaf. Furthermore, high marketing margins were concluded as one of the main reasons for the decrease in producers’ income. In order to protect producers and increase their wealth, it is important to provide a competitive marketing environment where numerous buyers and sellers meet. Despite the fact only 41% of the producers stated their satisfaction with product prices, 77% of them stated that they are satisfied with MAPs’ trade overall. In addition to these results, proportion of MAPs income in producers’ total income was calculated as around 25%.

Atıf Şekli:	Çelik A, Gül A 2022. Hatay Yöresinde Tıbbi ve Aromatik Bitkilerde Pazarlama Organizasyonun Etkinliğinin ve Üretici Memnuniyetinin Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1465-1478. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.896943
To Cite :	Çelik A, Gül A 2022. Determining Marketing Organization Efficiency and Producer Satisfaction in Medicinal and Aromatic Plants in the Hatay Province. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1465-1478. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.896943

GİRİŞ

Tarih boyunca farklı amaçlarla kullanılan tıbbi ve aromatik bitkiler, günümüzde ‘tedavi amaçlı ilaçlar, kozmetik ürünler, uçucu bitkisel yağlar, bitkisel sağlık ürünleri, renklendirici boyalar, bitki koruma ürünleri” gibi farklı şekillerde değerlendirilirken (Lubbe ve Verpoorte, 2011), bu ürünlerin global düzeyde pazar hacimleri yıllar itibariyle katlanarak artmaktadır. Tıbbi-aromatik bitkilerin dünyadaki yıllık pazar değeri yaklaşık 110 milyar USD civarında olup (Keykubat, 2016), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) raporuna göre bu rakamın 2050 yılı itibariyle 5 trilyon USD olacağı tahmin edilmektedir (Singh, 2006). Dünyada ticareti yapılan tıbbi ve aromatik bitkilerin %50’si gıda, %25’i ilaç ve %25’i kozmetik sanayisinde değerlendirilmektedir (Bağdat, 2006). Dünya’da tıbbi ve aromatik bitkiler ticaretinin yaklaşık %80’i Asyalı ve Avrupalı bir kaç ülkenin himayesindedir. Japonya ve Kore talebin en çok olduğu, Çin ve Hindistan ise üretimin en çok olduğu ülkeler olarak öne çıkarken, Hong Kong, ABD ve Almanya söz konusu ürünlerin en büyük ticaret merkezleri konumundadırlar (Lange, 2004). Tıbbi ve aromatik bitkiler, günümüz modern ilaç sanayisinin de önemli bir hammadidesidir. Dünya bitkisel drog ticaret hacmi 13 milyar USD civarında olup, Türkiye’nin bu pazardan aldığı pay 60 milyon USD dolaylarındadır (Toker ve ark., 2015). Tıbbi ve aromatik bitkiler aynı zamanda gıda, baharat ve bitkisel çay amaçlı olarak dünya genelinde yaygın olarak tüketilirken, gıda takviyeleri ve gıda katkı maddeleri olarak da kullanım alanları bulunmaktadır. Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre 2017 yılı itibariyle dünyada yaklaşık 1.2 milyon hektar alanda 2.8 milyon ton baharat üretilmiştir. Dünyanın en büyük baharat üreticisi, 1.9 milyon ton üretimi ile Hindistan’dır. Türkiye ise 199 bin tonluk üretim ile ilk beş içerisinde yer almaktadır (FAO, 2019).

Türkiye’de üretilen tıbbi ve aromatik bitkiler aynı zamanda ihracata da konu olmaktadır. 2018 yılında 253 milyon dolarlık tıbbi ve aromatik bitki ihracatı gerçekleşmiştir. İhracata konu olan başlıca bitkiler;

haşhaş, kekik, defne, kimyon ve anasondur. Bu beş bitkinin ihracatından elde edilen gelir 205 milyon USD olup, toplam tıbbi ve aromatik bitkiler ihracat değerinin yaklaşık %81’ini oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra, 2018 yılında 46 milyon USD değerinde tıbbi ve aromatik bitki ithalatı gerçekleştirilmiştir. İthalata konu olan başlıca ürünler ise sırasıyla, karabiber, anason, kekik, keçiboynuzu, zencefil ve kimyon dur. Konu hakkında daha önce yapılan yerli ve yabancı bazı çalışmalar aşağıda sıralanmıştır.

Artukoğlu ve Uzmay (2003) yaptıkları çalışmada tıbbi ve aromatik bitkilerin iç ve dış ticaretini inceleyerek, dış ticaret firmaları bazında örnek olay yaklaşımı ile sorunlarını ortaya koymuş ve çözüm önerileri getirmişlerdir.

Bilgin ve ark. (2005), tarafından yürütülen bir araştırmada, Ege Bölgesi’nde defne üreticilerinin sosyo-ekonomik özellikleri ve bölgede kültürel defne yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması konusu üzerinde durulmuştur. Araştırma sonuçlarına göre, üreticilerin defne işletmeciliği konusunda yeterli bilgiye sahip olmadıkları, doğal defne alanlarının tahrip edildiği, defne yaprağının çoğunlukla yerel alıcılar kanalıyla araçlara teslim edildiği, kooperatif alımının sınırlı olduğu, defne toplayıcılığına ek gelir kaynağı olarak bakıldığı ve henüz bir üretim modeli olarak görülmediği tespitinde bulunulmuştur.

Bayram ve ark. (2010), dünya pazar isteklerini karşılayacak kalite ve standartlarda ürünler üretebilmek için, tıbbi ve aromatik bitkilere yönelik kurumsal alt yapının oluşturulması, çeşit geliştirmeye yönelik ıslah çalışmalarının desteklenmesi, hasat sonrası işlemler, depolama ve nakliyede uygun şartların sağlanması gerektiğini belirtmişlerdir.

Faydaoğlu ve Sürücüoğlu (2011), yurt içi ve yurt dışında ticareti yapılan doğal bitkilerin, toplayıcıların, araçların, ihraç eden firmaların tam bir listesinin oluşturularak, sağlıklı bir veri tabanının kurulması gerektiğini belirtmişlerdir.

Gürbüz ve Karahan (2014), yaptıkları çalışmada tıbbi

ve aromatik bitkilerin pazara geliş zincirinin; "üretici, toplayıcı, toptancı, işleyen firma ve perakendeci" şeklinde olduğunu, ürün fiyatlarının ticari olarak bu işle uğraşan firmaların kontrolünde olduğunu ve üreticilerin bu durumdan olumsuz yönde etkilendiğini belirterek, bu nedenle sözleşmeli üretimin gerekliliğinin altını çizmişlerdir.

Sher ve ark. (2014), Pakistan'da yaptıkları çalışmada, tıbbi ve aromatik bitkilerin hemen hemen tamamının, toplayıcılık konusunda eğitilmiş olmayan, çoğunluğu kadın ve çocuklar tarafından doğadan toplandığını ortaya koymuşlardır. Ayrıca çalışmada, toplanan bitkilerin büyük bölümünün aracılara satıldığı ve aracılardan elde ettikleri kazancın, toplayıcılık yapan çiftçilere oranla oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir.

Parlak ve ark. (2015), Burdur'da rezene üretimi yapan işletmelere yönelik yaptıkları çalışmada, üreticilerin ürünlerini çoğunlukla tüccarlara sattıkları, ürünlerini pazarlama konusunda yeterince bilgi sahibi olmadıkları ve fiyat oluşumunda söz sahibi olamadıkları sonucuna ulaşmışlardır.

Hishe ve ark. (2016), tıbbi ve aromatik bitkiler küresel pazarında rekabetçi bir rol oynamak açısından, sektörün bütün aktörlerini içeren esnek ve yenilikçi bir değer zincirinin yaratılması gerektiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, değişen piyasa taleplerine anında cevap verebilmek açısından, söz konusu zincirde etkili bir iletişim ağının kurulmasının önemini vurgulamışlardır.

Çelik ve ark. (2017), tıbbi ve aromatik bitkilerin, Türkiye genelinde ve Hatay yöresi özelinde ekonomik açıdan katkılarını ele aldıkları çalışmada, sektörün yöredeki başlıca sorunlarını; "doğadan aşırı ve bilinçsiz toplama, pazarlama kanallarının yetersizliği ve yörenin doğal bitki örtüsü zenginliğinin tanıtımının yeterince yapılamaması" olarak sıralamışlardır.

Semerci ve Çelik (2017), defne yaprağının Hatay ili ekonomisindeki önemine değindikleri çalışmada, yöredeki defne yaprağı üretim miktarını ve değerlendirilme şekillerini incelemişlerdir. Çalışmada, Türkiye'nin defne yaprağı ihracatının toplam tıbbi ve aromatik bitkiler ihracatı içerisinde %24'e yakın bir paya sahip olduğu belirtilirken, Hatay yöresinde, defne yaprağı özelinde bir ihracat ağının kurulmasının yanı sıra, üretici bazında kooperatifleşmenin önemine vurgu yapılmıştır.

Asil ve Taşgın (2018), Hatay ilinde aktarlara yönelik yaptıkları araştırmada, aktarlarda satılan ürünlerden, oğul otu, mercan köşk, zerdaçal bitkilerinin çoğunlukla tedavi amaçlı olarak, yaban mersini, böğürtlen, reyhan bitkilerinin gıda amaçlı olarak, defne yaprağı ve çörek otunun baharat amaçlı olarak, avakado yaprağı, karaçalı ve rezenenin ise çoğunlukla kozmetik amaçlı olarak kullanıldıklarını ortaya koymuşlardır.

Tapkı ve ark. (2018) tarafında gerçekleştirilen ve Hatay yöresindeki tıbbi ve aromatik bitki üreticilerinin memnuniyet düzeylerinin incelendiği çalışmada, yörede kültürel üretimin yetersiz olduğu vurgulanırken, üretici örgütlerinin gerekliliğine değinilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, Hatay yöresinde doğadan toplama veya kültürel üretim yolu ile elde edilen ve ekonomik değere sahip başlıca tıbbi ve aromatik bitkilerin üretim ve yöredeki işleme potansiyelinin ortaya konulması, ve bu ürünlerin üreticiden tüketiciye kadar olan pazarlama zincirleri incelenerek, pazarlama organizasyonunun etkinliğinin ortaya konulmasıdır. Yapılan literatür araştırması sonucunda, tıbbi ve aromatik bitkilerin özellikle pazarlanmasında yaşanan sorunlara yönelik yeterli çalışmanın olmadığı görülmüştür. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların, hem literatüre katkı sağlaması hem de politika yapıcılara, tıbbi ve aromatik bitkilerde pazarlama organizasyonunun etkinliğinin artırılması ve mevcut potansiyelin daha verimli değerlendirilmesine yönelik olarak çözüm üretilmesi konusunda yol gösterici nitelikte olması hedeflenmektedir.

MATERYAL ve METOD

Materyal

Araştırmanın ana materyali, Hatay ilinde faaliyet gösteren üreticiler ve tıbbi ve aromatik bitkileri işleyen firmalara yönelik olarak gerçekleştirilen iki farklı anket çalışması ile elde edilen birincil verilerden oluşmaktadır. Araştırma alanı ve örnek seçimi, Hatay İl Tarım ve Orman Müdürlüğünden elde edilen kayıtlar doğrultusunda belirlenmiştir. Örneklem yöntemi olarak yörede faaliyet gösteren üretici ve işleyen firma sayısının sınırlı olmasından dolayı tam sayım yöntemi kullanılmıştır. Buna göre, yörede üretim ve toplayıcılık faaliyetinin yoğun olarak yapıldığı, Samandağ, Yayladağı, Defne, Altınözü, Kırıkhan, Hassa ve Antakya ilçelerinde toplam 106 adet kültürel üretici ve doğadan toplayıcı belirlenmiş olup, bu kişilerden bir kısmına ulaşılamadığından, bir kısmının ise görüşme talebine olumlu yanıt vermemesinden dolayı toplam 78 adet anket çalışması yapılmıştır. İşleyen işletmelere yönelik anket çalışmasında ise, yörede tıbbi ve aromatik bitkileri, uçucu yağ, kozmetik ürün, kurutma ve baharat şeklinde işleyen toplam 19 işletme belirlenmiş olup, bu işletmelerin 3 tanesi aktif olmadığından, 1 tanesi de görüşme talebine olumlu yanıt vermemesinden dolayı toplamda 15 işletme ile görüşülmüştür. Araştırmanın anket çalışması 2017 yılında gerçekleştirilmiştir. Araştırma ayrıca ikincil veriler ile de desteklenmiştir. Bu amaçla, konu hakkında daha önce Dünya'da ve Türkiye'de yapılan çalışmalar ve çeşitli kurum ve kuruluşlardan elde edilen istatistikî verilerden yararlanılmıştır.

Metod

Pazarlama organizasyonunun etkinliğinin değerlendirilmesi

Tıbbi ve aromatik bitkilerin pazarlama organizasyonunun etkinliğini değerlendirilmesi amacıyla fonksiyonel ve kurumsal yaklaşımdan faydalanılmıştır (İnan, 2016; Seçer, 2012). Fonksiyonel yaklaşım, tarım ürünlerinin üreticiden nihai tüketiciye kadar olan faaliyetlerinin incelenmesi esasına dayanmaktadır. Bu yaklaşımda, pazarlama fonksiyonları; satın alma ve satış faaliyetlerinin incelendiği “Değişim Fonksiyonu”; işleme, taşıma ve depolama gibi faaliyetlerin incelendiği “Fiziksel Fonksiyonlar”; dereceleme, kalite kontrolü, standardizasyon, pazar bilgilerini yayma, vb. unsurların incelendiği “Pazarlamayı Kolaylaştırıcı Fonksiyonlar” olmak üzere üç temel başlık altında incelenmektedir. Kurumsal yaklaşımda ise, pazarlama sürecinde yer alan kişi ya da işletmelerin faaliyetleri incelenmektedir (İnan, 2016).

Araştırma kapsamında, tıbbi ve aromatik bitkilerin pazarlamasında yer alan tüccar, işleme tesisi, perakendeci gibi aktörlerin faaliyet şekilleri; “toplama, temizleme, ayıklama, kurutma, taşıma, paketlenme, dereceleme” gibi pazarlama hizmetlerinin yanı sıra; pazar saydamlığı, rekabet ve pazarlama marjı gibi önemli görülen pazarlama unsurları da incelenerek, pazarlama organizasyonunun etkinliği ortaya konulmuştur (Emeksiz, 1994; Seçer, 2012).

Pazarlama marjının hesaplanması

Tüketicilerin satın aldığı son ürüne ödeyecekleri fiyatla, üreticilerin ürettikleri hammaddeler için elde ettikleri fiyat arasındaki fark, “pazarlama maliyeti veya pazarlama marjı” olarak tanımlanmaktadır (İnan, 2016). Diğer bir ifadeyle, pazarlama marjı, pazarlama kanalında, alım-satım sırasında oluşan fiyat farkıdır. Pazarlama marjı hesaplanırken, mutlak marj ve nispi marj olmak üzere iki hesaplama şekli bulunmaktadır. Mutlak marj, bir ürünün alım-satım fiyatı arasındaki fiyat farkı olup, nispi marj ise, mutlak marjın satış fiyatına oranlanması sureti ile elde edilen yüzdesel bir ifadedir (Olgun, 1988; Fafchamps ve ark, 2004).

Pazarlama Marjının hesaplanmasında üç yöntem kullanılmaktadır (Emeksiz, 1994);

1. Bir ürün, pazarlama kanalı içerisinde son tüketiciye kadar olan süreç izlenir.
2. Temsil edici bir pazarlama kanalının her aşamasında, aracı satış tutarından tedarik masraflarının çıkarılarak miktara bölünüp, elde edilen rakamların toplanması yolu ile hesaplanır.
3. Pazarlamanın her aşamasındaki temsili fiyat serilerinin karşılaştırılması sureti ile hesaplanır.

Araştırmada kapsamında, pazarlama marjının

hesaplanmasında kullanılan perakende fiyatları, Hatay ili Antakya merkez ilçede faaliyet gösteren aktarlardan elde edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Araştırma alanındaki üreticilerin sosyo-ekonomik özellikleri

Araştırma alanında anket yapılan üreticilere ait sosyo-ekonomik özellikler Çizelge 1’de verilmiştir. Buna göre, görüşülen üreticilerin %75,64’ünün erkeklerden oluştuğu, %66,70’inin ilköğretim mezunu olduğu, üreticilerin yaş ortalamasının 47,83 olduğu, tıbbi ve aromatik bitki üretiminde ortalama olarak 14,37 yıl tecrübeye sahip olunduğu, ve ortalama hane halkı sayısının 4,36 olduğu belirlenmiştir. Bu bulguların yanı sıra, üretici beyanına bağlı olarak, tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen ortalama gelir yaklaşık 12 bin TL olarak hesaplanırken, üreticilerin tıbbi ve aromatik bitkilerden elde ettikleri gelirin yanı sıra, diğer tarımsal ve tarım dışı faaliyetlerden elde ettikleri kişi başına toplam gelir ortalaması ise yaklaşık olarak 49 bin TL olarak hesaplanmıştır. Diğer bir ifadeyle, üreticilerin tıbbi ve aromatik bitkilerden elde ettikleri gelirin, toplam gelirleri içerisindeki payı yaklaşık olarak %25’tir.

Araştırma alanında görüşülen üreticilerin ilçelere göre dağılımı

Araştırma alanında görüşülen üreticilerin ilçelere göre dağılımı Çizelge 2’de verilmiştir. Üreticilerin yaklaşık % 59’u kültürel üretim yaparken, yaklaşık %41’i doğadan toplayıcılık yapmaktadır. Yöredeki kültürel üretim, ağırlıklı olarak Altınözü ilçesinde, zahter kekik üretimi özelinde yoğunlaşırken, doğadan toplayıcılık ise, defne yaprağı toplayıcılığının yaygın olarak yapıldığı, Samandağ, Defne, ve Yayladağı ilçelerinde yapılmaktadır. Yörede ayrıca, safran, lavanta ve adaçayı gibi bitkilerin kültürel üretiminin yaygınlaştırılmasına yönelik olarak, Tarım ve Orman Bakanlığı, Hatay il Müdürlüğü bünyesinde çalışmalarında yürütülmektedir.

Hatay yöresinde tıbbi ve aromatik bitkilerin değerlendirilme şekilleri

Hatay yöresi zengin bir doğal bitki örtüsüne sahiptir. Defne, kekik, sumak ve adaçayı yörede yetişen ve ekonomik anlamda ticareti yapılan başlıca bitki türleridir. Yörede genel olarak doğadan toplamak suretiyle elde edilen bitkiler, kurutma fabrikalarında kurutulmuş veya uçucu yağ fabrikalarında esansiyel yağ elde etmek suretiyle işlenmeye hazır hale getirilmektedir. İşlenmeye hazır hale getirilen yarı mamul ürünler daha sonra baharat ve kozmetik fabrikalarında işlenerek mamul ürün haline gelmektedir. Yörede tıbbi ve aromatik bitkilerin işlenmesi ve değerlendirilmesine yönelik sektörde;

sabun ve kozmetik üretimi, yağ üretimi, yaprak işleme, ihracat ve pazarlama gibi farklı faaliyet kolları bulunmaktadır (Hatay Valiliği, 2012). Hatay ilinde, tıbbi ve aromatik bitkiler sektörünün faaliyet dallarına göre ilçelere dağılımı incelendiğinde, uçucu

yağ ve yaprak işleme tesisleri, Kırıkhan, Samandağ ve Yayladağı ilçelerinde toplanırken, sabun, kozmetik, baharat gibi mamul ürün üretimi ve ihracata yönelik faaliyet gösteren işletmelerin Antakya şehir merkezinde toplandığı görülmektedir.

Çizelge 1. Araştırma alanındaki üreticilerin sosyo-ekonomik özellikleri

Table 1. Socio-economic characteristics of the producers in the research area

Cinsiyet / Gender	Frekans/Frequency	Oran (%) / Ratio (%)
Kadın	19	24.36
Erkek	59	75.64
Toplam	78	100
Eğitim Seviyesi / Education Level	Frekans/Frequency	Oran (%) / Ratio (%)
İlkokul	52	66.70
Ortaokul	6	7.60
Lise	7	9.00
Üniversite	7	9.00
Lisansüstü	1	1.30
Okuryazar	5	6.40
Toplam	78	100.00
Yaş Ortalaması / Age Mean	47.83	
Deneyim Ortalaması (yıl) / Experience Mean (year)	14.37	
Hanedeki Birey Sayısı Ortalaması / Household Size Mean	4.36	
TAB Gelir Ortalaması (TL) / MAPs Income Mean (TL)	12.369,82	
Toplam Gelir Ortalaması (TL) / Total Income Mean (TL)	49.154,31	

Çizelge 2. Araştırma alanında görüşülen üreticilerin ilçelere göre dağılımı

Table 2. Distribution of the producers based on the districts

İlçe / District	Frekans/Frequency		Toplam / Total	Oran (%) / Ratio (%)
	Kültürel Üretici	Doğadan Toplayıcı		
Samandağ	2	18	20	25.60
Altınözü	19	0	19	24.40
Defne	7	9	16	20.50
Yayladağı	12	4	16	20.50
Hassa	3	1	4	5.10
Antakya	2	0	2	2.60
Kırıkhan	1	0	1	1.30
Toplam	46	32	78	100.00

Tıbbi ve aromatik bitkilerde pazarlama kanalları

Araştırma sonuçlarına göre, üreticilerin ürettikleri veya doğadan toplamak suretiyle elde ettikleri ürünlerin %69'u tüccarlara, %17'si yöredeki işleme tesisleri veya firmalara, %14'ü ise yerel pazarlar, baharatçı, aktar, vb. yerlere satılmaktadır. Defne yaprağı ve kekik gibi ürünler genel olarak tüccarlar tarafından satın alınarak yöredeki işleme tesislerine veya yerel pazara dağıtılırken, defne yağı, safran gibi daha özel yapıdaki ürünler ise üreticiler tarafından doğrudan bu ürünleri işleyen firmalara satılmaktadır.

Yörede faaliyet gösteren işleme tesisleri ve firmalar ise, elde ettikleri mamul ve yarı mamul ürünlerin, %66'sını doğrudan ihracat veya ihracatçı firmaya pazarlamak yolu ile değerlendirirken, %33'ünü ise toptancı ve perakendeciler aracılığı ile iç pazarda pazarlamaktadırlar (Şekil 1).

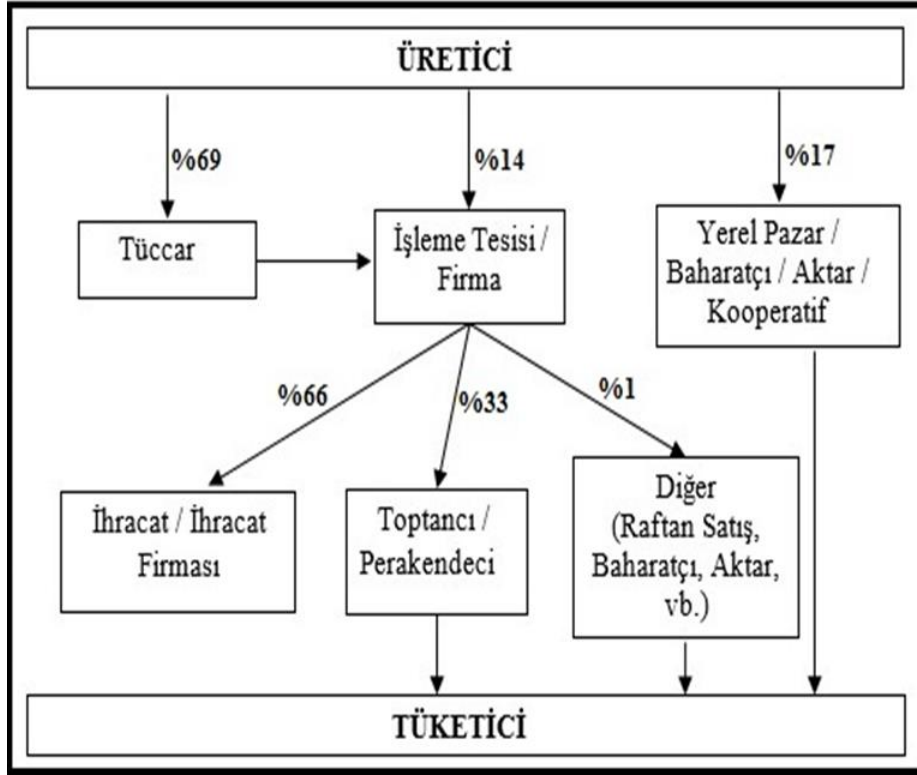
İşletmelerin faaliyet alanları bakımından, sabun ve kozmetik firmaları, ürettikleri ürünlerinin %63'ünü toptancı/perakendeci firmalar aracılığı ile iç pazarda değerlendirirken, %35'ini ihracat yolu ile pazarlamaktadırlar. Kurutma fabrikalarında kurutulmuş elde edilen ürünlerin %82'si, uçucu yağ fabrikalarında elde edilen eterik yağların ise %80'i ihraç edilmektedir. Yörede faaliyet gösteren baharat firmaları ise, genel olarak ithalat yolu ile temin ettikleri ürünlerin %84'lük kısmını işleyip paketledikten sonra, toptancı ve perakendeciler aracılığı ile iç pazarda pazarlamaktadırlar.

Pazarlama organizasyonunun etkinliğinin değerlendirilmesi

Tıbbi ve aromatik bitkilerin pazarlama organizasyonunun etkinliği, "Pazarlama Hizmetleri

(toplama, temizleme, ayıklama, kurutma, taşıma, paketlenme, derecelleme), Pazarın Saydamlığı

(Şeffaflığı), Rekabet ve Pazarlama Marjı” olmak üzere, dört ana başlık altında incelenmiştir.



Şekil 1. Hatay Yöresinde Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Pazarlama Kanalları
Figure 1. Marketing Channels of MAPs in Hatay Province

1. Pazarlama hizmetleri

Toplama

Üretilen ürünün pazarda bir araya getirilmesi olarak tanımlanan “toplama” hizmeti, Hatay yöresinde, tıbbi ve aromatik bitkiler özelinde, büyük oranda tüccarlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Üreticiler ürünlerini yörede faaliyet gösteren yerel tüccarlar aracılığı ile büyük tüccarlara satmakta, büyük tüccarlar tarafından alınan ürünler pazarda toplanmaktadır.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin pazarda toplama hizmetinin gerçekleştirilmesinde rol oynayan kanallar Çizelge 3’te verilmiştir. Ürünlerin ortalama %69.23’ü tüccarlar aracılığı ile pazarda toplanırken, tüccarların toplama hizmetindeki payı defne yaprağı özelinde %100’e kadar yükselmektedir. Üreticilerin %14.11’i ürünlerini özel firmalara satarken (safran ve defne yağı gibi spesifik ürünler), %11.54’ünün ise ürünlerini yerel pazarlarda sattıkları belirlenmiştir.

Toplama işleminin etkinliğinin ortaya konulabilmesi için, incelenmesi gereken 4 faktör bulunmaktadır.

Bu faktörlerden ilki, üretim yapılan köylerin pazara olan ulaşım (yol) durumudur. Araştırma alanında bulunan köylerin pazara olan ulaşım yolları iyi durumda olup, etkinliği azaltıcı bir durum bulunmamaktadır.

Çizelge 3. Tıbbi ve aromatik bitkilerin pazarda toplama kanalları

Table 3. Gathering channels of medicinal and aromatic plants

Alıcı/Buyer	Frekans/Frequency	Oran (%) / Ratio(%)
Tüccar	54	69.23
Firma/Özel Müşteri	11	14.11
Yerel Pazar	9	11.54
Aktar	2	2.56
Kooperatif	1	1.28
Diğer	1	1.28
Toplam	78	100.00

İkinci faktör, pazara olan uzaklık olup, araştırma alanında inceleme yapılan köylerin, şehir merkezine (pazara) olan uzaklıkları 8 ile 86 km arasında değişirken, ortalama uzaklık 33 km olarak hesaplanmıştır. Pazara toplama işlemi genel olarak yerel tüccarların ve üreticilerin kendi olanakları ile ürünlerini pazara taşımaları şeklinde gerçekleştirilirken, pazar uzaklığı açısından etkinliği azaltıcı bir durum söz konusu değildir.

Toplama işleminin etkinliğinde rol oynayan üçüncü faktör, işletme başına düşen arz miktarıdır. İşletmelerin toplam üretim miktarları ve işletme başına düşen üretim miktarları Çizelge 4’de verilmiştir. Araştırma kapsamında görüşülen

işletmelerde, toplam 148 ton tıbbi ve aromatik bitki üretilmiş olup, işletme başına düşen ortalama arz miktarı 1,8 ton olarak hesaplanmıştır. Ürünler bazında işletme başına en yüksek arz miktarı 4.3 ton ile dallı defne yaprağı olup, işletme başına düşen en düşük arz miktarı 0.3 kg ile safran bitkisidir. Tıbbi ve

aromatik bitkiler genel olarak kurutulmuş uzun süre muhafaza edilebilen ürünler olmalarının yanı sıra, iç ve dış pazarlarda yoğun talep görmelerinden dolayı, üreticiler ürettikleri ürünlerin tamamına yakın bir kısmını pazara arz etmektedirler.

Çizelge 4. Ürünler bazında işletme başına düşen arz miktarları
Table 4. Supply amount per enterprise based on products

Ürün/Product	Üretici Sayısı (*) / The Number of Producer	Toplam Üretim Miktarı (kg) / Total Production Amount (kg)	İşletme Başına Ortalama Üretim Miktarı (kg) / Production Amount Average Per Enterprise
Defne (Dallı)	17	72.900	4.288
Defne (Ayıklanmış)	6	6.015	1.002
Kekik (Zahter)	24	47.630	1.985
Çörekotu	2	9.350	4.675
Adaçayı	7	6.350	907
Sumak (Dallı)	11	3.522	320
Halil İbrahim Zahteri	4	2.260	565
Lavanta	2	40	20
Safran	6	1,8	0.3
Diğerleri	3	415	138
Toplam	82	148.484	1.811

*Üreticiler birden fazla üründe üretim faaliyeti gösterebilmektedir

Toplama işleminin etkinliğini belirlemede rol oynayan dördüncü ve son faktör, nakliye işleminde kullanılan aracın cinsi ve bulunabilirlik durumudur. Araştırma alanında, defne yaprağı gibi yüksek üretim miktarına sahip ürünler, pikap gibi taşıma araçları ile işleme noktalarına taşınırken, diğer ürünler minibüs veya şahsi otomobiller ile taşınmaktadır. Nakliye araçları ve bulunabilirlikleri açısından etkinliği azaltan herhangi bir sorun belirlenmemiştir.

Sonuç olarak, tıbbi ve aromatik bitkilerin toplama hizmetinin, Hatay yöresinde etkin bir şekilde yapıldığı sonucuna ulaşılmıştır.

İşleme (pazara hazırlama)

Tıbbi ve aromatik bitkiler, baharat, kozmetik ve ilaç gibi çeşitli sanayi dallarında hammadde olarak kullanılmaktadır. Hatay yöresinde tıbbi ve aromatik bitkiler, kullanıldıkları sanayi dalına bağlı olarak farklı şekillerde işlenerek pazara hazır hale getirilmektedirler. Baharat amaçlı kullanılacak olan bitkiler yöredeki kurutma fabrikalarında veya ev ortamında kurutulurken, uçucu yağ fabrikalarında çeşitli ekstraksiyon işlemlerine tabi tutularak elde edilen eterik yağlar ise kozmetik ve ilaç sanayilerinde hammadde olarak kullanılmaktadır.

Araştırma kapsamında, Hatay yöresinde 4 adet kurutma fabrikası, 3 tanesi atıl vaziyette olmak üzere toplam 4 adet uçucu yağ fabrikası, 7 adet kozmetik firması ve 3 adet baharat firması belirlenmiştir. Ticareti yaygın olarak yapılan defne yaprağı, yöredeki kurutma fabrikalarında ayıklandıktan sonra

kurutulmuş, yurtdışına satılmak üzere, yarı mamul halde, Ege bölgesinde yer alan ihracat firmasına yollanmaktadır.

Köylüler tarafından, defne tohumunun kaynatılması ile elde edilen defne yağı, Hatay yöresinde bulunan kozmetik fabrikalarında, yöreye özgü olan defne sabunu üretiminde kullanılmaktadır.

Ev ortamında kurutulmuş zahter kekik ise, Hatay ili iç pazarında satışa sunulurken, Hatay ilinde faaliyet gösteren baharat firmaları ise ithalat yolu ile temin ettikleri, daha ucuz maliyetli ürünleri, işleyip paketlemek sureti ile yurtiçi pazara sunmaktadırlar.

Genel olarak yörede tıbbi ve aromatik bitkilerin işlenmesine yönelik etkinliği olumsuz etkileyecek bir unsura rastlanmamış olmakla birlikte, özellikle sabun ve kozmetik firmalarının kaliteli ve yeterli miktarda hammadde temin etmede ve pazarlama gibi konularda sorunlar yaşadıkları belirlenmiştir.

Dağıtım

Üretilen ürünlerin, tüketime hazır hale getirildikten sonra nihai tüketicilere satılacakları noktalara sevk hizmetine dağıtım denilmektedir. Bir ürünün dağıtımını, toptan veya perakende noktalarına ve tüketicilere dağıtımını içermektedir (İnan, 2016).

Hatay yöresinde üretilen tıbbi ve aromatik bitkilerin yöre içi ve yöre dışı işleme fabrikalarına veya yöre içi satış noktalarına dağıtımını tüccarlar tarafından sağlanmakta olup, dağıtım açısından etkinliği azaltıcı bir faktör bulunmamaktadır.

Paketleme ve ambalajlama

Paketlemenin amacı, ürün işlendikten sonra nihai tüketiciye ulaşıncaya kadarki süreçte ürünün dış etkilerden korunmasıdır. Bunu yaparken paketlemenin ekonomik olması ise, hedeflenen diğer bir temel amaçtır (İnan, 2016). Baharat amaçlı olarak işlenecek olan tıbbi ve aromatik bitkiler, işlenecekleri veya satılacakları merkezlere genel olarak çuval ile taşınırken, yörede tıbbi ve aromatik bitkilerin paketlenmesine yönelik yeterli tesis bulunmamaktadır. Başta defne yaprağı gibi ihracata konu olan ürünler, çuvalar içerisinde, paketlenmek ve ihraç edilmek üzere, Ege Bölgesindeki ihracat firmasına gönderilmektedir. Zahter kekik gibi yöre içerisinde değerlendirilen ürünler ise, yerel baharatçılarda ambalajsız olarak satışa sunulmaktadır. Safran gibi spesifik ürünler ise cam kavanoz içerisinde, yöre dışındaki işleme merkezlerine sevk edilmektedirler.

Tıbbi ve aromatik bitkiler, ürünler bazında, Türk Standartları Enstitüsü tarafından farklı standartlara tabii tutulmaktadır, Hatay yöresinde yetişen ürünler açısından uygulanan başlıca standartlar; defne yaprağı: TS1017; defne yağı: TS 5205; kekik: TS 3786; sumak: TS3880; çörekotu: TS3881; safran: TS 3632-1 şeklindedir.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin, uygun ve hijyenik şekilde üretilmesi, hazırlanması, işlenmesi, depolanması, nakledilmesi ve piyasaya arz edilmesi aşamalarında taşınması gereken özellikler, 2013 yılı, 28614 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan, Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği (Resmi Gazete, 2013) ve 2018 yılı 30382 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Gıda ile Temas Eden Madde ve Malzemelere Dair Yönetmelik uyarınca belirlenmiştir (Resmi Gazete, 2018). Söz konusu yönetmeliklere göre, ambalajlamada kullanılacak madde ve malzemeler; "iyi üretim uygulamalarına uygun olarak üretilir ve normal veya öngörülen kullanım koşullarında madde ve malzemeyi oluşturan bileşenlerden gıdaya; insan sağlığını tehlikeye sokacak veya gıdanın bileşiminde istenmeyen değişimlere neden olacak veya duyuşsal özelliklerinde bozulmaya neden olacak, miktarda geçiş olamaz. Yönetmelik kapsamında yer alan ürünlerin etiketi, reklamı ya da tanıtımı tüketiciyi yanıltıcı olamaz" şeklinde belirtilmiştir.

Yönetmelik gereği, ambalajsız olarak satışa sunulan baharatlarda ise; uygun malzemeden yapılmış kaplarda ve ortam koşullarından gelebilecek bulaşmalara engel olacak şekilde, kapalı olarak, güneş ışığına maruz kalmayacak şekilde sergilenebileceği, satış yeri olarak sadece hijyen koşullarını sağlayan yerlerde piyasaya sunulabileceği, pazar, kasap, manav gibi yerlerde satılamayacakları, ambalajsız olarak piyasaya arz edilen baharatlar, belirlenen hükümlere uygun bir malzemeye sarılarak veya içine konularak tüketiciye arz edileceği belirtilmiştir. Hatay yöresinde

faaliyet gösteren aktar ve baharatçılarda açıkta satışa sunulan ürünlerin bu şartları taşıdığı, ancak özellikle zahter kekik gibi ürünlerin zaman zaman pazarlarda, yönetmelikte belirlenen şartlara uymayacak şekilde, hijyenik olmayan koşullarda satıldığı gözlenmektedir.

Sonuç olarak yörede yetişen tıbbi ve aromatik bitkilerin çoğunlukla yarı mamul halde, işlenmek ve pazarlanmak üzere yöre dışına gönderildiği, yöre içerisinde değerlendirilen ürünlerin ambalajsız olarak satıldığı göz önüne alındığında, yörede paketleme hizmetinin yetersiz ve etkin şekilde yapılmadığı sonucuna ulaşılmaktadır.

Taşıma

Tıbbi ve aromatik bitkilerde taşıma işlemi iki aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşamada, toplanan ürünler işleme tesislerine taşınırken, ikinci aşamada ise işleme tesislerinden tüketim merkezlerine taşınmaktadır.

Defne yaprağı özelinde, hasattan sonra, kurutma tesislerine taşıma, küçük partiler halinde pikap ve kamyonetler ile gerçekleştirilirken, kurutma işleminden sonra ihraç edilmek üzere kamyonlarla Ege Bölgesi'ne taşınmaktadır.

Hatay yerel pazarında değerlendirilen, başta zahter kekik ve diğer bitki türleri, üreticilerin şahsi binek araçları veya minibüsler ile şehir merkezine taşınmaktadır. Safran bitkisi ise kargo yolu ile yöre dışındaki işleme merkezlerine yollanmaktadır.

Taşıma işleminin ilk aşamasında, ürünlerin %55.10'u işletme avlusunda yerel tüccarlar tarafından teslim alınırken, %44.90'ı ise üreticiler tarafından alıcının işletmesine teslim edilmektedir. Taşımanın ikinci aşaması olan, tüketim merkezlerine taşıma işlemi ise tüccarlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Diğer bir değişle taşıma işleminin iki aşamasında da tüccarlar büyük rol oynamaktadır.

Mülkiyet durumu açısından, taşıma işleminde kullanılan araçların %14.00'ü şahsi araçlar olup, %86.00'si ise kiralık araçlardır. Taşıma işleminde kullanılan araçların türü açısından, %70.50'si pikap/kamyonet, %14.10'u otomobil, %12.80'i minibüs olup, ürünlerin %2.60'ının taşıma işleme ise kargo yolu ile gerçekleştirilmektedir. Araştırma alanında, tıbbi ve aromatik bitkilerin taşıma hizmetinin etkin şekilde yapıldığı belirlenmiş olup, etkinliği azaltan bir unsura rastlanmamıştır.

Depolama

Baharat amaçlı olarak tüketilen tıbbi ve aromatik bitkiler, kurutularak muhafaza edildiklerinden dolayı, rutubetsiz ve oda sıcaklığındaki normal depolarda uzun süre muhafaza edilebilmektedir. Bununla birlikte, Hatay yöresinde yetişen bitki türleri, başta defne yaprağı olmak üzere, gerek iç pazarda gerek dış pazarlarda talebin yoğun olmasından ötürü, uzun süre

depolanmaları gerekmemekte, bu nedenle hasat işleminden hemen sonra kurutma işlemine tabi tutularak pazara sunulmaktadırlar. Defne sabunu gibi, defne yağının işlenmesi ile elde edilen kozmetik ürünler ise, kuru ve serin normal depo şartlarında 2 yıla kadar muhafaza edilebilen, 2 yıllık raf ömrünün ardından geri dönüşüm ile tekrar üretilen ürünlerdir. Bu bağlamda, tıbbi ve aromatik bitkilerin depolanması açısından, etkinliği azaltan bir durum belirlenmemiştir.

Dereceleme ve standardizasyon

Dereceleme işlemi hasat sonrasında veya işleme esnasında ürünlerin, ağırlık, hacim, renk, tat, koku, çap ve biçim gibi özelliklerine bağlı olarak gruplandırılmasını ifade etmektedir. Derecelemenin ileri bir şekli olan standardizasyon işleminde ise, ürünlerin derece özelliklerinin yer ve zaman açısından değişmeyecek şekilde üniform hale getirilmesi söz konusudur (İnan, 2016).

Araştırma alanında üretilen tıbbi ve aromatik bitkilerin herhangi bir dereceleme ve standardizasyon işleminden geçirilmediği tespit edilmiştir. Yörede üretilen tıbbi ve aromatik bitkilerin büyük bölümü kurutularak, yarı mamul halde yöre dışına satıldığı göz önünde bulundurularak, dereceleme ve standardizasyon işleminin yöre içerisinde çok büyük bir önem taşımadığı söylenebilir. Yöre içerisinde aktar ve baharatçılarda satılan ürünler kalitelerine göre sınıflandırılarak satışa sunulmaktadır. Bu sınıflandırma herhangi bir analize dayalı olmayıp, tüccar ve satıcıların kişisel tecrübe ve görüşlerine göre belirlenmektedir.

Defne sabunu üretiminde kullanılan defne yağının ise, içerik açısından herhangi bir dereceleme ve standardizasyona göre üretilmediğinden ötürü, defne sabunu üreten firmaların, kaliteli ve standart hammadde bulmakta zorlandıkları belirlenmiştir. Firmalar, köylülerden satın aldıkları defne yağını içerik analizine tabii tutarken, özellikle tağşiş (yabancı madde karıştırma) nedeni ile kaliteli hammaddeye erişim açısından ciddi sorunlarla karşılaştıkları belirlenmiştir.

Genel olarak, yörede dereceleme ve standardizasyon işleminin etkin olarak yerine getirilmediği sonucuna ulaşılmıştır.

Sonuç itibarıyla, pazarlama hizmetlerinden “toplama, dağıtım, taşıma ve depolama” hizmetlerinin yörede etkin bir şekilde yerine getirilirken, “işleme, paketleme ve standardizasyon” gibi hizmetlerin ise etkin olmadığı belirlenmiştir.

Yetersiz pazarlama alt yapısı nedeniyle, baharat amaçlı olarak üretilen ürünlerin büyük bir bölümünün, yarı mamul halde yöre dışına satılmasından ötürü yöreye yeterince katma değer bırakmamaktadır. Yörede kozmetik sanayinin ihtiyaç

duyduğu, yeterli ve kaliteli hammadde bulma konusunda yaşanan sıkıntılar, tağşişin yaygın olması, paketleme, dereceleme ve standardizasyon hizmetlerine yönelik yeterli alt yapının bulunmaması etkinliği kısıtlayan en önemli unsurlardır.

2. Pazarın saydamlığı (şeffaflığı)

Pazar koşullarının, pazarda yer alan herkes tarafından görülebilir olması, pazar saydamlığı (şeffaflığı) olarak adlandırılmaktadır. Saydam bir pazarın iki temel koşulu bulunmaktadır. Bu koşullardan ilki, belirli bir dereceleme ve sınıflandırmaya yönelik standartların olması ve bu standartlara uyulmasıdır. Saydam bir pazarın ikinci önemli koşul ise, pazar koşullarına dair bilginin etkin bir şekilde toplanması ve yayılmasıdır.

Hatay yöresinde, tıbbi ve aromatik bitkilere yönelik dereceleme ve sınıflandırma hizmetleri bir önceki bölümde incelenmiş olup, bu hizmetlerin yetersiz olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Pazar fiyatı ve talep miktarı gibi bilgilerin öğrenildiği kaynakların dağılımı açısından, üreticilerin %73’ü ürünlerin fiyatı hakkındaki bilgiyi tüccarlardan öğrendiklerini belirtirken, sadece %14’lük bir kısmı fiyatları pazardan öğrendiğini belirtmiştir. Pazarın talep ettiği ürün türü hakkındaki bilgiyi ise, üreticilerin %72’si tüccarlardan öğrendiğini belirtirken, sadece %15’i pazardan öğrendiğini belirtmiştir. Sonuç olarak, tıbbi ve aromatik bitkiler pazarlama organizasyonunun saydam olmadığı belirlenmiştir. Üreticilerin pazar hakkındaki bilgi kaynağı büyük oranda tüccarlarla sınırlı olup, pazarın güncel fiyatı ve pazarın talep ettiği ürün niteliği ve miktarına yönelik bilgi edinme oranı oldukça sınırlıdır. Özellikle fiyat konusunda, üreticilerin yöredeki büyük tüccarlara bağımlı olması, yörede kronikleşmiş bir sorun olup, alıcı sayısının çok olduğu bir pazarlama organizasyonunun oluşturulması, üretici gelirinin artırılması açısından büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda, Hatay yöresinde, tıbbi ve aromatik bitkilere yönelik, bir ticaret borsasının oluşturulması, üretici ve çok sayıda alıcının bir araya gelerek fiyatların serbest şekilde oluşacağı bir yapının temin edilmesi, yörede tıbbi ve aromatik bitkiler piyasasının canlanması ve fiyat belirlenmesi konusundaki tekelin kırılmasına katkı sağlayacaktır.

3. Rekabet

Pazarlama organizasyonunun rekabet açısından etkinliğinin belirlenmesi için, üreticilerin pazar gücünün ve toptancı aşamasında rekabet yoğunluğu olmak üzere iki unsurun ortaya konulması gerekmektedir.

Unsurlardan ilki olan, üreticilerin pazar gücü, pazarlama kanallarının sayısına bağlı olarak şekillenmektedir. Hatay yöresinde, tıbbi ve aromatik

bitki üretim veya toplayıcılığı ile uğraşan üreticilerin büyük bir çoğunluğu, ürünlerini tüccarlar kanalı ile pazarlamaktadırlar. Her ne kadar, ürünlerini kendi imkanları ile yerel pazarlarda pazarlayan veya defne yağı gibi yarı mamul ürünleri özel sipariş ile pazara ulaştıran üreticiler bulunsa da, üretilen ürünlerin yaklaşık %69'u tüccarlar kanalı ile pazarlanmaktadır. Araştırma kapsamında görüşülen üreticilerin büyük bir bölümü (%73) fiyat konusunda rekabetin olmadığını, ürünlerini tüccarların belirlediği fiyatlardan satmak zorunda kaldıklarını belirtmişlerdir. Bu anlamda üreticilerin pazar gücünün oldukça zayıf olduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

Pazarlama organizasyonunun rekabet etkinliğinde rol oynayan ikinci unsur, toptancı aşamasındaki rekabet yoğunluğu olup, "pazara giriş serbestliği (tüccar sayısı) ve tüccarların davranış biçimleri" olmak üzere iki başlık altında incelenmektedir. Tüccarların pazara girişinde herhangi bir engel olmamakla birlikte yörede, tıbbi ve aromatik bitkilere yönelik faaliyet gösteren tüccar sayısı sınırlıdır. Araştırma kapsamında, yörede faaliyet gösteren az sayıda büyük tüccar ve bu tüccarlara bağlı olarak faaliyet gösteren yerel tüccarlar olduğu belirlenmiştir. Yörede faaliyet gösteren büyük tüccarlar arasında şiddetli bir fiyat rekabeti bulunmaktadır. Fiyat rekabetinin en büyük nedeni, özellikle defne yaprağı gibi ihracat talebinin yoğun olduğu ürünlerde arz miktarının sınırlı olmasıdır. Tüccarlar, ürün alım aşamasındaki fiyat rekabetinin olumsuz etkilerini, yöre dışından veya Suriye ve Gürcistan başta olmak üzere komşu ülkelerden ürün ithal ederek gidermeye çalıştıklarını belirtmişlerdir.

Sonuç olarak, yörede tıbbi ve aromatik bitkiler piyasasında, üretici ve yerel tüccarlar açısından önemli bir fiyat rekabet yaşanmazken, yörede faaliyet gösteren sınırlı sayıdaki büyük tüccarlar arasında yoğun bir fiyat rekabeti olduğu belirlenmiştir.

Üreticilerin pazardaki rekabet gücünü artırmak açısından, yörede bireysel faaliyetler yerine kooperatifleşmenin teşvik edilerek örgütlü bir yapının oluşturulması önem taşımaktadır.

4. Pazarlama marjı

Tüketicilerin satın aldığı nihai ürüne ödedikleri fiyatla, üretici satış fiyatı arasındaki fark, pazarlama maliyeti veya pazarlama marjı olarak tanımlanmaktadır (İnan, 2016). Pazarlama marjının hesaplanmasında farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, her pazarlama aşamasındaki temsil edici fiyatların karşılaştırılması yoluyla pazarlama marjı hakkında fikir edinilmeye çalışılmıştır. Pazarlama marjını ifade eden "mutlak marj", bir ürünün alım-satım fiyatı arasındaki fiyat farkı olup, "nispi marj" ise, mutlak marjın satış fiyatına oranlanması sureti ile elde edilen yüzdesel bir ifadedir (Olgun, 1988;

Fafchams ve ark, 2004).

Hatay yöresinde ticareti yaygın olarak yapılan tıbbi ve aromatik bitkilerin pazarlama marjları hesaplanırken, üretici-tüccar-perakendeci fiyatları dikkate alınmıştır. Üretici satış fiyatları hesaplanırken, üreticilerin ürünlerini tüccarlara satış fiyatı değerlendirmeye alınırken, perakende fiyatları ise şehir merkezinde bulunan aktarlardan elde edilen fiyatların ortalaması alınmak suretiyle belirlenmiştir. Pazarlama marjları, yörede baharat olarak ticareti yaygın olarak yapılan başlıca bitki türleri için hesaplanmıştır. Defne sabunu gibi defne yağının işlenmesi ile elde edilen mamul ürünler ise, üretim esnasında standart bir üretim yönteminin olmaması, üretilen ürünlerin içeriğinde, defne yağının haricinde farklı yağlar ve kimyasal bileşiklerin kullanılıyor olması ve kullanılan bu bileşiklerin oranlarının üreticiden üreticiye farklılık göstermesinden dolayı hesaplanamamıştır. Ürünlerin tüccar fiyatları hakkında sağlıklı veriler alınmadığından dolayı, tüccar marjları hesaplamaya dahil edilmemiştir.

Araştırma alanında incelenen ve ticareti yaygın olarak yapılan bazı tıbbi ve aromatik bitkilere ait pazarlama marjları Çizelge 5'te verilmiştir. Yörede ticareti yaygın olarak yapılan ayıklanmış yaş defne yaprağının üretici satış fiyatı ortalaması 1.66 TL/kg olarak belirlenmiştir. Kurutulmuş defne yaprağının perakende satış fiyatı 27 kat artarak, 45.00 TL/kg olarak hesaplanmış olup, kuru defne yaprağının pazarlama marjı 43.34 TL/kg olarak bulunmuştur. Söz konusu satış fiyatının %96.31'lik kısmı pazarlama marjı olup, üreticinin satış fiyatı içerisindeki payı %3.69 gibi düşük bir oranda kalmaktadır.

Yörede yaygın olarak ticareti yapılan bir diğer ürün olan zahter kekiğinin üretici satış fiyat ortalaması 8.89 TL/kg olup, kurutulmuş perakende satış fiyatı ortalaması yaklaşık 5 kat artış ile 47.50 TL/kg olarak hesaplanmıştır. Zahter kekik için pazarlama marjının perakende fiyatı içerisindeki payı %81.28, üretici fiyatının perakende satış fiyatı içerisindeki payı %18.72 olarak belirlenmiştir.

Diğer ürünlerin pazarlama marjları ise şu şekilde hesaplanmıştır; Sumak: 21.36 TL/kg; Halil İbrahim Zahteri: 20.50 TL/kg; Adaçayı: 11.84 TL/kg; Çörekotu: 9.75 TL/kg.

Araştırma kapsamında incelenen ürünlerin nispi marjları büyükten küçüğe doğru sırasıyla şu şekildedir; Defne (%96.31), Kekik (%81.28), Sumak (%73.65), Çörekotu (%69.64), Halil İbrahim Zahteri (%65.60) ve Adaçayı (%57.06).

Defne yaprağı başta olmak üzere, yörede ticareti yapılan başlıca tıbbi ve aromatik bitkilerin hasat edildikten sonra yöre içerisinde kurutulduğu, buna ilave olarak paketleme gibi ekstra bir masrafının olmadığı ve pazara taşıma işleminin yöre içerisinde rahatlıkla yapıldığı göz önüne alındığında, tıbbi ve

aromatik bitkilerin yöre içerisindeki pazarlama marjlarının çok yüksek olduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

Çizelge 5. Hatay yöresinde ticareti yapılan başlıca tıbbi ve aromatik bitkilerin pazarlama marjları
Table 5. Marketing margins of some MAPs which are traded commonly in Hatay province

Ürün/Product	Üretici Satış Fiyatı (TL/kg) / Producer Price (TL/kg)	Perakende Satış Fiyatı (TL/kg) / Retail Price (TL/kg)	Mutlak Marj (TL/kg) / Absolute Margin (TL/kg)	Nispi Marj (%) / Relative Margin (%)	Üretici Fiyatının Perakende Fiyatı İçerisindeki Payı (%) / Ratio of Producer Price in Retail Price (%)
Defne* (Ayıklanmış)	1.66	45.00	43.34	96.31	3.69
Kekik (Zahter)	8.89	47.50	38.61	81.28	18.72
Sumak	7.64	29.00	21.36	73.65	26.35
Çörekotu	4.25	14.00	9.75	69.64	30.36
Halil İbrahim Zahteri	10.75	31.25	20.50	65.60	34.40
Adaçayı	8.91	20.75	11.84	57.06	42.94

*Üretici satış fiyatı yaş ürüne ait olup, perakendeci satış fiyatı kurutulmuş ürüne aittir.

Üretici ve perakende satış fiyatları arasında oluşan fiyat farkının temel nedeni, yörede tıbbi ve aromatik bitkiler pazarlama kanallarındaki tekelleşmeden kaynaklanmaktadır. Ürün fiyatlarına yönelik herhangi bir denetimin olmaması ve piyasanın sınırlı sayıda tüccarların kontrolünde olması, fiyatların üreticilerin zararına olacak şekilde oluşmasına neden olmaktadır. Üreticilerin fiyat oluşumunda yeterince söz sahibi olmadığı ve aracılık yapan tüccarlara nazaran karlarının oldukça düşük olduğu daha önce Türkiye’de ve Dünyada yapılan çeşitli çalışmalara konu olmuş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir (Kathe ve ark., 2003; Sher ve ark., 2014; Parlak ve ark, 2015). Üreticilerin ürün fiyatı açısından korunması ve gelirlerinin artırılması için, yörede tıbbi ve aromatik bitkilerin fiyatlarının denetlenmesine yönelik bir mekanizmanın oluşturulmasının yanı sıra, pazarlama kanallarının daha etkin hale getirilerek aracı sayısının artırılması, üretici ve perakende fiyatları arasındaki yüksek pazarlama marjlarının azalmasına katkı sağlayacaktır.

Üretici ve toplayıcıların memnuniyet seviyeleri ve gelecekle ilgili beklentileri

Araştırma alanında görüşülen üreticilerin %77’si tıbbi ve aromatik bitkiler üretimi ile uğraşmaktan memnun olduğunu belirtirken yaklaşık %94’ü bu işle uğraşmaya devam etmek istediklerini belirtmiştir. Bu anlamda, üreticilerin yaptıkları faaliyetle ilgili

memnuniyet seviyelerinin oldukça yüksek olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Tapkı ve ark. (2018) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, üreticilerin memnuniyet seviyesi %59,4 olarak belirlenmiştir.

Üreticilerin ürün satış fiyatları hakkında düşünceleri ise nispeten olumsuz yöndedir. Üreticilerin %41’i ürün fiyatlarından memnun olduklarını, %23’ü kısmen memnun olduklarını, %36’sı ise memnun olmadıklarını belirtmişlerdir. Satış fiyatlarından kısmen memnun olan ve memnun olmayanların oranı toplam %59’dur. Üreticilerin fiyatların düşük olmasının sebepleri hakkındaki düşünceleri Çizelge 6’da verilmiştir. Ürün satış fiyatlarından memnun olmadığını veya kısmen memnun olduğunu belirten 46 üreticinin %47.82’si, fiyatların yörede faaliyet gösteren büyük tüccarlardan dolayı düşük olduğunu belirtirken, %21.74’ü örgütlenmenin olmayışı, %19.57’si ise alıcı sayısının sınırlı olmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Söz konusu nedenlerin büyük oranda pazarlama kanalları ile ilgili olduğu göz önüne alındığında, yörede tıbbi ve aromatik bitkilerin üreticiler açısından en büyük problemin ürünlerin pazarlanması ile ilgili olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Özellikle az sayıda alıcının olması, üreticilerin korunmasına yönelik herhangi bir örgütlenmenin olmayışı, büyük tüccarların fiyatları ve dolayısıyla da pazarı kontrol etmelerine yol açmaktadır.

Çizelge 6. Üretici fiyatlarının düşük olmasının nedenleri hakkında üreticilerin düşünceleri
Table 6. Producers’ opinions about reasons of low producer prices

Üretici Görüşü / Producer Opinion	Frekans / Frequency	Oran (%) / Ratio (%)
Örgütlenme yok	10	21.74
Alıcı sayısı sınırlı	9	19.57
Büyük tüccarların etkisi	22	47.82
Toplayıcı sayısının yüksekliği	2	4.35
Pazarlama Kanalları Yetersiz	3	6.52
Toplam	46	100.00

Üreticilerin tıbbi ve aromatik bitkiler ile ilgili faaliyetlere yönelik gelecek beklentileri Çizelge 7’de verilmiştir. Üreticilerin %61.54’ü tıbbi ve aromatik bitkilerin geleceği ile ilgili beklentileri olumlu yönde olup, olumsuz ve kararsız düşünen üreticilerin oranı %38.46 düzeyindedir. Bu anlamda üreticilerin büyük bölümünün gelecekle ilgili beklentilerinin olumlu yönde olduğu sonucuna ulaşılmaktadır.

Çizelge 7. Tıbbi ve aromatik bitkiler hakkında üreticilerin gelecekle ilgili beklentileri

Table 7. Producers' future expectations about MAPs

Üretici Beklentisi (Producer Expectation)	Frekans (Frequency)	Oran (%) Ratio (%)
Çok olumsuz	2	2.56
Olumsuz	13	16.67
Kararsız	15	19.23
Olumlu	38	48.72
Çok olumlu	10	12.82
Toplam	78	100.00

SONUÇ ve ÖNERİLER

Hatay yöresinde tıbbi ve aromatik bitkilerin pazarlama yapısının incelendiği bu çalışmada, tıbbi ve aromatik bitkilerin yöredeki pazarlama organizasyonunun genel olarak etkin olmadığı belirlenmiştir. Pazarlama hizmetlerinden, toplama, işleme, dağıtım, taşıma ve depolama gibi hizmetler açısından sorun yaşanmazken, paketleme, dereceleme ve standardizasyon hizmetlerinin yetersiz olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Yöredeki tıbbi ve aromatik bitkiler piyasası, pazar saydamlığı ve rekabet kriterleri açısından oldukça yetersiz olup, ürünlerin pazarlama marjları ise oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Pazarlama marjı defne yaprağında %96’ya kadar yükselirken, üreticinin satış fiyatı içerisindeki payı oldukça düşük seviyelerde kalmaktadır.

Üretici fiyatlarının sınırlı sayıda tüccarlar tarafından belirlenmesi, üretici gelirlerini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu anlamda, alıcı sayısının çok olduğu bir pazarlama organizasyonunun oluşturulması, daha da önemlisi üreticilerin kooperatifleşerek örgütlü halde hareket etmelerinin teşvik edilmesi, üreticinin korunması ve gelirlerinin artırılması açısından büyük önem taşımaktadır. Hatay yöresinde, tıbbi ve aromatik bitkilere yönelik, üretici ve çok sayıda alıcının bir araya gelerek fiyatların serbest şekilde oluşacağı bir ticaret borsasının kurulması, yörede tıbbi ve aromatik bitkiler piyasasının canlanması ve üreticinin fiyatı konusunda korunmasına katkı sağlayacaktır.

Hatay ilinin zengin tıbbi ve aromatik bitkiler potansiyelinden daha etkin şekilde istifade edilmesi ve yöreye daha fazla katma değer kazandırılmasına yönelik çalışmalara ağırlık verilmesi gerekmektedir. Yörede tıbbi ve aromatik bitkiler işleme ve paketleme

sanayisini teşvik etmeye yönelik hibe ve kredi gibi desteklerin sağlanması sektörün gelişimine katkı sağlayacaktır. Defne sabunu sektörü özelinde, yörede standart kalitede defne yağı üretmeye yönelik ortak bir işleme tesisinin kurulması; defne yağı üreticilerine yönelik sertifikalı eğitim kurslarının düzenlenmesi, standartlara uygun üretime yönelik denetimlerin yapılması, yörede tıbbi ve aromatik bitkiler işleme sanayisinin en büyük problemlerinden biri olan taşıma önüne geçilmesine katkı sağlayabilir.

Zahter kekik başta olmak üzere, üreticilerin bir kısmı fiyat konusunda kendilerini korumak amacı ile ürünlerini kendi imkanları ile semt pazarlarında satmaktadır. Üreticilere katkı sağlamak amacıyla, Hatay Büyükşehir Belediyesi tarafından, il merkezinde bulunan Antakya Semt Pazarı Kompleksi, haftanın belirli bir gününde, tıbbi ve aromatik bitki üreticilerine tahsis edilerek, söz konusu ürünlerin yöre içerisinde pazarlanması ve üreticilerin daha fazla gelirden yararlanmalarına katkı sağlanabilir.

Hatay yöresinde, tıbbi ve aromatik bitkiler pazarlama alt yapısı oldukça yetersizdir. Üretilen ürünlerin büyük bölümü ihraç edilmek üzere yöre dışına yollanmakta ve yöreye yeterince katma değer kazandırılmamaktadır. Örneklendirilecek olursa, yörede kurutma fabrikalarında kurutulan defneyaprakları paketlenmek ve ihraç edilmek üzere İzmir iline yollanmaktadır. Oysaki, Hatay ili İskenderun limanı gibi önemli bir uluslararası limana sahiptir. Söz konusu ürünlerin yöre içerisinde paketlenerek İskenderun limanından ihraç edilmesi durumunda, yöreye çok daha fazla katma değer sağlayacaktır. Buradan yola çıkarak, yörede paketleme tesisi kurmaya ve pazarlama ağı alt yapısı oluşturmaya yönelik, teşvik, hibe ve kredi gibi desteklemelerin sağlanması ve ihracat konusunda gerekli teknik ve yasal düzenlemelerin yapılması büyük önem taşımaktadır.

Yörede bulunan kozmetik firmaları, birbirlerinden bağımsız çabalar ile pazara girmekte, bu durum firmaların rekabet güçlerini azaltmaktadır. İmalatçı firmaların belirli konularda birbirlerine destek oldukları bir yapının oluşturulması ve ortak bir pazarlama ağının kurulması, firmaların rekabet güçlerini artırmada ve sektörde bir değer zincirinin yaratılmasında büyük katkılar sağlayabilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, “Hatay İlinde Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Piyasası ve Geliştirilmesi İmkanları” başlıklı doktora tezinden elde edilen veriler ile hazırlanmıştır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Artukoğlu M, Uzmay, A 2003. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler İç ve Dış Ticareti Üzerine Bir Araştırma, İzmir Ticaret Odası, s.42, İzmir.
- Asil H, Taşgın S 2018. Hatay İlinde Tıbbi ve Aromatik Bitki Pazarlayan İşletmelerin Değerlendirilmesi ve Aktarların Sosyo-Ekonomik Analizi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 5(4): 556-562.
- Bağdat RB 2006. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanım Alanları, Tıbbi Adaçayı (*salvia officinalis* l.) ve Ülkemizde Kekik Adıyla Bilinen Türlerin Yetiştirme Teknikleri. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 15 (1-2): 19-28.
- Bayram E, Kırıcı S, Tansı S, Yılmaz G, Arabacı O, Kızıl S, Telci D 2010. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretimine Arttırılması Olanakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı, 11-15 Ocak, ANKARA, 437-456.
- Bilgin F, Şafak İ, Kiracıoğlu Ö 2005. Ege Bölgesinde Defne (*Laurus Nobilis* L.) Üreticiliğinin Sosyo-Ekonomik Önemi ve Üretici Profiline Belirlenmesi. T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı. Ege Ormanlık Araştırma Müdürlüğü Yayınları. Bakanlık Yayın No: 260. Müdürlük Yayın No: 37. (ODC:892).Teknik Bülten No: 28. İzmir. ss.39.
- Çelik AD, Semerci A, Gül A 2017. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretim Potansiyeli ve Arttırma Olanakları: Hatay İli Örneği. International Symposium on Medicinal, Aromatic and Dye Plants (REYHAN 2017), 5-7 October 2017, Malatya/TURKEY.
- Emeksiz F 1994. Adana İlinde Yerfıstığı Pazarlama Organizasyonu ve Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Ç.Ü.Z.F.Dergisi, 9(1): 195-210.
- Fafchamps M, Gabre ME and Minten B 2004. Increasing Returns and Market Efficiency in Agricultural Trade. Journal of Development Economics. 78(2): 406-442.
- FAO 2019. Dünya Gıda ve Tarım Örgütü Veri Bankası. Erişim: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Erişim Tarihi: 07.08.2019.
- Faydaoğlu E, Sürücüoğlu MS 2011. Geçmisten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi, 11 (1): 52 – 67.
- Gürbüz İB, Karahan H 2014. Küçük Aile İşletmelerinde Tıbbi ve Aromatik Bitki Yetiştirme ve Pazarlama Olanakları. Ulusal Aile Çiftliği Sempozyumu, 30-31 Ekim 2014, Ankara, 12-15.
- Hatay Valiliği 2012. Hatay İli Defne, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sektörü, Küçük ve Orta Ölçekli Sanayi ve Ticaret İşletmeleri Envanteri, T.C. Hatay Valiliği.
- Hishe M, Asfaw Z, Giday M 2016. Review on Value Chain Analysis of Medicinal Plants and the Associated Challenges. Journal of Medicinal Plants Studies; 4(3): 45-55.
- İnan İH 2016. Tarım Ekonomisi ve İşletmeciliği (8. Baskı). İdeal Kültür Yayıncılık, İstanbul, 2016.
- Kathe W, Honnef S, Heym A 2003. Medicinal and Aromatic Plants in Albania, Bosnia-Herzegovina, Bulgaria, Croatia and Romania. Federal Agency for Nature Conservation, TRAFFIC Europe-Germany.
- Keykubat B 2016. Tıbbi Aromatik Bitkiler ve İyi Yaşam. İzmir Ticaret Borsası. Erişim: <http://itb.org.tr/dosya/rapordosya/tibbi-aromatik-bitkiler-ve-iyi-yasam.pdf?v=1506816000032>, Erişim Tarihi: 15.03.2018.
- Lange D 2004. Medicinal and Aromatic Plants: Trade, Production, and Management of Botanical Resources. XXVI IHC – Future for Medicinal and Aromatic Plants: 177-197.
- Lubbe A, Verpoorte R 2011. Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants for Specialty Industrial Materials. Industrial Crops and Products, 34: 785–801.
- Olgun A 1988. Uygulanmakta Olan Destek Politikasının, Türkiye’de ve Özellikle Ege Bölgesinde, Zeytin ve Zeytin Yağı Ekonomisindeki Çeşitli Etkileri Üzerine Bir araştırma. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi. 121 Sayfa
- Parlak H, Gül M, Öktem H 2015. Burdur İlinde Rezene Üretiminde Pazarlama Yapısı ve Sorunları. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20(2):7-16.
- Resmi Gazete 2013. Türk Gıda Kodeksi - Baharat Tebliği (Tebliğ No:2013/12). 10.04.2013 Tarih ve 28614 Sayılı Resmi Gazete.
- Resmi Gazete 2018. Türk Gıda Kodeksi Gıda ile Temas Eden Madde ve Malzemelere Dair Yönetmelik. 5 Nisan 2018 Tarihli, 30382 sayılı Resmî Gazete.
- Seçer A 2012. Doğu Akdeniz Bölgesinde Zeytin ve Zeytinyağı Üretimi, Pazarlaması ve Bölgede Zeytinyağı Geliştirme Olanakları, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Ekonomisi Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, Adana. 118 Sayfa
- Semerci A, Çelik AD 2017. Defne Bitkisinin Hatay İli Ekonomisindeki Yeri ve Önemi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 12 (2):125-134.
- Sher H, Aldosari A, Ali A, de Boer HJ 2014. Economic benefits of high value medicinal plants to Pakistani communities: an analysis of current practice and potential. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine 10(1)1-16.
- Tapkı N, Dağistan E, Demirtaş B, Kızıltuğ T, Çelik AD, Kekeç N 2018. A Determination of the Factors Affecting Farmers' Satisfaction with Medicinal and Aromatic Plants (maps) Agribusiness with Respect

to Sustainable Agriculture in Hatay, Turkey by
Using Logistic Regression.
Toker R, Gölükcü M, Tokgöz H 2015. Tıbbi ve

Aromatik Bitkilerin Gıda Sanayisinde Kullanım
Alanları. Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi,
4(15): 54-59.

Deniz Salyangozu (*Rapana venosa*) İşlem Basamaklarında Besin Kompozisyonu Analizleri ve Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Düzeylerinin Belirlenmesi

Koray KORKMAZ^{1*}, Furkan PİNAL²

^{1,2}Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, Ordu,

¹<https://orcid.org/0000-0003-2940-6592>, ²<https://orcid.org/0000-0002-6941-4530>

✉: Sorumlu Yazar e-posta: koraykorkmazodu@gmail.com

ÖZET

Deniz salyangozu (*Rapana venosa*)' nun su ürünleri işleme tesisinde her bir işleme basamağı için besin içeriği ve kimyasal kalite parametresi olarak TVB-N (Toplam Uçucu Bazik Azot) içeriğinin saptanması amaçlanmıştır. Araştırmada işleme tesisine hammaddenin girişinden sonra deniz salyangozu (*Rapana venosa*) 'nun işlem basamaklarına göre haşlama, yıkama, kabuk çıkarma, kalibrasyon, şoklama, (24 saat -35 °C ile -40 °C) ve muhafaza (-18 °C de 1 hafta) olmak üzere toplam altı aşamadan örnekler alınarak incelenmiştir. Yapılan analiz sonuçlarına göre işleme aşamalarında ham nem içerikleri sırasıyla %73.32±0.90 (haşlama), %70.53±0.17 (yıkama), %72.67±0.27 (kabuk çıkarma), %75.51±0.57 (kalibrasyon), %76.79±0.14 (şoklama) ve %76.01±0.10 (muhafaza) olarak bulunmuştur. Analiz sonuçlarına göre ham kül değerleri içerikleri sırasıyla %2.49±0.03 (haşlama), %2.31±0.27 (yıkama), %2.74±0.50 (kabuk çıkarma), %1.25±0.14 (kalibrasyon), %1.08±0.16 (şoklama) ve %1.09±0.14 (muhafaza) olarak bulunmuştur. Analiz sonuçlarına göre ham protein içerikleri sırasıyla %19.44±0.07 (haşlama), %21.46±0.70 (yıkama), %20.07±0.08 (kabuk çıkarma), %18.92±0.72 (kalibrasyon), %19.28±0.57 (şoklama) ve %18.17±0.41 (muhafaza) olarak tespit edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre ham yağ içerikleri sırasıyla %0.83±0.52 (haşlama), %1.65±0.65 (yıkama), %0.53±0.0 (kabuk çıkarma), %0.53±0.00 (kalibrasyon), %0.49±0.04 (şoklama) ve %0.56±0.04 (muhafaza) olarak tespit edilmiştir. Deniz salyangozu (*Rapana venosa*) nun işleme aşamalarında TVBN analiz sonuçları ise haşlama için 8.20±0.08 mg/100g, yıkama için 9.61±0.09 mg/100g, kabuk çıkarma için 12.26±0.14 mg/100g, kalibrasyon için 8.23±0.16 mg/100g, şoklama için 8.94±1.02 mg/100g ve muhafaza için 6.87±0.15 mg/100g olarak bulunmuştur. Analiz sonuçlarında taze ve soğutulmuş salyangoz et numuneleri için TVB-N limitinin işleme aşamalarında tüketilebilir oranda olduğu belirlenmiştir.

Su Ürünleri

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 08.10.2021

Kabul Tarihi : 23.12.2021

Anahtar Kelimeler

Besin kompozisyonu, işleme aşamaları, *Rapana venosa*, TVB-N

Determination of Nutrient Composition and Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) Levels in Sea Snail (*Rapana venosa* Valenciennes, 1846) Process Steps

ABSTRACT

It was aimed to determine the TVB-N (Total Volatile Basic Nitrogen) content as a nutrient content and chemical quality parameter for each processing step of sea snail (*Rapana venosa*) in a fishery processing plant. In the research, after the raw material (sea snail) entered the processing plant, samples were taken from six different stages, namely boiling, washing, shell removal, calibration, freezing (24 hours -35°C to -40°C), and storage (1 week at -18 °C), according to the process steps. According to the results of the analysis, the raw moisture contents during the processing stages were found to be 73.32±0.90% (scalding), 70.53±0.17% (washing), 72.67±0.27% (skin removal), 75.51±0.57 (calibration), 76.79±0.14% (shocking), and 76.01±0.10% (containment). Besides, the raw ash content contents were determined as 2.49±0.03% (scalding), 2.31±0.27% (washing),

Fishing

Research Article

Article History

Received : 08.10.2021

Accepted : 23.12.2021

Keywords

Food composition, processing stages, *Rapana venosa*, quality

2.74±0.50% (skin removal), 1.25±0.14% (calibration), 1.08%±0.16% (shock) and 1.09±0.14 (containment). Moreover, crude protein contents were calculated as 19.44±0.07% (scalding), 21.46±0.70% (washing), 20.07±0.08% (skin removal), 18.92±0.72% (calibration), 19.28±0.57% (shock) and 18.17% ±0.41 (containment). As for crude oil levels, of the steps, they were found to be 0.83±0.52% (scalding), 1.65%±0.65% (washing), 0.53±0.0% (skin removal), 0.53±0.00% (calibration), 0.49±0.04% (shock) and 0.56%, respectively. It was determined to be ±0.04 (containment). TVBN-analysis results of sea snail (*Rapana venosa*) in the processing stages were 8.20±0.08 mg/100g for blanching, 9.61±0.09 mg/100g for washing, 12.26±0.14 mg/100g for shell removal, 8.23±0.16 mg/100g for calibration, 8.94±1.02 mg/100g for freezing and 6.87±0.15 mg/100g for preservation. Lastly, it was also revealed that the TVB-N limit for fresh and chilled snail meat samples was in the range of consumable standards during the processing stages.

- Atıf şekli:** Korkmaz K, Pinal F 2022. Deniz salyangozu (*Rapana venosa*) işlem basamaklarında besin kompozisyonu analizleri ve toplam uçucu bazik azot (TVB-N) düzeylerinin belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1479-1488. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1006399>
- To Cite:** Korkmaz K, Pinal F 2022. Determination of Nutrient Composition and Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) Levels in Sea Snail (*Rapana venosa* Valenciennes, 1846) Process Steps. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1479-1488.

GİRİŞ

Geçmişten günümüze kadar toplumun beslenme alışkanlıkları zamanla değişmiş ve tüketime hazır gıdaların artması ile sağlıklı bir yaşam için gıdaların korunması gerekli olmuştur (Karşlı, 2013). Günümüzde bilgi birikimlerimizin artması, insanoğlunun daha sağlıklı ve dengeli beslenmeye verdikleri önemin artmasına ve dengeli beslenme için gerekli protein ihtiyacının karşılanmasında, günlük tüketimlerinin üçte birinin hayvansal kaynaklı olması gerektiği bilincini de ortaya çıkarmıştır (Özgür, 2005).

Su ürünlerinin pek çok ülkede hayvansal protein ihtiyacının karşılanması açısından büyük önem taşıması sebebiyle bilinçli beslenmeye çalışan kişilerin, su ürünlerini özellikle tüketmeye çalıştıkları bilinmektedir (Aksu ve ark., 1997). Su ürünleri besin içeriği yönünden zengin ve insan sağlığı için çok değerli olmakla beraber, uygun koşullar oluşmadığı takdirde, kimyasal ve mikrobiyolojik bozulmanın hızlı seyrettiği ve bu yüzden kısa raf ömrüne sahip gıda maddelerindedir (Üretener, 2009). Bu kısa raf ömürlerini tolere etmek ve daha sağlıklı ve kaliteli ürünler sunmak adına çeşitli işleme teknolojileri kullanılmaktadır.

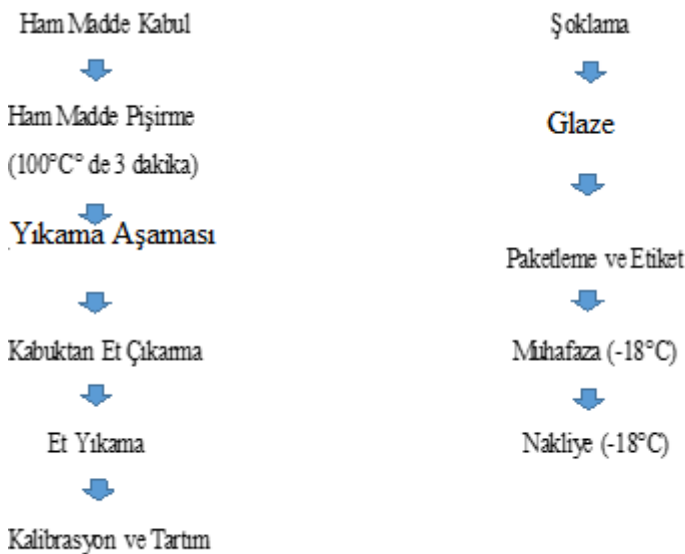
Dünya genelinde balık dışında kabuklu deniz ürünleri tüketimi de her gün artmaktadır. Kabuklu su ürünleri, insan sağlığı açısından son derece önemli maddeleri ihtiva eden özel gıdalardır. Tüketimlerinin insan sağlığına olan yararları nedeniyle popüler gıdalar sınıfında yer alırlar. Denizlerden avcılık yoluyla elde edilen kabukluların yüksek oranda protein içerdiği ve diğer protein kaynakları ile karşılaştırıldığında ekonomik anlamda daha uygun

olduğu farklı işleme metodlarıyla işlendiğinde de protein içeriğinde azalma olmadan tüketilebilirliğine sahip oldukları da bilinmektedir (Kolsarıcı ve Özkaya, 1998). Bununla birlikte, kabuklu deniz ürünlerinin balıklarda olduğu gibi hassas ve çabuk bozulan ürünler olması nedeniyle bu ürünlerin işleme yöntemi, süresi ve soğuk depolama gibi konularda hassasiyeti arttırmaktadır (Huanhuan ve ark., 2019). Bu nedenle, kalitenin tüketicilere bozulmadan ulaşması ve izlenmesi kabuklu deniz ürünlerinin ihracatında büyük öneme sahiptir (Feng ve ark., 2020).

1980'lerden itibaren Karadeniz Bölgesinde küçük ölçekli balıkçıların deniz salyangozuna yönelmesiyle gelir elde edilmeye başlanmış ve zamanla ticari olarak önemi artmıştır (Sağlam ve Düzgüneş, 2016). Karadenizde istilacı tür olarak kabul edilen deniz salyangozu 1980'li yılların ikinci yarısından itibaren bu alanda geçimini sağlayan balıkçılar tarafından diğer ürünlere alternatif olarak avlanıp fabrikalarda işlenmiş ve yurtdışında talep alan ülkelere ihracata başlanmıştır. Uzak Doğuda oldukça rağbet gören ve beğenilen deniz salyangozu, aşırı avcılıktan dolayı Japon denizinde stokların azalması sonucu avcılığın kısıtlamalar getirilmiş ve Türkiye'nin de bulunduğu çeşitli ülkelerin ihracat olanağı bulmasına neden olmuş ve gün geçtikçe artan ihracatla ürünün önemi de artmaya başlamıştır (Meraklı, 2018). Ülkemizde tüketim alışkanlığı olmayan deniz salyangozu avlanıp işlenerek Japonya ve bazı Avrupa ülkelerine gönderilmektedir. Besin değeri açısından protein oranı ortalama % 12.95 ve fosfor içeriği 0.65 mg/kg olan deniz salyangozları sağlıklı beslenme açısından değerli bir üründür (İrkin ve ark., 2007). Protein

bakımından incelendiğinde salyangoz eti kırmızı etlere göre daha düşük, yumurtaya çok yakın süte göre ise oldukça yüksek orandadır ve dengeli beslenmede önemlidir. Sağlıklı beslenme açısından yüksek orandaki protein buna karşın oldukça düşük yağ içeriğiyle salyangoz eti alternatif bir gıda maddesidir (Kocabaş ve Fenercioğlu, 1992).

Ülkemizde tüketimi olmamasına rağmen uzak doğu ülkelerinde sevilerek tüketilen *Rapana venosa* Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde önemli bir besin maddesi olarak tüketilmekte olup genellikle taze et, taze dondurulmuş, pişmiş dondurulmuş ve konserve formlarında pazarlaması yapılmaktadır (Gündüz, 2015). Türkiye'nin de salyangoz ihracatında daha yüksek potansiyele ulaşması ve salyangoz ticaretinde pazar payını arttırması uygun kalitede ürünün elde edilmesi ile mümkün olacaktır. Bunun için salyangoz avcılığında toplama koşullarının iyileştirilmesi, uygun koşullarda taşınmasının takibi ve işleme aşamalarının geliştirilmesi gerekmektedir (Olgunoğlu ve Olgunoğlu, 2008). Bu çalışmada Karadeniz'den avlanarak özel bir işletmeye getirilen deniz salyangozlarının işleme aşamalarında besin içeriğinde meydana değişimler ve TVB-N düzeyleri tespit edilmiştir.



Şekil 1. Deniz Salyangozu İşleme Tesisi İş Akış Şeması
Figure 1. Work flow chart of sea snail processing plant

Laboratuvar Analizleri

Ham protein analizi

Ham protein oranı Kjeldahl metoduna (AOAC 981.10, 1998) göre yapılmıştır. Homojenize edilmiş örnekten Kjeldahl tüpleri içerisine 1 g tartılarak, üzerine 2 adet kjeldahl tablet (Merck, TP826558) ve 20 ml H₂SO₄ eklenerek yakma ünitesine yerleştirilmiş ve tüplerin içerisindeki örnek yeşil-sarı saydam bir renk oluşuncaya kadar 420 °C'de 2-3 saat yakılmıştır. Yakma işleminin ardından bu tüpler oda sıcaklığında

MATERYAL ve METOD

Örnekleme Yöntemi

Araştırmada Karadeniz Bölgesi'nden şubat ayında avlanan deniz salyangozları Ordu ili Fatsa ilçesinde bulunan deniz salyangozu işleme ve paketleme tesisinin hammaddenin girişinden sonra son ürüne kadar olan besin ve kalite parametrelerinde meydana gelen değişimleri incelenmiştir. Deniz salyangozu işleme tesisi iş prosesindeki her aşamadan sonra numuneler 5 kg'lık paketler halinde buz içindeki köpük kutulara yerleştirilerek, Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Bölümü, İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı Laboratuvarına getirilerek -80 °C' de depolanmıştır.

Deniz Salyangozlarının Hazırlanması

Karadeniz Bölgesi'nden avlanıp delikli çuvallarla deniz salyangozu işleme tesisine getirilen deniz salyangozlarının işleme tesisindeki iş akış şeması Şekil 1'de verilmiştir. Proseslerin her aşamasında örnekler alınarak analizler yapılmıştır.

soğumaya bırakılmış ve soğuma sağlandıktan sonra örneğin bulunduğu tüp içerisine 75 ml saf su eklenmiştir. Kjeldahl cihazına kjeldahl tüpleri ile destilat yakalama kısmına da 25 ml %40'lık borik asit H₃BO₃ solüsyonu eklenen erlen yerleştirilerek % 40'lık NaOH ile 6 dakika destilasyon işlemi yapılmıştır. Destilasyon sonunda erlen içerisindeki destilat 0.1 molar (M) hidroklorik asit (HCl) ile rengi şeffaf olana kadar titre edilmiştir. Sarf edilen HCl miktarı kaydedilerek, "Eşitlik 1" yardımıyla protein miktarları bulunmuştur.

$$N(\%) = \frac{14.01 \times (A-B) \times M \times 100}{g \times 10} \quad (1)$$

Ham Protein (%) = %N x 6.25

A: Örnek için sarf edilen HCl miktarı

B: Kör için sarf edilen HCl miktarı

M: Asit molaritesi

g : Örnek miktarı

Lipit analizi

Lipit analizi Bligh ve Dyer (1959)'in uyguladığı yonteme göre yapılmıştır. 10-15 g homojenize edilmiş örnek, üzerine 120 ml metanol/kloroform (1/2) eklendikten sonra Ultra-turaks (T 25 basic Ika-Werke) ile karıştırılmıştır. Daha sonra bu örnekler üzerine 20 ml % 0.4'lük kalsiyum klorür (CaCl₂)

solüsyonundan eklenerek süzme kağıdından (Scheicher&Schuell, 5951/2 185 mm) süzülen örnekler, 105 °C'de 2 saat etüvde bekletilip darası alınmış olan balon jojelere filtre kağıdı ile süzdürülmüştür. Bu balonlar ağızları hava almayacak şekilde parafilm ile kapatılıp bir gece karanlık bir ortamda bekletilmiş ve ertesi gün metanol-sudan oluşan üst tabaka bir ayırma hunisi yardımıyla alınmıştır. Balonların içinde kalan kloroform-lipit kısmından kloroform 60 °C'de su banyosunda rotary evaporatör kullanılarak uçurulmuştur. Daha sonra balonlar etüvde 1 saat süreyle 60 °C'de bekletilerek içerisindeki kloroformun tamamının uçması sağlanmış ve bir desikatör içerisinde oda sıcaklığına kadar soğutulup 0.1 mg duyarlı hassas terazide tartılmıştır. Lipit oranının hesaplanmasında "Eşitlik 2" formülü kullanılmıştır.

$$\text{Lipit (\%)} = \frac{[\text{Balon Darası (g)} + \text{Lipit (g)}] - [\text{Balon Darası (g)}]}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \times 100 \quad (2)$$

Kuru madde ve ham kül analizi

Salyangoz örneklerinin kuru madde tayini AOAC (1990) metoduna göre yapılmıştır. Kurutma dolabında kurutulup desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulan ve 0.1 mg duyarlı hassas terazide darası alınan porselen kaplara homojenize edilmiş olan örneklerden yaklaşık 3.5 - 4 g tartılarak konmuştur. Daha sonra, örnekler etüvde 103 °C'de 24 saat süreyle (sabit bir ağırlığa kadar) kurutulmuştur. Bu işlem her bir tekerrür gurubuna ait örneklerden en az 4 paralel olacak şekilde yapılmıştır. Daha sonra, oda sıcaklığına kadar soğumaları için

desikatöre alınmış ve 0.1 mg duyarlı hassas terazide tartılmıştır.

Ham kül tayini için AOAC (935.47,1998) metoduna göre aynı örnekler, yakma fırınına yerleştirilerek 550 °C'de, 3-5 saat süreyle (sabit bir ağırlığa ve açık gri bir renk oluşumuna kadar) yakılmış ve desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra tartılmıştır.

Analiz sonucunda örneklere ait kuru madde ve ham kül (%) oranları "Eşitlik 3" ve "Eşitlik 4" formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Kuru Madde (\%)} = \frac{(\text{Dara (g)} + \text{Kuru Madde (g)}) - \text{Dara (g)}}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{Ham Kül (\%)} = \frac{(\text{Dara (g)} + \text{Ham Kül (g)}) - \text{Dara (g)}}{\text{Örnek Miktarı (g)}} \times 100 \quad (4)$$

Toplam uçucu bazik azot (TVB-N) analizi

Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) analizi Antonocopoulos (1973)'un uyguladığı yonteme göre yapılmıştır. Uygulanan yöntemde homojenize edilmiş 10g örnek Kjeldahl tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra örneğin üzerine 2 g MgO ve 100 ml distile su eklenmiştir. 250 ml'lik erlenler içerisinde ise 100 ml su ve 10 ml %3'lük borik asit ve 7-8 damla taşıro indikatörü eklenmiştir. Bu işlemden sonra tüp ve erlen Kjeldahl cihazına yerleştirilerek erlen içerisinde 200 ml destilat toplanıncaya kadar destilasyon yapılmıştır. Elde edilen destilat 0.1 N'lik HCl asit ile mevcut rengin pembemsi renge döndüğü noktaya kadar titre edilmiştir. TVB-N miktarı "Eşitlik 5" formülüne göre hesaplanmıştır.

B: Örneğin tartım ağırlığı

İstatistik Analizler

Tüm analizler iki paralel ile çalışılmıştır. Araştırma sonunda, elde edilen tüm veriler Duncan çoklu karşılaştırma testi (p<0.05 önem düzeyinde One-way Anova) uygulanmıştır (Duncan, 1955).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Besin Kompozisyonu Analiz Sonuçları

Deniz salyangozlarının nem, ham kül, ham protein ve lipit analiz sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir.

Deniz salyangozu işleme fabrikasında işleme aşamalarından geçirilen numunelerinin nem analizi sonuçları sırasıyla %73.32±0.90 (haşlama), %70.53±0.17 (yıkama), %72.67±0.27 (kabuk çıkarma), %75.51±0.57 (kalibrasyon), %76.79±0.14 (şoklama), %76.01±0.10 (muhafaza) olarak bulunmuştur. Deniz

$$\text{TVB-N (mgN /100g örnek)} = \frac{A \times 1.4 \times 100}{B} \quad (5)$$

A: mL olarak harcanan 0.1 N asit miktarı

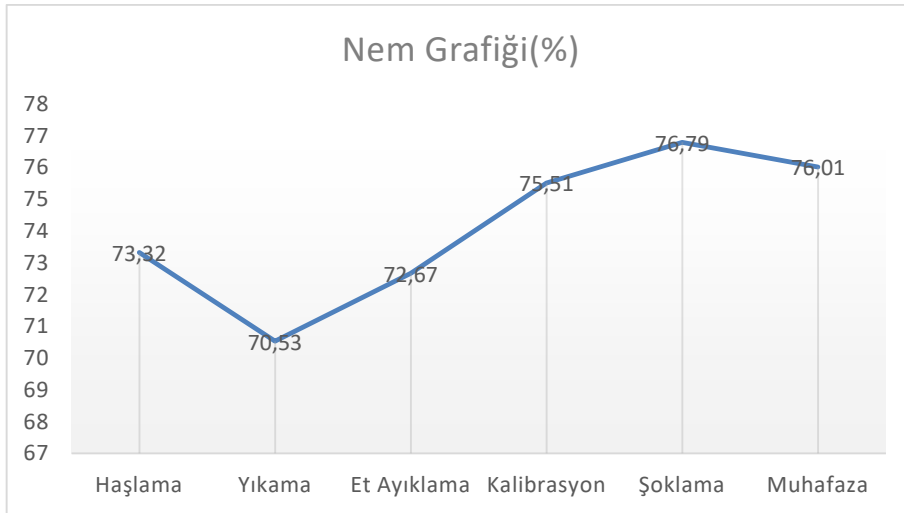
salyangozları işleme aşamalarında ham nem miktarları arasında istatikselsel olarak farklılıklar

bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 1. Deniz salyangozunun işleme basamaklarındaki besin kompozisyonu sonuçları
Table 1. Nutrient composition results in sea snail processing steps

	Haşlama sonrası After boiling (100°C)	Yıkama Washing	Kabuk çıkarma Dehulling	İkinci yıkama Second washing	Şoklama (24 saat sonra) Shocking (After 24 hour)	Muhafaza (1 hafta sonra) Storage (After 1 week)
Nem Moisture	73.32±0.90 ^b	70.53±0.17 ^a	72.67±0.27 ^b	75.51±0.57 ^c	76.79±0.14 ^c	76.01±0.10 ^c
Ham kül Ash	2.49±0.03 ^{bc}	2.31±0.27 ^{bc}	2.74±0.50 ^c	1.25±0.14 ^a	1.08±0.16 ^a	1.09±0.14 ^a
Ham protein Crude protein	19.44±0.07 ^{ab}	21.46±0.70 ^c	20.07±0.08 ^{bc}	18.92±0.72 ^{ab}	19.28±0.57 ^{ab}	18.17±0.41 ^a
Lipit Lipid	0.83±0.52 ^{ab}	1.65±0.65 ^b	0.53±0.0 ^a	0.53±0.00 ^a	0.49±0.04 ^a	0.56±0.04 ^a

a,b,c Aynı satırdaki farklı harfler 0.05 önem düzeyindeki farklılıkları göstermektedir.



Şekil 2. Deniz salyangozunun nem değerleri (%)
Figure 2. Moisture values of sea snail (%)

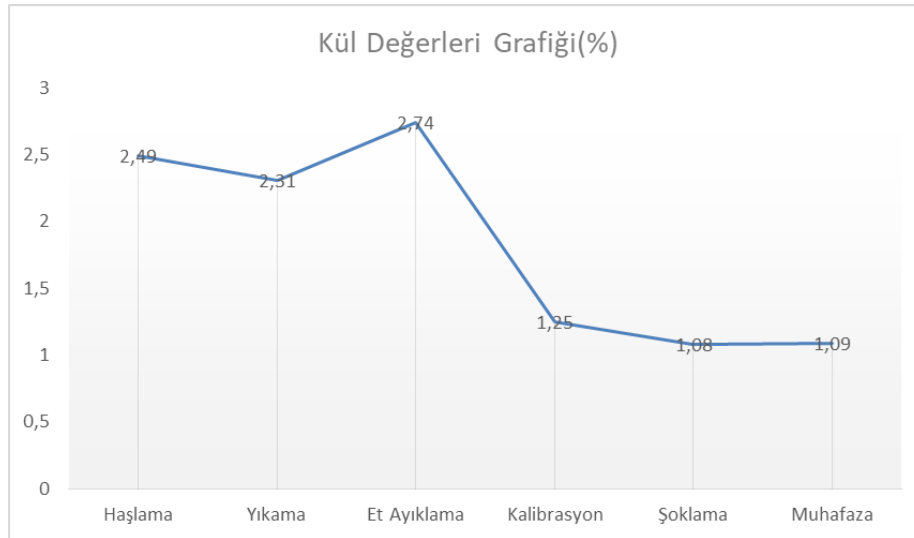
Deniz salyangozu işleme aşamalarında numunelerinin ham kül değerleri sırasıyla %2.49±0.03 (haşlama), %2.31±0.27 (yıkama), %2.74±0.50 (kabuk çıkarma), %1.25±0.14 (kalibrasyon), %1.08±0.16 (şoklama), %1.09±0.14 (muhafaza) olarak bulunmuştur. Deniz salyangozları işleme aşamalarında ham kül değerlerinde istatistiksel olarak farklar bulunmuştur ($p<0.05$). Salyangoz haşlama sonrası ham kül değerleri oranı ile kalibrasyon bölümünde ikinci yıkama, şoklama ve muhafaza sonrası ham kül değerleri oranları arasında istatikselsel olarak farklar bulunmuştur ($p<0.05$). Yıkama tamburunda salyangoz yıkanması sonrası alınan numunelerin ham kül değerleri sonuçları ile kalibrasyon alanında yapılan ikinci yıkama, şoklama ve muhafaza ham kül değerleri

sonuçları arasında istatikselsel olarak fark bulunmuştur ($p<0.05$). Kabuk çıkarma bölümünden alınan numunelerin ham kül değerleri sonuçları ile ikinci yıkama, şoklama ve muhafaza ham kül değerleri sonuçları arasında yine istatikselsel olarak farklar bulunmuştur ($p<0.05$).

Deniz salyangozu işleme aşamalarında salyangoz numunelerinin lipit değerleri sırasıyla %0.83±0.52 (haşlama), %1.65±0.65 (yıkama), %0.53±0.0 (kabuk çıkarma), %0.53±0.00 (kalibrasyon), %0.49±0.04 (şoklama), %0.56±0.04 (muhafaza) olarak bulunmuştur. Deniz salyangozları işleme aşamalarında lipit analiz sonuçları arasında istatikselsel olarak fark bulunmuştur ($p<0.05$). Deniz salyangozu işleme aşamalarında yıkama tamburundan alınan numunelerin lipit değerleri ile

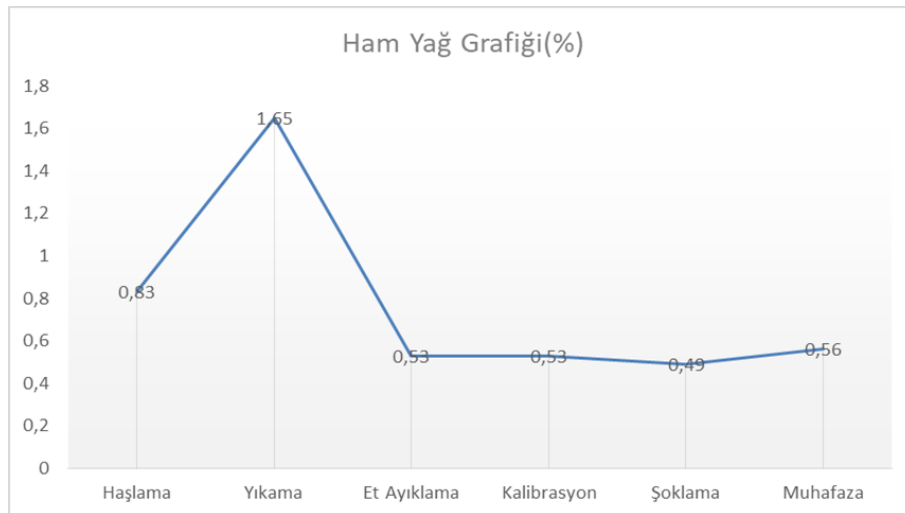
kabuk çıkarma, ikinci yıkama, şoklama ve muhafazadan alınan numunelerdeki değerler

arasında ise istatistiksel olarak farklar bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 3. Deniz salyangozunun ham kül değerleri değerleri (%)

Figure 3. Ash values of sea snail (%)



Şekil 4. Deniz salyangozunun lipid değerleri (%)

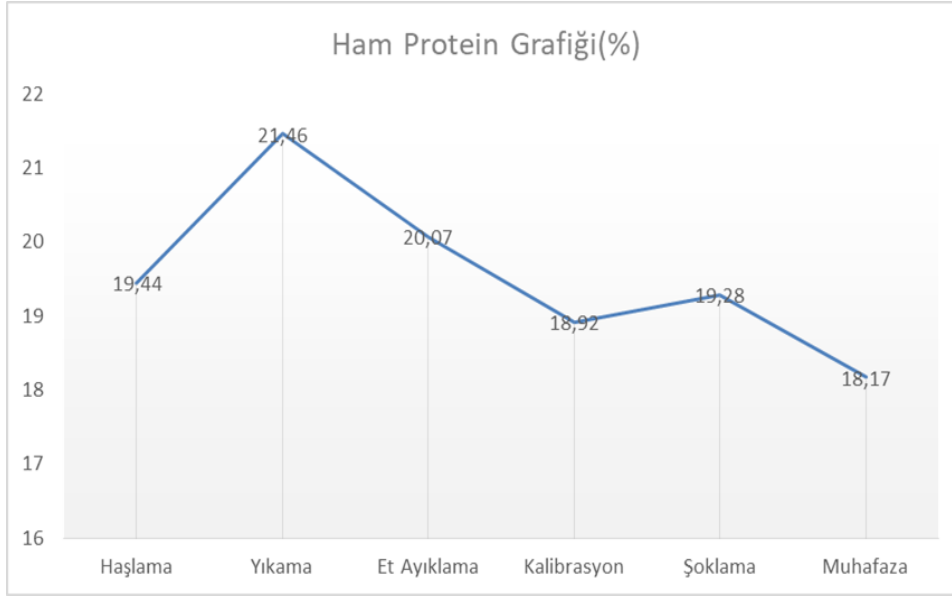
Figure 4. Lipid values of sea snail (%)

Deniz salyangozu işleme aşamalarında salyangoz numunelerinin ham protein değerleri işleme aşamalarında sırasıyla %19.44±0.07 (haşlama), %21.46±0.70 (yıkama), %20.07±0.08 (kabuk çıkarma), %18.92±0.72 (kalibrasyon), %19.28±0.57 (şoklama) ve %18.17±0.41 (muhafaza) olarak bulunmuştur. Deniz salyangozları işleme aşamalarında ham protein değerleri arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$). En yüksek ham protein değeri %21.46±0.70 ile yıkamada, en düşük ham protein değeri %18.17±0.41 ile muhafazada tespit edilmiştir.

Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) Miktarındaki Değişimler

Deniz salyangozlarının TVB-N analiz sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir.

Deniz salyangozu işleme aşamalarında salyangoz numunelerinin TVB-N değerleri işleme aşamalarında sırasıyla 8.20±0.08 mg/100 g (haşlama), 9.61±0.09 mg/100 g (yıkama), 12.26±0.14 mg/100 g (kabuk çıkarma), 8.23±0.16 mg/100 g (kalibrasyon), 8.94±1.02 (şoklama) ve 6.87±0.15 mg/100 g (muhafaza) olarak bulunmuştur. Deniz salyangozu işleme aşamalarında haşlama ile deniz salyangozu kabuğundan etinin ayıklanması aşaması, yıkama tamburunda yıkama ile kalibrasyon aşamasındaki ikinci yıkama arasında ve deniz salyangozu kabuğundan etinin ayıklanması aşaması ile kalibrasyon ikinci yıkama, şoklama ve muhafaza prosesleri arasında istatistiksel olarak farklar bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 5. Deniz salyangozunun ham protein değerleri (%)

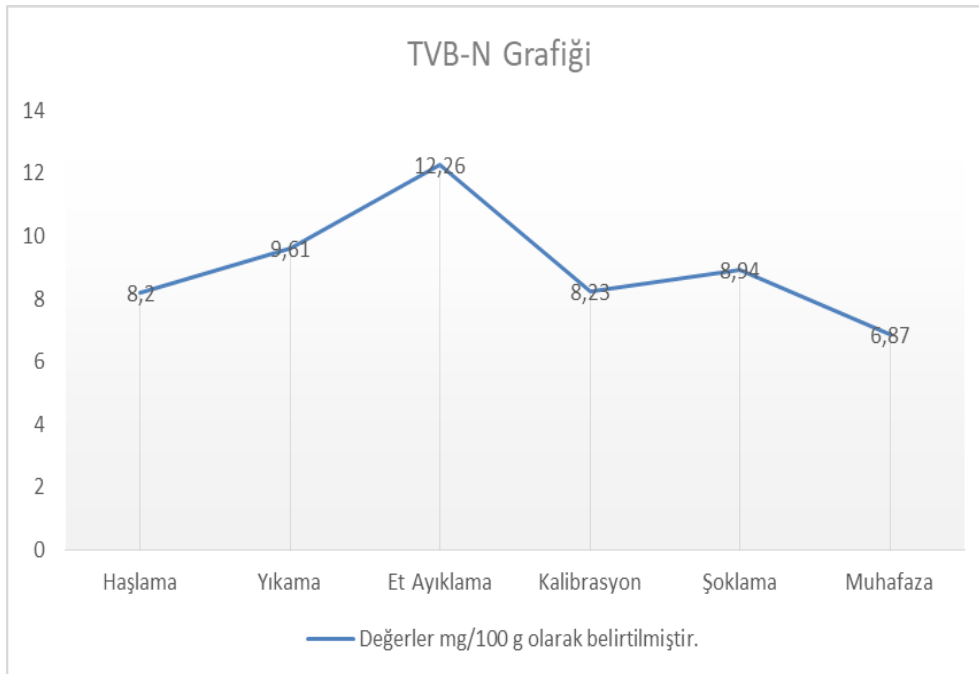
Figure 5. Crude protein values of sea snail (%)

Çizelge 2. Deniz salyangozu işleme aşamaları TVB-N miktarı

Table 2. TVB-N results of sea snail processing stages

	Haşlama <i>Boiling</i>	Yıkama <i>Washing</i>	Kabuk çıkarma <i>Dehulling</i>	İkinci yıkama <i>Second washing</i>	Şoklama <i>Shocking</i>	Muhafaza <i>Storage</i>
TVB-N (mg/100g)	8.20±0.08 ^{ab}	9.61±0.09 ^c	12.26±0.14 ^d	8.23±0.16 ^{abc}	8.94±1.02 ^{bc}	6.87±0.15 ^a

a,b,c Aynı satırdaki farklı harfler 0.05 önem düzeyindeki farklılıkları göstermektedir.



Şekil 6. Deniz salyangozunun TVB-N değerleri (mg/100 g)

Figure 6. TVB-N values of sea snail (mg/100 g)

Yapılan literatür taramasında, deniz salyangozu işleme aşamalarından sırasıyla alınıp yapılan besin analizi karşılaştırmasına rastlanılmamıştır. Deniz salyangozunun ülkemizdeki tüketimi az olmakla beraber ihraç edilen en önemli su ürünlerinden birisidir. Avlanan deniz salyangozları işlenerek, yenilebilen kısımları gıda maddesi olarak, kabukları ise dekorasyon ve süs malzemesi olarak değerlendirilmektedir. Yılda 3 bin ton civarında dondurulmuş deniz salyangozu eti ihracatı yapılmakta ve ülkemiz ekonomisine 15 milyon dolardan fazla para kazandırmaktadır. Ticari öneminin yanında deniz salyangozu besin değeri olarak da önemli bir su ürünüdür. Protein içeriği yüksek olan deniz salyangozunun yağ içeriği düşük bir düzeyde olmasına karşın, yağı oluşturan yağ asitlerinin yaklaşık %88.84' ü esansiyel yağ asitleri olması ürünün önemini ortaya koymaktadır. Yüksek protein ve esansiyel yağ asidi içeriği deniz salyangozunun besinsel değerini attırmaktadır. Tüketicilerin sağlık ve hayatını tehlikelerden korumak için, hammadde olarak kolay bozulan deniz salyangozunun, işleme ve üretim aşamalarına geçmeden önce hızlı bir şekilde kalite ve tazeliğinin denetimi gerekmektedir. Deniz salyangozunun kalitesi duyuşsal, kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik analizler gibi farklı yöntemler ile belirlenebilmektedir. Bu yöntemler toplam canlı sayımı, toplam uçucu bazik azot (TVB-N), yağ oksidasyonu (PV, TBARS), tazelik göstergesi olarak ATP yıkım ürünlerinin aranması gibi uzun ve zaman alan yöntemlerdir. Ayrıca bu geleneksel yöntemler su ürünlerindeki bozulmayı belirli bir düzeye ulaştıktan sonra belirleyebilecek hassasiyete sahiptir. Bu nedenle, alternatif olarak daha kısa süre ve az maliyetle sonuç verebilecek yüksek hassasiyete sahip, ürüne zarar vermeyen, ucuz, kesin ve hızlı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Su ürünlerinin ölümünden kokuşma sonuna kadar otolitik ve mikrobiyal etkilerle sertlik sürekli ve dengeli bir şekilde azalarak yumuşamaktadır. Tekstür analiz cihazı ile sertlik ölçülerek tazelik kontrolü yapılabilmektedir. Renk, tazelik ile direkt ilişkilendirilen ve bu nedenle tüketici algısında da en önemli kalite özelliğidir ve gıdaların tazeliği azaldıkça renk bozulmaları artmaktadır. Renk (L^* , a^* , b^*) ölçümü yapılarak deniz salyangozunun kalitesi belirlenebilmektedir. Alternatif yöntemlerden elde edilen sonuçlar ile geleneksel yöntemlerle elde edilen sonuçlar ilişkilendirilerek kalitenin düzeyinin belirlenmesi de mümkündür. Alternatif yöntemler (tekstür ve özellikle renk analizi) kullanılarak, üretim sırasında deniz salyangozunun kalitesini ölçebilen ve belgeleyebilen bir sistem oluşturulması bu ürünleri işleyen işletmeler için oldukça değerlidir (Pilavtepe-Çelik ve Sertyeleser, 2017).

Pilavtepe-Çelik ve Sertyeleser (2020) yaptıkları çalışma kapsamında, bilgisayarlı resim analizi (BRA) sistemini kullanarak soğukta 15 gün boyunca depolanan deniz salyangozlarının tazelik düzeyinin hızlı, objektif, ekonomik ve tutarlı bir şekilde belirlemişlerdir. Buna göre soğukta canlı olarak muhafaza edilen deniz salyangozlarının mikrobiyolojik analiz sonuçları ile tutarlı olarak depolamanın 15. gününde deniz salyangozu et rengi L^* , a^* ve b^* değerlerinde önemli derecede artış olduğunu saptamışlardır. Deniz salyangozlarının, +4°C'de depolamanın 15. gününde canlılığını hala koruyor olduğu gözlenmiş olsa da mikrobiyal açıdan tüketim sınırının üzerine ulaştığını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, BRA sisteminden elde edilen sonuçlar ile mikrobiyolojik analiz sonuçlarının deniz salyangozlarının insan tüketimi için tavsiye edilen üst limitlere ulaşarak ürünün reddedildiği depolama süresini saptayabilen ve birbirleri ile tutarlı sonuç veren analiz yöntemleri olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada deniz salyangozuna (*Rapana venosa*) farklı işleme teknikleri uygulandığında besin kompozisyonundaki değişimler belirlenmiştir (Arslan, 2009). Çalışmada deniz salyangozlarına 105°C'de 15 dk. ön haşlama ve 110°C'de 40 dk. haşlama işlemi yaptırılarak ürünler işleme aşamasına alınmıştır. Ön işlemleri yapılmış örneklerle pastörizasyon (90°C'de 15 dk.), konserve (121°C'de 20 dk.), dumanlama (70-80°C'de 2 sa.), marinat işleme teknikleri uygulanmış ve bir grupta taze olarak incelenmiştir. Farklı işleme tekniklerinin ürünün besin bileşiminde nasıl değişiklikler yaptığı ile ilgili yapılan analizlerden elde edilen değerlere göre nem değerinin ısı işlem uygulaması sonucu azaldığı, nem miktarının azalmasına bağlı olarak kül ve protein miktarında artış olduğu gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda nem değeri en yüksek pastörize üründe, kül miktarı en yüksek dumanlanmış üründe ve yağ miktarı en yüksek dumanlanmış üründe saptanmıştır. Aminoasit analizi sonucu toplam aminoasit miktarı en yüksek dumanlanmış üründe saptanmıştır. Toplam mineral değeri de en yüksek dumanlanmış üründe saptanmıştır. Deniz salyangozuna uygulanan işleme proseslerinin besin bileşimi miktarları üzerinde değişime sebep olduğu ve bunun ısı prosesin uygulanma şartlarına bağlı olarak değiştiği tespit rapor edilmiştir.

Karadeniz'den avlanan deniz salyangozlarında besin değeri taze materyal üzerinden mevsimsel olarak incelenmiş ve Haziran ayında % 13.48 protein, % 2.41 yağ, %2.21 kül, % 73.35 nem, Temmuz ayında % 14.56 protein, % 2.23 yağ, %1.32 kül, %73.34 nem, Ağustos ayında % 13.75 protein, %1.95 yağ, %1.81 kül, %71.81 nem, Eylül ayında % 19.86 protein, % 2.01 yağ, % 2.35 kül, % 71.21 nem, Kasım ayında % 18.50 protein, % 2.12 yağ, % 1.65 kül, % 70.08 nem,

Aralık ayında % 17.80 protein, % 2.76 yağ, % 1.57 kül, % 72.43 nem bulunmuş, taze deniz salyangozları eti besin bileşimi ortalaması % 72.04 nem, %16.29 protein, %2.25 yağ ve %1.82 kül olarak bildirilmiştir (Düzgüneş ve diğ., 1992).

Yapılan bir başka çalışmada Doğu Karadeniz Bölgesinde ticari olarak avcılığı yapılan deniz salyangozunun (*Rapana venosa*) mevsime bağlı olarak et verimi, besin ve yağ asidi kompozisyonundaki değişimler incelenmiştir (Koral ve Kıran, 2017). Deniz salyangozlarının et verimlerinin yaz ve sonbaharda ilkbahar ve kış mevsimlerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Biyokimyasal parametrelerden kuru madde, ham kül, ham protein ve ham yağ miktarı mevsimlere ve istasyonlara bağlı olarak değişiklikler gösterdiği rapor edilmiştir. Doymuş yağ asitleri grubundaki mevsimsel ortalamalarda palmitik (C16:0) ve stearik asit (C18:0) değerlerinin en düşük oranda yaz mevsiminde en yüksek oranda ise kış mevsiminde olduğu, toplam doymuş yağ asitlerindeki mevsimsel değişimin ise istatistiki açıdan önemli olmadığını bildirmişlerdir. Toplam tekli doymamış yağ asidi miktarları 30,45 mg/100g ile 54,84 mg/100g arasında değişim göstermiş olup yaz ve ilkbahar mevsimlerinde bulunan değerler diğer mevsimlerden elde edilen değerler ile karşılaştırıldığında farkın önemli ($p<0.05$) olduğu bildirilmiştir. Yağ asidi grupları arasında en yüksek miktar 119.05 mg/100g değeri ile çoklu doymamış yağ asitleri grubunda bulunmuştur. Bu grupta en yüksek miktarlar arişidonik (C20:4n6), eikosapentaenoik (C20:5n3), dokosaheksaenoik (C22:6n3) asitlerinde bildirilmiştir. Çalışma neticesinde Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki deniz salyangozunun besin kompozisyonu üzerine istasyonlar arası farklılığın ve mevsimsel değişimlerin etkileri olduğu rapor edilmiştir.

Yapılan bu çalışmalara göre deniz salyangozu ile benzerlik gösteren çalışmalardaki sonuçlarda bazı farklılıkların farklı işleme tekniklerinden ve mevsimsel etkilerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan işleme aşamalarında deniz salyangozunun (*Rapana venosa*) çıkan protein oranları ve düşük yağ içeriğiyle birçok hayvansal kaynağa göre daha sağlıklı ve zengin besin içeriği ile iyi bir kaynak olduğu görülmüştür. Analiz sonuçlarında taze ve soğutulmuş salyangoz et numuneleri için TVB-N limiti işleme aşamalarının her birinde tüketilebilir oranda olduğu belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (ODÜ/BAP) tarafından B-2013 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Aksu H, Erkan N, Çolak H, Varlık C, Gökoğlu N, Uğur M 1997. Farklı Asit - Tuz Konsantrasyonlarıyla Hamsi Marinatı Üretimi Esnasında Oluşan Bazı Değişiklikler ve Raf Ömrünün Belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 8(1): 83–87.
- AOAC 1984. Official Methods of Analysis 4th. Ed. AOAC, Washington D.C., USA.
- AOAC 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 941.14. Washington D.C., USA.
- AOAC 1998. Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg MD.
- Antonocopoulos N 1973. Bestimmung Des Flüchtigen Basenstickstoffs; S. 224-225, in: Ludorf, W.; Meyer, V.; Fische und Fischerzeugnisse, Auflage-Verlag Paul Parey. Berlin und Hamburg
- Arslan G 2009. Farklı İşleme Tekniklerinin Deniz Salyangozunun (*Rapana Venosa*, Valenciennes, 1846) Besin Bileşimi Üzerine Etkisi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 82 sy.
- Bligh EG, Dyer WJ 1959. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37(8): 911-917.
- Duncan OD, Beverly D 1955. A Methodological Analysis of Segrega Tion Indices. American Sociological Review, 20: 210-7.
- Feng H, Wang W, Chen B, Zhang X 2020. Evaluation on Frozen Shellfish Quality by Blockchain Based Multi-Sensors Monitoring and SVM Algorithm During Cold Storage. IEEE, 8: 54361 – 54370.
- Gündüz F 2015. Orta Karadeniz Bölgesi (Yakakent-Samsun) Deniz Salyangozlarının (*Rapana venosa*, Valenciennes, 1846) Üreme Özelliklerinin Belirlenmesi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 78 sy.
- Huanhuan FENG, Jing CHEN, Wei ZHOU, Rungsardthong V, Xiaoshuan ZHANG 2019. Modeling and Evaluation on WSN-Enabled and Knowledge-Based HACCP Quality Control for Frozen Shellfish Cold Chain. Food Control, 98: 348-358.
- İrkin R, Korukluoğlu M, Tavşanlı H 2007. İhracata

- Yönelik Hazırlanan Bazı Deniz Ürünlerinin Mikrobiyal Özellikleri. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 64(1): 26-30.
- Karlı B 2013. Akivades (*Ruditapes decussatus*, Linnaeus, 1758)'te Farklı İşleme Tekniklerinin Kalite Kriterlerine Etkisinin Araştırılması. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 87sy.
- Kocabaş G, Fenercioğlu H 1992. Adana'da İşlenen Kara Salyangozlarının Özelliklerinde. Bekletme ve İşleme Sırasında Görülen Değişmeler ile Kimyasal Bileşiminin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Gıda, 17(1): 67-71.
- Kolsarıcı N, Özkaya Ö 1998. Gökkuşuğu Alabalığı (*Salmo gairdneri*)'nin Raf Ömrü Üzerine Tütsüleme Yöntemleri ve Depolama Sıcaklığının Etkisi. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences, 22 (1998): 273-284. TÜBİTAK.
- Koral S, Kıran A 2017. Doğu Karadeniz Bölgesi'nden Avlanan Deniz Salyangozunun (*Rapana venosa Valenciennes*, 1846) Et Verimi ve Besin Kompozisyonundaki Mevsimsel Değişim. Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 34(1): 47-56.
- Meraklı N 2018. Doğu Karadeniz'de Deniz Salyangozu (*Rapana venosa Valenciennes*, 1846) Populasyonunda İmposeks Durumunun Araştırılması. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık Teknolojisi Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 82 sy.
- Olgunoğlu IA, Olgunoğlu MP 2008. Yenilebilir kara salyangozu (*helix lucorum linneaus*, 1758) etinin amino asit kompozisyonu. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 27(1-2), 35-39.
- Özgür N 2005. Kurbağa (*Rana Spp.*) Bacağının Füme Olarak Değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 83 sy.
- Pilavtepe Çelik M, Sertyeleser B 2017. Deniz Salyangozunda (*Rapana venosa*) Tazelik ve Kalite Belirlenmesinde Alternatif Yöntemler. 19. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Sinop Üniversitesi, 12-15 Eylül, Sinop, Türkiye.
- Sağlam H, Düzgüneş E 2016. Ecological and Socio-Economic Effects of Invasive Species *Rapana venosa* in the Black Sea Ecosystem. International Conference on Environmental Science and Technology, (2016).
- Üretener G 2009. Yüksek Hidrostatik Basınç Uygulamasının Balık Kalitesi ve Raf Ömrü Üzerine Etkisi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 97 sy.
- Westcott, ES. (2001). A Descriptive Study of The Reproductive Biology of The Veined Rapa Whelk (*Rapana venosa*) in The Chesapeake Bay. M.Sc. Thesis, College of William and Mary, School of Marine Science, Williamsburg.



Gökçeada Kıyılarındaki (Kuzey Ege Denizi, Türkiye) Trol Balıkçılığında İskarta, Hedef Dışı ve Hedef Av İçin Birim Çabadaki Av Miktarı

Deniz ACARLI¹, Semih KALE², Kamil ÇAKIR³

¹Çanakkale Onsekiz Mart University, Vocational School of Maritime Technologies, Department of Motor Vehicles and Transportation Technologies, Underwater Technology Program, 17020, Çanakkale, Türkiye, ²Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Marine Sciences and Technology, Department of Fishing and Fish Processing Technology, 17020, Çanakkale, Türkiye, ³Çanakkale Onsekiz Mart University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Fishing and Fish Processing Technology, 17020, Çanakkale, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-8537-9969>, ²<https://orcid.org/0000-0001-5705-6935>, ³<https://orcid.org/0000-0003-2969-5523>

✉: semihkale@comu.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmanın amacı Gökçeada (Kuzey Ege Denizi) çevresinde gerçekleştirilen ticari trol balıkçılığında ıskarta, hedef dışı ve hedef av için birim çaba başına düşen av miktarının (CPUE) belirlenmesidir. Mart 2015 – Nisan 2017 tarihleri arasında Gökçeada kıyılarında ticari trol teknesi ile toplamda 99.8 saat süreyle 19 trol çekimi gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresince toplam 46 familyaya ait 58 tür ve 7938 birey yakalanmıştır. Tür sayısı bakımından toplam av içerisinde hedef türlerin oranı %5.17, hedef dışı türlerin %50.00 ve ıskarta türlerin oranı ise %44.83 olarak hesaplanmıştır. Örneklenen türler içerisinde en çok yakalanan ticari türlerin; bakalyaro (*Merluccius merluccius*), derinsu pembe karidesi (*Parapaneus longirostris*) ve mavi mezgit (*Micromesistius poutassou*) olduğu tespit edilmiştir. Toplam av miktarı 1146.44 kg olarak kaydedilmiştir. Bu ürünlerin içindeki hedef av miktarı 817.87 kg (%71.34) iken hedef dışı av ve ıskarta av miktarı ise 328.57 kg (%28.66) olarak hesaplanmıştır. Hedef av için CPUE değeri 31.45 kg operasyon⁻¹, hedef dışı av için 10.11 kg operasyon⁻¹ ve ıskarta av için 2.39 kg operasyon⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Hedef av için saatlik CPUE değeri 8.19 kg saat⁻¹ olarak hesaplanırken, hedef dışı av için 2.63 kg saat⁻¹ ve ıskarta av için 0.62 kg saat⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Su Ürünleri

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 02.10.2021

Kabul Tarihi : 20.12.2021

Anahtar Kelimeler

Trol balıkçılığı

Hedef dışı av

İskarta

Birim çabaya düşen av miktarı (CPUE)

Ege Denizi

Catch per Unit Effort (CPUE) for Discard, Bycatch and Target Catch of Trawl Fishery in the Coasts of Gökçeada Island (North Aegean Sea, Turkey)

ABSTRACT

The aim of the present study is to determine the catch per unit effort (CPUE) for discard, bycatch and target catch of commercial trawl fishery in the coasts of Gökçeada Island (Northern Aegean Sea). A total of 19 bottom trawl hauls (99.8 hours) were carried out on the coasts of Gökçeada Island in the north Aegean Sea, between March 2015 and April 2017, with commercial trawler. During the study period, 58 species and 7938 individuals belonging to 46 families were caught. In terms of the number of species, the ratios in the total catch for target, bycatch and discard species were calculated as 5.17%, 50.00%, and 44.83%, respectively. Among sampled species, the most caught commercial species were; European hake (*Merluccius merluccius*), deep-water rose shrimp (*Parapaneus longirostris*) and blue whiting (*Micromesistius poutassou*). The total catch amount was calculated as 1146.44 kg. While the catch amount of target species was 817.87 kg (71.34%), the catch amount of bycatch and discard was calculated as 328.57 kg (28.66%). The CPUE value of the targeted species was determined as 31.5 kg operation⁻¹, while the CPUE values of bycatch and discard were calculated as 10.11 and 2.39 kg operation⁻¹, respectively. Moreover, the hourly CPUE value of targeted species was calculated as 8.19 kg

Fisheries

Research Article

Article History

Received : 02.10.2021

Accepted : 20.12.2021

Keywords

Trawl fishery

Bycatch

Discard

Catch per unit effort (CPUE)

Aegean Sea

hour⁻¹, while the hourly CPUE values of bycatch and discard were determined as 2.63 and 0.62 kg hour⁻¹, respectively.

Atıf Şekli:	Acarlı D, Kale S, Çakır K 2022. Gökçeada Kıyılarındaki (Kuzey Ege Denizi, Türkiye) Trol Balıkçılığında İskarta, Hedef Dışı ve Hedef Av İçin Birim Çabadaki Av Miktarı. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1489-1501. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1003742
To Cite :	Acarlı D, Kale S, Çakır K 2022. Catch per Unit Effort (CPUE) for Discard, Bycatch and Target Catch of Trawl Fishery in the Coasts of Gökçeada Island (North Aegean Sea, Turkey). KSU J. Agric Nat 25 (6): 1489-1501. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1003742

GİRİŞ

Balıkçılık faaliyetlerinin ekosistemler üzerindeki olumsuz yoğun etkileri birçok bilimsel araştırma tarafından rapor edilmiştir (Jennings ve Kaiser, 1998). Tür bolluğunun azalması, tür ve boy kompozisyonundaki değişiklikler, türlerin yaşam öyküsü karakteristiklerinin değişimi gibi olumsuz etkilerin yanı sıra balıkçılığın en istenmeyen doğrudan etkilerinden biri hedef dışı av ve ıskarta miktarıdır (Kelleher, 2005, Davies ve ark., 2009).

Balıkçılıkta hedeflenen türlerin avcılığı sırasında hedeflenmeden avlanan bireyler genel olarak hedeflenmeyen av, tesadüfi av veya ıskarta av gibi kavramlar ile ifade edilmektedir (Saila, 1983; Fisher, 1992; Alverson ve ark., 1994). Bir balıkçılık operasyonunda yakalanan toplam avın gruplandırılmasında araştırmacılara ve ülkelere göre bazı farklılıklar oluşabilmektedir. Bazı araştırmacılar ıskarta ve hedef dışı av oranlarının hesaplanmasında toplam avı dikkate alırken bazıları ise sadece hedef avı göz önünde bulundurmaktadır (Kınacıgil ve ark., 1999).

Kuzey Ege Denizi uzun bir kıta sahanlığına, çamurlu ve kumlu düz bir dip yapısına ve daha fazla miktarda besleyici elementlere sahiptir (Maravelias ve Papaconstantinou, 2006). Bununla birlikte Güney Ege Denizi'ne nazaran, fitoplankton ve zooplankton açısından çok daha zengindir (Theocharis ve ark., 1999). Besin açısından zengin Karadeniz suları da Kuzey Ege'de yüksek biyolojik üretkenlik ve balık stoklarının sürdürülmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Stergiou ve ark., 1997; Pethiakos ve ark., 2014). Türkiyenin Kuzey Ege kıyıları Edremit Körfezi, Gökçeada, Bozcaada, Gelibolu Yarımadası ve Saros Körfezi olmak üzere alt bölgelere ayrılmaktadır (Cengiz ve Paruğ, 2021). Gökçeada'nın kuzey bölgeleri ve Saros Körfezi *Posidonia oceanica* deniz çayırları açısından önemli habitatlar olarak tanımlanmış olup küçük pelajik ve dip balıkları için de önemli yumurtlama ve üreme alanları barındırmaktadır (Machias ve ark., 2007; Öztürk, 2009; Güreşen ve ark., 2015; Kale ve ark., 2014a, 2014b, 2015a, 2015b). Ege Denizi'nin tür çeşitliliği bakımından zengin olması ve buna bağlı olarak kompozisyonunda birçok türü barındırması nedeniyle Ege Denizi'nde gerçekleştirilen ticari trol balıkçılığında avcılığı hedeflenen türlerin yanında yasal avlanma boylarına uygun olan ticari türlerin çoğu ekonomik olarak

değerlendirilmektedir. Bu nedenle, Ege Denizi'nde gerçekleştirilen ticari trol balıkçılığında hedef av kavramı ile ticari av kavramı benzer şekilde düşünülmektedir. Bununla birlikte, hedeflenmediği halde avlanan türlerin ıskarta ve hedef dışı (tesadüfi) av kavramlarına göre sınıflandırılması da oldukça güç olmaktadır. İskarta, avın çok küçük olması, zarar görmesi, yenmemesi, ekonomik değerinin az olması veya balıkçılık yönetimi kapsamında kota kısıtlamaları ile tutulamaması nedeniyle balıkçılar tarafından avın istenmeyen bir kısmı olarak ifade edilmiştir (Zeller ve ark., 2018). Dünya çapında bu konu ile ilgili birçok çalışma yapılırken ulusal ölçekte bu konuyla ilgili yapılmış çalışma sayısının az olması ve mevcut verilerin yetersiz olması da balıkçılık yönetimi açısından önemli bir boşluk oluşturmaktadır.

Modern balıkçılık yönetimi açısından en önemli verilerden birisi birim çaba başına düşen av miktarıdır (Kara ve ark., 2000). Bu veriler doğrudan üretim miktarını belirlemekte olup bu doğrultuda balıkçılık faaliyetlerinin kontrolü ve yönetimi için uygun stratejilerin oluşturulmasına imkan sağlamaktadır.

İzmir Körfezi'ndeki trol balıkçılığının av kompozisyonunun belirlendiği bir çalışmada birim çabadaki av miktarını (CPUE) 71.3 kg saat⁻¹ olarak rapor edilmiştir (Akyol ve Kara, 2003). İskenderun Körfezi'ndeki dip trolü balıkçılığında av kompozisyonu ve birim çabadaki av miktarını (CPUE) belirlemek için gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise CPUE değeri 73.43 kg km⁻² olarak hesaplanmıştır (Can ve ark., 2004). Mersin-Anamur avlama bölgesinde dip trol ağı ile avcılıkta hedef dışı ve ıskarta av oranlarını belirlemek için yapılan araştırmada ise hedef türün toplam av içinde ağırlık olarak oranı %44.08, hedef dışı avın oranı %44.31, ıskarta avın oranı ise %11.6 olarak rapor edilmiştir (Malal, 2006). Aynı çalışmada yazar CPUE değerlerini hedef tür, hedef dışı av ve ıskarta av için sırasıyla 14.51 kg saat⁻¹, 17.69 kg saat⁻¹ ve 3.90 kg saat⁻¹ olarak not etmiştir. Babadillimanı Koyu'nda gerçekleştirilen trol operasyonlarında CPUE değeri 68.60 kg saat⁻¹ olarak belirtilmiştir (Manasırılı ve ark., 2008). Kuzeydoğu Akdeniz'de yer alan Karataş (Adana, Türkiye) kıyılarındaki trol balıkçılığının av kompozisyonunun belirlenmesine yönelik yapılan araştırmada ise birim çabadaki av miktarı 26.3 kg saat⁻¹ olarak bildirilmiştir (Çiçek ve ark., 2014).

İskenderun Körfezi'ndeki trol balıkçılığının ticari ve ıskarta av oranlarının araştırıldığı başka bir çalışmada toplam avın %67.2'sinin ticari av %32.8'inin ise ıskarta avı ait olduğu bildirilmiştir (Dalyan, 2020). Öte yandan, Gökçeada'ya yakın konumda bulunan ve ticari trol balıkçılığına kapalı bir alan olan Saros Körfezi'nde ise uygulanan alan kısıtlamaları nedeniyle ticari trol balıkçılığı yapılmamaktadır (Cengiz ve ark., 2011; Cengiz ve ark., 2019). Ancak, Gökçeada kıyılarındaki ticari trol balıkçılığında hedef av, hedef dışı av ve ıskarta av için birim çabadaki av miktarlarının (CPUE) araştırılması üzerine gerçekleştirilmiş çalışma henüz tespit edilememiştir. Bu nedenle, balıkçılık kaynakları açısından önemli bir alan olan Gökçeada kıyıları için bilimsel literatürdeki önemli bir boşluğun doldurulması hedeflenmektedir.

Bu çalışmanın amacı Gökçeada (Kuzey Ege Denizi) çevresinde gerçekleştirilen ticari trol balıkçılığında ıskarta, hedef dışı av ve hedef türler için birim çaba başına düşen av miktarının (CPUE) belirlenmesidir.

MATERYAL ve METOD

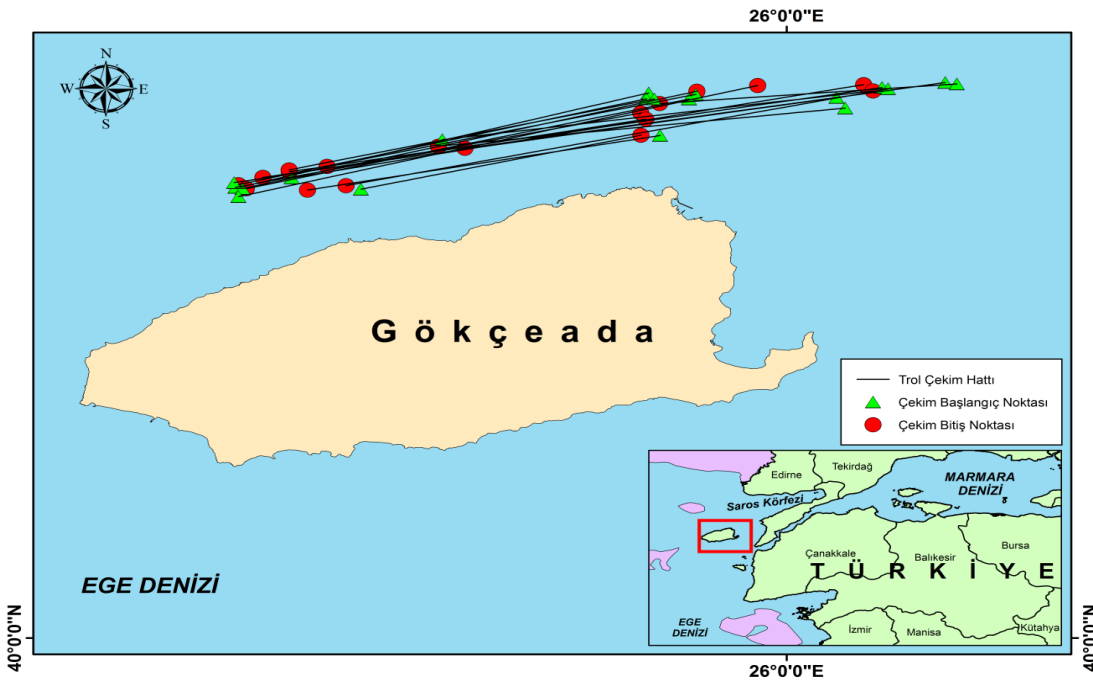
Çalışma Alanı ve Örneklemeler

Gökçeada'nın kuzey kıyılarındaki derinlik kıyıya çok yakın mesafede artmakta ve hemen derinleşmekte iken diğer kıyılarındaki derinlik kuzey kıyıya göre daha uzak mesafelerde artmaktadır (Kale, 2014). Gökçeada kıyılarındaki gerçekleşen ticari dip trolü balıkçılığı faaliyetleri bu alanda gerçekleşmektedir. Bu araştırma Mart 2015 – Nisan 2017 tarihleri arasında Kuzey Ege Denizi'nde Gökçeada'nın kuzey kıyılarındaki gerçekleştirilmiştir (Şekil 1).

Örneklemeler 23 m uzunluğa, 7 m genişliğe ve 500 HP güce sahip Yalçınoğlu-1 isimli ticari trol teknesi ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan trol ağı Türkiye'de trol balıkçılığında yaygın olarak kullanılan ticari dip trol ağıdır. Trol ağının ağız kısmındaki göz sayısı 600 göz olup kanat, omuz ve torba bölümleri 22 mm göz genişliğinden, mantar yakası ise 28 m uzunluğunda polipropilen (PP) 22'lik halattan oluşmaktadır. Kurşun yakada 33 m uzunluğunda polipropilen 32'lik halat kullanılmıştır. Mantar yakasında 20 cm çaplı polivinilklorür (PVC) malzemeden oluşan 7 adet yüzdürücü kullanılırken, kurşun yakasında 500 g ağırlığında 18 adet plaka kurşun batırıcı kullanılmıştır.

Trol çekimlerinin gerçekleştirildiği koordinat, derinlik, çekim zamanları ve süreleri gibi bilgiler kayıt altına alınarak Çizelge 1'de sunulmuştur. Toplamda 19 trol operasyonu gerçekleştirilmiştir. Tüm çekimler gün ışığının olduğu vakitlerde yapılmıştır. Trol operasyonlarında çekim hızı 2.6 ile 2.7 deniz mili saat⁻¹ arasında gerçekleştirilmiştir.

Operasyonların yapıldığı sahalar 5/1 Numaralı Ticari Amaçlı Su Ürünleri Avcılığının Düzenlenmesi Hakkında Tebliğ (Anonim, 2020)'de belirtilen alanlara uygun olarak kıydan en az 1.5 deniz mili açıkta yer almaktadır. Trol çekimlerinin yapıldığı derinlikler ise 109.7 m ile 332.8 m arasında değişiklik göstermektedir. Trol operasyonlarında her bir çekimin süresi değişiklik göstermekle beraber yapılan operasyonlarda en kısa çekim 2 saat 20 dk sürmüş olup en uzun süreli çekim ise 5 saat 50 dk olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 1. Çalışma alanı
Figure 1. Study area

Table 1. Locations of the trawling stations

Çizelge 1. Trol çekimi yapılan istasyonların konumları

Kıydan Uzaklık (mil)	Başlangıç Koordinat (N)	Başlangıç Koordinat (E)	Bitiş Koordinat (N)	Bitiş Koordinat (E)	Başlangıç Derinlik (m)	Bitiş Derinli (m)	Operasyon süresi (dk)
2.5-5.2	40°14.706'	25°45.950'	40°17.689'	26°02.185'	239.6	332.8	322
5.2-2.5	40°17.595'	26°02.706'	40°14.906'	25°45.878'	310.9	272.5	300
3-2.6	40°17.425'	25°56.083'	40°14.410'	25°44.474'	287.1	224.9	230
2.6-2.3	40°14.406'	25°44.349'	40°16.783'	25°55.856'	254.2	221.3	246
1.5-1.6	40°16.061'	25°56.403'	40°14.320'	25°46.395'	111.6	113.4	183
2.7-2.6	40°17.238'	25°56.019'	40°14.490'	25°44.435'	283.5	243.2	225
2.6-3	40°14.369'	25°44.551'	40°17.477'	25°57.449'	215.8	292.6	230
3-2.2	40°17.379'	25°57.417'	40°15.078'	25°46.953'	285.3	259.7	185
3-2.55	40°17.231'	25°56.242'	40°14.964'	25°45.877'	272.5	289.0	190
2.5-3.7	40°14.106'	25°44.438'	40°17.663'	25°59.175'	274.3	310.9	270
3-2.7	40°17.279'	26°01.413'	40°15.654'	25°50.866'	267.0	174.8	185
6-2.6	40°17.755'	26°04.503'	40°14.724'	25°45.131'	320.0	252.4	350
2.4-2.15	40°14.554'	25°44.314'	40°16.582'	25°55.998'	267.0	173.7	203
6-2.8	40°17.711'	26°04.829'	40°17.084'	25°56.392'	278.0	259.7	140
2.8-2.9	40°17.228'	25°57.226'	40°14.363'	25°43.997'	274.3	256.0	237
5.8-2.47	40°17.555'	26°02.875'	40°14.460'	25°47.490'	320.0	113.4	290
2.7-6.8	40°15.930'	25°50.223'	40°17.487'	26°02.453'	256.0	329.2	225
4.4-2.14	40°16.939'	26°01.661'	40°15.719'	25°50.113'	201.2	213.4	220
1.6-1.78	40°14.346'	25°47.910'	40°16.070'	25°55.863'	109.7	111.2	145

Çalışmanın amacı ticari trol avcılığında oluşan ıskarta, hedef dışı ve hedef türler için birim çabadaki av miktarının belirlenmesi olduğundan, trol operasyonları tamamlandıktan sonra güverteye alınan ürünlerin ayırımında ticari trol balıkçılarının hedef av, hedef dışı ticari ürünler ve ıskarta av ayırımı konusunda yaklaşımı dikkate alınmıştır. Trol operasyonu sonrasında avlanan ürünlerin ayırımı tamamlandıktan sonra bu sınıflandırmaya göre gerekli ölçümler gerçekleştirilmiştir. Avlanan ürünler operasyonların tamamlanmasının ardından laboratuvara getirilene kadar +4°C ortamda muhafaza edilmiş ve sonrasında laboratuvarında -18°C derin dondurucuya konularak gerekli ölçümler yapılabildiği kadar soğuk ortamda saklanmıştır. Whitehead ve ark. (1986), Bilecenoğlu ve ark. (2014) ve Froese ve Pauly (2021) kaynaklarından yararlanılarak türlerin tanımlanması Gökçeada Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu Balıkçılık Teknolojisi Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Birim Çabadaki Av Miktarının (CPUE) Hesaplanması

Birim çabadaki av miktarı tüm türler (ıskarta av, hedef dışı av, hedef av) için operasyon başına ve birim zaman başına olmak üzere ayrı ayrı hesaplanmıştır. Bu hesaplamalarda Gulland (1983) tarafından önerilen formüller revize edilerek kullanılmıştır.

$$CPUE = \frac{\sum C_i}{\sum t} \quad (1)$$

C_i : Her bir operasyondaki av miktarı (kg)

t : Operasyon çekim süresi (saat)

$$CPUE = \frac{\sum C_i}{\sum h} \quad (2)$$

C_i : Her bir operasyondaki av miktarı (kg)

h : Operasyon sayısı

Çok boyutlu olmayan ölçekleme (n-MDS) analizi Bray-Curtis benzerlik matrisine göre yapılmıştır (Kruksal ve Wish, 1978). Trol çekimlerini ortalama av miktarına göre sınıflandırmak için hem kümeleme (cluster) hem de n-MDS analizinde aylar faktör olarak kullanılmıştır. Çalışmada istatistiksel hesaplamaların gerçekleştirilmesi için PAST (Hammer ve ark., 2001), SPSS, Minitab, R ve Microsoft Excel yazılımları ve paket programlarından yararlanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışma süresince toplamda 19 trol operasyonu gerçekleştirilmiş olup yakalanan 7938 bireyin 46 familyadan 58 farklı türe ait olduğu belirlenmiştir. Avlanan ürünlerin hedef av, hedef dışı av ve ıskarta av ayırımı konusunda ticari trol balıkçılarının yaklaşımı dikkate alınmıştır. Bu ayırım sırasında Türkiye'deki bazı bölgelerde de hedef av olarak değerlendirilen bazı balık türlerinin (örneğin, *M. merlangus*) yasal avlama boyundan küçük olanlar veya boy olarak yasal düzenlemelere uygun olsa da ağırlık bakımından az olanlar hedef dışı av olarak değerlendirilmiştir. Tür sayısı bakımından, toplam av içerisindeki hedef türlerin oranı %5.17, hedef dışı türlerin oranı %50.00 ve ıskarta türlerin oranı ise %44.83 olarak hesaplanmıştır. Trol operasyonları boyunca toplam 1146.44 kg ürün yakalanmıştır. En çok yakalanan ve hedef türler olan bakalyaro

(*Merluccius merluccius*), karides (*Parapaneus longirostris*) ve mavi mezgitin (*Micromesistius poutassou*) miktarı 817.87 kg olarak hesaplanmıştır. Trol operasyonlarında ağırlık olarak en çok bakalyaro yakalanmıştır. Bakalyaro türü toplam avın %41'ini oluşturmaktadır. Çalışma süresince gerçekleştirilen trol operasyonlarındaki hedef av miktarının (kg) toplam av içerisindeki oranı %71.34 olarak

belirlenmiştir. Araştırmada yakalanan toplam 328.57 kg hedef dışı ve ıskarta avların toplam av içerisindeki oranı ise %28.66'dır. Yakalanan toplam hedef dışı av miktarının (kg) toplam av içerisindeki oranı %23.01 olarak hesaplanırken toplam ıskarta av miktarının (kg) toplam av içerisindeki oranı ise %5.43 olarak belirlenmiştir (Çizelge 2).

Table 2. Total biomass of species caught in trawl samplings

Çizelge 2. Trol operasyonlarında örneklenen türlerin toplam biyokütlesi

Türler	Toplam Ağırlık (kg)	Toplam Av İçindeki Oranı (%)
Merlucciidae	473.15	41.27%
<i>Merluccius merluccius</i>	473.15	41.27%
Penaeidae	180.61	15.75%
<i>Parapaneus longirostris</i>	180.61	15.75%
Gadidae	167.59	14.62%
<i>Argentina sphyraena</i>	0.05	0.00%
<i>Gadiculus argenteus</i>	2.63	0.23%
<i>Merlangius merlangus</i>	0.80	0.07%
<i>Micromesistius poutassou</i>	164.11	14.31%
Sparidae	117.78	10.27%
<i>Boops boops</i>	0.12	0.01%
<i>Diplodus annularis</i>	0.12	0.01%
<i>Pagellus acarne</i>	51.45	4.49%
<i>Pagellus bogaraveo</i>	64.13	5.59%
<i>Pagellus erythrinus</i>	0.71	0.06%
<i>Pagellus sp,</i>	1.25	0.11%
Lophiidae	54.41	4.75%
<i>Lophius budegassa</i>	54.41	4.75%
Carangidae	31.32	2.73%
<i>Trachurus mediterraneus</i>	31.32	2.73%
Mullidae	25.88	2.26%
<i>Mullus sp,</i>	25.88	2.26%
Ommastrephidae	16.71	1.46%
<i>Illex coindetii</i>	14.51	1.27%
<i>Todaropsis eblanae</i>	2.20	0.19%
Bothidae	10.24	0.89%
<i>Arnoglossus kessleri</i>	10.24	0.89%
Scyliorhinidae	9.39	0.82%
<i>Scyliorhinus canicula</i>	9.39	0.82%
Macrouridae	9.06	0.79%
<i>Coelorinchus caelorhincus</i>	7.38	0.64%
<i>Hymenocephalus italicus</i>	1.68	0.15%
Congridae	6.22	0.54%
<i>Conger conger</i>	6.22	0.54%
Triglidae	5.44	0.47%
<i>Chelidonichthys lucerna</i>	0.35	0.03%
<i>Lepidotrigla cavillone</i>	5.07	0.44%
<i>Trigla lyra</i>	0.03	0.00%
Spongiidae	3.73	0.33%
<i>Spongia sp,</i>	3.73	0.33%
Sepiidae	3.35	0.29%
<i>Sepia officinalis</i>	3.35	0.29%
Scophthalmidae	3.05	0.27%
<i>Lepidorhombus boscii</i>	3.05	0.27%
Soleidae	2.73	0.24%
<i>Solea solea</i>	2.73	0.24%
Rajidae	2.44	0.21%
<i>Raja clavata</i>	2.44	0.21%
Zeidae	2.35	0.20%
<i>Zeus faber</i>	2.35	0.20%
Sebastidae	1.75	0.15%

<i>Helicolenus dactylopterus</i>	1.75	0.15%
Trichiuridae	1.73	0.15%
<i>Lepidopus caudatus</i>	1.73	0.15%
Octopodidae	1.51	0.13%
<i>Octopus vulgaris</i>	1.51	0.13%
Ophidiidae	1.44	0.13%
<i>Ophidion barbatum</i>	1.44	0.13%
Caproidae	1.44	0.13%
<i>Capros aper</i>	1.44	0.13%
Trachichthyidae	1.35	0.12%
<i>Hoplostethus mediterraneus</i>	1.35	0.12%
Carcharhinidae	1.21	0.11%
<i>Prionace glauca</i>	1.21	0.11%
Loliginidae	1.15	0.10%
<i>Loligo vulgaris</i>	1.15	0.10%
Synodontidae	0.985	0.09%
<i>Synodus saurus</i>	0.985	0.09%
Chlorophthalmidae	0.731	0.06%
<i>Chlorophthalmus agassizi</i>	0.731	0.06%
Torpedinidae	0.544	0.05%
<i>Torpedo marmorata</i>	0.544	0.05%
Argentinidae	0.461	0.04%
<i>Argentina sphyraena</i>	0.461	0.04%
Squillidae	0.391	0.03%
<i>Squilla mantis</i>	0.391	0.03%
Cepolidae	0.338	0.03%
<i>Cepola macrophthalma</i>	0.338	0.03%
Trachinidae	0.334	0.03%
<i>Trachinus draco</i>	0.334	0.03%
Eriphiidae	0.321	0.03%
<i>Eriphia verrucosa</i>	0.321	0.03%
Serranidae	0.313	0.03%
<i>Serranus hepatus</i>	0.313	0.03%
Engraulidae	0.235	0.02%
<i>Engraulis encrasicolus</i>	0.235	0.02%
Nephropidae	0.217	0.02%
<i>Nephrops norvegicus</i>	0.217	0.02%
Scorpaenidae	0.200	0.02%
<i>Scorpaena sp,</i>	0.200	0.02%
Exocoetidae	0.179	0.02%
<i>Exocoetus sp,</i>	0.179	0.02%
Phycidae	0.072	0.01%
<i>Phycis blennoides</i>	0.072	0.01%
Blenniidae	0.046	0.00%
<i>Blennius sp,</i>	0.046	0.00%
<i>Chalaroderma ocellata</i>	0.038	0.00%
Clupeidae	0.022	0.00%
<i>Sardine pilchardus</i>	0.022	0.00%
Dasyatidae	0.006	0.00%
<i>Dasyatis pastinaca</i>	0.006	0.00%
Centriscidae	0.006	0.00%
<i>Macroramphosus scolopax</i>	0.006	0.00%
Gobiidae	0.003	0.00%
<i>Gobius sp,</i>	0.003	0.00%
Genel Toplam	1146.44	100.00%

CPUE değeri hedef av için 31.45 kg operasyon⁻¹, hedef dışı av için 10.11 kg operasyon⁻¹ ve ıskarta av için 2.39 kg operasyon⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Birim zaman için hesaplanan CPUE değeri ise hedef av için 8.19 kg sa⁻¹ olarak hesaplanırken, hedef dışı av için saatlik CPUE değeri 2.63 kg saat⁻¹ ve ıskarta av için

0.62 kg saat⁻¹ olarak belirlenmiştir. Ege Denizi'nin kuzeyinde Gökçeada kıyılarında ticari trol balıkçılığı yapılarak avlanan tüm türlerin hesaplanan birim av miktarları birim zaman için (kg sa⁻¹) ve birim çaba için (kg operasyon⁻¹) Çizelge 3'te verilmiştir.

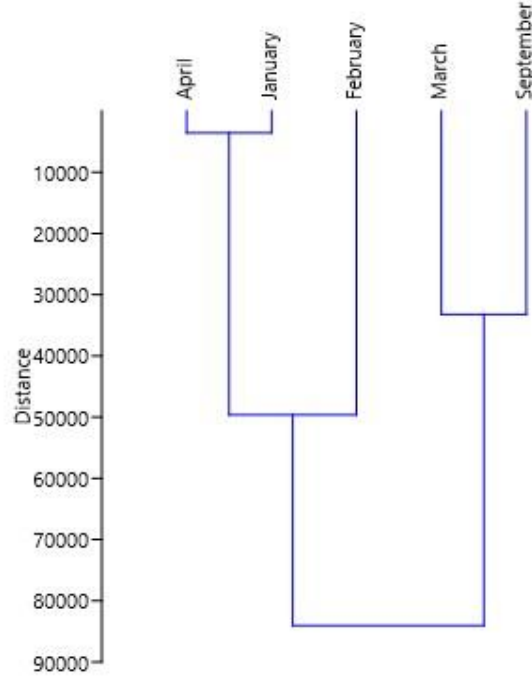
Table 3. The amount of the catch per unit effort (CPUE) and catch per unit time of sampled species by commercial trawler in the coast of Gökçeada Island

Çizelge 3. Gökçeada kıyılarındaki ticari trol balıkçılığında yakalanan türlerin birim zamandaki ve birim çabadaki av miktarı (CPUE)

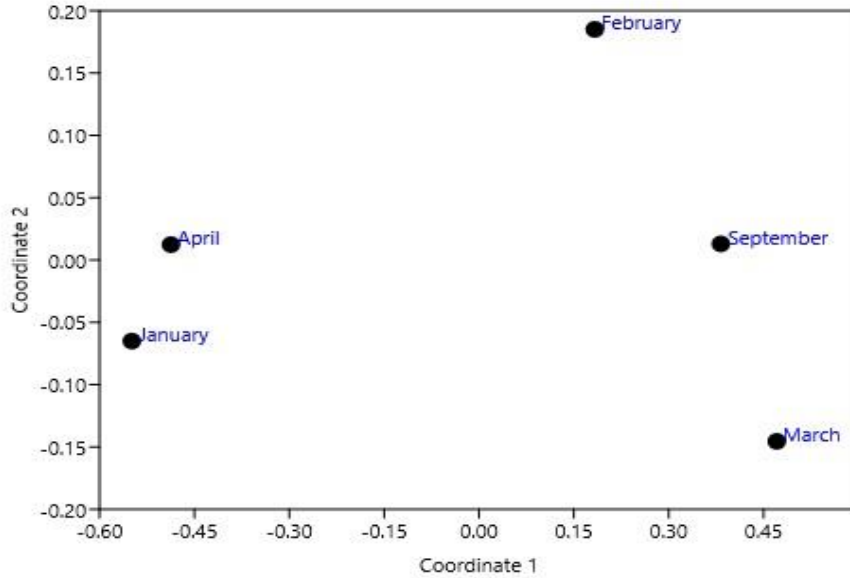
Türler	CPUE(kg saat ⁻¹)	CPUE(kg operasyon ⁻¹)	Hedef Durumu
<i>Merluccius merluccius</i>	4.741	18.198	Hedef av
<i>Parapaneus longirostris</i>	1.810	6.946	Hedef av
<i>Micromesistius poutassou</i>	1.644	6.312	Hedef av
<i>Pagellus bogaraveo</i>	0.643	2.466	Hedef dışı av
<i>Lophius budegassa</i>	0.545	2.093	Hedef dışı av
<i>Pagellus acarne</i>	0.516	1.979	Hedef dışı av
<i>Trachurus mediterraneus</i>	0.314	1.204	Hedef dışı av
<i>Mullus sp.</i>	0.259	0.995	Hedef dışı av
<i>Illex coindetii</i>	0.145	0.558	Hedef dışı av
<i>Sepia officinalis</i>	0.034	0.129	Hedef dışı av
<i>Lepidorhombus bosci</i>	0.031	0.117	Hedef dışı av
<i>Solea solea</i>	0.027	0.105	Hedef dışı av
<i>Zeus faber</i>	0.024	0.090	Hedef dışı av
<i>Todaropsis eblanae</i>	0.022	0.085	Hedef dışı av
<i>Octopus vulgaris</i>	0.015	0.058	Hedef dışı av
<i>Pagellus sp.</i>	0.013	0.048	Hedef dışı av
<i>Loligo vulgaris</i>	0.012	0.044	Hedef dışı av
<i>Merlangius merlangus</i>	0.008	0.031	Hedef dışı av
<i>Pagellus erythrinus</i>	0.007	0.027	Hedef dışı av
<i>Chelidonichthys lucerna</i>	0.003	0.013	Hedef dışı av
<i>Trachinus draco</i>	0.003	0.013	Hedef dışı av
<i>Eriphia verrucosa</i>	0.003	0.012	Hedef dışı av
<i>Engraulis encrasicolus</i>	0.002	0.009	Hedef dışı av
<i>Nephrops norvegicus</i>	0.002	0.008	Hedef dışı av
<i>Scorpaena sp.</i>	0.002	0.008	Hedef dışı av
<i>Diplodus annularis</i>	0.001	0.005	Hedef dışı av
<i>Boops boops</i>	0.001	0.004	Hedef dışı av
<i>Phycis blennoides</i>	0.001	0.003	Hedef dışı av
<i>Trigla lyra</i>	0.000	0.001	Hedef dışı av
<i>Sardine pilchardus</i>	0.000	0.001	Hedef dışı av
<i>Arnoglossus kessleri</i>	0.103	0.394	Iskarta
<i>Scyliorhinus canicula</i>	0.094	0.361	Iskarta
<i>Coelorinchus caelorhincus</i>	0.074	0.284	Iskarta
<i>Conger conger</i>	0.062	0.239	Iskarta
<i>Lepidotrigla cavillone</i>	0.051	0.195	Iskarta
<i>Spongia sp.</i>	0.037	0.144	Iskarta
<i>Gadiculus argenteus</i>	0.026	0.101	Iskarta
<i>Raja clavata</i>	0.024	0.094	Iskarta
<i>Helicolenus dactylopterus</i>	0.018	0.067	Iskarta
<i>Lepidopus caudatus</i>	0.017	0.067	Iskarta
<i>Hymenocephalus italicus</i>	0.017	0.064	Iskarta
<i>Ophidion barbatum</i>	0.014	0.055	Iskarta
<i>Capros aper</i>	0.014	0.055	Iskarta
<i>Hoplostethus mediterraneus</i>	0.014	0.052	Iskarta
<i>Prionace glauca</i>	0.012	0.047	Iskarta
<i>Synodus saurus</i>	0.010	0.038	Iskarta
<i>Chlorophthalmus agassizi</i>	0.007	0.028	Iskarta
<i>Torpedo marmorata</i>	0.005	0.021	Iskarta
<i>Argentina sphyraena</i>	0.005	0.020	Iskarta
<i>Squilla mantis</i>	0.004	0.015	Iskarta
<i>Cepola macrophthalma</i>	0.003	0.013	Iskarta
<i>Serranus hepatus</i>	0.003	0.012	Iskarta
<i>Exocoetus sp.</i>	0.002	0.007	Iskarta
<i>Chalaroderma ocellata</i>	0.000	0.001	Iskarta
<i>Blennius sp.</i>	0.000	0.000	Iskarta
<i>Dasyatis pastinaca</i>	0.000	0.000	Iskarta
<i>Macroramphosus scolopax</i>	0.000	0.000	Iskarta
<i>Gobius sp.</i>	0.000	0.000	Iskarta

Kümeleme ve n-MDS analizlerinin sonuçlarına göre iki grup belirlenmiştir (Şekil 2, Şekil 3). 1. grup Ocak ve Nisan aylarında yapılan trol operasyonlarından, 2. grup ise Mart, Mayıs ve Eylül aylarında yapılan

operasyonlardan oluşmaktadır. Çok boyutlu olmayan ölçekleme analizi sonunda n-MDS stres değeri 0 olarak bulunmuştur.



Şekil 2. Aylara göre trol örneklemelerine dayalı ortalama av miktarı için benzerlik dendrogramı
Figure 2. Similarity dendrogram for average catch based on trawl samples by months



Şekil 3. Her iki grup için trol çekimlerinin ortalama av miktarının çok boyutlu olmayan ölçeklendirme koordinasyonu
Figure 3. Non-multidimensional scaling ordination of the average catch of trawl hauls for both groups

Küresel ölçekte deniz balıkları stoklarından %72'sinin henüz üremesini gerçekleştirilmeden avlandığı ve bu durumun denizel ekosistem bakımından son derece önemli bir problem oluşturduğu belirtilmiştir (Giuliani ve ark., 2004). Ayrıca bu araştırmacılar dünya genelinde gerçekleştirilen avcılık üretiminin toplamda %25'inin (2003 yılı için 27 milyon ton) hedeflenmeden avlandığı ve oldukça yüksek bir oranının da değerlendirilmediğini ifade etmiştir. Bu durum türlerin sürdürülebilir avcılığının sağlanabilmesi açısından oldukça önemli bir sorun teşkil etmektedir. Akdeniz'de gerçekleştirilen ticari trol balıkçılığının çok türlü bir balıkçılık olduğunu vurgulayan Stergiou ve ark. (2003), hedef dışı avın karaya çıkarılan kısmı olarak değerlendirilen (tesadüfi olarak avlanan) türlerin de Akdeniz'deki ticari trol balıkçılığı için önemli bir rol oynadığını ifade etmiştir. Öte yandan, ıskarta av oranlarının Yunan sularında gerçekleştirilen ticari trol balıkçılığında tüm av içinde en fazla %45'lik bir miktara denk gelebileceği bildirilmiştir (Stergiou ve ark., 1998). Ayrıca, aynı çalışmada araştırmacılar ıskarta av miktarının trol operasyonları gerçekleştirilen mevsime, bölgeye ve avlanan türlere göre değişebileceğini, bununla birlikte tüm bu etkenlerin trol operasyon süresi ile pozitif yönde ilişkili olduğunu da rapor etmiştir. Monteiro ve ark. (2001) Portekiz'in Algarve bölgesinde yapılan Crustacea türlerini hedefleyen trol balıkçılığında yakalanan av içerisindeki çok sayıda türün hiçbir ekonomik değere sahip olmadığı veya ekonomik değerinin çok az olması nedeniyle trol operasyonları sırasında çok yüksek oranda ıskarta edildiğini (%90) ifade etmiştir. Castriota ve ark. (2001) Sicilya Boğazı'nda yapılan karides trolü balıkçılığında 1 kg karides avlamak için elde edilen yan ürünün 9.6 kg olarak hesaplandığını ve bu av içerisinde de 5.2 kg ürünün ıskarta av olarak değerlendirildiğini rapor etmiştir. Araştırmacılar toplam av miktarının %51'lik kısmının karaya çıkarıldığını ve kalan %49'lük kısmının ise ıskarta av olarak kabul edildiğini bildirmiştir. Bu çalışmada da tür sayısı bakımından ıskarta avın toplam av içerisindeki oranı %44.83 olarak hesaplandığı ve literatürdeki çalışmalar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Castriota ve ark. (2001) ıskarta av olan türlerin *Merluccius merluccius*, *Gadiculus argenteus* ve *Chlorophthalmus agassizi* türlerinin küçük boylu bireyleri olduğunu rapor etmiştir. Mevcut çalışmada da benzer şekilde bu türlerin küçük boylu bireyleri ile diğer gruplar ıskarta av olarak ayrılmıştır. Diğer yandan, Monteiro ve ark. (2001) tarafından da *Micromesistius poutassou* (%34), *Gadiculus argenteus* (%10) ve *Hoplostetis mediterraneus* (%8) türlerinin ağırlık olarak toplam av içerisinde önemli bir yeri olduğu vurgulanmıştır. Demirci (2003) İskenderun Körfezi'nde yaptığı çalışmada hedef olmayan türlerin

toplam av içerisindeki oranının %68 olduğunu bildirmiştir. Soykan ve ark. (2006) aynı bölgede karides trollerinde 433.5 kg ticari ava (118.5 kg karides) karşın 1420 kg ıskarta av yakalandığını bildirmiştir. Araştırmacılar 1 kg ticari ava karşılık olarak 3.2 kg hedef dışı av elde edildiğini ve toplam avın % 76'sının ıskarta edildiğini rapor etmiştir. Ceylan ve ark. (2014) Karadeniz ıskarta av miktarının toplam av içerisindeki oranının %42.06 olduğunu bildirmiştir. Bu açıdan mevcut çalışmanın sonuçları ile karşılaştırıldığında ıskarta av miktarının diğer çalışmalardan daha az olduğu tespit edilmiştir. Trol operasyonlarında ıskarta av miktarının az olması hatta mümkünse hiç ıskarta ürünün gelmemesi beklenmektedir. Bu amaçla trol av araç-gereçlerinde seçiciliğin geliştirilmesine yönelik çok sayıda araştırma yapılmaktadır (Özbilgin ve ark., 2011, 2012; Eryaşar ve ark., 2014a, 2014b; Saygu ve ark., 2020). Diğer yandan, Özbilgin ve ark. (2006) İzmir Körfezi'nde yaptıkları çalışmada trol torbasındaki avın %63'lük kısmının (93 kg) ticari olarak önemli türlerden oluştuğunu, geri kalan %37'lik kısmının (56 kg) ise pazarlanamayan türlerden ibaret olduğunu bildirmiştir. Mevcut çalışmanın sonuçlarına göre de hedef avın toplam av içerisinde oranı %71.34 olarak hesaplanmış olup Özbilgin ve ark. (2006) ile benzerlik göstermektedir. Tosunoğlu ve ark. (2009) Sığacık Körfezi'nde 3 farklı derinlik konturunda trol operasyonları gerçekleştirmiş ve hedef av olan derinsu pembe karidesinin toplam av içerisindeki oranının %11 olduğunu belirtmiştir. Ayrıca toplam av için aylık ortalama CPUE değerini 341.29 kg saat⁻¹ olarak bildirmiştir. Kınacıgil ve ark. (2011) aynı bölgede yaptığı çalışmada hedef av için CPUE değerini 37.1 kg saat⁻¹ olarak bildirirken hedef dışı av için CPUE değerini 13.8 kg saat⁻¹ olarak rapor etmiştir. Ayrıca, 9 türün ticari değere sahip olduğunu, 72 türün hedef dışı av olduğunu ve 29 türün ise hem ticari hem hedef dışı av olarak nitelendirildiğini ifade etmiştir. Mevcut çalışmada av kompozisyonuna 58 türün girdiği bunlardan 3 tanesinin ticari av kompozisyonunda, diğerlerinin hedef dışı av kompozisyonunda yer aldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, 10 türün ise her iki grup içinde de değerlendirilebileceği tespit edilmiştir. Kınacıgil ve ark. (2011) toplamda 110 farklı tür yakalandığını ve 5940 kg ticari ava karşın 2250 kg hedef dışı av elde edildiğini bildirmiştir. Bu durumda toplam avın %72.53'lük kısmı ticari av %27.47'lik kısmı da hedef dışı av olarak hesaplanmıştır. Cengiz ve ark. (2011) Saroz Körfezi'nde gerçekleştirilen trol operasyonlarında toplam 59 familyaya ait 124 balık türü yakalandığını belirtmiştir. İşmen ve ark. (2010) aynı bölgede gerçekleştirilen trol operasyonlarında CPUE değerinin 178 kg saat⁻¹ olarak hesaplandığını bildirmiştir. Özbilgin ve ark. (2013) Mersin Körfezi'nde gerçekleştirilen trol balıkçılığı

operasyonlarında trole giren tür sayısının 136, alıkonan tür sayısının 26, ıskarta edilen tür sayısının 60, her iki grupta da yer alan tür sayısının 50, ağırlık olarak ıskarta av %48, adet olarak ıskarta av ise %72 olarak belirlenmiştir. Tosunoğlu ve ark. (2009), İşmen ve ark. (2010), Kınacıgil ve ark. (2011), Özbilgin ve ark. (2013) tarafından gerçekleştirilen çalışmalara kıyasla mevcut çalışmada toplam av miktarının, av kompozisyonunun ve CPUE değerlerinin daha az olmasının nedeni gerçekleştirilen operasyon sayısı ve süresi ile ilişkilidir. Mevcut çalışmada ekonomik bütçenin kısıtlı olması nedeniyle az sayıda operasyon gerçekleştirilebilmiştir. Her ne kadar av miktarı farklı olsa da her bir çalışmayı hedef av miktarı ile hedef dışı av/ıskarta av miktarı arasındaki oranlar açısından kıyaslandığında benzerlik göstermektedir.

Balıkçılıktaki ıskarta ürünlerin miktarı açısından değerlendirildiğinde en fazla ıskarta av dip trolü balıkçılığında ortaya çıkmaktadır. Pérez Roda ve ark. (2019) dünya çapında yıllık 9.1 milyon ton seviyelerinde olan ıskarta av miktarına 4.2 milyon tonla en yüksek katkıyı dip trolü balıkçılığında elde edilen ıskarta avların sağladığını bildirmiştir. İskarta avların azaltılması, biyolojik çeşitlilik ve ekosistem sağlığı üzerinde son derece önemli bir rol oynamaktadır (Dalyan, 2020). Trol balıkçılığında ıskarta av miktarının azaltılabilmesi için ağ boyutu düzenlemeleri, av kotaları veya efor sınırlamaları, minimum karaya çıkış boyutları gibi bazı önlemler uygulanmaktadır (Weissenberger, 2014). Türk sularında ise karar verici ve ulusal ölçekte balıkçılığın yöneticisi konumunda bulunan Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından ağ gözü boyutu ve minimum karaya çıkış boyutu düzenlemeleri ıskarta avın azaltılması için balıkçılık yönetimi önlemleri olarak uygulanmaktadır. Türkiye dip trolü balıkçılığında halihazırda uygulanan minimum ağ gözü boyutu ve minimum karaya çıkma boyutu kısıtlamalarının Gökçeada kıyılarındaki ticari balıkçılık alanlarında gerçekleştirilen ticari trol balıkçılığı faaliyetlerindeki ıskartaları azaltmak ve ticari açıdan önemli türlerin yavrularını korumak için yeterli olmadığı rapor edilmiştir (Keskin ve ark., 2014). Benzer şekilde, bu çalışmada da hedef türlerin küçük bireylerinin yakalanmış olması ticari trol balıkçılığında ıskarta oranlarının azaltılabilmesi için daha fazla önlem uygulanması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Sürdürülebilir balıkçılığın etkin ve başarılı biçimde yönetilebilmesi ve mevcut stokların devamlılığının sağlanabilmesi için balıkçılık faaliyetlerinde farklı alanlarda/zamanlarda geçici alansal/zamansal kısıtlamalar veya yoğun şekilde sömürülen popülasyonların ve/veya koruma endişesi taşıyan türlerin bakımı için ekolojik öneme sahip kapalı alanların oluşturulması gibi önlemler alınmalı ve bu kapsamda balıkçılık yönetimi stratejileri oluşturulmalıdır.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma sonucunda Gökçeada kıyılarındaki trol balıkçılığında birim çabadaki av miktarı, hedef dışı av ve ıskarta oranları belirlenmiştir. Hedef av için birim çaba başına düşen av miktarı (CPUE) 31.45 kg operasyon⁻¹ olarak belirlenirken hedef dışı av için 10.11 kg operasyon⁻¹ ve ıskarta av için 2.39 kg operasyon⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Hedef av için saatlik CPUE değeri 8.19 kg saat⁻¹ olarak hesaplanırken hedef dışı av için saatlik CPUE değeri 2.63 kg saat⁻¹ ve ıskarta av için saatlik CPUE değeri 0.62 kg saat⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak balıkçılığın denizel kaynaklar üzerinde birtakım etkilerinin olması kaçınılmazdır. Bu nedenle, hedeflenmeyen avcılık sorunlarıyla mücadelede en doğru yaklaşımın, ekosistem temelli yaklaşım ve ekonomik öncelikler doğrultusunda söz konusu etkileri azaltıcı tedbirlerin alınması yönünde olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla, sürdürülebilir balıkçılığın sağlanabilmesi için uygun balıkçılık yönetimi stratejilerinin oluşturulması ve bu doğrultuda karar vericilerin uygun politikalar uygulaması büyük önem arz etmektedir. İleriki çalışmalarda av araçlarının seçicilik özelliklerinin araştırılması, av aracından kaçan bireylerin yaşama oranlarının belirlenmesi, nesli tehlike altında ve/veya koruma altında olan türler için kaçış düzeneklerinin geliştirilmesi konularında da araştırmalar gerçekleştirilmesi önerilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2016-838 nolu proje ile desteklenmiştir. Ayrıca, yazarlar saha çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Yalçınoğlu-1 isimli ticari trol balıkçılığı gemisi kaptanları Metin ve Salih kaptan başta olmak üzere tüm personele teşekkür ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Akyol O, Kara A 2003. İzmir Körfezi'nde (Ege Denizi) Dip Trolü ve Tratanın Av Kompozisyonlarının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Su Ürün. Derg 20(3-4): 321-328.
- Alverson DL, Freeberg MH, Murawski SA, Pope JG 1994. A Global Assessment of Fisheries By-Catch and Discard. FAO Fisheries Technical Paper, 339, Rome.

- Anonim 2020. 5/1 Numaralı Ticari Amaçlı Su Ürünleri Avcılığının Düzenlenmesi Hakkında Tebliğ. (Tebliğ No: 2020/20). 22 Ağustos 2020 Tarih ve 31221 Sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Bilecenoğlu M, Kaya M, Cihangir B, Çiçek E 2014. An Updated Checklist of the Marine Fishes of Turkey. Turk J Zool 38: 901-929.
- Can MF, Mazlum Y, Demirci A, Aktaş M 2004. The Catch Composition and Catch per Unit of Swept Area (CPUE) of Penaeid Shrimps in the Bottom Trawls from İskenderun Bay, Turkey. Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 4: 87-91.
- Castriota L, Campagnuolo S, Andalora F 2001. Shrimp Trawl By-catch in the Straits of Sicily (Central Mediterranean Sea), Northwest Atlantic Fisheries Organization, NAFO SCR Doc., 01/113 N4501, 1-9.
- Cengiz Ö, İşmen A, Özekinci U, Öztekin A 2011. Saroz Körfezi (Kuzey Ege Denizi) Balık Faunası Üzerine Bir Araştırma. AKU-J Sci, 11: 31-37.
- Cengiz Ö, Paruğ ŞŞ, Kızılkaya B 2019. Saroz Körfezi'ndeki (Kuzey Ege Denizi, Türkiye) Kupes Balığının (*Boops boops* Linnaeus, 1758) Üreme Zamanı ve Ağırlık-Boy İlişkinin Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22(4): 577-582.
- Cengiz Ö, Paruğ Ş 2021. Growth Parameters of Blotched Picarel (*Spicara maena* Linnaeus, 1758) From Saros Bay (Northern Aegean Sea, Turkey). Acta Nat Sci 2(1): 40-48.
- Çiçek E, Karataş M, Avşar D, Moradi M 2014. Catch Composition of the bottom trawl fishery along the coasts of Karataş-Adana (Northeastern Mediterranean Sea). Int. J. Aquat. Biol. 2(5): 229-237.
- Dalyan C 2020. The Commercial and Discard Catch Rates of the Trawl Fishery in the İskenderun Bay (Northeastern Levantine Sea). Trakya Univ J Nat Sci 21(2): 123-129.
- Davies RWD, Cripps SJ, Nickson A, Porter G 2009. Defining and estimating global marine fisheries bycatch. 33(4): 661-672.
- Demirci A 2003. İskenderun Körfezi'ndeki Demersal Stoklarda Hedef Olmayan Türler ve Biyokütlelerinin Tahmini. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 41 sy.
- Eryaşar AR, Özbilgin H, Gücü AC, Sakınan S 2014a. Marine Debris in Bottom Trawl Catches and Their Effects on the Selectivity Grids in the North Eastern Mediterranean. Mar Pollut Bull 81(1): 80-84.
- Eryaşar AR, Özbilgin H, Gökçe G, Özbilgin YD, Saygu İ, Bozaoğlu AS, Kalecik E 2014b. The Effect of Codend Circumference on Selectivity of Hand-Woven Slack Knotted Codend in the North Eastern Mediterranean Demersal Trawl Fishery. Turkish J Fish Aquat Sci 14(2): 463-470.
- Fisher RB 1992. Introduction to Bycatch. Proceedings of the National Industry Bycatch Workshop, February 4-6, 1992, Newport, Oregon. 5-10.
- Froese R, Pauly D 2014. FishBase. World Wide Web electronic publication. Available at: <http://www.fishbase.org>
- Giuliani G, De Bono A, Kluser S, Peduzzi P, United Nations Environment Programme 2004. United Nations Environment Programme (UNEP): Environment Alert Bulletin. 1-5.
- Gulland JA 1983. Fish Stock Assessment: A Manual of Basic Methods. John Wiley & Sons, New York, 236 p.
- Güreşen A, Okudan EŞ, Dural B, Aysel V 2015. An Updated Checklist of Marine Flora on the Continental Shelf of Gökçeada Island (Northern Aegean Sea, Turkey). J Aquacult Eng Fish Res 3: 171-187.
- Hammer Ø, Harper DA, Ryan PD 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontol Electron 4(1): 1- 9.
- İşmen A, Özekinci U, Özen Ö, Ayaz A, Altınağaç U, Yığın Ç, Ayyıldız H, Cengiz Ö, Arslan M, Ormanci HB, Çakır F, Öz Mİ 2010. Saroz Körfezi (Kuzey Ege Denizi) Demersal Balıklarının Biyo-Ekolojisi ve Populasyon Dinamiğinin Belirlenmesi. TÜBİTAK Proje Sonuç Raporu (Proje No: 106Y035). Ankara.
- Jennings S, Kaiser MJ 1998. The Effects of Fishing on Marine Ecosystems. Advances in Marine Biology 34: 201-352.
- Kale S 2014. Gökçeada Sığ Sularında Bulunan Sparidae Ailesine Ait Genç Balık Türlerinin Dağılımlarının CBS İle Modellenmesi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 121 sy.
- Kale S, Altın A, Ayyıldız H, Özen Ö 2014a. Modeling the Spatial Distribution of Juvenile Striped Sea Bream *Lithognathus mormyrus* Linnaeus 1758 in Relation to Habitat Structure in the Shallow Waters of Gökçeada Using GIS. International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences: FABA 2014, 25 - 27 September 2014, Trabzon, pp. 126.
- Kale S, Altın A, Ayyıldız H, Özen Ö 2014b. Modeling the Spatial Distribution of Juvenile Annular Sea Bream *Diplodus annularis* Linnaeus 1758 in Relation to Habitat Structure in the Shallow Waters of Gökçeada Using GIS. International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences: FABA 2014, 25 - 27 September 2014, Trabzon, pp. 392.
- Kale S, Altın A, Ayyıldız H, Özen Ö 2015a. Spatial Distribution Modelling of Juvenile Common Pandora *Pagellus erythrinus* Linnaeus 1758 in Relation to Habitat in the Shallow Waters of

- Gökçeada Using GIS. 7th International Conference on Information and Communication Technologies in Agriculture, Food and Environment (HAICTA 2015), 17-20 September 2015, Kavala, pp. 672-680.
- Kale S, Altın A, Ayyıldız H, Özen Ö 2015b. Spatial Distribution and GIS Modelling of Juvenile Garfish *Belone belone* Linnaeus 1761 with Regard to Habitat in the Shallow Waters of Gökçeada Island (Northern Aegean Sea, Turkey). Turkish-Japanese Marine Forum-III International Workshop on Recent Developments in Marine & Environmental Sciences, Sustainable Utilization of Water Resources, 26 November 2015, Çanakkale. pp. 17.
- Kara ÖF, Erdem M, Aktas M 2000. Density Distribution of Exploited Demersal Fish Biomass in the Continental Shelf and Off-Shore of the Aegean Sea. Proceedings of the International Symposium "The Aegean Sea 2000", 5-7 May 2000, Bodrum, Muğla.
- Kelleher K 2005. Discards in the World's Marine Fisheries: An Update, FAO Fisheries Technical Paper, Rome (2005) pp: 122.
- Keskin Ç, Ordines F, Ates C, Moranta J, Massuti E 2014. Preliminary Evaluation of Landings and Discards of the Turkish Bottom Trawl Fishery in the Northeastern Aegean Sea (Eastern Mediterranean. Sci. Mar. 78(2): 213-225.
- Kınacıgil HT, Çıra E, İlkyaz AT 1999. Balıkçılıkta Hedeflenmeden Avlanan Türler Sorunu. Su Ürün. Derg 16(3-4): 437-444.
- Kınacıgil HT, Sever TM, Ceyhan T 2011. Sığacık Körfezi Dip Trol Avcılığında Hedef Dışı Türlerin Mevsimsel Dağılımı. TÜBİTAK Proje Sonuç Raporu (Proje No: 109Y214). Ankara.
- Kruskal, J.B., Wish, M., 1978. Multidimensional Scaling. Sage Publications, Beverly Hills, CA, 96 pp.
- Machias A, Giannoulaki M, Somarakis S, Siapatis A 2007. Small Pelagic Fish (State of Hellenic Fisheries. Hellenic Center for Marine Research Publications, Athens, Greece: Ed. Papaconstantinou C, Zenetos A, Vassilopoulou V, Tserpes G) 192-207.
- Malal S 2006. Mersin-Anamur Avlama Bölgesinde Dip Trol Ağı İle Avcılıkta Hedef Dışı ve Iskarta Av Oranlarının Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 49 sy.
- Manaşırılı M, Avşar D, Yeldan H 2008. Babadillimanı Koyu'ndaki (Silifke-Mersin) Derin Su Pembe Karidesinin (*Parapenaeus longirostris* Lucas, 1846) Derinlik Katmanlarına Göre Bulunurluğu. J FisheriesSciences.com 2(3): 524-535.
- Maravelias CD, Papaconstantinou C 2006. Geographic, Seasonal and Bathymetric Distribution of Demersal Fish Species in the Eastern Mediterranean. J Appl Ichthyol 22: 35-42.
- Monteiro P, Araujo A, Erzini K, Castro M 2001. Discards of the Algarve (Southern Portugal) Crustacean Trawl Fishery, Hydrobiologia 449: 267-277.
- Özbilgin H, Gökçe, G, Özbilgin Y, Eryaşar AR, Kalecik E, Bozaoğlu AS 2013. Mersin Körfezi Trol Balıkçılığında Tür ve Boy Seçiciliğini Arttırmaya Yönelik Araştırmalar. TÜBİTAK Proje Sonuç Raporu (Proje No: 109O684). Ankara.
- Özbilgin H, Metin G, Tosunoğlu Z, Tokaç A, Kaykaç H, Aydın C 2012. Seasonal Variation in the Trawl Codend Selectivity of Common Pandora (*Pagellus erythrinus*). J Appl Ichthyol 28(2): 194-199.
- Özbilgin H, Tokaç A, Kaykaç C 2012. Selectivity of Commercial Compared to Larger Mesh and Square Mesh Trawl Codends for Four Fish Species in the Aegean Sea. J Appl Ichthyol 28(1): 51-59.
- Özbilgin YD, Tosunoğlu Z, Özbilgin H 2006. By-catch in a 40 mm PE Demersal Trawl Codend, Turk J Vet Anim Sci 30: 179-185.
- Özbilgin H, Tosunoğlu Z, Tokaç A, Metin G 2011. Seasonal Variation in the Trawl Codend Selectivity of Red Mullet (*Mullus barbatus*). Turkish J Fish Aquat Sci 11(2): 191-198.
- Öztürk B 2009. Marine Protected Areas in the High Seas of the Aegean and Eastern Mediterranean Seas, Some Proposals. J. Black Sea/Medit. Environ 15: 69-82.
- Pérez Roda MA, Gilman E, Huntington T, Kennelly SJ, Suuronen P, Chaloupka M, Medley P 2019. A third assessment of global marine fisheries discards. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 633. Rome, FAO. 78 pp.
- Pethiakos G, Tsiaras K, Triantafyllou G, Kalaroni S, Pollani A 2014. Sensitivity of the N. Aegean Sea Ecosystem to Black Sea Water Inputs. Mediterr. Mar. Sci 15: 790-804.
- Saygu İ., Heymans JJ, Fox C, Özbilgin H, Bentley JW, Eryaşar AR, Gökçe G 2020. Community-Level Impacts of Trawl Selectivity in the Eastern Mediterranean Sea Assessed Using an Ecosystem Modelling Approach. ICES J Mar Sci 77(7-8): 2918-2932.
- Saila S 1983. Importance and Assessment of Discards in Commercial Fisheries. UN/FAO, Rome, Italy. FAO Circ. 765. 62 pp.
- Soykan O, Kınacıgil TH, Tosunoğlu Z 2006. Taşucu Körfezi (Doğu Akdeniz) Karides Trollerinde Hedefdışı Av. Su Ürün. Derg 23(1-2): 67-70.
- Stergiou KI, Christou ED, Georgopoulos D, Zenetos A, Souvermesoglou C 1997. Hellenic Seas: Physics, Chemistry, Biology and Fisheries. Oceanogr. Mar. Biol 35: 415-538.
- Stergiou KI, Economou A, Papaconstantinou C, Tsimenides N, Kavadas S 1998. Estimates of Discards in the Hellenic Commercial Trawl Fishery, Rapp. Comm. Int. Mer Medit., 35(2): 490-491.

- Stergiou KI, Machias A, Somarakis S, Kapantagakis A 2003. Can We Define Target Species in Mediterranean Trawl Fisheries? *Fish Res* 59: 431-435.
- Theocharis A, Balopoulos E, Kioroglou S, Kontoyiannis H, Iona A 1999. A synthesis of the circulation and hydrography of the South Aegean Sea and the Straits of the Cretan Arc (March 1994–January 1995). *Prog Oceanogr* 44: 469–509.
- Tosunoğlu Z, Akyol O, Dereli H, Yapıcı S 2009. Sığacık Körfezi'nde Dip Trol Ağları ile Yakalanan Derin Su Pembe Karidesi (*Parapenaeus longirostris* Lucas, 1846)'nin Bazı Biyolojik ve Populasyon Özelliklerinin Araştırılması. TÜBİTAK Proje Sonuç Raporu (Proje No: 108Y102). Ankara.
- Weissenberger J 2014. Fisheries: Why Technical Measures Matter. In-Depth Analysis. Brussels, European Union: European Parliamentary Research Service.
- Whitehead P, Bauchot M, Hureau J, Nielsen J, Tortonese E 1986. Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean. Volumes I, II, and III. Paris, France: UNESCO.
- Zeller D, Cashion T, Palomares M, Pauly D 2018. Global Marine Fisheries Discards: A Synthesis of Reconstructed Data. *Fish Fish* 19: 30-39.

Bingöl İlinde Halk Elinde Yetiştirilen Akkaraman ırkı Kuzuların Büyüme Performansının İncelenmesi

Mehmet Ali KUTLU¹, Şenol ÇELİK², Erdal KAYGUSUZUĞLU³

¹ Bingöl Üniversitesi Gıda Tarım ve Hayvancılık Meslek Yüksekokulu Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Bingöl, ²Bingöl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı, Bingöl, ³Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Bilimler Bölümü Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Bingöl

¹<https://orcid.org/0000-0003-0862-9690>, ²<https://orcid.org/0000-0001-5894-8986>, ³<https://orcid.org/0000-0003-3912-0977>

✉: makutlu@bingol.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada Bingöl'de yetiştirilen Akkaraman ırkı kuzuların altıncı ay canlı ağırlığına (AW) ve sütten kesim ağırlığına (WW) yaş, cinsiyet ve doğum tipi gibi faktörlerin etkisi ile doğum ağırlığı (BW) üzerinde yaş ve cinsiyetin etkileri araştırılmıştır. Faktöriyel ANOVA testi sonucunda, AW değişkeni yaş, cinsiyet ve doğum tipi ($p<0.001$) ve yaş*cinsiyet*doğum tipi interaksiyonuna göre önemli farklılık göstermiştir ($p<0.05$). İnteraksiyon önemli olduğundan interaksiyona göre Tukey karşılaştırma testi yapılmış, tek ve dişi kuzularda 6. aylık yaştaki canlı ağırlıkları arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0.05$). WW değişkeni doğum tipi ve cinsiyete göre, BW değişkeni ise doğum tipi, cinsiyet ve doğum tipi*cinsiyet interaksiyonuna göre önemli farklılık göstermiştir ($p<0.001$). Vücut ağırlığına etkiyi araştıran çoklu regresyon modelinde sütten kesim ağırlığı, doğum ağırlığı, doğum tipi, cinsiyet ve yaşın etkileri önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Kuzularda büyüme döneminde doğum ağırlığı, sütten kesim ağırlığı, yaş, cinsiyet ve doğum tipinden etkilenmesi nedeniyle damızlık seçiminde kriter olarak ele alınmasının araştırmacılar ve yetiştiriciler için faydalı olacağı düşünülmektedir.

Biyometri

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 18.10.2021

Kabul Tarihi : 31.12.2021

Anahtar Kelimeler

Koyun

Vücut ağırlığı

Sütten kesim ağırlığı

Doğum tipi

Bingöl

Investigation of Growth Performance of Akkaraman Lambs Raised by Public in Bingöl Province

ABSTRACT

In this study, the effects of age, sex and birth type on the sixth month actual weight (AW) and weaning weight (WW) of Akkaraman lambs raised in Bingöl and the effects of age and gender on birth weight (BW) were investigated. As a result of the factorial ANOVA test, the AW variable differed significantly by age, gender and birth type ($p<0.001$) and age*sex*delivery type interaction ($p<0.05$). Since the interaction is important, the Tukey comparison test was performed according to the interaction, and the difference between the 6-month-old actual weights of single and female lambs was found to be significant ($p<0.05$). WW variable differed significantly according to birth type and gender, BW variable according to birth type, sex and birth type*gender interaction ($p<0.001$). In the multiple regression model investigating the effect on body weight, the effects of weaning weight, birth weight, birth type, gender and age were found to be significant ($p<0.001$). It is thought that it will be beneficial for researchers and breeders to consider it as a criterion in the selection of breeders, since it is affected by actual weight, birth weight, weaning weight, age, sex and birth type during the growth period of lambs.

Biometry

Research Article

Article History

Received : 18.10.2021

Accepted : 31.12.2021

Keywords

Sheep

Body weight

Weaning weight

Birth type

Bingöl

Atıf Şekli: Kutlu MA, Çelik Ş, Kaygusuzoğlu E 2022. Bingöl İlinde Halk Elinde Yetiştirilen Akkaraman ırkı Kuzuların Büyüme Performansının İncelenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1502-1509. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1011360>

To Cite : Kutlu MA, Çelik Ş, Kaygusuzoğlu E 2022. Investigation of Growth Performance of Akkaraman Lambs Raised by Public in Bingöl Province. KSU J. Agric Nat 25 (6): 1502-1509. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1011360>

GİRİŞ

Koyun yetiştiriciliğinde kuzu eti üretimi ve et kalitesinin iyileştirilmesi önemlidir. Bu amaçla çevresel koşullara uyum kabiliyeti yüksek ve üstün verim özelliklerine sahip genotiplerin geliştirilmesi gerekmektedir (Akçapınar, 2000; Sönmez ve ark., 2009).

Akkaraman koyunu, yerli ırklar içinde iri yapılı olmaktadır. Vücut dar ve uzundur. Sırt hattı düzdür, bazılarında hafif bir çukurluk görülebilir. Baş uzun ve dar, yüz çıplak ve boyun uzundur (TAGEM, 2009). Türkiye'de koyun varlığının yaklaşık %44'ü Akkaraman koyunlardan oluşmaktadır. Eskişehir ve Kütahya bölgelerinden başlayarak Sivas'a kadar, ayrıca Orta Anadolu bölgelerinde yetiştirilmektedir (Soysal ve Soysal, 2004).

Canlının doğumundan belirli yaşa ulaşıncaya kadar hayatta kalabilme kabiliyeti olarak tanımlanan yaşama gücü, çevre koşullarına uyumun önemli bir göstergesidir. Ayrıca kuzuların sütten kesimde yaşama gücü, en önemli döl verim kriterlerinden biridir. Yaşama gücü; genotip, cinsiyet, doğum tipi, doğum ağırlığı, doğum yılı, doğum mevsimi, ana yaşı, bakım-besleme gibi çeşitli faktörlerin etkisi altındadır (Özbeç ve ark., 2000; Demirel ve ark., 2004; Gürsoy, 2005).

Canlı ağırlık, bir hayvanın vücut büyüklüğü kadar vücut kondisyonuna da bağlı olup, vücut kondisyon skoru (VKS) bir koyunda enerji rezervlerinin belirlenmesinde canlı ağırlıktan daha fazla belirleyici olabilmektedir. Bu durum, (Sanson ve ark., 1993) tarafından ergin koyunlarda ortaya konulurken, Borg ve ark., (2009) ise canlı ağırlık ve VKS ile gebelik esnasındaki canlı ağırlık gelişiminin kuzulama ve sütten kesim sonuçları arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Hayvanlarda canlı ağırlık ve vücut ölçülerinin tespiti, gerek damızlık seçiminde gerekse melezleme çalışmalarında elde edilen yeni genotipin vücut yapısı ve büyüklüğü hakkında fikir vermesi bakımından önemlidir (Akçapınar, 2000).

Koyun eti tüketiminin diğer hayvan etlerine oranla daha fazla tercih edildiği Türkiye'de yetiştirilen yerli koyun ırklarımızın yetiştirici koşullarında verim özellikleri bakımından tanımlanması ile birlikte tarımsal alt yapı özellikleri de dikkate alınarak bir takım ıslah stratejileri geliştirilmelidir. Bu amaçla koyun ırklarının tanımlanmasına ve verim özelliklerinin yöre koşulları dikkate alınarak arttırılmasına yönelik çalışmaların sürdürülmesi gerekmektedir (Karaca ve ark., 1996).

Bu çalışmada Akkaraman koyunlarında cinsiyet, doğum tipi ve ana yaşının kuzuların altıncı aya kadar büyüme performansına etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Bu Araştırma Bingöl ilinin Solhan ilçesindeki koyunculuk işletmelerinde 2020 yılında gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın hayvan materyali TAGEM tarafından desteklenen (TAGEM/12AKK2012-01) Bingöl ilinde uygulanmakta olan Akkaraman koyununun halk elinde ıslahı projesi kapsamında koyunlarda yaş, cinsiyet ve doğum tipine göre canlı ağırlık ve sütten kesim ağırlığı incelenmiştir. Çalışma materyalini farklı yaşlarda 6000 Akkaraman koyun, 300 Akkarama koç ve 5727 Akkaraman kuzu kullanılmıştır. Mera otlatması ile birlikte günlük yonca samanı ve hayvan başına 400-1000 gr arpa kırması ile hayvanlara ek beslenme yapılmıştır.

Kuzuların doğum ağırlığı doğduktan sonra 12 saat içinde 10 grama hassas terazi ile tartılarak alınmıştır. Doğan kuzuların doğum tarihi, ana numarası, doğum tipi, cinsiyeti belirlenerek kayıt altına alınmıştır. Sütten kesim ağırlığı ortalama 60 günlük yaşta ve 6. ay canlı ağırlığı ise ortalama 180 günlük yaşta tartılarak elde edilmiştir.

İstatistik Analizler

Varyans analizi kullanılması gerekli olan bir modelde bir bağımlı değişken ile iki veya ikiden daha fazla bağımsız değişken varsa bu analiz faktöriyel ismini alır (Howell, 2016). Faktöriyel ANOVA iki veya daha fazla bağımlı değişken ile bir bağımsız değişken olduğu durumlarda kullanılmaktadır. Bu test hem temel etki hem de ortak etkinin anlamlı olup olmadığını göstermektedir. Ayrıca bu test aracılığıyla bağımsız değişkenin bağımlı değişken üzerinde ne kadar etkili olduğunu gösteren Kısmi Eta kare (η^2) değeri de belirlenebilir (Karagöz, 2019). Faktöriyel ANOVA modelinde faktörlerin interaksiyonlarının da bağımlı değişken üzerindeki etkisi de incelenebilmektedir (Akbulut, 2010; Howell, 2016).

Akkaraman kuzularda vücut ağırlığına olan yaş, cinsiyet ve doğum tipinin etkisi için tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme tertibi uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan 3 faktörlü faktöriyel denemenin matematik modeli aşağıdaki gibidir.

$$Y_{ijk} = \mu + cinsiyet_i + tip_j + yaş_k + cinsiyet\ tip_{ij} + cinsiyet\ yaş_{ik} + tip\ yaş_{jk} + cinsiyet\ tip\ yaş_{ijk} + \epsilon_{ijkl}$$

Burada,

Y_{ijk} : Cinsiyet faktörünün i. seviyesi, doğum tipi faktörünün j. seviyesi, yaş faktörünün k. seviyesindeki l'nci deney ünitesine ait gözlem değeri,

μ : Genel popülasyon ortalaması,

$cinsiyet_i$: Cinsiyet faktörünün i. seviyesi etkisi (i=1,2)

tip_j : Doğum tipi faktörünün j. seviyesi etkisi (i=1,2)

$yaş_k$: Yaş faktörünün k. seviyesi etkisi (k=1,2,3) (6).

aya kadar canlı ağırlık için)

$c_{insiyet\ tip_{ij}}$: Cinsiyet ve doğum tipinin birlikte etkisi (interaksiyonu),

$c_{insiyet\ yaş_{ik}}$: Cinsiyet ve yaş interaksiyon etkisi,

$tip\ yaş_{jk}$: Doğum tipi ve yaş interaksiyon etkisi,

$c_{insiyet\ tip\ yaş_{ijk}}$: Cinsiyet, doğum tipi ve yaş interaksiyonu,

ε_{ijkl} : Rasgele hata terimidir.

Burada interaksiyon etkisi veya esas etkiler anlamlı ise, çoklu karşılaştırma ile anlamlı farklılık gösteren alt gruplar belirlenir. Faktör kombinasyonlarının oluşturduğu alt gruplardaki denek sayıları eşit ise Tukey HSD, farklı ise Tukey-Kramer testi kullanılır (Oehlert, 2010; Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 2012; Efe ve ark., 2000).

Bu eşitliklerde, α : önemlilik düzeyi, k : grup sayısı ve sd : serbestlik derecesi olmak üzere, $q_{\alpha,k,sd}$ ifadesi Tukey tablo değerini, HKO hata kareler ortalamasını ve A ve B karşılaştırılacak gruplar olmak üzere n ise her bir grup için denek sayısını ifade etmektedir.

Çizelge 1. Akkaraman koyunlarında cinsiyet, doğum tipi ve yaşa göre vücut ağırlığı ve sütten kesim ağırlığına ait tanıttıcı istatistikler ve Tukey testi sonuçları

Table 1. Descriptive statistics of body weight and weaning weight according to sex, birth type and age and Tukey test results in Akkaraman sheep

Cinsiyet	Doğum Tipi	Ana Yaşı	n	Altıncı ay ağırlığı $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Sütten kesim ağırlığı $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$
Erkek	Tek	2	73	43.51±0.503 AB	33.29±0.248 A
		3	608	43.73±0.198 A	32.71±0.116 A
		>4	916	43.91±0.161 A	32.82±0.092 A
	İkiz	4	26	37.99±0.651 A	30.38±0.445 B
		5	283	39.76±0.201 A	30.97±0.135 B
		6	202	40.24±0.242 AB	30.91±0.153 B
Dişi	Tek	4	156	40.64±0.364 BC	30.77±0.186 A
		5	1149	40.56±0.133 C	31±0.081 A
		6	1006	41.81±0.147 AB	31.28±0.086 A
	İkiz	4	110	36.08±0.305 A	28.36±0.188 B
		5	475	36.61±0.154 A	28.81±0.101 B
		6	205	36.51±0.186 A	28.81±0.128 B

N: Hayvan sayısı, \bar{X} : Aritmetik ortalama, s : standart sapma, $s_{\bar{x}}$: Standart hata. Küçük harfler yaşlara göre farklılık, büyük harfler ise doğum tipi ve cinsiyete göre farklılıktır.

Çizelge 1 incelendiğinde Akkaraman kuzularda en yüksek vücut ağırlığı ortalama olarak 43.91 kg ile tek doğan 6. aylık erkek kuzulardır. Tek doğanlar ikiz doğanlardan ve erkekler dişilerden daha fazla vücut ağırlığına sahiptir. Genel olarak vücut ağırlığı erkek kuzularda 42.9 kg iken, dişilerde 39.9 kg'dır. Akkaraman kuzuların cinsiyet, doğum tipi ve yaşa göre sütten kesim ağırlığına ait bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir. Akkaraman koyunlarda sütten kesim ağırlığı ortalama olarak en yüksek (33.29 kg) tek doğan 4 yaşlı analardan doğan hayvanlarda görülmüştür. Genel olarak sütten kesim ağırlığı ortalama erkeklerde 32.3 kg, dişilerde 30.5 kg'dır.

Regresyon analizi, aralarında sebep-sonuç bağlantısı bulunan bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkinin modelini saptamakta ve bu model kullanılarak gelecekle ilgili tahminler yapılmasına olanak sağlanmaktadır.

Birden fazla bağımsız değişken kullanılarak yapılan regresyon analizine çoklu regresyon analizi denir (Takma ve ark., 2012).

Çoklu doğrusal regresyon modeli,

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_kX_k + \varepsilon_i$$

şekindedir (Montgomery, 2001; Ünver ve ark., 2011). Burada b_0 sabit terim, b_1, b_2, \dots, b_k ise regresyon katsayıları ve ε_i ise ortalaması sıfır ve varyansı σ^2 olan normal dağılıma sahip hata değişkenidir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Akkaraman koyunlarında cinsiyet, doğum tipi ve yaşa göre vücut ağırlığına ait bilgiler Çizelge 1'de sunulmuştur.

Akkaraman kuzularında cinsiyet ve doğum tipine göre doğum ağırlığına ait bilgiler Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2'de ulaşılan sonuçlara göre, ortalama doğum ağırlığı erkeklerde tek doğanlarda 3.52 kg ve ikiz doğanlarda 2.85 kg olurken, dişilerde ise tek doğanlarda 3.19 kg ve ikiz doğanlarda 2.71 kg'dır. Erkek ve tek doğanların doğum ağırlığı daha fazladır. Genel olarak doğum ağırlığı erkeklerde 3.36 kg, dişilerde 3.07 kg'dır. Doğum tipine (1: tek ve 2: ikiz) göre erkek ve dişi Akkaraman koyunlarının doğum ağırlığı Şekil 1'de sunulmuştur.

Çizelge 2 Akkaraman koyunlarında cinsiyet ve doğum tipine göre doğum ağırlığına ait tanıtıcı istatistikler

Table 2 Descriptive statistics of birth weight according to sex and birth type in Akkaraman sheep

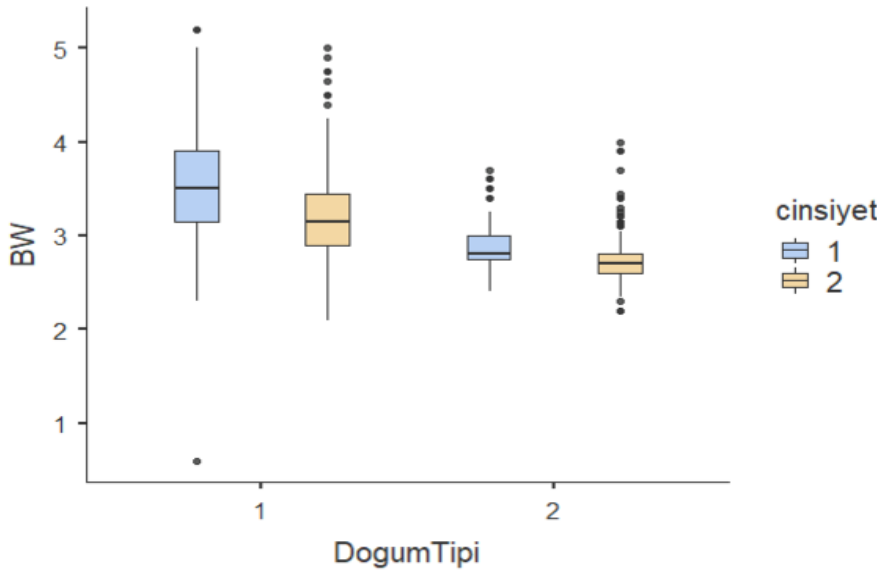
Cinsiyet	Tip	N	$\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	s
Erkek	Tek a	1597	3.52±0.013 a	0.506 aA
	İkiz b	511	2.85±0.008 b	0.182 aB
Dişi	Tek a	2311	3.19±0.008 a	0.404 bA
	İkiz b	790	2.71±0.007 b	0.185 bB

Küçük harfler doğum tipi ve cinsiyete göre farklılık, büyük harfler ise doğum tipi*cinsiyet interaksiyonuna göre farklılıktır.

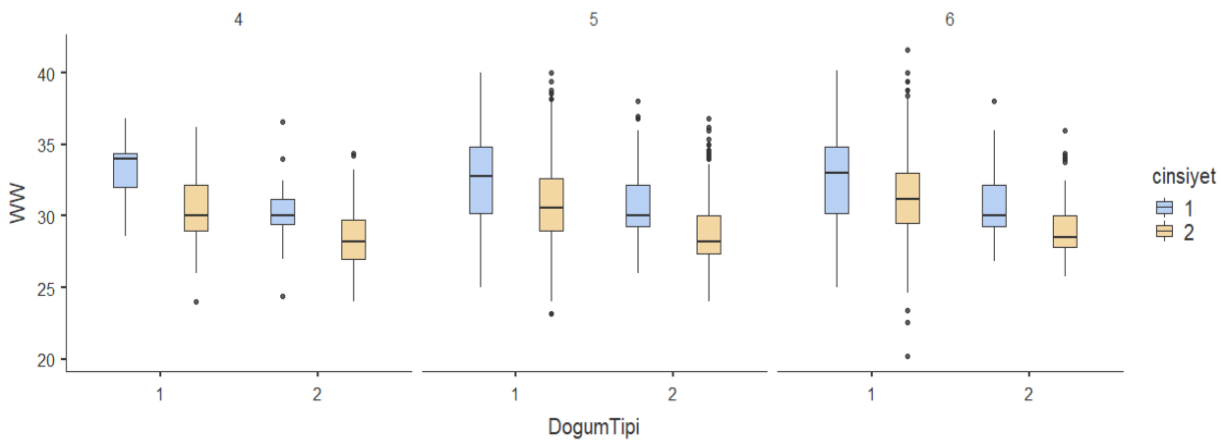
Doğum tipine göre farklı yaşlarda ve cinsiyette Akkaraman kuzularının sütten kesim ağırlıklarını içeren grafikler Şekil 2'de verilmiştir.

Doğum tipine göre farklı ana yaşlarında ve cinsiyette Akkaraman kuzularının yetişkin vücut ağırlıklarını gösteren grafikler Şekil 3'te verilmiştir.

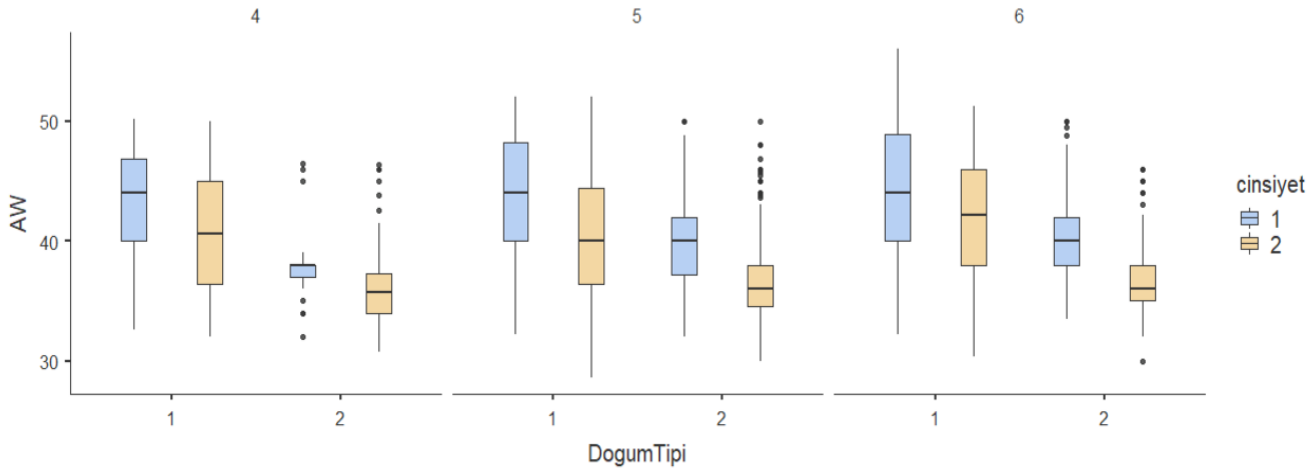
Hem altıncı ay vücut ağırlığına hem de sütten kesim ağırlığına yaş, doğum tipi ve cinsiyetin ayrı ayrı etkileri ile yaş*doğum tipi, yaş*cinsiyet, doğum tipi*cinsiyet, yaş*doğum tipi*cinsiyet interaksiyonlarının (3'lü interaksiyon) etkisi araştırıldı. Yaşlar 2, 3 ve 4 olmak üzere 3 seviyede, cinsiyet erkek ve dişiden oluşan 2 seviyede ve doğum tipi ise tek ve ikiz olmak üzere 2 seviyeden oluşmaktadır. Böylece 3*2*2'lik bir 3 faktörlü olan faktöriyel deneme planı (faktöriyel ANOVA) uygulanmıştır. Doğum ağırlığına ise doğum tipi ve cinsiyetin etkisi araştırılmış olup, doğum tipi*cinsiyet interaksiyonu etkisi de incelendi. Burada 2 faktörlü olan 2*2'lik bir faktöriyel ANOVA testi yapılmıştır.



Şekil 1. Doğum tipine göre erkek ve dişi Akkaraman kuzularının doğum ağırlığı, 1: Erkek, 2: Dişi
Figure 1. Birth weight of male and female Akkaraman lambs by birth type, 1: Male, 2: Female



Şekil 2. Doğum tipine göre farklı yaşlarda erkek (1) ve dişi (2) Akkaraman kuzularının sütten kesim ağırlıkları, 1: Tek, 2: İkiz
Figure 2. Weaning weights of male (1) and female (2) Akkaraman lambs at different ages according to birth type, 1: Single, 2: Twin



Şekil 3. Doğum tipine göre farklı yaşlarda erkek (1) ve dişi (2) Akkaraman kuzularının altıncı ay vücut ağırlıkları, 1: Tek, 2: İkiz

Figure 3. Six month weights of male (1) and female (2) Akkaraman lambs at different dam ages according to birth type, 1: Single, 2: Twin

Vücut ağırlığı (AW) ve sütten kesim ağırlığı (WW) için Faktöriyel deneme planına ait 3 faktörlü varyans analizi uygulandı. Varyans analizi sonucunda hayvanlarda vücut ağırlığı üzerinde yaş, doğum tipi, cinsiyet ve yaş*Doğum Tipi*cinsiyet interaksiyonu istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.001$ ve $p<0.05$). Burada interaksiyon önemli çıktığından interaksiyona göre çoklu karşılaştırma testlerinden olan Tukey testi uygulanmıştır (Çizelge 1). Tukey testi sonucunda; tek ve erkek hayvanların yaşlara göre vücut ağırlıkları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). En yüksek vücut ağırlığı 4 yaşlı koyunlarda görülmüştür. Tek ve dişi kuzularda da yaşlara göre vücut ağırlıkları önemli farklılık göstermiştir ($p<0.05$). Bu farklılık 3 ve 4 yaşında

anaların dişi kuzular arasında görülmüştür. Yaş, doğum tipi ve cinsiyete ait etki büyüklükleri (η^2 =kısmi eta kare) sırasıyla 0.003, 0.074 ve 0.029 bulunmuştur. Yaş*doğum tipi, yaş*cinsiyet, doğum tipi*cinsiyet ve yaş* doğum tipi*cinsiyet interaksiyonlarına ait η^2 değerleri sırasıyla 0.001, 0.0001, 0.0001 ve 0.002 bulunmuştur. Hayvanlarda sütten kesim ağırlığı üzerinde doğum tipi ve cinsiyet istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Bu değişkenlerin etkileri ise sırasıyla $\eta^2=0.054$ ve $\eta^2=0.042$ olmuştur. Doğum tipi ve cinsiyete göre ise farklılık incelendiğinde erkekler dişilerden, tek doğanlar ise ikiz doğanlardan daha fazla sütten kesim ağırlığına sahiptir (Çizelge 1).

Çizelge 3. Doğum ağırlığını etkileyen faktörler için faktöriyel varyans analizi sonuçları

Table 3. Results of factorial variance analysis for factors affecting birth weight

Varyasyon kaynağı	sd	KT	KO	F	p
D. tipi	1	307.2	307.2	1927.48	0.001
Cinsiyet	1	52.15	52.15	327.22	0.001
D. tipi*cinsiyet	1	8.93	8.93	56.05	0.001
Hata	5205	829.57	0.16		
Genel	5208	1244.57			

Çizelge 3'te verilen varyans analizi sonuçlarına göre koyunların doğum ağırlığına doğum tipi ve cinsiyetin etkisi istatistik olarak önemli olmuştur ($p<0.001$). Ayrıca doğum tipi*cinsiyet interaksiyon etkisi de önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Doğum tipi, cinsiyet ve doğum tipi*cinsiyet interaksiyon etkileri sırasıyla $\eta^2=0.256$, $\eta^2=0.044$ ve $\eta^2=0.007$ olmuştur. Çizelge 2'de ise gerek tek doğanlarda gerekse ikiz doğanlarda erkeklerin dişilerden daha yüksek doğum ağırlığına sahip oldukları görülmüştür.

Akkaraman kuzularda vücut ağırlığını etkileyen

faktörlerin regresyon analizi yapılmıştır. bağımlı değişken vücut ağırlığı (AW), bağımsız değişkenler ise doğum ağırlığı (BW), sütten kesim ağırlığı (WW), yaş, cinsiyet ve doğum tipidir. Çoklu regresyon analizi uygulamasında cinsiyet ve doğum tipi değişkenleri kategorik değişkenler olup, diğer değişkenler ise sayısal değişkenlerdir. Analiz aşamasında cinsiyet değişkeninde erkek 1 ve dişi 0, doğum tipinde ise tek 1 ve ikiz 0 olarak kodlanmıştır. Çoklu regresyon analizi sonuçları Çizelge 4'te sunulmuştur.

Çizelge 4. Çoklu regresyon analizi sonuçları

Table 4. Multiple regression analysis results

Değişkenler	Katsayı	Std. hata	t	p	VIF
Sabit	3.65	0.721	5.06	0.001	
BW	0.664	0.121	5.49	0.001	1.5
WW	1.016	0.019	54.96	0.001	2.252
Yaş	0.374	0.081	4.62	0.001	1.058
Cinsiyet	0.776	0.109	7.10	0.001	1.238
Doğum tipi	1.693	0.135	12.50	0.001	1.477

R²=0.516, DW=1.763 : VIF: Varyans Büyütme Faktörü

Çizelge 4'te belirtilen regresyon analizi neticesinde tüm parametre katsayıları istatistiksel olarak önemlidir (p<0.001). Çoklu regresyon modeline ait Durbin-Watson katsayısı 1.763 olduğundan otokorelasyon sorunu bulunmamaktadır. Modelin çoklu bağlantılılık durumu incelendiğinde bağımsız değişkenlere ait varyans büyütme faktörü (VIF) değerleri sırasıyla 1.5, 2.252, 1.058, 1.238 ve 1.477'dir. Tüm değerler 10'dan küçük olduğundan çoklu bağlantılılık sorunu da yoktur. Belirleme katsayısı (R²=0.516) bulunmuştur. Bu sonuç çoklu regresyon modelinde gözlenen değişkenliğin % 51.6'sının bağımsız değişkenler tarafından açıklandığı anlamındadır.

Modelin genel anlamlılığı için varyans analizi yani F testi sonuçları Çizelge 5'de sunulmuştur. Varyans

analizi sonucunda çoklu regresyon modelinin genel anlamlılığının uygun olduğu görülmüştür (F=1108.01 ve p<0.001). Dolayısıyla çoklu regresyon modeli koyunlarda vücut ağırlığını (AW) açıklamak için uygundur. Çoklu regresyon modeli aşağıdaki denklem ile ifade edilebilir.

$AW = 3.65 + 0.664 BW + 1.02 WW + 0.374 \text{ yaş} + 0.776 \text{ cinsiyet} + 1.69 \text{ tip}$

Bu denklemde tüm değişkenlerin katsayıları pozitiftir. Vücut ağırlığına en büyük pozitif etki doğum tipi değişkenidir. Tek doğanların vücut ağırlığına etkisi ikiz doğanların 1.69 katıdır. Sütten kesim ağırlığı (WW) ise vücut ağırlığına en fazla pozitif etki yapan ikinci değişkendir. WW'de bir kg'lık artış AW'de 1.02 kg artışa neden olur.

Çizelge 5. Çoklu regresyon modelinin varyans analizi tablosu

Table 5. Analysis of variance table of multiple regression model

Kaynak	sd	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F	p
Regresyon	5	67132	13426	1108.01	0.001
Hata	5203	63048	12		
Toplam	5209	130180			

Bu çalışmada Akkaraman koyunlarında hesaplanan doğum ağırlığı değerleri (erkek 3.36 kg, dişi 3.07 kg); Yıldız ve Denk (2006)'in aynı ırk için bildirdiği ortalama doğum ağırlığı (erkek 3.77 kg ve dişi 3.86 kg), Kandemir ve ark. (2013)'ün Menemen ve Ile de France x Akkaraman melezi kuzularda ortalama doğum ağırlığı (3.98 ve 4.15 kg), Şireli ve Ertuğrul (2005)'in GD1x GD1 (Dorset Down x Akkaraman) ve Akkaraman x GD1 Genotipli kuzularda ortalama doğum ağırlığı (5 ve 4.63 kg) değerlerinden düşük iken, Altın ve ark. (2003)'ün Kıvırcık, Sakız x Kıvırcık ve Kıvırcık x Karya melezi için bildirdiği ortalama doğum ağırlığı (erkek 2.91 ve dişi 2.82 kg) değerlerinden yüksek bulunmuştur.

Bu çalışmada Akkaraman koyunlarında tespit edilen ortalama 6. ay canlı ağırlık değerleri (erkek 42.9 kg ve dişi 39.9 kg); Erol ve ark. (2017)'nin Lalahan koyunları için tespit ettiği ortalama vücut ağırlığı (52.29 kg) ve Ünal ve ark. (2004)'ünün bildirdiği Kıvırcık x Akkaraman F1, F2 ve G1 melezlerinde belirlenen (50.2 - 54.9 kg) değerlerinden düşük, Altın ve ark. (2003)'ün Kıvırcık, 117 günlük Sakız x Kıvırcık ve Kıvırcık x Karya melezi için bildirdiği

ortalama vücut ağırlığı (erkek 20.89 ve dişi 19.24 kg) değerlerinden yüksek bulunmuştur.

Bu çalışmada Akkaraman koyunlarında belirlenen ortalama sütten kesim ağırlığı değerleri (erkek 32.3 kg ve dişi 30.5 kg); Kandemir ve ark. (2013)'ün Menemen ve Ile de France x Akkaraman melezi koyunlarda tespit ettiği ortalama sütten kesim ağırlığı (26.36 ve 30.16 kg), Koyuncu ve ark. (2018)'in kıvırcık koyunlarda hesapladığı ortalama sütten kesim ağırlığı (23.6 kg) değerlerinden yüksek bulunurken, Ünal ve ark. (2004)'ünün bildirdiği Kıvırcık x Akkaraman F1, F2 ve G1 melezlerinde belirlenen (50.2-54.9 kg) değerlerinden düşük bulunmuştur.

Tespit edilen ölçüm değerleri arasındaki farklılıklar bölge şartları, iklim, ırk ve besleme farklılıklarından kaynaklanabilir. Bir başka çalışmada Akkaraman, İvesi ve İvesi x Akkaraman Melezi (F1 x IG1) koyunlarında yaş, genotip ve cinsiyetin kesim sonu canlı ağırlık üzerinde etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Elibol ve Dağ, 2004). Ceyhan ve ark. (2019)'nin çalışmasında Niğde ilinde 6000 baş Akkaraman koyunu ile 30162 baş kuzunun büyüme

performansları araştırılmış, Akkaraman kuzularının ortalama doğum ağırlığı 4.23 kg, 90. gün canlı ağırlık ortalaması 23.05 kg saptanmıştır. Türkmen ve Çak (2021)'in çalışmasında Çaldıran'da yetiştirilen Akkaraman koyunlarının ortalama doğum ağırlığı 4.29 kg, 90. gün ortalama canlı ağırlığı ise 19.69 kg saptanmıştır. Bu araştırmalarda saptanan doğum ağırlığı bu çalışmada elde edilen değreden daha yüksektir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan çalışmada Akkaraman kuzularda vücut ağırlığı üzerinde yaş, doğum tipi, cinsiyet ve yaş*doğum tipi*cinsiyet interaksiyonunun etkileri önemli bulunmuştur. Sütten kesim ağırlığı hayvanların yaşına göre önemli farklılık göstermezken, doğum tipi ve cinsiyete göre önemli farklılık göstermiştir. Doğum ağırlığı doğum tipi, cinsiyet ve doğum tipi ile cinsiyet interaksiyonu bakımından önemli farklılık göstermiştir. Erkekler dişilerden, tek doğanlar da ikiz doğanlardan daha yüksek doğum ağırlığına sahiptirler. Çoklu regresyon modeli ile vücut ağırlığı tahmininde, sütten kesim ağırlığı (WW), doğum ağırlığı (BW), yaş, doğum tipi ve cinsiyetin etkileri önemli olup, hepsi pozitif etki yapmıştır. Vücut ağırlığını en fazla etkileme sıralaması doğum tipi>WW>cinsiyet>BW>yaş şeklinde olmuştur. Tek doğanların vücut ağırlığına etkisi ikiz doğanların yaptığı etkinin 1.69 katıdır. Yaş bir birim (1 ay) ilerledikçe vücut ağırlığı 0.374 kg (374 g) artmaktadır. Bu çalışmanın ileride aynı bölgede çeşitli ırklardaki koyunlarda yapılacak yeni bir çalışmaya ve hayvan yetiştiriciliği yapanlara damızlık seçimi ve ırk tercihi gibi konularda rehber olacağı umulmaktadır.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın finansörlüğünü sağlayan Tarım ve Orman Bakanlığı(tarımsal araştırmalar ve Politikalar genel Müdürlüğü)'na, çalışmanın yapılması aşamasında gerekli izni veren ve çalışma ortamını sağlayan üreticilerimize, çalışmamızın her aşamasında gerekli desteğini esirgemeyen Bingöl ili Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri birlik başkanı Ali KAYSADU ve proje teknik elemanlarına teşekkür ederiz.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Akbulut Y 2010. Sosyal bilimlerde SPSS uygulamaları: Sık kullanılan istatistiksel analizler ve açıklamalı SPSS çözümleri. İstanbul: İdeal Kültür Yayıncılık.
- Akçapınar, H 2000. Koyun Yetiştiriciliği, Yenilenmiş 2. Baskı. İsmat Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara
- Altın T, Karaca O, Cemal İ 2003. Sütten Kesim Yaşının Koyunlarda Süt Verimi ve Kuzularda Büyüme Üzerine Etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 13(2):103-111
- Borg RC, Notter DR, Kott RW 2009. Phenotypic and Genetic Associations between Lamb Growth Traits and Adult Ewe Body Weights in Western Range Sheep. Journal of Animal Science, 87:3506-3514
- Ceyhan A, Şekeroğlu A, Duman M 2019. Niğde İlinde Yetiştirilen Akkaraman ırkı koyunların bazı döl verim özellikleri ve kuzuların büyüme performansı. Türk Tarım –Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 7(10):1509-1514
- Demirel M, Kurbal ÖF, Aygün T, Erdoğan S, Bakıcı Y, Yılmaz A 2004. Effects of different feeding levels during mating period on there productive performance of Norduz ewes and growth and survival rate of their lambs. International Journal of Biological Sciences, 4(3):283-287
- Efe E, Bek Y, Şahin M 2000. Faktöriyel Düzenlenmiş Denemeler. SPSS'te Çözümleri ile İstatistik Yöntemler II, T.C. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörlüğü Yayın No:10, Kahramanmaraş, p.87-100
- Elibol M, Dağ B 2004. Ereğli Koyunculuk Üretme İstasyonu'nda yetiştirilen Akkaraman, İvesi ve İvesi X Akkaraman Melezi (F1 X IG1) koyunlarında kırkım sonu canlı ağırlık ve bazı yapıları verim özelliklerini etkileyen faktörlerin parametrelerinin tahmini. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 18(34):1-10
- Gürsoy O 2005. Small Ruminant Breeds of Turkey. In: Iniguez L (Editor). Characterization of Small Ruminant Breeds in West Asia and North Africa Volume 1 West Asia. ICARDA, ISBN 92-9127-164-9
- Howell, DC 2016. Fundamental statistics for the behavioral sciences. Boston: Nelson Education.
- Kandemir Ç, Koşum N, Taşkın T, Kaymakçı M, Olgun FA, Çakır E 2013. Menemen ve İle De France X Akkaraman Melezi Koyunların Üreme Performansı Üzerinde Vücut Kondisyon Puanlamasının Etkisi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 10(1):72-82
- Karaca O, Altın T, Aygün T, Bingöl M, Demirel M 1996. Karakaş kuzularında kan glikoz düzeylerinin büyüme dönemine göre değişimi Y. Yıl Zir. Fak. Dergisi. 6(3):155-168

- Karagöz Y 2019. SPSS, AMOS, META Uygulamalı İstatistiksel Analizler. Nobel Akademik Yayıncılık
- Koyuncu M, Öziş Altınçekiç Ş, Duru S, Duymaz Y, Karaca M 2018. Kuzuların Gelişimi Üzerine Koyunların Doğum Dönemindeki Vücut Kondisyonu ve Canlı Ağırlığın Etkisi. KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi, 21(6):916-925, DOI:10.18016/ksutarimdogava.vi.420321
- Montgomery DC, Peck EA, Vining GG 2001. Introduction to Linear Regression Analysis, 3rd Edition, John Wiley and Sons, New York.
- Oehlert GW 2010. Factorial Treatment Structure, A First Course in Design and Analysis of Experiments. W. H. Freeman and Company, New York, 165-202
- Özbey O, Esen F, Aysöndü MH 2000. Kıvırcık x (Sakız x Morkaraman) F₁ ve Sakız x (Kıvırcık x Morkaraman) F₁ melez kuzularda verim özellikleri. I. Büyüme, yaşama gücü ve vücut ölçüleri. YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi, 11(2):27-33.
- Sanson DW, West TR, Tatman WR, Riley ML, Judkins MB, Moss GE 1993. Relationship of Body Composition of Mature Ewes with Condition Score and Body Weight. Journal of Animal Science, 71:1112-1126.
- Soysal Sİ, Soysal Mİ 2004. Koyunculuk, Besleme, Bakım, Sağlık Yönetimi. Hasad Yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul
- Sönmez R, Kaymakçı M, Eliçin A, Tuncel E, Wassmuth R, Taşkın T 2009. Türkiye koyun ıslahı çalışmaları. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 23(2):43-65
- Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V 2012. İki Yönlü Varyans Analizi. Biyoistatistik, Ankara: Hatiboğlu Yayınları, Ankara, 87-102
- Şireli HD, Ertuğrul M 2005. Akkaraman, GD1xGD1 (Dorset Down x Akkaraman) ve Akkaraman x GD1 Genotipli Kuzularda Canlı Ağırlık ve Vücut Ölçülerinin Tekrarlanma Dereceleri. Tarım Bilimleri Dergisi, 11(1):1-6
- TAGEM 2009. Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları, Ankara. <https://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Katalog%20T%C3%BCrk%C3%A7e.pdf>, Erişim tarihi: 22.07.2021.
- Takma Ç, Atıl H, Akıllı A. 2012. Çoklu Doğrusal Regresyon ve Yapay Sinir Ağı Modellerinin Laktasyon Süt Verimlerine Uyum Yeteneklerinin Karşılaştırılması. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 18(6):941-944
- Türkmen C, Çak B 2021. Çaldıran'da Yetiştirilen Akkaraman koyunlarının bazı verim özelliklerinin araştırılması. Van Sağlık bilimleri Dergisi, 14(1):63-73
- Ünal N, Akçapınar H, Atasoy F, Koçak S, Aytaç M 2004. Akkaraman, Sakız x Akkaraman ve Kıvırcık x Akkaraman melezleri (F₁, G₁) ile Karayaka ve Bafra koyunlarda canlı ağırlık ve yapağı özellikleri. Lalahan Hayvansal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 44(2):15-22
- Ünver Ö, Gamgam H, Altunkaynak B 2011. SPSS Uygulamalı Temel İstatistik Yöntemler, Seçkin Yayıncılık, Ankara
- Yıldız N, Denk H 2006. Van Bölgesinde Halk Elinde Yetiştirilen Akkaraman Koyunların Çeşitli Verim Özelliklerinin Araştırılması II. Kirli Yapağı Verimleri, Lüle Uzunlukları, Beden Ölçüleri, Kuzuların Doğum Ağırlıkları ve Yaşama Güçleri. Fırat Üniversitesi Sağlık Bil. Dergisi, 20(1):29-37

Barn and Environmental Characteristics of Cattle Enterprises in Central County of Ağrı Province

Recep AYDIN¹, Abdulkerim DİLER², Veysel Fatih ÖZDEMİR³, Mete YANAR⁴, Rıdvan KOÇYİĞİT⁵,
Ahmet YILMAZ⁶

^{1,3,4,5,6}Department of Animal Science, College of Agriculture, Atatürk University, Erzurum, ²Department of Plant and Animal Sciences, Vocational School of Technical Sciences, Atatürk University, Erzurum

¹ <https://orcid.org/0000-0001-9319-9319>, ² <https://orcid.org/0000-0001-7958-6179>, ³ <https://orcid.org/0000-0003-3035-7695>

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5311-5675>, ⁵ <https://orcid.org/0000-0001-9979-0804>, ⁶ <https://orcid.org/0000-0002-6305-2858>

✉: rkocyyigit@atauni.edu.tr

ABSTRACT

In this study, a survey was conducted with 400 enterprise owners to determine the current situation and problems related to the structural characteristics of the barns in cattle enterprises located in the central county of Ağrı province. The data obtained were transferred into Microsoft Excel program. Frequency analysis was performed in SPSS statistical program. Findings were evaluated through graphs obtained from proportional values. It was determined that 66% of the enterprises had free-stall closed barns, the barns in 48.5% of the enterprises were used for less than 10 years and the barns were generally detached (98.5%). The building material for the walls of the barns was mostly stone (72.8%), and sheet metal (72.8%) was the most preferred material for the construction of the roof, and the floors were generally made of concrete (88.8%). The feed alley (15%) and automatic waterers (2.8%) are available in a small percentage of the barns. It was determined that 88% of the cattle farms have individual calf units, and calves in most enterprises are housed in separate group sections (87.5%) in the same barn. Only 15% of the enterprises used bedding and 85% did not have bedding material. The majority of the enterprises watered the animals with buckets (51.5%) and the village's fountain or trough (43.8%). It also found out that 62.3% of the enterprises implemented general cleaning and 99.3% cleaned the manure with human resources. Furthermore, 94.5% of the enterprises stored the manure near the barn without any cover. In addition, 72.5% of the cattle farms utilized manure for heating purposes, and 51% used it as fertilizer in their field. As a result of the findings, it was concluded that the information support and investment incentives to be given to the enterprises and the training of breeders could be helpful to ensure profitable livestock production in the region.

Animal Science

Research Article

Article History

Received : 30.08.2021

Accepted : 19.11.2021

Keywords

Cattle enterprises
Housing characteristics
Central county of Ağrı province
Bedding Material
Manure

Ağrı İli Merkez İlçesi Sığırcılık İşletmelerinin Barınak ve Çevre Özellikleri

ÖZET

Bu çalışmada Ağrı ili merkez ilçesinde bulunan büyükbaş hayvancılık işletmelerinde barınakların yapısal özellikleri ile ilgili mevcut durum ve sorunları belirlemek amacıyla 400 işletme sahibiyle anket yapılmış olup elde edilen veriler Microsoft Excel programına girilerek SPSS istatistik programında frekans analizine tabi tutulmuştur. Bulgular oransal değerlerden oluşturulan grafikler üzerinden değerlendirilmiştir. İşletmelerin %66'sının bağlı duraksız kapalı ahırlardan oluştuğu, %48.5'inin ahırlarını 10 yıldan daha az kullandıkları ve ahırların genellikle müstakil (%98.5) olduğu belirlenmiştir. Kullanılan ahırların duvarlarında yapı malzemesinin genellikle taş (%72.8) olduğu, çatısında çoğunlukla sac (%72.8) kullanıldığı ve ahırlarının tabanlarının "beton" (%88.8) olduğu tespit edilmiştir. Ahırlarda yemlik yolu (%15) ve otomatik sulukların

Zootekni

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 30.08.2021

Kabul Tarihi : 19.11.2021

Anahtar Kelimeler

Sığırcılık işletmeleri
Barınak özellikleri
Ağrı İli merkez ilçesi
Altlık materyal
Gübre

(%2.8) çok az işletmede mevcut olduğu tespit edilmiştir. İşletmelerin %88'inde ayrı buzağı bölmesi bulunduğu, çoğunluğunun aynı ahırda ayrı grup bölmesinde (%87.5) barındırıldığı tespit edilmiştir. İşletmelerin sadece %15'inin yataklık kullandığı, %85'inde yataklık materyal bulunmadığı saptanmıştır. İşletmelerin çoğunluğu hayvanların su ihtiyaçlarını kova ile (%51.5) ve köy çeşmesi-yalak (43.8%) ile sağladığı tespit edilmiştir. İşletmelerin %62.3'ünde genel temizlik yapıldığı, %99.3'ünün gübreyi insan gücü ile temizlediği, %94.5'inin gübreyi ahır yakınında biriktirdiği, %72.5'inin ise gübreyi yakarak ve %51'inin tarlada gübre olarak değerlendirdiği belirlenmiştir. Elde edilen bulgular neticesinde bölgedeki işletmelere verilecek bilgi desteği ve yatırım teşvikleri ile ayrıca yetiştirici eğitimleri yapılarak işletmelerin karlı bir hayvancılık yapabilmelerine olanak sağlanabileceği sonucuna varılmıştır.

- To Cite:** Aydın R, Diler A, Özdemir VF, Yanar M, Koçyiğit R, Yılmaz A 2023. Barn and Environmental Characteristics of Cattle Enterprises in Central County of Ağrı Province. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1510-1522. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.988517>.
- Atf şekli** Aydın R, Diler A, Özdemir VF, Yanar M, Koçyiğit R, Yılmaz A 2023. Ağrı İli Merkez İlçesi Sığırcılık İşletmelerinin Barnak ve Çevre Özellikleri. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (6): 1510-1522. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.988517>.

INTRODUCTION

Ağrı is one of the provinces in the TRA-2 Region. The ecological conditions and natural structure of TRA-2 Region (Ağrı, Kars, Iğdır, and Ardahan) is quite suitable for animal husbandry. Livestock production has strategic importance for the region, because it provides materials to many sectors and prevents migration from rural areas to big cities. TRA-2 region has an important place in Turkey in terms of cattle presence, the number of continental cattle breeds, and milk production (Yılmaz et al. 2014). The information obtained from the studies conducted in the province of Ağrı indicated that the economy and industry of the province of Ağrı depended largely on agriculture and livestock production (Çimen et al. 2006; Arıöz and Güner 2007; Erhan 2019).

There are 34301 livestock enterprises in the province of Ağrı, including 22915 cattle, 11122 sheep and goat, and 264 beekeeping enterprises. Regarding cattle number, Ağrı province ranks 3rd in its region and 11th in Turkey with 411183 head cattle. Approximately 2.26% of the cattle population in Turkey is reared in Ağrı province and 66.6% of the cattle presence in the province consists of pure continental breeds and their crossbreds (Anonim 2020).

The enterprises in which cattle breeding is performed in Turkey differ among regions and provinces, and counties in terms of structural characteristics.

Survey studies were conducted to examine the current structural characteristics of cattle farms to provide important information about Turkey's livestock production. For this purpose, various studies have been carried out to determine the status and problems of cattle enterprises located in different regions of Turkey (Kaygısız et al. 2008; Kaygısız and

Tümer 2009; Han and Bakır 2010; Şeker et al. 2012; Tilki et al. 2013; Koçyiğit et al. 2015; Güler et al. 2017; Kılıç and Eryılmaz 2020; Kaygısız and Özkan 2021) and other countries (Dou et al. 2001; Millogo et al. 2008; Vasseur et al. 2010; Sheppard et al. 2011; Costa et al. 2013; Klein-Jöbstl et al. 2015; Moges 2015).

In the studies conducted to determine the current situation of cattle farms and related problems in Turkey, it was demonstrated that the breeders were old, their level of education and knowledge about animal husbandry were low, their forage production was insufficient to meet the roughage needs of the animals in the enterprises. Furthermore, it was also revealed that the farmers were unconscious about care, feeding and housing of the animals. They did not pay attention to the hygiene rules in milking and milk storage, and they were insufficient in organization and marketing (Şahin et al. 2001; Koyubenbe 2005; Yılmaz 2005; Boz 2013).

This study was carried out to determine the current situation of the cattle enterprises regarding the structural characteristics, types of equipment used in the barn, and environment in the central county of Ağrı and reveal the problems related to them.

MATERIAL and METHODS

The survey study was carried out on the owners of randomly selected dairy cattle enterprises in the central county of Ağrı province, and the data obtained from the questionnaire constituted the material of the study. The enterprises were visited and the current situation was revealed through observation and survey questions.

Mathematical expressions can have many distinct aspects that must be evaluated by different solution

strategies (Hosseinpour et al. 2018). Since the variance is unknown as well as the population is limited and there are qualitative variables dependent on probability, the method whose formula is given below was utilized for the determination of the sample size of the research (Arıkan 2007).

$$n = \frac{N \cdot t^2 \cdot p \cdot q}{(N - 1) \cdot D^2 + t^2 \cdot p \cdot q}$$

In this formula;

n=Minimum number of necessary samples, N=Population size, D=Acceptable or desired sampling error (5%), t=Table value (t=1.96 for $\alpha=0.05$), p=The rate to be calculated (0.5), q=1-p.

$$n = \frac{5852 \cdot (1.96)^2 \cdot 0.5 \cdot (1 - 0.5)}{(5852 - 1) \cdot (0.05)^2 + (1.96)^2 \cdot 0.5 \cdot (1 - 0.5)} = 360.55$$

With the formula written above, the estimated sample size was calculated to be approximately 361. According to this result, the number of surveys was increased by 10.9% and the number of surveys to be conducted in the villages of the central county of Ağrı province was determined as 400. The survey was conducted using simple random sampling method. The data obtained from survey work were transferred to Excel 2010 computer program. The percentage values were obtained using frequency analysis in a descriptive statistical method available in the SPSS statistics program (SPSS 2004). Graphs were produced by using the proportional values and the results were interpreted.

RESULTS and DISCUSSION

Closed barns, which are quite common in the Eastern Anatolia region can be tie-stall or free-stall. In this study, it was determined that 66% of the barns in the central county of Ağrı province consist of free-stall barns and 32.8% of them are tie-stall barns, there is no free system barn in the county and the share of semi-open free-stall barns (1.3%) is quite low.

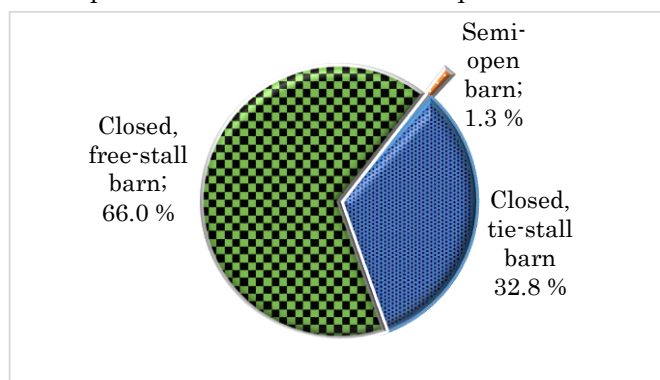


Figure 1. Type of barn
 Şekil 1. Ahır tipi

In many studies carried out in Turkey, it was reported that the percentage of free-stall barns is

higher than findings of the present study (Kaygısız and Tümer 2009; Uğurlu and Şahin 2010; Şeker et al. 2012; Tilki et al. 2013; Şahanoğlu and Koçak 2014). The percentage of tie-stalls barns in this study (32.8%) is similar to the studies conducted in other regions of Turkey (Yenice and Savaş 2016; Can and Boğa 2019; Demirhan and Yenilmez 2019). On the other hand, Dou et al. (2001) reported that 68.0% of the cattle enterprises in the Pennsylvania State have tie-stall barns. Sheppard et al. (2011) stated that less than 31% of the barns in Western Canada and 80% of the barns in St. Lawrence Plains are the tie-stall types. Working in this type of barn has some inadequacies that cause tedious problems in important routine works such as feeding, manure cleaning, milking, and watering the animals. Thus, it has been reported that the younger generations, especially women, did not want to perform the hard daily work in such enterprises and there was a lack of welfare for animals (Anonim 2018). In addition, Valde et al. (1997) pointed out that tie-stall barns had higher rates of clinical mastitis and suggested that free-stall barns should be preferred over tie-stall types for lower disease incidence and higher fertility. It was also reported that free-stall barns are the most commonly used housing system in dairy cattle breeding, but they were economical in enterprises with 60 or more dairy cattle (Gökalp 2019).

Responses given by the participants to the questionnaire revealed that 72.5% of them were satisfied with their barns, and that 27.5% of the participants stated that their barn was insufficient to meet their needs because it was small (67.6%) or old (32.4%) in the central county of Ağrı province (Figure 2a and b).

The question related to the effect of the barns on the health of humans and animals demonstrated that respectively 96.5%, %81.3, and %90.3 of the respondents did not accept adverse influences of the barns on the health of humans, animals as well as the milk yield of the cattle (Figure 3a, b, c). On the other hand, different results were reported in the studies conducted on other provinces or counties of Turkey. Tilki et al. (2013) reported that in Kars province structure of the barns had a negative impact on the health of enterprise owners (48.79%), the milk yield of the animals (60.92%), and the development of the animals (57.04%). Similarly, Aydın et al. (2016)

reported that the structure of the barn in Hınıs county of Erzurum province adversely affected the health of 88.8% of the enterprise owners as well as milk yield and development of the animals in 88.6% and 81.0% of the enterprises, respectively. The differences between the results of these studies and the present study could be attributed to the local enterprise owners' lower sensitivity and awareness level on the subject.

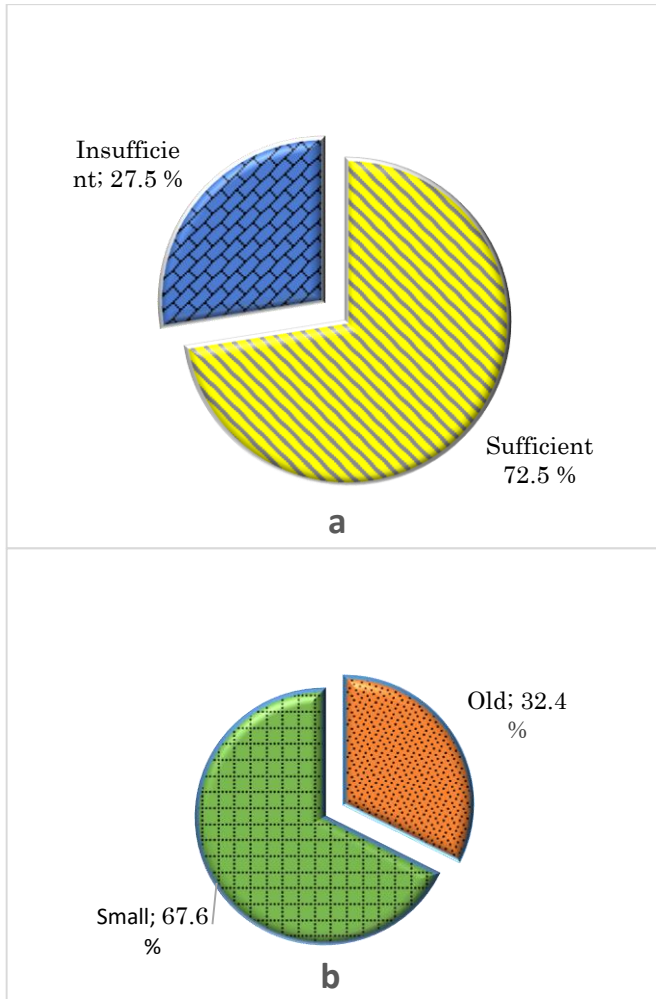


Figure 2. The status of the barn buildings sufficiency (a) the reasons for insufficiency

Şekil 2. Ahırın yeterlilik durumu (a) ve yetersizlik nedeni (b).

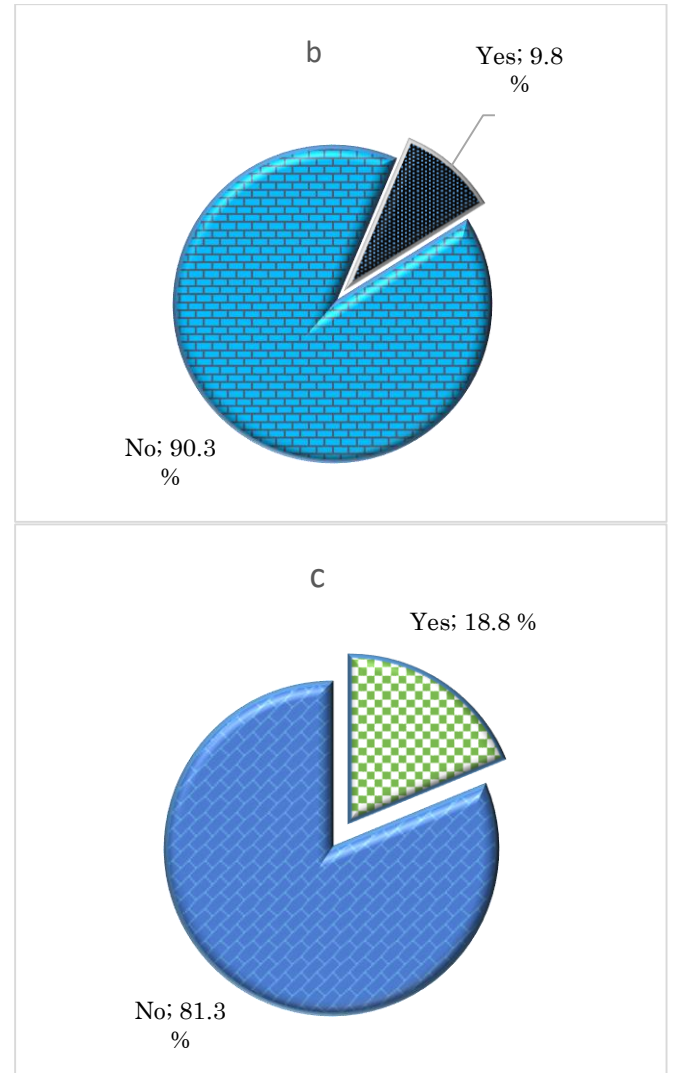
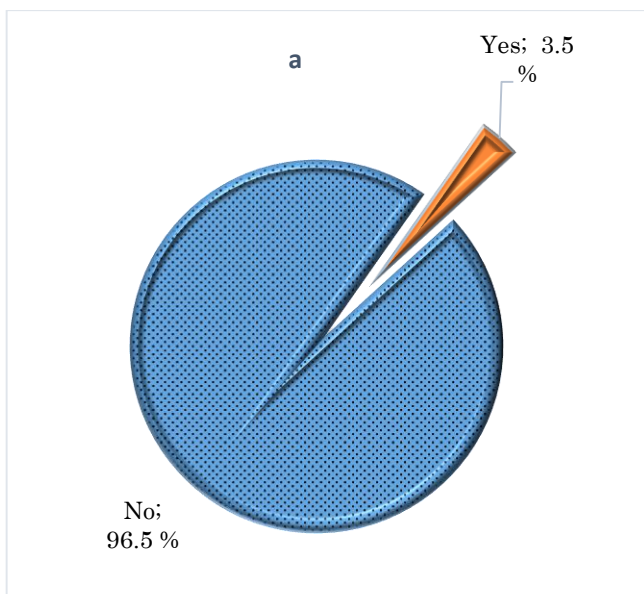


Figure 3. Does the Barn have adverse effect on the health of the enterprise's owner (a), development of animals (b) and milk yield of the cows?

Şekil 3. Ahır işletme sahibinin sağlığını (a), hayvanların gelişimini (b) ve hayvanların süt verimini (c) olumsuz etkiliyor mu?

While 48.5% of the enterprise owners who participated in the survey study indicated that they used their barns for less than 10 years, 35.3% stated that they used the barn for 11-20 years, 13.0% for 21-30 years, and 3.3% for more than 31 years (Figure 4). A large majority of the barns were detached (98.5%) in the central county of Ağrı Province. The percentage of the barn buildings younger than 10 years were reported as 19.6% in Hınıs county of Erzurum province by Aydın et al. (2016). The findings of Güler et al. (2017) were similar to the present study with a 40% barn percentage used less than 10 years. However, the share of detached barns (75%) was higher.

The share of detached barns in previous studies are higher than in present study with the percentages

reported as 63.0% in Kahramanmaraş (Kaygısız and Tümer 2009), 77.0% in Muş (Şeker et al. 2012), and 70.7% in Hınıs county of Erzurum province (Aydın et al. 2016). However, Han and Bakır (2010) in Ergani county of Diyarbakır province, Köseman ve Şeker (2016) in Malatya, Güler et al. (2017) in Narman county of Erzurum province, and Bakır and Kibar (2020) in Muş province reported similar findings for the percentages of detached barns (90.4%, 91.9%, 85.8%, and 75% respectively). An increase in the number of detached barns over the years is desirable in terms of animal health, welfare, and milk yield traits.

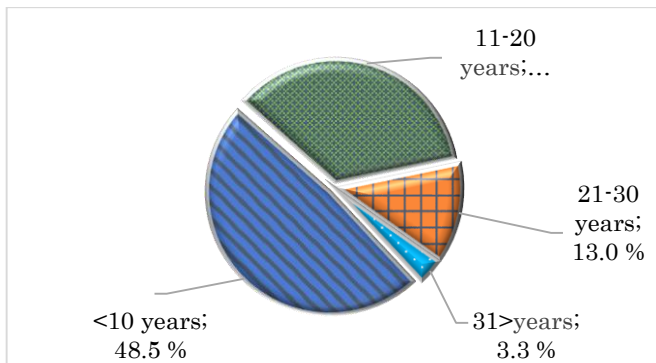


Figure 4. Usage time of the barns
Şekil 4. Ahır kullanma süresi.

Stone (72.8%) and briquette (24.3%) were mostly used as building materials on the walls of the barns (Figure 5). The use of stone as a wall building material in the central county of Ağrı province is quite common because it is supplied easily and economically in the region. Many researchers reported that the stone material was widely used in the construction of animal barns, especially in foundations and walls (Tugay and Bakır 2006; Han and Bakır 2010; Şeker et al. 2012; Tilki et al. 2013; Daş et al. 2014; Özyürek et al. 2014).

It was determined that the roof of the barns in the county was mostly made of sheet metal (72.8%) and some of them had no roof and were made of soil (mud) (22.8%) (Figure 6). Özyürek et al. (2014), Bardakcıoğlu et al. (2004) and Güler et al. (2017) reported the percentages of sheet metal usage as a roofing material as % 64.7, % 56.5, and %48.1 in Çayırılı county, Aydın province, and Narman county, respectively. It was reported by Bakır and Kibar (2020) that the percentages of the gable, mudbrick, and concrete as the roof material of the barns in Muş province were 61.6%, 30.8%, and 7.6% respectively. In addition, researchers stated that the differences among barns were related to whether the barn was under the house or detached, and there was a positive relationship between the rate of barns under the house and the mud rooftop.

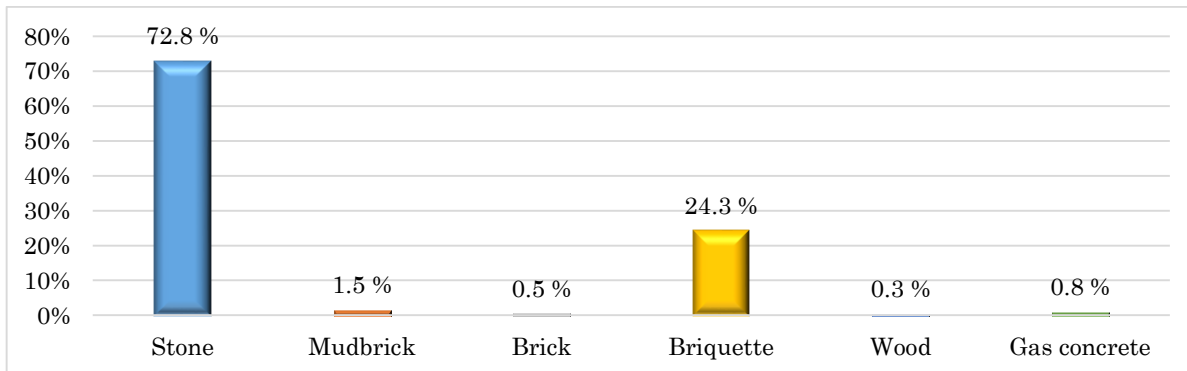


Figure 5. Building materials used for the construction of barn walls
Şekil 5. Ahır duvarlarında kullanılan yapı malzemeleri

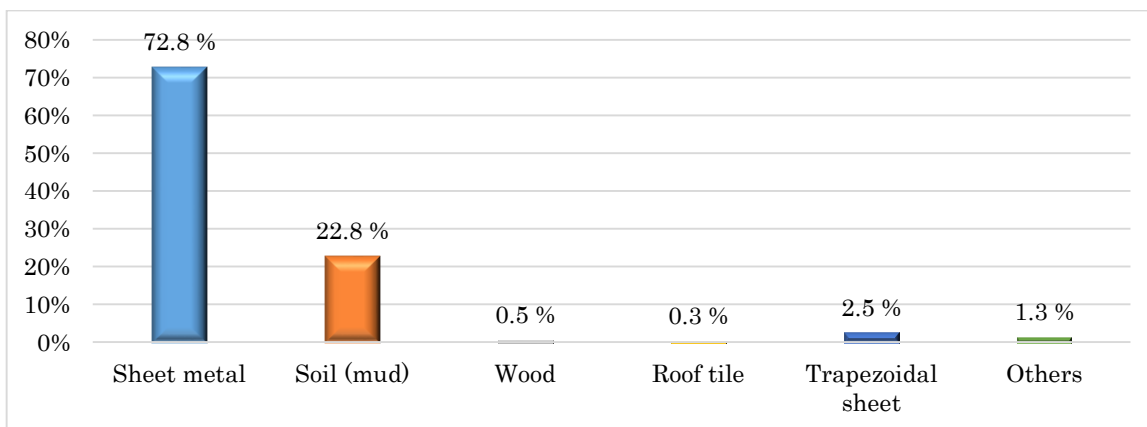


Figure 6. Building materials used for the construction of the barn roof
Şekil 6. Ahır çatısında kullanılan yapı malzemeleri

The materials used in the building of the barn floor were concrete in 88.8% of the enterprises (Figure 7). It was determined that in 10.0% of the enterprises the barn floor was made of stone and the material of the barn floor was soil only in 1.0% of the enterprises. It is suggested that the floor of the animal barns should be stable, impermeable, resistant to chemicals and urine, and easy to clean (Özhan et al. 2009; Yıldız 2013).

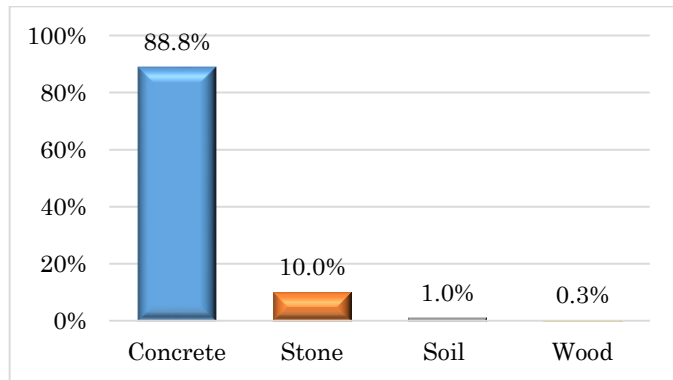


Figure 7. Building materials used in the construction of barn floor.

Şekil 7. Ahır tabanında kullanılan yapı malzemeleri.

In many studies conducted in different provinces and counties of Turkey, it was reported that the use of concrete as a building material in the floors of the barns was quite common (Yener et al. 2013; Özyürek et al. 2014; Mundan et al. 2018; Demirhan and

Yenilmez 2019; Bakır and Kibar 2020). Şahanoğlu and Koçak (2014) stated that the barn floor material was concrete in all farms in Afyonkarahisar province, and plain concrete (without notches) floor material negatively affects animal welfare due to the lower usage of stalls and beddings. The rest and the level of welfare of animals increases in enterprises that use stalls and beddings (Haley et al. 2000; Ondarza 2000). The concrete (74.4%) was also reported to be the most commonly preferred floor material for cattle barns in the state of Pennsylvania, USA (Vasseur et al. 2010).

Figure 8 illustrates the structural elements used in the barns of the cattle enterprises in the central county of Ağrı province. It was revealed that there were generally standard structural elements in the barns, only a minority of the enterprises had feed alley (15%) and automatic waterers (2.8%) that would make the daily work easier.

The number of enterprises having feed alleys and automatic waterers in their barns was low in other studies, as well. It was found out that only 6.3% of the cattle farms in Narman county have a feed alley and 6.7% have automatic waterers, percentages of the enterprises having other structural elements (feeder, window, urine drainage channel, chimney, vents) were reported to be at similar levels with the present study (Güler et al. 2017). It was reported that 78.1% of the enterprises in Niğde province do not have ventilation chimneys in their barns (Ünalın et al. 2013).

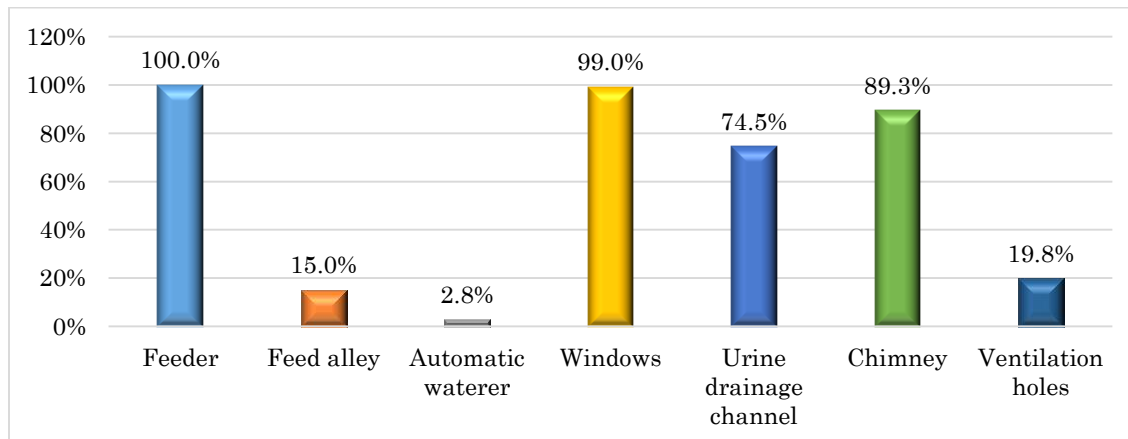


Figure 8. Structural elements found in the barn.

Şekil 8. Ahırda bulunan yapılar

If the number and size of windows are sufficient in closed barns, there is no need for electrical lighting. The windows are important in the planning of barns in terms of ventilation and lighting. Window area should be 1/15 - 1/20 of the barn floor area to provide enough light (Özhan et al. 2009). In response to the question asking how they illuminate the barn during the day, %39.3, 37.3%, 23.5% of the farmers

respectively replied that they illuminate the barn by both electricity and windows, by windows, and by electricity (Figure 9). Similar results concerning the lighting of the barns (63.5% natural, 36.5% electricity) were reported by Aydın et al (2016) in Hınıs county of Erzurum province. It was also reported by Daş et al. (2014) that almost all of the barns in Bingöl province were illuminated by electricity and the number of enterprises that provide

natural illumination was very few. The percentage of barns illuminated by electricity was relatively low in the central county of Ağrı province. However, this type of lighting decreases income since it is an important expense for cattle enterprises. Thus, the use of natural lighting in the daytime through windows should be more widespread among breeders since it is more economical.

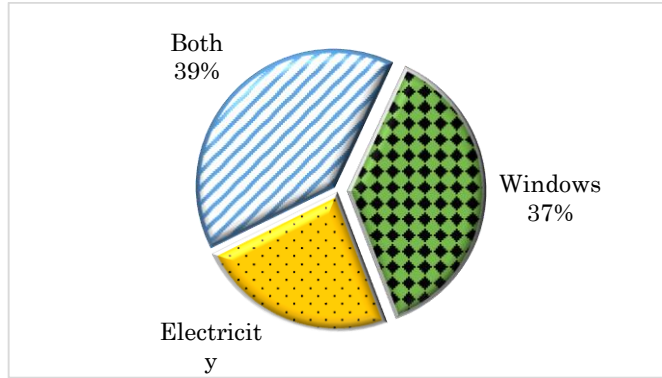


Figure 9. The methods of lighting the barn in the daytime

Şekil 9. Ahırları Gündüz Aydınlatma Yöntemi

The number of windows in the barns is important in terms of lighting and this number may vary according to the size of the barn. As shown in Figure 10, the

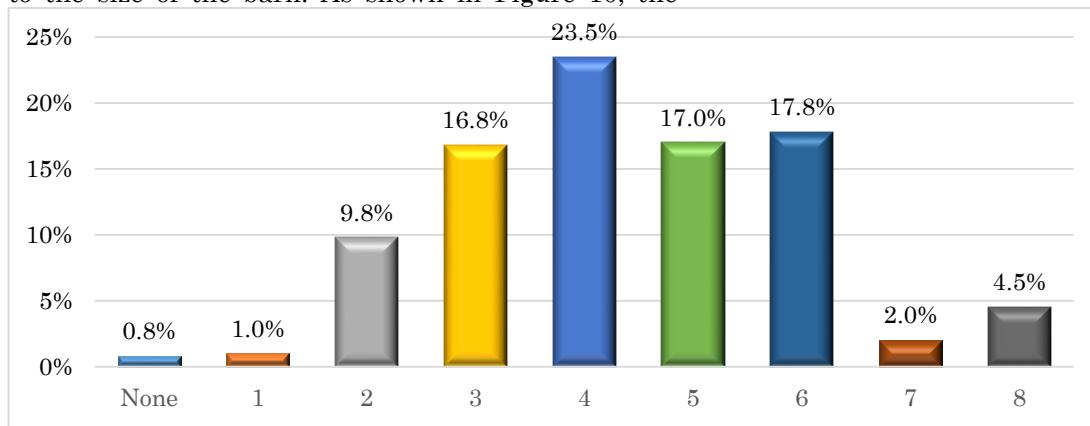


Figure 10. Number of windows available in the barn.

Şekil 10. Ahırda bulunan pencere sayısı

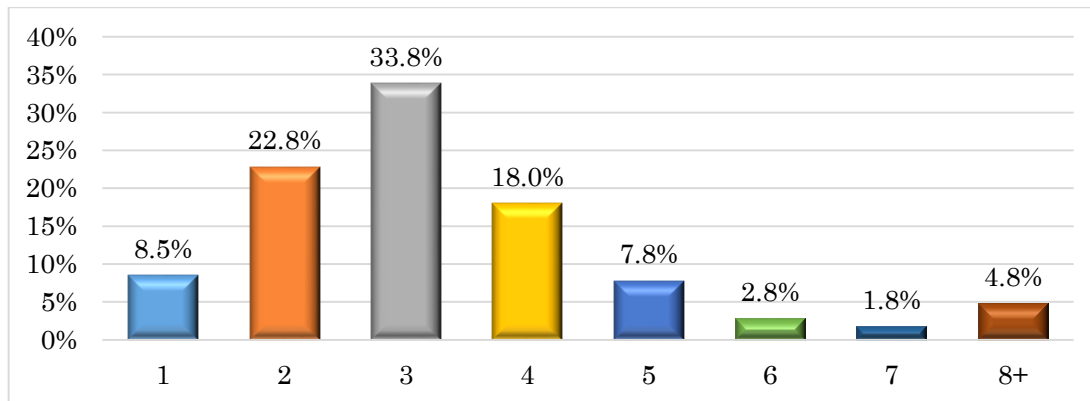


Figure 11. Number of chimneys in the barn

Şekil 11. Ahırda bulunan baca sayısı

percentage of enterprises with 3-6 windows in the barn was considerably high (75.1%). Similarly, Aydın et al. (2016) indicated that the barns with 3 (36.3%) and 4 (40.0%) windows were quite common in the enterprises in Hınıs county of Erzurum province. Güler et al. (2017) reported that the percentage of the barns with 2 windows (47.5%) were widespread in Narman county and this was followed by the barns with 4-5 windows.

The number of ventilation chimneys in the barn is important for removing the hot and dirty air, excessive humidity, bad odor, and gases. The number of chimneys differs among enterprises just as the number of windows. It could be seen in Figure 11 that the percentage of enterprises with 2-4 chimneys was quite high in the central county of Ağrı province. Similarly, Aydın et al. (2016) reported that most enterprises in Hınıs county of Erzurum province have 2, 3, and 4 chimneys in their barns. In Narman county of Erzurum province, it was revealed that the majority of the enterprises have 1 or 2 (45.7% and 40.0%) chimneys in the barns (Güler et al. 2017). Tilki et al. (2013) determined that there were no ventilation chimneys in 6.3% of the enterprises in Kars province, while there was only 1 ventilation chimney in 3.6% of the surveyed enterprises.

Of the survey participants, 91.5% indicated no separate pens or sections for sick animals and cows to give birth in the barn. However, only 8% of them stated that there was a separate section in their barns. The breeders should be taught that keeping sick animals in a separate place is highly beneficial for preventing the spread of diseases. Similar to the findings of the current study, Şahanoğlu and Koçak (2014) reported that the presence of maternity wards (2.0%), sick animal pens (1.0%) and manure storage (8.9%) in farms in Afyonkarahisar province was quite low and this could adversely affect the welfare of animals.

It is known that raising the calves separately in the barn or keeping them in a separate place called the calf unit is favorable for the health of the calves. In the present study, it was revealed that 88% of the enterprises had separate calf units (Figure 12a). It

was also found out that the calves in the majority of the enterprises (87.5%) were housed in the separate group sections in the same barn, and the calves in a small percentage of the enterprises (12.3%) were kept in the same barn with their dams (Figure 12b). There was no enterprise having individual calf units in their barns in the central county of Ağrı province. In the studies conducted in Turkey, it was reported that keeping calves in separate group sections in the same barn is common. The percentages of the enterprises having separate group sections for calves in their barns were reported as 93.9% in Aydın province (Bardakcıoğlu et al. 2004), %76.6 in Kars province (Tilki et al. 2013) and %64.4 in Narman county of Erzurum province (Güler et al. 2017). It was also reported that 72.3% of the enterprises in Niğde province have calf units in the barns (Ünalın et al. 2013).

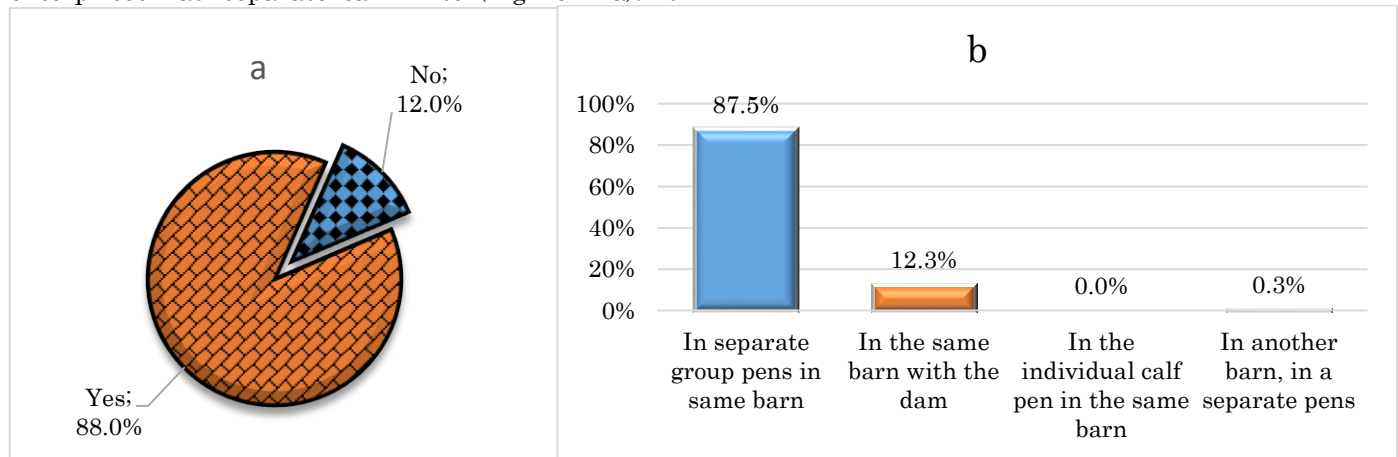


Figure 12. Status of having separate compartment for calves in the barn (a) and housing type of the calves (b)
Şekil 12. Ahırda buzağılara ait ayrı bir bölme bulunma durumu (a) ve barındırma şekli (b)

The percentage of the cattle farms raising the calves in separate units before weaning is lower than the percentages reported as % 87.9 in Canada and % 67.0 in the USA by Vasseur et al. (2010). This difference may be due to the fact that the cattle farms in Canada and the USA are generally large and intensive enterprises.

It was also determined that in the majority of the farms, heifers, calves, and dry cows are raised together (97.5%); only in 2.5% of them they are raised separately. These findings agree with the finding of Aydın et al. (2016) and Güler et al. (2017).

The percentage of respondents that use bedding was found to be very low in the current study. Only 15% of the surveyed enterprises used bedding for cattle and 85% of them did not have bedding material in their barns (Figure 13a). Similarly, it was reported that 93.4% of the enterprises in Diyarbakır (Han and Bakır 2010), 55.9% of the enterprises in Muş (Şeker et al. 2012), 79.7% of the enterprises in Niğde (Ünalın et al. 2013), 81.0% of the enterprises in Hınıs

county of Erzurum province (Aydın et al. 2016) and 65% of the dairy cattle enterprises in Uşak (Demirhan and Yenilmez 2019) did not use bedding materials in the cattle barns. It was also found out that stems of different grains (54.4%) and dry manure (35.1%) were widely used as bedding materials in the enterprises in the central county of Ağrı province (Figure 13b). Likewise, dry manure was reported to be a common bedding material in Aksaray (Tatar 2007), Hınıs county (Aydın et al. 2016), Narman county (Güler et al. 2017), and dairy farms in Uşak (Demirhan and Yenilmez 2019). It was reported by Heinrichs et al. (1987) and Vasseur et al. (2010) that the use of straw and stem of different grains as bedding material was much higher in developed countries. Additionally, it was also revealed that 60% of the cattle barns in Kahramanmaraş used wheat straw as bedding material (Kaygısız and Tümer 2009).

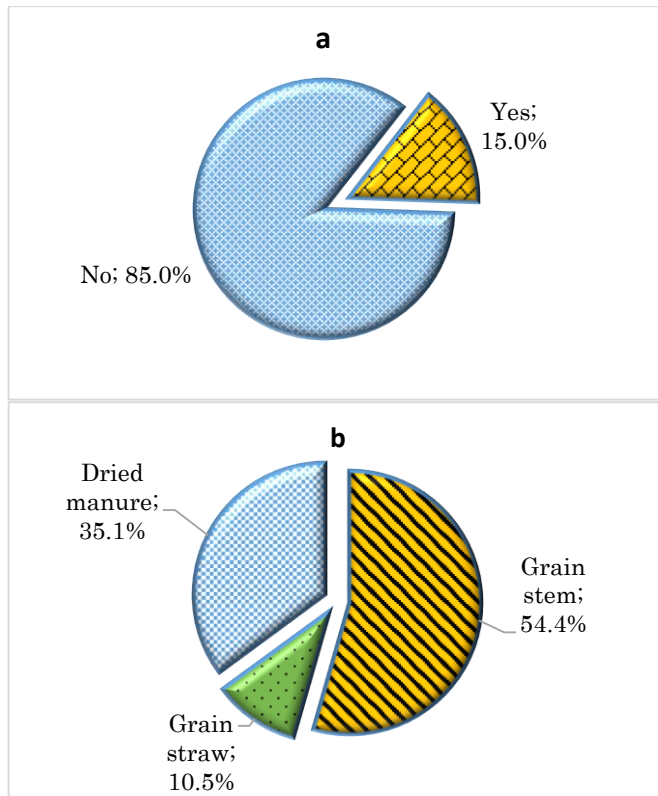


Figure 13. Status of bedding usage in the barn (a) and the type of bedding used (b).

Şekil 13. Yataklık kullanma durumu (a) ve Kullanılan yataklık türleri (b).

In reply to the question of which methods were used to meet the need of animals for drinking water, 51.5% of the respondents stated that the majority of the enterprises provided the water needs of the animals with buckets (51.5%) and the village fountain or trough (43.8%), a small percentage of the animals were watered by automatic waterers (3.0%) or by filling the feeders with water (1.8%) (Figure 14).

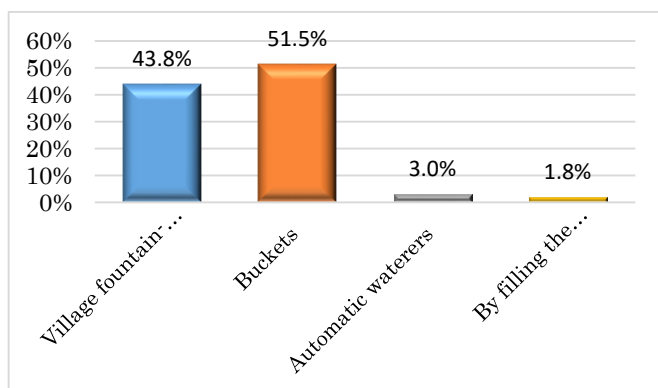


Figure 14. The methods used by the enterprises for meeting the water needs of animals.

Şekil 14. İşletmelerde hayvanların su ihtiyaçlarını karşılamak için kullanılan metotlar.

The village fountain or outside watering method was reported in 85.0%, and 69.0% of the cattle farms in Çukurova region as well as in Van province by Yıldız (1988) and Bakır (2002) respectively. Additionally, a higher percentage (% 100.0) of trough usage was also reported in Bingöl province by Daş et al. (2014).

As in the central county of Ağrı province (3.0%), other studies carried out in Turkey confirmed that automatic watering systems are not commonly used in cattle barns. In various regions of Turkey, percentages of enterprises using automated watering systems were reported as 9.0% in Van (Bakır 2001), 18.0% in Ankara and 10.6% in Aksaray (Tatar 2007), 22.4% in Hınıs county (Aydın et al 2016) and 6.7% in Narman county (Güler et al. 2017). The percentage of automatic watering systems in dairy cattle farms in Afyonkarahisar province was stated as 18.8%, and most of the enterprises (81.20%) used buckets, wheelbarrows, and feeders as waterer (Şahanoğlu and Koçak 2014). In addition, animals in Afyonkarahisar were watered after feeding, and it was pointed out that this practice led to a welfare problem since the water intake of animals was restricted.

Answers given by the owners of the enterprises to the questionnaire demonstrated that the animals are watered 3 times a day in 87.0% of the cattle farms in the central county of Ağrı Province. Similarly, it was reported by several researchers that watering of the animals 3 times a day in cattle enterprises was also widespread practice in other regions of Turkey (Akman and Özder 1992; Aydın et al. 2016; Güler et al. 2017).

The status of practicing general cleaning (including disinfection, dye, and whitewashing) in the barns of the enterprises and the frequency of general cleaning during the year are presented in Figures 15a and b. General cleaning of the barns was done in 62.3% of the enterprises while it was not done in 37.8% of them. Although the percentage of enterprises that general cleaning is performed seems to be high, the share of those in which general cleaning is not practiced is worrying. It was determined that 72.9% of enterprise owners who do general cleaning in the barns clean once a year, and 19.1% clean twice. The percentage of the enterprises that the barn was cleaned 3-4 times a year was less. In some studies, conducted in Turkey, it was reported that general cleaning was carried out 2 times or more, at least once a year (Ünalın et al. 2013; Aydın et al. 2016; Güler et al. 2017).

The manure almost in all of the enterprises was cleaned by human power (99.3%) and the manure was stored without any cover near the barn in 63% of the enterprises in the central county of Ağrı province. The result was in agreement with findings of (Tilki et al. 2013; Şahanoğlu and Koçak 2014; Aydın et al. 2016; Demirhan and Yenilmez 2019; Bakır and Kibar 2020).

The dirtiness of the animals in the enterprises paves the way for the formation of udder diseases, thus reducing the welfare level of the animals (Ellis et al. 2006; De Wolf 2009). In Canada, percentages of the enterprises that use lined or cement pits, lagoons or dugouts and above-ground tanks for manure storage were 53.0% 39.0% and 10%, respectively (Sheppard et al. 2011). Meyer et al. (1997) reported that 95.9% of the surveyed enterprises had storage or treatment ponds for manure storage in California state of the USA.

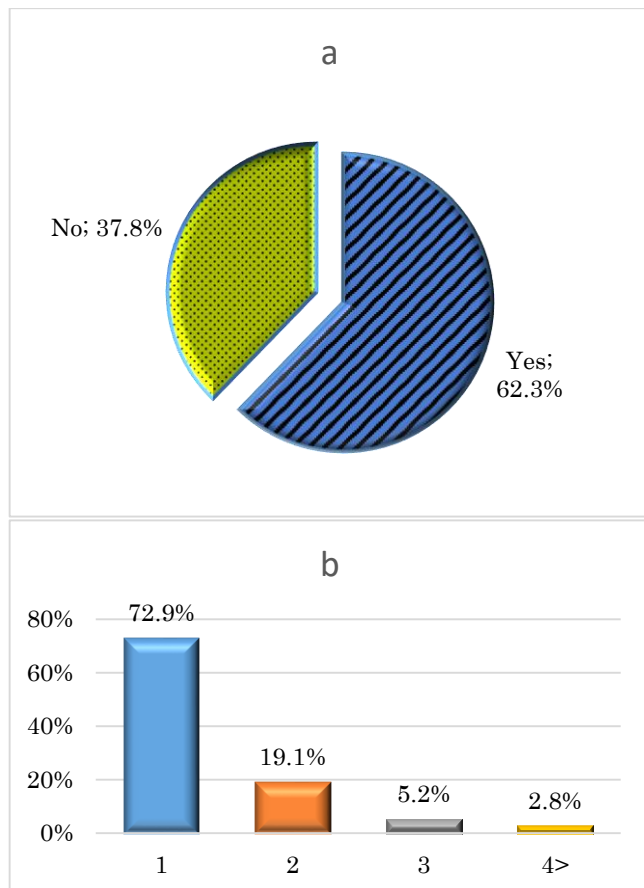


Figure 15. Status of general cleaning (dye-whitewash and disinfection) practice in the barns of the enterprises (a) and the frequency of general cleaning per year (b).

Şekil 15. İşletmelerin ahırlarında genel temizlik (Boya-badana, ilaçlama ve dezenfeksiyon) yapma durumu (a) ve yılda genel temizlik yapma sıklığı (b).

The utilization of manure is classified and presented in Figure 16. In the Eastern Anatolia Region, manure is still used for heating purpose in rural areas during winter season. The enterprises that use manure for heating were close to half of the farms (48%). While 51.0% of the enterprises in total used manure as fertilizer in their fields, the percentage of those who used it only as fertilizer was 26.8%, and the share of those who used it both for heating and as fertilizer in the field was 24.3%.

Özen and Oluğ (1997), Kaygısız and Tümer (2009), Boz (2013), Aydın et al. (2016) and Güler et al. (2017) stated that the percentage of the enterprises that utilized the manure as fertilizer in the field was high in their studies. Unlike Turkey, Dou et al. (2001) reported that 67.0% - 82.0% of the enterprises in Pennsylvania store the manure in solid or packaged form, while Sheppard et al. (2011) reported that the enterprises in Canada used almost all of the enterprises for plant production as fertilizer. The findings of the present study in terms of using manure as a source of heating in the central county of Ağrı was similar to the findings of Han and Bakır (2010) and Bakır and Kibar (2020).

CONCLUSION and SUGGESTIONS

The determinations and suggestions made considering the data obtained as a result of the survey conducted on the barn and environmental characteristics of the enterprises in the central county of Ağrı province can be summarized as follows;

It is necessary to provide technical information and financial support by the relevant official institutions to immediately improve the unfavorable barn conditions in the central county of Ağrı province. In this context, the barn walls must be made of briquettes instead of stones to be earthquake resistant and healthier. The use of natural lighting in the barns from the windows should be widespread. Furthermore, in order to reduce humidity, odor, and temperature, the barns must be furnished with an appropriate number of chimneys and existing chimneys must be kept open.

It is highly required to increase the use of bedding in the enterprises to reduce knee and other injuries, mastitis incidence and ensure hygienic milk production in the enterprises. It would be appropriate to use automatic waterers or install a watering system inside the barn in order to provide the animals with a constant water supply. It was also determined that there are no maternity wards for pregnant cows in the region's enterprises, and it would be beneficial for enterprises to keep a maternity ward in order to decrease calf mortality and to raise healthy calves. It is suggested that cooperation of the relevant institutions for technical information support, and investment incentives, and training programs for the farmers are highly required for profitable cattle husbandry in the county.

Statement of Conflict of Interest

Authors have declared no conflict of interest.

Author's Contributions

Authors declares the contribution of the authors is equal.

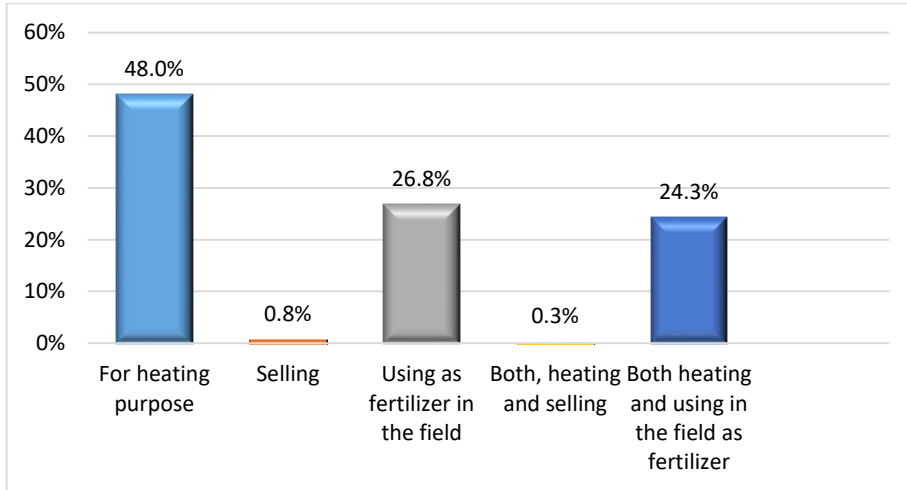


Figure 16. Manure utilization methods

Şekil 16. Gübreyi değerlendirme yöntemleri

REFERENCES

- Akman, N, Özder M 1992. Tekirdağ İlinde İthal İneklerle Çalışan İşletmelerin Durumu ve Sorunları. Trakya Bölgesi. Trakya Bölgesi 1. Hayvancılık Sempozyumu 8-9 Ocak-1992, pp. 8-9. Tekirdağ
- Anonim 2018. Büyükbaş Hayvan Yetiştiriciliği. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Hayvancılık Genel Müdürlüğü, <https://www.tarimorman.gov.tr/HAYGEM/Menu/6/Buyukbas-Hayvancilik>, p. 171.
- Anonim 2020. Ağrı İli 2020 Yılı Faaliyet Raporu. <https://agri.tarimorman.gov.tr/Belgeler/2020%20Y%C4%B1%C4%B1%20Faaliyet%20Raporu.doc> (accessed 08 2021).
- Arıkan R 2007. Araştırma Teknikleri ve Rapor Hazırlama. Asil Yayın Dağıtım Ltd., Ankara
- Arıöz MY, Güner M. 2007. Ağrı İlinde Tarım İşletmelerinin Tarımsal Yapı ve Mekanizasyon Özellikleri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Makinaları Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara 88 sy
- Aydın R, Güler O, Yanar M, Diler A, Koçyiğit R, Avcı M 2016. Erzurum İli Hınıs İlçesi Sığırcılık İşletmelerinin Barınak Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi 19(1): 98-111.
- Bakır G 2001. Van İline İthal Edilen Kültür Irkı Sığırların Özel İşletmelere Adaptasyonu. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 32(4): 415-427.
- Bakır G 2002. Van İlindeki Özel Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Yapısal Durumu. Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 12(2): 1-10.
- Bakır G, Kibar M 2020. Muş İli Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Barınak Özelliklerinin Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi 23(4): 1085-1095.
- Bardakcıoğlu H, Türkyılmaz M, Nazlıgül A 2004. Aydın İli Süt Sığırcılık İşletmelerinde Kullanılan Barınakların Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 30(2): 51-62.
- Boz İ 2013. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Süt Sığırcılığı Yapan İşletmelerin Yapısı, Sorunları ve Çözüm Önerileri. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi 16(1): 24-32.
- Can ME, Boğa C 2019. Niğde İli Sığırcılık İşletmelerinde Atık Yönetimi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi 22(2): 260-269.
- Costa J, Hötzel M, Longo C, Balcão L 2013. A Survey of Management Practices that Influence Production and Welfare of Dairy Cattle on Family Farms in Southern Brazil. Journal of Dairy Science 96(1): 307-317.
- Çimen A, Çınar O, Faruk K 2006. Ağrı İlinin Sosyo-Ekonomik Yapısı ve Yaşam Memnuniyeti Araştırması. Atatürk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi 8(2): 49-68.
- Daş A, İnci H, Karakaya E, Şengül AY 2014. Bingöl İli Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliğine Bağlı Sığırcılık İşletmelerinin Mevcut Durumu. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 1(3): 421-429.
- De Wolf A 2009. A Welfare Assessment System for Dairy Cows on Pasture and The Comparison to a Welfare Scoring System for Cows in Cubicles. Research Project Veterinary Medicine, University of Utrecht.
- Demirhan SA, Yenilmez M 2019. Current Situation, Problems and Solution of Dairy Cattle Enterprises in Uşak Province. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology 7(12): 2198-2203.
- Dou Z, Galligan DT, Ramberg CF, Meadows C, Ferguson JD 2001. A Survey of Dairy Farming in

- Pennsylvania: Nutrient Management Practices and Implications. *Journal of Dairy Science*, 84(4): 966-973.
- Ellis K, Mihm M, Innocent G, Cripps P, Mclean W, Howard C, Grove-White D 2006. Assessing the Relationship Between Dairy Cow Cleanliness and Bulk Milk Hygiene on Organic and Conventional Farms. In: *Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics*.
- Erhan MK 2019. Ağrı İli Büyükbaş Hayvan Varlığı ve Hayvansal Atıklardan Biyogaz ve Elektrik Üretimine Ağrı İli ve Ülke Ekonomisine Katkısı. *Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi* 5(2): 207-216.
- Gökalp Z 2019. Hayvansal Üretim Yapıları. *Tarımsal Yapılar Ders Notu* (pdf), Yayınlanmamış, p. 262.
- Güler O, Aydın R, Diler A, Yanar M, Koçyiğit R, Maraşlı A 2017. Sığırcılık İşletmelerinin Barınak Özellikleri Üzerine Bir Araştırma: Erzurum İli Narman İlçesi Örneği. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi* 27(3): 396-405.
- Haley DB, Rushen J, Passillé AMD 2000. Behavioural Indicators of Cow Comfort: Activity and Resting Behaviour of Dairy Cows in Two Types of Housing. *Canadian Journal of Animal Science* 80(2): 257-263.
- Han Y, Bakır G 2010. Özel Besi İşletmelerinin Barınak Yapısı ve Etkileyen Faktörler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 41(1): 45-51.
- Heinrichs AJ, Graves RE, Kiernan NE 1987. Survey of Calf and Heifer Housing on Pennsylvania Dairy Farms. *Journal of Dairy Science* 70(9): 1952-1957.
- Hosseinpour, S., Alavi Milani, M. M. R., & Pehlivan, H. (2018). A Step-by-Step Solution Methodology for Mathematical Expressions. *Symmetry*, 10(7): 285.
- Kaygısız A, Tümer R, Orhan H, Vanlı Y 2008. Kahramanmaraş Bölgesi Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Yapısal Özellikleri: I. Yetiştirme Uygulamaları. *Ziraat Fakültesi Dergisi* 3(2): 23-31.
- Kaygısız A, Tümer R 2009. Kahramanmaraş İli Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Yapısal Özellikleri 2. Barınak Özellikleri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv. Doğa Bilimleri Dergisi* 12(1): 40-47.
- Kaygısız A, Özkan İ 2021. Samsun Tekkeköy İlçesindeki Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Yapısal Özellikleri ve Hijyen Koşulları. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi* 25(2): 225-233.
- Kılıç O, Eryılmaz GA 2020. Samsun İlinde Süt Sığırcılığı Yapan İşletmelerin Yapısal Özellikleri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 7(3): 637-645.
- Klein-Jöbstl D, Arnholdt T, Sturmlechner F, Iwersen M, Drillich M 2015. Results of an Online Questionnaire to Survey Calf Management Practices on Dairy Cattle Breeding Farms in Austria and to Estimate Differences in Disease Incidences Depending on Farm Structure and Management Practices. *Acta Veterinaria Scandinavica* 57(1): 1-10.
- Koçyiğit R, Diler A, Yanar M, Güler O, Aydın R, Avcı M 2015. Erzurum İli Hınıs İlçesi Sığırcılık İşletmelerinin Yapısal Durumu: Çiftlik Yönetimi ve Buzağı Yetiştirme Uygulamaları. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 5(4): 85-97.
- Koyubenbe N 2005. İzmir İli Ödemiş İlçesinde Süt Sığırcılığının Geliştirilmesi Olanakları Üzerine Bir Araştırma. *Hayvansal Üretim* 46(1): 8-13.
- Köseman A, Şeker İ 2016. Malatya İlinde Sığırcılık İşletmelerinin Mevcut Durumu: I.Yapısal Özellikler. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 30(1): 05 - 12
- Meyer DM, Garnett I, Guthrie JC 1997. A Survey of Dairy Manure Management Practices in California. *Journal of Dairy Science* 80(8): 1841-1845.
- Millogo V, Ouédraogo G, Agenauml S, Svennersten-Sjaunja K 2008. Survey on Dairy Cattle Milk Production and Milk Quality Problems in Peri-Urban Areas in Burkina Faso. *African Journal of Agricultural Research* 3(3): 215-224.
- Moges N 2015. Survey on Dairy Farm Management and Infertility Problems in Small, Medium And Large Scale Dairy Farms in and Around Gondar, North West Ethiopia. *International Journal of Animal and Veterinary Advances* 7(4): 62-66.
- Mundan D, Atalar B, Meral BA, Yakışan MM 2018. Modern Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Yapısal ve Teknik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 13(2): 201-210.
- Ondarza M 2000. Cow Comfort. Erişim: <http://www.milkproduction.com/Library/Scientific-articles/Housing/Cow-comfort>.
- Özen N, Oluğ HH 1997. Burdur Süt Sığırcılığının Sorunları ve Çözüm Önerileri. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 9(1): 309-321.
- Özhan M, Tüzemen N, Yanar M 2009. Büyükbaş Hayvan Yetiştirme (Süt ve Et Sığırcılığı)(Düzeltilmiş 5. Baskı).
- Özyürek S, Koçyiğit R, Tüzemen N 2014. Erzincan İlinde Süt Sığırcılığı Yapan İşletmelerin Yapısal Özellikleri: Çayır İlçesi Örneği. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi* 11(3): 19-26.
- Sheppard SC, Bittman S, Swift ML, Beaulieu M, Sheppard MI 2011. Ecoregion and Farm Size Differences in Dairy Feed and Manure Nitrogen Management: A Survey. *Canadian Journal of Animal Science* 91(3): 459-473.
- SPSS 2004. SPSS for Windows Release 13.0. SPSS Inc., Chicago, IL. SPSS Inc., Chicago, IL., SPSS for Windows Release 13.0. .
- Şahanoğlu E, Koçak S 2014. Afyonkarahisar İli Süt

- Sığırcılığı İşletmelerinde Hayvan Refahının Barınak ve Yetiştirme Şartları Yönünden Değerlendirilmesi. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi* 54(2): 47-55.
- Şahin K, Gül A, Koç B, Dağistan E 2001. Adana İlinde Entansif Süt Sığırcılığı Üretim Ekonomisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi* 11(2): 19-28.
- Şeker İ, Tasalı H, Güler H 2012. Muş İlinde Sığır Yetiştiriciliği Yapılan İşletmelerin Yapısal Özellikleri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi* 26(1): 9-16.
- Tatar AM. 2007. Ankara ve Aksaray Damızlık Sığır Yetiştiricileri İl Birliklerine Üye Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Yapısı ve Sorunları. Ankara Üniversitesi, Fen Bil. Ens., Zootehni ABD, Doktora Tezi.
- Tilki M, Sarı M, Aydın E, Işık S, Aksoy AR 2013. Kars İli Sığır İşletmelerinde Barınakların Mevcut Durumu ve Yetiştirici Talepleri: I. Mevcut Durum. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg* 19(1): 109-116.
- Tugay A, Bakır G 2006. Giresun Yöresindeki Özel Süt Sığırcılığı İşletmelerinin İrk Tercihleri ve Barınakların Yapısal Durumu. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 37(1): 39-47.
- Uğurlu N, Şahin S 2010. Kayseri İli Süt Sığırcılığı Barınaklarının Yapısal Özellikleri. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences* 24(2): 23-26.
- Ünalın A, Serbest U, Çınar M, Ceyhan A, Akyol E, Şekeroğlu A, Erdem T, Yılmaz S 2013. Niğde İli Süt Sığırcılığı İşletmelerinin Mevcut Durumu, Başlıca Sorunları ve Çözüm Önerileri. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi* 1(2): 67-72.
- Valde JP, Hird DW, Thurmond MC, Qsterås O 1997. Comparison of Ketosis, Clinical Mastitis, Somatic Cell Count, and Reproductive Performance Between Free Stall and Tie Stall Barns in Norwegian Dairy Herds with Automatic Feeding. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 38(2): 181-192.
- Vasseur E, Borderas F, Cue RI, Lefebvre D, Pellerin D, Rushen J, Wade KM, De Passille AM 2010. A Survey of Dairy Calf Management Practices in Canada that Affect Animal Welfare. *Journal of Dairy Science* 93(3): 1307-1315.
- Yener H, Atalar B, Mundan D 2013. Şanlıurfa İlindeki Sığırcılık İşletmelerinin Biyogüvenlik ve Hayvan Refahı Açısından Değerlendirilmesi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2(2):87-93.
- Yenice G, Savaş S 2016. Rize İlinde Yapılan Süt Sığırcılığının Mevcut Durumunun Araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 11(1): 74-83.
- Yıldız Y 1988. Çukurova bölgesi süt sığırcılığı işletmelerinde mekanizasyon uygulamaları. *Tarımsal Mekanizasyon II. Ulusal Kongresi*, 10-12.
- Yıldız B. 2013. The Constructural Properties of Dairy Cattle Housing and Development of Model Barn Plan in Çankırı. Selçuk Üniversitesi, Fen Bil. Ens., Tarımsal Yapılar ve Sulama A.B.D, Yüksek Lisans Tezi, 87 sy.
- Yılmaz İ 2005. Erzurum İlinde Farklı Kaynaklardan Getirilen Kültür İrki Sığırlarla Yapılan Yetiştiriciliğin Analizi. *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootehni ABD. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, 137 sy.
- Yılmaz İ, Karadaş K, Şahin K, Sarı M, Önk K 2014. TRA-2 Bölgesi (Ağrı, Kars, Ardahan ve Iğdır İlleri)'nde Süt Sığırcılığı Yapan İşletmelerin Üretim ve Pazarlama Olanaklarının Araştırılması. *XI. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi* 3-5 Eylül 2014, pp. 1428-1430, Samsun.